

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح ورقلة

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم العلوم الطبيعية



N° d'enregistrement :

.....

السنة: 2024-2023

رسالة

مقدمة من طرف

السيدة: حمدي عائشة

لنيل شهادة دكتوراه علوم

شعبة: العلوم الطبيعية

تخصص: كيمياء حيوية

بعنوان:

الفعل التثبيطي للمستخلصات الفينولية لبعض النباتات المحلية على إنزيم

α -أميلاز و α -غليكوزيداز وتقدير نشاطها المضاد للأكسدة

Effets inhibiteurs des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales sur l' α -glucosidase et l' α -amylase et évaluation de leurs pouvoirs antioxydant

نوقشت وأجيزت يوم 2024/05/06

أمام اللجنة المكونة من السادة:

رئيسا	(أستاذ التعليم العالي، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة)	أ.د/كماسي عبد الله
مشرفا ومقررا	(أستاذ التعليم العالي، جامعة عمار ثليجي-الأغواط)	أ.د/ جريدان عمر
مناقشا	(أستاذ التعليم العالي، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة)	أ.د/ بوجناح صليحة
مناقشا	(أستاذ التعليم العالي، جامعة قاصدي مرباح-ورقلة)	أ.د/ بوال زكرياء
مناقشا	(أستاذ محاضر أ، المدرسة العليا للأساتذة-ورقلة)	أ.د/ بلقار آسيا
مناقشا	.	أ.د/ حميد أوجانة عائشة (أستاذ محاضر أ، جامعة غرداية)

السنة الدراسية: 2024-2023

إهداء

إلى والديا الكريمين حفظهما الله ورحمهما

إلى زوجي وأولادي عيسى صهيب، لينة فرح وأشواق حنين

إلى أخي وأخواتي وعائلاتهم الصغيرة

إلى صغيرة العائلة "عوالي"

إلى عائلتي الثانية

إلى صديقاتي

كلمة شكر

الحمد لله رب العالمين، حمدا يوافي نعمه، ويكافئ مننه. والشكر للمولى عز وجل أن أمدني بروح منه، واسبغ عليا من فضله، واطمأن لي سبيل الهدى، ووفقني إلى إكمال هذا العمل.

تم إنجاز هذه الدراسة في مخبر العلوم الأساسية بجامعة عمار ثليجي - الأغواط، لذا أتقدم بالشكر الجزيل لرئيسه الأستاذ الدكتور يوسف محمد ولجميع أعضائه ومهندسيه.

كما أتقدم بالشكر الجزيل للأستاذ جريدان عمر أستاذ تعليم عالي بجامعة عمار ثليجي لإشرافه على هذا العمل، وعلى التوجيهات القيمة والجهود العلمية التي بذلها معي والوقت الذي خصصه لتعليمي أسس البحث العلمي وأخيرا على صبره وكرمه.

كما أشكر الأستاذ كمامي عبد الله أستاذ التعليم العالي بجامعة قاصدي مرباح ورقلة لقبوله رئاسة لجنة مناقشة هذه الأطروحة.

كما أشكر السادة أعضاء لجنة المناقشة الأستاذة بوجناح صليحة؛ أستاذة تعليم عالي، جامعة قاصدي مرباح - ورقلة، الأستاذ بوال زكرياء؛ أستاذ تعليم عالي، جامعة قاصدي مرباح - ورقلة، الأستاذة بلفار آسيا؛ أستاذة محاضرة أ، المدرسة العليا للأستاذة - ورقلة والأستاذة حميد أوجانة عائشة؛ أستاذة محاضرة أ، جامعة غرداية على قبولهم الدعوة لمناقشة هذه الأطروحة.

خالص تشكراتي للأستاذة حشاني سمية (أستاذة بالمدرسة العليا للأستاذة بالأغواط)، الأستاذة بن مبارك هجيرة (أستاذة بالمدرسة العليا للأستاذة بالأغواط)، الأستاذة بن سانية وفاء (أستاذة بجامعة غرداية)، وللسيدتين عبد العالي خديجة ويوسف الزهرة مهندسي مخبر العلوم الطبيعية بالمدرسة العليا للأستاذة بالأغواط على الجهود المبذولة أثناء إنجاز هذا العمل.

في الأخير أتقدم بالشكر الجزيل لوالدي ولجميع أفراد عائلتي وأصدقائي الذين شجعوني وأمدوني بالدعم لإتمام هذا العمل.

لكم مني جميعا جزيل الشكر والعرفان

ملخص

يعرف العالم انتشارا خطيرا لمرض السكري خصوصا النوع الثاني لذا يعد البحث عن أدوية فعالة تحديا كبيرا للمختصين. يعتبر الخبراء أن البحث على مركبات طبيعية ذات آثار جانبية أقل من أهم الحلول لهذا المشكل. لذا يهدف هذا العمل لدراسة المحتوى الكلي للفينولات مستخلصات ثلاث أنواع نباتية من العائلة الرمرامية؛ بوقريية (*Agatophora alopecuroide*)، الجمل (*Caroxylon imbricatum*) والروقل (*Caroxylon vermiculatum*) وكذا تقدير نشاطاتها المضاد للأكسدة والمثبطة لإنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز.

بين لنا المسح الفيتوكيميائي إحتواء مستخلصات هذه النباتات على العديد من مركبات الأيض الثانوي وأهمها القلويدات، الفلافونويدات والعفصيات. كما بينت نتائج التقدير الكمي للفينولات أن المستخلصات البيتانول أغنى من مستخلصات خللات الإيثيل، كما بينت إحتواء نبات *A. alopecuroide* على كمية أكبر من الفينولات مقارنة بباقي النباتات. بالنسبة لفترة جمع العينات بينت لنا النتائج أن الفترة الممتدة بين أفريل وجوان أفضل من الفترة (أكتوبر-ديسمبر) لجمع العينات.

بينت نتائج اختبارات تقدير النشاط المضاد للأكسدة فعالية جميع المستخلصات في إزاحة جذر DPPH وارجاع أيونات النحاس ومخلبة الحديد. كما بينت أن مستخلصات خللات الإيثيل أكثر نشاطا من مستخلصات البيتانول.

بالنسبة للنشاط المضاد لمرض السكري اثبتت النتائج فعالية جميع المستخلصات في تثبيط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز، حيث تراوحت نسب التثبيط بين 3.39 و 91.01%. أظهرت مستخلصات نبات *A. alopecuroide* ومستخلصات خللات الإيثيل والبيتانول لعينة أكتوبر من نبات *C. vermiculatum* نشاطا أفضل من المركب المرجعي "أكاربوز".

تمكننا باستعمال كروماتوغرافيا العمود، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة والطررد المركزي من الحصول على ثمان كسور -انطلاقا من مستخلصات عينة أكتوبر لنبات *C. vermiculatum* -أغلبها يحتوي على مركب رئيسي. أظهر الكسر الرابع نشاطا عاليا كمضاد للأكسدة وفعالية في تثبيط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز أفضل من المركبات المرجعية.

تمثل النتائج المتحصل عليها في هذا العمل خطوة أولى في البحث عن منتجات طبيعية جديدة نشطة بيولوجيا قادرة على تنظيم مستوى السكر في الدم لدى مرضى السكري من النوع الثاني. لذلك، لابد من اجراء المزيد من التجارب لتوصيف الجزئيات النشطة بيولوجيا ودراسة آثارها في الجسم الحي، والتي يمكن استخدامها علاجيا.

الكلمات المفتاحية: الفينولات، *Agatophora alopecuroide*، *Caroxylon imbricatum*، *Caroxylon vermiculatum*، النشاط المضاد للأكسدة، تثبيط إنزيمي.

Abstract

Diabetes, especially type 2, becomes the world most serious prevalence illness, making the search for effective medications a significant challenge for researchers. Researchers believed that the investigation of natural compounds, with fewer side effects, derived from natural sources are crucial solutions to this problem. Therefore, the aim of this research was to study the total phenolic content of extracts from three plant species belonging to the *Chenopodiaceae* family: *Agatophora alopecuroide*, *Caroxylon imbricatum*, and *Caroxylon vermiculatum*, as well as their antioxidant activity and inhibitory effect against α -amylase and α -glucosidase activity.

The phytochemical analysis revealed that extracts from these plants contain various secondary metabolites, notably, alkaloids, flavonoids, and tannins which are considered as the most important compounds endowed with highly biological activity. The Quantitative estimation of total phenolics indicated that the butanolic extracts contained high amount of phenolics than the ethyl acetate extracts. In addition, the results revealed that the plant *A. alopecuroide* contained a higher amount of phenolics compared to the other plants.

Regarding the sampling period, the results indicated that the period between Avril and Joan is better than the period (October-December for the harvest of the plants).

On the one hand, the results of antioxidant activity tests indicated that all extracts were effective in scavenging DPPH radicals, reducing copper ions and chelating iron ions. Further, the ethyl acetate extracts exhibited higher activity compared to the butanol extracts.

On the other hand, the results of anti-diabetic activity demonstrated the effectiveness of all extracts in inhibiting the enzymes of both α -amylase and α -glucosidase. The inhibition percentages ranged from 3.39 to 91.01%. All extracts from *A. alopecuroide* plant and both ethyl acetate and butanol extracts harvested in October of *C. vermiculatum* plant showed stronger activity than the reference compound 'acarbose.'

Moreover, using column chromatography, thin-layer chromatography, and centrifugal partition technique, eight fractions were obtained from the samples harvested in October of *C. vermiculatum* plant. The fourth fraction revealed a major compound characterized with high antioxidant activity and strong inhibitory effects for both α -amylase and α -glucosidase enzymes compared to reference compounds.

The results obtained in this research is the bed rock for an initial step in the search for new natural biological active products that could enhance the regulation of blood sugar levels in type 2 diabetes patients. Thus, further experiments are necessary to characterize these active molecules and to study their effects *in vivo* for potential therapeutic applications.

Key words: Polyphenols; *Agatophora alopecuroide*; *Caroxylon imbricatum*; *Caroxylon vermiculatum*; Antioxidant Activity, inhibitory effect.

Résumé

Le diabète, en particulier le diabète type 2, devient la maladie de prévalence la plus grave au monde, faisant la recherche de médicaments efficaces un défi important pour les chercheurs. Les chercheurs considèrent que l'investigation dans la recherche des composés naturels, avec moins d'effets secondaires, est l'un des solutions cruciales à ce problème. Par conséquent, le but de cette recherche est l'étude de la teneur en phénols totaux des extraits de trois espèces végétales appartenant à la famille des *Chenopodiaceae* : *Agatophora alopecuroide*, *Caroxylon imbricatum* et *Caroxylon vermiculatum*, ainsi que l'évaluation de leurs activité antioxydante et leurs pouvoir inhibiteurs vis-à-vis l' α -amylase et l' α -glucosidase.

L'analyse phytochimique a révélé que les extraits de ces plantes contiennent divers métabolites secondaires, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tanins qui sont considérés comme les composés les plus actifs biologiquement. Le dosage quantitatif des phénols totaux a indiqué que les extraits butanoliques contenaient une quantité élevée de composés phénoliques que les extraits d'acétate d'éthyle. De plus, les résultats ont révélé que la plante *A. alopecuroide* contenait une plus grande quantité de phénoliques que les autres plantes.

Concernant le temps d'échantillonnage, les résultats indiquent que la période entre Avril et Juin est meilleure que la période (octobre-décembre) pour la récolte des plantes.

D'une part, les résultats des tests d'activité antioxydante ont indiqué que tous les extraits sont efficaces pour balayer les radicaux DPPH, réduire les ions Cu^{+2} et chélater les ions Fe^{+2} . De plus, les extraits d'acétate d'éthyle présentent l'activité la plus élevée que les extraits butanolique.

D'autre part, les résultats de l'activité antidiabétique ont démontré l'efficacité de tous les extraits pour inhiber les enzymes α -amylase et α -glucosidase avec des pourcentages d'inhibition varient de 3,39 à 91,01 %. Tous les extraits de la plante *A. alopecuroide* ainsi que les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique récoltés en octobre de la plante *C. vermiculatum* ont montré une activité plus forte que le composé de référence 'acarbose.'

De plus, en utilisant la chromatographie sur colonne, la chromatographie sur couche mince et la centrifugation, huit fractions ont été obtenues à partir des échantillons récoltés en octobre de la plante *C. vermiculatum*. Parmi ces fractions, F4 caractérisé par un composé majoritaire a révélé une forte activité antioxydante et un pouvoir inhibiteurs élevé vis-à-vis l' α -amylase et l' α -glucosidase par rapport aux standards.

Les résultats obtenus dans cette recherche ne sont que la première étape dans la recherche de nouveaux produits biologiques naturels actifs qui pourraient améliorer la régulation de la glycémie chez les patients atteints du diabète type 2. Ainsi, d'autres expériences sont nécessaires pour caractériser les molécules actives et étudier leurs effets in vivo pour des applications thérapeutiques.

Key words: Polyphenols; *Agatophora alopecuroide*; *Caroxylon imbricatum*; *Caroxylon vermiculatum*; activité antioxydante; pouvoir inhibiteur.

	الإهداء
	التشكرات
	الملخص
	فهرس المحتويات
I	قائمة الجداول
II	قائمة الأشكال
III	قائمة الملاحق
IV	قائمة الاختصارات والرموز
2	مقدمة
	الفصل الأول: الدراسة المرجعية
6	1.1. دراسة مرجعية للنباتات المدروسة
6	1.1.1. عموميات حول العائلة الرمامية
7	2.1.1. نبات بوقرية <i>Agathophora alopecuroides</i> (Delile) Bunge
7	1.2.1.1. الوصف النباتي
7	2.2.1.1. التوزيع والانتشار
8	3.2.1.1. النشاط البيولوجي والدراسات السابقة
9	3.1.1. نبات الجل <i>Caroxylon imbricatum</i> (Forssk.) Akhani & Roalson
9	1.3.1.1. الوصف النباتي
9	2.3.1.1. التوزيع والانتشار
10	3.3.1.1. النشاط البيولوجي والدراسات السابقة
11	4.1.1. نبات الروقل <i>Caroxylon vermiculatum</i> (Forssk.) Akhani & Roalson
11	1.4.1.1. الوصف النباتي
12	2.4.1.1. التوزيع والانتشار
12	3.4.1.1. النشاط البيولوجي والدراسات السابقة
14	2.1. مركبات الأيض الثانوي
14	1.2.1. القلويدات
15	2.2.1. التربينات
15	3.2.1. متعددات الفينول
15	1.3.2.1. الأحماض الفينولية
16	2.3.2.1. العفصيات
17	3.3.2.1. الكومارينات
17	4.3.2.1. الفلافونويدات
19	3.1. الأكسدة البيولوجية واختلالاتها

19	1.3.I. الجذور الحرة
22	2.3.I. الإجهاد التأكسدي
22	3.3.I. مضادات الأكسدة .
22	1.3.3.I. آلية عمل مضادات الأكسدة
22	2.3.3.I. تصنيف مضادات الأكسدة
23	4.3.I. الإجهاد التأكسدي والأمراض
24	4.I. داء السكري وعلاجه
24	1.4.I. تعريف
25	2.4.I. أنواع مرض السكري
25	1.2.4.I. النوع الأول
25	2.2.4.I. النوع الثاني
25	3.2.4.I. سكري الحمل
26	4.2.4.I. السكري الثانوي
26	5.2.4.I. الأشكال الهجينة من مرض السكري
26	3.4.I. أعراض مرض السكري
27	4.4.I. مضاعفات مرض السكري
27	5.4.I. علاج مرض السكري

الفصل الثاني: الأدوات والطرق

29	1. II. المواد والأجهزة المستعملة
30	2. II. المادة النباتية
30	3. II. الدراسة الفيتوكيميائية
31	1.3. II. الكشف عن الصابونينات
31	2.3. II. الكشف عن القلويدات
31	3.3. II. الكشف عن الفلافونيدات
31	4.3. II. الكشف عن الأنتوسيانينات
31	5.3. II. الكشف عن العفصيات
32	6.3. II. الكشف عن التربينات والستيروولات
32	7.3. II. الكشف عن المركبات المرجعة
32	8.3. II. الكشف عن الكومارينات
32	9.3. II. الكشف عن الغليكوسيدات القلبية Cardiotonic heterosid
32	10.3. II. الكشف عن الانتراسينات الحرة Anthraquinones
33	11.3. II. الكشف عن الانتراسينات المرتبطة Anthraquinone glycoside
34	4. II. تحضير المستخلصات

34	5. II. تقدير المحتوى الكلي للفينولات
34	6. II. فصل المركبات النشطة
34	1.6. II. تحضير المستخلصات
34	2.6. II. فصل مستخلص حالات الإيثيل
35	3.6. II. فصل مستخلص البيتانول
36	4.6. II. التحليل الطيفي والكروماتوغرافي للكسور
36	7. II. تقدير النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات والكسور
36	1.7. II. دراسة النشاط الإزاحي لجذر الـ DPPH
37	2.7. II. دراسة النشاط الإرجاعي لأيونات النحاس CUPRAC
38	3.7. II. دراسة نشاطية استخلاص الحديد
39	8. II. تقدير النشاط المضاد للسكري للمستخلصات والكسور
39	1.8. II. تثبيط إنزيم α -أميلاز البنكرياسي
40	2.8. II. تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز
41	9. II. الدراسة الإحصائية
الفصل الثالث: عرض ومناقشة النتائج	
43	1. III. الدراسة الفيتوكيميائية
45	2. III. مردود الاستخلاص
47	3. III. تقدير المحتوى الكلي للفينولات
51	4. III. النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات
51	1.4. III. اختبار ازاحة جذر الـ DPPH
55	2.4. III. اختبار ارجاع أيونات النحاس الثنائية CUPRAC
58	3.4. III. اختبار استخلاص أيونات الحديد الثنائية
62	5. III. النشاط المضاد للسكري للمستخلصات
66	6. III. الدراسة الاحصائية
74	7. III. تنقية المستخلصات والنشاط الحيوي للكسور
74	1.7. III. تنقية المستخلصات وعزل المركبات.
76	2.7. III. النشاط المضاد للأكسدة للكسور
78	3.7. III. دراسة النشاط المضاد للسكري للكسور
81	الخاتمة
84	المراجع
100	الملاحق

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	الجدول
6	: التصنيف النباتي العلمي للعائلة الرمامية	الجدول 1.I
16	: مختلف أنواع الأحماض الفينولية	الجدول 2.I
17	: أنواع العفصيات حسب البنية	الجدول 3.I
19	: أهم الأنشطة البيولوجية لمتعددات الفينول	الجدول 4.I
21	: بعض الأنواع التفاعلية النشطة الجذرية وغير الجذرية	الجدول 5.I
24	: بعض الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي	الجدول 6.I
29	: قائمة المواد والأجهزة المستعملة	الجدول 1.II
43	: نتائج الدراسة الفيتوكيميائية للنباتات الثلاث	الجدول 1.III
46	: مردودية الإستخلاص للعينات المدروسة	الجدول 2.III
48	: المحتوى الكلي الفينولات TPC في العينات النباتية المدروسة	الجدول 3.III
50	: المحتوى الكلي للفينولات في النباتات المدروسة حسب الدراسات السابقة	الجدول 4.III
53	: فعالية المستخلصات في إزاحة جذر DPPH	الجدول 5.III
57	: فعالية المستخلصات في ارجاع أيونات النحاس الثنائية.	الجدول 6.III
59	: فعالية المستخلصات في مخلبة أيونات الحديد الثنائية	الجدول 7.III
60	: نتائج مخلبة أيونات الحديد حسب الدراسات السابقة	الجدول 8.III
63	: قيم نسبة تثبيط إنزيم α -أميلاز للمستخلصات المدروسة والأكاربوز	الجدول 9.III
64	: قيم نسبة تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز للمستخلصات المدروسة والأكاربوز	الجدول 10.III
67	: قيم معامل بيرسون للارتباط بين مختلف الاختبارات.	الجدول 11.III
70	: نسب الارتباط بين المتغيرات والعوامل	الجدول 12.III
75	: مردودية التنقية وتركيب الكسور حسب التحليل HPLC (254 نانومتر)	الجدول 13.III
76	: قيم الـ EC_{50} للكسور حسب اختبار إزاحة جذر DPPH واختبار CUPRAC	الجدول 14.III
78	: النشاط التثبيطي لإنزيم α -أميلاز وإنزيم α -غليكوزيداز بواسطة الكسور المفصولة	الجدول 15.III

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	الشكل
7	صورة لنبات <i>A. alopecuroide</i> :	الشكل 1.I
9	صورة لنبات <i>C. imbricatum</i> :	الشكل 2.I
11	صورة لنبات <i>C. vermiculatum</i> :	الشكل 3.I
17	البنية الكيميائية القاعدية للكومارين :	الشكل 4.I
18	أقسام الفلافونويدات :	الشكل 5.I
37	مبدأ اختبار إزاحة جذر DPPH :	الشكل 1.II
38	مبدأ اختبار إرجاع أيونات النحاس (CUPRAC) :	الشكل 2.II
39	مبدأ اختبار مخلبة أيونات الحديد :	الشكل 3.II
40	مبدأ اختبار الغلوكوز أو أكسيداز :	الشكل 4.II
46	تمثيل البياني لمردودية الاستخلاص لمستخلص خلاص الإيثيل (A) ومستخلص البيتانول (B) :	الشكل 1.III
47	المنحنى العياري لحمض الغاليك :	الشكل 2.III
48	التمثيل البياني للـ TPC لمستخلص خلاص الإيثيل (A) ومستخلص البيتانول (B) :	الشكل 3.III
52	منحنيات التأثير الإزاحي للشواهد على جذر DPPH :	الشكل 4.III
54	أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B) في إزاحة جذر DPPH :	الشكل 5.III
56	منحنيات النشاط الإرجاعي لأيونات النحاس الثنائية للشواهد :	الشكل 6.III
57	أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B) في إرجاع أيونات النحاس الثنائية :	الشكل 7.III
59	منحنيات نشاط استخلاص أيونات الحديد الثنائية Fe^{+2} للشواهد :	الشكل 8.III
60	أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B) في مخلبة أيونات الحديد الثنائية :	الشكل 9.III
63	أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B) في تثبيط إنزيم α -أميلاز :	الشكل 10.III
65	أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B) في تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز :	الشكل 11.III
69	تمثيل المتغيرات حسب التحليل الإحصائي PCA :	الشكل 12.III
71	توزيع الاختبارات حسب التحليل الإحصائي PCA :	الشكل 13.III
73	توزيع الاختبارات والعينات حسب التحليل الإحصائي PCA :	الشكل 14.III

الصفحة	العنوان	الملحق
100	بعض الصور الموضحة لنتائج الدراسة الفيتوكيميائية	الملحق 01
101	متوسط درجة الحرارة ونسبة التساقط في فترة جمع العينات	الملحق 02
102	منحنيات التأثير الإزاحي للمستخلصات النباتية على جذر الـ DPPH	الملحق 03
106	منحنيات النشاط الإرجاعي لأيونات النحاس الثنائية للمستخلصات النباتية	الملحق 04
110	منحنيات نشاط استخلاص أيونات الحديد الثنائية Fe^{+2} للمستخلصات النباتية	الملحق 05
114	إحداثيات العينات على المحورين F1 و F2 حسب التحليل PCA	الملحق 06
115	طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المسجل للكسور المفصولة	الملحق 07
117	المنحنيات الكروماتوغرافية للكسور المدروسة (245nm)	الملحق 08
119	منحنيات النشاط الإزاحي لجذر الـ DPPH بواسطة الكسور المفصولة	الملحق 09
121	منحنيات النشاط الإرجاعي لأيونات النحاس الثنائية بواسطة الكسور المفصولة	الملحق 10
123	منحنيات النشاط التثبيطي للكسور على الـ α -أميلاز	الملحق 11
125	منحنيات النشاط التثبيطي للكسور على الـ α -غليكوزيداز	الملحق 12

قائمة الاختصارات

A₀	: Absorbance en absence de l'échantillon	الامتصاصية في غياب العينة
A₁	: Absorbance en présence de l'échantillon.	الامتصاصية في وجود العينة
Aa	: <i>Agatophora alopecuroide</i>	/
ABTS	: Acide 2,2'-azinobis 3-ethylbenzo-triazoline-6-sulphonate	/
ACD	: Acidocétose diabétique	الحمض الكيتوني السكري
ADN	: Acide désoxyribonucléique	الحمض الريبوي منقوص الأوكسجين
ANOVA	: Analyse de variance	تحليل التباين الأحادي
Aq	: Aqueux	مائي
BHA	: Butylhydroxy-anisole	بيتيل هيدروكسي الأنيسول
BHT	: Butylhydroxy-toluene	بيتيل هيدروكسي التوليان
BuOH	: Butanol	بيتانول
CAEAC	: Capacité antioxydante équivalent acide caféique	القدرة المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الكافيينك
CAT	: Catalase	كاتالاز
CCM	: Chromatographie sur couche mince.	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
Ci	: <i>Caroxylon imbricatum</i>	/
CLHP	: Chromatographie liquide à haute performance	كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء
CUPRAC	: Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity	النشاط الارجاعى لأيونات النحاس
Cv	: <i>Caroxylon vermiculatum</i>	/
DCM	: Dichloromethane	ديكلوروميثان
DEE	: Diethyl ether	ثنائي ايثيل اثير
DPPH	: 2, 2 Di-Phényle-1-Picryl-Hydrazyle.	ثنائي فينيل بيكريل هيدرازين
EC	: Enzym commission.	/
EC₅₀	: Concentration efficace médiane.	التركيز الفعال النصفى
EDTA	: acid Ethylenediaminetetraacetique	ثنائي أمين الإيثيلين رباعي حمض الأسيتيك
EAG	: Equivalent acide gallique	مكافئ حمض الغاليك
EtOAc	: Acétate d'éthyle	خلات الإيثيل
EtOH	: Ethanol	إيثانول
FID	: Fédération Internationale du Diabète.	الفدرالية الدولية لمرض السكري
FRAP	: Ferric Reducing Ability of Plasma	القدرة الإرجاعية لأيونات الحديد
G6PDH	: Glucose-6-phosphate déshydrogénase	غلوكوز-6-فوسفات ديهيدروجيناز
GP	: Glutathion peroxydase	غلوتاثيون بيروكسيداز
GR	: Glutathion réductase	غلوتاثيون ريديكتاز

قائمة الاختصارات

GSH	: Glutathion réduit	غلوتاثيون مُرَجَع
GSSG	: Glutathion oxydé	غلوتاثيون مُؤكسد
Hex	: Hexane	هكسان
HHS	: Hyperosmolar hyperglycemic syndrome	فرط الأسمولية السكري
HIV	: Human immunodeficiency virus	فيروس فقدان المناعة
IC₅₀	: Concentration inhibitrice médiane	التركيز التثبيطي النصفى
IDDM	: Insulin dependent diabetes mellitus	السكري المعتمد على الأنسولين
Ki	: Constant d'inhibition	ثابت التثبيط
LADA	: Latent Autoimmune Diabetes in Adults	مرض السكري ذاتي المناعة الخافي لدى البالغين
MS	: Matière sèche	الوزن الجاف
MeOH	: Méthanol.	ميثانول
NADPH	: Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate.	نيكوتين اميد أدنين ثنائي نيكليوتيد فوسفات
TPC	: Total phenolic content	المحتوى الكلي للفينولات
PCA	: Principal component analysis	تحليل المكونات الأساسية
PI	: Pourcentage d'inhibition.	نسبة التثبيط
r	: Coefficient de corrélation.	معامل الارتباط
R²	: Coefficient de régression	معامل التراجع
RAP	: Pouvoir antiradicalaire	القدرة المضادة للجذور
R_f	: Rapport frontal.	ثابت احتباس
RNS	: Reactive nitrogen species	الأنواع النتروجينية النشطة
ROS	: Reactive oxygen species	الأنواع الأوكسجينية النشطة
SD	: Standard deviation	الانحراف المعياري
SOD	: Superoxide dismutase	فوق أوكسيد ديسموتاز
TBHQ	: Tert-Butylhydroquinone	تيرتوتيل هيدروكينون
TEAC	: Trolox equivalent antioxidant capacity	القدرة المضادة للأكسدة المكافئة للترولوكس
TNDM	: Diabète néonatal transitoire	سكري حديثي الولادة العابر
TPTZ	: 2,4,6-Tri(2'-pyridyl)-1,3,5-triazine	تري بيريديل تريازين
UV	: Ultra violette.	فوق البنفسجي

مقدمة

تحدث في الجسم مجموعة كبيرة من التفاعلات الكيميائية التي تسمح بإنتاج مركبات متنوعة. تترافق معظم هذه التفاعلات مع إنتاج كمية محددة من المركبات النشطة كيميائياً تعرف بالجدور الحرة والتي تلعب أدواراً مهمة في التواصل الخلوي [1]. يتم تعديلها كيميائياً بفضل نوع آخر من المركبات تسمى مضادات الأكسدة والتي يتم إنتاج بعض أنواعها في الجسم بينما يتواجد بعضها في الغذاء [2]. يسمى فقد التوازن بين الجدور الحرة ومضادات الأكسدة بالإجهاد التأكسدي وله دور أساسي في ظهور عدة أمراض أو زيادة مضاعفاتها. من بين هذه الأمراض نجد الأمراض العصبية، الزهايمر، الشيخوخة ومرض السكري [3-5].

يعتبر مرض السكري من الأمراض الأيضية متعددة الأسباب تمتاز بارتفاع نسبة الغلوكوز في الدم بسبب خلل في إنتاج الأنسولين و/أو عمله [6]. وما يزيد من خطورته مساهمته بالأعضاء الحساسة في الجسم كالكلية، القلب، العينين،... مسبباً تلف هذه الأعضاء [7]. يمس حالياً ما يقارب 10% من الأشخاص في العالم [8] ويتزايد عدد المصابين بهذا المرض كل سنة بوتيرة عالية، فنجد أن الإحصائيات لسنة 2017 بلغت أكثر من 450 مليون مصاب مقارنة بإحصائيات سنة 2000 التي لم تتجاوز 150 مليون مصاب [9]. من بين أهم الاستراتيجيات المتبعة في تنظيم نسبة الغلوكوز في الدم تثبيط الإنزيمات الهضمية كـ α -غليكوزيداز و α -أميلاز. من بين المثبطات المستعملة نجد الأكاربوز والفوغليبوز (Voglibose)، إلا أنهما أظهرتا عدة أعراض جانبية [10].

يلجأ الإنسان من أجل العلاج لاستعمال الأدوية ويفضل المستخلصات الطبيعية ذات أقل أعراض جانبية، فتجده يفضل استعمال النبات أو جزء منه في التداوي. يعود استخدام النباتات للأغراض العلاجية إلى زمن بعيد فنجد ما يؤكد استعمال النباتات من أجل التداوي في الحضارات القديمة العربية، الصينية، المصرية، الهندوسية، اليونانية والرومانية [11]. لقد عرف أجدادنا القوة العلاجية للنباتات من الناحية التجريبية. لكن التركيب الكيميائي للعلاجات التي يستخدمها العديد من السكان يومياً للرعاية الصحية غير معروف. من خلال الدراسات الحديثة تم ربط النشاطات البيولوجية المختلفة للنبات بمركبات الأيض الثانوي كالمركبات الفينولية، القلويدات والتربينات [12]، وهي مركبات ذات أهمية بالغة لقدرتها على حماية النباتات ضد أنواع كبيرة من المتعضيات المجهرية (فيروسات، بكتيريا وفطريات) والعشبيات (المفصليات والفقاريات)، كما تلعب دوراً في تفاعل النبات مع البيئة [13]. يتأثر إنتاج هذه المركبات بالعوامل الحيوية وغير الحيوية (الضوء، درجة الحرارة، نوع المغذيات وتوفر المياه)، فضلاً عن الظروف الجغرافية [14].

تتربع الجزائر على مساحات شاسعة نتج عنها مناخات متعددة ساهمت في الحصول على ثروة نباتية هائلة. فنجد العديد من النباتات المعروفة وواسعة الانتشار ما جعلها تحظى بأبحاث العلماء وذلك بدراسة خصائصها العلاجية، في المقابل نجد أنواعا أخرى عديدة غير متداولة ومجهولة لم تنل حقتها من الدراسات كالنباتات المستوطنة في الصحراء.

تم إنجاز العديد من الدراسات في مخبر العلوم الأساسية بالأغواط والتي تهدف لثمين الثروة النباتية الجزائرية خصوصا الصحراوية ويعتبر هذا العمل تكملة للعمل المنجز من طرفنا حول النشاط المضاد للأكسدة والنشاط التثبيطي لإنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز لبعض النباتات الصحراوية والذي أثبتت نتائجه القدرة العالية لهاته النباتات على إزاحة الجذور الحرة وتثبيط كل من إنزيم α -أميلاز و α -غليكوزيداز [15]. لذلك ارتأينا أن نواصل البحث في نفس المجال وقد وقع اختيارنا على ثلاث نباتات تنتمي إلى العائلة الرمامية *Chenopodiaceae*، المعروفة بنموها في المناطق ذات المناخ الصحراوي وهي: بوقريبة *Agatophora alopecuroides*، الجل *Caroxylon imbricatum* والروقل *Caroxylon vermiculatum*.

