الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح، ورقلة-الجزائر

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء

مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي

تخصص: كيمياء المنتجات الطبيعية

من إعداد الطالبتين:

* قريشي مروة * قاشي نسرين

بعنوان

الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة من عائلة المخلديات "*Crassulaceae*"

نوقشت يوم: 30-09-2020

أمام اللجنة المكونة من:

د. زروقي حياة ..... رئيسة للجنة

د. بالفار محمد لخضر ..... مناقشا

د. سمارة ونيسة ..... مؤطرا

أ. د دندوقي حسين ..... مساعد مؤطر

الموسم الجامعي 2019-2020

قال تعالى

وَاللهُ أَخْرَجَكُم مِنۢ بُطُونِ أُمَّهَٰتِكُمْ لَا تَعْلَمُونَ شَيْـًٔا وَجَعَلَ لَكُمُ ٱلسَّمْعَ وَٱلْأَبْصَٰرَ وَ ٱلْأَفْـِٔدَةَ لَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ 78

سورة النحل

الإهداء

نتقدم بإهداء هذا العمل للوالدين الكريمين، لوكان العمر يهدى لما بخلت به عليكما، إن قلت شكرا فشكري لن يوفيكم، حقا سعيتم وكان السعي مشكورا

ولكل فرد من عائلة قاشي وقريشي.

نهدي ثمرة هذا العمل لكل الزملاء والأصدقاء ولكل من ساندنا في فترة العمل وكانت كلماته مصدر قوة لنا.

شكر وعرفان

من قلوب ملؤها الحمد والثناء، الشكر لله والحمد لله رب العالمين

أتقدم بالشكر إلى من أطرني في هذا العمل الأساتذة د. سمارة ونيسة، أ.د دندوقي حسين

نتقدم بالشكر للأستاذة زروقي حياة لقبولها ترأس اللجنة, وكذا للأستاذ بالفار محمد لخضر لمشاركته في المناقشة

نشكر البروفيسور لعجال سقني والمخبرية مفلاح سهام بمخبر هندسة الطرائق وكل أعضاء إدارة كلية هندسة طرائق

نتقدم بالشكر إلى كل من ساهم في مساعدتنا من مخبر VPRS

إلى أساتذتي، الحاج أمحمد محفوظ، سعيدي مختار والزغدي سعد كلمات الثناء لاتوفيكم حقكم، شكرا على عطائكم، وإلى كل أستاذ في المشوار الجامعي.

الملخص

نبات *Umbilicus rupestris* من عائلة *Crassulacea*، هو نبات بري صالح للأكل لإحتوائه على العديد من المواد الغذائية وكذا إحتوائه على العديد من المركبات الفينولية الفعالة بيولوجيا والتي تم تحديدها من خلال مجموعة من الدراسات السابقة التي تتميز بالتنوع في طرق الإستخلاص "النقع والغلي"، وبناء على ذلك تم التطرق إلى مجموعة من المقارنات المتعلقة بهذه الطرق المستعملة في الدراسات السابقة وفي دراستنا التي أستعمل فيها النقع وSoxhlet. ولكون *Umbilicus rupestris* نبات طبي مستعمل بشكل واسع في الوسط الشعبي لأوروبا وإفريقيا تمت دراسة الفعالية البيولوجية له في هذه المناطق والتي أثبتت توافقها.

الكلمات المفتاحية: *Umbilicus rupestris*، طرق الإستخلاص، المركبات الفينولية، الفعالية البيولوجية.

Abstract:

Umbilicus rupestris of the *Crassulacea* family is an edible wild plant that contains many nutrients as well as many biologically active phenolic compounds identified by a series of previous studies characterized by a variety of methods of extraction " maceration and boiling", and accordingly a range of comparisons of these methods used in previous studies and in our study using maceration and Soxhlet were addressed. The fact that *Umbilicus rupestris* is a widely used medicinal plant in the popular milieu of Europe and Africa, its biological efficacy has been studied in these regions and has proven to be compatible.

Keywords: *Umbilicus rupestris*, extraction methods, phenolic compounds, biological effectiveness.

Résumé:

Umbilicus rupestris de la famille des *Crassulacea*, c'est une plante sauvage comestible car elle contient de nombreux nutriments et contient de nombreux composés phénoliques biologiquement actifs qui ont été identifiés grâce à un groupe d'études antérieures caractérisé es par une variété de méthodes d'extraction représentées par macération et ébullition, et en conséquence Un groupe de comparaisons liées à ces méthodes utilisées dans des études précé dentes et dans notre étude utilisant macération et Soxhlet a été couvert. Comme Umbilicus rupestris est une plante médicinale largement utilisée dans le folklore européen et africain, son efficacité biologique a été étudiée dans ces domaines et s'est avérée compatible.

Mots clés: Umbilicus rupestris, méthodes d'extraction, composés phénoliques, activité biologique.

الفهرس

الإهداء

شكر وعرفان

الملخص I

الفهرس II

قائمة الرموز والإختصارات V

قائمة الأشكال VI

قائمة الجداول VII

قائمة الصور VIII

قائمة المخططات VIII

قائمة الخرائط VIII

المقدمة 2

الجزء الأول:الدراسة النظرية

الفصل الأول: عموميات عن *Umbilicus rupestris*

I-1-النباتات الطبية 5

I-2-عائلة المخلديات *"Crassulaceae"* 5

I-2-1-تعريف العائلة 5

I-2-2-التصنيف النظامي 5

I-2-3-مكان النمو 6

I-2-4-دراسات سابقة لعائلة المخلديات *"Crassulaceae"* 6

I-3-جنس *"Umbilicus"* 9

I-3-1- تعريف جنس *"Umbilicus"* 9

I-4-نبتة السرة الصخرية *"Umbilicus rupestris"* 10

I-4-1-الوصف المورفولوجي 10

I-4-2-التصنيف النظامي 11

I-4-3- مكان النمو 11

I-4-4-الإستعمالات التقليدية 12

I-4-5-دراسات سابقة حول التكوين الكيميائي لـ *Umbilicus rupestris* 13

الفصل الثاني: الدراسة الكيميائية

II-1-الإستخلاص 17

II-1-1- الإستخلاص بإستعمال جهاز Soxhlet 18

II-1-2- الإستخلاص بالنقع 19
II-2-الفصل والتنقية 19
II-2-1- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC 19
II-2-2- كروماتوغرافيا الورقية PC 19
II-3- المواد الفعالة 19
II-3-1-الفلافونيدات 19
II-3-1-1-تعريف الفلافونويدات 19
II-3-1-2-أقسام الفلافونيدات 20
II-3-1-3-أشكال توزع الفلافونيدات في النبات 21
II-3-1-4-عزل و إستخلاص الفلافونويدات 22
II-3-1-5- فعالية الفلافونيدات البيولوجية 22

الجزء الثاني: الدراسة التطبيقية

الفصل الأول: العمل التطبيقي

I-1-الدراسة العملية المنجزة على *Umbilicus rupestris* 28
I-1-1-تحضير العينة النباتية 28
I-1-2-الإختبارات الكيفية 29
I-1-3-الإستخلاص 30
I-1-3-1-الإستخلاص بالنقع 31
I-1-3-2-الإستخلاص المتعدد على الساخن (Soxhlet) 33
I-1-3-1-2-تأثير المذيب على الإستخلاص بجهاز Soxhlet 34
I-2-الدراسات السابقة لـ *Umbilicus rupestris* 35
I-2-1-تجارب سابقة لإستخلاص نبتة *Umbilicus rupestris* 35
I-2-2-الفعالية البيولوجية 37

الفصل الثاني: النتائج ومناقشتها

II-1-نتائج الدراسة العملية المنجزة على *Umbilicus rupestris* 40
II-1-1-الإختبارات الكيفية 40
II-1-2- نتائج الإستخلاص بالنقع و Soxhlet 42
II-1-2-1-تحليل النتائج 43
II-1-2-2-المقارنة بين طريقتي الإستخلاص - النقع و Soxhlet - 43
II-1-2-3-تأثير المذيب على الإستخلاص بجهاز Soxhlet 44

II-2-نتائج الدراسات السابقة لـ *Umbilicus rupestris* 45
II-2-1-تجارب إستخلاص نبتة *Umbilicus rupestris* 45
II-2-2-الفعالية البيولوجية 48
II-2-2-1-من حيث الفعالية المضادة للأكسدة 48
II-2-2-2-من حيث الفعالية المضادة للميكروبات 49
II-3-النتيجة العامة للدراسات 50
II-3-1-نتيجة الإستخلاص 50
II-3-2-نتيجة الفعالية البيولوجية 50
الخلاصة 51
قائمة المراجع 52
الملحق 55

قائمة الرموز والإختصارات

Aromatic	Ar
La Cencentration efficace médiane	CE50
Cloroform	$CHCl_3$
(2 ,2-diphényl-&-picrylhydrazyl)	DPPH
Elctro-Spray Ionization / Mass spectroscopy	ESI/Ms
Ether de Pétrole	EtPt
Hight Performance Liquid Cromatography/ Diode-array detector	HPLC/DAD
Methanol	MeOH
Meddium-Pressure Liquid Cromatography	MPLC
Nuclear Magnetic Resonance	NMR
Paper Cromatography	PC
Thin Layer Cromatography	TLC
Umbilicus Rupestris	U.R.

قائمة الأشكال

الرقم	عنوان الشكل	الصفحة
(1)	المركبات التي تم الكشف عنها في جنس *Umbilicus*	9
(2)	المركبات التي تم فصلها من جنس *Umbilicus*	10
(3)	المركبات المفصولة من *Umbilicus rupestris*	13
(4)	الهيكل الفلافونويدي الأساسي	20
(5)	أمثلة عن فلافونويدات سكرية	22
(6)	آلية تحول الفلافونويد إلى كينون مستقر	23
(7)	مواقع مجموعة OH في Quercetine، Morine و Kaempferol	23
(8)	الإختلاف بين صيغة Quercetine و Catechin	23
(9)	تشكيل معقدات "فلافانويد – أيون معدن"	24
(10)	تفاعل الفلافونويد مع NaOH	41
(11)	تفاعل القلويد مع كاشف Dragendroff	41
(12)	تفاعل تشكل المعقد من Gallic acid	41
(13)	تفاعل الغليسيدات مع كاشف Fehling	42
(14)	تفاعل تشكل رواسب الصابون من المواد الدهنية	42
(15)	تأثير إستعمال مذيبات مختلفة خلال الإستخلاص بجهاز**Soxhlet** عند 95 °C	44
(16)	صيغة مركب الفانيلين	45
(17)	صيغة مركب 2-O-caffeoyl malate	46

قائمة الجداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
(1)	بعض المركبات المفصولة من عائلة *Crassulaceae*	7
(2)	نتائج الإختبارات الكمية لمستخلصات $CHCl_3$- MeOH-EtPt	13
(3)	المركبات الفينولية المكشتفة في *Umbilicus rupestris*	14
(4)	المواد الغذائية وكميتها في U.R. الطازجة	15
(5)	بعض تقنيات الإستخلاص المستعملة وشروطها	17
(6)	الأقسام الأساسية لمختلف الفلافونيدات	21
(7)	مختلف الفاعليات البيولوجية لمجموعة من الفلافونيدات	24
(8)	الأدوات والمواد المستعملة	28
(9)	نتائج الإختبارات الكيفية	40
(10)	نتائج كتل ومردود كل مستخلص في كل من النقع وSoxhlet	42
(11)	المركبات المفصولة وكمياتها في 5غ من مستخلص الأسيتات	45
(12)	المركبات الفينولية وكمياتها (ملغ/غ مستخلص)	46
(13)	كميات ومردود 1كلغ من أوراق النبتة	48

قائمة الصور

الرقم	الصورة	الصفحة
(1)	الإختلاف بين الأنواع الثلاث على مستوى الأزهار	9
(2)	مكونات نبتة *Umbilicus rupestris*	10
(3)	على اليمين ألية عمل جهاز Soxhlet وعلى اليسار مكوناته	18
(4)	(أ-ب-ج) أطوار الإستخلاص بـ Soxhlet، د-المستخلصات بعد التجفيف	34

قائمة المخططات

الرقم	عنوان المخطط	الصفحة
(1)	الأقسام الأساسية في العمل التطبيقي	27
(2)	مراحل تحضير العينة النباتية	29
(3)	مراحل الإستخلاص بالنقع	32
(4)	مراحل الإستخلاص سائل-سائل	33
(5)	مراحل الإستخلاص بجهاز soxhlet	34
(6)	مراحل إستخلاص أوراق *Umbilicus rupestris* حسب Viornery	35
(7)	إستخلاص الأوراق بالنقع بمذيبات متسلسة القطبية	37

قائمة الخرائط

الرقم	عنوان الخريطة	الصفحة
(1)	مناطق توزع عائلة *Crassulaceae* في العالم	6
(2)	توزع نبتة *Umbilicus rupestris* حول العالم وفي الجزائر	12
(3)	منطقة جني نبتة *Umbilicu rupestris* بالجزائر	28

المقدمة

إستخدمت البشرية، طوال فترة وجودها، المواد النباتية ليس فقط كمصدر للتغذية وإنما أيضا للعديد من الأغراض الأخرى أين أصبحت معرفة الفرص التي توفرها الثروة الطبيعية مفهومة على نطاق واسع مع تطور الثقافات والحضارات البشرية.

بالإضافة إلى المركبات الضرورية لنمو وتكاثر النبات مثل الكربوهيدرات، الأحماض النووية والأمينية ومركبات عالية الوزن الجزيئي كالبروتينات والسيليلوز التي تلعب دورا في التركيب الخلوي، تصنع الخلايا عددا هائلا من المواد المسماة بالمستقلبات الثانوية التي تنتج كإستجابة للمنبهات الخارجية على سبيل المثال: العدوى، التغيرات الغذائية أو المناخية وقد تتراكم في أجزاء معينة من النبات.

تعلمت الثقافات القديمة إستغلال خصائص المستقلبات الثانوية بعدة طرق حيث تم إستخدام النبات أو جزء منه كسموم، مسكنات ومنشطات، مواد حافظة وعوامل دباغة، ومع زيادة فهمنا للكيمياء والعلوم الطبيعية الأخرى تم بنجاح عزل وتحديد المركبات النشطة لهذه النباتات المستخدمة تقليديا بظهور علم الفيتوكيمياء [1].

بمرور الزمن، تطور موضوع الفيتوكيمياء أو كيمياء النبات كنظام جامع ما بين الكيمياء العضوية للمنتج الطبيعي والكيمياء الحيوية النباتية وترتبط إرتباطا وثيقا بكليهما إذ يهتم هذا العلم بالتنوع الهائل للمواد العضوية التي تم تجميعها وتطويرها وتتعامل مع هياكلها، تصنيعها الحيوي، أيضها، توزعها الطبيعي ووظائفها البيولوجية.

في كل هذه الدراسات والعلوم السابقة، هناك كبداية حاجة إلى طرق لفصل وتنقية العديد من هذه المكونات الموجودة بشكل مختلط في النبات وذلك بالإستغلال الناجح لتقنيات الإستخلاص المعروفة وتطويرها لحل المشكلات التي تعترض هذه العلمية وجودتها [2].

فما هي المراحل الأساسية التي تتبعها الدراسة الفيتوكيميائية لمعرفة طبيعة المواد المسؤولة عن فعاليات العقار النباتي ؟ لمعرفة ذلك وبهدف محاولة إظهار جانب من الدراسة الفيتوكميائية أخذ كمثال لتطبيقها نبتة *Umbilicus rupestris* المنحدرة من عائلة *Crassulaceae* حيث كان العمل عليها موزع على مراحل في الأجزاء والفصول التالية:

الجزء الأول والمتكون من فصلين:

* **الفصل الأول " عموميات عن *Umbilicus rupestris*":** تبرز هذه الدراسة الخواص المورفولوجية والدراسات السابقة التي تناولت هذا النبات لمعرفة نوعيته ونوع المركبات التي يحتويه وبالتالي إيجاد فكرة عن كيفية إستخلاصه.

* **الفصل الثاني "الدراسة الكيميائية"** يتناول معطيات عامة عن الدراسة الفيتوكيميائية بإعطاء فكرة عن الإستخلاص والتنقية والمبادئ العامة التي تتبعها وكذا الفعاليات البيولوجية للفلافونويدات.

يتناول الجزء الثاني أيضا فصلين:

* **الفصل الأول "العمل التطبيقي":** طبقت فيه نوعين من طرق الإستخلاص وهما النقع و Soxhlet للمقارنة بينهما وكذا المقارنة بين الإستخلاص بمذيبات متسلسلة القطبية مباشرة من العينة النباتية أو من المستخلص الخام (المطبقتين على النقع و Soxhlet). ولإظهار أفضل حول تأثير طريقة الإستخلاص على نوع المواد المفصولة والفعالية البيولوجية لها أخذت مجموعة من المقارنات لتجارب سابقة أنجزت على نبتة *Umbilicus rupestris*.

* **الفصل الثاني "النتائج ومناقشتها":** نوقشت فيه نتائج المسائل المطروحة في العمل التطبيقي.

الدراسة النظرية

الجزء الأول

عموميات عن *Umbilicus rupestris*

الفصل الأول

تمهيد:

طوال عدة قرون وإلى يومنا هذا، لايزال الإنسان يعتمد على الطبيعة في تلبية إحتياجاته المعيشية، ولكون الصحة من أهم هذه الإحتياجات كانت للنباتات الطبية أهمية بالغة في صناعة الأدوية سواء كانت شعبية أو مصنعة.

I-1-النباتات الطبية:

يمكن القول عن نبات أنه نبات طبي إذا كان يمتلك - أحد أجزائه أو بشكله الكامل - خصائص علاجية عند إستخدامه بجرعة معينة وبطريقة دقيقة.

ونسمي دواء ذو أصل نباتي "عقار"حسب مدونة الصحة العامة " أي مادة أو تركيب له خصائص علاجية أو وقائية فيما يتعلق بأمراض الإنسان أو الحيوان، وكذلك أي منتج يمكن أن يتناول من قبل البشر أو الحيوانات بهدف إجراء تشخيص طبي أو إستعادة أو تعديل وظائفه الحيوية" [3].

I-2-عائلة المخلديات "*Crassulaceae* " :

I-2-1-تعريف العائلة:

المخلديات *Crassulaceae* (وتعرف أيضا بـ *Stonecrop* أو *Orpine*)، من رتبة *Saxifragales* بمعنى كاسريات الحجر، هي عائلة من النباتات المزهرة ثنائية الفلقة ذات طبيعة عصارية، غالبا ما تكون عشبية وأحيانا على شكل شجيرات أو أشجار معمرة، ومنها ما يحتوي على أزهار جذابة تستخدم بشكل كبير لأغراض الزينة [4].

نسبة إلى سمكها وطبيعتها العصارية أشتق الإسم العلمي لعائلة *Crassulaceae* من الكلمة اللاتينية *Crassus* والتي تعني سميك الموافقة للشق *Crassula* أما اللاحقة *ceae* فهي مميزة لتسمية العائلات النباتية [5].

تتكون هذه العائلة من 34-35 جنس و 23 جنس هجين بإجمالي 1400 نوع، حيث تشكل *Sedum* أكبر أجناسها بـ 428 نوع إضافة إلى أجناس أخرى كبيرة هي : *Aeonium* (36 نوع)، *Crassula* (195 نوع)، *Dudleya* (47 نوع)، *Echeveria* (139 نوع)، *Kalanchoe* (144 نوع)، *Rhodiola* (58 نوع)، *Sempervivum* (63 نوع)، *Tylecodon* (46 نوع) [6].