تهدف الدراسة لتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات النباتات الثلاث المذكورة سابقا وكذا النشاط التثبيطي لهاته المستخلصات ضد عمل إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز. ولتحقيق هذه الأهداف تم بناء خطة عمل تتضمن:

1. جمع العينات النباتية في أزمنة مختلفة من أجل معرفة أفضل زمن لجمع العينات،
2. إجراء مسح فيتوكيميائي بمعرفة مكونات كل نبات
3. استخلاص المركبات الفينولية باستعمال مذيبات عضوية مختلفة
4. تحديد المحتوى الكلي للفينولات في المستخلصات
5. تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات
6. تقدير النشاط المثبط لإنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز
7. محاولة فصل المركبات النشطة في إحدى العينات.

تم تنظيم محتويات الأطروحة في ثلاث فصول: خصص الفصل الأول للدراسات المرجعية تناولنا فيه أربع عناوين رئيسية؛ أولها عموميات حول العائلة الرمامية وكذا النباتات بوقريبة *Agatophora alopecuroides*، الجل *Caroxylon imbricatum* والروقل *Caroxylon vermiculatum* تم فيه التعريف بها من حيث

الوصف النباتي والاستعمال البيولوجي من خلال الدراسات السابقة. أما العنوان الثاني فتم فيه التعريف بالمركبات الفعالة الموجودة في المملكة النباتية عموماً. فيما تطرقنا في العنوان الثالث للأكسدة البيولوجية واختلافاتها أو ما يعرف بالإجهاد التأكسدي. واستعرض العنوان الرابع مرض السكري من مختلف جوانبه، بينما تم تخصيص الفصل الثاني لشرح جميع الطرق العملية المتبعة في دراسة النباتات الثلاث. أما الفصل الثالث فقمنا فيه بعرض ومناقشة مختلف النتائج المتحصل عليها. تم عرض النتائج النهائية وأفاق الدراسة في الخاتمة

الفصل الأول:

الدراسة المرجعية

1.I. دراسة مرجعية للنباتات المدروسة

1.1.I. عموميات حول العائلة الرمامية

العائلة الرمامية (*Chenopodiaceae*) هي فصيلة نباتية ثنائية الفلقة وهي واحدة من إحدى عشر عائلة متطورة من رتبة القرنفليات (*Caryophyllales*) (الجدول 1.I)، تم ضمها للعائلة القطيفية (*Amaranthaceae*) للتشابه الجيني والمورفولوجي بينهما [16]. تضم ما يزيد عن 100 جنسًا بما يقرب لـ 1700 نوع وهي عبارة عن نباتات مقاومة للملوحة أو نباتات محبة للأزوت (النترات)، تشمل الأجناس الرئيسية *Atriplex* (300 نوع)، *Gomphrena* (120 نوعًا)، *Salsola* (120 نوعًا)، *Suaeda* (100 نوع)، *Chenopodium* (100 نوع)، *Alteranthera* (100 نوع)، *Ptilotus* (100 نوع)، *Amaranthus* (60 نوعًا) [17].

الجدول 1.I: التصنيف النباتي العلمي للعائلة الرمامية [16]

مملكة	النباتات	<i>Plantae</i>
فرع	النباتات الأرضية	<i>Tracheophyta</i>
قسم	النباتات الوعائية	<i>Tracheobionta</i>
شعبة	البذريات	<i>Spermatophyta</i>
شعبية	مغطاة البذور	<i>Dicotyledons</i>
رتبة	القرنفليات	<i>Caryophyllales</i>
فصيلة	الرمامية	<i>Chenopodiaceae</i>

معظم النباتات المنتمية للفصيلة الرمامية هي نباتات عشبية حولية أو معمرة أو شجيرات. الأوراق متقابلة أو متبادلة، بسيطة، متموجة أو كاملة. تكون الأزهار غالبًا ثنائية الجنس، وقد تكون وحيدة الجنس تتجمع في نورات غير واضحة تشبه السنبل أو في نورات محدودة. يتكون الغلاف الزهري من خمس بتلات منفصلة أو ملتحمة القواعد ويكون بسيطًا. يحتوي على من 3-5 أسدية تتوضع بشكل متقابل مع البتلات وتكون خيوطها حرة أو ملحومة قليلاً. تتكون المدقة من 2-3 كرابل ذات مبيض علوي أو محيطي، مع وضع مشيمي قاعدي أما الثمرة فتكون إما في شكل بندقة، كروية، بيضوية أو جرابية الشكل مع بذور أندوسبارمية ذات جنين معكوف

[18]. تتوزع نباتات العائلة الرمامية في المناطق المعتدلة والاستوائية وشبه الاستوائية، ولكن بشكل خاص في أمريكا وأفريقيا. يوجد الكثير منها في السهوب والصحاري وسواحل البحر [19].

2.1.I. نبات بوقريية *Agathophora alopecuroides* (Delile) Bunge

1.2.1.I. الوصف النباتي

تعرف بالشعران أو الاثنان في سوريا والعراق، حيث يشبه عندهم بالرمث الأخضر، إذ أن لها عيدان دقيقة ترى من بعيد سوداء، ولها أسماء أخرى من بينها الحمض والدمران، أما في الجزائر فتعرف بالغسال وبوقريية [20]. هي شجيرة جد متفرعة يتراوح علوها من 15 إلى 25cm، وتتميز بكونها مقاومة وصلبة، سيقانها ذات قشرة بيضاء، أوراقها متبادلة مشحمة شبه بيضاوية بحجم حبة الأرز، تتراوح أبعادها من 8 إلى 13×2 إلى 3mm تندمج مع أشواك مسمرة يصل طولها إلى 1.5 إلى 2mm معانقة لسان بإبط مجهز بباقة من الشعر كثير الصوف، فيما يخص أزهارها فهي سنبلية، يتراوح عددها من 3 إلى 7 أزهار حيث من 2 إلى 3 تكون مجنحة مكتملة النمو، وكل زهرة منها تحتوي على 5 أسدية مشبكة بإحكام على قاعدة قمعية، أما غلاف الزهرة المثمرة به 3 بتلات مجنحة، و2 عديمة الجناح تتراوح أبعادها بين 5 إلى 6mm (الشكل 1.I). تمتد فترة إزهارها بين مارس وأفريل [20، 21].



الشكل 1.I: صورة لنبات *A. alopecuroides*

2.2.1.I. التوزيع والانتشار

تتواجد في الأراضي الرملية الحصوية (الرق) [20]. في الصحراء الشمالية، وبالخصوص القطاع الغربي منها [21].

3.2.1.I. النشاط البيولوجي والدراسات السابقة

أجرت كل من خشبة وآخرون [22] دراسة حول النشاط التثبيطي لمستخلصات خللات الإيثيل وثنائي كلور الميثان لبعض النباتات من بينها *A. alopecuroide* على إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز وكذا تقييم نشاطاتها المضادة للأكسدة باستعمال اختبار إزاحة جذر DPPH إضافة إلى تقييم المحتوى الإجمالي من الفينولات وكذا الفلافونويدات. أكدت النتائج التي تم التوصل إليها فعالية عالية للمستخلصين في إزاحة جذر DPPH مقارنة بالمركبات المرجعية المستعملة. كما أكدت فعالية المستخلصات في تثبيط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز خصوصا مستخلص خللات الإيثيل.

قام كل من جريدان وآخرون [21] بدراسة حول المحتوى الكلي للفينولات، النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للسكري لمستخلصات بعض النباتات التي تم جمعها من منطقة سيدي مخلوف-الأغواط بالجزائر وتم إجراء عملية الاستخلاص على الأجزاء الهوائية باستعمال النقع في مزيج هيدروميثانولي ثم الاستخلاص سائل-سائل باستعمال خللات الإيثيل. تم تحديد المحتوى الكلي للفينولات لمستخلص خللات الإيثيل باستعمال كاشف فولن-سيوكالتو كما تم تحديد الأقسام الكيميائية الموجودة في المستخلص عن طريق التحليل الكروماتوغرافي HPLC، ثم تقييم القدرة المضادة للأكسدة باستعمال أربع طرق كيميائية مختلفة ؛ $\text{NO}\cdot$ ، $\text{OH}\cdot$ ، ABTS و FRAP كما تم تقييم الفعالية المضادة للسكري عن طريق دراسة التأثير التثبيطي لهذه المستخلصات على نشاط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز. أشارت النتائج المتحصل عليها إلى:

- مستخلص خللات الإيثيل لنبات *A. alopecuroide* يحتوي على 1.2 مغ مكافئ حمض الغاليك/غ وزن جاف من المركبات الفينولية، يشير التحليل الكروماتوغرافي أن 98% من مكونات المستخلص عبارة عن فلافونويدات بينما تنتمي النسبة المتبقية لمشتقات حمض الهيدروكسي بنزويك.
- يظهر مستخلص خللات الإيثيل لنبات *A. alopecuroide* نشاطا مضادا للأكسدة حيث قُدرت قيم EC_{50} المتحصل عليها بـ 300mg/L، 0.54mg/L بالنسبة لاختباري $\text{NO}\cdot$ و $\text{OH}\cdot$ على التوالي بينما تم التعبير عن النشاط المضاد للأكسدة بالقيمة TEAC بالنسبة لاختبار ABTS وقدرت النتيجة بـ 0.27mmol/L، أما في اختبار إرجاع الحديد FRAP فقدرت النشاطية بـ 1.49mol/L وتم التعبير عنها بالـ CAEAC.

- يظهر مستخلص خلات الإيثيل لنبات *A. alopecuroide* فعالية عالية في تثبيط كل من α -أميلاز و α -غليكوزيداز، حيث قدرت قيمة K_i بـ $16\mu\text{mol/L}$ و $18\mu\text{mol/L}$ على الترتيب. مع تسجيل تثبيط من النوع غير التنافسي المختلط.

3.1.1. نبات الجل *Caroxylon imbricatum* (Forssk.) Akhani & Roalson

1.3.1.1. الوصف النباتي

له عدة أسماء *Salsola baryosma*، *S. imbricata* و *S. foetida* وتم تحديث تسميتها من طرف Dobignard & Chatelain لتصبح *Caroxylon imbricatum* (Forssk.) Akhani & Roalson. أما الإسم العربي فيختلف اسمه من منطقة لأخرى فنجد فدحدان، طرطير، قيد والجل [20]. شجيرة مقاومة ومعمرة، تشكل باقة غير متوافقة، وهو ذو رائحة منفرة وثننة. تتميز بلون أخضر فاتح، سيقانها متفرعة يتراوح طولها من 50 إلى 60cm. أوراقها ذات نظام متبادل، صغيرة تتراوح أبعادها من 2 إلى 4mm، كما أنها منتفحة ورحوة. أزهارها مخضرة بالكاد تكون مرئية، ثمارها في غاية الصغر، ذات أجنحة غشائية خفيفة وبيضاء اللون (الشكل 2.I). تمتد فترة إزهارها بين شهري مارس وأفريل [20، 21].



الشكل 2.I: صورة لنبات *C. imbricatum*

2.3.1.1. التوزيع والانتشار

تنتشر في أماكن منعزلة في الحمادات التي غزتها تراكمات الرمال الخشنة وفي التربة المالحة [20]. تنتشر في أفغانستان، شمال إفريقيا، البنجاب، البنغلاديش، إقليم السند (الهند) [21]. أما في الجزائر فتتواجد في شمال الصحراء وهي أكثر انتشارا في الصحراء الغربية والوسطى والصحراء الجنوبية. تمتد فترة إزهارها بين شهري مارس وأفريل [20].

I.3.3.1. النشاط البيولوجي والدراسات السابقة

من أجل فصل والتعرف على مكونات نبات *S. imbricata* تم إجراء عدة دراسات من بينها دراسة البسيوني وحسين [24] التي تم فيها فصل وتحديد بنية مركب hydroxy-cinnamoylamides انطلاقاً من مستخلص نبات *S. imbricata*. كما قام سليم وآخرون [25] بفصل مركبين اثنين هما salisomide و salisoflavan انطلاقاً من مستخلص خلاص الإيثيل لنبات *S. baryosma* بواسطة كروماتوغرافيا العمود وتم تحديد التركيب الكيميائي لهما باستعمال الطرق الطيفية. في دراسة أخرى، كشف تحليل HPLC للمستخلص الإيثانولي لنبات *S. imbricata* من المملكة العربية السعودية أن المستخلص أظهر مستويات كبيرة من الكاتيشين (9.6mg/L)، حمض الفانيليك (5.4mg/L)، الكاتيكول (4.26mg/L) وحمض الهيدروكسي بنزويك (3.79mg/L). واكتشفت مركبات أخرى بتراكيز مختلفة، مثل حمض الكافيك، حمض الفيروليك، الروتين، حمض الإلاجيك، حمض الأوكوماريك، الريسفيراترول، الكيرسيتين، الميريسيتين والكامفيرول [26].

أما فيما يخص تقدير النشاطات البيولوجية لمستخلصات نبات *C. imbricatum* فقد أوضحت الدراسة التي قام بها كل من أحمد وآخرون حول تقدير النشاط المضاد للأوكسدة لعدة مستخلصات ذات قطبية مختلفة لنبات *S. baryosma* أن مستخلص خلاص الإيثيل يملك نشاط أعلى من باقي المستخلصات (هيدروإيثانول 80%، هكسان والبيتانول) [27].

أجرت خشبة وآخرون [22] دراسة حول النشاط التثبيطي لمستخلصات خلاص الإيثيل وثنائي كلور الميثان لبعض النباتات من بينها *S. baryosma* على إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز وكذا تقييم نشاطاتها المضادة للأوكسدة باستعمال اختبار إزاحة جذر DPPH إضافة إلى تقييم المحتوى الإجمالي من الفينولات وكذا الفلافونويدات. أكدت النتائج التي تم التوصل إليها فعالية عالية للمستخلصين في إزاحة جذر DPPH مقارنة بالمركبات المرجعية المستعملة. كما أكدت فعالية متماثلة لمستخلصات ثنائي كلور الميثان وخلاص الإيثيل في تثبيط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز [22].

أشارت نتائج دراسة جريدان وآخرون [23] إلى أن مستخلص خلاص الإيثيل لنبات *S. baryosma* يحتوي على 1 مغ مكافئ حمض الغاليك/غ وزن جاف من المركبات الفينولية. يشير التحليل الكروماتوغرافي أن 90% من مكونات المستخلص عبارة عن فلافونويدات بينما تنتمي النسبة المتبقية لمشتقات حمض الهيدروكسي بنزويك وحمض الهيدروكسي سيناميك.

- يظهر مستخلص خلاصات الإيثيل لنبات *S. baryosma* نشاطا مضادا للأوكسدة حيث قُدرت قيم EC_{50} المتحصل عليها بـ 101mg/L و 0.26mg/L بالنسبة لاختباري الـ $NO\bullet$ والـ $OH\bullet$ على التوالي بينما تم التعبير عن النشاط المضاد للأوكسدة بالقيمة TEAC بالنسبة لاختبار ABTS وقدرت النتيجة بـ 1.28mmol/L ، أما في اختبار ارجاع الحديد FRAP فقدرت النشاطية بـ 1.08mol/L وتم التعبير عنها بالـ CAEAC.
- يظهر مستخلص خلاصات الإيثيل لنبات *S. baryosma* فعالية عالية في تثبيط كل من الـ α -أميلاز والـ α -غليكوزيداز، حيث قدرت قيمة K_{i1} بـ $7\mu\text{mol/L}$ و $16\mu\text{mol/L}$ على الترتيب. مع تسجيل تثبيط من النوع التنافسي.

4.1.1. نبات الروقل *Caroxylon vermiculatum* (Forssk.) Akhani & Roalson

1.4.1.I. الوصف النباتي

تسمى بالمشرق العربي: شريعة والسويدية وغسل [19]، أما في المغرب العربي الكبير فيسمى بالروثة أو القضام أو الروقل [20].

نبات معمر تحت شجيري، ارتفاعه ما بين 0.20 إلى 0.60m . سوقها نحلاء ومتفرعة منحنية أو قائمة [28]، أوراقها خطية قصيرة تنتهي برأس مدبب، أي أن نهايتها حادة. تتراوح أبعادها من 7 إلى 3×0.5 إلى 1cm [21]، تتواجد أزهارها في سنابل ضيقة، أما غلافها الثمري ذو أجنحة مصفرة (الشكل 3.I). تمتد فترة إزهارها بين شهري مارس وأفريل [20].



الشكل 3.I: صورة لنبات *C. vermiculatum*

غليكوزيداز، حيث قدرت قيمة الـ K_i بـ $34.2\mu\text{mol/L}$ و $250\mu\text{mol/L}$ على الترتيب. مع تسجيل تثبيط من النوع غير التنافسي المختلط.

أجرت التهامي وآخرون [30] دراسة تهدف لإيجاد مصدر طبيعي لمضادات الأكسدة والمضادات الحيوية حيث قام الباحثون بدراسة المستخلص الهيدروميثانولي لبعض النباتات الطبية من بينها *S. vermiculata*. أثبتت الدراسة الفيتوكيميائية احتواء المستخلص على عدة أقسام من مركبات الأيض الثانوي وهي الستيرويدات، القلويدات والفلافونويدات بكمية كبيرة، وبكمية أقل نجد العفصيات، التربينات، السكريات القلبية والفينولات، مع غياب الصابونينات. أظهر كذلك هذا المستخلص فعالية عالية في إزاحة الجذور الحرة حسب نتائج اختبار إزاحة جذر الـ DPPH وجذر الـ $\text{NO}\cdot$. إضافة إلى نشاطه الملحوظ ضد البيكتيريا والفطريات.

قام مولاي وآخرون [31] بدراسة بهدف تحديد ومقارنة المكونات الفينولية للأجزاء المختلفة لنبات *S. vermiculata* وكذا تقييم فعالية مستخلصاتها على عمل كل من إنزيم أستيل كولين استراز وإنزيم α -غليكوزيداز. أكدت نتائج الدراسة الفيتوكيميائية لمختلف الأجزاء والمستخلصات تواجد 44 مركب تنتمي لأربع مجموعات مختلفة (14 مركبا فينوليا، 3 قلويدات، 11 حمضا دهنيا و 16 مركبا متطايرا) تختلف نسب تواجدها حسب الجزء المستعمل (جذور، بذور، أوراق وأزهار). كما أشارت النتائج إلى فعالية مستخلص خلاص الإيثيل للأوراق ضد الـ α -غليكوزيداز وفعالية المستخلص المائي الحامضي للجذور ضد الأستيل كولين استراز.

2.I. مركبات الأيض الثانوي

تعتمد النباتات على عمليات البناء الضوئي للحصول على المواد العضوية التي تستعمل في الأيض [32]. ينقسم الأيض إلى نوعين: أبيض أولي الذي يمثل مجموع مسارات الهدم والبناء التي توفر للعضوية الطاقة والجزيئات الضرورية للنبات وللنشاط الفيزيولوجي (تنفس، نقل، التمثيل، النمو... الخ) أهمها البروتينات، الغلوسيدات، الأحماض الدهنية، الأحماض النووية والفيتامينات [33]. أما الأيض الثانوي فهو مجموع المسارات التي تنتج وسائط أو نواتج أيضية غير ضرورية لنمو وحياة العضوية [34]، إلا أنها ذات أهمية بالغة لقدرتها على حماية النباتات ضد أنواع كبيرة من المتعضيات المجهرية وغير المجهرية، كما تلعب دورا في تفاعل النبات مع البيئة [35]. يمكن تقسيم نواتج الأيض الثانوي حسب البنيات الكيميائية (وجود حلقات واحتوائها على السكر)، حسب التركيب (احتوائها على نيتروجين أو لا)، قابليتها للذوبان في مختلف المذيبات أو حسب طريق بناء المواد [35]، ونميز حسب طرق التركيب الحيوي ثلاث عائلات جزيئية كبيرة هي: القلويدات، التاربيانات ومتعددات الفينول [36].

1.2.I. القلويدات

هي جزيئات واسعة الانتشار في الطبيعة، متنوعة كيميائيا، مشتقة من الأحماض الأمينية [37]، تعرف بأنها مركبات عضوية قاعدية ذات تركيب حلقي غير متجانس، تحتوي تراكيبيها على ذرات الكربون والهيدروجين وأحيانا الأوكسجين مع ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر [38]، توجد القلويدات في النباتات والحيوانات والفطريات، ويمكن استخراجها من مصادرها عن طريق المعالجة بالأحماض كحمض الهيدروكلوريك أو حمض الكبريتيك [39]. تنقسم القلويدات حسب بنيتها الكيميائية إلى مجموعتين رئيسيتين؛ القلويدات غير الحلقية وتسمى أحيانا "بروتو الكالويدات Protoalkaloids" أو الأمينات البيولوجية مثل الكولشسين ($C_{22}H_{25}NO_6$)، الميسكالين ($C_{11}H_{17}NO_3$). والقلويدات الحلقية غير المتجانسة وتضم 14 مجموعة تختلف فيما بينها حسب بنيتها الحلقية من بينها بيريدين (C_5H_5N)، بيروليدين (C_4H_9N)، بيرول (C_4H_5N) وكنولين (C_9H_7N) ... الخ [40،41].

تعمل القلويدات كمركبات دفاعية عند النباتات بفضل سميتها، كما تعزز معدلات التكاثر إما عن طريق تقوية مقاومتها ضد الضغوط الحيوية وغير الحيوية أو بشكل مباشر بتأثيرها على حبوب الطلع والبذور والثمار [42].

2.2.I. التربينات

عبارة عن سلاسل من المركبات الطبيعية، تتكون من وحدات isoprene (C_5H_8) [43]، تتواجد في العديد من المصادر الطبيعية كالنباتات، الحيوانات، الكائنات الدقيقة والحشرات [44].

تنقسم التربينات على أساس عدد وحدات isoprene أو عدد ذرات الكربون الموجودة في البنية إلى تربينات أحادية ($C_{10}H_{16}$)، سيسكوتربينات ($C_{15}H_{24}$)، تربينات ثنائية ($C_{20}H_{32}$)، السيسترتربينات ($C_{25}H_{40}$)، تربينات ثلاثية ($C_{30}H_{48}$)، تربينات رباعية ($C_{40}H_{64}$) وتربينات متعددة (C_5H_8)_n [45].

تلعب التربينات دوراً مهماً في السلسلة التنفسية عند الكائنات الحية من خلال نقل الإلكترونات، إضافة إلى دورها في بناء واستقرار الجدران والأغشية الخلوية، كما تتدخل في استمرار نمو النباتات وفي حيوية عملية التركيب الضوئي وفي الاستجابة للإجهاد وفي آليات الدفاع [46].

3.2.I. متعددات الفينول

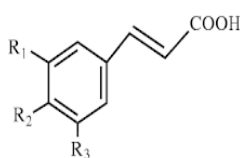
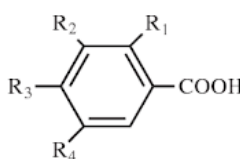
تتميز بوجود حلقة عطرية تحمل مجموعات هيدروكسيل حرة أو مرتبطة مع غلوسيد. تتواجد في جميع أجزاء النباتات الراقية (الجذور، السيقان، الأوراق، الأزهار، حبوب الطلع، الثمار، البذور، الخشب) وتتدخل في العديد من العمليات الفيزيولوجية كالنمو الخلوي، إنبات البذور، نضج الثمار والتجذّر [47]. تم عزل أكثر من 8000 مركب فينولي من منتجات طبيعية، أهمها: أحماض الفينوليك، العفصيات، الكومارينات والفلافونويدات [48].

1.3.2.I. الأحماض الفينولية

تعتبر الأحماض الفينولية من أكبر أقسام الفينولات، تمتلك وظيفة كروبوكسيلية [49]. يوجد قسمين من الأحماض الفينولية؛ أحماض الهيدروكسي بنزويك وأحماض الهيدروكسي سيناميك موضحة في الجدول 2.I.

الجدول 2.I: مختلف أنواع الأحماض الفينولية [50،49]

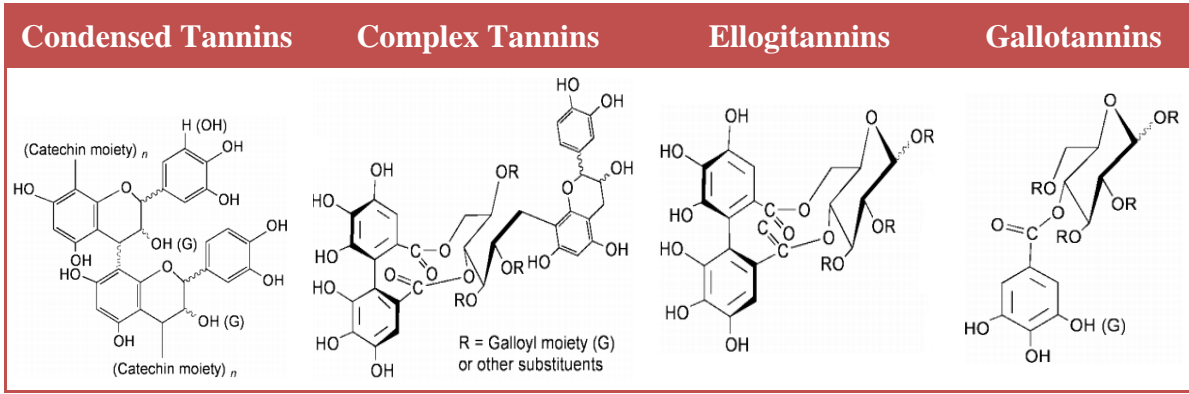
الأنواع	البنية الكيميائية الأساسية	الخصائص العامة	القسم
Benzoic acid	$R_1=R_2=R_3=R_4=H$	-مشتقة من حمض البنزويك	أحماض الهيدروكسي بنزويك
p-Hydroxybenzoic acid	$R_1=R_2=R_4=H, R_3=OH$	-ذات الهيكل C_6-C_1	
Protocatechic acid	$R_1=R_4=H, R_2=R_3=OH$	-حرارة أكثر من مرتبطة	
Vanillic acid	$R_1=R_4=H, R_2=OCH_3, R_3=OH$	-تتواجد غالباً في شكل استرات أو سكريات	
Gallic acid	$R_1=H, R_2=R_3=R_4=OH$		
Syringic acid	$R_1=H, R_2=R_4=OCH_3, R_3=OH$		
salicylic acid	$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$		
Gentisic acid	$R_1=R_4=OH, R_2=R_3=H$		
Cinnamic acid	$R_1=R_2=R_3=H$	-مشتقة من حمض السيناميك	أحماض الهيدروكسي سيناميك
p-Coumaric acid	$R_1=R_3=H, R_2=OH$	-ذات الهيكل C_6-C_3	
Caffeic acid	$R_1=R_2=OH, R_3=H$	-نادراً ما تكون حرة	
Ferulic acid	$R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=H$	-تكون غالباً استرات مصنعة.	
Sinapic acid	$R_1=R_3=OCH_3, R_2=OH$		



2.3.2.I. العفصيات

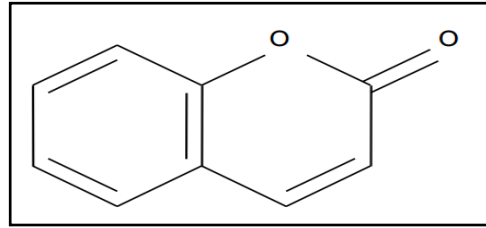
هي مركبات فينولية ذات وزن جزيئي من 500 إلى 3000، تتميز بعدة خصائص من بينها قدرتها على ترسيب القلويدات والجلياتين وبروتينات أخرى [51]، تقسم العفصيات حسب الذوبانية إلى ثلاث مجموعات وهي العفصيات المتحللة، العفصيات المتراكمة والعفصيات الكاذبة، كما تقسم حسب البنية إلى أربع مجموعات موضحة في الجدول 3.I.

الجدول 3.I: أنواع العفصيات حسب البنية [52]



3.3.2.I الكومارينات

تنتمي الكومارينات إلى المركبات الحلقية غير المتجانسة السداسية الحاوية على الأوكسجين عنصراً في الحلقة غير المتجانسة (الشكل 4.I). ينشأ من ارتباط حلقة بنزين مع حلقة بيرون α -pyrone ring ليكوّن صنف البنزوبيرون والذي يمكن تمييز نوعين منه تبعاً لموقع مجموعة الكاربونيل [53].

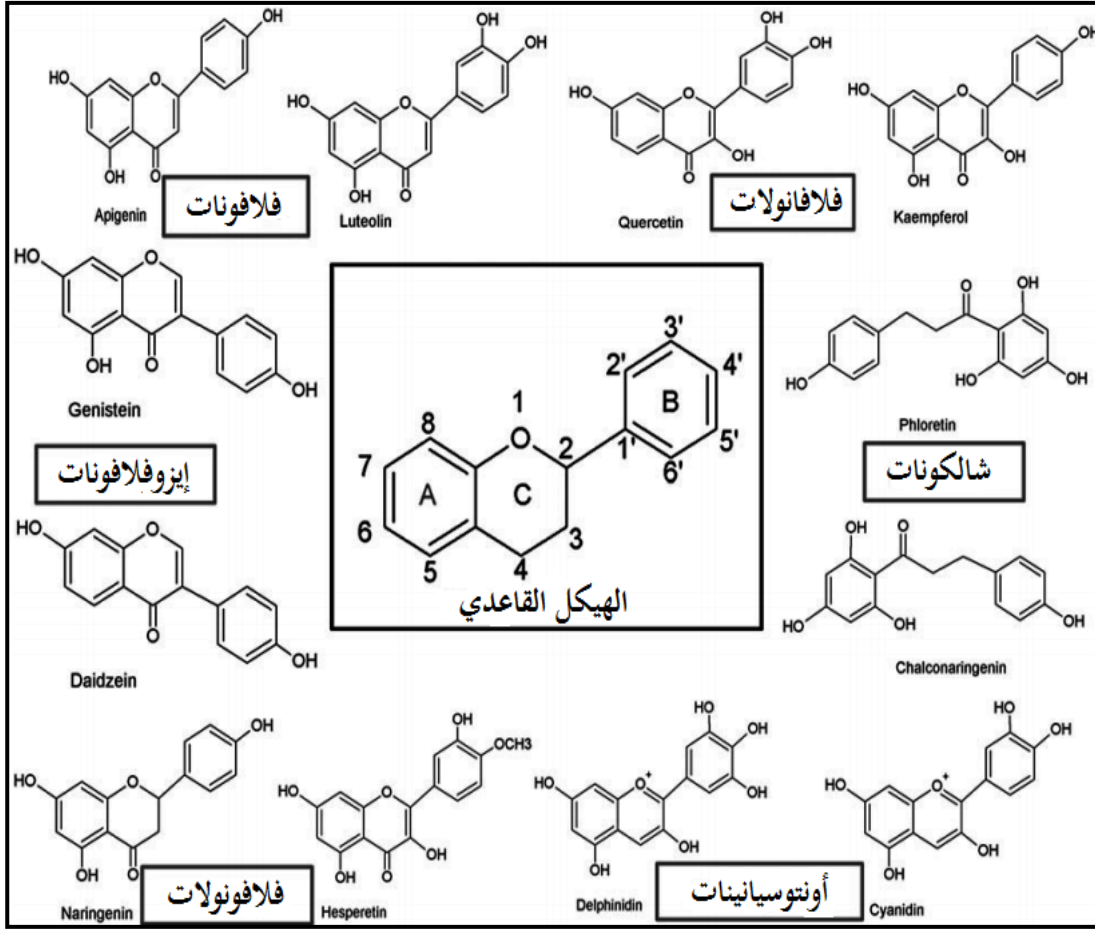


الشكل 4.I: البنية الكيميائية القاعدية للكومارين [53]

4.3.2.I الفلافونويدات

هي عبارة عن صبغات طبيعية مسؤولة عن تلون النبات [54]، تتواجد في جميع أجزائه [55]. كيميائياً، تتكون جميع الفلافونويدات من هيكل أساسي مكون من 15 ذرة كربون موزعة على حلقتي بنزين (A و B) مرتبطتان مع حلقة بيران غير متجانسة C [56]. يتم تشكيل الفلافونويدات بتكثيف الفينول بروبانويد (phenylpropanoid) مع 3 وحدات من مرافق الإنزيم A عبر مسار الشيكيميك أو مسار الأسيتات. تتواجد الفلافونويدات إما حرة أو مرتبطة بجزيئة سكر [57]. يعتمد تصنيف الفلافونويدات على أكسدة وتشبع الحلقة غير المتجانسة C، فتنقسم أساساً إلى العائلات التالية: فلافانولات Flavanols، فلافونات Flavones، شالكونات chalcones أو أنتوسيانينات Anthocyanins، فلافونولات Flavonols وإيزوفلافونات Isoflavones موضحة في الشكل 5.I. تملك الفلافونويدات العديد من الوظائف البيولوجية والدوائية المفيدة،

كما أن التغيرات التي تحدث لها على مستوى هيكلها القاعدي تغير عادة من ذوبانيتها واستقرارها وأنشطتها البيولوجية [58].