I-2-2-التصنيف النظامي [7]:

المملكة: نباتية	«Haeckel 1866 »	Kingdom : Plantae
الشعبة: بذريات		phylum : Spermatophyta
القسم: مغنولانية	«Cronquist et al. 1996 »	Class : Magnoliopsida
القسم: ثنائيات الفلقة الحقيقية	«Doyle and Hotton 1991 »	Class : Eudicots
الرتبة: كاسريات الحجر		Order : Saxifragales
العائلة: المخلديات		Family : Crassulaceae

I-2-3-مكان النمو:

أ-من حيث البيئة: تنمو معضم أنواع *Crassulaceae* في المناطق الدافئة والجافة ذات مناخ قاسي، البرك المائية الموسمية والأحوض المائية الدائمة، الصخور المكشوفة بالكامل وداخل الغابات المضللة، بينما ينمو البعض الأخر بشكل أفضل في المناطق الإستوائية وشبه الإستوائية المعتدلة.

ب-من حيث توزعها حول العالم: تنتشر *Crassulaceae* على نطاق واسع في جميع القارات إذ تتمتع بحضور كبير في أمريكا، إفريقيا والمناطق التي بين أوروبا وأسيا وتنتشر بشكل أقل في أستراليا حيث:

تنمو أنواعها غرب أوروبا في المناطق المنخفضة وشبه البحرية كشبه الجزيرة الإيبيرية، أما في الشرق فتتواجد بشكل كبير في جزر القوقاز والمناطق التشيك-سلوفاكية.

في أمريكا تتواجد بشكل خاص في المكسيك، أما في إفريقيا وبإستثناء الصحراء الكبرى فتنتشر بشكل عام في جميع أنحاء القارة مع تركيز ملحوظ للأجناس والأنواع في الجنوب الإفريقي [8].

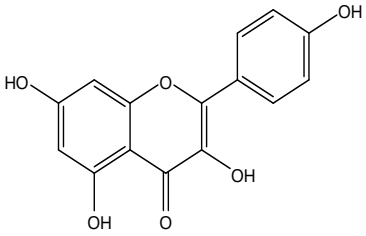
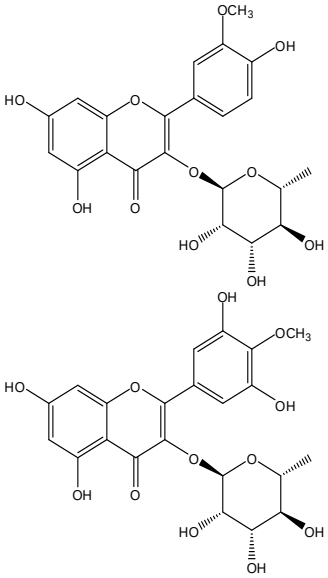
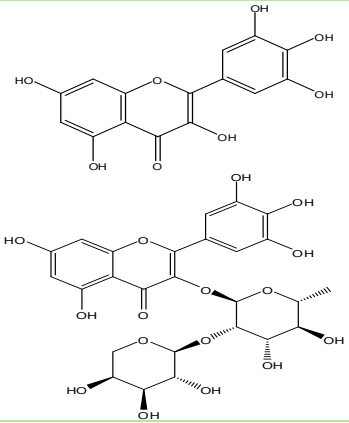
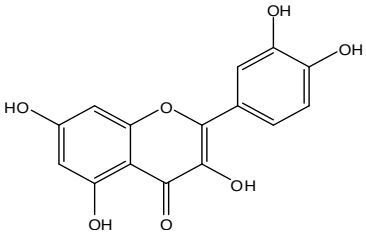
أما بالنسبة للجزائر فتتواجد هذه العائلة بنسبة 0.65 % من إجمالي العائلات موزعة على 27 نوع [9].

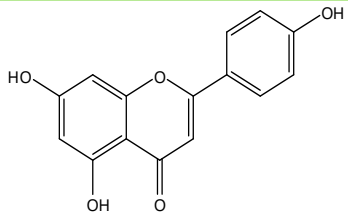
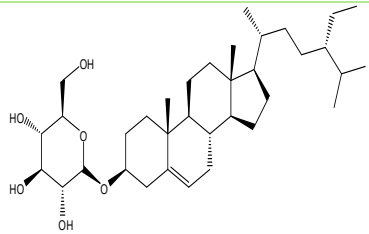
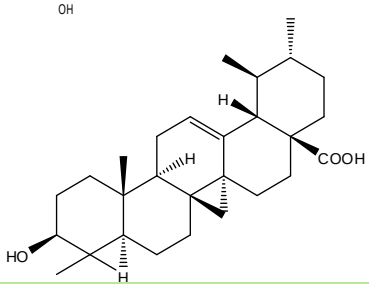
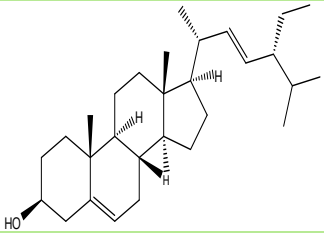
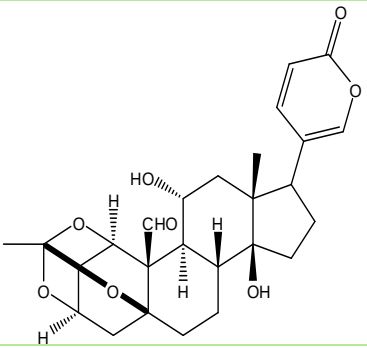
خريطة 1: مناطق توزع عائلة *Crassulaceae* حول العالم [10]

I-2-4-دراسات سابقة لعائلة المخلديات "*Crassulaceae*":

أظهرت الدراسات الفيتوكيميائية أن معظم النباتات التي تنتمي إلى هذه العائلة تحتوي على 55 نوعا مختلفا من المركبات الفينولية وثمانية مركبات ستيرويدية، كردينولات وبوفادينوليدات والجدول 1 يوضح بعضا منها [6]:

جدول 1: بعض المركبات المفصولة من عائلة *Crassulaceae*.

إسم المركب	بنيته	النوع النباتي	المرجع
المركبات الفينولية			
Kaempferol		*Crassula capitella, Jovibarbasobolifera. Orostachysjaponicas, Rhodiola sachalinensis.* *Bryophyllum Pinnatum*	S.S.El-hawary,2016 K.I.Choe,2012 K.Furer,2013
Isorhamnetin-3-O-α-L-1C4-rhamnopyranoside, **4'-methoxy-myricetin-3-O-α-L-1C4-rhamnopyranoside**		*K.marmorata*	R.Milad, 2014
Myricetin **Myricetin 3-O-α-L-arabinopyranosyl-(1/2)-α-L-rhamnopyranoside**		*Bryophyllum pinnatum*	K.Furer,2013
Quercetin		*C. capitella, Kalanchoe beharensis, K. longiflora, B. pinnatum, J. sobolifera and O. japonicas*	S.S.El-hawary,2016 K.Szewczyk, 2014 A.N.Roho,2012 K.I.Choe,2012 K.Furer,2013 N.Ghaly,2014

C.Bensouici, 2016	*Sedum caeruleum.*		**Apigenin**
الستيرولات و التربينات الثلاثية			
C.Bensouici, 2016	*Sedum caeruleum*	 	**β-sitosterol-3-O-β-D-galactopyranoside** **Ursolic acid**
A.Kamboj, 2010	*Bryophyllum pinnatum*		**Stigmasterol**
كردينولات و بوفادينوليدات			
K.Furer,2013 M.Oufir, 2015	*Bryophyllum pinnatum*		**Bryophyllin A**
H.C.Huang 2013	*Kalanchoe tubiflora*		**kalantubolide A**

وفيما يخص الأنشطة البيولوجية فقد بينت الدراسات إمتلاك العائلة العديد من الفوائد الطبية مثل: مضادة للأكسدة – مضادة لفرط السكر – مضادة للميكروبات – مضادة للتقرح – مضادة للآلم – علاج أمراض الكبد – مضاد للإلتهاب المفاصل والتخثر – مضاد للملاريا والسرطان ... [6].

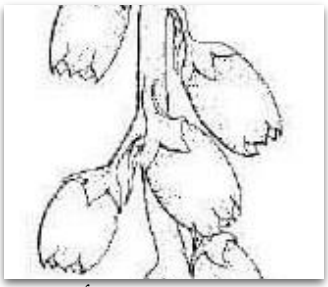
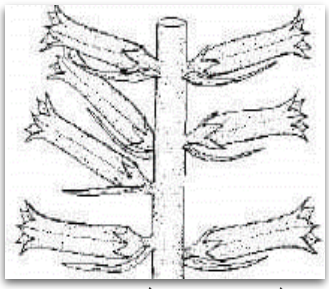
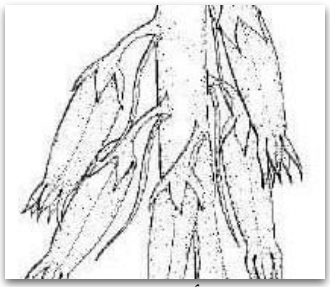
I-3-جنس "*Umbilicus*" :

I-3-1- تعريف جنس "*Umbilicus*" :

السرة *Umbilicus*، من النباتات المعمرة والعشبية ذات لون قاتم فهي بذلك تنتمي للسلالات المظلمة (نسبة لألوان الأنواع فيها)، تتوزع بشكل أساسي في مناطق البحر الأبيض المتوسط وبعض المساحات الإفريقية. يندمج تحت هذا الجنس من 10-12 نوع ومن أشهرها [11]:

1/*U .heylandianus* – 2/*U.gaditanus* – 3/*U.rupestris*

الإختلاف الأساسي بين هذه الأنواع الثلاث يكمن في الأزهار ويكون كما يلي [11]:

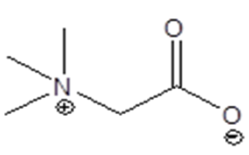
U.rupestris *	*U.gaditanus* *	*U .heylandianus* *
		
• تكون مجموعة الأزهار في الشكل الكأسي ذات لون أخضر،عادية متدلية وتشغل ثلثي الساق • غياب الإختناق على مستوى الساق	• الزهور بشكل عام تتوضع أفقيا • تشغل الأزهار نصف طول الساق	• تتميز الأزهار في الشكل الكأسي باللون الأصفر وتظهر إختناقا واضحا على مستوى الساق. • تمتلك بتلات خماسية

صورة 1: الإختلاف بين الأنواع الثلاث على مستوى الأزهار

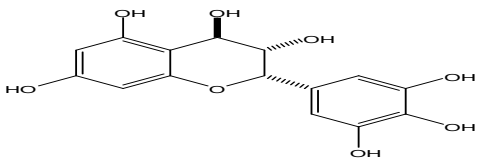
ملاحظة: للتمكن من التصنيف الصحيح والدقيق للنوع النباتي من جنس *Umbilicus* من المستحسن دراسة النبتة وهي طازجة لأنه بعد القيام بالتجفيف والضغط يتم تغيير العديد من هياكل الأزهار وبالتالي تختلط الخصائص المميزة لكل نوع.

I-3-2-دراسات سابقة لجنس *Umbilicus* [12]:

تم الكشف عن وجود Betaines من طرف "Adrian-Romero M.,1998" ومركب Leucodelphinidin من قبل " CombierH, Lyon, 1968".



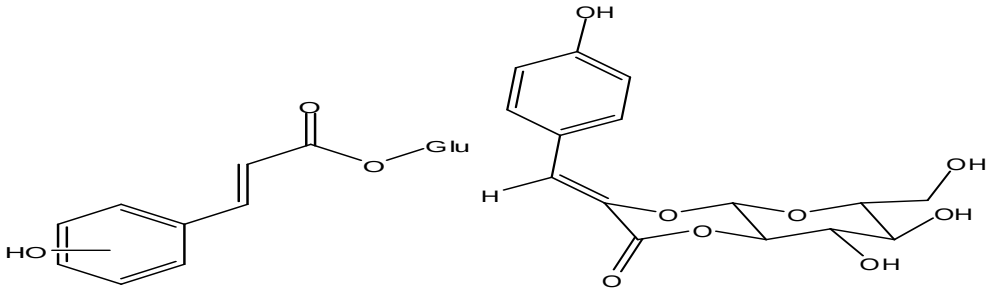
Betaines



Leucodelphinidin

الشكل 1: المركبات التي تم الكشف عنها في جنس *Umbilicus*

أما Z-venusol و Phenylpropanoid glycoside فقد تم عزلهما من قبل "Pagani F, 1990"



Z-venusol Phenylpropanoid glycoside

الشكل 2: المركبات التي تم فصلها من جنس *Umbilicus*

I-4-نبتة السرة الصخرية "*Umbilicus rupestris*":

I-4-1-الوصف المورفولوجي:

سرة صخرية *Umbilicus rupestris* " (Salisb.) Dandy,1948" هي نبتة برية صالحة للأكل تنتمي إلى عائلة المخليات *Crassulaceae*. طولها من 10-40 سم، تتميز بجذع درني رقيق ينبع بشكل مستقيم ويكون بسيط أو متفرع قليلا. أما الأوراق فهي جذرية سلسة ذات صفة عصارية، دائرية الشكل ومقعرة إلى حد ما (أوراق مخرمة تشكل سرة ومن هنا أخذت أسمها "سرة صخرية") وتشكل صخرة عنقودية تشغل الساق بالكامل.

أزهارها تكون بيضاء أو حمراء اللون، خنثوية ذات شكل كأسي، مخملية معلقة ومتعددة في مجموعات، تمتلك بتلات تظهر في شكل أنبوبي في خمس أقسام صغيرة مستقيمة ومدببة بالإضافة إلى خمس مبايض مثبة على قرص الزهرة. تلقيحها يكون خارجي (عن طريق الحشرات) أو داخلي (ذاتي) وتزهر عموما في الأشهر ماي-جويلية [13].

صورة 2: مكونات نبتة *Umbilicus rupestris* [14]

I-4-2-التصنيف النظامي [15]:

المجال: حقيقيات النوى		Field : Biota
المملكة: نباتية	"Haeckel,1866"	Reign : Planta
تحت المملكة: نباتات خضراء		Under-Reign : Viridaeplant
القسم: كنباثانيات	"C.Agardh,1825"	Class: Equisetopsida
الشعبة: وعائية	" Sinnott ex Cavalier-Smith, 1998"	Clade : Tracheophyta
الطائفة: بذريات		Clade : Spermatophyta
تحت-القسم: مغنولانيات	"Novák ex Takht., 1967"	Under-Class: Magnoliidae
الرتبة العليا: Saxifraganae	"Reveal, 1994"	Super-Ordre : Saxifraganae
الرتبة: كاسريات الحجر	"Bercht. & J.Presl, 1820"	Ordre: Saxifragales
العائلة: المخليات	" J.St.-Hil., 1805"	Family : Crassulaceae
الجنس: سرة	"1805 "	Genus : Umbilicus DC.
النوع: سرة صخرية	" (Salisb.) Dandy, 1948 "	Species : Umbilicus rupestris

إضافة إلى *Umbilicus rupestris* تمتلك النبتة 16 إسما أشهرها *Nombrile –Umbilicus Veneris de vénus* والتي تشير لتواجدها على الصخور بشكل رأسي أو *Umbilicus of rocks* وتشير لتواجدها على الصخور [13].

I-4-3- مكان النمو :

أ-من حيث البيئة: تنمو على الجدران الحجرية القديمة، المنحدرات وعلى الأوجه الصخرية المظللة.

خصائص التربة من حيث :

1- **درجة الحموضة** : تفضل نبتة **U.R.** الأوساط الحامضية بدلا من القاعدية.

2- **الرطوبة** : تميل للمناطق الجافة أكثر من الرطبة.

3- **السطح** : تعيش في المناطق الصخرية أكثر من الأوساط الطينية.

4- **درجة الملوحة**: تفضل الأوساط قليلة الملوحة.

5- الوسط غني بالمغذيات ويحتوي على عدد قليل من المواد العضوية.

خصائص الوسط الهوائي من حيث :

1- **الإضاءة**: تتواجد في الأماكن قليلة الإضاءة.

2- **درجة الحرارة :** تعيش في المناطق الحارة.

3- **الرطوبة:** تتميز الأماكن التي تتواجد فيها **U.R.** بجو قليل الرطوبة [13].

ب-من حيث توزعها في العالم: تتوزع في أوروبا الغربية والجنوبية، آسيا الصغرى وشمال إفريقيا كالجزائر أين تنمو بمناطق الشرق مثل باتنة وتبسة ومناطق الوسط كما هو موضح باللون البرتقالي على الخريطة 2:

خريطة 2: توزع نبتة *Umbilicus rupestris* حول العالم وفي الجزائر [معالجة شخصية]

I-4-4-الإستعمالات التقليدية :

تعرف *Umbilicus rupestris* في الوسط الشعبي بالجزائر بإسم الوذان، أما في بريطانيا وإيرلندا فتعرف بـ pennywort وتعني السنافر [16].

بشكل عام، تستعمل الأوراق الأصغر التي تكون في فصل الشتاء وأوائل فصل الربيع كمصادر غذائية (عندما ينضج النبات تصبح الأوراق مرة لاذعة المذاق لا تؤكل) [16].

إضافة إلى ذلك أفادت الدراسات عن فائدة أوراق U.R. في الطب التقليدي وتحديدا ضد تلوث الجلد وتهيجه، لعلاج الدمامل، كمطهرة للجروح ومعالجة للحروق [17].

في التقاليد الشعبية لبريطانيا وإيرلندا تم إستعمال U.R. لتهدئة وعلاج آلام الجلد والأنسجة، علاج أنواع مختلفة من طفح الجلد. كما أستخدمت الأوراق على شكل كمادات أو طحنها بشكل يمكن أن يخلط مع كريم أو دهن فتتحول إلى مرهم [16].

المنقوع المحضر من الأوراق له خصائص مدرة للبول ويمكن إستخدامه كمطهر للعيون [17].

أما الأوراق المحضرة مع زيت الزيتون فتستخدم كمرهم لعلاج البواسير [16].

وبذلك كان ينظر إلى نبتة U.R. على أنها تمتلك فقط خصائص للعلاج سطحي للجسم لكونها تنمو على الأسطح "المنزل والصخور"، حتى أشار الباحث "SALTER. 1868 " في إنجلترا إلى تأثراتها ضد الصرع [18].

I-4-5-دراسات سابقة حول التكوين الكيميائي لـ *Umbilicus rupestris "Dandy (Salisb.),1948" :

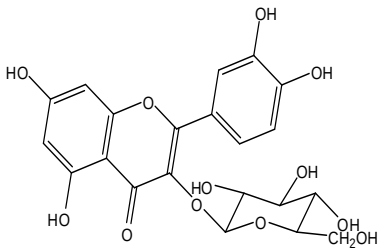
*بينت الإختبارات الفيتوكيميائية الكيفية لـ "BENHOUDA A., 2015" التي أجريت على أوراق نبتة *Umbilicus rupestris* أخذت من ولاية باتنة بالجزائر على إحتوائها كميات معتبرة من القلويدات، التربينات الثلاثية والمركبات الفينولية وكميات قليلة من العفصيات في مستخلص MeOH [19].

أما الإختبارات الكمية لمستخلصات 1 كلغ من الأوراق موضحة في الجدول 2 كما يلي [19]:

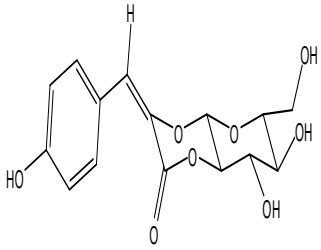
جدول 2: نتائج الإختبارات الكمية لـ 0.2 ملغ\مل من مستخلصات $CHCl_3$- MeOH-EtPt.