الشكل I.5: أقسام الفلافونويدات [59]

تمتلك متعددات الفينول عددا من الأنشطة البيولوجية المتنوعة والفوائد الصحية الوقائية والعلاجية للأمراض والجدول I.4 يلخص أهم النشاطات البيولوجية لمتعددات الفينول:

الجدول 4.I: أهم الأنشطة البيولوجية لمتعددات الفينول

المرجع	دور عديدات الفينول	النشاط البيولوجي
[60]	عديدات الفينول من مضادات الأكسدة الطبيعية خارجية المصدر، يتم امتصاصها مباشرة دون تغيير، تتمثل آلية عملها في تثبيط نشاط الإنزيمات المنتجة لأنواع الأوكسجينية النشطة وقطع سلسلة التفاعلات المؤدية إلى أكسدة الدهون.	النشاط المضاد للأكسدة
[61]	يمكن لعديدات الفينول أن تقلل من خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية، كما يمكنها أيضا أن تقلل من خطر تجلط الدم وهو احد الأسباب الرئيسية لاحتشاء عضلة القلب.	نشاط حماية القلب
[62]	تلعب عديدات الفينول دورا مهما كمضادات للسرطان، وتمت ملاحظة هذا النشاط في الفم والمعدة والإثني عشر والقولون والكبد والرئة والجلد والغدة الثديية، إلا أن آليات عملها مختلفة؛ تؤثر عديدات الفينول على عملية التمثيل الغذائي للمركبات المسرطنة عن طريق تعديل التعبير عن إنزيمات السيتوكروم P ₄₅₀ المشاركة في تنشيط المواد المسببة لسرطان، كما يمكنها تحفيز الموت المبرمج للخلايا السرطانية	النشاط المضاد للسرطان
[63]	تساهم عديدات الفينول بفضل خصائصها البيولوجية في تقليل خطر الإصابة بمرض السكري من خلال؛ تحسين مؤشر نسبة السكر في الدم وتعديل إفراز الأنسولين، كما تثبط الإنزيمات المشاركة في تفكيك النشاء إلى غلوكوز في الجهاز الهضمي.	النشاط المضاد للسكري
[64]	تعمل عديدات الفينول دور مضادات للالتهاب في الجسم الحي، من خلال عدة آليات منها تثبيط الإنزيمات المسببة للعمليات الالتهابية و تثبيط بعض الإشارات الخلوية الخاصة بهذه العمليات.	النشاط المضاد للالتهاب

3.I. الأكسدة البيولوجية واختلالاتها

إن الأوكسجين (O₂) جزيء حيوي مهم جدا للحياة. عند استخدامه من طرف الخلايا للحصول على الطاقة يتم إنتاج الأنواع الأوكسجينية النشطة (ROS) كنواتج ثانوية، والتي تلعب دورا مزدوجا في العضوية كمركبات مفيدة وسامة [65]. يتم إنتاج الجذور الحرة بشكل مستمر في العضوية والتي يؤدي تراكمها بالإضافة لزيادة الإجهاد التأكسدي إلى حصول العديد من الأضرار والحالات المرضية إلا أنها تخضع دوما لأنظمة مراقبة وفحص متعددة متمثلة في مضادات الأكسدة [66].

1.3.I. الجذور الحرة

تعرف الجذور الحرة عامة على أنها الأصناف الكيميائية الذرية أو الجزيئية التي تحتوي على إلكترون حر أو أكثر في مداراتها الخارجية [67]، أي القدرة على التواجد المستقل [68]، مما يجعلها غير مستقرة كيميائياً وشديدة التفاعل وذات فترة حياة قصيرة [69]، كما يمكن أن تملك هذه الجذور شحنة موجبة أو سالبة أو متعادلة [70].

تتشكل الجذور الحرة أساساً من خلال الانشطار المتجانس Homolytic fission للرابطة التساهمية؛ وهو انشطار يحدث في الرابطة الكيميائية حيث تنال كل ذرة إلكترون الرابطة وتصبح جذراً حراً [68]، أو من خلال الأكسدة الحيوية [71]؛ والتي تعرف كيميائياً بأنها فقد للإلكترونات ومنه الأكسدة دائماً مرفوقة بإرجاع للإلكترون المقابل، هذا المفهوم للأكسدة والإرجاع يطبق بشكل مماثل في الأنظمة البيوكيميائية [72].

يمكننا التمييز بين نوعين من الجذور الحرة؛ الجذور الأولية التي تلعب أدواراً فسيولوجية هامة، والمشتقة مباشرة من الأكسجين مثل جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\bullet-}$) وجذر الهيدروكسيل (OH^{\bullet})، والجذور الثانوية الناتجة عن تفاعل الجذور الأولية مع المركبات الكيميائية للخلية (بروتينات، سكريات وليبيدات) [73]، مثل المشتقات الأوكسجينية الناتجة عن تفاعل الأنواع الأوكسجينية النشطة مع جزيئات العضوية مشكلة جذر الألوكسيل (RO^{\bullet}) وجذر البيروكسيل (ROO^{\bullet}) [74].

تجدر الإشارة إلى أن هناك نوعاً آخر من المركبات غير جذرية مثل الأكسجين الأحادي (O_2^1)، جذر فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، لكنها ذات نشاط عالي وتسمى "السلائف الجذرية". يدعى مجموع الجذور الحرة والمشتقات غير الجذرية بالأنواع النشطة أو التفاعلية [73]، يضم الأنواع الأوكسجينية النشطة ROS، الأنواع النيتروجينية النشطة NOS، أنواع الكلورين النشطة وأنواع البرومين النشطة (الجدول 5.I) [68].

الجدول 5.I: بعض الأنواع التفاعلية النشطة الجذرية وغير الجذرية [68]

الجدور الحرة Free radicals	غير جذرية Nonradicals
الأنواع الأوكسجينية النشطة ROS	
Superoxide ($O_2^{\bullet-}$) Hydroxyl (OH^{\bullet}) Hydroperoxyl (HO_2^{\bullet}) Carbonate ($CO_3^{\bullet-}$) Peroxyl (RO_2^{\bullet}) Alkoxy (RO^{\bullet}) Carbon dioxide radical ($CO_2^{\bullet-}$)	Hypobromous acid (HOBr) Hypochlorous acid (HOCl) Ozone (O_3^{\bullet}) Singlet oxygen Organic peroxides (ROOH) Peroxynitrite ($ONOO^-$) Peroxynitrate (O_2NOO^-) Peroxynitrous acid (ONOOH) Peroxomocarbonate ($HOOCO_2^-$)
الأنواع الكلورية النشطة	
Atomic chlorine (Cl^{\bullet})	Hypochlorous acid (HOCl) Nitryl chloride (NO_2Cl) Chloramines Chlorine gas (Cl_2) Bromine chloride (BrCl) Chlorine dioxide (ClO_2)
أنواع البروم النشطة	
Atomic bromine (Br^{\bullet})	Hypobromous acid (HOBr) Bromine gas (Br_2) Bromine chloride (BrCl)
الأنواع النيتروجينية النشطة	
Nitric oxide (NO^{\bullet}) Nitrogen dioxide (NO_2^{\bullet}) Nitrate radical (NO_3^{\bullet})	Nitrous acid (HNO_2) Nitrosyl cation (NO^+) Nitrosyl anion (NO^-) Dinitrogen tetroxide (N_2O_4) Dinitrogen trioxide (N_2O_3) Peroxynitrite ($ONOO^-$) Peroxynitrate (O_2NOO^-) Peroxynitrous acid (ONOOH) Nitronium cation (NO_2^+) Alkyl peroxynitrites (ROONO) Alkyl peroxynitrates (RO_2ONO) Nitryl chloride (NO_2Cl) Peroxyacetyl nitrate ($CH_3C(O)OONO_2^{\circ}$)

I.3.2. الإجهاد التأكسدي

يعرف الإجهاد التأكسدي بأنه اختلال التوازن بين إنتاج وإزاحة المؤكسدات [75]، هذا الاختلال راجع لوجود فائض في مستويات ROS و/أو انخفاض في مستويات مضادات الأكسدة [76]، والذي يمكن أن يؤدي إلى أضرار خلوية على البروتينات، الليبيدات والحمض النووي ADN [77].

I.3.3. مضادات الأكسدة

وهو أي مركب ذو تركيز منخفض، يؤخر أو يمنع أكسدة الركائز (بروتينات، ليبيدات، كربوهيدرات وADN) [78]، وبذلك يحافظ على الخلايا ويعزز المناعة ويمنع الإصابة بأمراض عديدة، ومنه الاضطرابات الناتجة عن الجذور الحرة [79،80].

I.3.3.1. آلية عمل مضادات الأكسدة

تعمل مضادات الأكسدة بطرق متعددة، حسب نوعها وأماكن تواجدها في الجسم وطبيعة الوسط إذا كان مائي أو دهني، ووفقا للعضو الذي تتواجد فيه. نذكر من بين هذه الآليات وقف عمليات الأكسدة من خلال إبطال عمل الشوارد ووقف نشاطها وهذا عن طريق منحها الإلكترون الذي تحتاجه لاستقرارها، فتصبح مضادات الأكسدة مؤكسدة ومستهلكة. كما يمكنها كسر سلسلة تفاعلات الأكسدة الضارة، فتعمل على تحويلها إلى منتجات غير ضارة كما تمنع حدوث الأكسدة التي تسبب في عملية نقل الشوارد المعدنية مثل الحديد والنحاس. بعضها يقوم بتغليف المادة الوراثية وأغشية الخلايا، فتحمي الكروماتما من الجذور الحرة أما بعضها فيقوم بصيانة مضادات الأكسدة الأخرى المتضررة بعد إزالة الجذور الحرة [81].

I.3.3.2. تصنيف مضادات الأكسدة

تصنف مضادات الأكسدة حسب مصدرها إلى مضادات أكسدة طبيعية ومضادات أكسدة صناعية.

أ. مضادات الأكسدة الطبيعية

يتم إنتاجها داخل الجسم من خلال عمليات الأيض أو تكون مضافة من خلال مصادر طبيعية. يعتمد نشاطها على خصائصها الفيزيائية والكيميائية وآلية تفاعلها، وعليه يمكن تقسيمها إلى مجموعتين؛ إنزيمية وغير إنزيمية [82]. تضم المجموعة الأولى ثلاث إنزيمات أساسية: إنزيم Superoxide dismutas (SOD)، إنزيم Catalase (CAT) وإنزيم Glutathion peroxidase (GP)، بالإضافة إلى إنزيمين ثانويين هما إنزيم

Glutathion reductase (GR) الذي يقوم بإرجاع الغلوتاثيون من شكله المؤكسد (GSSG) إلى شكله المختزل (GSH) لضمان استمرار عملية تحييد الجذور الحرة، وإنزيم Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) الذي يسمح بتوفير NADPH [83].

أما مضادات الأكسدة غير الإنزيمية فأغلبها لا يتواجد بصورة طبيعية في الجسم، من أهمها نجد الغلوتاثيون، الفيتامينات، البوليفينولات، الكاروتينويدات والمعادن [82،83]. تعمل مضادات الأكسدة بصفة عامة كمجموعة واحدة متكاملة ضد أنواع مختلفة من الجذور الحرة في أجزاء مختلفة من الخلايا وفي مواضع مختلفة من الجسم وبطرق مختلفة أيضا. أي أن تأثير مضادات الأكسدة مجتمعة تكون أفضل من تأثير كل مضاد أكسدة بمفرده، كما تستعيد بعض مضادات الأكسدة فاعليتها بواسطة مضادات أكسدة أخرى، وهذه إحدى الأسباب الهامة لتأثيرها التآزري [84].

ب. مضادات الأكسدة الصناعية

هي مركبات تصنع كيميائيا لعدم تواجدها في الطبيعة، تضاف للغذاء كمواد حافظة تساعد على منع أكسدة الدهون [85]، كما تستعمل في مستحضرات التجميل [86]. معظمها تذوب في الدهون [87]، وتكون مشتقة من الفينولات، من أنواعها؛ مضادات أكسدة أحادية الفينول مثل: (Butylated BHA) (hydroxy anisole) BHT، (Butylated hydroxy toluene) BHT. كما نجد مضادات أكسدة ثنائية الفينول مثل (tert-Butylhydroquinone) TBHQ ومضادات أكسدة ثلاثية الفينول مثل الغالات [88].

4.3.I. الإجهاد التأكسدي والأمراض

يلعب الإجهاد التأكسدي دورا مهما في الفيسيولوجيا المرضية للعديد من الأمراض المختلفة [89] وفيما يلي شرح لأهم الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي (الجدول 6.I).

الجدول 6.I: بعض الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي

المرجع	الدور	الأمراض
[90]	تنص نظريات حدوث الشيخوخة على أن أنواع ROS تتلف المكونات الأساسية للخلايا وبالتالي تسرع عملية الشيخوخة وتزيد من خطر الإصابة بالأمراض.	الشيخوخة
[91]	يحتاج الدماغ نسبة عالية من الأكسجين تعادل 20% من إجمالي استهلاك الجسم مما يجعله أكثر حساسية للإجهاد التأكسدي والذي يعتبر أحد مسببات مرض الزهايمر على سبيل المثال.	الأمراض التنكسية العصبية
[92]	الجدور الحرة ضرورية لبعض التفاعلات الإيجابية بما في ذلك نقل إشارة الأنسولين، إلا أنها يمكن أن تساهم في مقاومة الأنسولين من خلال خفض عمله على المستويين: الامتصاص الخلوي للجلوكوز عن طريق الأنسجة الدهنية والعضلات، وتثبيط إنتاج الجلوكوز الكبدي	السكري صنف 2
[93]	يسبب الإجهاد التأكسدي مختلف الأمراض الوعائية القلبية، من خلال أكسدة الأحماض الدهنية أو عملية الأكسدة الفوقية للدهون	الأمراض القلبية الوعائية
[94]	أظهرت العديد من الدراسات العلاقة المباشرة بين حدوث الالتهاب المزمن والسرطان، وأثبتت الدراسة أن الجدور الحرة المستمدة من الإجهاد التأكسدي الناجم عن الالتهاب هي السبب في ذلك.	السرطان

4.I. داء السكري وعلاجه

1.4.I. تعريف

هو مرض معقد مرتبط بخلل في أيض الأنسولين. قد تم تعريفه من طرف المنظمة العالمية للصحة بأنه "اضطراب استقلابي متعدد الأسباب، يتميز بارتفاع نسبة السكر في الدم مع اضطراب في أيض السكريات، الدهون والبروتينات. ناتج عن عيوب في إفراز الأنسولين أو عمله أو كليهما" [95]. يعمل الأنسولين وهو هرمون ينتج في خلايا β في جزر لانجرهانس في البنكرياس إلى جانب هرمون آخر تفرزه الخلايا α -الغلوكاغون- على تنظيم مستويات السكر في الدم. تؤدي المستويات العالية من السكر في الدم إلى إفراز الأنسولين الذي ينشط امتصاص الكربوهيدرات وأساسا الغلوكوز عبر مستقبلات خاصة في العضلات، الأنسجة الدهنية والكبد [96]. قد تكون كمية الأنسولين المفرزة أقل من المطلوب أو يكون هناك توقف تام في إنتاجه ويطلق على هذه

الحالة بقصور الأنسولين، أو أن الكمية المفرزة من الأنسولين كافية إلا أن هناك مقاومة من الأنسجة والخلايا تمنع الاستعمال الجيد له وتسمى هذه الحالة بمقاومة الأنسولين [97].

2.4.I. أنواع مرض السكري

صنفت المنظمة العالمية للصحة مرض السكري إلى خمس فئات سريرية [98]:

1.2.4.I. النوع الأول

يسمى أيضا بالسكري المعتمد في علاجه على الأنسولين insulin dependent diabetes millitus (IDDM). يرجع هذا النوع إلى تدمير الخلايا β مما يؤدي إلى نقص مطلق في الأنسولين لأسباب مناعية في أغلب الأحيان [98]. يتميز هذا النوع بظهوره المفاجئ في سن مبكرة (أقل من 35 سنة) وارتفاع احتمال الإصابة بالحمض الكيتوني. يمثل هذا النوع نسبة 5-10% من الحالات الكلية لمرضى السكري [99].

2.2.4.I. النوع الثاني

ينتج مرض السكري من النوع الثاني عن خلل وظيفي في الخلايا β يؤدي إلى فقدان تدريجي لإفراز الأنسولين مرتبط بمقاومة الأنسجة والخلايا لهذا الهرمون. يختلف النوع الثاني من مرض السكري اختلافاً كبيراً عن النوع الأول من حيث الخصائص السريرية، حيث يكون ظهور المرض بطيئاً وعادة في سن أكبر كما أن معظم المصابين بهذا النوع يعانون من زيادة الوزن أو السمنة، مع عدم احتمال وجود الحمض الكيتوني. يمثل هذا النوع 90-95% من الحالات الكلية لمرضى السكري [100].

3.2.4.I. سكري الحمل

يظهر هذا النوع من السكري لدى النساء الحوامل في الثلاثي الثاني والثالث من الحمل اللواتي لم يسبق لهن أن يشخصن بالسكري. تنتهي أعراضه في أغلب الأحيان بعد الولادة لكن عدداً قليلاً من حالات السكري النوع الثاني تظهر أثناء الحمل، تصاب نسبة 50% من حالات سكري الحمل بمرض السكري بعد 15 عاماً من الإصابة به لأول مرة. تلعب السمنة، السن المتقدم، التاريخ العائلي والإستعداد الوراثي الشخصي دوراً هاماً في ظهور هذا النوع من السكري. يتم علاجه بتتبع نظام غذائي خاص وفي حالة الحاجة يمكن استخدام حقن الأنسولين مع ضرورة عدم استخدام الأدوية المخفضة للسكر لأضرارها العديدة [101].

4.2.4.I. السكري الثانوي

يضم هذا النوع بعض الأنواع المحددة من مرض السكري المرتبط بأمراض أخرى غير مدرجة في الفئات الثلاث السابقة، مثل بعض أمراض البنكرياس (التهاب البنكرياس والتليف الكيسي)، اضطرابات الغدد الصماء (متلازمة كوشينغ، التضخم وفرط نشاط الغدة الدرقية)، مرض السكري من أصل كيميائي (بسبب استخدام الكورتيكويدات الستيرويدية أو مضادات الفطريات والالتهابات (مثل الحصبة الألمانية الخلقية)، والتشوهات أحادية المنشأ لوظيفة الخلية β (مثل مرض السكري المؤقت لحديثي الولادة TNDM)، عيوب أحادية المنشأ في عمل الأنسولين (الجدام أو متلازمة رابسون مندخال) والمتلازمات الجينية الأخرى المرتبطة بمرض السكري (متلازمة داون أو متلازمة كلينفيلتر) [102].

5.2.4.I. الأشكال الهجينة من مرض السكري

هي فئة جديدة أضافتها منظمة الصحة العالمية، تضم أشكال السكري التي تجمع بين الخصائص السريرية لمرض السكري من النوع الأول والنوع الثاني، مثل مرض السكري البطيء النمو ذو الوساطة المناعية (مرض السكري المناعي الذاتي الكامن للسابق للبالغين - LADA) لأن خصائصه السريرية تشبه مرض السكري من النوع الثاني، لكن الأفراد لديهم أجسام مضادة ذاتية للبنكرياس [98].

3.4.I. أعراض مرض السكري

تختلف الأعراض وحدتها وكذا معدل تطورها حسب نوع المرض، تشمل الأعراض الكلاسيكية للسكري بنوعيه كثرة التبول، الشعور بالعطش، التعب والضعف. يعاني مرضى السكري من النوع الأول أيضاً من عدم وضوح الرؤية وفقدان الوزن على الرغم من زيادة الشهية. قد يعاني المصابون بالنوع الثاني من أعراض أخرى كالتهابات الجلدية أو تأخر شفاء الجروح، ألم وتنميل الأطراف. تظهر الأعراض في النوع الأول عادة في غضون أيام أو أسابيع قليلة، لذلك من غير المرجح أن يتم تشخيصه أثناء الفحص الروتيني، بينما لا يرتبط ظهور مرض السكري من النوع الثاني في أغلب الأحيان بالأعراض السريرية، لذلك يتم تشخيص المرضى عادةً أثناء الفحص الروتيني [102].

4.4.I. مضاعفات مرض السكري

يمكن تصنيفها إلى مجموعتين مضاعفات حادة ومضاعفات مزمنة. تشمل المضاعفات الحادة الحمض الكيتوني السكري (DKA) ومتلازمة الجلوكوز المفرط (HHS) التي يمكن أن تؤدي إلى الغيبوبة [103]. أما المضاعفات المزمنة فتشمل اعتلال الشبكية واعتلال الكلية، الاعتلال العصبي (المحيطي والمستقل)، القدم المصابة بالسكري [104]، بالإضافة إلى أمراض القلب والأوعية الدموية كأمراض القلب التاجية، مثل احتشاء عضلة القلب، وفشل القلب، وأمراض الأوعية الدموية الدماغية، مثل السكتة الدماغية. معظم هذه المضاعفات تهدد الحياة فهي تمثل أهم سبب للوفاة لدى مرضى السكري [105].

5.4.I. علاج مرض السكري

يعتبر مرض السكري مرضاً مزمناً لا علاج له ليومنا هذا لكن بهدف السيطرة عليه وتجنب مضاعفاته لا بد من اتباع إجراءات معينة. أولاً البدء بالعلاج غير الدوائي حيث يلعب نمط الحياة الصحي دوراً أساسياً في الوقاية من مرض السكري ومضاعفاته، ويُصحح مرضى السكري باتباع نظام غذائي متوازن ومتنوع، مع الأخذ في الاعتبار نسبة السكر الإجمالية في الطعام، وتجنب الإفراط في تناول الدهون [106]. بالإضافة للنشاط البدني الذي يساعد مرضى السكري على التقليل من المضاعفات القلبية والتحكم في الوزن. عندما لا يتم تنظيم لمستوى السكر في الدم، يجب الشروع في العلاج الدوائي باستعمال بعض الحبوب الخافضة لسكر الدم كالميتفورمين، سلفونيلوريا، مثبطات ألفا-غلوكوزيداز،... [107،108].

بالنسبة لمرضى السكري النوع الأول يقتصر العلاج على حقن الأنسولين بالإضافة للحمية [109].

الفصل الثاني: الأدوات والطرق

تم إنجاز الأعمال التطبيقية الخاصة بهذا البحث على مستوى مخبر العلوم الأساسية بجامعة عمار ثليجي - الأغواط. كما تم إنجاز بعض الأعمال التطبيقية والتحليل الكروماتوغرافية على مستوى المخابر البيداغوجية ومخبر العلوم الكيميائية والفيزيائية بالمدرسة العليا للأساتذة بالأغواط.

1.II. المواد والأجهزة المستعملة

خلال إنجاز الجزء العملي من هذه الأطروحة تم استعمال العديد من المواد الكيميائية عالية الدرجة والجدول 1.II يلخص جميع المواد الكيميائية والأجهزة المستعملة.

الجدول 1.II : قائمة المواد والأجهزة المستعملة

المواد الكيميائية	
العلامة	المادة
Biochem	Ferric chloride (FeCl ₃), Hexane (C ₆ H ₁₄), Potassium hydroxide (KOH), n-butanol (C ₄ H ₉ OH)
Biosystems	Glucose oxidase reagent
CHEMINOVA	Ammonium hydroxide (NH ₄ OH) (31%)
Fluka	Chloroforme (CHCl ₃), analytic CCM (Si 60HF25), Aluminum chloride (AlCl ₃)
Pearce	Sodium carbonate (Na ₂ CO ₃)
Prolabo	Acetic anhydride, Vitamine C (C ₆ H ₈ O ₆), Fehling's Reagent, Sodium monobasic phosphate dehydrate (NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O), preparative CCM (40-63µm)
Riedel-de Haen	Absolute Ethanol (C ₂ H ₅ OH), Absolute Methanol (CH ₃ OH), Diethylether (C ₄ H ₁₀ O)
SIGMA-ALDRICH	Hydrochloride acid (HCl) (37%), Ammonium acetate (C ₂ H ₇ NO ₂), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,4,6-tri(2-pyridyl)-s triazine (TPTZ) (C ₁₈ H ₁₂ N ₆), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈), Sodium chloride (NaCl), Neocuproine (2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline), Ferrous sulfate heptahydrate (FeSO ₄ .7H ₂ O), Copper(II) chloride dihydrate (CuCl ₂ .2H ₂ O), Ethyl acetate (C ₄ H ₈ O ₂), Folin-Ciocalteu reagent, Sulfuric acid (H ₂ SO ₄), Ammoniac (NH ₃), Iode (I), Potassium iodide (KI), Sodium phosphate dibasic dodecahydrate (Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O), Lead (II) acetate (C ₄ H ₆ O ₄ Pb), Gallic acid (C ₇ H ₆ O ₅)
الأجهزة	
Water bath (Memmert), Analytical balance (KERN, ABS 220-4), pH-meter (WTW:inoLab® pH 7110), Etuve (Memmert), rotatory evaporator. Spectrophotometer UV/Visible (Shimadzu 1800).	

II.2. المادة النباتية

تم قطف الجزء الهوائي للنباتات الثلاث قيد الدراسة؛ الجمل *Caroxylon imbricatum*، الروقل *Caroxylon vermiculatum* وبوقرية *Agatophora alopecuroide* خلال الأشهر أكتوبر، نوفمبر وديسمبر من سنة 2012 والأشهر أفريل، ماي وجوان من سنة 2013، من منطقة سيدي مخلوف (34.1333°N، 3.016667°E)، بولاية الأغواط-الجزائر. بعد تجفيف العينات تحت الظل وفي درجة حرارة الغرفة تم سحقها باستعمال الهاون ثم حفظ المساحيق الناتجة في أكياس ورقية بعيدا عن الضوء والرطوبة إلى حين استعمالها.

II.3. الدراسة الفيتوكيميائية

تهدف هذه العملية إلى البحث عن العائلات الكيميائية الأساسية لمركبات الأيض الثانوي: الفلافونويدات، الكومارينات، التانينات، الصابونينات والقلويدات... في المستخلصات النباتية. تعتمد النتائج على ظهور راسب أو تغير لون وسط التفاعل وتناسب كمية الراسب أو شدة اللون مع كمية المادة الموجودة. يعبر عن النتائج بالعلامة (+) أو (-) للدلالة عن وجود المادة من عدمه.

من أجل استخلاص بعض مركبات الأيض الثانوي اتبعنا طريقة الاستخلاص بالمذيبات (صلب-سائل) باستعمال جهاز سوكسلي وذلك باستخدام خمسة مذيبات متدرجة القطبية : الهكسان، ثنائي اثيل اثير، ثنائي كلور الميثان، خلات الإيثيل والميثانول.

نأخذ عينة من النبتة الجافة وزنها 23 غ نضعها في خرطوشة مصنوعة من ورق الترشيح السميك والتي توضع في الغرفة الرئيسية لجهاز سوكسلي. نملأ الدورق بالمذيب ثم نحقق التركيب النهائي للجهاز وتبدأ عملية الاستخلاص برفع درجة الحرارة حتى غليان المذيب (45-65°م). عند الانتهاء مدة الاستخلاص (1-4 سا) نفصل المذيب عن المستخلص بتبخيره عن طريق جهاز التبخير الدوراني، لتتحصل على 15 مستخلصا تذاب في كمية معينة من الميثانول وتحفظ في الثلاجة عند درجة حرارة 4°م. طبقت الدراسة الفيتوكيميائية على المستخلصات المحضرة سابقا وتم العمل بتركيز 1 غ/ل لجميع المستخلصات.

II.3.1. الكشف عن الصابونينات

في أنابيب اختبار، يتم مزج حجم 2mL من كل مستخلص و3mL من الماء المقطر، ثم ترج لمدة 30 ثانية وتسجل الملاحظة بعد 15 دقيقة. يدل ظهور الرغوة واستقرارها على وجود الصابونينات. حيث: في غياب الرغوة (-)، طول الرغوة أقل من 1cm (+)، طول الرغوة من 1 إلى 2cm (++)، طول الرغوة من 2 إلى 3cm (+++). [110].

II.3.2. الكشف عن القلويدات

يتم في هذا الاختبار مزج 1mL من كاشف ماير (Mayer's reagent) و2mL من كل مستخلص، يرج المزيج ثم تسجل الملاحظة بعد 24 ساعة. ظهور راسب أبيض يدل على وجود القلويدات [111].

II.3.3. الكشف عن الفلافونيدات

تحضر مجموعة من الأنابيب يحتوي كل منها على 1mL من كل مستخلص و1mL من كلوريد الألمنيوم (AlCl₃; 2% (m/v)) ترج المحاليل وتسجل الملاحظة بعد 15 دقيقة من الحضانة في الظلام. يدل ظهور اللون الأصفر على وجود الفلافونيدات وتناسب شدته مع تركيزها [112].

للكشف عن أقسام الفلافونويدات تم اتباع الخطوات التجريبية التالية؛ في أنابيب اختبار، يتم مزج 1mL من كل مستخلص، 3mL من الإيثانول، 1mL من HCl الكحولي، 1mL من كحول إيزوأميليك (C₅H₁₁OH) بالإضافة إلى قطع من المغنيزيوم فيظهر طورين. يدل اللون الوردي البنفسجي للطور العلوي على وجود الفلافونون أو الفلافونات. بينما يدل اللون الأحمر على وجود الفلافانول أو الفلافانولونول.

II.4.3. الكشف عن الأنتوسيانينات

يتم مزج 2mL من HCl (2% m/v)، 0.5mL من الأمونياك (NH₄OH) و1mL من كل مستخلص. يدل ظهور اللون الأحمر على وجود الأنتوسيانينات [113].

II.5.3. الكشف عن العفصيات

يتم وضع 1mL من كل مستخلص في أنابيب اختبار ثم يضاف إليها 0.5mL من ثلاثي كلوريد الحديد (FeCl₃; 1% (m/v)) وتسجل الملاحظة بعد 15 دقيقة من الحضانة. يدل ظهور اللون الأزرق المسود على وجود العفصيات. وللتفريق بين أنواع العفصيات يتم مزج 1mL من كل مستخلص مع 2mL من كاشف

Stiasny ويسخن المزيج في حمام مائي على درجة حرارة 90°م لمدة 15 دقيقة. ظهور راسب يدل على وجود العفصيات من النوع catechic tanins. تتم إضافة خلات الصوديوم ($C_2H_3NaO_2$) بكمية معتبرة للرشاحة وبضع قطرات من $FeCl_3$ (1% m/v)، ويدل ظهور اللون الأزرق المسود على وجود العفصيات من النوع Gallic tanins [114].

II.6.3. الكشف عن التربينات والستيروولات

في أنابيب اختبار يتم مزج 1mL من كل مستخلص، 0.5 مل من أنهيدريد الأستيك (Anhydrid acetic) وبضع قطرات من حمض الكبريت. يدل تشكل حلقة ذات لون أحمر أو أرجواني على وجود التربينات والستيروولات [113].

II.7.3. الكشف عن المركبات المرجعة

يتم وضع 1mL من كل مستخلص في أنابيب اختبار ويضاف لها 1mL من محلول فهلينغ ثم يسخن المزيج في درجة حرارة 100°م لمدة ساعة. يدل ظهور راسب أحمر آجوري على وجود المركبات المرجعة في المستخلص [114].

II.8.3. الكشف عن الكومارينات

يحضر مزيج مكون من 1mL من كل مستخلص و2mL من الماء المغلي، ثم يقسم المحلول الناتج على أنبوبي اختبار؛ يضاف للأنبوب الثاني 0.5mL من الأمونياك (25% v/v). توضع عينة من كل أنبوب على ورق الترشيح ويلاحظ الفرق بينهما تحت مصباح UV. ظهور الإشعاع يدل على وجود الكومارينات [115].

II.9.3. الكشف عن الغليكوسيدات القلبية Cardiotoxic heterosid

تحضر سلسلة من الانابيب يحتوي كل منها على 1mL من كل مستخلص، 1mL من كاشف Baljet (Picric acid 1%) و5 قطرات من هيدروكسيد البوتاسيوم (5% (m/v) KOH). يدل ظهور اللون البرتقالي على وجود الغليكوسيدات القلبية.

II.10.3. الكشف عن الأنتراكينات الحرة Anthraquinones

يتم مزج 1mL من كل مستخلص و1mL من الأمونياك (10% (NH₄OH)؛ ثم يرج لمدة 15 ثانية. يدل ظهور اللون الأحمر على وجود Anthraquinines [116].

11.3.II. الكشف عن الأنتراسينات المرتبطة Anthraquinones glycoside

يتم رج مزيج مكون من 1mL من كل مستخلص و2mL من الكلوروفورم (CHCl₃)، ثم يترك المزيج فيظهر طورين. تتم معاملة كل طور على حدى؛ يضاف للطور العضوي 1mL من الأمونياك NH₄OH (10% v/v)، ثم يرج المحلول فيدل ظهور اللون الأحمر على وجود O-heterosides. بينما نضيف الماء المقطر للطور المائي حتى يصل الحجم إلى 10mL، ثم يضاف له 1mL من FeCl₃ (10% m/v)، بعد التسخين على درجة 100م لمدة 30 دقيقة يضاف للمحلول 1mL من الكلوروفورم و1mL من NH₄OH. يدل ظهور حلقة حمراء على وجود C-heteroside.

في أنابيب اختبار يوضع 1mL من كل مستخلص ويضاف له 3-4 قطرات من FeCl₃ (10% m/v)، ثم يسخن في حمام مائي على درجة 100م لمدة 5 دقائق. يضاف للمزيج 2mL من الكلوروفورم ويرج، تترك الأنابيب لمدة 5 دقائق فنلاحظ ظهور طورين، يفصل الطور العضوي ويضاف له 1mL من NH₄OH (10% v/v). تدل زيادة شدة اللون الأحمر للمحلول على وجود نواتج أكسدة anthranol أو anthrones [116].

4.II. تحضير المستخلصات

يتم نقع كتلة قدرها 10 غ من المادة النباتية في خليط من الماء والميثانول (7/3 v/v) وتترك لمدة 24 سا. بعد عملية الترشيح تعاد عملية النقع مع تجديد المذيب. بعد جمع الرشاقتين يتم التخلص من الميثانول تحت ضغط منخفض وتحت درجة حرارة 40م وتجري عمليات استخلاص سائل-سائل على الطور المائي المتحصل عليه وذلك باستعمال إيثر البترول للتخلص من المواد غير القطبية كالدهون والصبغات، خللات الإيثيل ثم البيتانول. بعد تبخير المحاليل العضوية نتحصل على المستخلص الخام الصلب لطوري خللات الإيثيل والبيتانول لكل عينة نباتية تتم إذابتها في كمية من الميثانول وحفظها عند درجة 4م للتحليل الكيميائي.