	مستخلص الإيثر البيترولي	مستخلص الكلوروفورم	مستخلص الميثانول
محتوى عديدات الفينول بـ (µg AGE/mg of extrait)	23.83 ± 0.21	95.98± 0.33	105.7± 0.37
محتوى الفلافونيدات بـ (µg QE/mg of extrait)	6.77 ± 1.24	20.72± 0.37	29.56± 1.88
محتوى التانينات بـ (µg (QE/mg of extrait	13.27 ± 0.69	22.93± 0.07	25.48± 0.70

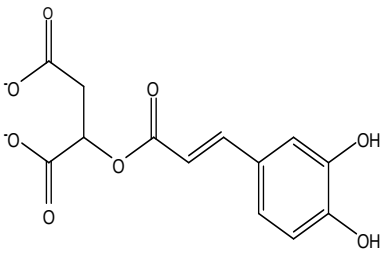
*بالنسبة للمواد الفينولية فقد تم عزل وتنقية المركبات التالية من أوراق النبتة الجافة مأخوذة من جنوب أوروبا "فرنسا" من قبل "Viornery L., 2000": Z/E-Venusol-Isoquercitrin – 2-O-Caffeoyl malate [12].



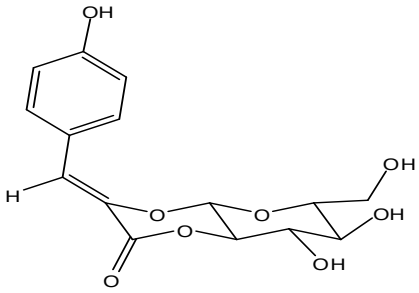
isoquercitrin



E-venusol



2-O-caffeoyl malate

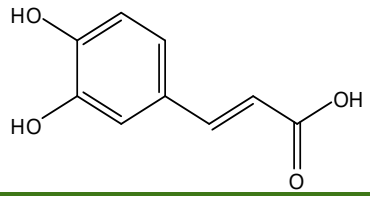
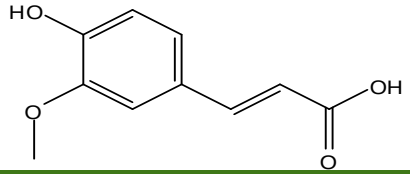
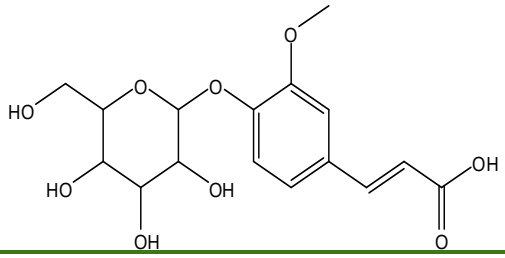
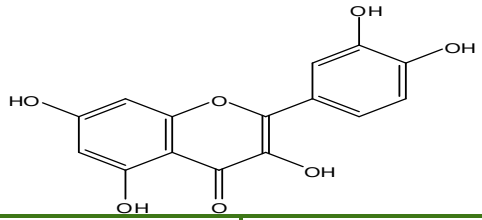
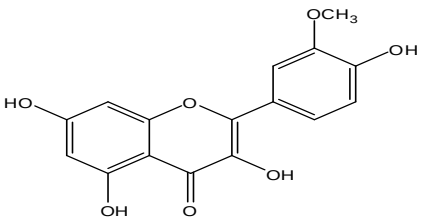


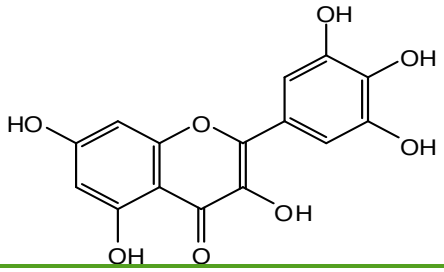
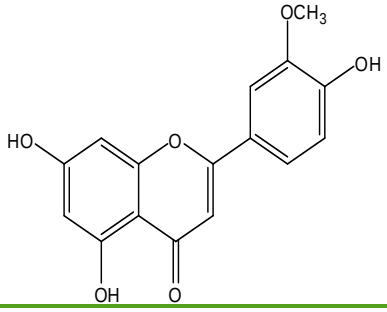
Z-venusol

الشكل 3: المركبات المفصولة من *Umbilicus rupestris* [12]

*بينما تم الكشف عن 16 مركبا فينوليا بواسطة HPLC-DAD-ESI/MS من قبل "Júlia H.,2019" والجدول 3 يوضح ذلك [16]:

جدول 3: المركبات الفينولية المكشتفة في *Umbilicus rupestris*.

المركبات الفينولية	نوعها
venusol	لم يحدد z أو E
الاحماض العضوية (مشتقات hydroxycinnamic)	Caffeic acid 
	Ferulic acid 
	Ferulic acid hexoside 
مشتقات الفلافونول الغليكوزيدية	Quercetin-O-glucuroside-O-hexoside 
	Isorhamnetin 
Isorhamnetin-O-pentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
Isorhamnetin-O- deoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
Isorhamnetin-O-malonylpentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
Isorhamnetin-O-malonyldeoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
	Myricetin
Myricetin-O-glucuroside-اثنان من O- hexoside	
Myricetin-O-malonylglucuroside-	

		O-hexoside
مشتقات الفلافون الغليكوزيدية	Chrysoeriol 	Chrysoeriol-O-pentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)
		Chrysoeriol-O-deoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)
		Chrysoeriol-O-malonylpentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)
		Chrysoeriol-O-malonyldeoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)

وكذا وجد مركب أمونيا ثلاثي ميثيل أمين من قبل الباحث "Wertheim, 1868" في محلول ملحي من الرنجة والذي يماثل ذلك المركب الموجود في زيت كبد سمك القد [18].

*ولكون النبتة صالحة للأكل فقد تم تحديد المواد الغذائية المبينة في الجدول 4 [16]:

جدول 4: المواد الغذائية وكميتها في U.R. الطازجة.

المادة الغذائية	الكمية
بروتينات	1.83 غ/100 غ من نبتة طازجة
ليبيدات	0.255 غ/100 غ من نبتة طازجة
كربوهيدرات	3.90 غ/100 غ من نبتة طازجة
طاقة	25.2 كيلو كلوري/100 غ من النبتة طازجة
سكر المانوز manose	0.902 غ/100 غ من نبتة طازجة
سكر السكروز sucrose	0.082 غ/100 غ من نبتة طازجة
أحماض دهنية	
فيتامين E	790 ميكرو غ/100 غ من النبتة طازجة
رطوبة	عالية

خلاصة:

بعد التعرف على خصائص عائلة *Crassulaceae* ومميزات الجنس وكذا الصفات المورفولوجية والخصائص البيولوجية لنبتة *Umbilicus rupestris* وذلك بإجراء مسح لمختلف الدراسات العلمية السابقة للنبتة التي أثبتت أهميتها في الميدان الطبي وكذا الإستعمال التقليدي.

الدراسة الكيميائية

الفصل الثاني

تمهيد:

تتواجد المركبات الكيميائية الفعالة بيولوجيا والمنتجة طبيعيا بإختلاف مصادرها على شكل مخاليط يتم فصلها وتنقيتها بطرق محددة من تقنيات الفصل ويكشف عنها بالطرق التحليلية المعروفة [20].

II-1-الإستخلاص:

الإستخلاص، تقنية من تقنيات الفصل الكيميائي التي تعتمد عموما على الفرق في ذوبانية المركبات الطبيعية في مذيبات عضوية بصفة إنتقائية.

وفي الآونة الأخيرة تعددت تقنيات الإستخلاص لمخابر البحث وخاصة الكيميائية منها لتكون الخطوة الأولى لفصل المنتجات الطبيعية من الأنسجة النباتية ومن بين تقنيات الإستخلاص يوضح الجدول 5 بعضا منها [21]:

جدول 5: بعض تقنيات الإستخلاص المستعملة وشروطها.

الطريقة	المذيبات المستعملة	درجة الحرارة	الضغط	مدة الإستخلاص	حجم المذيبات المستهلكة	قطبية المواد المستخلصة
النقع	ماء، مذيبات مائية وغير مائية	T الغرفة	P الجوي	طويلة	كبير	تعتمد على المذيبات المستعملة
الغلي	ماء	تحت التسخين	P الجوي	متوسطة	غير محدد	مركبات قطبية
الإستخلاص الإرتدادي	مذيبات مائية وغير مائية	تحت التسخين	P الجوي	متوسطة	متوسطة	تعتمد على المذيبات المستعملة
الإستخلاص بـ Soxhlet	مذيبات عضوية	تحت التسخين	P الجوي	متوسطة	متوسطة	تعتمد على المذيبات المستعملة
الإستخلاص السائل المضغوط	ماء، مذيبات مائية وغير مائية	تحت التسخين	عالي	قصيرة	قليل	تعتمد على المذيبات المستعملة
الإستخلاص بالسوائل فوق الحرجة	سوائل فوق حرجة	قريب من T الغرفة	عالي	قصيرة	قليل	مركبات غير قطبية إلى متوسطة القطبية
الإستخلاص بالأمواج فوق الصوتية	ماء، مذيبات مائية وغير مائية	T الغرفة أو تحت التسخين	P الجوي	قصيرة	متوسطة	تعتمد على المذيبات المستعملة
الإستخلاص بأمواج الميكروويف	ماء، مذيبات مائية وغير مائية	T الغرفة	P الجوي	قصيرة	متوسطة	تعتمد على المذيبات المستعملة

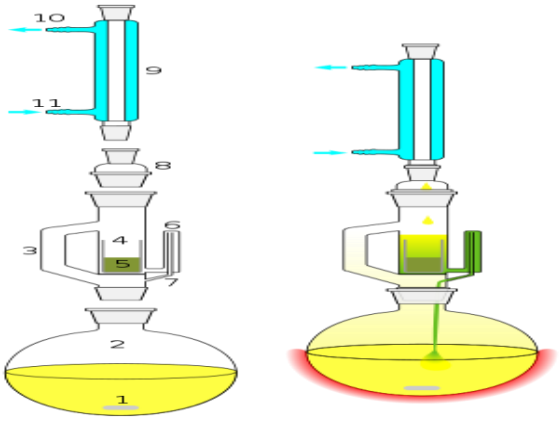
الإستخلاص بالمجال الكهربائي النابض	ماء، مذيبات مائية وغير مائية	T الغرفة أو تحت التسخين	P الجوي	قصيرة	متوسطة	تعتمد على المذيبات المستعملة
الإستخلاص بالإنزيمات	ماء، مذيبات مائية وغير مائية	T الغرفة أو تسخين بعد المعالجة الإنزيمية	P الجوي	متوسطة	متوسطة	تعتمد على المذيبات المستعملة
التقطير المائي و بالبخار	ماء	تحت التسخين	P الجوي	طويلة	غير محدد	الزيوت الأساسية(مواد غير قطبية)

إضافة إلى عوامل الإختلاف بين طرق الإستخلاص المذكورة في الجدول 5 يعود أيضا إختيار نوع الإستخلاص الدقيق إلى طبيعة المادة النباتية المراد الإستخلاص منها (خواصها المورفولوجية، كمية المياه الموجودة فيها، الجزء المدروس منها...) وعلى نوع المادة المراد عزلها ونسبة تواجدها في ذلك النبات.

ومن بين الطرق الكلاسيكية المستعملة للحصول على المركبات العضوية الموجودة في الأنسجة النباتية هو إستخلاص المادة الجافة والمسحوقة بشكل مستمر في جهاز **Soxhlet** أو بإستعمال **النقع** [22].

II-1-1- الإستخلاص بإستعمال جهاز Soxhlet:

هي عملية إستخلاص مستمرة تتم بتسخين مذيبات مختلفة القطبية تحدد نوع المركبات المستخلصة عند نقطة غليانها بشكل دوري [23]. حيث توضع العينة في حامل من السيليلوز-خرطوشة- داخل زجاجة **Soxhlet** وأثناء التشغيل يتم ملئ هذا الحامل تدريجيا بمذيب طازج مكثف من دورق التقطير، عندما يصل السائل إلى مستوى محدد من مجرى التفريغ الموجود في الزجاجة يقوم هذا الأخير بتفريغ المحتوى السائل للحامل في دورق التقطير مرة أخرى حاملا معه المواد الأيضية وتتكرر هذه العملية لمدة من 2 إلى 24 ساعة حتى يتم الإستخراج الكامل.



1-قضيب التحريك 2-دورق تحت التسخين (يجب أن يكون حجم المذيب في الدورق من 3 إلى 4 أضعاف حجم غرفة Soxhlet) 3-مسار التقطير 4-خرطوشة 5-العينة الصلبة 6-أعلى مجرى التفريغ 7-مخرج المجرى 8-مهايئ التوسيع 9-مكثف مياه التبريد 10-دخول الماء البارد 11-خروج الماء البارد.

صورة 3: على اليمين ألية عمل جهاز Soxhlet وعلى اليسار مكوناته [24].

II-1-2- الإستخلاص بالنقع:

الإستخلاص بهذه الطريقة يتم بغمر المادة النباتية عند درجة حرارة الغرفة في مذيب إنتقائي للمادة المراد إستخلاصها مع الرج الخفيف وذلك لمدة من 12 إلى 24 سا [25]. تهدف هذه المعالجة إلى تليين وكسر جدار خلية النبات لتحرير المواد الكيميائية النباتية القابلة للذوبان في هذا المذيب.

II-2-الفصل والتنقية:

فصل وتنقية المركبات العضوية هو في الأساس إستخدام طريقة أو العديد من الطرق الكروماتوغرافية، ويعتمد الإختيار الأنسب لنوع الطريقة بشكل كبير على نسبة تطاير المركبات المراد فصلها وعلى خصائص ذوبانيتها [22].

II-2-1- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC:

من بين تقنيات الكروماتوغرافيا شائعة الإستخدام في تنقية المركبات العضوية والتي تعتمد على الإختلاف في تقارب المواد بين طورين، طور ساكن مثبت على دعامة صلبة والأخر متحرك قد يكون مذيب أو مجموعة من المذيبات الممتزجة مع بعضها البعض. يوجد نوعان لكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة أحدهما تحليلية خاصة بالكشف والأخرى تحضيرية خاصة بالفصل.

II-2-2- كروماتوغرافيا الورقية PC:

كروماتوغرافيا الورق، هي أحد أنواع الكروماتوغرافيا المستوية والتي يكون فيها الطور المتحرك سائل (مذيب عضوي أو مجموعة من المذيبات) والطور الثابت ماء محتوى في مسامات الدعامة الصلبة والتي هي في أغلب الأحيان أوراق الترشيح "Wattman رقم 3 ".

II-3- المواد الفعالة:

المركبات الفينولية، هي مجموعة واسعة من المواد العضوية التي تشترك في إحتوائها على حلقة عطرية تحمل واحدة أو أكثر من مستبدلات الهيدروكسيل. تختلف هذه المجموعات عن بعضها بإختلاف عدد وتموضع الحلقات العطرية والمستبدلات الأخرى التي يمكن أن تكون مجموعات كربوكسيلية، ألكيل، غليسيدات... .

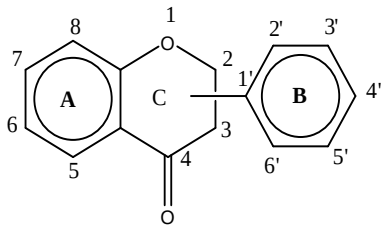
إضافة إلى الفينولات البسيطة أحادية الحلقة، تتواجد مجموعات أخرى كالفينيل البروبان، فينول الكينولات ومجموعات مهمة من المواد البوليميرية كالليجنينات، العفصيات [22].

من بين الفينولات الطبيعية، والمعروف الآلاف منها تشكل الفلافونيدات أكبر مجموعاتها وهي ما سيركز عليه هذا الفصل:

II-3-1-الفلافونيدات :

II-3-1-1-تعريف الفلافونويدات:

الفلافونويدات عبارة عن مركبات طبيعية من نواتج الأيض الثانوي، يتميز هيكلها الأساسي بوجود 15 ذرة كربون موزعة على شكل حلقتين عطريتين تسمى الوحدتين A و B ترتبطان بحلقة ثلاثية غير متجانسة " C " تحتوي على عنصر الأكسجين فتشكل Ar-C3-Ar [26].



الشكل 4: الهيكل الفلافانويدي الأساسي [26]

II-3-1-2-أقسام الفلافونيدات:

تنقسم الفلافونيدات إلى مجموعات على حسب نوع التحلق ودرجة عدم تشبع الحلقة C، في حين يحدد نوعها داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الحلقتين A وB.

أ-الفلافون : تكون الحلقة B في الموقع 2 والرابطة 2-3 غير مشبعة. تتضمن هذه المركبات مجوعات بديلة تكون في الغالب مجموعة الهيدروكسيل أو الميتوكسيل وقد يحوي بناؤها على وحدات سكرية في هيئة أحادية أو ثنائية أو أكثر، وقد ترتبط هذه الوحدات بذرة أكسجين المكونة لمجموعة الهيدروكسيل أو ترتبط مباشرة بإحدى ذرات الكربون للهيكل الفلافونيدي ومن أشهر هذه السكريات نجد :

*الهكسوزات Hexoses (D-glucose ، D-galactose).

*البنتوزات Pentoses (D-xylose ،D-arabinose ،L-arabinose).

ب-الفلافونول: تكون مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة أو مستبدلة (OR) في الموقع "3" لمركب الفلافون حيث يتم تثبيت مجموعة الهيدروكسيل في مرحلة الشالكون وهو يشّكل نواة أساسية للعديد من المركبات الطبيعية.

تنتشر كل من الفلافونات والفلافونولات بشكل واسع في الطبيعة إذ تمثل حوالي ٪80 من الفلافونيدات حيث تكون:

*الحلقة A مستبدلة بأكثر من ٪90 بواسطة مجموعة هيدركسيل حرة في الموضعين C-7، C-5 أو مستبدلة أو مرتبطة بسكريات، كما أن هناك إستبدالات أخرى تتم بواسطة مجموعات هيدروكسيلية حرة بنسب متفاوتة في الموقعين C-6،C-8 وقد تكون مرتبطة بمثيل أو بجموعات سكرية أو بجذور أخرى ويمكن لهذا الإرتباط أن يكون من نوع C-C.

*الحلقة B تكون مستبدلة بحوالي ٪ 80 في الموقع C-4' ويتم ذلك قبل مرحلة تكوين الشالكون أو ثنائية الإستبدال في الموقعين C-3' ،C-4' بعد غلق الحلقة (C) أي بعد تكوين الشالكون، وتكون ثلاثية الإستبدال في المواقع C-3' ،C-4' ،C-5' بنسبة ضعيفة أما الموقعين C-6' وC-2' فنادرا ما تكون مستبدلة [27].

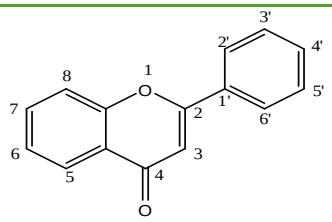
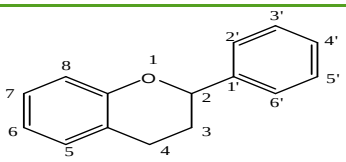
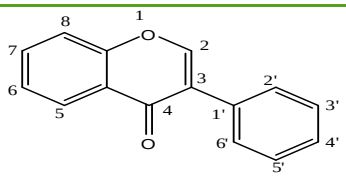
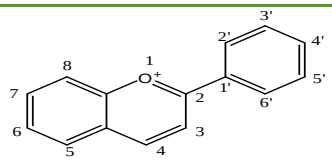
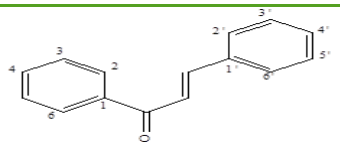
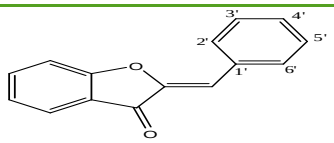
ج -الفلافانون: إذا كانت الرابطة 2-3 في هيكل الفلافون مشبعة يسمى المركب فلافانون .