ملاحظة: تم اعتماد ترميز بسيط للتفريق بين مختلف المستخلصات مكون من أربع حروف X₁X₂X₃X₄

حيث: X₁X₂: الحرفين الأولين من الإسم العلمي الكامل للنبات (Aa: *A. alopecuroide*, Ci:

C. imbricatum و*C. vermiculatum*: Cv)؛ X₃: الحرف الأول من اسم المحلول المستعمل للإستخلاص

(A: خللات الإيثيل، B: البيتانول؛ X₄: الحرف الأول من اسم الشهر الذي تم فيه جمع العينة (A: أفريل، M:

ماي، J: جوان، O: أكتوبر، N: نوفمبر، D: ديسمبر).

5.II. تقدير المحتوى الكلي للفينولات

تم تعيين كمية عديدات الفينول في المستخلصات باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu وبالاعتماد على طريقة Singelton et Rossi مع بعض التعديلات الطفيفة [117]. يعتمد مبدأ هذه التقنية على إرجاع مزيج الفوسفوموليبيدات ($H_3PMo_{12}O_{40}$) والفوسفوتانغستات ($H_3PW_{12}O_{40}$) ذات اللون الأصفر والمكوّنة للكاشف بواسطة متعددات الفينول في وسط قاعدي (Na_2CO_3) إلى مجموع أكاسيد الفوسفوموليبيدات والتانغستان ذات اللون الأزرق الذي تتناسب شدته طردا مع كمية متعددات الفينول المتواجدة في الوسط والتي يمكن تقديرها بقياس الامتصاصية عند طول موجة أعظمي $\lambda=760nm$.

في أنبوب اختبار يتم مزج $100\mu L$ من المستخلص، $500\mu L$ من كاشف فولن ممدد 10 مرات. نضيف بعد 5 دقائق حجم قدره $2mL$ من محلول كربونات الصوديوم القاعدي (Na_2CO_3 ، 5% m/v). يرج المزيج جيدا ويترك في الظلام. تقاس الامتصاصية عند طول موجة $760nm$ بعد نصف ساعة. يستعمل حمض الغاليك كمرجع ويعبر عن النتائج بعدد الملغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل غرام من المادة النباتية الجافة.

6.II. فصل المركبات النشطة

1.6.II. تحضير المستخلصات

يتم التخلص من الدهون والصبغات الموجودة في كتلة قدرتها $240g$ من مسحوق نبتة الروقل بواسطة محلول ايثر البترول وباستعمال جهاز سوكسلي. تجفف البقايا النباتية ثم تُنقع في محلول الميثانول المائي (3\7) مدة 48 سا ومن أجل الحصول على مستخلص وفير وكاف تم إعادة النقع عدة مرات متتالية مع تجديد المذيب. تُجمع الرشاحات المتحصل عليها ويختر الميثانول في جهاز التبخير الدوراني. تُجرى عمليات استخلاص سائل-سائل على الطور المائي بواسطة خللات الإيثيل والبيتانول فنتحصل بعد تبخير المحاليل العضوية على المستخلص الخام الجاف لكل من خللات الإيثيل والبيتانول.

2.6.II. فصل مستخلص خللات الإيثيل

تؤخذ كمية جافة من مستخلص خللات الإيثيل وتذاب في كمية قليلة من نفس المحلول ثم تُجرى عليها عملية الفصل بواسطة عمود التجزئة على هلام السيليس. تم استعمال عدة محاليل مملصة مع رفع القطبية في كل

مرة، حيث تم استعمال المزيج خللات الإيثيل/إيثانول مع رفع نسبة الإيثانول حسب الترتيب التالي 50%، 70%، 85%، 100%، ثم المزيج إيثانول/ ماء بنسبة 90% إيثانول.

سمحت هذه العملية بالحصول على خمس مجموعات كل منها ذات صورة كروماتوغرافية خاصة. تم اختيار المجموعة ذات الوزن الأكبر لاستكمال التنقية. تم فصل المجموعة المختارة على لوح كروماتوغرافيا التحضيرية. باستعمال مزيج خللات الإيثيل/إيثانول/حمض الخل (0.5/2/6) كملص وتم الكشف عن الحزم المفصلة باستعمال الأشعة فوق البنفسجية ذات قيم ثابت الاحتماس $R_f=0$ ، $R_f=0.63$ ، $R_f=0.71$ و $R_f=0.88$ على التوالي. تكشط الحزم المتحصل عليها وتم إذابتها في الميثانول ثم ترشيحها للتخلص من هلام السيليس. بعد تبخير كل محلول على حدى تم الحصول على الناتج الصلب للكسور 1، 2، 3 و 4.

II.3.6. فصل مستخلص البيتانول

يُذاب المستخلص الجاف البيتانولي في الميثانول ثم يفصل بالتردد المركزي (5000 دورة مدة 10 دقائق) فنحصل على راسب ذو لون أبيض مصفر يطلق عليه إسم (الكسر 5). يتم تبخير الميثانول كلياً وتعاد اذابة المستخلص الجاف في الماء المقطر ثم يتم استخلاصه بواسطة خللات الإيثيل. فنحصل على ما تبقى من الطور المائي والذي يطلق عليه اسم (الكسر 6) بعد تبخيره، بينما يتم تركيز طور خللات الإيثيل باستعمال جهاز التبخير الدوراني ثم يُفصل على لوح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية (هلام السيليس؛ 0.25 ميكرومتر) مع استعمال مزيج خللات الإيثيل/إيثانول/حمض الخل (1/5/5) كملص (طور متحرك). تسمح عملية الفصل بالحصول على حزمتين ($R_f=0.65$ و $R_f=0.84$) يتم كشطهما وإذابة كل منهما في كمية من الميثانول. بعد عملية الترشيح والتبخير نتحصل على الكسرين 7 و 8.

II.4.6. التحليل الطيفي والكروماتوغرافي للكسور

سمحت تقنيات الكروماتوغرافية المستعملة في تنقية مستخلصي خللات الإيثيل والبيتانول بالحصول على ثمان (8) كسور، أربع كسور لكل مستخلص. تم اجراء التحليل الطيفي لهذه الكسور لمعرفة طول الموجة الأعظمي للمركبات المكونة لكل كسر وهذا باستعمال جهاز مقياس الطيف الضوئي (Shimadzu 1800). كما تم تحليل الكسور باستعمال جهاز كروماتوغرافيا الطور السائل عالي الدقة HPLC (Shimadzu, LC-2030C) مزود بكاشف المطيافية من النوع SPD-20V ويحتوي على مضخة من النوع LC-20AD ذات تدفق ثابت، تسمح إبرة الحقن بمرور حجم قدره 40µL من العينة. عمود الفصل من النوع (Mocherey-) Nucleosil RP-18

بفضل برنامج Labosolutions. وآلة أخذ العينات من النوع Sil-20AC. تتم معالجة البيانات وتحليلها رقمياً

يتم فصل العينات عند درجة حرارة 37°م باستخدام طور متحرك مكون من الميثانول والماء المقطر بمعدل تدفق قدره 0.8mL/min. تم قياس الإمتصاصية عند طول موجة 245nm، كما تم استعمال نوعين من الشطف وفقاً لطبيعة الكسر المراد تحليله.

بالنسبة للكسور 1، 2 و 3 يبرمج الطور المتحرك باستعمال نسبة 100% من الماء المقطر لمدة ثلاث دقائق ثم تعدل النسبة خطياً بإضافة الميثانول تدريجياً لمدة 10 دقائق لتصبح 70% ثم تعدل خطياً مرة أخرى لمدة 15 دقيقة لتصبح نسبة الميثانول 90% ثم لمدة 5 دقائق لتصبح 100% ويبقى لمدة 24 دقيقة ثم يعاد العمود إلى الظروف الابتدائية.

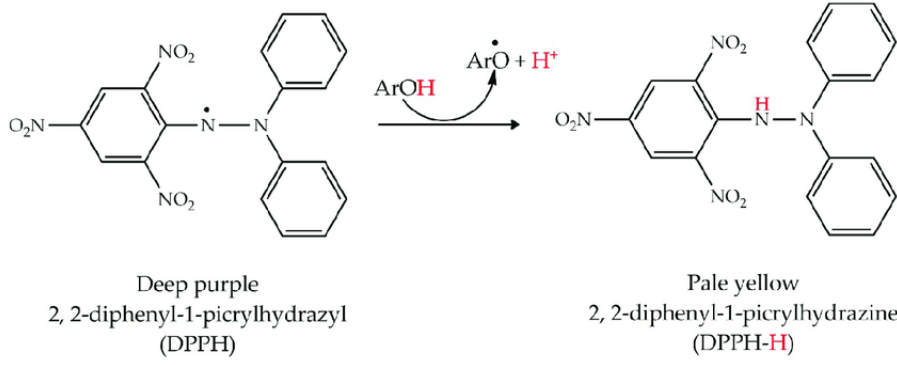
أما بالنسبة للكسور المبقية فيبرمج الطور المتحرك بنسبة 100% ماء مقطر لمدة دقيقة واحدة ليعدل بزيادة خطية من محلول الميثانول مدة 13 دقيقة ليصبح 100% ميثانول ويحفظ هذا التغيير مدة 17 دقيقة ثم يتم تعديله بإضافة خطية مدة 20 دقيقة ليصبح 0%. تعاد موازنة العمود مدة 5 دقائق للعودة للظروف الابتدائية.

II.7. تقدير النشاط المضاد للأوكسدة للمستخلصات والكسور

توجد العديد من الطرق المتبعة لتحديد النشاط المضاد للأوكسدة للمستخلصات الطبيعية [118] والتي تشترك في اصطناع جذور حرة وتختلف في طرق تعديل هذه الجذور إما بإعطاء إلكترونات و/أو بروتونات أو المخلبة في حالة المعادن [119]. من أجل تقدير نشاط العينات قيد الدراسة تم اختيار ثلاث تقنيات كيميائية مختلفة هي إزاحة جذر DPPH، إرجاع أيونات النحاس (CUPRAC) ومخلبة أيونات الحديد.

II.7.1. دراسة النشاط الإزاحي لجذر DPPH

حددت نشاطية المستخلصات المزيجية لجذر DPPH باتباع طريقة Molyneux [120] مع بعض التعديلات الطفيفة والتي تعتمد على التغيير اللوني لجذر DPPH من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر الفاتح (الشكل II.1) والذي يمكن قياس امتصاصيته عند طول موجة أعظمي $\lambda=517\text{nm}$.



الشكل II.1: مبدأ اختبار إزاحة جذر DPPH

انطلاقاً من كل عينة (مستخلص أو شاهد) يتم تحضير سلسلة ذات تراكيز معلومة، ثم في أنابيب اختبار يتم مزج 500µL من المحلول الكحولي للـ DPPH و 500µL من كل تركيز من العينات. يترك المزيج في الظلام لمدة 30 دقيقة ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجة 517nm. يتم حساب النشاط المضاد للجذور (ARP) بالعلاقة التالية:

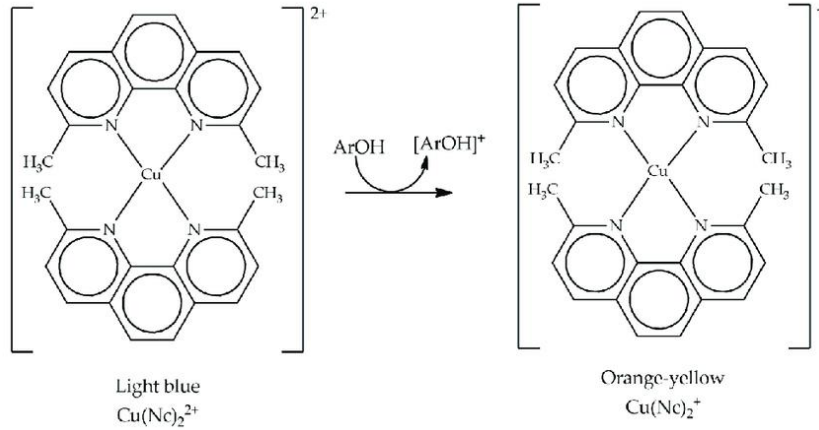
$$ARP(\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \dots\dots\dots II.1$$

حيث A_0 : الامتصاصية في غياب العينة؛ A_1 : الامتصاصية في وجود العينة

ترسم المنحنيات الممثلة لتغير نسبة الإزاحة بدلالة تركيز العينة ما يسمح بتحديد قيمة EC_{50} التي تعبر عن تركيز العينة الموافق لنسبة 50% من النشاطية. تم استعمال كل من الفيتامين هـ (E)، فيتامين ج (C)، بيتاكاروتين، الروتين وحمض الغاليك كمركبات مرجعية لمقارنة النتائج.

II.2.7. دراسة النشاط الإرجاعي لأيونات النحاس CUPRAC

حددت نشاطية المستخلصات الإرجاعية لأيونات النحاس Cu^{+2} باتباع طريقة [121] Apak et al. مع بعض التعديلات والتي تعتمد على قياس تغير الامتصاصية عند طول موجة $\lambda=455nm$ بسبب ظهور اللون البرتقالي الناتج عن تكون معقد Cu^{+1} -Néocuproine بفضل إرجاع أيونات النحاس الثنائية الموجودة في الوسط بواسطة مكونات المستخلصات المدروسة (الشكل II.2).



الشكل 2.II: مبدأ اختبار إرجاع أيونات النحاس (CUPRAC)

يحتوي مزيج التفاعل على 500µL من عدة تراكيز من العينات المدروسة، 500µL من محلول أيونات النحاس الثنائية (CuSO₄ ; 10mM) و 500µL من محلول Neocuproine (7.5mM). يكمل الحجم إلى 2.5mL باستعمال محلول الخلات الموقى (1M ; pH=5.3) ثم يحضن لمدة 30 دقيقة. يتم تسجيل الامتصاصية عند طول موجة 455nm. يتم حساب نسبة أيونات النحاس المرجعة بالعلاقة التالية:

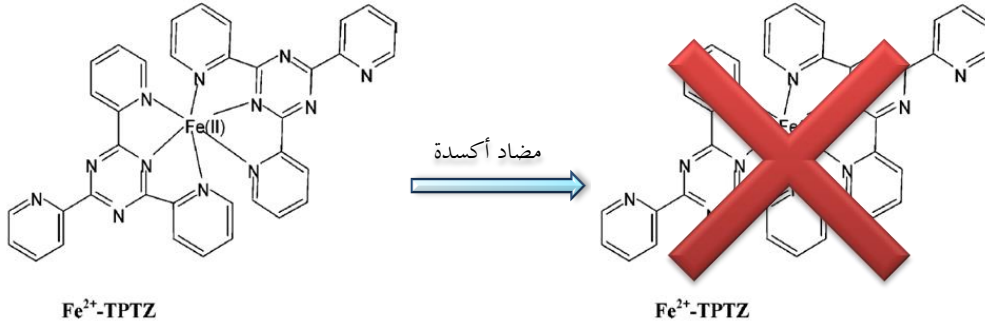
$$Cu^{+2}(\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots II.2$$

حيث A₀: الامتصاصية في غياب العينة؛ A₁: الامتصاصية في وجود العينة

يعبر عن نتائج النشاطية بقيمة EC₅₀. تم استعمال كل من الفيتامين هـ (E)، فيتامين ج (C)، الروتين، حمض الكافيك وحمض الغاليك كمركبات مرجعية لمقارنة النتائج.

3.7.II. دراسة نشاطية استخلاص الحديد

حددت نشاطية المستخلصات المدروسة كعوامل ممخلبة لأيون الحديد باتباع طريقة [122] Jabri et al. والتي تعتمد على تتبع قدرة المستخلص على استخلاص أيونات الحديد الثنائية ومنع تشكل المعقد Fe⁺²-TPTZ ذو اللون الأزرق المميز والذي يملك امتصاصية عظمى عند طول موجة 593nm. فقدان اللون الأزرق دلالة على نشاطية المستخلص (الشكل 3.II).



الشكل 3.II: مبدأ اختبار مخلبة أيونات الحديد

في أنبوب اختبار يتم مزج $100\mu\text{L}$ من أيونات الحديد الثنائية (20mM)، $100\mu\text{L}$ من كل مستخلص بتراكيز مختلفة و $100\mu\text{L}$ من محلول TPTZ (5mM) ثم يكمل الحجم إلى 2.5mL بالميثانول. تقاس الامتصاصية مباشرة عند طول موجه 593nm . تحسب نسبة أيونات الحديد المخلبة بالعلاقة التالية:

$$Fe^{+2}(\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \dots\dots\dots \text{II.3}$$

حيث A_0 : امتصاصية المحلول الشاهد (غياب مضاد الأكسدة)؛ A_1 : امتصاصية العينة

تسمح النتائج المتحصل عليها برسم المنحنيات المثلثة لتغير نسبة الحديد المخلب بدلالة تراكيز المستخلصات والتي تستعمل لتحديد نشاطية المستخلصات المعبر عنها بال EC_{50} . تم استعمال مركب EDTA كمركب مرجعي من أجل المقارنة.

8.II. تقدير النشاط المضاد للسكري للمستخلصات

1.8.II. تثبيط إنزيم α -أميلاز البنكرياسي

حددت قدرة المستخلصات على تثبيط إنزيم α -أميلاز باتباع طريقة Dygert et al. [123] مع بعض التعديلات والتي تعتمد على قياس نشاط هذا الإنزيم الذي يحفز تحلل النشاء إلى مالتوز ومركبات أخرى. يتم تحديد كمية المالتوز المحررة باستعمال الطرق الطيفية بفضل قدرته الإرجاعية لمكونات محلول الغليسرين النحاسي. يعطي النحاس المرجع في وجود محلول Neocuproine معقدا ملونا يمكن قياس امتصاصيته عند طول موجه أعظمي $\lambda=452\text{nm}$.

يحضر مزيج التفاعل المكون من $100\mu\text{L}$ من النشاء، $200\mu\text{L}$ من محلول الفوسفات الموقفي ($\text{pH}=7$)، $100\mu\text{L}$ من المستخلصات ذات تركيز موحد (1g/L) ثم يحضن عند درجة

حرارة 37°م. بعد 10 دقائق يحفز التفاعل بإضافة 100µL من إنزيم α-أميلاز (10U/mL). يوقف النشاط الإنزيمي بعد 2 دقيقة بإضافة 1mL من محلول الغليسين القاعدي و 1mL من محلول Neocuproine، ثم يُغلى المزيج مدة 10 دقائق عند درجة حرارة 100°م. يتم تبريد الأنابيب وتمديد المحاليل بإضافة 3mL من الماء المقطر. تم استعمال الأكاربوز كمرجع إيجابي. تسجل الامتصاصية عند طول موجة 452nm وتحسب نسبة التثبيط (PI) بالعلاقة التالية:

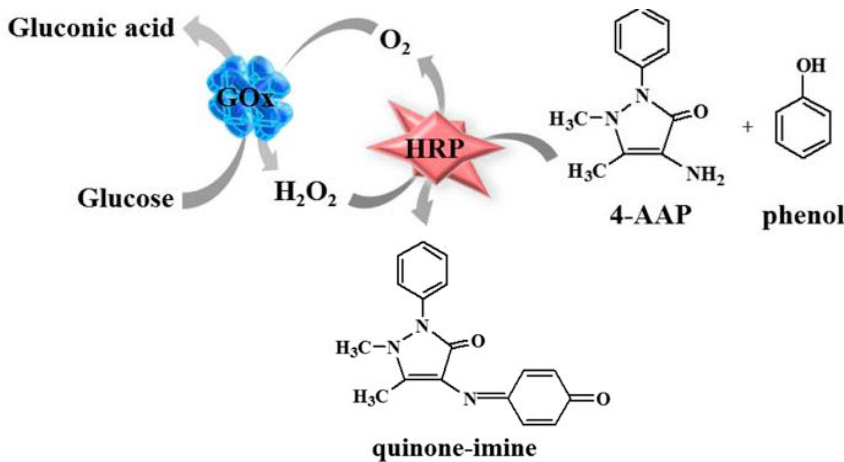
$$PI(\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \dots \dots \dots II.4$$

حيث: A₀: امتصاصية المحلول في غياب المثبط، A₁: امتصاصية المحلول في وجود المثبط.

تمت دراسة النشاط التثبيطي للكسور المتحصل عليها على إنزيمي α-أميلاز حسب نفس الطريقة وبهدف التعبير عن النشاط التثبيطي بقيمة IC₅₀ تم استعمال سلسلة محاليل ذات تراكيز مختلفة من الكسور المتحصل عليها. تسمح النتائج برسم المنحنيات البيانية الممثلة لتغير التركيز بدلالة نسبة التثبيط.

II.8.2. تثبيط إنزيم α-غليكوزيداز

حددت مستخلصات على تثبيط إنزيم α-غليكوزيداز الخاص بالخميرة *Saccaromyces cerivese* EC (3.2.1.48) بإتباع طريقة [124] Jemmali & Kabana و [125] Ngo & Lenhoff مع بعض التعديلات الطفيفة والتي تعتمد على قياس نشاط هذا الإنزيم على المالتوز كركيزة حيث يحفز التحلل المائي لهذه الركيزة لينتج جزئتي غلوكوز يتم تحديد قيمة الغلوكوز ضوئياً بفضل التفاعل الإنزيمي لهذا الأخير مع إنزيم الغلوكوز أوكسيداز حسب التفاعل في الشكل II.4:



الشكل II.4: مبدأ اختبار الغلوكوز أوكسيداز (GO_X)

يمكن تقدير كمية المركب الناتج (Quinone-imine) بفضل قياس الإمتصاصية عند طول موجة أعظمي $\lambda=506\text{nm}$.

يحضر مزيج التفاعل المكون من $400\mu\text{L}$ من الركيزة، $400\mu\text{L}$ من محلول الفوسفات الموقى (50mM , $\text{pH}=7$, 50mM) و $100\mu\text{L}$ من المستخلصات والشاهد بنفس التركيز، ثم يحضن لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة 37°C . يتم تخفيف التفاعل الإنزيمي بإضافة $100\mu\text{L}$ من محلول α -غليكوزيداز (2U/mL) وبعد 15 دقيقة يُوقف النشاط الإنزيمي بغلي المزيج لمدة 5 دقائق. بعد تبريد المحلول يضاف كاشف الغلوكوز أو أكسيداز إلى المزيج ويحضن مرة أخرى لمدة 30 دقيقة. تقرأ إمتصاصية المحاليل عند طول موجة 506nm . تسمح النتائج بحساب نسبة التثبيط (PI) بالعلاقة التالية:

$$PI(\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \dots\dots\dots \text{II.5}$$

حيث: A_0 : إمتصاصية المحلول في غياب المثبط، A_1 : إمتصاصية المحلول في وجود المثبط.

بالنسبة للكسور المفصولة يتم استعمال عدة تراكيز من كل كسر. بعد رسم المنحنيات البيانية المثلثة لتغير التركيز بدلالة نسبة التثبيط يتم حساب قيمة التركيز التثبيطي النصفى IC_{50} وهو تركيز الكسر اللازم لتثبيط 50% من عمل الإنزيم الإبتدائي غير المثبط. تم استعمال الأكاربوز كمركب مرجعي من أجل المقارنة.

II.9. الدراسة الإحصائية

تم إجراء جميع التجارب في ثلاث تكرارات وكل قيمة في النتائج هي متوسط التكرارات الثلاث تم التعبير عنها كالاتي (متوسط \pm الانحراف المعياري (SD)). لتحديد تأثير مذيب الاستخلاص وفترة الحصاد على التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي، تم إجراء تحليل ANOVA للنتائج التي تم الحصول عليها باستخدام برنامج EXCELSTAT. وتمت مقارنة المتوسطات باستخدام اختبار بيرسون متعدد المدى عند مستوى $p < 0.05$. تم إجراء تحليل PCA أيضًا لتحديد نوع الارتباط بين الاختبارات المنجزة وكذا لتحديد العوامل الرئيسية التي تساهم في الاختلاف في التركيب والنشاط للعينات المدروسة.

الفصل الثالث:

عرض ومناقشة النتائج

1.III. الدراسة الفيتوكيميائية

تم إجراء المسح الفيتوكيميائي على المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق الاستخلاص بجهاز سوكسلي باستعمال مذيبات عضوية متزايدة القطبية والتي تحصلنا من خلالها على 15 مستخلصا للنباتات الثلاث. سمح لنا هذا التحليل بتسليط الضوء على وجود بعض مركبات الأيض الثانوي في أنسجة النباتات قيد الدراسة (الملحق 01). النتائج المتحصل عليها ملخصة في الجدول 1.III.

الجدول 1.III: نتائج الدراسة الفيتوكيميائية للنباتات الثلاث [Hex: هكسان، DEE: ثنائي إيثيل إيثر، DCM: ثنائي كلور الميثان، EtOAc: خلات الإيثيل، MeOH: ميثانول، Aa: *Agatophora alopecuroide*، Ci: *Caroxylon imbricatum*، Cv: *Caroxylon vermiculatum*].

MeOH			EtOAc			DCM			DEE			Hex			المستخلصات
Cv	Ci	Aa	Cv	Ci	Aa	Cv	Ci	Aa	Cv	Ci	Aa	Cv	Ci	Aa	رمز النبات
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	الصابونينات
-	-	-	++	+	+	+	++	+	+	++	+	++	++	+++	القلويدات
+	++	+	++	+	+++	++	+++	+	+	++	+++	+++	++	++	مركبات مرجعة
+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	الأنتوسيانات
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	الستيرولات والتربينات
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	الكومارينات
++	++	++	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	الفلافونيدات
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	الفلافون أو الفلافونون
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	فلافانول أو فلافانونول
+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	العفصيات
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Catechic tanins
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gallic tanins
+	++	++	+	+	+	+	+	++	+	++	++	+	++	++	Cardiotonic heterosides
+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anthraquinones
-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O-heterosid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	C-heterosid
+	++	-	++	+	++	+	++	+	++	+	+	++	+	+	Anthranols و / أو Anthrones

من خلال مقارنة نتائج المسح الفيتوكيميائي يتبين لنا عموماً أن النباتات الثلاث غنية بعدة أقسام كيميائية من نواتج الأيض الثانوي. وتشير النتائج إلى وجود اختلاف في مكونات النباتات الثلاث حسب نوع النبات

وحسب المحلول المستعمل في الاستخلاص، حيث تبين لنا غنى الأنواع الثلاث بالمركبات المرجعة، المركبات Anthraquinone glycosides من نوع C-heterosid وكذا heterosides cardiotoxic في جميع المستخلصات. من جهة أخرى لاحظنا غياب كل من الصابونينات، الستيرويدات، التربينات وبعض أنواع الفلافونويدات في جميع المستخلصات.

يتبين لنا أيضا من خلال النتائج غنى مستخلصات الهكسان، ثنائي إيثيل إيثر، ثنائي كلور الميثان وحمالات الإيثيل بالقلويدات بنسب متفاوتة وغياب هذه الأخيرة في مستخلص الميثانول بالنسبة للنباتات الثلاثة. وهذا الاختلاف يتعلق بقطبية المركبات المستخلصة وتوافقها مع قطبية محلول الاستخلاص. في حين لاحظنا وجود كل من الأنتوسيانينات، العفصيات و Anthraquinones في مستخلص الميثانول وغياب هذه المركبات في المستخلصات الأخرى لجميع النباتات وهذا يمكن تفسيره بأن هذه المركبات ذات قطبية عالية مما يسمح لها بالدوبان في الميثانول فقط.

فيما يخص الفلافونويدات، فقد لاحظنا غيابها في مستخلص الهكسان ووجودها في باقي المستخلصات بالنسبة لنبات *A. alopecuroide*، وغيابها في مستخلصي الهكسان وثنائي إيثيل إيثر بالنسبة للنباتين من النوع *Caroxylon* ووجودها في باقي المستخلصات.

بمقارنة النتائج المتحصل عليها في دراستنا مع نتائج دراسات سابقة نجد أن نتائج دراسة التهامي وآخرون تتوافق مع نتائج دراستنا والتي قامت بدراسة فيتوكيميائية على المستخلص الهيدروميثانولي لنبات *Salsola vermiculata* المصري المنشأ، حيث أكدت وجود القلويدات والفلافونويدات بكمية معتبرة، إضافة إلى وجود العفصيات و cardiotoxic heterosid مع غياب الصابونينات. كما أكدت وجود كل من الستيرويدات والتربينات الغائبة في نتائجنا [30]. كما تتوافق هذه النتائج مع نتائج Moghtet وآخرون حول مكونات المستخلص الميثانولي لنفس النبات الجزائري المنشأ إلا أنه أكد وجود الصابونينات [126]. يعود هذا التباين في النتائج إلى اختلاف الموقع الجغرافي، وطبيعة مناخ منطقة الجني وفصله والتي تؤثر تأثيرا بالغا على نوع وكمية المركبات المنتجة من طرف النباتات [127، 128].

أما فيما يخص نبات *S. imbricata* فقد أكدت الدراسة الباكستانية المنجزة من طرف أجايب (Ajaib) وآخرون وجود القلويدات، ال cardiotoxic heterosid، anthraquinone، العفصيات والفلافونويدات بنسب مختلفة حسب الجزء المستعمل من النبتة (الثمار واللحاء) وكذا حسب نوع محلول

الاستخلاص المستعمل، كما أكدت وجود الصابونينات والتربينات عكس نتائجنا [129]. في نفس السياق، أثبتت نتائج شهاب وآخرون تواجد الصابونينات والستيرويدات في المستخلص الهيدروميثانولي لنبات *C. imbricatum* المصري المنشأ [130].

على عكس النبتتين من الجنس *Caroxylon*، كانت الدراسات السابقة حول التركيب الفيتوكيميائي لنبات *A. alopecuroide* قليلة. من بين الدراسات نجد دراسة عثمان وآخرون حول التركيب الكيميائي باستعمال تقنية كروماتوغرافيا السائلة عالية الدقة HPLC للمستخلص الهيدروميثانولي (80%) لبعض النباتات من السعودية من بينها *A. alopecuroide* والتي أثبتت وجود مركبات من عدة أقسام؛ القلويدات، الفلافونويدات، الـ glycosides والـ anthraquinones ما يتوافق مع النتائج المتحصل عليها في دراستنا، بالإضافة للتربينات والصابونينات [131].

2.III. مردود الاستخلاص

سمحت عمليات الاستخلاص سائل-سائل المنجزة على عينات النباتات الثلاث المدروسة بالحصول على مستخلصين عضويين لكل عينة؛ مستخلص خللات الإيثيل ومستخلص البيتانول العادي. جميع المستخلصات المتحصل عليها أظهرت طبيعة لزجة ذات لون أخضر مختلف التدرج.