د- نيوفلافون: يحوي إستبدال بين مجموعة الكربونيل والحلقة B في هيكل الفلافون. فهو يشّكل مع الإيزوفلافون الفلافونيدات الشاذّة وذلك لقلة إنتشارها في الطبيعة خلافا عن الفلافونات والفلافونولات المنتشرة على نطاق واسع في العائلة البقولية [28].

ه - إيزوفلافون :تختلف في بنائها عن الفلافونات في موقع ارتباط الحلقة B حيث تتواجد في الموضع 3 [29].

ويمثل الجدول 6 الأقسام الأساسية للفلافانويدات [30]:

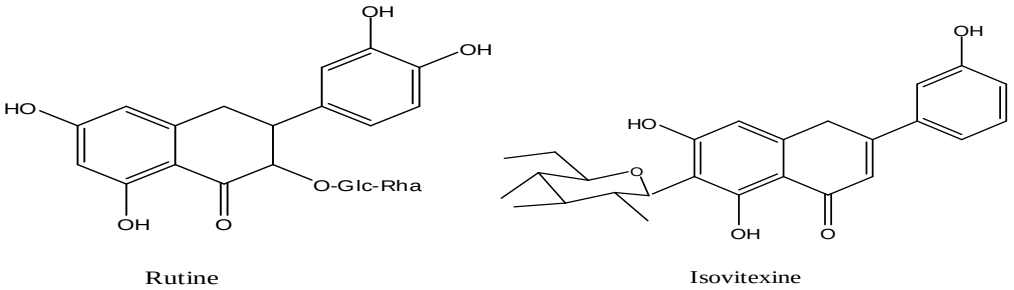
جدول 6: الأقسام الأساسية لمختلف الفلافونيدات.

التقسيم		المستبدلات الرئيسية		
الاشتقاق	الصيغة البنائية	اسم العائلة	الاسم	مجموعات الهيدروكسيل
فينيل -2- كرومون		فلافون فلافونول فلافانون (رابطة بسيطةC2-C3)	أبيجينين ميريسيتين بيتين	'4 ,5,7 '5,'4,'3,5,7,3 '4 ,3' ,7
فينيل -2- كرومون		كاتيشين (فلافونول -3)	غالوكاتيشين	'5,'4' ,5,7,'3
فينيل -3- كرومون		ايزوفلافون	جينيستين	5,7,'4 ,
فلافيليوم		أنتوسيانيدين	سيادين	,7,3,4',5,'3
شالكون		شالكون	بيتيتن	3,4,2'4,'
أورون		أورون	أوروسيدين	

II-3-1-3-أشكال توزع الفلافونيدات في النبات:

تتواجد الفلافونيدات في معظم الأصناف النباتية، وبشكل واسع عند كاسيات البذور والنباتات أحادية الفلقة، وبشكل نسبي عند عاريات البذور أما لدى الطحالب فهي شحيحة التواجد، ويمكن أيضا أن نجدها عند الحزازيات [31،32].

تتركز الفلافونيدات بنسب عالية في القسم الهوائي للنبات وبصفة عامة على مستوى الخلايا السطحية. يمكن أن تتواجد ذائبة في الفجوات على شكل إيتيروزيدات heteroside (أي الفلافونويدات الحاملة لسكر أحادي أو ثنائي) أما بقية الفلافونويدات التي تذوب في مذيبات غير قطبية (أي الفلافونويدات عديدة الميتوكسيل) فنجدها في سيتوبلازما الخلية [27،31،33،34].



شكل 5: أمثلة عن فلافونيدات سكرية [30].

II-3-1-4-عزل وإستخلاص الفلافونويدات:

كغيرها من المواد الطبيعية تعتمد طريقة عزل المركبات الفلافونويدية إلى حد ما على نوع الفلافونويدات المراد عزلها وعلى مكان تواجدها في النبات لكونها موزعة في جميع أجزائه كالجذور، اللحاء، الفاكهة، الأوراق والأزهار....

إضافة إلى ذلك، تؤثر المعالجة الأولية للمادة النباتية على عملية الإستخلاص فمثلا يلزم الإستخلاص الفوري للعينات الطازجة وذلك لمنع عمل الإنزيمات التي تؤدي إلى حدوث التحلل المائي للجليكوزيدات ولتفادي ذلك من الضروري وضعها في مذيب مغلي أو بالتجفيف السريع لها ووجد أن عملية التجفيف المسبق عموما تزيد من إنتاجية الإستخلاص بسبب سهولة تمزق بنية الخلية وإمكانية الوصول الأفضل للمذيبات.

يتم إختيار المذيبات وفقا لقطبية الفلافونويدات فالمذيبات الأقل قطبية مفيدة للإستخلاص فلافونويدات الأجليكون بينما تستخدم المذيبات الأكثر قطبية في حالة البحث عن الفلافونويدات الغليكوزيدية أو الأنثوسيانين anthocyanins حيث أن الغليكونات الأقل قطبية مثل: isoflavones، flavanones، dihydroflavonols أو flavones و flavonols التي تكون ميثيلية بدرجة عالية عادة ما يتم إستخلاصها بمذيبات مثل البنزن، الكلوروفورم، الإيثر أو أسيتات الإيثيل وكثيرا ما يتم الإستخلاص المسبق بالهكسان أو الإيثر البترولي لتخليص العينة من الستيرولات، الكاروتينات و الكلوروفيل.

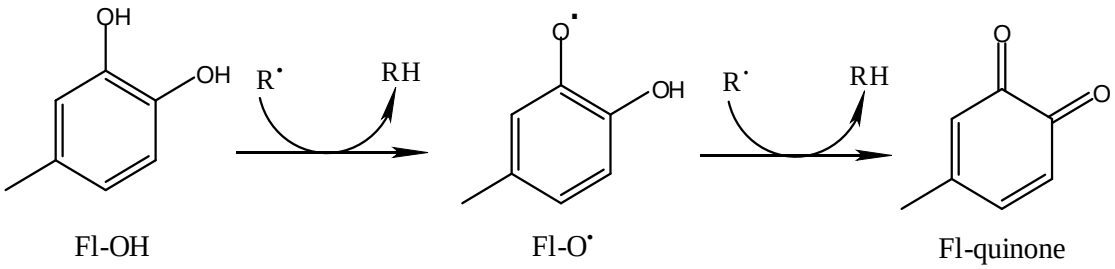
أما الفلافونويدات الغليكوزيدية والغليكونات القطبية مثل الفلافون الهيدروكسيلي،flavonols، biflavonyls ، aurones و chalcones فيتم عزلها مع الأسيتون أو الكحول أو الماء أو بمزيج منها [2].

II-3-1-5- فعالية الفلافونيدات البيولوجية:

تمتلك الفلافونيدات عدة أنشطة فعالة تتمثل في ما يلي : نشاط مضاد للإلتهاب، مضادة للمكروبات والحساسية، مضادة للأورام والخلايا السامة كما أنها تعد مضادة للأكسدة. فهي بذلك تلعب دورا مهما في حماية النظام البيولوجي للجسم من مختلف التأثيرات الضارة المحيطة به [30].

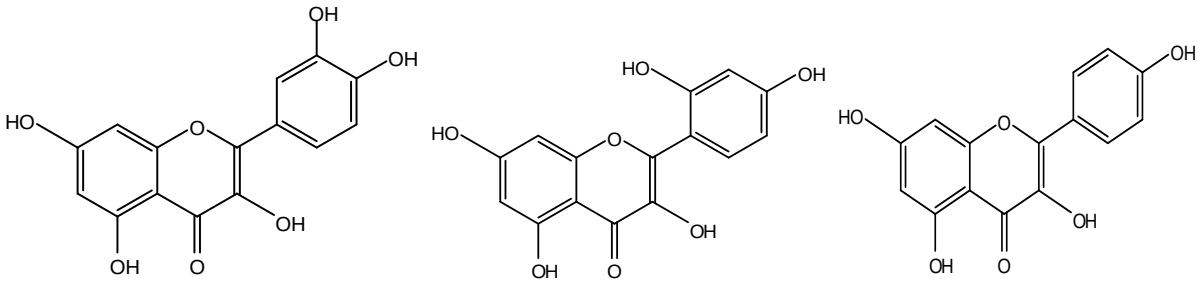
بعض الأمثلة الفلافونويدية التي تقوم بالنشاط المضاد [19]:

ترجع معظم الأنشطة البيولوجية للنباتات إلى خصائصها المضادة للأكسدة لوجود مركبات الفلافانويد التي لديها القدرة على التفاعل مع معظم الجذور الحرة أو تثبيط عمل الإنزيمات المسؤولة عن إنتاجها، فقدرة الفلافانويدات على تثبيط الجذور الحرة تكون من خلال نقل ذرة هيدروجين من الفلافونويد (F-OH) إلى جذر حر آخر فيتحول الفلافانويد إلى كينون مستقر.



الشكل 6: آلية تحول الفلافونويد إلى كينون مستقر [19]

تتفاعل الجذور الحرة مع مجوعات الهيدروكسيل في الحلقة B في المواقع C4’، C5’ حيث عند زيادة مجموعات الهيدروكسيل في المركب الفلافانويدي تزداد فاعليته المضادة للأكسدة فقد تمت إجراء عملية مقارنة بين فاعلية مركبات متفاوتة ومختلفة الإستبدال على الحلقة B من حيث مجموعات الهيدروكسيل، مركب المورين يحتوي على مجموعتي هيدروكسيل والكامفيرول يحتوي على مجموعة واحدة فقط وقد تبين أنهما بفاعلية أقل من الكيرستين من حيث عمل التثبيط.



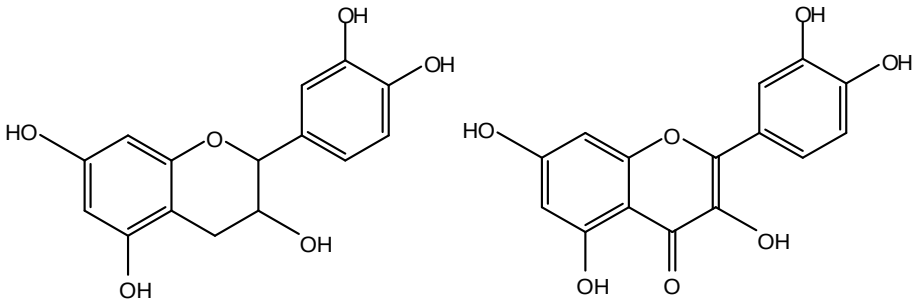
Quercetine
TEAC 44.72+0.10

Morine
TEAC 2.55+-0.02

Kaempferol
TEAC 1.34+-0.08

الشكل 7: مواقع مجموعة OH في Quercetine، Morine و Kaempferol [19]

كما تزداد الفاعلية ضد الأكسدة في المركبات التي تمتلك رابطة مضاعفة في C3-C2 ومجموعة كربونيل في الموقع C4 تكون ذات قدرة أعلى. مثل الكرستين له قدرة أكبر بمرتين من الكاتشين.

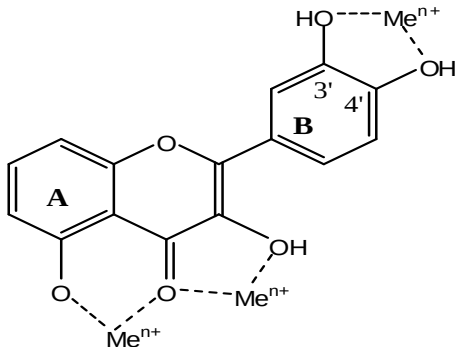


Catechin

Quercetine

الشكل 8: الإختلاف بين صيغة Quercetine و Catechin [19]

كما تعمل الفلافانويدات على التفاعل مع أيونات المعادن الثقيلة والتقليل منها مثل Fe^{2+} و Cu^{2+} و ذلك بتشكيل معقدات (فلافانويد – أيون معدن).



الشكل 9: تشكيل معقدات "فلافانويد – أيون معدن" [19]

بالإضافة لفاعلية مركبات الفلافانويد المضادة للأكسدة فهي تملك فعاليات أخرى بيولوجية تم حصر بعض المركبات المسؤولة عنها في الجدول 7 [19،30]:

جدول 7: مختلف الفعاليات البيولوجية لمجموعة من الفلافونويدات.

الكيرسيتين	• مضاد للإلتهاب و السمية الكبدية • يمنع تراكم الصفائح الدموية المسببة للقرحة
الأبيجينين	• يشكل روابط هيدروجينية بين قواعد الحمض النووي فيثبط تخليق البيكتيريا • يعمل على عزل الركيزة الضرورية لتغذية البيكتيريا
الفلافون	• مضاد للسرطان • يثبط فيروس نقص المناعة البشرية VIH
الكاتيشين	• مضاد للأورام و الكوليرا
الميرسيتين	• يملك تأثير خافض للسكر في الدم
الروتين	•حماية خلايا الكبد في حالة تلفه •مضاد للحساسية بتثبيط انتاج الهيستامين
الشالكون	• مضاد للميكروبات و الحساسية
الإيزوفلافون	• تثبيط عمل البكتيريا و عمل غشاء السيتوبلازم للخلايا السامة

*النشاط البيولوجي لمختلف مركبات الفلافونويد وفوائده العلاجية، أصبح محورا للبحث في مختبراتنا ودراستنا العلمية، لكن هذه الأهمية لا تقتصر على مركبات الفلافانويدية فحسب فهناك منتجات أيض ثانوي أخرى سائدة في المجال الصيدلاني وهي أيضا ذات أهمية بيولوجية.

الدراسة التطبيقية

الجزء الثاني

العمل التطبيقي

الفصل الأول

تمهيد:

إن لتنوع الطرق والتقنيات التي تهدف إلى عزل وتحليل المواد العضوية الطبيعية ذات الفائدة العلاجية من المادة النباتية دور مهم في زيادة توسيع آفاق الدراسة الفيتوكيميائية وتطبيقاتها البيولوجية وهذا ما سيلاحظ في الدراسات التي سيتناولها هذا الفصل وتكون مقسمة كما يلي:

مخطط 1: الأقسام الأساسية في العمل التطبيقي

I-1-الدراسة العملية المنجزة على *Umbilicus rupestris*:

أنجز هذا العمل في المخبر البيداغوجي بكلية الرياضيات وعلوم المادة ومخبر هندسة الطرائق بكلية العلوم التطبيقية بجامعة قاصدي مرباح ورقلة.

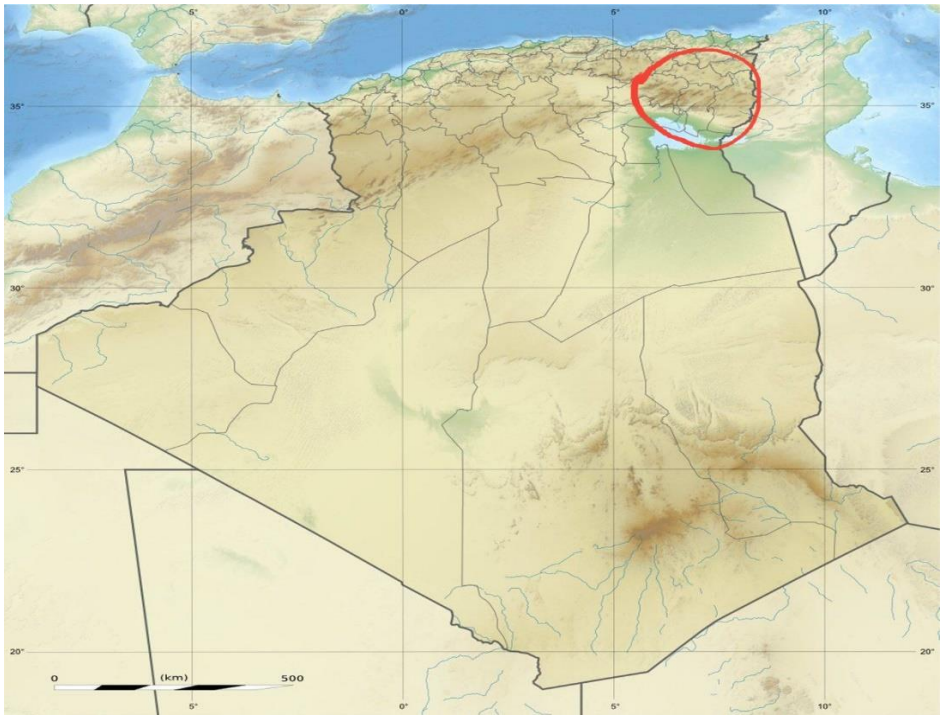
الأدوات والمواد المستعملة:

جدول 8: الأدوات والمواد المستعملة

الأدوات		المواد	
الأجهزة	الوسائل	المحاليل biochem	المساحيق
-ميزان الكتروني حساس akern بدقة 10^{-4} -جهاز soxhlet (100مل) -جهاز تسخين -جهاز التبخير الدوار	-دورق (500-250-مل) -أنبوب مدرج -بيشر -ملعقة	كلوروفرم - أسيتات الإثيل- ايثانول ماء مقطر- أسيتون هكسان -1-بيتانول ايثر بترولي- ميثانول كواشف	النبتة U.R.

I-1-1-تحضير العينة النباتية:

أ-الجني: تم جني نبتة *Umbilicus rupestris* في جانفي 2019 من منطقة في الشرق الجزائري والموضح حدودها باللون الأحمر في الخريطة 3، كما تم التأكد من صحة نوع النبات المجمع من طرف مدير معهد النباتات بتقرت بإعطاء التصنيف الصحيح لها.



خريطة 3: منطقة جني نبتة *Umbilicus rupestris* بالجزائر [معالجة شخصية]

ب-التنقية: تنظف النبتة جيدا للحصول على عينات خالية من علامات التلوث كالفطريات والبكتيريا لأنها قد تغير من مواد الأيض الموجودة فيها، إضافة إلى عزلها عن الأتربة والشوائب النباتية الأخرى.

ج-التجفيف: أستعملت طريقة التجفيف في الهواء الطلق، وذلك بتوزيع أجزاء النبتة على سطح ورقي في غرفة ذات تهوية ودرجة حرارة مناسبتين.

يهدف التجفيف إلى إزالة المحتوى المائي من النبتة لإيقاف التحلل المائي والأكسدة الإنزيمية وبالتالي منع التخمر الميكروبي والتدهور اللاحق للمواد الأيضية إضافة إلى إمكانية تخزينها لفترات أطول.

د-الطحن: تطحن المادة النباتية يدويا ثم بإستعمال آلة الطحن الكهربائي على شكل مسحوق خشن. الفائدة من هذه الخطوة هو الزيادة من مساحة سطح التلامس مع المذيبات، وبالتالي زيادة معدل الأستخلاص.

مخطط 2: مراحل تحضير العينة النباتية

I-1-2-الإختبارات الكيفية:

تهدف هذه الإختبارات إلى الكشف أو تسليط الضوء عن المجموعات الكيميائية للمواد الأيضية في نبتة U.R. بإستخدام كواشف محددة.

يقوم مبدؤها على التحليل النوعي، إما عن طريق تكوين معقدات غير قابلة للذوبان بإستخدام تفاعلات الترسيب، أو عن طريق تشكيل معقدات ملونة بإستخدام تفاعلات التلوين [35].

تحضر المستخلصات الخام لـ 1 غ من نبتة مسحوقة كالتالي [35]:

-المستخلص الكحولي: ينقع 1 غ من مسحوق النبتة في 20 مل من محلول MeOH لمدة 24 ساعة. بعدها يرشح للحصول على المستخلص الخام.

-مستخلص المائي: ينقع 1 غ من مسحوق النبتة في 20 مل من الماء المغلي لمدة 15 د ثم يرشح. يضاف القليل من الماء الساخن للحصول على 20 مل من الرشاحة.

في أنابيب إختبار، تجرى هذه الإختبارات لكل من المستخلصين الكحولي و المائي للمواد الأيضية التالية:

أ-الفلافونيدات: تضاف قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (20 %) إلى 1 مل من كلا المستخلصين، ثم تضاف قطرات من HCl 70 % . ظهور اللون الأصفر بعد إضافة القاعدة وإختفائه بإضافة الحمض دليل على وجود الفلافونيدات في المستخلص [36].