تم التعبير عن المردودية (الجدول 2.III) بالنسبة المئوية للمستخلص الجاف بالنسبة لكتلة النبات الجافة المستعملة في الإستخلاص والتي تم حسابها بالعلاقة التالية

$$R (\%) = (m/m_0) \times 100 \dots \dots \dots \text{III.1}$$

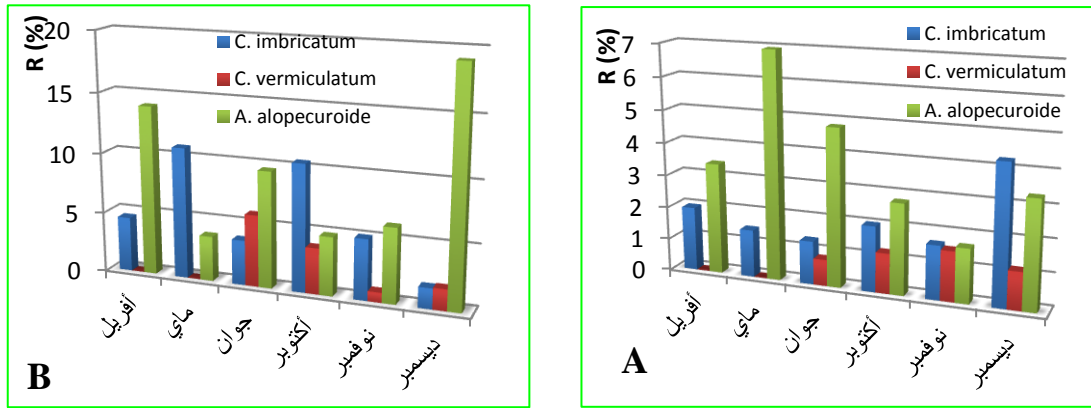
حيث: R(%): مردودية المستخلص، m: كتلة المستخلص المتحصل عليه، m₀: كتلة العينة النباتية

الجافة

الجدول 2.III: مردودية الإستخلاص للعينات المدروسة

العينة	R(%)	العينة	R(%)	العينة	R(%)
AaAA	3,41	CiAA	1,97	CvAJ	0,81
AaAM	6,94	CiAM	1,46	CvAO	1,23
AaAJ	4,82	CiAJ	1,33	CvAN	1,53
AaAO	2,78	CiAO	2,01	CvAD	1,16
AaAN	1,66	CiAN	1,65	CvBJ	5,91
AaAD	3,31	CiAD	4,26	CvBO	3,79
AaBA	14,00	CiBA	4,52	CvBN	0,82
AaBM	3,72	CiBM	10,83	CvBD	1,76
AaBJ	9,59	CiBJ	3,71		
AaBO	4,84	CiBN	10,47		
AaBN	6,16	CiBD	5,00		
AaBD	19,10		1,69		

لتسهيل المقارنة تم تمثيل القيم المتحصل عليها في شكل أعمدة بيانية (الشكل 1.III)



الشكل 1.III: التمثيل البياني لمردودية الاستخلاص لمستخلص خلاص الإيثيل (A) ومستخلص البيتانول (B)

تبين لنا من خلال النتائج المتحصل عليها (الجدول 2.III، الشكل 1.III) أن مردودية الاستخلاص تتراوح بين 0.81 و 19.10%، حيث سجلنا أعلى نسبة لدى عينة ديسمبر لنبات *A. alopecuroide* من مستخلص البيتانول، فيما سجلت عينة جوان لنبات *C. vermiculatum* من مستخلص خلاص الإيثيل أقل نسبة. وقد لوحظ أن محلول البيتانول أعطى مردوداً أعلى من خلاص الإيثيل في جميع العينات وهذا ما يبين العلاقة

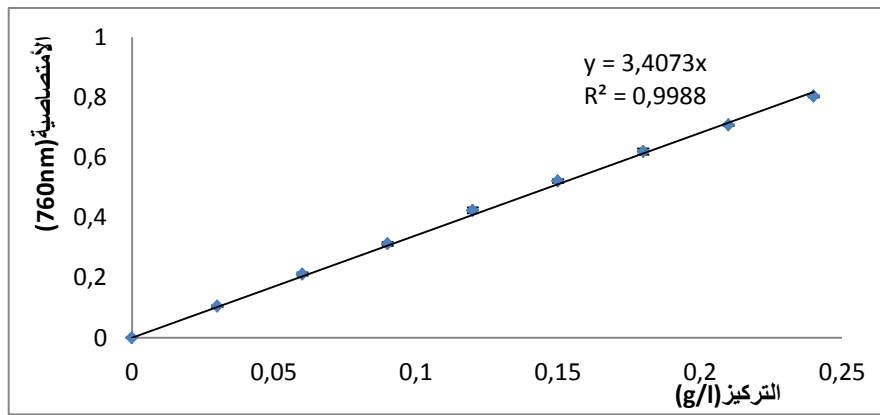
بين قطبية محلول الاستخلاص والمردودية والتي يمكن تفسيرها بقدرة المحلول القطبي على استخلاص المركبات ذات الأوزان الجزيئية العالية كالمركبات الفينولية المرتبطة بالبروتينات، السكريات ... وكذا العفصيات [132,133].

تتفق نتائجنا مع عدة الدراسات السابقة تذكر منها على سبيل المثال لا الحصر؛ دراسة طاهر وآخرون التي وجدت أن مردودية المستخلصات البيتانولية والمائية (Aq) أعلى من تلك الخاصة بثنائي كلور الميثان (DCM) ومستخلص خللات الإيثيل [134]. وبالمثل، أكد بلحواس وآخرون [135] في دراسته على وجود فرق كبير بين المستخلصات القطبية (Aq و BuOH) والمستخلصات الأقل قطبية (DCM و EtOAc). كما وجد العزاوي وآخرون أن مردود استخلاص نبات *Artemisia iferanensis* يختلف بشكل كبير اعتمادًا على المذيب المستخدم (BuOH و EtOAc) [136].

من ناحية أخرى، نلاحظ وجود فرق في المردودية بين عينات النبات الواحد والمتعلقة بزمن القطف وهذا ما يمكن أن يفسر بتغير التركيب الكيميائي لمكونات النبتة خلال فترة نموها [137].

3.III. تقدير المحتوى الكلي للفينولات

تم تقدير المحتوى الكلي للفينولات (TPC) باستعمال طريقة Folin-Ciocalteu وانطلاقًا من المنحنى المعياري لحمض الغاليك (الشكل 2.III) وقد تم التعبير عنها بعدد الميغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل 1 غ من المادة النباتية الجافة (mgEGA/gDW).



الشكل 2.III: المنحنى العياري لحمض الغاليك

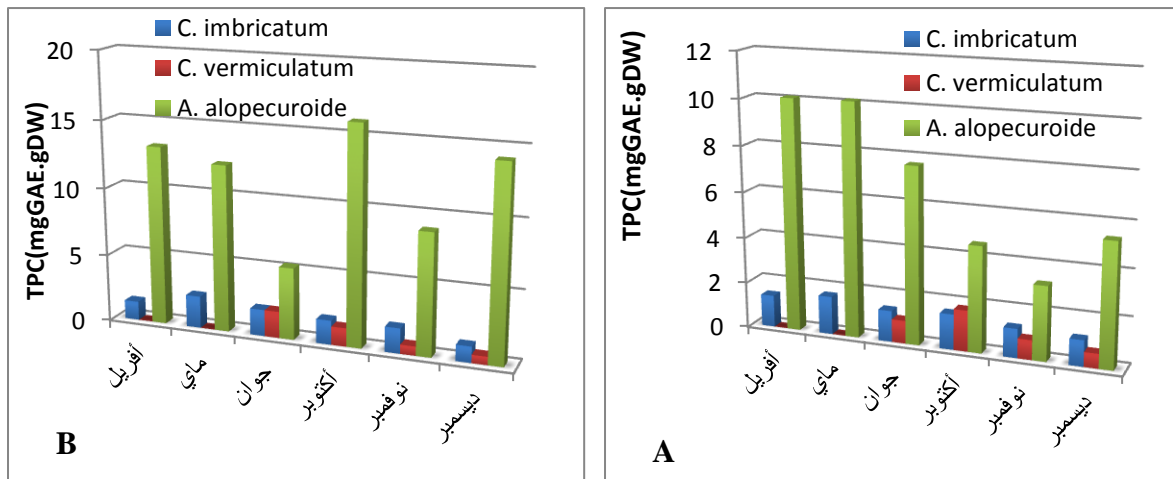
سمحت العملية بالحصول على القيم المدونة في الجدول 3.III.

الجدول 3.III: المحتوى الكلي الفينولات TPC في العينات النباتية المدروسة

TPC (mgEGA/gDW)	العينة	TPC (mgEGA/gDW)	العينة	TPC (mgEGA/gDW)	العينة
1.00±0.09 ^{lmno}	CvAJ	1.40±0.09 ^{klmno}	CiAA	10.09±0.52 ^g	AaAA
1.78±0.03 ^{klm}	CvAO	1.66±0.06 ^{lmno}	CiAM	10.13±0.53 ^f	AaAM
0.86±0.06 ^{mno}	CvAN	1.36±0.04 ^{lmno}	CiAJ	7.67±0.10 ^h	AaAJ
0.64±0.04 ^o	CvAD	1.55±0.11 ^{klmno}	CiAO	4.59±0.09 ⁱ	AaAO
1.95±0.14 ^{kl}	CvBJ	1.27±0.09 ^{klmn}	CiAN	3.22±0.03 ^j	AaAN
1.36±0.05 ^{klmno}	CvBO	1.13±0.04 ^{klmno}	CiAD	5.36±0.07 ⁱ	AaAD
0.67±0.01 ^{no}	CvBN	1.39±0.08 ^{klmno}	CiBA	22.42±0.35 ^a	AaBA
0.61±0.04 ^o	CvBD	2.38±0.17 ^{jk}	CiBM	12.42±0.31 ^e	AaBM
		1.95±0.04 ^{kl}	CiBJ	21.08±0.38 ^b	AaBJ
		1.78±0.29 ^{klm}	CiBN	15.98±0.22 ^d	AaBO
		1.85±0.03 ^{klm}	CiBD	8.91±0.61 ^{gh}	AaBN
		1.19±0.17 ^{lmno}		17.11±0.11 ^c	AaBD

ANOVA تشير الأحرف المختلفة في كل عمود على وجود فروق دالة احصائيا حسب اختبار بيرسون في تحليل ANOVA
القيم المدونة تعبر عن المتوسط ± الانحراف المعياري

لتسهيل المقارنة تم تمثيل القيم المتحصل عليها في شكل أعمدة بيانية (الشكل 3.III)



الشكل 3.III: التمثيل البياني للـ TPC لمستخلص خلاص الإيثيل (A) ومستخلص البيتانول (B)

نلاحظ من خلال النتائج المتحصل عليها التباين الكبير لقيم TPC للعينات المدروسة حيث تتراوح بين 0.61 ± 0.04 و 22.42 ± 0.35 mgEGA/gDW. حيث سجل نبات *A. alopecuroide* أعلى القيم مقارنة بالنبتين الآخرين من الجنس *Caroxylon*. نلاحظ أيضا تسجيل أعلى TPC لنبات *A. alopecuroide* في شهري أبريل وماي، فيما سجل نبات *C. imbricatum* أعلى محتوى في شهر ماي، بينما سجلت مستخلصات *C. vermiculatum* أقصى قيمة لـ TPC شهر أكتوبر. تشير هذه النتائج لوجود تذبذب كبير في كمية المركبات الفينولية خلال دورة حياة الأنواع الثلاث قيد الدراسة. من خلال مقارنة النتائج نلاحظ أن قيم TPC المتحصل عليها للعينات التي تم قطفها في الربيع (أفريل، ماي وجوان) أعلى من القيم المتحصل عليها للعينات المقطوفة في الخريف (أكتوبر، نوفمبر وديسمبر) ويمكن تفسير ذلك باختلاف الظروف المناخية بين الفصلين؛ حيث يتغير متوسط درجة الحرارة كما تتغير نسبة التساقط بين الفصلين (الملحق 02) مما يؤدي إلى تغير النشاط الأيضي للنباتات، حيث تشير الدراسات إلى أن ارتفاع درجة الحرارة والأشعة فوق البنفسجية (UVB) وانخفاض كمية الأمطار المتساقطة يؤدي إلى تغير الخصائص المورفولوجية وكذا التركيب الكيميائي للنبات وبالأخص كمية المركبات الفينولية [138]. في نفس السياق تشير دراسة النابلسي وآخرون حول تأثير موسم الجني على ثمار نبات الحنظل *Citrus colocynthis* الذي ينمو في صحراء الإمارات العربية المتحدة إلى أن الثمار الخضراء التي تم جمعها في الصيف (ارتفاع درجة الحرارة) تحتوي على كمية أكبر من المركبات الفينولية مقارنة بالثمار التي تم جمعها في الشتاء (انخفاض درجة الحرارة) مما يعكس دور هذه المركبات في حماية هذا النبات من الظروف البيئية القاسية [139]. كما نجد الدراسة المنجزة من طرف كابوباي (Kabubai) وآخرون (2023) حول الاختلاف في التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للأوكسدة لمستخلصات نبات *Rosmarinus officinalis* بين موسم الجفاف وموسم الامطار في كينيا، والتي أشارت نتائجها إلى أن إجمالي المحتوى الفينولي وكذا إجمالي العفصيات كانت أعلى في العينات التي تم جمعها خلال موسم الجفاف مقارنة بالعينات التي تم جمعها في فصل الأمطار وقد تم تفسير النتائج المتحصل عليها بتأثر التركيب الكيميائي بعدة عوامل مثل نوع التربة، كثافة الضوء إضافة إلى نسبة الرطوبة [140].

الجدول 4.III: المحتوى الكلي للفينولات في النباتات المدروسة حسب الدراسات السابقة

المرجع	TPC (mg GAE/gDW)	نوع المذيب	الجزء المستعمل	البلد	اسم النبات
[23]	0.19	DCM	الهوائي	الجزائر	<i>Salsola baryosma</i>
	1.08	EtOAc			
[22]	1.00	EtOAc	الهوائي	الجزائر	<i>Salsola baryosma</i>
	2.22	EtOAc			<i>Salsola vermiculata</i>
	1.20	EtOAc			<i>A. alopecuroide</i>
[30]	20	80% MeOH	الهوائي	مصر	<i>Salsola vermiculata</i>
[130]	0.64	70% EtOH	الهوائي	مصر	<i>Salsola imbricata</i>
	2.60	MeOH			
	0.93	EtOAc			
	4.00	Acetone			

بمقارنة النتائج المتحصل عليها في دراستنا (الجدول 3.III) مع نتائج بعض الدراسات السابقة (الجدول 4.III) حول التقدير الكمي لمتعددات الفينول للنباتات المدروسة ولنباتات أخرى من نفس العائلة لاحظنا أن نتائجنا تتوافق مع دراسة خشبة وآخرون (2014) على الجزء الهوائي لنبات *Salsola baryosma* حيث تحصلت على قيم متقاربة مع القيم الخاصة بدراستنا [23]، بينما وعلى النقيض تحصلت التهامي وآخرون على قيم TPC أعلى (19.80 mg GAE/g DW) في المستخلص الميثانولي لنبات *S. vermiculata* [30]. فيما وجد جريدان وآخرون محتوى أقل لمستخلص خلاص الإيثيل لنبات *A. alopecuroide* [23].

يظهر التحليل الإحصائي ANOVA (الجدول 3.III) أن هناك فرقاً ذا دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية $p < 0.5$ في نتائج القياس الكمي لمتعددات الفينول بسبب عاملين رئيسيين؛ قطبية المذيب المستعمل في الاستخلاص وكذا فترة الجني أو القطف.

بدءاً بالعامل الأول الذي يوضح العلاقة بين قطبية المذيب و TPC، قامت شهاب وآخرون (2014) بدراسة تأثير نوع المذيب على المحتوى الكلي لمتعددات الفينول TPC لنبات *S. imbricata*، ودلت النتائج المتحصل عليها على وجود اختلافات ذات دلالة إحصائية في قيم TPC بين المذيبات المدروسة تعود هذه

الاختلافات إلى ارتفاع قطبية المذيب [130]. تتوافق هذه النتائج مع النتائج المتحصل عليها في دراسة عثموني وآخرون (2015) والتي أظهرت وجود فروق ذات دلالة احصائية عند مستوى احتمالية $P < 0.001$ في المحتوى الفينولي لأوراق *Thapsia garganica* بين الأنواع الأربعة من المذيبات المستعملة (الهكسان، خلات الإيثيل، الميثانول والماء) [141].

يتعلق العامل الثاني بفترة الحصاد، وتتوافق نتائجنا مع عدة دراسات سابقة تبين أن التباين في TPC يرتبط ارتباطاً وثيقاً بوقت الحصاد، أي مرحلة نضج كل نبات [142-146].

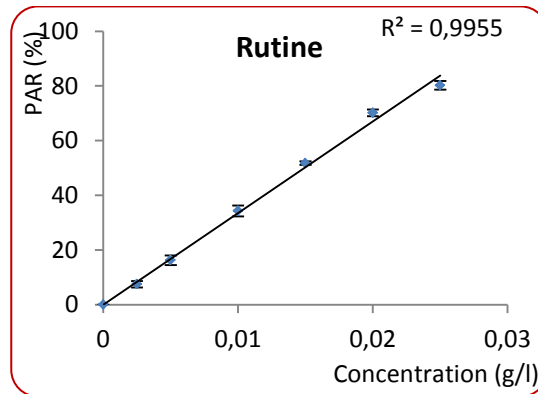
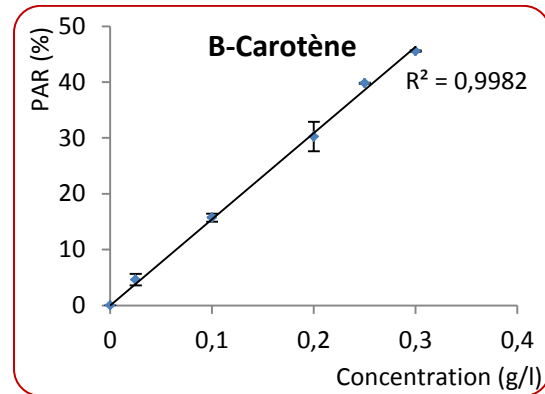
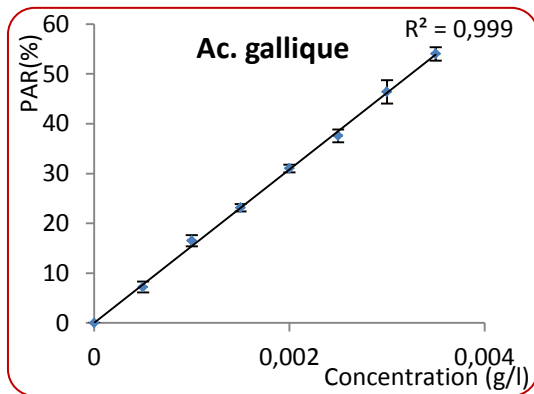
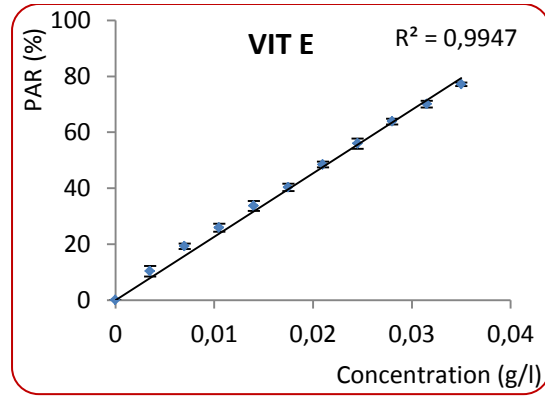
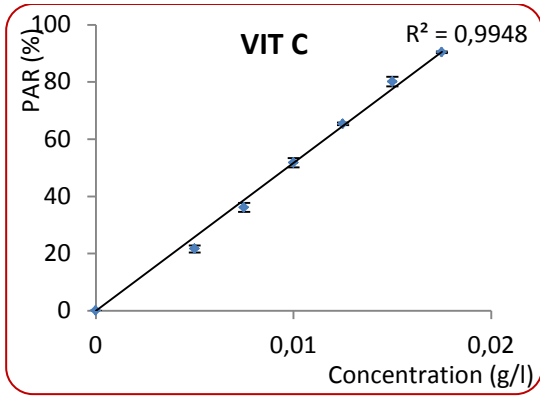
كحوصلة لنتائج المتحصل عليها في دراستنا ولنتائج السابقة يمكن القول ان كمية المركبات الفينولية تتأثر بعدة عوامل داخلية ؛ كمرحلة التطور، النشاط الأيضي للنبات ونوع المركبات الموجودة وعوامل خارجية كنوع المذيب المستعمل، مدة الاستخلاص، درجة الحرارة ...

4.III. النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات النباتات المدروسة بثلاث طرق كيميائية مختلفة المبدأ؛ اختبار ازاحة جذر DPPH، اختبار ارجاع أيونات النحاس CUPRAC واختبار القدرة على مخلبة أيونات الحديد الثنائية.

1.4.III. اختبار ازاحة جذر DPPH

من أجل تقدير نشاط المستخلصات لإزاحة جذر DPPH تم استعمال عدة تراكيز من كل مستخلص وكذا الشواهد. تسمح النتائج المتحصل عليها برسم المنحنيات البيانية الممثلة لتغير نسب الإزاحة بدلالة تركيز كل عينة (الشكل 4.III، الملحق 04) بالاستعانة بماته الرسوم البيانية يتم استخراج قيمة التركيز الفعال النصفي EC_{50} لكل عينة. تعبر هذه القيمة عن تركيز المستخلص اللازم لإزاحة 50% من الكمية الابتدائية لجذر DPPH. يوضح الجدول (5.III) القيم المتحصل عليها.



الشكل 4.III: منحنيات التأثير الإزاحي للشواهد على جذر الـ DPPH

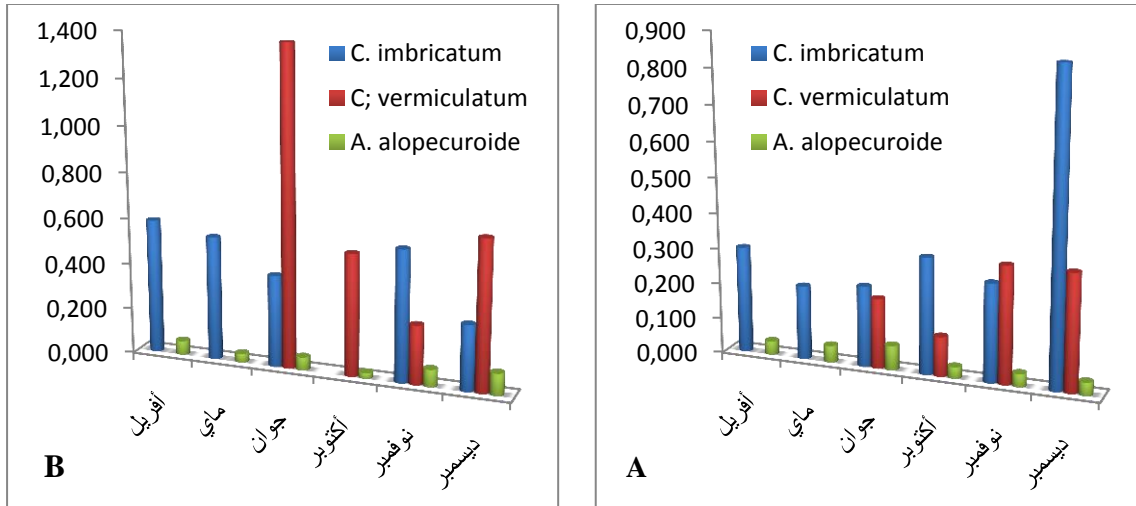
الجدول 5.III: فعالية المستخلصات في إزاحة جذر الـ DPPH

قيم EC_{50} (g/L)	الشواهد	قيم EC_{50} (g/L)	العينة	قيم EC_{50} (g/L)	العينة	قيم EC_{50} (g/L)	العينة
0.002±0.000	حمض الغاليك	0.197±0.0005 ⁱ	CvAJ	0.301±0.021 ^{kl}	CiAA	0.038±0.001 ^c	AaAA
0.008±0.000	الروتين	0.112±0.005 ^h	CvAO	0.209±0.003 ^{ij}	CiAM	0.047±0.001 ^d	AaAM
0.162±0.002	β-كاروتين	0.328±0.011 ^{klm}	CvAN	0.228±0.004 ^{ijk}	CiAJ	0.069±0.001 ^f	AaAJ
0.011±0.000	فيتامين هـ	0.328±0.001 ^{klm}	CvAD	0.328±0.021 ^{klm}	CiAO	0.032±0.001 ^b	AaAO
0.005±0.000	فيتامين ج	1.380±0.023 ^o	CvBJ	0.276±0.006 ^{jkl}	CiAN	0.037±0.001 ^c	AaAN
		0.531±0.033 ^{mno}	CvBO	0.863±0.058 ^{no}	CiAD	0.037±0.001 ^c	AaAD
		0.257±0.003 ^{ijk}	CvBN	0.588±0.013 ^{mno}	CiBA	0.061±0.003 ^e	AaBA
		0.652±0.013 ^{no}	CvBD	0.540±0.003 ^{mno}	CiBM	0.038±0.001 ^c	AaBM
				0.401±0.003 ^{lmn}	CiBJ	0.058±0.003 ^e	AaBJ
				0.573±0.004 ^{mno}	CiBN	0.024±0.001 ^a	AaBO
				0.286±0.008 ^{jkl}	CiBD	0.076±0.000 ^f	AaBN
						0.096±0.002 ^g	AaBD

تشير الأحرف المختلفة في كل عمود على وجود فروق دالة احصائيا حسب اختبار بيرسون في تحليل ANOVA
القيم المدونة تعبر عن المتوسط ± الانحراف المعياري

تتناسب قيم EC_{50} عكسا مع الفعالية المضادة للأكسدة فتزداد الفعالية مع انخفاض قيمة EC_{50} حيث يملك المستخلص AaBO أعلى قدرة على إزاحة جذر DPPH بأدنى قيمة $EC_{50}=0.024±0.001$ ، من جهة أخرى فإن ارتفاع قيمة EC_{50} يعبر عن انخفاض النشاط فنجد أن مستخلص CvBJ، أقل نشاطا في اختبار إزاحة جذر DPPH بأعلى قيمة للـ EC_{50} ($1.380±0.023$).

لتسهيل المقارنة تم تمثيل القيم المتحصل عليها في شكل أعمدة بيانية (الشكل 5.III)



الشكل III.5: أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B)

في إزاحة جذر الـ DPPH

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ أن مستخلصات خلاص الإيثيل أكثر نشاطا من المستخلصات البيتانولية لأغلب العينات، كما نلاحظ وجود اختلاف في النشاط حسب زمن القطف حيث أظهرت العينات المقطوفة شهر ديسمبر أقل نشاطا مقارنة بالأشهر الأخرى بالنسبة للنباتات الثلاث المدروسة. نلاحظ كذلك من خلال النتائج أن جميع مستخلصات نبات *A. alopecuroide* أكثر نشاطا من المركب β -كاروتين (من 1.5 إلى 6.5 مرة) وذات نشاط قريب من الفيتامين هـ.

بمقارنة النتائج المتحصل عليها في دراستنا مع نتائج دراسات أخرى على نفس النباتات ونباتات أخرى من نفس العائلة فقد قام أحمد وآخرون (2006) بدراسة فعالية عدة مستخلصات (الهكسان، خلاص الإيثيل، الإيثانول والبيتانول) لنبات *S. baryosma* من باكستان على إزاحة جذر DPPH حيث أعطى تركيز 200مكروغرام/مل من مستخلص خلاص الإيثيل تثبيط قدره 73% لجذر DPPH فيما أعطت المستخلصات الأخرى نسبة تثبيط أقل من 57% وهذه القيم أقل من المتحصل عليها في دراستنا [27]. في نفس السياق نجد أن مستخلصاتنا أكثر نشاطا من مستخلصات نبات آخر من عائلة *Chenopodiaceae* جنس *Anabasis* حيث أعطى مستخلص خلاص الإيثيل نشاطا ضعيفا $EC_{50}=0.27g/L$ في دراسة أبو الفضل وآخرون [147]، كما تحصل بن حمو وآخرون (2013) في دراسة أخرى على قيم $EC_{50}=1.76g/L$ و $EC_{50}=1.44g/L$ لمستخلص البيتانول وخلاص الإيثيل على الترتيب لنبات *Anabasis articulata* [148].

من ناحية أخرى، فقد أظهرت مستخلصات ثنائي كلور الميثان DCM وخلات الإيثيل EtOAc لنبات *S. baryosma* في دراسة خشبة وآخرون نشاطا عاليا حيث قدرت قيمة EC_{50} بـ $0.27\mu\text{g/mL}$ و $0.45\mu\text{g/mL}$ على التوالي [22].

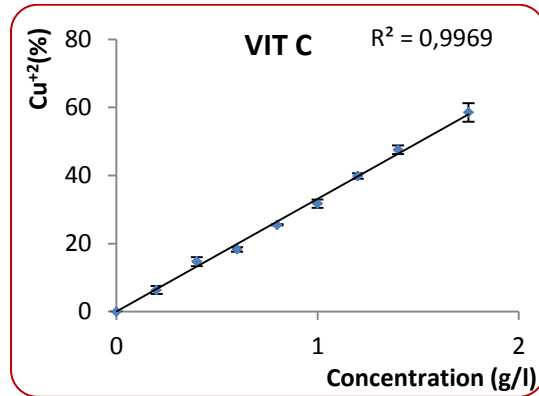
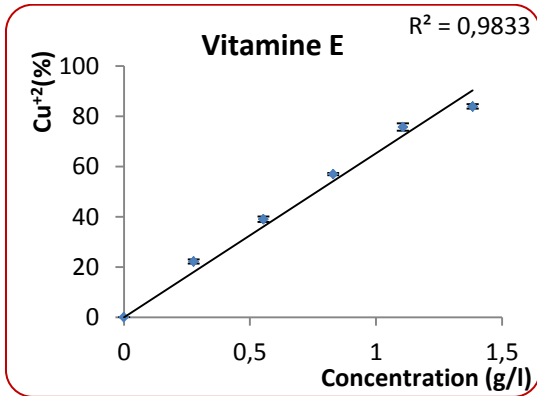
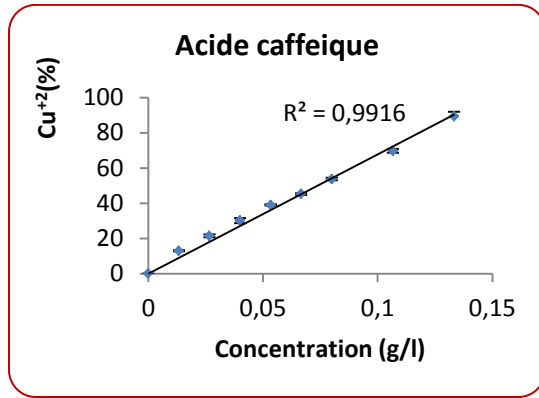
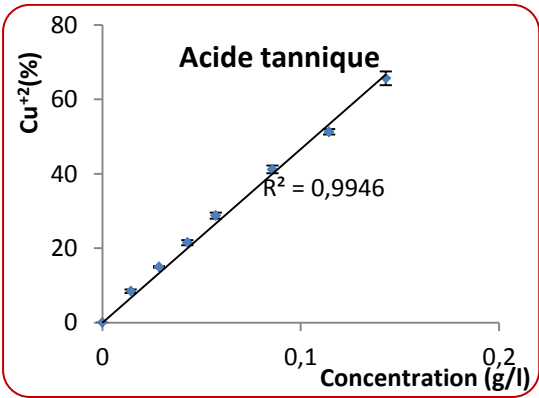
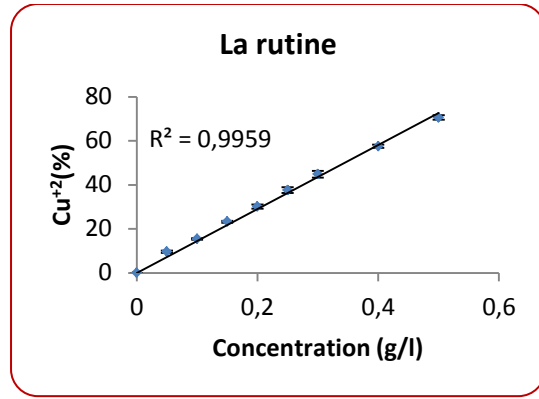
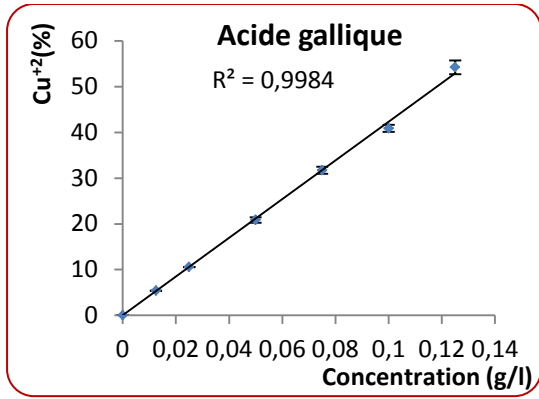
يمكن تفسير الاختلافات التي لوحظت في النشاط المضاد للجذور من خلال الاختلافات في محتوياتها الفينولية. عادةً ما تؤدي المحتويات الأعلى من الفينولات إلى أقوى نشاط مضاد للجذور [149، 150].

فيما يخص الشواهد المستعملة في دراستنا فقد اظهر كل من حمض الغاليك ومركب الروتين، بقدرة عالية على ازاحة جذر DPPH حيث قدرت قيمة EC_{50} بـ 0.002g/L و 0.008g/L على التوالي. يمكن تفسير ذلك من خلال وجود مجموعة الهيدروكسيل في الموضع مقابل (para) مع المجموعة الكبروكسيلية ما يعزز من قدرة المركب على إزاحة الجذور علما أن مثيلة هذه المجموعات تقلل من نشاط الكسح [151].

انطلاقا من جملة النتائج المتحصل عليها ومن أجل الحصول على أفضل مركبات ذات قدرة على إزاحة جذر DPPH أي قادرة على إعطاء بروتون، يمكن أن نوصي باستعمال محلول خلالات الإيثيل كمحلول استخلاص. كما يمكن أن نوصي بعملية القطف في فصل الربيع بالنسبة لنبات *C. imbricatum* وفي فصل الخريف بالنسبة للنبتين *C. vermiculatum* و *A. alopecuroide*.

III.2.4. اختبار إرجاع أيونات النحاس الثنائية CUPRAC

توفر النباتات أيضاً العديد من المركبات التي تتمتع بنشاط فعال لإرجاع الأيونات المعدنية مثل النحاس والحديد [152]، والذان يمكن أن يكونا في الحالة الحرة مصدرا لإنتاج الجذور الحرة [153]. لذلك، تم تقييم القوة الرجعية لمستخلصاتنا في المختبر بواسطة اختبار إرجاع أيونات النحاس الثنائية (CUPRAC). وهو اختبار بسيط وسريع وقابل للتكرار [154]. باستعمال المنحنيات الممثلة لتغير النشاط الإرجاعي لأيونات النحاس الثنائية بدلالة تركيز الشواهد والمستخلصات (الشكل III.6، الملحق 05) تم حساب التركيز الفعال النصفية EC_{50} . تم عرض النتائج المتحصل عليها في الجدول III.6.