ب-القلويدات: تنقع 1 غ من العينة النباتية المسحوقة مع 5 مل من محلول H_2SO_4 المخفف (1/10 ماء مقطر) لمدة 24 ساعة مع الرج الخفيف ثم ترشح. تضاف قطرات من كاشف Dragendroff إلى 1 مل من الرشاحة وظهور راسب برتقالي دلالة على وجود القلويدات [35].

ج-العفصيات: يضاف إلى 1 مل من المستخلص قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ المخفف (1%) و 1 مل من الماء المقطر فيدل ظهور الألوان التالية [35]:

*أخضر داكن دليل على وجود Catechic tannins.

*أزرق مخضر دليل على وجود Gallic tannins.

ه-الستيرولات و التربينات الثلاثية: يتم إضافة 1 مل من H_2SO_4 و قطرات من بلاماآت الخليك إلى 1 مل من المستخلص فيدل ظهور اللون الأحمر على وجود التربينات الثلاثية، أما اللون الأخضر فيدل على وجود الستيرولات.

و-الصابونينات: يضاف إلى 2 مل من المستخلص المائي، 6 مل ماء مقطر ويرج لمدة 15 د. إذا تشكلت رغوة تترك لمدة دقيقتين ليقاس سمكها، تدل هذه الرغوة على وجود الصابونينات [36].

ز-المركبات المرجعة Reducteur compound: يضاف إلى 1 مل من المستخلص المائي 1 مل من كاشف **Fehling**، ويوضع المزيج بعدها في حمام مائي لمدة 8 د. ظهور راسب أحمرآجوري دليل على وجود هذه المركبات [35].

ح-غليسيدات القلب Cardiac glycosides: تضاف قطرات من H_2SO_4 و 2 مل من $CHCl_3$ إلى 1 مل من المستخلص، ظهور لون بني محمر يكشف عن وجود هذه الغليسيدات [35].

ط-الدهون والزيوت الثابته: تتم إضافة قطرات من KOH وكاشف فينول فيتالين إلى 1 مل من المستخلص، تشكيل الصابون يبين وجود الدهون أو الزيوت الثابته [37].

I-1-3-الإستخلاص:

تمثل هذه العملية الخطوة الأولى للحصول على مركبات الأيض الثانوي من المادة النباتية وذلك بنقل هذه المواد من الطور الصلب إلى السائل لتسهيل تحليلها. لكن نظرا لوجود العديد من العوامل المؤثرة على هذه العملية كطبيعة المادة المستخرجة، ووفرة المواد المستعملة والمردود المتحصل عليه وغيرها الكثير يصبح للإختيار الطريقة الأنسب للإستخلاص أهمية كبيرة.

بناء على ذلك تم إستخلاص المواد الأيضية من العينة النباتية **U.R.** بإستعمال الإستخلاص الكلاسيكي بالمذيبات بطريقتي **النقع** وجهاز **Soxhlet** بهدف المقارنة بينهما من حيث المردود ووفرة المواد ومن حيث المزايا والعيوب.

إضافة إلى محاولة فهم تأثير الإستخلاص بمذيبات متسلسلة القطبية مباشرة من النبتة -المستعملة في **Soxhlet**- على المركبات المستخلصة ومقارنتها بالإستخلاص بمذيبات متسلسلة القطبية من المستخلص الخام (المستعملة في النقع).

المردود Y%:

مردود الإستخلاص هو مقياس يعبر عن كفاءة المذيب لإستخلاص مكونات محددة ويحسب بالعلاقة التالية:

$$Y\% = \frac{\text{كتلة المستخلص}}{\text{كتلة مسحوق النبتة}} \times 100$$

I-1-3-1-الإستخلاص بالنقع:

يقوم مبدأ النقع على أن المذيب الذي يكون على إتصال مع العينة يسمح بإختراق البنية الخلوية من أجل إذابة المركبات ذات القطبية المماثلة له كما يعمل الرج الميكانيكي المستعمل على تجانس المحلول وإشباع المذيب عن طريق زيادة قابلية ذوبان المركبات ومعدل نقل الكتلة وبالتالي زيادة كفاءة الإستخلاص [1].

طريقة العمل:

أجريت عملية النقع لـ 23.6885 غ من وزن النبتة الجافة بناء على الإختيار الصحيح للمذيبات حيث:

-تم وضع مسحوق النبتة بعد وزنها في تماس مع الإيثر البترولي أولا في وعاء محكم الغلق لمدة ليلة كاملة مع الرج على البارد. كررت العملية 3 مرات لنزع اليخضور والمواد الدسمة.

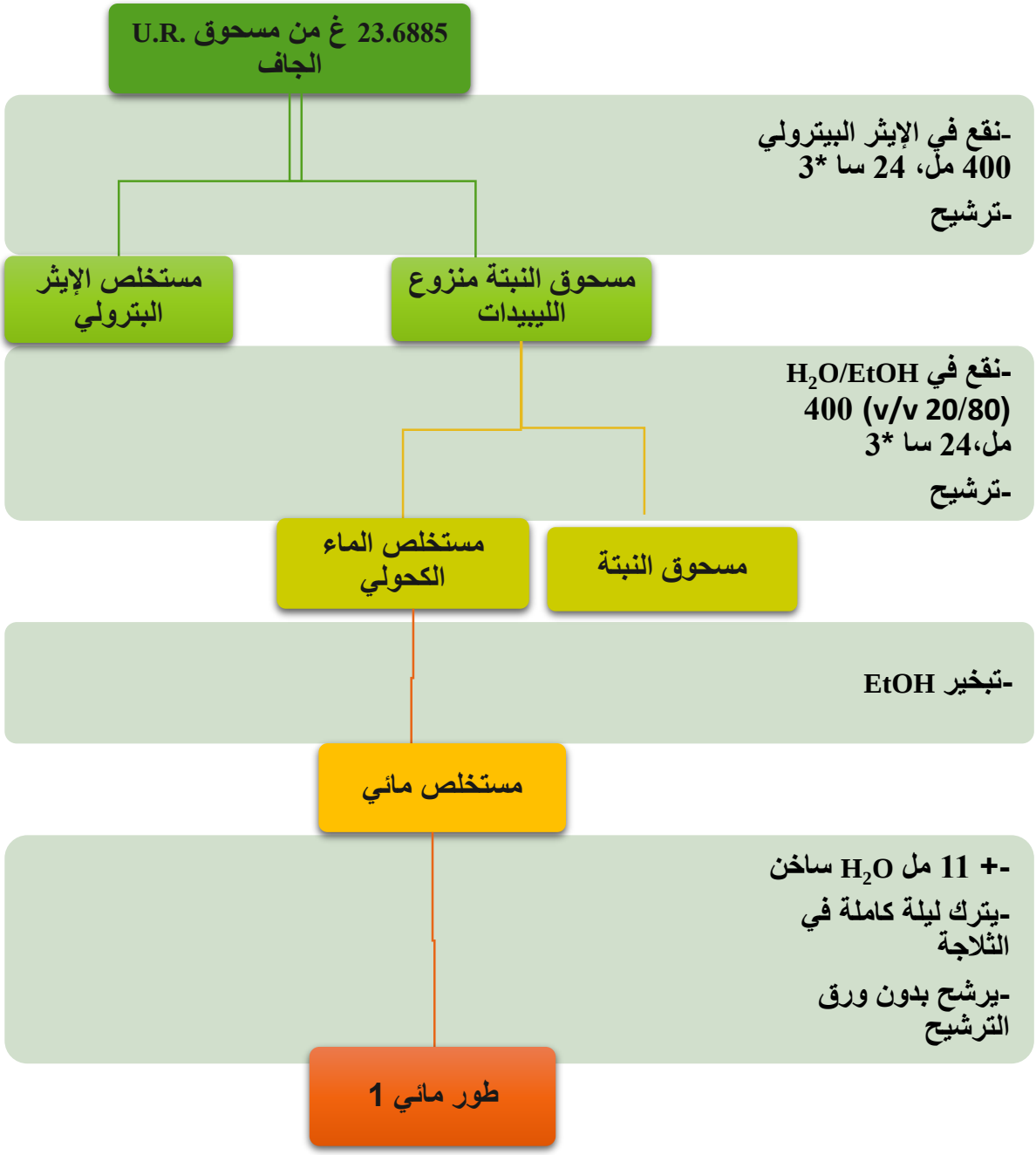
-في كل مرة يتم الترشيح بإستعمال الترشيح تحت الفراغ، ويتم تجميع الرشاحة.

-تبخر الرشاحة من المذيب بإستعمال جهاز التبخير الدوار.

-تجفف المادة الصلبة ثم تنقع مجددا في مزيج (ماء +إيثانول) (v/v 80/20) لمدة ليلة كاملة مع الرج وتكرر العملية 3 مرات.

-يتم تجميع الرشاحة في كل مرة ومن ثم تبخير الإيثانول تماما تحت الضغط في درجة C° 40 مئوية.

-بعد الحصول على مستخلص خام مركز، يخفف بالماء المقطر ويترك ليلة كاملة ثم يرشح بدون ورق ترشيح.

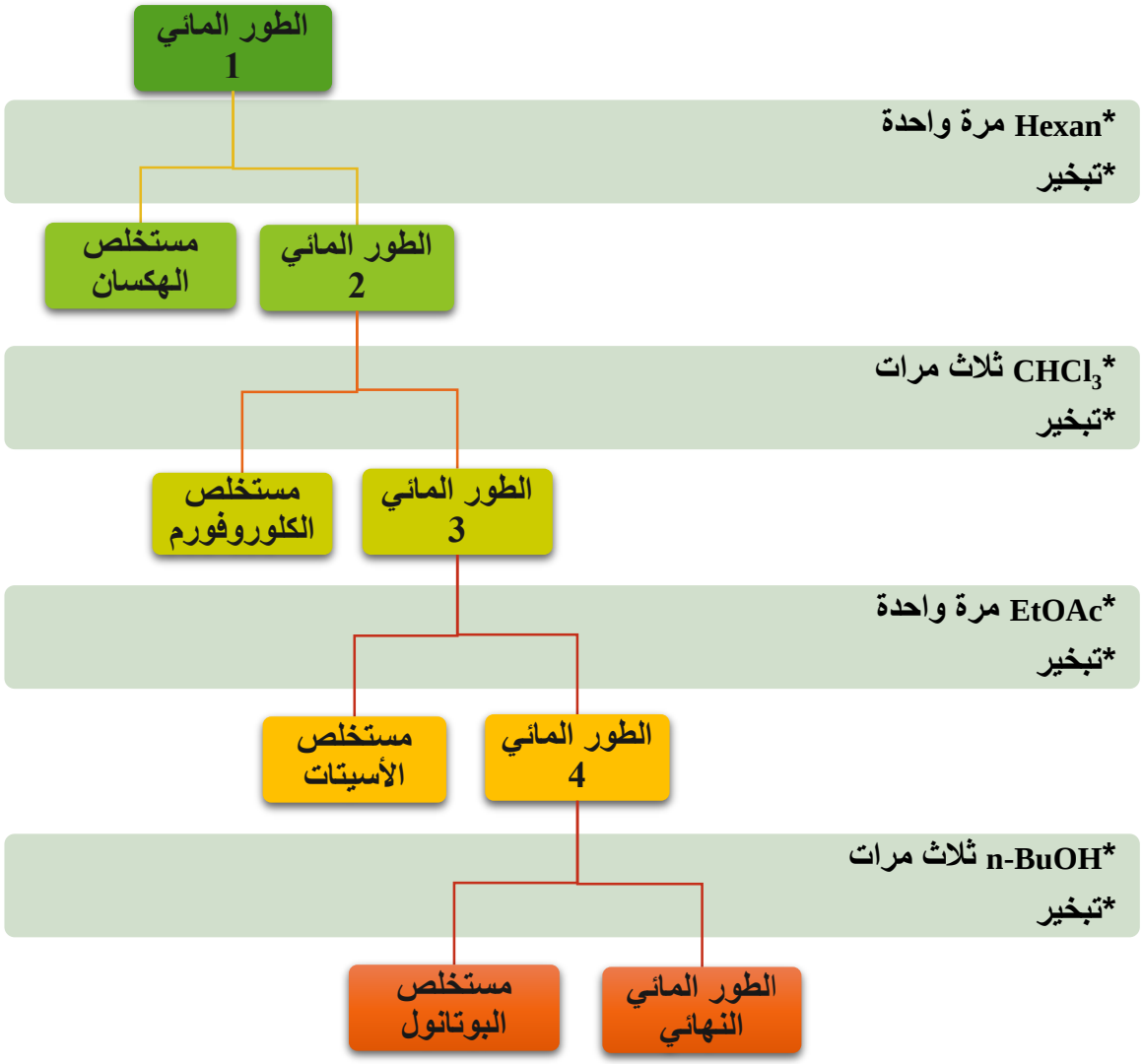


مخطط 3: مراحل الإستخلاص بالنقع

عادة ما يكون المستخلص الخام الأولي – الطور المائي 1– خليط معقد يحتوي على العديد من المركبات، لذلك تأتي الحاجة إلى عزل هذه المركبات المراد فصلها عن المستخلص الخام بإستعمال الإستخلاص سائل-سائل بمذيبات متدرجة القطبية وهي الهكسان، الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل والبيتانول على التسلسل بهدف تركيز هذه المواد لتصبح سهلة التنقية وأستعمل لذلك قمع فصل ذي حجم 500 مل حيث:

- يستخلص الطور المائي أولا بالهكسان 3 مرات، ثانيا الكلوروفورم 3 مرات، ثالثا بأسيتات الإثيل لمرة واحدة، وأخيرا يستخلص بـ 1- بنتانول 3 مرات.

- تجمع الأطوار العضوية لكل مذيب على حدى وتبخر.



مخطط 4: مراحل الإستخلاص سائل-سائل

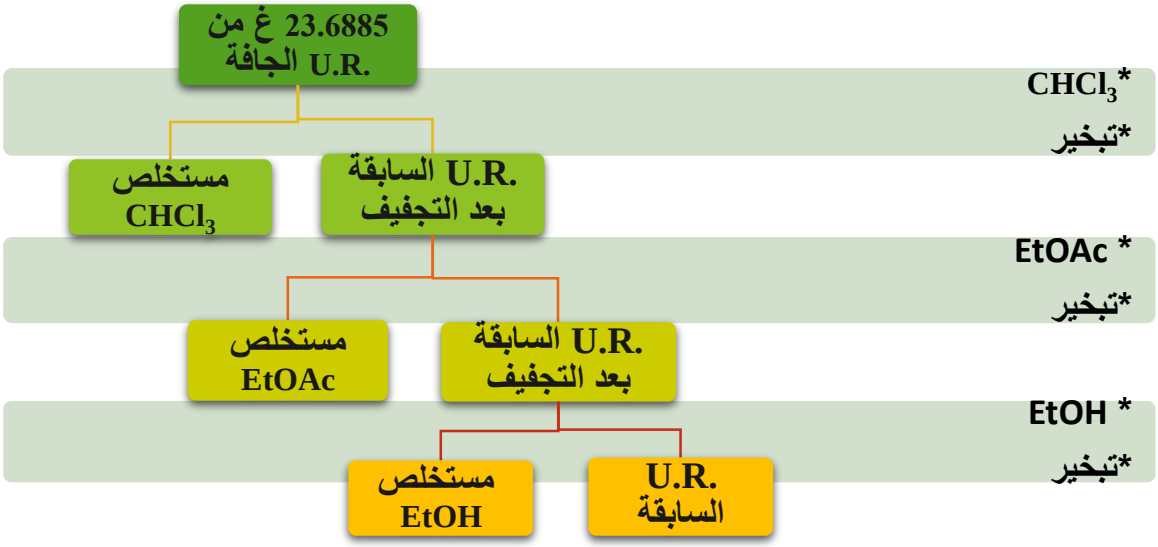
I-1-3-2-الإستخلاص المتعدد على الساخن (Soxhlet):

يعمل جهاز Soxhlet على مبدأ الإرتداد والسحب المستمر للمواد العضوية من العينة الصلبة عند نقطة غليان المذيب المستعمل، أي بمذيب طازج في كل مرة [38].

حيث يوضع المذيب سهل التطاير في دورق متصل بأنبوبة الاستخلاص " Soxhlet " تحتوي على خرطوشة مصنوعة من السيليلوز أو ورق ترشيح يوضع داخلها الوزن المعلوم من المادة النباتية الصلبة المراد دراستها [39].

أستعملت لهذه الطريقة نفس الكتلة المستعملة في النقع أي 23.6885 غ من U.R. المسحوقة، ولكونها عملية إستخلاص متسلسلة للإمكانية إستعمال مذيبات متزايدة القطبية (إستخلاص صلب-سائل بمذيبات متدرجة القطبية)، تأتي الحاجة إلى الإستغناء عن الإستخلاص سائل-سائل المستعمل في الطريقة الأولى "النقع".

أختيرت المذيبات $CHCl_3$، EtOAc و EtOH على التسلسل لإجراء هذا الإستخلاص الموضح خطواته في المخطط 5:



مخطط 5: مراحل الإستخلاص بجهاز soxhlet

صورة 4: (أ-ب-ج) أطوار الإستخلاص بـ Soxhlet، د-المستخلصات بعد التجفيف

I-1-3-1-2-3-1-تأثير المذيب على الإستخلاص بجهاز Soxhlet :

تتأثر كفاءة الإستخلاص عموما بعوامل تشمل درجة الحرارة، المدة الزمنية، حجم الجزيئات، إنتقال الكتلة وتأثير المصفوفة إضافة إلى خصائص المذيب المستعمل حيث يؤثر حسن إختيار المذيب بدرجة كبيرة على هذه الكفاءة ولتبيين ذلك أخذ كمثال إستخلاص مركب الفانيلين من قرون الفانيليا بإستعمال جهاز Soxhlet بإستخدام مذيبات مختلفة القطبية تمثلت في: EtOH – MeOH – $CHCl_3$ – Hexan – Acetonitril – Acetone [40].

I-2-الدراسات السابقة لـ *Umbilicus rupestris*: تم الإعتماد على الدراسات التالية لإجراء بعض المقارنات بينها وبين الدراسة العملية المنجزة سابقا والتوصل إلى بعض النتائج المتعلقة بنوع طرق الإستخلاص والمركبات المستخلصة منها وكذا فعالياتها البيولوجية.

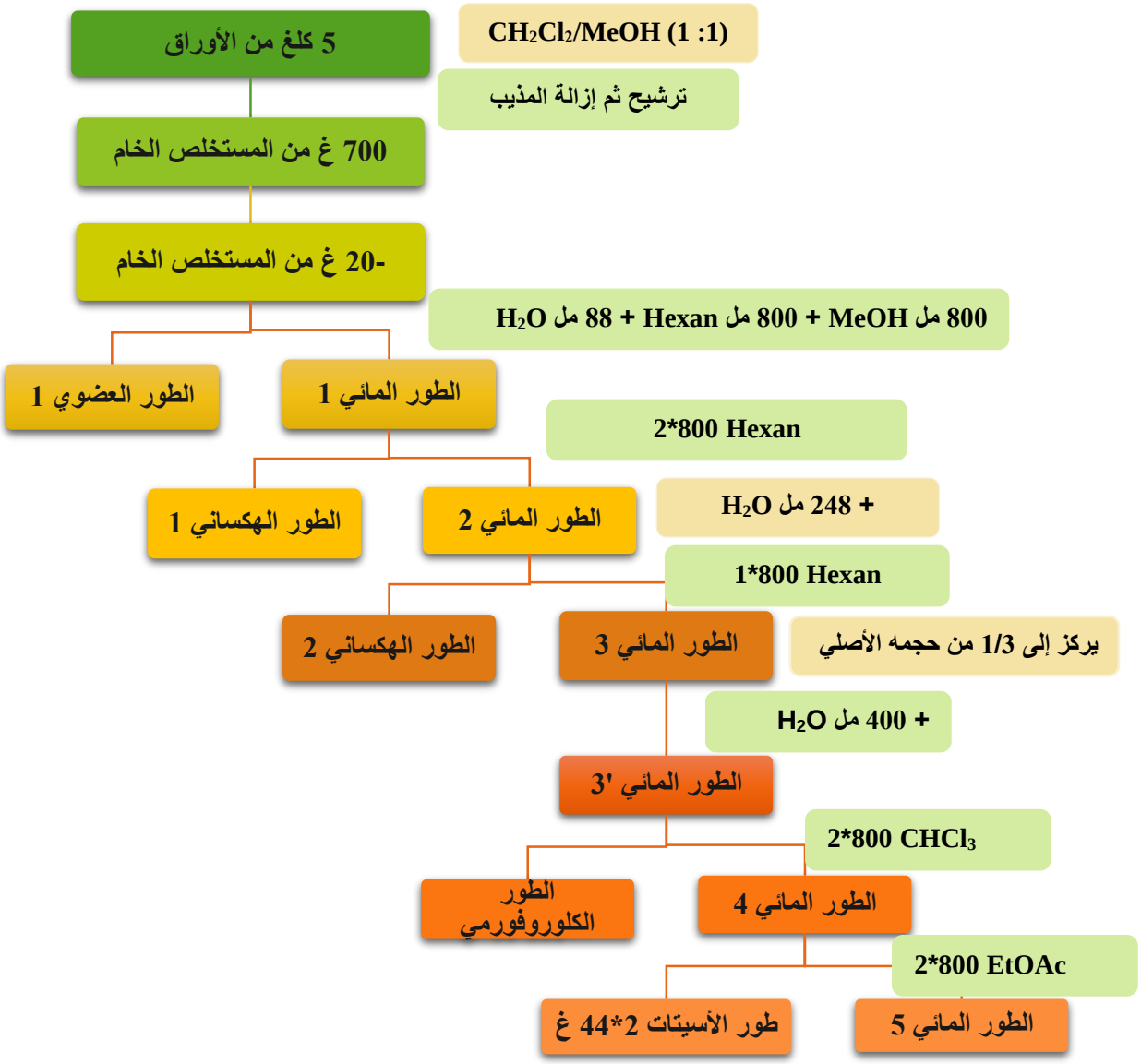
I-2-1-تجارب سابقة لإستخلاص نبتة *Umbilicus rupestris*:

لفهم بشكل أفضل عن تأثير طريقة الإستخلاص والمذيبات المستعملة فيها على نوع المركبات العضوية المستخلصة تؤخذ كأمثلة تجارب أجريت على أوراق نبتة *Umbilicus rupestris* وهي كتالي:

تجربة 1: "Viornery L., 2000" [12]

تعد هذه الدراسة الوحيدة حتى الأن والمتعلقة بفصل المركبات الفينولية من هذا النوع من النباتات وكانت بجني 6 كلغ من أوراق *Umbilicus rupestris* في شتاء 1996 بفرنسا وجففت بالتبريد حيث:

أ-أستخلصت 5 كلغ من الأوراق المجففة بالتبريد مباشرة بالطريقة الموضحة في المخطط 6:



مخطط 6: مراحل إستخلاص أوراق *Umbilicus rupestris* حسب Viornery

يقسم مستخلص الأسيتات النهائي (88 غ) إلى ستة تقسيمات لمعالجتها بالطرق الكروماتوغرافية (عمود MPLC للفصل و HPLC للتنقية) ثم تؤخذ إلى التحاليل الطيفية لتحديد بنية المركبات المفصولة.

ب- بنفس خطوات الإستخلاص السابقة تم تحضير مستخلص أسيتات الإيثيل آخر (4 غ) من 1 كلغ من الأوراق المجففة بالتبريد. يعرض المستخلص الناتج للترشيح بجل متتالي على Sephadex LH-20 بإستخدام EtOAc و MeOH ثم إلى المعالجة الكروماتوغرافية تليها التحاليل السبيكتروسكوبية.

تجربة 2: "Júlia H.,2019" [16]

تهدف هذه التجربة إلى المقارنة بين التكوين الكيميائي لثلاث عينات من *Umbilicus rupestris* أخذت من ثلاث مناطق جغرافية مختلفة في البرتغال وبين مستخلصي النقع والغلي وتكون هذه المقارنة من خلال التحليل الكيميائي -الكمي والنوعي- لأوراق من حيث المركبات الفينولية.

تم جني عينات من أوراق .U.R في مناطق مختلفة في البرتغال، و بالتحديد $U.R._1$ في المنطقة الوسطى (مدينة Viseu)، $U.R._2$ شمال المنطقة الداخلية (قرب مدينة Vila real)، $U.R._3$ في منطقة الشمال الشرقي (قرب مدينة Bragança)، جففت العينات المجمعة على البارد (49- ˚C، 0.08bar، 48 سا) وطحنت على شكل مسحوق ثم أستخلصت بالطريقتين التاليتين:

أ- النقع: تنقع 2.5 غ من كل عينة مطحونة بمحلول $EtOH/H_2O$ (80:20) تحت التحريك المغناطيسي لمدة 1 سا، بعد الترشيح بورق Whatman رقم 4 تبخر المستخلصات تحت الضغط ثم تجفف بالتجميد.

ب- الغلي: تم غلي 1 غ من العينات المجففة بالتجميد مع 100 مل من الماء المقطر المسخن لمدة 5 د بإستخدام لوح تسخين، ترشح المستخلصات بأوراق Whatman رقم 4 ثم تجمد للحصول على مستخلصات جافة.

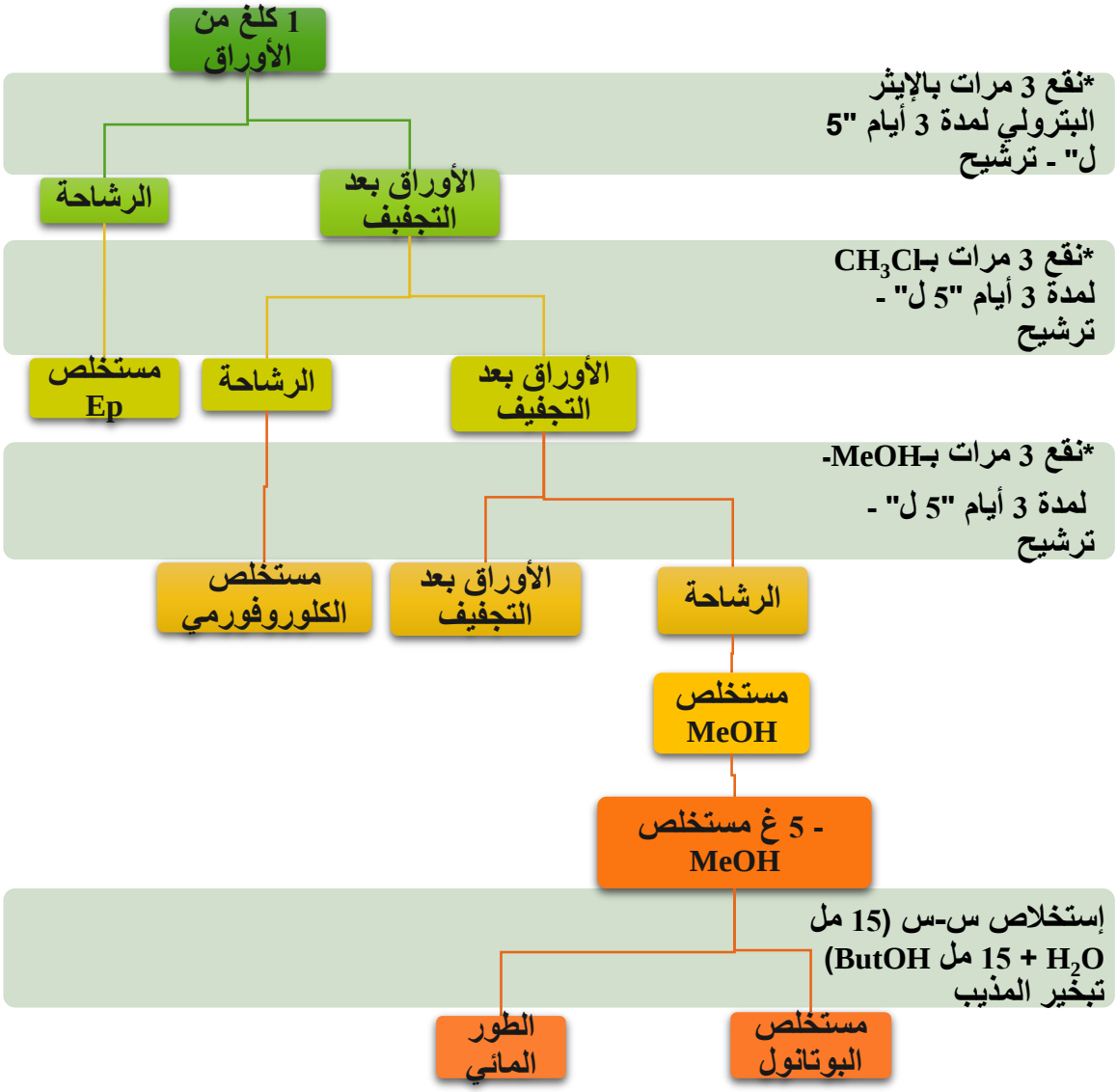
لتحديد المركبات الفينولية كميا وكيفيا في كل من مستخلص النقع والغلي للعينات الثلاث أعيد إذابتهما في $MeOH/H_2O$ (80:20) للحصول على تركيز نهائي قدره 5 ملغ/مل. تعالج المستخلصات النهائية بـ HPLC-DAD-ESI/MS.

تجربة 3: " BENHOUDA A., 2015" [19]

أستعمل في هذه الدراسة الإستخلاص بمذيبات متسلسلة القطبية مباشرة من العينة النباتية "أجريت على النقع" وهي نفسها المستعملة في دراستنا أين طبقت على جهاز Soxhlet والموضح خطواته سابقا في المخطط 5.

جنيت أوراق النبتة في مارس 2012 بولاية باتنة بالجزائر وجففت تحت الظل لمدة 40 يوما ثم طحنت لتصبح جاهزة للإستخلاص.

كانت طريقة إستخلاص 1 كلغ من الأوراق بإستعمال النقع بمذيبات متسلسلة القطبية كالتالي:



مخطط 7: إستخلاص الأوراق بالنقع بمذيبات متسلسلة القطبية.

*تخضع 3 غ من مستخلص البوتانول للتنقية بعمود جل Sephadex LH-20 وأستعمل فيه MeOH كطور متحرك.

*تخضع الكسور الناتجة من عمود الكروماتوغرافيا للفصل بإستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC.

*تعالج الكسور الناتجة من كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بكروماتوغرافيا العمود فائقة الأداء HPLC لتنقية المركبات المفصولة ثم تؤخذ هذه الأخيرة إلى التحاليل الطيفية NMR لتحديد طبيعتها الكيميائية.

I-2-2-الفعالية البيولوجية:

بهدف تأكيد الإستعمالات التقليدية للنبتة ومحاولة فهم تأثير نوع الإستخلاص والمذيبات المستعملة فيه على الفعالية البيولوجية للمركبات المفصولة منه، درست الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات لـ *Umbilicus rupestris* المأخوذة من البرتغال (تجربة 2) والجزائر (تجربة 3) وكانت كالتالي:

تجربة 2: أجريت الدراسة على مستخلصات النقع والغلي للعينات الثلاث $U.R._1$، $U.R._2$ و $U.R._3$ المأخوذة من مناطق جغرافية مختلفة بهدف معرفة تأثير العوامل الجغرافية ونوع المركبات المستخلصة من النقع والغلي على هذه الفعالية [16].

تجربة 3: أجريت الدراسة على مستخلصات الإيثر البترولي، الكلوروفورم والكحولي الناتجة من عملية النقع [19].

النتائج ومناقشتها

الفصل الثاني

II-1-نتائج الدراسة العملية المنجزة على *Umbilicus rupestris*:

II-1-1-الإختبارات الكيفية:

أظهرت الإختبارات الكيفية التي أجريت على الجزء الهوائي لنبتة U.R. النتائج التجريبية التالية والموضحة في الجدول 9:

جدول 9: نتائج الإختبارات الكيفية

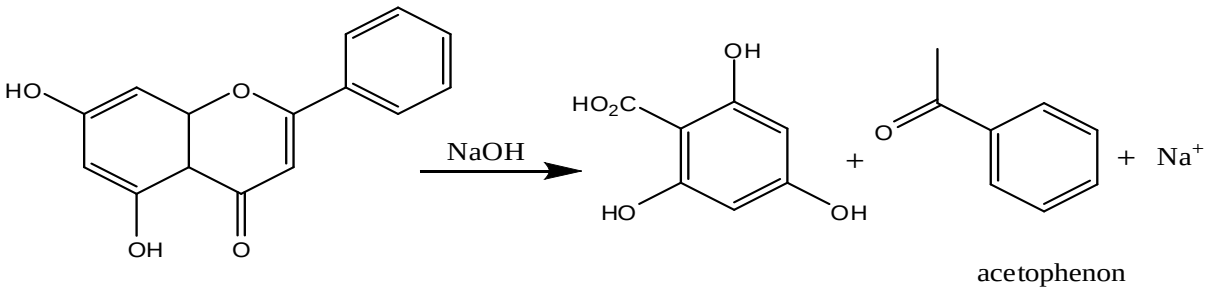
المواد الأيضية	مستخلص MeOH		مستخلص مائي	
	اللون	الشدة	اللون	الشدة
الفلافونيدات	أصفر	+++	أصفر	+++
القلويدات	راسب أصفر	++	راسب أصفر	++
التانينات - Gallic tannins-	أزرق مخضر	+	أزرق مخضر	+
التربينات الثلاثية	بني محمر	+++	بني محمر	++
الصابونينات	/	/	تشكل رغوة سمكها 1.5 سم	++
المركبات المرجعة	راسب أحمر آجوري	+++	راسب أحمر آجوري	+++
غليسيدات القلب	بني محمر	+	بني محمر	+
الدهون و الزيوت الثابته	راسب -صابون-	++	راسب -صابون-	+

+++: شديدة ++:متوسطة +:قليلة /:لم تجرى التجربة

تفسير النتائج:

كما ذكر سابقا فإن هذه الإختبارات تقوم على تفاعلات الترسيب أو التفاعلات اللونية في المجال المرئي وبناء على ذلك تفسر بعض من النتائج المتحصل عليها في الجدول بـ:

*ظهور اللون الأصفر في إختبار الفلافونيدات ناتج عن تفاعل المركبات الفلافونيدية مع NaOH ويكون مصدره الأسيتوفينون مثلا حسب المعادلة التالية:



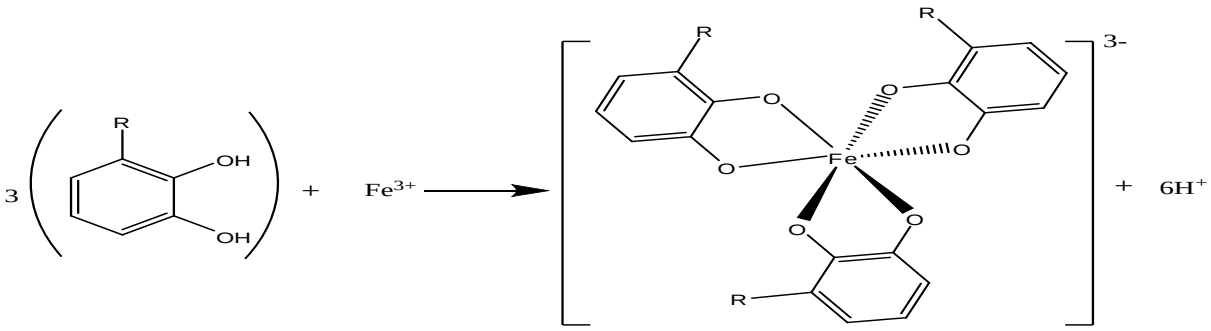
الشكل 10: تفاعل الفلافونويد مع NaOH

*الراسب المتشكل في إختبار الكشف عن القلويدات بإستعمال كاشف **Dragendroff** وهو محلول من أملاح المعادن الثقيلة (يوديد البوتاسيوم-نترات البيزموث) ناتج عن تفاعل بين الحجيرة الفارغة لذرة المعدن الثقيل (BiI^{4-}) في الكاشف والأزواج الألكترونية لذرة النيتروجين الموجودة في القلويد لتشكل أزواج أيونية غير قابلة للذوبان فتترسب، ويختلف لون هذه الرواسب حسب نوع القلويد [41].

$$Alkaloid + BiI^{4-} \longrightarrow (Alkaloid^{+})n(BiI^{4-})n$$

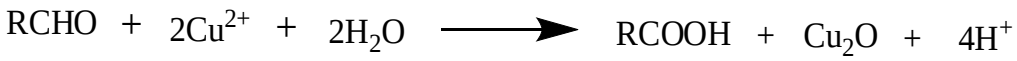
الشكل 11: تفاعل القلويد مع كاشف Dragendroff [41]

*تشكل المركبات الفينولية عموما مع $FeCl_3$ معقدات يختلف لونها حسب عدد وتموضع مجموعات الهيدروكسيل OH الموجودة في هذه المركبات، فمثلا يدل اللون الأزرق المخضر المتحصل عليه في التجربة على وجود العفصيات الذوابة Gallic tannins والمعادلة التالية تبين المعقد المتشكل من حمض الغاليك Gallic acid [43]:



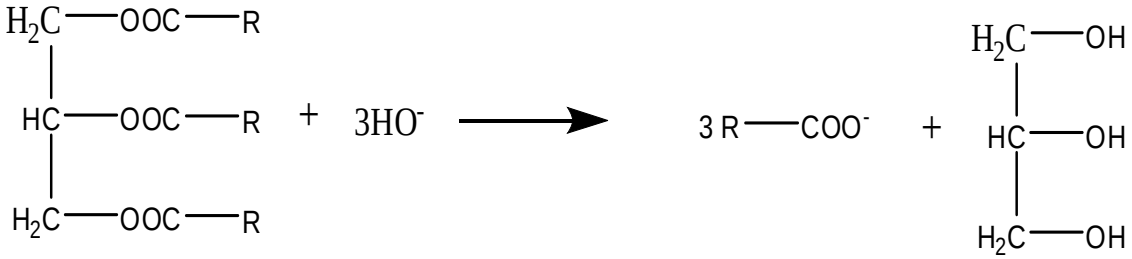
الشكل 12: تفاعل تشكل المعقد من Gallic acid [42]

*تعتبر الغليسيدات مركبات مرجعة، وبالتالي يؤدي إضافة كاشف **Fehling** إلى إرجاع النحاس الموجود فيه من Cu^{2+} إلى Cu^{1+} وهي مصدر الراسب الأحمر (Cu_2O) المتشكل. المعادلة التالية توضح ذلك:



الشكل 13: تفاعل الغليسيدات مع كاشف Fehling

*تؤدي إضافة KOH إلى الدهون أو الزيوت الثابتة إلى حدوث تفاعل التصبن وهو ما يفسر ظهور رواسب (صابون) في التجربة والمعادلة أسفله تبين ذلك:



مادة دهنية — رواسب الصابون

الشكل 14: تفاعل تشكل رواسب الصابون من المواد الدهنية

*أما بالنسبة للشدة اللونية الظاهرة فهي تعبر عن وفرة كمية هذه المركبات الأيضية في المادة النباتية بالزيادة أو النقصان لوجود علاقة طردية بينهما حسب قانون **Beer-Lambert** وكذلك تعبر المواد المترسبة عن وفرة هذه المواد الأيضية.