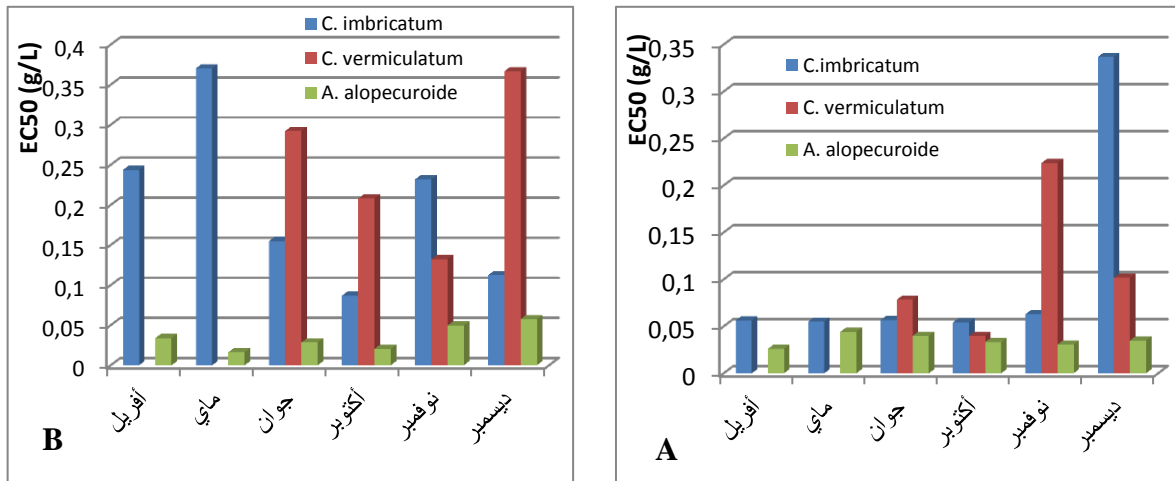
الشكل III.6: منحنيات النشاط الارجاعى لأيونات النحاس الثنائية للشواهد

الجدول 6.III: فعالية المستخلصات في إرجاع أيونات النحاس الثنائية

قيم EC_{50} (g/L)	الشواهد	قيم EC_{50} (g/L)	العينة	قيم EC_{50} (g/L)	العينة	قيم EC_{50} (g/L)	العينة
0.005±0.000	حمض الغاليك	0.078±0.001 ^k	CvAJ	0.056±0.002 ^{ij}	CiAA	0.026±0.002 ^c	AaAA
0.003±0.000	حمض الكافيك	0.040±0.001 ^g	CvAO	0.055±0.000 ^{ij}	CiAM	0.044±0.001 ^{gh}	AaAM
0.004±0.000	حمض التانيك	0.224±0.031 ^{op}	CvAN	0.057±0.001 ^{ij}	CiAJ	0.040±0.003 ^g	AaAJ
0.013±0.000	الروتين	0.102±0.001 ^{lm}	CvAD	0.054±0.001 ^{ij}	CiAO	0.033±0.002 ^{ef}	AaAO
0.029±0.000	فيتامين هـ	0.292±0.003 ^p	CvBJ	0.063±0.002 ^j	CiAN	0.030±0.001 ^{de}	AaAN
0.058±0.001	فيتامين ج	0.208±0.009 ^{op}	CvBO	0.337±0.007 ^p	CiAD	0.034±0.00 ^f	AaAD
		0.132±0.004 ^{mm}	CvBN	0.243±0.003 ^{op}	CiBA	0.034±0.001 ^f	AaBA
		0.367±0.008 ^p	CvBD	0.370±0.012 ^p	CiBM	0.016±0.000 ^a	AaBM
				0.155±0.003 ^{no}	CiBJ	0.028±0.001 ^d	AaBJ
				0.087±0.001 ^{kl}	CiBO	0.020±0.000 ^b	AaBO
				0.232±0.002 ^{op}	CiBN	0.049±0.001 ^{hi}	AaBN
				0.112±0.005 ^{mm}	CiBD	0.057±0.001 ^j	AaBD

تشير الأحرف المختلفة في كل عمود على وجود فروق دالة احصائيا حسب اختبار بيرسون في تحليل ANOVA
القيم المدونة تعبر عن المتوسط± الانحراف المعياري

لتسهيل المقارنة تم تمثيل القيم المتحصل عليها في شكل أعمدة بيانية (الشكل 7.III)



الشكل 7.III: أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B)

في إرجاع أيونات النحاس الثنائية

فيما يخص اختبار القدرة على ارجاع أيونات النحاس الثنائية Cu^{+2} فقد اختلفت النتائج بين المستخلصات النباتية المدروسة حيث تراوحت قيم EC_{50} بين 0.016g/L إلى 0.370g/L. بالمقارنة بين النباتات الثلاث نجد أن مستخلصات *A. alopecuroide* الأكثر نشاطا تليها مستخلصات *C. imbricatum* ثم مستخلصات *C.vermiculatum*. أما بالمقارنة حسب نوع المستخلص فقد أظهرت مستخلصات البيتانول لنبات *A. alopecuroide* نشاطا عاليا مقارنة بمستخلصات خللات الإيثيل لنفس النبتة على عكس النباتان الآخران من جنس *Caroxylon* الذان تميزا بنشاط عالي لمستخلصات خللات الإيثيل مقارنة بالمستخلصات البيتانولية.

عند مقارنة النتائج مع نشاط المركبات المرجعية نجد أن جميع مستخلصات *A. alopecuroide* تملك نشاطا اختزاليا أعلى من الفيتامين ج، ومماثلة للفيتامين هـ، ولكنها أقل من باقي المركبات الفينولية المرجعية (حمض الغاليك وحمض الكافيك، حمض التانيك والروتين).

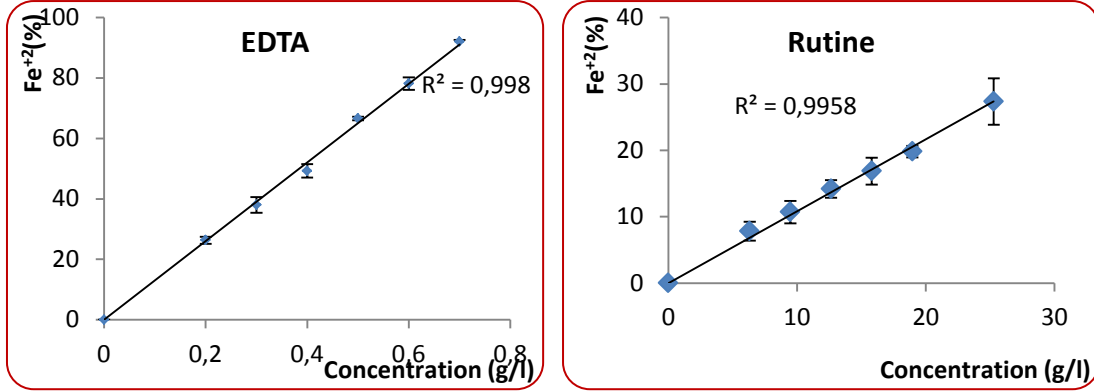
تؤكد عدة دراسات وجود علاقة طردية بين كمية المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة [155]- [157] وهذا ما يتوافق مع ما لاحظناه حيث قدم المستخلص AaBO والمميز بكمية كبيرة من الفينولات (15.98mgGAE/gDW)، قدم نشاطا عاليا مع $EC_{50}=0.020g/L$ (الجدول 3.III)، إلا أننا لاحظنا من جهة أخرى أن المستخلص CiBM والذي يتميز بأعلى كمية من الفينولات قد أظهر أقل نشاطا اختزاليا مقارنة بمستخلصات نفس النبتة ($EC_{50}=0.370g/L$).

يمكن تفسير العلاقة بين النشاط المضاد للأكسدة والمحتوى من الفينولات الكلية بعدة طرق؛ ففي الحقيقة فإن وجود العديد من المركبات ذات النشاط المضاد للأكسدة في خليط واحد لا يعني بالضرورة وجود فعل تآزري بين هذه المركبات مما يجعل نشاط مضادات الأكسدة لا يعتمد فقط على التركيز، ولكن أيضاً على البنية والتفاعل بين مضادات الأكسدة [158،159]. فعلى سبيل المثال، نجد أن غالبية مستخلصات خللات الإيثيل أكثر نشاطاً من المستخلصات البيوتانولية على الرغم من احتوائها على مركبات فينولية أقل. ومن هذه الحقيقة، يمكننا القول أن القدرة الإرجاعية لهذه المستخلصات النباتية يمكن أن ترجع بشكل رئيسي إلى وجود جزيئات معينة في تركيبها مسؤولة عن نشاطها.

III.4.3. اختبار مخلبة أيونات الحديد الثنائية

تم كذلك اجراء اختبار نشاط مخلبة المعادن باستخدام أيونات Fe^{+2} ككاشف. تسمح النتائج برسم المنحنيات الممثلة لتغير نسبة الحديد المخلبة بدلالة تركيز كل شاهد ومستخلص (الشكل 8.III، الملحق 06).

من خلال هذه المنحنيات يمكننا حساب قيمة التركيز النصفى الفعال EC_{50} . تم تسجيل النتائج في الجدول 7.III.



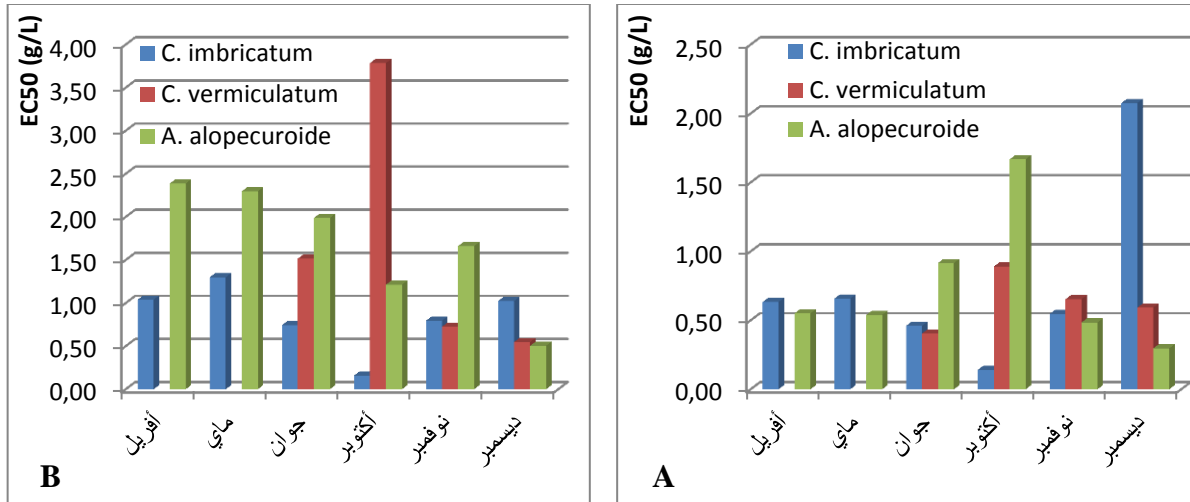
الشكل 8.III: منحنيات نشاط استخلاص أيونات الحديد الثنائية Fe^{+2} للشواهد

الجدول 7.III: فعالية المستخلصات في مخلبة أيونات الحديد الثنائية

العينة	قيم EC_{50} (g/L)	العينة	قيم EC_{50} (g/L)	العينة	قيم EC_{50} (g/L)
AaAA	0.550 ± 0.037^{efgh}	CiAA	0.633 ± 0.006^{ghi}	CvAJ	0.404 ± 0.022^d
AaAM	0.539 ± 0.009^{efgh}	CiAM	0.658 ± 0.027^{hij}	CvAO	0.890 ± 0.017^{jklm}
AaAJ	0.915 ± 0.002^{jklmn}	CiAJ	0.460 ± 0.010^{de}	CvAN	0.653 ± 0.011^{hij}
AaAO	1.668 ± 0.015^{opq}	CiAO	0.141 ± 0.009^a	CvAD	0.593 ± 0.005^{eghi}
AaAN	0.485 ± 0.009^{def}	CiAN	0.546 ± 0.012^{efgh}	CvBJ	1.515 ± 0.015^{nopq}
AaAD	0.296 ± 0.008^c	CiAD	2.076 ± 0.014^{pq}	CvBO	3.785 ± 0.250^q
AaBA	2.491 ± 0.089^{pq}	CiBA	1.040 ± 0.041^{klmno}	CvBN	0.726 ± 0.031^{ijk}
AaBM	2.297 ± 0.025^{pq}	CiBM	1.300 ± 0.011^{mnop}	CvBD	0.547 ± 0.004^{efgh}
AaBJ	1.988 ± 0.044^{pq}	CiBJ	0.743 ± 0.018^{ijk}		
AaBO	1.213 ± 0.024^{lmnop}	CiBO	0.158 ± 0.014^b	الشواهد	قيم EC_{50} (g/L)
AaBN	1.661 ± 0.016^{opq}	CiBN	0.795 ± 0.020^{ijkl}	الروتين	2.046 ± 0.092
AaBD	0.505 ± 0.001^{efg}	CiBD	1.024 ± 0.020^{klmno}	EDTA	0.016 ± 0.000

تشير الأحرف المختلفة في كل عمود على وجود فروق دالة احصائيا حسب اختبار بيرسون في تحليل ANOVA
القيم المدونة تعبر عن المتوسط \pm الانحراف المعياري

لتسهيل المقارنة تم تمثيل القيم المتحصل عليها في شكل أعمدة بيانية (الشكل 9.III)



الشكل 9.III: أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاص الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B)

في مخلبة أيونات الحديد الثنائية

من خلال النتائج الموضحة في الجدول أعلاه، تمتلك جميع المستخلصات المدروسة القدرة على مخلبة أيونات الحديد الثنائية حيث تراوحت قيم EC_{50} بين 0.141g/L و 3.785g/L ومن الواضح أن غالبية هذه القيم تعبر على نشاط أعلى من نشاط الروتين ($EC_{50} = 2.046g/L$)، إلا أنها تعبر أيضا على نشاط أقل بكثير من نشاط مركب EDTA ($EC_{50} = 0.016g/L$). تم تسجيل أعلى نشاط لمستخلص CiAO بينما تم تسجيل أدنى قيمة للمستخلص CvBO.

بسبب قلة الدراسات حول نشاط المخلبة للنباتات قيد الدراسة تمت المقارنة بين النتائج المتحصل عليها

ونائج بعض النباتات الأخرى التي تنتمي لنفس العائلة (الجدول 8.III)

الجدول 8.III : نتائج مخلبة أيونات الحديد حسب الدراسات السابقة

المرجع	$EC_{50}(g/L)$	الجزء المستعمل	زمن القطف	المذيب	النبته
[144]	5,85	الاوراق	أوت	الميثانول	<i>Salsola kali</i>
	8,33	السيقان			
	6,15	الجدور	أفريل		
[160]	10<	الهوائي		هكسان	<i>Salsola cyclophylla</i>
	10<			كلوروفورم	
	10			خلات الإيثيل	
	<10			هيدروإيثانول	

حسب النتائج الموضحة في الجدول السابق فقد قام بولعبة وآخرون (2019) بدراسة حول النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الميثانولية لأوراق، سيقان وجذور نبات *Salsola kali* حيث قدرت قيم EC_{50} المتحصل عليها بـ 5.85g/L للأوراق، 8.33g/L للسيقان و 6.15g/L للجذور، تعكس هذه القيم نشاطاً أقل بكثير من نشاط مختلف مستخلصاتنا [144]. نجد أيضاً في دراسة أخرى حول النشاط المضاد للأكسدة لعدة مستخلصات (الهكسان، الكلوروفورم، خلات الإيثيل ومزيج هيدروإيثانول (70%)) لنبات *Salsola cyclophylla* من بينها قياس القدرة على مخلبة أيونات النحاس الثنائية والتي أظهرت نتائجه نشاطاً ضعيفاً مقارنة بمستخلصاتنا حيث كانت قيم EC_{50} المتحصل عليها أكبر من 10g/L. نفس الدراسة أكدت النشاط المرتفع لمستخلص خلات الإيثيل مقارنة بباقي المستخلصات وقد أعزى الباحث هذا النشاط لتواجد القلويدات والفلافونويدات في هذا المستخلص [160]. تؤكد عدة دراسات على الدور المهم للقلويدات في مخلبة الأيونات المعدنية بفضل تركيبها الكيميائي الخاص [161،162].

انطلاقاً من النتائج المتحصل عليها، يمكن أن نوصي باستعمال خلات الإيثيل كمحلول لاستخلاص المركبات ذات أفضل قدرة على مخلبة الأيونات. كما نوصي بإجراء عملية جمع العينات في الخريف بالنسبة لنبتي *C. imbricatum* و *A. alopecuroide* وفي الربيع بالنسبة لنبات *C. vermiculatum*.

تجدر الإشارة إلى أن اختيار كل من اختبار CUPRAC واختبار قياس القدرة على مخلبة الحديد لم يكن عشوائياً. إذ يعد كل من النحاس والحديد ضروريين للحياة على الرغم من أنهما ينتميان إلى معادن الانتقالية التي تتميز بقدرتها القوية على الأكسدة [163،164]. كما يمكنهم أيضاً المشاركة في تفاعل فنتون الذي ينتج عنه المزيد من الجذور الحرة. ولذلك، فإن المستخلص من النبات الطبيعي يمكن أن يساعد في منع هذه المشاكل عن طريق دمج هذا النبات في الغذاء الغذائي.

من خلال نتائج الاختبارات الثلاث المستعملة لقياس النشاط المضاد للأكسدة للنبات *C. imbricatum*، *A. alopecuroide* و *C. vermiculatum* يمكن أن نخلص لجملة من النقاط أهمها أن النشاط المضاد للأكسدة يتأثر بعدة عوامل؛ فمن خلال التحليل الإحصائي ANOVA للقيم المتحصل عليها فقد لوحظ وجود اختلافات ذات دلالة معنوية عند مستوى الدلالة ($p < 5\%$) للنشاط المضاد للأكسدة للعينات المدروسة تبعا لثلاث متغيرات أساسية؛ وهي نوع النبات، نوع المذيب المستعمل في الاستخلاص وزمن القطف. وقد أثبتت عدة دراسات سابقة أن تكوين النباتات يختلف باختلاف العوامل مثل: المناخ، اختلاف هطول

الأمطار، التربة، الصنف، عمر الأوراق [165-168]. تؤثر هذه العوامل على النشاط الأيضي للنبات مؤدية إلى تغير كمية ونوع مركبات الأيض الثانوي المنتجة من طرف النبات الذي يؤثر بدوره على النشاط المضاد للأوكسدة. يمكن تفسير هذه العلاقة باحتواء المستخلص على عدد كبير من المركبات ذات بني كيميائية مختلفة يتدخل بعضها فقط في نشاط النبتة كما يمكن أن تتفاعل مع بعضها فينشأ بينها إما فعل تآزري يؤدي إلى رفع النشاط أو العكس [169].

III.5. النشاط المضاد للسكري للمستخلصات

يوصى الخبراء حاليا بعلاج الأمراض بما فيها السكري باستخدام النباتات الطبية [170] والتي يُعتبر العديد منها مصدرًا أساسيًا للأدوية القوية المضادة لمرض السكري [171]. تحتوي هذه النباتات على مواد فيتوكيميائية مختلفة مثل الفلافونويدات، التربينويدات، الصابونينات، الكاروتينات، القلويدات والجليكوزيدات التي تمتلك أنشطة مضادة للسكري [172، 173].

يعد كل من إنزيم α -أميلاز وإنزيم α -غليكوزيداز من أهم إنزيمات التحلل المائي للكربوهيدرات في الجسم، حيث يعمل إنزيم α -أميلاز على تحليل السكر المعقد "النشاء" إلى دكسرينات والسكر الثنائي "المالتوز"، هذا الأخير يتحلل بفضل إنزيم α -غليكوزيداز إلى وحدات من السكر البسيط "الجلوكوز". نشاط هاذين الإنزيمين يمكن أن يؤدي ارتفاع مستوى السكر في الدم في غياب أو نقصان الأنسولين، ما يعتبر خطرا على مرضى السكري [174]. تشير الأبحاث الحديثة إلى قدرة مركبات الأيض الثانوي التي تصنعها النباتات على تثبيط عمل إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز، مما يحسن من عملية التحكم في مستويات السكر في الدم وتقليل خطر الإصابة بمرض السكري والأمراض المرتبطة به مثل مقاومة الأنسولين [175-177].

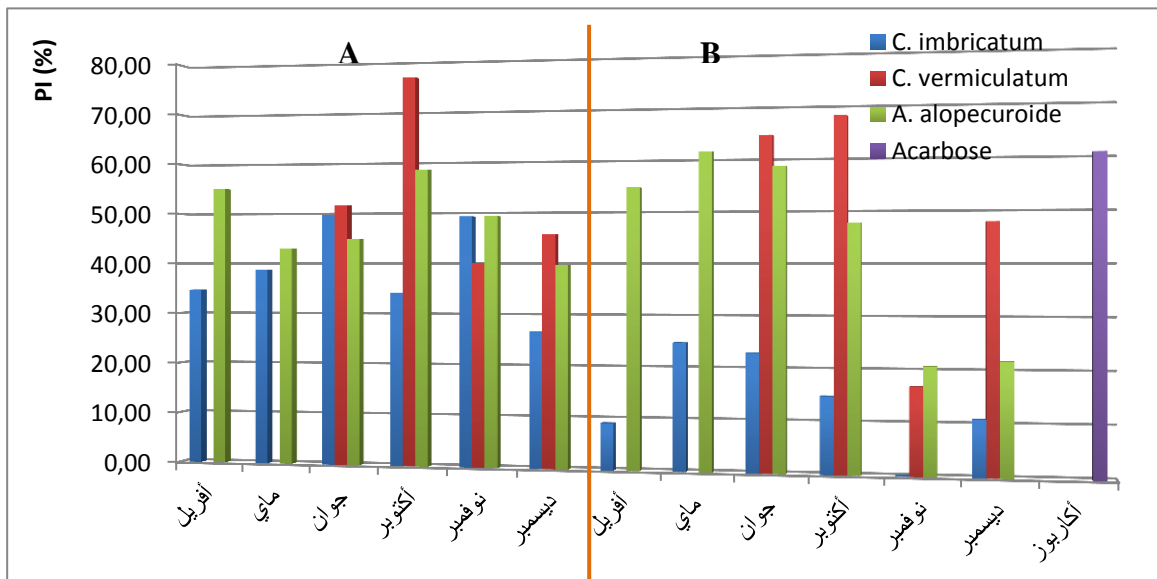
تم في هذه الدراسة تقييم قدرة المستخلصات على تثبيط انزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز وتم التعبير عن هذه القدرة بنسبة التثبيط (PI(%)) لكل 1g/L من المستخلص. الجدول 9.III والجدول 10.III يضمنان النتائج المتحصل عليها.

الجدول 9.III: قيم نسبة تثبيط إنزيم α -أميلاز للمستخلصات المدروسة والأكاربوز

العينة	قيم PI (%)	العينة	قيم PI (%)	العينة	قيم PI (%)
AaAA	78,33±1,39 ^{abcd}	CiAA	19,49±1,91 ^{lmn}	CvAJ	54,67±1,81 ^{fgh}
AaAM	32,37±1,55 ^{kl}	CiAM	39,58±1,19 ^{ij}	CvAO	75,62±0,69 ^{bcd}
AaAJ	65,36±1,69 ^{def}	CiAJ	21,83±1,93 ^{klmn}	CvAN	42,53±1,16 ^{hij}
AaAO	50,77±0,73 ^{ghi}	CiAO	31,28±1,81 ^{ijklm}	CvAD	52,31±1,66 ^{fghi}
AaAN	70,59±0,90 ^{cde}	CiAN	25,22±1,04 ^{klmn}	CvBJ	20,15±1,07 ^{lmn}
AaAD	58,25±0,85 ^{efg}	CiAD	17,25±1,10 ^{mno}	CvBO	35,05±1,21 ^{jk}
AaBA	89,18±1,59 ^{ab}	CiBA	16,73±1,30 ^{no}	CvBN	32,87±1,02 ^{kl}
AaBM	91,01±1,05 ^a	CiBM	3,56±0,22 ^o	CvBD	54,63±0,89 ^{fgh}
AaBJ	85,58±1,02 ^{ab}	CiBJ	14,36±0,20 ^{no}		
AaBO	83,70±1,34 ^{abc}	CiBO	3,39±0,34 ^o	الشواهد	
AaBN	69,73±1,45 ^{cde}	CiBN	22,39±1,81 ^{klmn}	أكاربوز	65,00±0,91
AaBD	77,22±1,14 ^{abcd}	CiBD	15,94±0,88 ^{no}		

تشير الأحرف المختلفة في كل عمود على وجود فروق دالة احصائيا حسب اختبار بيرسون في تحليل ANOVA
القيم المدونة تعبر عن المتوسط± الانحراف المعياري

لتسهيل المقارنة تم تمثيل القيم المتحصل عليها في شكل أعمدة بيانية (الشكل 10.III)



الشكل 10.III: أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلايا الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول (B) في تثبيط إنزيم α -أميلاز

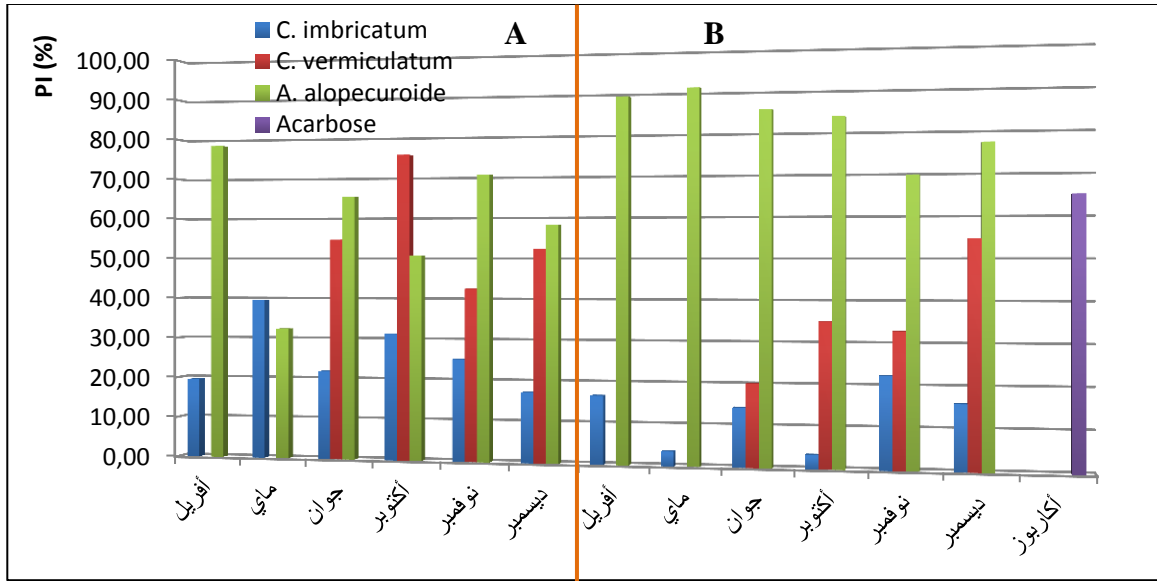
من خلال النتائج المدونة في الجدول 9.III نلاحظ أن جميع المستخلصات تقلل من نشاط إنزيم α -أميلاز حيث تراوحت قيم PI من $3.39 \pm 0.34\%$ إلى $91.01 \pm 1.05\%$ ، تميز مستخلص CiBO بأضعف نشاط، بينما تميز مستخلص AaBM بأقوى نشاط.

الجدول 10.III: قيم نسبة تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز للمستخلصات المدروسة والأكاربوز

قيم PI (%)	العينة	قيم PI (%)	العينة	قيم PI (%)	العينة
51.57 ± 1.86^{defg}	CvAJ	34.70 ± 1.31^{ij}	CiAA	54.96 ± 1.35^{cdef}	AaAA
76.70 ± 1.73^a	CvAO	38.74 ± 0.68^{hi}	CiAM	42.96 ± 0.44^{ghi}	AaAM
40.11 ± 1.31^{ghi}	CvAN	49.60 ± 0.05^{efgh}	CiAJ	44.91 ± 0.44^{fghi}	AaAJ
45.74 ± 0.21^{fghi}	CvAD	34.15 ± 1.13^{ijk}	CiAO	58.50 ± 0.35^{bcde}	AaAO
64.44 ± 0.48^{bc}	CvBJ	49.23 ± 1.19^{efgh}	CiAN	49.24 ± 1.45^{efgh}	AaAN
67.99 ± 1.03^{ab}	CvBO	26.72 ± 0.46^{jkl}	CiAD	39.66 ± 1.04^{hi}	AaAD
16.87 ± 1.48^{lmno}	CvBN	9.11 ± 1.74^{op}	CiBA	54.66 ± 1.61^{cdef}	AaBA
47.84 ± 1.36^{fgh}	CvBD	24.77 ± 1.14^{klm}	CiBM	61.42 ± 0.58^{bcd}	AaBM
		22.95 ± 0.46^{klm}	CiBJ	58.53 ± 1.28^{bcde}	AaBJ
قيم PI (%)	الشواهد	14.89 ± 0.40^{mno}	CiBO	47.69 ± 1.15^{efgh}	AaBO
60.66 ± 1.04	أكاربوز	0.16 ± 0.06^p	CiBN	20.70 ± 0.45^{lmno}	AaBN
		10.88 ± 1.07^{nop}	CiBD	21.70 ± 1.61^{lmn}	AaBD
تشير الأحرف المختلفة في كل عمود على وجود فروق دالة احصائيا حسب اختبار بيرسون في تحليل ANOVA					
القيم المدونة تعبر عن المتوسط \pm الانحراف المعياري					

من خلال النتائج المتحصل عليها من اختبار تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز (الجدول 10.III) فإن جميع المستخلصات الفينولية للنباتات لديها القدرة على تثبيط نشاط إنزيم α -غليكوزيداز بنسب تثبيط تراوحت بين $0.16 \pm 0.06\%$ و $76.70 \pm 1.73\%$.

لتسهيل المقارنة تم تمثيل القيم المتحصل عليها في شكل أعمدة بيانية (الشكل 11.III)



الشكل 11.III: أعمدة بيانية توضح فعالية مستخلصات خلاصات الإيثيل (A) ومستخلصات البيتانول

(B) في تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز

انطلاقاً من النتائج المدونة في الجدولين 9.III و 10.III والشكلين 10.III و 11.III نسجل بعض الملاحظات المشتركة بين نشاط المستخلصات التثبيطي للـ α -أميلاز ونشاطها التثبيطي للـ α -غليكوزيداز؛ من بينها، أن هناك اختلافاً في النشاط التثبيطي حسب المحلول المستعمل للاستخلاص، حيث نلاحظ أن مستخلصات خلاصات الإيثيل أظهرت أعلى نسب تثبيط مقارنة مع المستخلصات البيتانولية للنبتين من جنس *Caroxylon*. قد ترجع هذه النتيجة إلى أن محلول خلاصات الإيثيل قد سمح باستخلاص عدد كبير من المركبات الفينولية من مجموعات الجليكوسيدات التي تمتاز بوجود جزء سكري مرتبط بالفينولات، يسمح هذا الجزء للفينولات بالارتباط بالإنزيم للتشابه بينه وبين الركيزة ما يرفع احتمال تنافسهما على الموقع الفعال للإنزيم. كما يمكن أن يعزى نشاط مستخلص خلاصات الإيثيل لوجود الفلافونويدات والتي أثبتت دورها في تثبيط العديد من الإنزيمات من بينها α -غليكوزيداز [178]. ترتبط إمكانية تثبيط الفلافونويد بعدد مجموعات الهيدروكسيل في الدورة B. تعمل هذه المركبات على تثبيط α -أميلاز عن طريق تكوين روابط هيدروجينية بين مجموعات الهيدروكسيل وبقايا موقع الارتباط (النشط) لهذا الإنزيم [179].

من ناحية أخرى، أظهرت جميع مستخلصات خلاصات الإيثيل والبيتانول لنبات *A. alopecuroide* قدرة عالية على تثبيط كلا الإنزيمين. قد يعود نشاط المستخلص البيتانولي لقدرته على استخلاص مركبات ذات

بنى كيميائية عالية الوزن الجزيئي والقطبية مثل العفصيات التي تم إثبات فعاليتها في تثبيط إنزيم α -أميلاز [180]- [182].

بالنظر في نشاط كل نبات على حدى نجد أن جميع المستخلصات البيتانولية وبعض مستخلصات خللات الإيثيل لنبات *A. alopecuroide* قد أظهرت نشاطا أعلى من نشاط المركب المرجعي المستعمل للمقارنة وهو الأكاربوز الذي يعد أحد الأدوية الموصوفة لعلاج مرض السكري من النوع الثاني لقدرته الجيدة على تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز. بمقارنة النتائج المتحصل عليها مع دراسات أخرى نجد دراسة أمين وآخرون (2022) حول تقدير النشاط التثبيطي للمستخلصات الهيدروإيثانولية لبعض النباتات من العائلة الرمامية من بينها *A. alopecuroide* والتي تتوافق نتائجها مع نتائجنا، حيث أظهر المستخلص نشاطا مضادا للحلوكوزيداز أعلى بمقدار 1.5 مرة من الأكاربوز. كما أظهر نفس المستخلص نشاطا أقل بمرتين من الأكاربوز في تثبيط الأميلاز [183].