علاقة **Beer-Lambert:** $A = C.l.\varepsilon$

نتيجة:

من خلال هذه النتائج التجريبية وتفسيرها يتبين أن نبتة U.R. تحتوي على الفلافونيدات، التربينات الثلاثية والمركبات المرجعة بنسبة كبيرة، وبالنسبة للقلويدات، الصابونينات، الدهون والزيوت الثابته فهي موجودة بنسبة متوسطة، أما فيما يخص عفصيات الغاليك وغليسيدات القلب فتتواجد بكميات قليلة وهذا تأكيدا للنتائج المتحصل عليها من دراسة النبتة المأخوذة من ولاية باتنة بالجزائر" BENHOUDA A., 2015".

II-1-2- نتائج الإستخلاص بالنقع و Soxhlet:

أظهر الإستخلاص المنجز على 23.6885 غ من نبتة U.R. في كل من الطريقتين "النقع و Soxhlet" النتائج التجريبية التالية:

جدول 10: نتائج كتل ومردود كل مستخلص في كل من النقع و Soxhlet

الطريقة / المستخلص	النقع		Soxhlet	
	كتلة المستخلص	المردود	كتلة المستخلص	المردود
مستخلص الهكسان	0.2984 غ	1.25968 %	/	/
مستخلص كلوروفورم	0.82غ	3.462 %	5.7825 غ	24.4106 %
مستخلص أسيتات الإيثيل	0.2626 غ	1.10855%	0.1337 غ	0.5644 %
مستخلص البوتانول	1.1698 غ	4.938 %	/	/
مستخلص الإيثانول	/	/	1.536 غ	6.48416 %

II-1-2-1-تحليل النتائج:

*بعد الإستخلاص بـ Soxhlet تبين أن كتلة مستخلص الكلوفورم عالية، تليها كتلة مستخلص الإيثانول ثم مستخلص أسيتات الإثيل.

*بالنسبة لطريقة الإستخلاص بالنقع فكان المستخلص البيتانولي هو صاحب الكتلة الأعلى من بين المستخلصات الباقية والمتمثلة في المستخلص الهكساني، مستخلص الأسيتات ثم مستخلص الكلوروفورم.

*أما المردود فكانت قيمه متوافقة مع ترتيب الكتل لكل من طريقة Soxhlet والنقع.

II-1-2-2-المقارنة بين طريقتي الإستخلاص - النقع و Soxhlet -:

من خلال النتائج وقرائتها يظهر الفارق بين الطريقتين كما يلي:

أ-من حيث المردود:

*مردود الأستخلاص في الطور الكلوروفورمي لطريقة النقع أقل من طريقة Soxhlet لكون الكلوروفورم كان أول مذيب مستعمل في Soxhlet والذي أستنزف جميع المركبات غير القطبية (كلوروفيل،ليبيدات،.....) عكس النقع التي أستعمل فيها تدرج في قطبية المذيبات المتمثلة في الإيثر البيترولي، الهكسان ثم الكلوروفورم على الترتيب أين وزعت فيهم هذه المواد غير القطبية.

*مردود الإستخلاص بأسيتات الإيثيل في كلا الطريقتين هو الأقل نسبة مقارنة بالأطوار الأخرى مما يدل على وجود كميات أقل للمواد ذات القطبية الموافقة لهذا المذيب.

*مردود الإستخلاص بأسيتات الإيثيل في النقع أكبر من Soxhlet بنسبة 1.96% وربما يرجع ذلك إلى الإختلاف في تدرج قطبية المذيبات السابقة له والمستعملة في كلا الطريقتين.

*مردود الإستخلاص بالبوتانول في النقع وبالإيثانول في Soxhlet ذو نسبة معتبرة مقارنة بالأطوار الأخرى السابقة لهما مع إختلاف قطبيتهما، مما يدل على إحتواء النبتة على مركبات قطبية بكميات لابأس بها.

ب-من حيث المزايا والعيوب:

*تستعمل مذيبات أقل في الإستخلاص بجهاز Soxhlet لكون العينة تتلامس بشكل متكرر مع أجزاء جديدة منه -المذيب- نتيجة التقطير، بينما الإستخلاص بالنقع يحدث فيها تجديد للمذيب في كل مرة حتى تستنفذ المادة النباتية "طريقة متقطعة" وبالتالي تكون تكلفة الأستخلاص بجهاز Soxhlet أقل من الإستخلاص بالنقع و ضررا أقل للبيئة.

*الإستخلاص بجهاز Soxhlet لا يتطلب إستعمال الترشيح الذي قد يؤدي إلى نقصان المستخلص والمادة النباتية عكس طريقة الإستخلاص بالنقع.

*عند إستعمال جهاز Soxhlet يتم إستخلاص العينة عند نقطة غليان المذيب مما قد يؤدي إلى التحلل الحراري لبعض أنواع مواد الأيض القابلة للتأثر الحراري بخلاف النقع التي تكون أنسب طريقة لهذه المواد.

فرضيات:

بناء على الإختبارات الكيفية وقطبية المذيبات المستعملة في الإستخلاص تكون المواد الطبيعية المستخلصة بالطريقتين والتي يمكن أن تتواجد في كل طور كما يلي:

أ-النقع:

*مستخلص الإيثر البيترولي: الكلوروفيل،الليبيدات، الأحماض الدهنية، الكومارينات

*مستخلص الهكسان: الكلوروفيل، التربينات

*مستخلص الكلوروفورم: التربينات، العفصيات

*مستخلص الأسيتات: القلويدات، الكومارينات، العفصيات

*مستخلص البوتانول: المركبات الفينولية وعديدة الفينول كالفلافنويدات، الستيرولات والعفصيات، والكربوهيدرات.

ب-جهاز Soxhlet:

*مستخلص الكلوروفورم: الكلوروفيل، الأحماض الدهنية، التربينات، الكومارينات

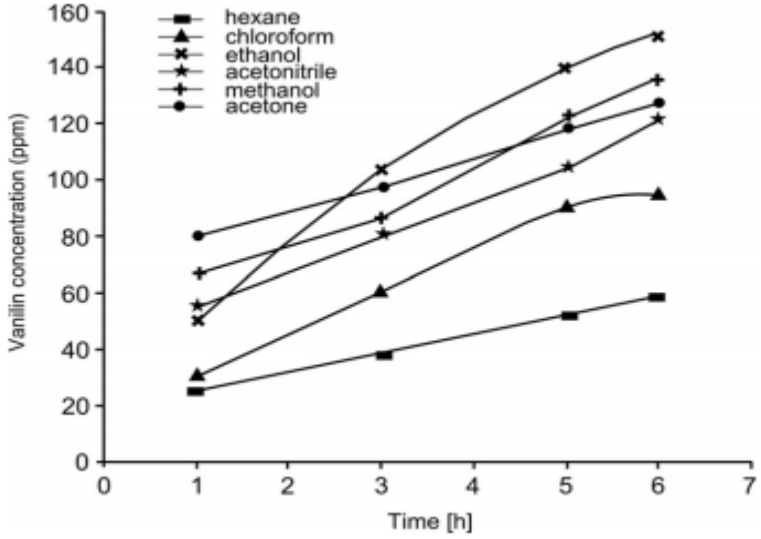
*مستخلص الأسيتات: الكلوروفيل، القلويدات، الكومارينات

*مستخلص الإيثانول: الفلافنويدات، الستيرويدات، الصابونينات، والمركبات الفينولية الأخرى....

يتم التأكد من هذة الفرضيات بإستخدام طرق التحليل الكروماتوغرافي.

II-1-2-3-تأثير المذيب على الإستخلاص بجهاز Soxhlet:

لأظهار دور المذيب في تحسين كفاءة الإستخلاص بجهاز **Soxhlet** أخذ كمثال إستخلاص الفانيلين من قرون الفانيليا وكانت النتائج كتالي:



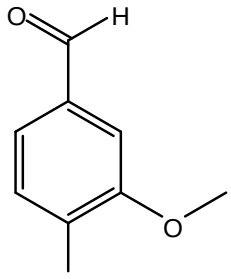
الشكل 15: تأثير إستعمال مذيبات مختلفة خلال الإستخلاص بجهاز **Soxhlet** عند 95 °C [40]

من خلال البيان وجد أن مركب الفانيلين يستخلص بشكل أفضل في المذيبات القطبية (الإيثانول والميثانول) وأقل في المذيبات غير القطبية (Hexane – CH_3Cl – Acetonitril – Acetone) [40].

تفسير النتائج:

حسب قاعدة الشبيه يذيب الشبيه، و إنطلاقا من صيغة الفانيلين نجده يحتوي على وظائف قطبية محبة للماء "hydrophile" (-OH، -COH، $-OCH_3$) قادرة على تشكيل روابط هيدروجينية مع المذيبات القطبية كالإيثانول والميثانول أكثر من المجاميع المحبة للدهون "Lipophile" ($-CH_2$) الموجودة في حلقة البنزن والتي تذوب في المذيبات غير القطبية المتمثلة في (Hexane - Acetonitril - Acetone CH_3Cl-).

إذا كلما زادت قطبية المذيب زادت ذوبانية المركب فيه وذلك بعد عدد معين من الطبقات.



Vanillin

الشكل 16: صيغة مركب الفانيلين

*كلما زادت مدة الإستخلاص زادت كفائته (بعد عدد معين من الطبقات) وهذا ما لوحظ في الشكل 15.

II-2-الدراسات السابقة لـ *Umbilicus rupestris*:

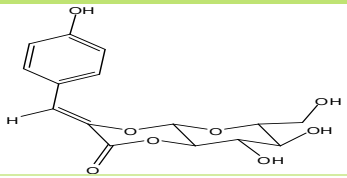
II-2-1-تجارب إستخلاص نبتة *Umbilicus rupestris*:

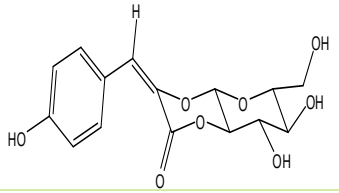
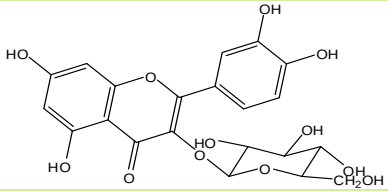
تجربة 1:

نتائج الفصل في كلا المستخلصين أ و **ب** كالتالي [12]:

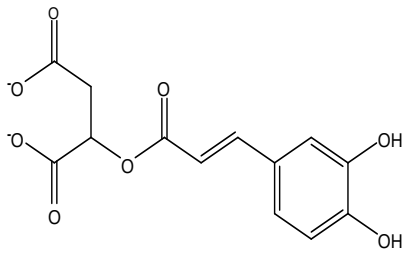
أ-بعد تقسيم 88 غ من مستخلص الأسيتات الناتج من 5 كلغ من الأوراق إلى ستة كسور، تم فصل 3 مركبات من أحد هذه الكسور (5 غ) بالإضافة إلى حساب كمياتها موضحة في الجدول 11:

جدول 11: المركبات المفصولة وكميتها في 5 غ من مستخلص الأسيتات

المركب	صيغته	كميته بـ ملغ
Z-venusol		900

12		**E-venusol**
4		**Isoquercitrin**

ب- بالرغم من أن طريقة الإستخلاص والفصل نفسها في **"أ"** إلا أن إضافة إستخدام الترشيح بعمود Sephadex LH-20 في **"ب"** مكن من فصل 2-O-caffeoyl malate بكمية 3.8 ملغ من مستخلص الأسيتات (4غ) الناتج من 1 كلغ من الأوراق، وبالتالي التنوع في طرق الفصل يغير نوع المركبات المفصولة.



2-O-caffeoyl malate

الشكل 17: صيغة مركب 2-O-caffeoyl malate

تجربة 2:

أظهرت نتائج الدراسة ما يلي [16]:

جدول 12: المركبات الفينولية وكمياتها (ملغ/غ مستخلص)

المركبات الفينولية	U.R.1		U.R.2		U.R.3	
	النقع	**الغلي**	**النقع**	**الغلي**	**النقع**	**الغلي**
Venusol	لم تحسب	لم تحسب	لم تحسب	لم تحسب	لم تحسب	لم تحسب
Caffeic acid	1.43 ± 0.04	/	2.3 ± 0.2	/	1.211 ± 0.06	/
Ferulic acid	0.082 ± 0.001	/	0.073 ± 0.002	/	0.072 ± 0.002	/
Ferulic acid hexoside	0.080 ± 0.002	/	0.091 ± 0.001	/	0.059 ± 0.019	/
Quercetin-O-glucuroside-O-hexoside	2.83 ± 0.03	2.40 ± 0.02	1.69 ±	1.804 ±	3.337 ±	2.42 ± 0.04

	0.004	0.004	0.09				
0.248 ± 0.001	0.261 ± 0.001	0.201 ± 0.002	0.208 ± 0.001	0.260 ± 0.001	0.295 ± 0.001	Isorhamnetin-O-pentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	**Isorhamnetin**
0.2529 ± 0.0005	0.265 ± 0.006	0.207 ± 0.001	0.221 ± 0.002	0.249 ± 0.002	0.2820 ± 0.0005	Isorhamnetin-O-deoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
0.212 ± 0.002	0.2252 ± 0.0005	0.204 ± 0.001	0.212 ± 0.001	0.218 ± 0.001	0.252 ± 0.004	Isorhamnetin-O-malonylpentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
0.230 ± 0.001	0.261 ± 0.003	0.201 ± 0.002	0.215 ± 0.002	0.2402 ± 0.0002	0.330 ± 0.003	Isorhamnetin-O-malonyldeoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
1.99 ± 0.02	2.67 ± 0.01	1.07 ± 0.04	0.92 ± 0.04	2.06 ± 0.02	2.586 ± 0.005	Myricetin-O-glucuroside-O-hexoside	**Myricetin**
0.320 ± 0.002	0.366 ± 0.001	0.283 ± 0.003	0.30 ± 0.01	0.318 ± 0.002	0.310 ± 0.001	Myricetin-O-malonylglucuroside-O-hexoside	
0.248 ± 0.001	0.261 ± 0.001	0.201 ± 0.002	0.208 ± 0.001	0.260 ± 0.001	0.295 ± 0.001	Chrysoeriol-O-pentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	**Chrysoeriol**
0.2529 ± 0.0005	0.265 ± 0.006	0.207 ± 0.001	0.221 ± 0.002	0.249 ± 0.002	0.2820 ± 0.0005	Chrysoeriol-O-deoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
0.212 ± 0.002	0.2252 ± 0.0005	0.204 ± 0.001	0.212 ± 0.001	0.218 ± 0.001	0.252 ± 0.004	Chrysoeriol-O-malonylpentoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
0.230 ± 0.001	0.261 ± 0.003	0.201 ± 0.002	0.215 ± 0.002	0.2402 ± 0.0002	0.330 ± 0.003	Chrysoeriol-O-malonyldeoxyhexoside-O-(deoxyhexosyl-pentoside)	
/	1.34 ± 0.04	/	2.5 ± 0.2	/	1.59 ± 0.04	الكمية الكلية لأحماض الفينولية	
7.55 ± 0.01	8.61 ± 0.01	5.30 ± 0.04	4.8 ± 0.1	7.34 ± 0.01	8.08 ± 0.02	الكمية الكلية للفلافونويدات	
7.55 ± 0.01	9.95 ± 0.04	5.30 ± 0.04	7.2 ± 0.3	7.34 ± 0.01	9.68 ± 0.06	الكمية الكلية للمركبات الفينولية	

من خلال النتائج وبشكل عام، قدمت مستخلصات الهيدروإيثانول الناتجة من النقع كميات أعلى من المركبات الفينولية مقارنة مع الغلي، قدمت هذه الأخيرة فقط مركبات الفلافونويد مع غياب الأحماض الفينولية وربما يعود ذلك إلى التحلل بسبب التسخين.

كان Myricetin و Quercetin المركبات الأكثر وفرة في جميع العينات وكذلك في كلا المستخلصين.

بمقارنة العينات الثلاث التي جمعت في نفس الفترة ولكن في مواقع جغرافية مختلفة نجد أن العينة $U.R._2$ قدمت قيم منخفضة للمركبات الفينولية مقارنة بـ $U.R._1$ و $U.R._3$ والتي كانت قيمهما متماثلة. تميزت مناطق نمو UR_1 و $U.R._3$ على التوالي أعلى وأدنى القيم المتوسطة لدرجات الحرارة الدنيا ودرجة الحرارة القصوى وكمية الأمطار، مما يشير إلى أن هذه العوامل لم تكن الأكثر صلة فيما يتعلق بتكوين المركبات الفينولية وبالتالي يمكن تفسير الإختلاف الكمي لـ $U.R._2$ بعوامل أخرى مثل تكوين التربة والتعرض لأشعة الشمس أو حتى بسبب الإختلافات الجينية.

تجربة 3:

قدمت طريقة الإستخلاص بمذيبات متسلسلة القطبية مباشرة من 1 كلغ من العينة (بإستعمال النقع) مردود وكميات المستخلصات المبينة في الجدول 13 التالي [19]:

جدول 13: كميات ومردود مستخلصات 1 كلغ من أوراق النبتة.

المستخلص	كمية المستخلص بـ غ	مردود الإستخلاص %
مستخلص الإيثر البترولي	10.00	1.25
مستخلص الكلوروفورم	13.6	1.70
مستخلص الميثانول	14.08	1.76
مستخلص طور البوتانول	3.44	/
مستخلص الطور المائي	2.58	/

أما عن المركبات المفصولة فكان عددها إثنان أحدها ذو طبيعة ليجنان Lignan والأخر ثلاثي تربان سكري.

II-2-2-الفعالية البيولوجية:

بينت الدراسات المنجزة على المستخلصات في كل من التجربتين 2 و 3 النتائج التالية:

II-2-2-1-من حيث الفعالية المضادة للأكسدة:

تجربة 2:

*تم الحصول على أفضل النتائج لمستخلصات النقع الإيثانومائية للعينات الثلاث $U.R._1$، $U.R._2$ و $U.R._3$ ووجد أن هذه الطريقة من الإستخلاص أعطت أدنى قيمة لـ CE50.

التفسير: فسرت هذه الدراسة أنه من الممكن أن يعزى هذا لوجود الأحماض الفينولية في جميع مستخلصات النقع بالمقارنة مع المستخلصات المتحصل عليها بالغلي والتي لم يكشف عن وجد هذه المركبات فيها (أنظر إلى الجدول 12).

*بالنسبة للعينتين $U.R._1$ و $U.R._3$ سبق وأن أشير إلى أن طريقة الإستخلاص بالنقع تحتوي على فلافانويدات بكميات أعلى من الإستخلاص بالغلي مما يبين تأثير الفلافانويدات في فاعلية المستخلصين.

*من بين العينات الثلاث للمستخلصات الإيثانومائية الناتجة من النقع قدمت العينة $U.R._1$ أعلى فاعلية في تثبيط DPPH تليها العينة $U.R._3$.

التفسير: فسر تقديم أعلى فاعلية مضادة للتثبيط من مستخلص العينة $U.R._1$ لإحتواء المستخلص على كمية كبيرة من حمض الكافييك والذي أثبتت في دراسات سابقة فاعليته القوية والعالية المضادة للتأكسد [16].

تجربة 3:

أثبتت نتائج الدراسة للمستخلص الكحولي قدرته التثبيطية للتحلل التأكسدي لـ **β carotene-** حيث كان المستخلص الميثانولي أعلى فاعلية تثبيطية يليه مستخلص الكلوروفورم. أثبتت هذه المستخلصات قدرتها التثبيطية لـ DPPH وكان المستخلص الميثانولي أعلى فاعلية في تثبيطه أيضا.