يظهر التحليل الإحصائي ANOVA أن هناك فروقا ذات دلالة إحصائية عند مستوى احتمالية $P < 0.5$ في نتائج تقييم قدرة المستخلصات على تثبيط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز يعود إلى تغير زمن جمع العينات حيث أظهر المستخلص البيتانولي AaBM فعالية عالية في تثبيط كلا الإنزيمين مقارنة بباقي مستخلصات نبات *A. alopecuroide*، كما أظهر مستخلص CiAM والمستخلص CiAJ أعلى نشاط في تثبيط إنزيم α -أميلاز وإنزيم α -غليكوزيداز على الترتيب مقارنة بباقي مستخلصات نبات *C. imbricatum*. من جهة أخرى سجل نبات *C. vermiculatum* أعلى نشاط تثبيطي للإنزيمين في مستخلص CvAO. يمكن تفسير هذا الاختلاف يتغير نوع وكمية المركبات المنتجة من طرف النبات حسب المرحلة العمرية والتطورية للنبات [184].

6.III. الدراسة الإحصائية

من أجل تقييم العلاقة بين المحتوى الإجمالي الفينولي للمستخلصات ونشاطاتها المضادة للأوكسدة والمضادة لمرض السكري تم حساب معامل بيرسون للارتباط (الجدول 11.III) حيث تمت دراسة الارتباط بين قيم المحتوى الإجمالي للفينولات (TPC) وقيم النشاط المضاد للجذور RAP ($RAP=1/EC_{50}$) المتحصل عليها من الاختبارات الثلاث؛ DPPH، CUPRAC، ومخلبة الحديد وكذا قيم نسب التثبيط PI المتحصل عليها من اختبارات تثبيط كل من α -أميلاز و α -غليكوزيداز.

الجدول 11.III: قيم معامل بيرسون للارتباط بين مختلف الاختبارات

المتغيرات	TPC	اختبار إزاحة DPPH	اختبار CUPRAC	اختبار استخلاص الحديد	النشاط التثبيطي لل-α غليكوزيداز	النشاط التثبيطي لل-α أميلاز
TPC	1					
اختبار إزاحة DPPH	0.6151**	1				
اختبار CUPRAC	0.6564**	0.8689**	1			
اختبار استخلاص الحديد	-0.2457	-0.1496	-0.0737	1		
النشاط التثبيطي لل-α غليكوزيداز	0.2259	0.3714**	0.4655*	-0.2170	1	
النشاط التثبيطي لل-α أميلاز	0.7215**	0.6936**	0.7561**	-0.2431	0.5267*	1

*: دال احصائيا عند مستوى دلالة 0.05
 **: دال احصائيا عند مستوى دلالة 0.01

أظهرت قيم الـ RAP لاختبار إزاحة جذر الـ DPPH واختبار إرجاع أيونات النحاس الـ CUPRAC ارتباطا جيدا ودالا احصائيا ($r=0.625$ ، $r=0.656$) مع المحتوى الكلي للفينولات، مما يعني أن المركبات الفينولية مسؤولة عن نسبة 62.5% و 65.6% من نشاط المستخلصات على إزاحة جذر الـ DPPH ونشاطها الإرجاع لأيونات النحاس الثنائية على الترتيب. بينما تعود النسبة المتبقية أي حوالي 35% من النشاط لمركبات أخرى غير فينولية. تتفق هذه النتائج مع نتائج بن حمو وآخرون (2013) الذي قام بدراسة العلاقة بين المحتوى الـ TPC والنشاط المضاد للأوكسدة لمستخلصات نبات *Salsola kali* الذي ينتمي لنفس العائلة الرمامية والتي خلُصت وجود علاقة جيدة بين المتغيرين [148]. يمكن تفسير هذه النتائج باحتواء النباتات الثلاث حسب المسح الفيتوكيميائي الحالي وحسب العديد من الدراسات الأخرى على مركبات غير فينولية مثل القلويدات، التربينات والصابونينات [187-185، 131] والتي تم إثبات قدرتها المضادة للأوكسدة [190-188].

من جهة أخرى تظهر النتائج وجود ارتباط عكسي ضعيف بين المحتوى الكلي للفينولات وقدرة المستخلصات على مخلبة أيونات الحديد الثنائية ($r=-0.149$) وهذا يدل على أن نشاط المستخلصات لا يتعلق فقط بالمركبات الفينولية بل يتعلق أيضا وأساسا بالمركبات الأخرى غير الفينولية التي قد تتواجد في المستخلص من أهمها القلويدات التي تنتشر بشكل كبير في النباتات المقاومة للملوحة [193-191] وفي النباتات الثلاث قيد الدراسة [126، 29]. تتميز القلويدات بتراكيب كيميائية تحتوي على مواقع محددة تسمح لها بالإرتباط بالأيونات

المعدنية كالحديد [194]. تتوافق هذه النتائج مع النتائج المتحصل عليها في دراسة بن صفي الدين وآخرون (2019) والتي أكدت وجود ارتباط ضعيف ($r=0.121$) بين المحتوى الفينولي ونشاط مخلبة الحديد لإثنا عشر (12) مستخلصا مختلفا لثلاث نباتات ينتمي بعضها للعائلة الرمرامية [195].

نلاحظ أيضا وجود ارتباط جيد ذو دلالة احصائية عند مستوى ($P<0.001$) نتائج اختبار ازاحة جذر DPPH واختبار ارجاع أيونات النحاس ($r=0.869$)، تدل هذه النتائج على أن 86.9% من مكونات المستخلص والقادرة على إعطاء بروتون في اختبار إزاحة جذر DPPH هي أيضا قادرة على منح إلكترون لإرجاع أيونات النحاس الثنائية. تتوافق هذه النتائج مع نتائج محي الدين وآخرون الذي وجد ارتباطا قويا ($r=0.728$) بين اختبار ازاحة DPPH واختبار ABTS [196]. كما تشير دراسة نواك (Nowak) وآخرون إلى وجود ارتباط ذا دلالة احصائية ($r=0.55$) بين اختبار إزاحة DPPH واختبار ارجاع الحديد FRAP [197].

يظهر كذلك من خلال النتائج أن هناك ارتباطا ضعيفا بين نتائج اختبار مخلبة أيونات الحديد ونتائج اختبائي إزاحة جذر DPPH وارجاع ايونات النحاس ($r=-0.15$ ، $r=0.074$ على الترتيب) وهذا قد يعود للفرق في المبدأ بين الإختبارات الثلاث، يقوم مضاد الأكسدة بمنح بروتون في اختبار إزاحة جذر DPPH ويقوم بمنح إلكترونات من أجل إرجاع أيونات النحاس بينما يقوم بإنشاء روابط مع الحديد دون تغيير حالته التأكسدية في اختبار المخلبة [198]. تتوافق هذه النتيجة مع عدة دراسات سابقة؛ حيث وجدت إحدى الدراسات ارتباطا ضعيفا بين اختبار DPPH واختبار المخلبة ($r=0.11$) [197].

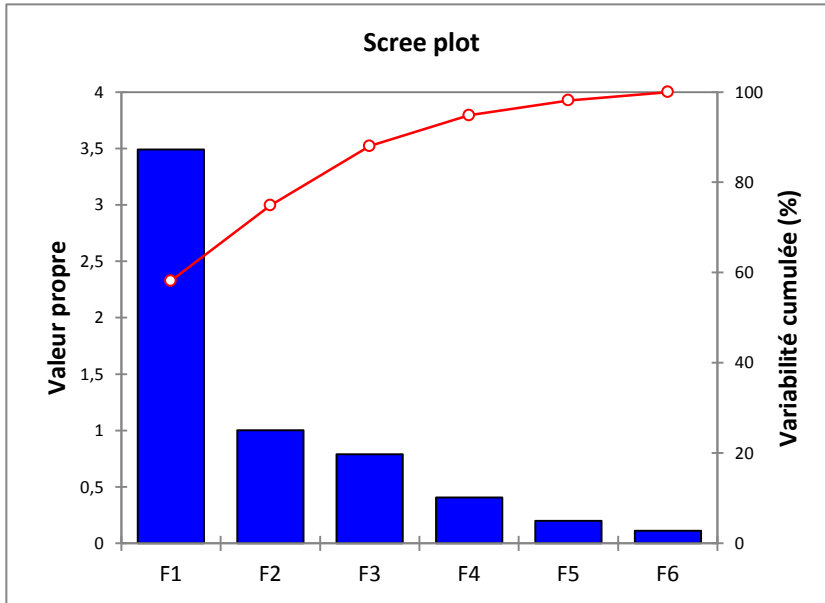
نستخلص من مجمل النتائج المتحصل عليها أن عملية تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية الطبيعية تحتاج لاستعمال عدة اختبارات فبعضها متشابه وبعضها متكامل.

تشير النتائج أيضا إلى وجود ارتباط قوي بين المحتوى الإجمالي للفينولات والنشاط المثبط لإنزيم α -أميلاز ($r=0.722$)، في حين أن هناك ارتباطا ضعيفا بين المحتوى الإجمالي للفينولات والنشاط المثبط للـ α -غليكوزيداز ($r=0.226$)، وهذا يعني أن 72.2% من النشاط المثبط للـ α -أميلاز يعود لمساهمة الفينولات وتتفق هذه النتائج مع عدة دراسات سابقة [199، 200]، بينما تساهم المركبات الفينولية بنسبة 22.6% في نشاط المستخلصات ضد إنزيم α -غليكوزيداز. قد تعود النسبة المتبقية 77.4% إلى مركبات ذات طبيعة غير فينولية تتواجد في المستخلصات مثل القلويدات والتربينات وهي مثبطات جيدة حسب الدراسات السابقة [201-201].

[203]. بالإضافة إلى ذلك، تشير النتائج إلى وجود ارتباط قوي بين كل من اختبار إزاحة جذر الـ DPPH واختبار تثبيط انزيم α -أميلاز ($r=0.694$) وكذا بين اختبار إرجاع أيونات النحاس واختبار تثبيط انزيم α -أميلاز ($r=0.756$)، في حين هناك ارتباط متوسط وعكسي بين اختبار مخلبة الحديد واختبار تثبيط α -أميلاز ($r=-0.2431$).

بهدف تحديد العوامل الأساسية التي تساهم في مختلف النشاطات البيولوجية للمستخلصات وفقا للمتغيرات الثلاث؛ العينة المدروسة (نوع النبات، مذيب الاستخلاص وزمن القطف)، الطرق المستعملة لتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للسكري وكذا المحتوى الإجمالي للفينولات قمنا بإجراء تحليل إحصائي للمكونات (العناصر) الرئيسية (PCA) انطلاقا من مصفوفة بيانات تربط 32 عينة 6×6 اختبارات مختلفة. يتم التعبير عن النشاط المضاد للأكسدة بالفاعلية المضادة للجذور ARP في الاختبارات الثلاث DPPH، CUPRAC ومخلبة الحديد، ويعبر عن النشاط المضاد للسكري بالنسبة المئوية PI.

سمح التحليل الإحصائي للمكونات الرئيسية بتقليص 74.89% (نسبة أكبر من 60%) من متغيرات مصفوفة البيانات في شكل عنصرين رئيسيين PC_1 و PC_2 (الشكل 12.III).



الشكل 12.III : تمثيل المتغيرات حسب التحليل الإحصائي PCA

يعبر العنصر الرئيسي الأول عن نسبة 58.17% من المعلومات الكلية، بينما يعبر العنصر الرئيسي الثاني عن نسبة 16.72% من المعلومات الكلية. يبين الجدول 12.III توزيع الإختبارات الستة المدروسة على العنصرين الرئيسيين.

الجدول 12.III: نسب الارتباط بين المتغيرات والعوامل

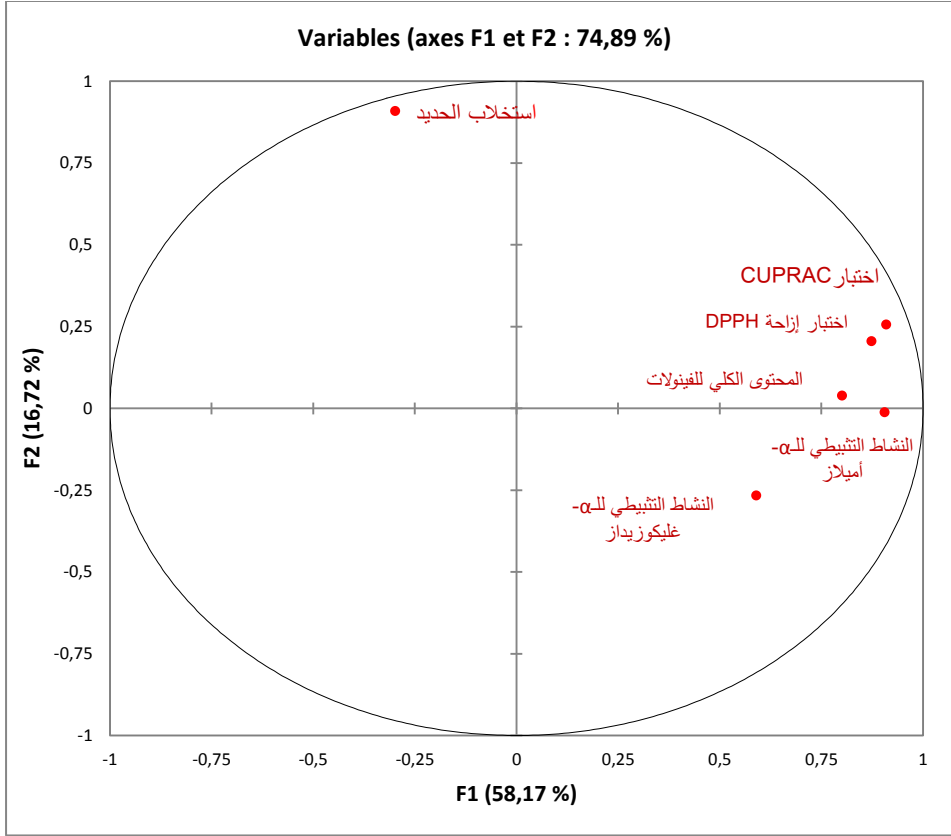
المتغير	العامل F ₁	العامل F ₂
TPC	0.8009	0.0376
اختبار إزاحة DPPH	0.8735	0.2040
اختبار CUPRAC	0.9100	0.2549
اختبار استخلاص الحديد	-0.2983	0.9073
النشاط التثبيطي لل-α-غليكوزيداز	0.5905	-0.2675
النشاط التثبيطي لل-α-أميلاز	0.9056	-0.0130

تشير النتائج المبينة في الجدول 12.III أن جميع المتغيرات الستة (6) المدروسة لها تمثيل جيد على الأقل على أحد العنصرين الرئيسيين وهذا حسب *cosinus carrée* للمتغيرات موزعة على المحورين F₁ و F₂ بالشكل التالي:

المحور الأول: نجد الاختبارات التي لها تمثيل جيد بالترتيب التالي: CUPRAC (0.9100)، α-أميلاز (0.9056)، DPPH (0.8735)، TPC (0.8009)، وبدرجة أقل α-غليكوزيداز (0.5905)، وفي الأخير نجد تمثيل ضعيف لاختبار المخلبة (-0.2983)

المحور الثاني: نجد فقط اختبار المخلبة ذا تمثيل جيد على هذا المحور (0.9073)، بينما كان للاختبارات الأخرى تمثيل ضعيف على هذا المحور.

سمح التحليل الإحصائي للمكونات الرئيسية برسم حلقة الارتباط والتي توضح توزيع المتغيرات (الاختبارات) في شكل سحابة نقاط بدلالة العنصرين الرئيسيين (الشكل 13.III).

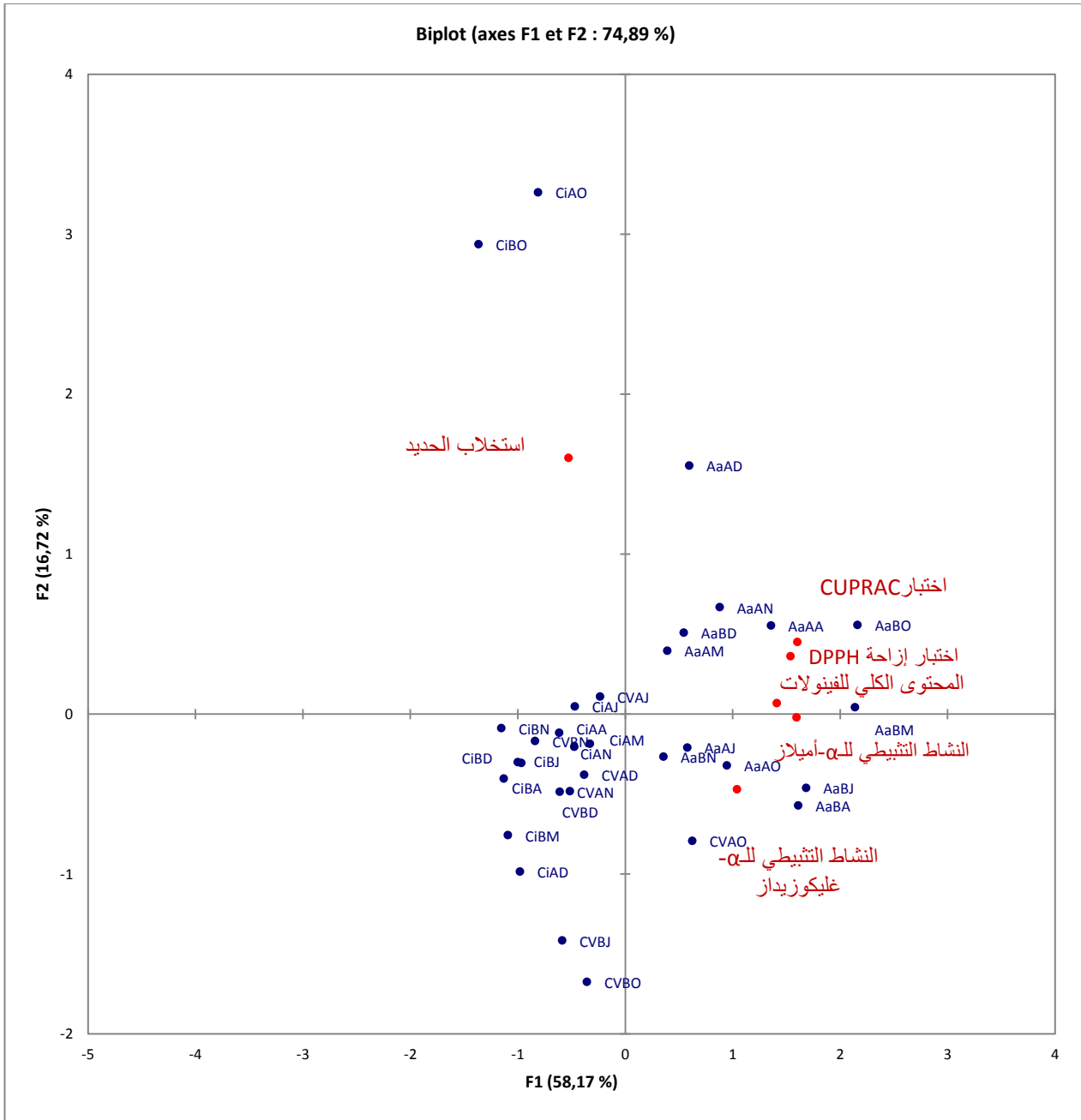


الشكل 13.III : توزيع الاختبارات حسب التحليل الإحصائي PCA

بالنظر في توزيع المتغيرات في المنحنى البياني نجد أن الاختبارات المنجزة وُزعت على مجموعتين؛ تضم المجموعة الأولى كل من اختبائي تثبيط ال-α-أميلاز و-α-غليكوزيداز واختبار تقدير TPC واختبائي إزاحة DPPH وإرجاع النحاس CUPRAC ويدل ذلك على ترابط هذه المتغيرات فيما بينها. تتوضع هذه الاختبارات في الجهة الموجبة من المحور F₁ أي أن العينات التي تتواجد في هذا الجزء من المنحنى تمتاز بمحتوى فينولي عالي وبنسب تثبيط PI عالية أي بنشاط مرتفع في تثبيط إنزيمي α-أميلاز و α-غليكوزيداز، إضافة إلى قيم عالية لـ ARP أي أقل قيم للـ EC₅₀ والتي تعكس الفعالية الجيدة في إزاحة جذر DPPH وإرجاع أيونات النحاس بينما تمتاز العينات التي تتواجد في الجهة السالبة من هذا المحور بالعكس. تضم المجموعة الثانية من المتغيرات اختبار مخلبة الحديد ويقع في الجهة الموجبة من المحور الثاني F₂ أي أن العينات المتواجدة في نفس الجهة تمتاز بقدرة جيدة على مخلبة أيونات الحديد. بينما تمتاز العينات المتواجدة في الجهة السالبة بالعكس مع الأخذ بعين الاعتبار موقعها من المحور الثاني.

بالنظر في توزيع العينات في المنحنى (الشكل 14.III، الملحق 06) نلاحظ وجود مجموعة مكونة من أربع (4) عينات تتواجد في الجهة اليمنى للمحور الأول F₁ قريبة من المجموعة الأولى للمتغيرات. تضم هذه المجموعة

المستخلصات البيتانولية لنبات *A. alopecuroide* للأشهر أكتوبر AaBO، ماي AaBM، أفريل AaBA وجوان AaBJ المميزة بالإحداثيات 4.04، 3.999، 3.01 و 3.01 على الترتيب يدل هذا على احتواء هذه العينات على كمية معتبرة من المركبات الفينولية وهذا ما تؤكدته النتائج في الجدول 3.III، كما يدل على نشاطها الجيد في إزاحة جذر DPPH وارجاع أيونات النحاس وهذا ما تعززه نتائج الجدول 5.III والجدول 6.III على التوالي، إضافة إلى فعاليتها العالية في تثبيط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز وهو ما يمكن ملاحظته في الجدول 8.III والجدول 9.III. من جهة أخرى نلاحظ تواجد مجموعة أخرى من العينات في الجهة الموجبة للمحور الثاني قريبة من المجموعة الثانية من المتغيرات تضم مستخلصي خلات الإيثيل والبيتانول لنبات *C. imbricatum* لشهر أكتوبر (CiBO، CiAO) المميزة بالإحداثيات 3.2655 و 2.9395 وهذا يدل على قدرتهما العالية على مخلبة أيونات الحديد الثنائية وهوما تعززه نتائج الجدول 7.III.



الشكل 14.III: توزيع الاختبارات والعينات حسب التحليل الاحصائي PCA

III.7. تنقية المستخلصات والنشاط الحيوي للكسور

III.7.1. تنقية المستخلصات وعزل المركبات

من خلال دراسة نشاط البيولوجي للنباتات الثلاث؛ *C. imbricatum*، *A. alopecuroide* و *C. vermiculatum* تم اختيار العينة المقطوفة شهر أكتوبر من نبات *C. vermiculatum* من أجل عزل المركبات النشطة وقد تم اختيارها لعدة أسباب لعل أهمها قلة الدراسات السابقة والنشاط العالي.

مكنت عمليات الفصل المستخدمة على مستخلصي خلاصات الإيثيل والبيتانول للعينة من الحصول على ثمان كسور قد اعتمدنا من أجل التعرف على مكونات كل كسر على المطيافية فوق البنفسجية كما استعنا بكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC.

بيّن طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المسجل للكسور المفصولة (الملحق 08) وجود عصابة عند طول موجة بين 250-260 نانومتر في جميع الكسور ماعدا الكسر الثالث، كما تم تسجيل عصابة أخرى عند طول موجة بين 350 و 360 نانومتر للكسور 2، 6 و 7. تتوافق النتائج المتحصل عليها مع إمكانية وجود مركبات من النوع chromone وكومارين coumarine في تركيب الكسور المدروسة.

بينت المنحنيات الكروماتوغرافية (الملحق 09) للكسور المدروسة نقاوة الكسور 4 و 6 لوجود قمة واحدة عند الفصل فيما بينت عدم نقاوة باقي الكسور لكن كل منها يحتوي على مركب أعظمي (الجدول III.13).

الجدول 13.III: مردودية التنقية وتركيب الكسور حسب التحليل HPLC (254nm)

تركيب HPLC للقمم الأعظمية					
نسبة المتوية (%)	زمن المسك t _r (min)	الكتلة (mg)	اللون	الشكل	الكسر
16.00	2.00	386.5	بي	لزوج	F ₁
18.43	10.00				
56.81	15.00				
80.93	11.50	84	أصفر	لزوج	F ₂
19.07	15.00				
12.51	2.00	95.8	أخضر	لزوج	F ₃
46.60	11.50				
30.90	15.00				
74.30	13.60	139.6	بي	صلب	F ₄
28.60	2.00	223.9	بي	لزوج	F ₅
71.40	13.60				
56.25	13.80	679.4	ابيض مصفر	صلب	F ₆
72.10	11.00	103.1	اصفر قاتم	لزوج	F ₇
20.15	13.80				
34.40	2.00	2159.5	بي	لزوج	F ₈
16.40	11.00				
46.00	13.80				

لم تتسنى مقارنة النتائج المتحصل عليها مع دراسات سابقة لعدم وجود الكثير من الدراسات حول التركيب الفيتوكيميائي لنبات الروقل *C. vermiculata* في حين أن أغلب المراجع المتوفرة تعلقت بدراسة النشاط الضد ميكروبي للزيوت الأساسية لهذا النبات. ومع ذلك فقد تمت دراسة التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي لبعض الأنواع من جنس *Salsola*؛ حيث تمكن أحمد وآخرون (2006) من عزل خمس (5) مركبات من الجزء الهوائي لنبات *S baryosma* [27]، كما تمكن وصلاتي (Oueslati) (2017) من عزل مركبين حيويين *biphenylsalsinol* و *salsolanal* من نبات *S. villosa* [204]، إضافة إلى ذلك تمكن عصمان وآخرون (2016) من عزل عدة مركبات مشتقة من *isohamntine* من النوع *S imbricata* [205].

III.2.7. النشاط المضاد للأكسدة للكسور

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للكسور المفصولة باستعمال طريقتين مختلفتان في المبدأ وهما اختزال أيون النحاس وإزاحة جذر DPPH وقد سمحت النتائج المتحصل عليها برسم المنحنيات الممثلة لتغير نسبة النشاط المضاد للأكسدة بدلالة تركيز الكسور وكذا تركيز الشواهد المرجعية.

نلاحظ من خلال المنحنيات البيانية الممثلة لتغير التركيز بدلالة نسبة إزاحة جذر DPPH (الملحق 10) ونسبة أيونات النحاس المرجعة (الملحق 11) أن هناك علاقة طردية بين تركيز الكسر ونسبة النشاط المضاد للأكسدة. لتسهيل المقارنة تم التعبير عن القدرة المضادة للأكسدة بقيمة EC_{50} وهي التركيز اللازم لتعديل أو إزاحة نصف كمية الجذر الابتدائية؛ حيث كلما قلت هذه القيمة كلما زاد النشاط المضاد للأكسدة. يلخص الجدول III.14 فعالية الكسور المضادة للأكسدة.

الجدول III.14 : قيم EC_{50} للكسور حسب اختبار إزاحة جذر DPPH واختبار CUPRAC

قيمة EC_{50} (g/L)		
اختبار CUPRAC	اختبار إزاحة DPPH	الكسر
0.189± 0.000	0.340± 0.012	F1
0.091± 0.001	0.238± 0.004	F2
0.163± 0.003	0.339± 0.001	F3
0.019± 0.000	0.059± 0.000	F4
2.058± 0.022	2.905± 0.017	F5
0.259± 0.002	0.511± 0.005	F6
0.098± 0.000	0.144± 0.002	F7
0.306±0.008	0.390±0.001	F8
الشواهد		
0.005±0.000	0.002±0.000	حمض الغاليك
0.013±0.000	0.008±0.000	الروتين
/	0.162±0,002	β -كاروتين
0.029±0.000	0.011±0.000	فيتامين هـ
0.058±0.001	0.005±0.000	فيتامين ج

بالنسبة لاختبار إزاحة جذر DPPH ومن خلال النتائج المدونة في الجدول أعلاه أظهرت جميع الكسور قدرة على إزاحة جذر DPPH، حيث تراوحت القيم المتحصل عليها بين 0.059 و 2.905g/L؛ حيث سجل الكسر F4 النشاط الأعلى بينما سجل الكسر F5 النشاط الأدنى.

بالمقارنة مع الشواهد، نلاحظ أن أغلب الكسور تملك نشاطا ضعيفا مقارنة بالفيتامين ج والفيتامين هـ، في حين أظهر الكسر F4 نشاطا أكبر بثلاث مرات من المركب β -كاروتين.

بالمقارنة مع بعض الكسور المستخلصة من نباتات أخرى؛ تحصل زراقي وآخرون [206] في دراسة حول النشاط المضاد للأوكسدة لبعض الكسور المستخلصة على نشاط مقدر بـ 1.25mg/mL وهي قيمة ضعيفة مقارنة بنشاط جميع الكسور المفصولة عدا الكسر F5.

بالمقارنة بين نشاط المستخلصات الكلية والكسور المفصولة يلاحظ أن مستخلص خلاص الإيثيل أكثر نشاطا بمرتين من الكسر F1 و F2 وبثلاث مرات من الكسر F3 بينما أقل نشاطا بمرتين من الكسر F4. بالنسبة لمستخلص البيتانول فقد أظهر نشاطا أكبر بست مرات من الكسر F5 ونشاطا أقل بـ 1، 2 و 3 مرات من الكسور F6، F7 و F8 على التوالي ويفسر هذا بحدوث فعل تآزري و/أو تضادي بين المركبات المتواجدة في نفس المستخلص.

بالنسبة لاختبار دراسة القدرة على إرجاع أيونات النحاس فقد سمح بالحصول على قيم EC_{50} متراوحة بين 0.019 و 2.958g/L مع تسجيل أعلى نشاط دائما للكسر F4 فيما تم تسجيل النشاط الأقل عند الكسر F5.

بالمقارنة مع الشواهد المرجعية نلاحظ أن القدرة الإرجاعية للكسر F4 أفضل بثلاث مرات من الفيتامين ج وبـ 1.5 مرة من الفيتامين هـ.

بمقارنة نشاط الكسور مع المستخلص الأصلي يلاحظ أن مستخلص خلاص الإيثيل والذي يملك قيمة $EC_{50}=0.04g/L$ وتعكس هذه القيمة قدرة إرجاعية أفضل بـ 4.5، 2.5 و 4 مرات من الكسور F1، F2 و F3 على التوالي فيما كانت القدرة الإرجاعية أقل بمرتين من الكسر F4. بالنسبة لمستخلص البيتانول يلاحظ أن القيمة $EC_{50}=0.208g/L$ تعكس قدرة إرجاعية أقل بمرتين من الكسر F7 وأكبر بـ 9، 1.25 و 1.5 من الكسور F5، F6 و F8 على الترتيب.

من خلال ما سبق نستنتج أن الكسر F4 يملك أكبر نشاط مضاد للأوكسدة فله القدرة على إزاحة جذر DPPH بإعطائه بروتونا كما يملك القدرة على ارجاع أيونات النحاس الثنائية وهذا بإعطائها إلكترونات. وبالمقارنة مع نتائج الكروماتوغرافيا يلاحظ احتواء الكسر F4 على مركب رئيسي وهو ما يمكن أن يُعزى له هذا النشاط. من خلال الدراسة الطيفية للكسور (الملحق 08) تبين لنا احتواء بعضها على مشتقات هيدروكسي بنزويك وهذا من خلال العصابة الملاحظة عند 280 نانومتر وبعضها يحتوي على مشتقات هيدروكسي سيناميك من خلال العصابة الملاحظة عند 320 نانومتر فيما تحتوي الكسور التي أظهرت عصاباتين عند 250-280 و350-360 على مركبات فلافونويدية وجميع هذه المركبات تدخل ضمن مجموعة عديدات الفينول والتي بينت العديد من الدراسات فعاليتها العالية كمضادات للأوكسدة [207-209].

3.7.2.II. دراسة النشاط المضاد للسكري للكسور

سمحت الإختبارات المنجزة على الكسور المفصولة لتقييم النشاط التثبيطي لهذه الأخيرة ضد كل من إنزيم α -أميلاز وإنزيم α -غليكوزيداز من رسم المنحنيات الممثلة لتغير نسبة التثييط PI بدلالة تركيز الكسور (الملحق 11 و12). انطلاقا من هاته المنحنيات يمكن حساب التركيز التثبيطي النصفى IC_{50} والتي تعبر عن تركيز الكسر الموافق لنسبة تثبييط تقدر بـ 50% من النشاط الإبتدائي للإنزيم غير المثبط. يلخص الجدول III.15 قيم IC_{50} المتحصل عليها بالنسبة لتثبييط α -أميلاز

الجدول III.15 : النشاط التثبيطي لإنزيم α -أميلاز وإنزيم α -غليكوزيداز بواسطة الكسور المفصولة

قيمة IC_{50} (g/L)		
النشاط التثبيطي للإنزيم α -أميلاز	النشاط التثبيطي للإنزيم α -غليكوزيداز	الكسر
0.144± 0.000	0.541±0.006	F1
0.946± 0.001	0.210± 0.063	F2
0.147± 0.003	0.380± 0.032	F3
0.057± 0.000	0.237± 0.004	F4
0.260± 0.028	1.888± 0.127	F5
0.674± 0.033	0.480± 0.084	F6
0.619± 0.002	0.701± 0.026	F7
0.349± 0.020	0.537±0.010	F8
0.077± 0.000	0.582± 0.000	الأكاربوز

من خلال النتائج الموضحة في الجدول 15.III يتضح لنا جليا أن جميع الكسور تملك قدرة على تثبيط إنزيم α -أميلاز، حيث تراوحت قيم IC_{50} بين 0.210 ± 0.063 و 1.888 ± 0.127 g/L مرتبة من الأكثر إلى الأقل نشاطا حسب الترتيب التالي: F2-F4-F3-F6-F8-F1-F7-F5. نلاحظ من خلال النتائج أن أغلب الكسور المفصولة انطلاقا من مستخلص خلايا الإيثيل (F2، F4، F3) أكثر نشاطا من الكسور التي تم فصلها انطلاقا من المستخلص البيتانولي (F5-F8).