التفسير: يعتبر المستخلص الكحولي غني بالمواد الفينولية (التي أثبتتها الدراسة الكيفية والمتمثلة في الفلافانويدات والعفصيات) المحتوية على المجموعات الهيدروكسيلية التي يمكنها أن تتفاعل مع الجذور الحرة لتثبيطها [19].

*لم يتم إجراء سوى عدد قليل من الدراسات على النباتات من جنس ***Umbilicus*** من حيث خصائصها المضادة للأكسدة، فعند دراسة 24 نوع من النباتات في منطقة البحر الأبيض المتوسط، كان لنوع ***Umbilicus ruperstris*** السابع من بين النباتات التي أظهرت أعلى نسبة نشاط مضاد للأكسدة وكانت طريقة الإستخلاص المتبعة للإجراء هذه الدراسة هي الإستخلاص بالمذيب ماء/ أسيتون (3/7)[16].

II-2-2-2-من حيث الفعالية المضادة للميكروبات:

تجربة 2:

أشارت النتائج إلى أن المستخلصات الإيثانومائية مثبطة بشكل كبير للإتهاب تحت الجلد. فسرت هذه النتائج لكون المستخلص مضادا لإنزيمات الأكسدة الحلقية المسؤولة عن الإلتهاب.

كل من مستخلصين النقع والغلي كانا فعلان ضد المكروبات، أما في الفاعلية المضادة للإحتقان الرئوي فكانت مستخلصات الغلي الأكثر فعالية [16].

تجربة 3:

أشارت نتائج الدراسة إلى أن مستخلص الميثانولي له نشاط مضاد للبكتيريا (خلايا بكتيريا موجبة غرام وخلايا بكتيريا سالبة غرام). كما أثبت المستخلص فاعليته في التقليل من النشاط الحيوي للخلايا الورمية بعد العلاج [19].

*بينت دراسة أخرى أجريت من طرف MassinissaYahia, Algeria , 2017 " فاعلية المستخلص الميثانولي في زيادة حجم التبول بشكل كبير (أجريت التجارب على الفئران) حيث أعتبر من المواد المدرة للبول التي تعمل في الكلى وتدعم فقدانها وتعالج إحتقان الرئتين [43].

التفسير: فسرت نتائج هذه الدراسة بأن المستخلص الميثانولي يحوي العديد من المركبات يمكن أن تكون المسؤولة عن التأثيرات المدرة للتبول منها الفلافانويدات والصابونينات والقلويدات [43].

II-3-النتيجة العامة للدراسات:

II-3-1-نتيجة الإستخلاص:

1-التجفيف بالتجميد يكون أحسن من التجفيف تحت الظل وذلك لوجود عوامل تتمثل فيما يلي:

*التجفيف بالهواء تحت الظل يعتمد على الرطوبة ودرجة الحرارة في تلك المنطقة والتي تتغير بتغير الفصول وبالتالي تطول مدة التجفيف التي تستغرق أسابيع أو حتى أشهر مثل التجربة 3 التي كانت 40 يوما وفي دراستنا أيضا. تغير هذه العوامل لون وملمس العينة وبالتالي تؤثر على المنتجات الطبيعية التي تحتويها حيث تعمل درجة الحرارة على تطاير المركبات وأكسدتها لوجود الهواء.

*في حين أن التجفيف بالتجميد يحدث في وجود درجات حرارة منخفضة وتحت ضغط عالي لمدة 48 ساعة "مدة قصيرة مقارنة بالتجفيف بالهواء"، تعمل هذه الشروط على تجنب التغيرات التي تحدث في مظهر وخصائص العينة وبالتالي تحمي المركبات الحساسة حراريا والمعرضة لعمليات الأكسدة [44].

2-تأثر طريقة الإستخلاص على طبيعة المركبات المفصولة وكمياتها وهذا ما لوحظ في نتائج مستخلصات النقع، الغلي و Sohxlet لوجود عوامل كالحرارة، المدة الزمنية والمذيبات المستعملة.

للمذيبات المستعملة تأثير كبير على مردود المركبات المستخلصة وذلك من حيث تشابه القطبية ويظهر هذا جيدا عند إستخدام مذيبات مختلفة القطبية في تجربة إستخلاص الفانيلين.

3-عندما يتم إستخلاص أنواع مختلفة من المركبات الفلافونويدية دفعة واحدة من المادة النباتية بإستعمال الإستخلاص المتسلسل بمذيبات متغيرة القطبية فإن هذا يمكن أن يؤدي إلى فصل الجليكوزيدات عن الجليكونات وإلى فصل الأجليكون القطبي عن غير القطبي لذلك يفضل الإستخلاص المتسلسل بالمذيبات من المستخلص الخام [2]. يمكن أن يفسر هذا عدم فصل الفلافونويدات في التجربة 3 (نقع صلب-سائل بمذيبات متزايدة القطبية) عكس التجربتين 1 و 2 (الإستخلاص بمذيبات متزايدة القطبية من المستخلص الخام)، و بالتالي يمكن القول أن الطريقة المتبعة في الإستخلاص بـ Sohxlet قد لا تعطي فكرة حقيقية عن الفلافونويدات السكرية عكس الطريقة المتبعة في الإستخلاص بالنقع (المستعملتين في الدراسة).

4-يتأثر تكوين المركبات الطبيعية في النبات بالعوامل الجغرافية والوراثية. يظهر هذا جيدا في الإختلاف في كمية المركبات الفينولية للعينات الثلاث المأخوذة من مناطق مختلفة في البرتغال، وبالتالي يمكن أن تختلف كمية هذه المركبات في أوراق العينة المدروسة عن العينة المأخوذة من باتنة بالجزائر.

II-3-2-نتيجة الفعاليات البيولوجية:

1-يؤثر نوع الإستخلاص على الفعالية البيولوجية بسبب نوعيته للمود المستخلصة.

2-أكدت دراسات الفعالية البيولوجية الإستعمالات التقليدية لـ U.R. فيما يخص أمراض الجلد والأنسجة.

3- من خلال نتائج الدراسات التي أجريت في أوروبا (البرتغال) وتلك التي أجريت في افريقيا (باتنة بالجزائر) وجد أن خصائص الفاعلية البيولوجية للنبتة في كل منهما متماثلة وبالتالي يمكن القول أن العينة المأخوذة في دراستنا يمكن أن تحمل نفس الخصائص البيولوجية.

الخلاصة:

أظهرت الدراسات المنجزة على *Umbilicus rupestris* مجموعة من النقاط تمثلت في:

* وصف نبات على أنه بري صالح للأكل حيث تم تقييم التركيبة الغذائية لأوراقه مما سمح بإستنتاج أنه يمكن أن يضم هذا النوع من النبات إلى نظام غذائي كمصدر للعناصر الغذائية كالأحماض العضوية ،أحماض الأوميغا 3، الفيتامينات،الكربوهيدرات وكذا الدهون..

* إحتوائه على كمية معتبرة من المركبات الفينولية، حيث تم الكشف عن 16 مركب فينولي من قبل"Júlia H.,2019" وفصل 4 مركبات (Z/E-venusol– isoquercitrin – 2-O-caffeoyl malate) من قبل "Viornery L., 2000" أما "BENHOUDA A., 2015 " فقد فصلت مركبين أحدهما بطبيعة ليجنان والأخر تربان ثلاثي وكان السبب الرئيسي في تنوع هذه المواد المستخلصة من قبل الباحثين الثلاث هو الإختلاف في طرق الفصل و التنقية المتبعة.

* بينت الدراسات أن الإستخلاص بمذيبات متزايدة القطبية من المستخلص الخام (المستخدم في النقع) أكثر كفاءة من الإستخلاص صلب-سائل بمذيبات متزايدة القطبية (المستخدم في Sohxlet).

* من خلال نتائج الدراسات تم إستنتاج أن الخصائص البيولوجية للنبتة في كل من أوروبا وشمال إفريقيا متوافقة.

قائمة المراجع

[1]-**Teijo Yrjönen**. Extraction and Planar Chromatographic Separation Techniques in the Analysis of Natural Products. Academic dissertation. Helsinki. University of Helsinki. 2004. P53.

[2]-**Harborne, J. B, et al.** The flavonoids. 1st eds. Pub by: Chapman and Hall Springer Science+Business Media Dordrecht, Ltd.1975. p1197.

[3]-**Chabrier Jean-Yves**. Plantes Medicinales et Formes d'Utilisation En Phytotherapie. These Doctorat en Pharmacie. Nancy en Franc. Universite Henri Poincaré.2010. P: 165.

[4] -**Zhenghao Xu, et al**. Identification and Control of Common Weeds. 1st ed. pub by Springer, Netherlands. 2017. XVIII 848/833.

[5]- **Allorge**. Madagascar centre des peciationet d'origine du genre Kalancho (crassulaceae). Journal Biogéographie de Madagascar.1996.P:137-145.

[6] **Eid Omneya, et al**. Crassulaceae (chemistry and pharmacology) - A review. Future Journal of Pharmaceutical Sciences.2018.P: 1-7.

[7]- **Mabberley, D.J.** The Plant-Book. 2nd ed. Pub by Cambridge University Press. Cambridge, UK. 2000. P: 858.

[8]-**Gideon smith, et al**. Kalanchoe (crassulaceae) in southern Africa.1edu. Pub by Academic Press Elselvier.2019.p:338.

[9]- Plantes Natives D'Algérie. Familles botaniques.Mairie de paris.Algeria native plants.net/html/plante-algerie-statistique-famille-boutanique.php. Le 24/08/2020

[10]-Index of www.thecompositaehut.com/www_tch/images/webcurso_spv/mapas/2011-08-12 19:46.

[11]- **G.lopez.** Gonzalezin Anales jard .Bot.Madrid 1993. **51**. P: 170-171

[12] **Viornery, L., et al**. Phenylpropanoids from Umbilicus pendulinus. Journal of Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 2000. **48**. P: 1768–1770.

[13]- **Prieur Anne-Marie**. La toilette de Vénus. Journal de Bulletin de la Société Mycologique et Botanique de la Région Chambérienne. 2008. **13**. P: 6- 7.

[14]-**W.Baxter**. British Phænogamous Botany.IV edu. Pub by Botanic garden, oxford.1839.

[15]- **Tison, J-M. et al**. Flora Gallica.Flore de France. Biotope Éditions, Mèze. 2014. 1196 pp

[16]- **Harumi Júlia, et al**. Nutritional composition and bioactivity of Umbilicus rupestris (Salisb.) Dandy: An underexploited edible wild plant. Journal of Food Chemistry Elsevier. 2019. **295**. P: 341-349.

[17]-**Benhouda, A., et al**. Toxicity and anti-inflammatory effects of methanolic extract of Umbilicus rupestris L. leaves (Crassulaceae). International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2015. Vol **6**. P395–P408.

[18]- **Cazin**. Nombril-de- vénus. Traité des plantes médicinales .1868.

[19]-**Benhouda, A.**. Etude Des Activites Pharmacobiologiques Des Extraits d'Umbilicus rupestris (Salisb Dandy) ET Hyoscyamus albus L. Doctorat. Batna. Universite Hadj Lakhdar.2015-2016.p:169.

[20]-**Raymond Cooper, et al**. Natural Products Chemistry Sources, Separations, and Structures.Pub by CRC Press Taylor & Francis Group.Boca Raton.2015.p175

[21]- **Prashant Tiwari, et al.** Phytochemical screening and Extraction: A Review. Journal of Internationale Pharmaceutica Sciencia. 2011. Vol **1**. Issue **1**. p9

[22]-**HARBORNE J. B.** Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.1st edu. Pub by: Great Britain by Fakenham Press Limited Fakenham, Norfolk. London, new yourk. 1973. P271.

[23]-**Bulugahapitiya Vajira P.** Plants Based Natural products Extraction, Isolation and Phytochemical screening methods.1st Edu. Pub by: Indika Graphics. Matara. 20th June 2013. p110.

[24]-**Kasiri M. B., et al**. Exploring and Exploiting Plants Extracts as the Natural Dyes/Antimicrobials in Textiles Processing. Journal of Prog. Color Colorants Coat. 2015. 8. P: 87-114.

[25]- **Ncube NS, et al**. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. African Journal of Biotechnology. 2008. 7 (12).p:1797-p: 1806.

[26]- **Harborne, J. B.** Flavanoids in phytochemistry. J.B Litton educational publishing in London.1973.

[27]-**Harborne, J. B.** Progress in phytochemistry.5 eds.pub by: Swin, T, Pregamon press. Oxford.1975.

[28]- **El hazimi, H**. Natural product. 1995. P: 149-190.

[29]- **Reinsch, H**., Repert. (1842). Pharm. 26, 12-31. Reinsch, H., Repert. (1842). Pharm. 28, 18-25.

[30]- **Kttouni Rachid**. Isolement et determination des metabolites secondaires de l'exsudat toluene-acetate d'ethyle de *centaurea calcitrapa (asteraceae)*.magister.constantine.universite de mentouri.2007.p119

[31]- **Harborne, J. B**. The flavonoids. Pub by: Academic press. London.1980.

[32]- **Harborne, J. B**. The flavonoids, advances in research since 1980. 1eds. Pub by: Chapman and Hall, New York.1989.

[33]-**Pawank, A**. NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligo saccharids glycosides. Phytochemistry.1992. **10**. P: 3307-3330.

[34] **Melcent, R**. Chimie organique hétérocyclique. 1eds. EDP sciences.2003.

[35]- **El-haoud Hamid, et al**. Screening Phytochimique D'une Plant Medicinal: Mentha Spicata L. American Jornal of Innovative Research and Applied Sciences.2018. P: 277-278.

[36]-**Prabhavathi R. , et al**. Studies on Qualitative and Quantitative Phytochemical Analysis of Cissus quadrangularis.Jornal of Advances in Applied Science Research.2016.P: 11-17.

[37]- **K.Sahira Banu, et al**. General Techniques Involved in Phytochemical Analysis. International Journal of Advanced Research in Chemical Science (IJARCS). 2015. P: 25-32.

[38]- **Qing-Wen Zhang, et al**. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review.Journal of Chinese Medicine.2018.P:26

[39]- **L.dullion**. "chimie organique expérimentale». Hermann. Éditeurs.P37-39.

[40] **A Zygler, et al**. Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec.Journal of Elsevier. 2012. P: 65-82.

[41]-**Felix G. Coe, et al**. Anderson. Screening of medicinal plants used by the Garifuna of Eastern Nicaragua for bioactive compounds. Journal of Ethnopharmacology 53 (1996).P:29-50.

[42]- **Saif Sadia, et al**. Green Synthesis of Iron Nanoparticles and Their Environmental Applications and Implications.Journal of Nanomaterials. 2016. P: 26.

[43]-**Massinissa Yahia, et al**. Evaluationof thediuretic activity forthefirsttime of Hyscyamus Albusand Umbilicus repestris inrats. Brj pharm medres. 2017. Vol 02. **02**. P: 449-453.

[44]- **Hossain M, et al**. Effects of different drying processes on the concentrations 4 of metals and metalloids in plant materials. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. July 2011. P: 6.

الملحق

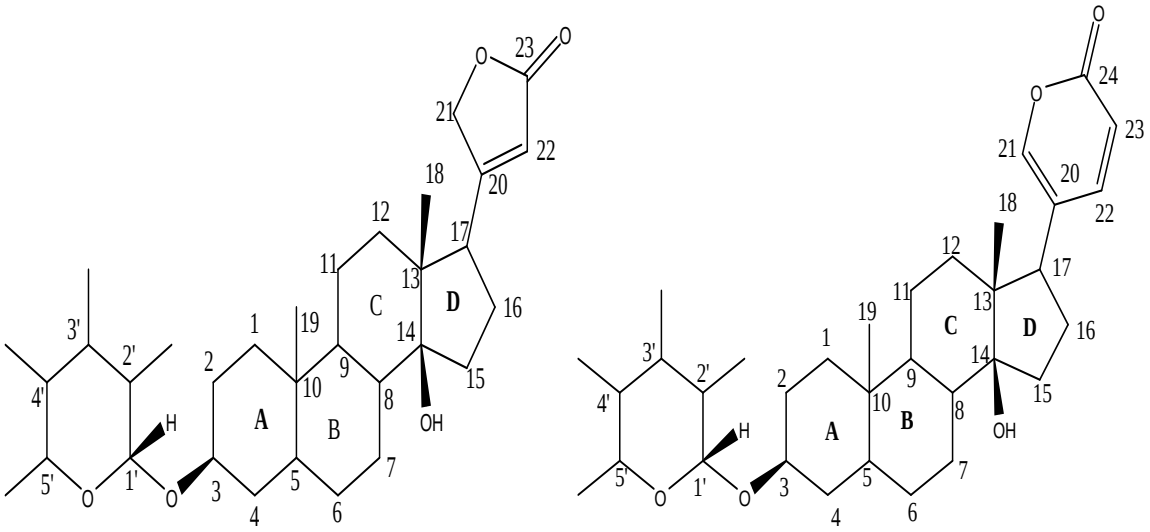
1-تعريفات:

-كردينولات Cardenolides: هي مركبات ستيرويدية "23C" مشتقة من الكوليستيرول يتميز هيكلها بالخصائص التالية:

*إستبدال الحلقة الستيرويدية في الموضع 17β بحلقة لاكتون خماسية غير مشبعة في الموضعين α و β (but-2-en-4-olide ring) وفي الموضع 14β بمجموعة هيدروكسي مما يسبب الأرتباط cis للحلقتين C و D.

*إرتباط الأجليكون بالسكريات أو الأحماض في مجموعة الهيدروكسي في الموضع 3β.

-البوفاديونيليدات Bufadienolides (bufa-20,22-dienolides) : هي مركبات ستيرويدية 24C خصائص هيكلها مشابهة للكردينولات وتختلف فقط في الموضع 17β حيث تستبدل بحلقة لاكتون سداسية غير مشبعة بدل الخماسية (penta-2,4-dien5-olide ring).



Bufadienolides **Cardenolides**

2-تحضير الكواشف:

1-كاشف dragendroff: يحضر كما يلي:

أ-محلول التخزين: تمزج 1.7 غ من نترات البيزموث ($Bi(NO_3)_3$) مع 80 مل من الماء المقطر و 20 مل من حمض الخل الجليدي (CH_3COOH) ثم يضاف 100 مل من محلول يوديد البوتاسيوم KI (% 50 وزن/حجم) يرج المزيج حتى الذوبان ويخزن في زجاجة عتمة إلى أجل غير مسمى.

ب-محلول العمل: يخلط 100 مل من محلول التخزين مع 200 مل من حمض الخل الجليدي (CH_3COOH) ويذاب المزيج في 1 ل من الماء المقطر. يخزن في زجاجة عتمة لمدة 2-5 أشهر.

2-كاشف Fehling: يتم تحضير محلول قبل الإستخدام مباشرة عن طريق خلط كميات متساوية من محلولين A و B حيث يحضر المحلولين كالتالي:

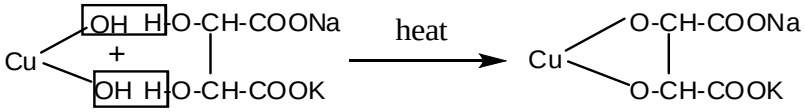
أ-Fehling A: تذاب 70 غ من كبريتات النحاس ($CuSO_4$) و 1 مل من حمض الكبريت المركز (H_2SO_4) في 200 مل من المقطر ثم يذاب المزيج في 1 ل من الماء المقطر.

ب-Fehling B: تذاب 352 غ من ملح Rochelle "طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم $KNaC_4H_4O_6.4H_2O$" و 154 غ من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) في 200 مل من الماء المقطر ثم يذاب المزيج في 1 مل من الماء المقطر.

*تفاعل كبريتات النحاس مع هيدروكسيد الصوديوم:

$$CuSO_4 + 2NaOH \longrightarrow Cu(OH)_2 + Na_2SO_4$$

*تفاعل هيدروكسيد النحاس الثنائي مع ملح Rochelle :



ملح Rochelle محلول Fehling