بالمقارنة مع المركب المرجعي "أكاربوز" نلاحظ أن جميع الكسور عدا الكسرين F5 و F7 تمتلك نشاطا أعلى من نشاط الأكاربوز.

من خلال النتائج الموضحة في الجدول 15.III يتضح لنا جليا أن جميع الكسور تملك قدرة على تثبيط إنزيم α -غليكوزيداز، حيث تراوحت قيم IC_{50} بين 0.057 ± 0.000 و 0.946 ± 0.001 g/L مرتبة من الأكثر إلى الأقل نشاطا حسب الترتيب التالي: F4-F1-F3-F5-F8-F7-F6-F2. نلاحظ من خلال النتائج أن أغلب الكسور المفصولة انطلاقا من مستخلص خلايا الإيثيل (F1، F3، F4) أكثر نشاطا من الكسور التي تم فصلها انطلاقا من المستخلص البيتانولي (F5-F8).

بالمقارنة مع المركب المرجعي "أكاربوز" نلاحظ أن الكسر F4 يملك نشاطا أكبر من نشاط الأكاربوز.

خاتمة

تندرج هذه الدراسة ضمن الدراسات التي تهدف إلى تمييز الثروة النباتية من خلال البحث عن النشاطات الحيوية المحتملة لهذه النباتات والتي تعود أساسا لاحتوائها على مركبات الأيض الثانوي من فينولات وقلويدات وغيرها. ولتميز الجزائر عامة ومنطقة الصحراء خاصة بتنوع الغلاف النباتي كان لزاما علينا أن نسعى في تمييز هذه الثروة النباتية. ومن هذا المنطلق أجزنا هذه الدراسة حول تقييم الفعالية المضادة للأوكسدة والمضادة لمرض السكري لمستخلصات ثلاث نباتات محلية من العائلة الرمامية وهي بوقرية (*Agatophora alopecuroide*)، الجل (*Caroxylon imbricatum*) والروقل (*Caroxylon vermiculatum*). ولتقصي أفضل تأثير بيولوجي قمنا بجمع العينات في أزمنة مختلفة.

أسفرت هذه الدراسة عن النتائج التالية:

- بينت الدراسات الفيتوكيميائية احتواء النباتات الثلاث على العديد من المركبات الكيميائية؛ حيث نجد الفلافونويدات، التانينات والقلويدات بكمية معتبرة مقارنة بباقي المركبات.
- من خلال نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية تبين لنا أن نبات *A. alopecuroide* يحتوي على كمية أكبر من الفينولات مقارنة بالنبتتين الأخرتين. كما يتبين لنا أن محلول البيتانول يسمح استخلاص كمية مقارنة بمحلول خلات الإيثيل. أما بالنسبة لتأثير زمن الجمع على المحتوى فاختلف باختلاف النبات؛ فنجد الربيع أفضل بالنسبة لكل من *A. alopecuroide* و *C. imbricatum*، ونجد الخريف أفضل بالنسبة لنبات *C. vermiculatum*.
- بينت اختبارات قياس النشاط المضاد للأوكسدة أن جميع المستخلصات تملك القدرة على إزاحة الجذور الحرة، كما تملك القدرة على إرجاع الأيونات المعدنية ومخلبتتها. مع تسجيل نشاط مستخلصات خلات الإيثيل مقارنة بالمستخلصات البيتانولية.
- كانت قيم EC_{50} لاختباري إزاحة جذر DPPH إرجاع أيونات النحاس (CUPRAC) لمستخلصات نبات *A. alopecuroide* أقل من القيم المتحصل عليها من النباتين الآخرين وهذا ما يعكس النشاط الإزاحي والنشاط الإرجاعي العالين لمستخلصات هذا النبات. في المقابل سجلت هذه الأخيرة أدنى فعالية في مخلبة أيونات الحديد الثنائية.
- لقياس النشاط المضاد للسكري تم دراسة تأثير المستخلصات على عمل كل من إنزيم α -أميلاز وإنزيم α -غليكوزيداز فكانت النتائج جد مشجعة حيث أثبتت هذه المستخلصات نشاطا تثبيطيا ملحوظا

مقارنة بدواء الأكاربوز ونخص بالذكر مستخلصات نبات *A. alopecuroide* و العينتين CvAO و CvBO من نبات *C. Vermiculatum*.

- شجعنا هذه النتائج من أجل فصل وتنقية المركبات المسؤولة عن نشاط العينتين الأخيرتين (CvAO و CvBO) وكانت النتيجة الحصول على كسور شبه نقية باستعمال كروماتوغرافيا العمود، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية وكذا الطرد المركزي. أظهرت الكسور المتحصل عليها نشاطا إزاحيا للجذور الحرة وإرجاعيا لأيونات النحاس الثنائية وكذا قدرة على تثبيط إنزيمي α -أميلاز و α -غليكوزيداز.

- من بين الكسور المتحصل عليها يحتوي الكسر الرابع F4 على مركب رئيسي بنسبة 74.30% وله حسب جميع الاختبارات نشاطا أفضل مقارنة بجميع الكسور المتبقية. وكذا نشاطا أفضل من أغلب المركبات المرجعية

من خلال أطروحتنا خرجنا بجملة من التوصيات المتعلقة بكل من الجانب الأكاديمي والجانب التطبيقي وهي كالتالي:

- استعمال تقنية الـ HPLC-SM لمعرفة تركيب المستخلصات وإيجاد الاختلاف بينها حسب زمن جمع العينات.
- استعمال التقنيات المطيافية لمعرفة التركيب الكيميائي للكسور المتحصل عليها.
- استعمال تقنيات البيومعلوماتية لربط التركيب الكيميائي للكسر الرابع ومختلف الأنشطة المدروسة
- إجراء تجارب على الفئران (*in vivo*) لمعرفة الجرعة العلاجية والجرعة القاتلة لهذه النباتات.

فائمة

المراجع

المراجع باللغة العربية

- [38]. نداء عبد الله مزبان، علي مانع حسين (2015). دراسة مقارنة لتأثير القلويدات المستخلصة من أوراق نباتي الدفلة *Nerium oleander* والكرفس *Apium graveolens* على الخصوبة في إناث الفئران البيضاء *Mus musculus*. L. مجلة جامعة ذي قار العلمية. 10 (2): 1-12.
- [81]. درويش مصطفى الشافعي، (2013)، مضادات الأكسدة، دار الخطيب، عمان.
- [87]. عفاف عبد الرحمن الجديلي، هناء محمد حميدة، (2003). الم واد المضافة للأغذية الايجابية والسلبيات، مجموعة النيل العربية، مصر.
- [97]. بن سعد م (2008)، داء السكري أسبابه ومضاعفاته وعلاجه، فهرسة مكتبة فهد الوطنية للنشر. الرياض
- [101]. ديفيدسون (2005)، الداء السكري وأمراض الغدد الصم، دار القدس للعلوم للطباعة والنشر والتوزيع، دمشق

المراجع باللغة الأجنبية

- [1]. Reddy V (2023). Oxidative Stress in Health and Disease. *Biomedicines*. 11. 2925. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112925>.
- [2]. Byiug P Y (1994) cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiological reviews*. 71 (1): 139-162.
- [3]. Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of toxicology*, 97(10), 2499–2574. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>.
- [4]. Das A K, Kalra S, Punyani H, Deshmukh S, Taur S (2023). Oxidative stress “a new target in the management of diabetes mellitus. *J amily Med prim Care*, 12: 2552-7. https://doi.org/10.4103/jfmprc.jfmprc_2249_21.
- [5]. Cioffi, F., Adam, R. H. I., & Broersen, K. (2019). Molecular Mechanisms and Genetics of Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 72(4), 981–1017. <https://doi.org/10.3233/JAD-190863>.
- [6]. Higginson R, Burrows P, Jones B (2019). Continuing Professional Development, Diabetes and associated diabetic emergencies. *Journal of Paramedic Practice* 11(6): 1–5. <https://doi.org/10.12968/jpar.2019.11.6.cpd1>.
- [7]. Biplab G, Sananda D, Tanaya D, Mrinmoy S, Jhimli B, Sandeep KD (2018). Chronic hyperglycemia mediated physiological alteration and metabolic distortion leads to organ dysfunction, infection, cancer progression and other pathophysiological consequences, An update on glucose toxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107: 306-328. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.157>.
- [8]. Sun H, Saedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, Stein C, Basit A, Chan JCN, Mbanya JC, Pavkov ME, Ramachandaran A, Wild SH, James S, Herman

- WH, Zhang P, Bommer C, Kuo S, Boyko EJ, Magliano DJ (2022). IDF Diabetes Atlas, Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice* 183: 109-119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>.
- [9]. Cho N H et coll (2018). "IDF Diabetes Atlas : Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045". *Diabetes Res Clin Pract.* 138: 271-81.
- [10]. Lee, Mi & Choi, Dong & Lee, Moon & Lee, Hyoung & Park, Tae Sun & Kim, Doo & Chung, Choon & Kim, Duk & Kim, In & Jang, Hak & Park, Yong & Kwon, Hyuk-Sang & Lee, Seung & Shin, Hee. (2014). Comparison of Acarbose and Voglibose in Diabetes Patients Who Are Inadequately Controlled with Basal Insulin Treatment: Randomized, Parallel, Open-Label, Active-Controlled Study. *Journal of Korean medical science.* 29 (1) : 90-7. <https://doi.org/10.3346/jkms.2014.29.1.90>.
- [11]. Petrovska B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1–5. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
- [12]. Wang T Y, Li Q, & Bi K S (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 13(1): 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>.
- [13]. Bennett R N, Wallsgrove R M (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytol.* 127: 617–633.
- [14]. Li Yang, Kui-Shan Wen, Xiao Ruan, Ying-Xian Zhao, Feng Wei and Qiang Wang, Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors, *Molecules* 2018, 23, 762; <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- [15]. Hamdi A. (2011). Effet des polyphénols naturels de *Salsola baryosma* sur l'α-glucosidase et évaluation de leur pouvoir antioxydant. Mémoire magistère. Université Amar Telidji-Laghouat.
- [16]. Kadereit G, Borsch T, Weising K, and Freitage H (2003). Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C4 photosynthesis. *Int. J. Plant Sci.* 164: 959-986.
- [17]. Akhani H, Trimborn P, and Ziegler H (1997). Photosynthetic pathways in Chenopodiaceae from Africa, Asia and Europe with their ecological, phytogeographical and taxonomical importance. *Pl. Syst. E vol.* 206: 187-221.
- [18]. Ozenda P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3ème édition. CNRS Editions, Paris
- [19]. Maire, René (1878-1949). 1952. Flore de l'Afrique Du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara. Edited by P. Lechevalier. Paris. paris, France. https://bibliotheques.mnhn.fr/medias/detailstatic.aspx?INSTANCE=exploitation&RSC_BASE=HORIZON&RSC_DOCID=35006.
- [20]. Chehma A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides. Université Ouargla (Algérie).
- [21]. Ozenda P. (1977). Flore du sahara, Editions du centre national de la recherche scientifique, Paris-France.
- [22]. Khacheba I, Djeridane A, Kameli A, Yousfi M (2014) The Inhibitory Effect of Some Algerian Plants Phenolics Extracts on the α - glucosidase and α - amylase Activities

- and their Antioxidant Activities. *Current Enzyme Inhibition* 10(1):59–68. <https://doi.org/10.2174/15734080113099990001>.
- [23]. Djeridane A, Hamdi A, Bensania W, Cheifa K, Lakhdari I, Yousfi M (2015). The *in vitro* evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts. *Diabetes and Metabolic Syndrome, Clinical Research and Reviews* 9(4):324–331. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2013.10.007>
- [24]. Hussein NS, El-Bassuony AA (2004). Hydroxycinnamoyl amides from *Salsola baryosoma*. *Rev Latinoam Quim.*32:15–20.
- [25]. Saleem M, Akhter N, Shaiq Ali M, Nazir M, Riaz N, Moazzam M, Arshad M, Jabbar A (2009). Structure determination of salisomide and salisoflavan, two new secondary metabolites from *Salsola imbricata*, by 1D and 2D NMR spectroscopy. *Magn. Reson. Chem.* 47: 263–265.
- [26]. Soliman M, Alotaibi S, Sayed S, Hassan M, Althobaiti F, Aldhahrani A, Youssef G, El-Shehawi, A (2022). The Protective Impact of *Salsola imbricata* Leaf Extract From Taif Against Acrylamide-Induced Hepatic Inflammation and Oxidative Damage: The Role of Antioxidants, Cytokines, and Apoptosis-Associated Genes. *Frontiers in Veterinary Science.* 8: 1-14. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.817183>.
- [27]. Ahmed S, Ashraf M, Jabbar A, Janbaz K H, Khan M. S, Gilani A H, and Choudhary M I (2006). pharmacological screening of *Salsola baryosma*. *Jour. Chem. Soc. Pak.* 28: (1): 82-83.
- [28]. Gubb, A.S. (2013) : La flore Saharienne: Un aperçu photographique. Ed. Adolphe Jourdan. Alger. p129.
- [29]. Rasheed D M, El Zalabani S M, Koheil M A, El-Hefnawy H M, & Farag M A (2013). Metabolite profiling driven analysis of *Salsola* species and their anti-acetylcholinesterase potential. *Natural Product Research.* 27 (24): 2320–2327. <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.832676>.
- [30]. Al-Tohamy R, Samir Ali S, Saad-Allah K, Fareed M, Ali A, El-Badry A, Ahmed El-Zawawy N, Jian W, Jianzhong S, Guang-Hua M, Fatemeh RP (2018). Phytochemical analysis and assessment of antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plant species from Egyptian flora. *Journal of Applied Biomedicine.* 16: 289–300.
- [31]. Mollaei S, Farnia P, Ghanavi J, Majidi M (2021). Metabolic Proling and Inhibitory Properties of Different Parts of *Salsola Vermiculata* Towards Acetylcholinesterase and α -glucosidase. *Journal of Plant Molecular Breeding* 9 (1), 25-34 <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-923017/v1>.
- [32]. Nimir, N. E. A., & Guisheng, Z. (2018). Photosynthesis and Carbon Metabolism. In *Photosynthesis-From Its Evolution to Future Improvements in Photosynthetic Efficiency Using Nanomaterials*. Intech Open
- [33]. Marouf A, et Reynaud J (2007). La botanique de A à Z. DUNOD. Paris
- [34]. Verpoorte R, & Alfermann A W (2013). Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Springer Science & Business Media.
- [35]. Tiwari R, & Rana C S (2015). Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science.* 3(5): 661-670.
- [36]. Crozier A, Clifford M N, & Ashihara H (2006). Plant secondary metabolites. Occurrence, Structure and Role in the Human Diet, Blackwell-Publishers.

- [37]. Aniszewski T (2007). Alkaloids-Secrets of Life:: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Elsevier.
- [39]. Kakhia T I (2011). Alkaloids and alkaloids plants. Industry Joint Research Center
- [40]. Evans W C (1996). Pharmacopoeial and related drugs of biological origin. Trease and Evan's Pharmacognosy, GE Trease and WC Evans, eds (London: WB Saunders), 327-332.
- [41]. Matsuura H N, & Fett-Neto A G. (2017). Plant alkaloids: main features, toxicity, and mechanisms of action. *Plant Toxins*, 243-261.
- [42]. Smith E W, & Maibach H I (1995). Percutaneous penetration enhancers. CRC Press.
- [43]. Perveen S (2018). Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. In Terpenes and Terpenoids. Intech Open.
- [44]. Yadav N, Yadav R, & Goyal A (2014). Chemistry of terpenoids. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 27(2): 272-278.
- [45]. Pattanaik B, & Lindberg P (2015). Terpenoids and their biosynthesis in cyanobacteria. *Life*. 5(1) : 269-293.
- [46]. Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial, 79-82.
- [47]. Erdman J W, Balentine D, Arab L, Beecher G, Dwyer J T, Folts J, & Messina M (2007). Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America flavonoids workshop, *The Journal of nutrition*,. 137(3): 718S-737S
- [48]. Yildiz F (2009). Advances in food biochemistry. CRC press
- [49]. Jean B (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.
- [50]. Macheix J J, Fleuriet A, & Jay-Allemand C (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- [51]. Moreno-Arribas M V, & Polo M C (2009). Wine chemistry and biochemistry (Vol. 735). NewYork: Springer.
- [52]. Khanbabaee K, & van Ree T (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports*. 18(6), 641-649
- [53]. Stefanachi A, Leonetti F, Pisani L, Catto M, Carotti A (2018). Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules*. 23 (2): 250. <https://doi.org/10.3390/molecules23020250>.
- [54]. Causse C (2004). Les secrets de santé des antioxydants: plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Alpen Editions sam.
- [55]. Cazaubon M (2005). Programme jambes légères. Alpen Editions sam.
- [56]. Kumar S, & Pandey A K (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*.
- [57]. Pengelly A (2004). The constituents of medicinal plants: an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine. CABI Publishing,

- [58]. Teles Y, & Souza M (2018). Sulphated flavonoids: biosynthesis, structures, and biological activities. *Molecules*. 23(2), 480.
- [59]. Panche A N, Diwan A D, & Chandra S R (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.
- [60]. Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M., & Świerczek-Zięba, G. (2014). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19(1), 78-101.
- [61]. Vita, J. A. (2005). Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 292S-297S.
- [62]. Johnson, I. T., Williamson, G., & Musk, S. R. R. (1994). Anticarcinogenic factors in plant foods: a new class of nutrients?. *Nutrition Research Reviews*, 7(1), 175-204.
- [63]. Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., ... & Suleria, H. A. R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International journal of food properties*, 20(8), 1689-1699.
- [64]. Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B., Di Benedetto, R., Filesi, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali-istituto superiore di sanita*, 43(4), 394.
- [65]. Pham-Huy L A, He H, & Pham-Huy C (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*. 4 (2): 89.
- [66]. Manual P. OxiSelect™ Cellular Antioxidant Activity Assay Kit (Green Fluorescence).
- [67]. Ben Lemlih M, & Ghanem J (2012). Polyphénol d'huile d'olive trésor santé. Macro-pietteur éd., Embourg (Belgique).
- [68]. Halliwell B (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*. 141 (2): 312-322.
- [69]. Hertzberg G (1971). The Spectra and Structures of Simple Free Radicals: An Introduction to Molecular Spectroscopy.
- [70]. Kumar S (2011). Free radicals and antioxidants: human and food system. *Adv Appl Sci Res*. 2 (1): 129-135.
- [71]. Gupta R K, Patel A K, Shah N, Chaudhary A K, Jha U K, Yadav U C, & Pakuwal U (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer. *Asian Pac Cancer Prev*. 15: 4405-4409.
- [72]. Murray R K, Granner D K, Mayes P A, & Rodwell V W (2018). Harper's illustrated biochemistry. Mcgraw-hill.
- [73]. Favier, A (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108.
- [74]. Perl-Treves R, & Perl A (2002). Oxidative stress: an introduction. *Oxidative stress in plants*, 1-32.
- [75]. Palipoch S, & Koomhin P (2015). Oxidative Stress-Associated Pathology: A Review. *Sains Malaysiana*. 44 (10): 1441-1451.
- [76]. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy Y S R, & De B (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 3 (1): 91-100.

- [77]. Schäfer M, & Werner S (2011). The cornified envelope: a first line of defense against reactive oxygen species. *Journal of investigative dermatology*. 131 (7): 1409-1411.
- [78]. Packer L (1997). Vitamin C in health and disease (Vol. 4). CRC Press.
- [79]. Mackness B, Mackness M, Aviram M, & Paragh G. (2007). The paraoxonases: their role in disease development and xenobiotic metabolism (Vol. 6). Springer Science & Business Media.
- [80]. Tortora G J, & Derrickson B (2018). Anatomie et physiologie. De Boeck Superieur.
- [82]. Misra K, Dhillon G S, Brar S K, & Verma M (2014). Antioxidants. In Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals (pp. 117-138). Springer, New York, NY.
- [83]. Shebis Y, Iluz D, Kinel-Tahan Y, Dubinsky Z, & Yehoshua Y (2013). Natural antioxidants: function and sources. *Food and Nutrition Sciences*. 4 (06): 643.
- [84]. Wang S, Meckling K A, Marcone M F, Kakuda Y and Tsao R (2011). Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. *J Agric Food Chem*. 59: 960-968.
- [85]. Atta E M, Mohamed N H, & Abdelgawad A A (2017). Antioxidants: an overview on the Nnatural and synthetic types. *European Chemical Bulletin*. 6 (8): 365-375.
- [86]. Anbudhasan P, Surendraraj A, Karkuzhali S, & Sathishkumaran P (2014). Natural antioxidants and its benefits. *International journal of food and nutritional sciences*. 6 (3): 225-232.
- [88]. Reynal B, Multon J L (2009). Additif et auxiliaire de fabrication dans les industries. Lavoisier.
- [89]. Kumar V, Khan A A, Tripathi A, Dixit P K, & Bajaj U K (2015). Role of oxidative stress in various diseases: relevance of dietary antioxidants. *J. Pharm. Exp. Ther.* 4: 126-132.
- [90]. Rodrigo R (2009). Oxidative stress and antioxidants : thier role in human disease. *Nova Science Publishers, Inc*.
- [91]. Vasconcelos R A, Kinoshita P F, Scavone C, & Kawamoto E M (2008). Alzaheimer's disease and oxidative stress. *Recent Advances In Alzaheimer Research*. 2: 174-203.
- [92]. Bonnard C, Durand A, Peyrol S, Chanseaume E, Chauvin M A, Morio B, & Rieusset J (2008). Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *The Journal of clinical investigation*. 118 (2): 789-800.
- [93]. Assies J, Mocking R J, Lok A, Ruhé H G, Pouwer F, & Schene A H (2014). Effects of oxidative stress on fatty acid-and one-carbon-metabolism in psychiatric and cardiovascular disease comorbidity. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 130 (3): 163-180.
- [94]. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, & Abete P (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*. 13: 757.
- [95]. Zubin punthakee, M.D,M.SC,FRCpC, Ronald Goldenbreg,FACE, Pamela katz,2018, definition , classification et diagnostic du diabete ,du prediabete et du syndrome metabolique, *Can J diabetes* 42, 10-15

- [96]. Zhuo Fu, Elizabeth R. Gilbert, and Dongmin Liu (2013). Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes, *Curr Diabetes Rev.* 9 (1): 25–53. <https://doi.org/10.2174/1573399811309010025>.
- [98]. Pfeifer M A, Halter J B, and Porte D (1981). Insulin secretion in diabetes mellitus. *The American journal of medicine.* 70 (3): 579-88.
- [99] Drouin P, Blicke J F, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau P J, Plouin P F, Daninos J M, Balarac N, Sauvanet J P (1999). Diagnostic et classification du diabete sucre ´ les nouveaux criteres. *Diabetes and Metabolism.* 25: 72-83
- [100]. Samreen Riaz (2009). diabetes mellitus. *Scientific Research and Essay.* 4 (5): 367-373
- [102]. Raverot G (2005). Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. La collection Hippocrate : Endocrinologie Métabolisme Réanimation-urgences.
- [103]. Fazeli Farsani S. et coll (2017). Incidence and prevalence of diabetic ketoacidosis (DKA) among adults with type 1 diabetes mellitus (T1D): a systematic literature review. *BMJ Open.* 7 (7):016587.
- [104]. Adeyinka A. and Kondamudi N P (2019). Hyperosmolar Hyperglycemic Nonketotic Coma (HHNC, Hyperosmolar Hyperglycemic Nonketotic Syndrome), Stat Pearls, Treasure Island (FL).
- [105]. American Diabetes Association (2018) 10. Microvascular Complications and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care.* 41(Suppl 1): 105-118.
- [106]. Bansal N (2015) Prediabetes diagnosis and treatment: A review. *World J Diabetes.* 6 (2): 296-303.
- [107]. Santwana P, Amit K N, Anindita B (2020). Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 131: 110708. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110708>.
- [108]. Artasensi A, Pedretti A, Vistoli G and Fumagalli L (2020). Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Multi-Target Drugs. *Molecules.* 25: 1987. <https://doi.org/10.3390/molecules25081987>
- [109]. Bastaki S (2005). Diabetes mellitus and its treatment. *International Journal of Diabetes and Metabolism.* 13 (3): 111–134. <https://doi.org/10.1159/000497580>.
- [110]. Harborne J B (1984). Phytochemical methods aguide to modern techniques of plant analysis . 2nd ed.Chapman and Hall,London, NewYork. P 288.
- [111]. Randerath K (1971). Alcaloïdes, amines et autres composés basiques dans la chromatographie sur couches minces. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2. p 87.
- [112]. Paris M, Bouket A, Paris R (1969). Les flavonoïdes du *Fagara laurentii* de Wild Isolement d'un flavonoïde identifié à l'hespéridoside. *Plantes Médicinales et Phytothérapie.* 6 : 123 – 131.
- [113]. Debray M, Jacquemin H, Razafindrambo R (1971). Travaux et documents de l'Orstom. Paris. 8. 150.
- [114]. Trease G E and Evans W (2002). Pharmacognocny. 15th. ed. Saunders Publishers. London. p :42-44.

- [115]. Rizk A (1982). Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*. 52: 35-42.
- [116]. Boizot N, Charpentier J P (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. pp. 79–82.
- [117]. Singleton V, and Rossi J A (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16: 14–144.
- [118]. Laguerre M, López-Giraldo L, Lecomte J, Pina M, Villeneuve P (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante, *OCL*. 14 (5): 278- 292. <https://doi.org/10.1684/ocl.2007.0140>.
- [119]. Marc F, Davin A, Deglène-Benbrahim L, Ferrand C, Baccaunaud M, Fritsch P (2004). Méthodes d'évaluation du potential antioxydant dans les aliments. *MEDECINE/SCIENCES*. 20: 458-63. <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/2004204458>.
- [120]. Molyneux P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26 (2): 211-219.
- [121]. Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S.E., 2004, Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, *J. Agric. Food Chem.* 52 : 7970-7981.
- [122]. Jabri-Karoui I, Bettaieb I, Msaada K, Hammami M and Marzouk B (2012). Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*. *Journal Of Functional Foods*. 4 : 661 –669.
- [123]. Dygert S, Li L H, Florida D, & Thoma J A (1965). Determination of reducing sugar with improved precision. *Analytical Biochemistry*. 13 (3): 367–374. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(65\)90327-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(65)90327-1)
- [124]. Jemmali M, & Kabana R (1972). Dosage rapide oxygraphique du glucose en présence de glucose-oxydase dans les milieux complexes. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*, 12(2), 329–334. <https://doi.org/10.1051/rnd:19720211>
- [125]. Ngo T T, & Lenhoff H M (1980). A sensitive and versatile chromogenic assay for peroxidase and peroxidase-coupled reactions. *Analytical Biochemistry*. 105 (1): 389–397. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90475-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(80)90475-3)
- [126]. Moghtet S, Menad N, Meddah B, & Moussaoui A (2018). Effect of *Salsola vermiculata* on fungi of French soft wheat and test of grain storage by the coating method. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 10 (1): 226. <https://doi.org/10.4314/jfas.v10i1.17>.
- [127]. Stankovic, M. S., Topuzovic, M., Solujic, S., & Mihailovic, V. (2010). Antioxidant activity and concentration of phenols and flavonoids in the whole plant and plant parts of *Teucrium chamaedrys* L. var. *glanduliferum* Haussk. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(20), 2092-2098
- [128]. Zhang, M., Hettiarachchy, N. S., Horax, R., Kannan, A., Praissoody, M. A., Muhundan, A., & Mallangi, C. R. (2011). Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa*, *Centella asiatica*, *Moringa oleifera* and *Murraya koenigii* leaves. *J. Med. Plants Res*, 5(30), 6672-80.

- [129]. Ajaib M, Farooq S, Khan K, Perveen S, Shah S (2019). Phytochemical analysis and anthelmintic activity of *Salsola imbricate*, *Journal of the Chemical Society of Pakistan*. 41 (1): 198- 202. <https://doi.org/10.52568/000714/jcsp/41.01.2019>.
- [130]. Shehab N G, & Abu-Gharbieh E (2014). Phenolic profiling and evaluation of contraceptive effect of the ethanolic extract of *salsola imbricata* forssk. in male albino rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2014/695291>.
- [131]. Othmane A, Sayed A M, Amen Y, and Shimizu K (2022). Possible neuroprotective effects of amide alkaloids from *Bassia indica* and *Agatophora alopecuroide*: in vitro and in silico investigations, *RSC Adv*. 12: 18746-18758.
- [132]. Sabeena Farvin K H, Jacobsen C (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*. 138: 1670–1681.
- [133]. Hachani S, Hamia C, Boukhalkhal S, Silva A M S, Djeridane A, & Yousfi M (2018). Morphological, physico-chemical characteristics and effects of extraction solvents on UHPLC-DAD-ESI-MSn profiling of phenolic contents and antioxidant activities of five date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) growing in Algeria. *NFS Journal*. 13: 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2018.10.001>
- [134]. Tahar M, Salim B, Mohamed T and Mohamed T (2019). The Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Atriplex Nummularia* Leaves' Extract. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*. 8 (2): 168-179.
- [135]. Belhaoues S, Amri S, & Bensouilah M (2020). Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* Link aerial parts. *South African Journal of Botany*. 131: 200–205. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.018>.
- [136]. Elazzouzi H, Zekri N, Zair T, El Belghiti MA. 2022. Total phenolic and flavonoid contents of *Artemisia ifranensis* J. Didier plant extracts and their antioxidant activity. *Journal of Medical Pharmaceutical and Allied Sciences*. 11(1):4419–4423.
- [137]. Robards K (2003). Strategies for the determination of bioactive phenols in plants. fruit and vegetables. *Journal of chromatography A*. 1000 (12): 657-691
- [138]. Gomes J M, Márcio V C T, Sócrates G D S, Marcelo S S, and Josean F T (2021). Seasonal Variations of Polyphenols Content, Sun Protection Factor and Antioxidant Activity of Two Lamiaceae Species. *Pharmaceutics*. 13 (1): 1–16. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010110>.
- [139]. Al-Nablsi S, El-Keblawy A, Ali M A, Mosa K A, Alshaimaa M H, Shanableh A, Almehdi A M, and Soliman S M (2022). Phenolic Contents and Antioxidant Activity of *Citrullus Colocynthis* Fruits, Growing in the Hot Arid Desert of the UAE, Influenced by the Fruit Parts, Accessions, and Seasons of Fruit Collection. *Antioxidants*. 11 (4). <https://doi.org/10.3390/antiox11040656>.
- [140]. Kabubii Z N, James M M, Mbaabu P M, John M W, and Evans N N (2023). Evaluation of Seasonal Variation, Effect of Extraction Solvent on Phytochemicals and Antioxidant Activity on *Rosmarinus Officinalis* Grown in Different Agro-Ecological Zones of Kiambu County, Kenya. *CABI Agriculture and Bioscience*. 4 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1186/s43170-023-00141-x>.

- [141]. Athmouni K, Belghith T, Bellassouad K, Feki AE, Ayadi H (2015) Effect of extraction solvents on the biomolecules and antioxidant properties of *Scorzonera undulata* (asteraceae), Application of factorial design optimization phenolic extraction. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 14 (4): 313–320. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2015.4.32>
- [142]. Boussoussa H, Khacheba I, Djeridane A, Mellah N, & Yousfi M (2016). Antibacterial activity from *Rhanterium adpressum* flowers extracts, depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products*. 83: 44–47. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.020>
- [143]. Fellah F, Louaileche H, Dehbi-Zebboudj A, & Touati N (2017). Seasonal variations in the phenolic compound content and antioxidant activities of three selected species of seaweeds from Tiskerth islet, Bejaia, Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*. 8 (12): 4451–4456. <https://doi.org/10.26872/jmes.2017.8.12.470>
- [144]. Boulaaba M, Medini F, Hajlaoui H, Mkadmini K, Falleh H, Ksouri R, Abdelly C (2019). Biological activities and phytochemical analysis of phenolic extracts from *Salsola kali* L. Role of endogenous factors in the selection of the best plant extracts. *South African Journal of Botany*. 123: 193–199. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.003>
- [145]. Ribeiro D A, Camilo C J, de Fátima Alves Nonato C, Rodrigues F F G, Menezes I R A, Ribeiro-Filho J, da Costa J G M (2020). Influence of seasonal variation on phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Secondatia floribunda* A. DC. (*Apocynaceae*). *Food Chemistry*. 315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126277>
- [146]. Mahmoudi M, Boughalle F, Maaloul S, Zaidi S, Bakhshandeh E, Abdellaoui R (2023). The effect of seasonality on the phytochemical composition of two *Limonium* species naturally growing in a Mediterranean arid-salt marsh: Harvesting time optimization by modeling approach, *Scientia Horticulturae*, 309,
- [147]. Abollfazl S, Hazeri N, Vlizadaeh J, Ghasemi A, and Zaker Tavallaei F (2012). Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts, *Kragujevac J. Sci*. 34: 71-78.
- [148]. Benhammou N, Ghambaza N, Benabdelkader S, Atik-Bekkara F and Kadifkova P (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*. *International Food Research Journal*. 20 (5): 2057-2063.
- [149]. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97 : 654–660.
- [150]. Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Vidal N, Lesgards J F, & Stocker P (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*. 224 (6): 801–809. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0361-6>
- [151]. Mahfoudi R, Djeridane A, Tahri D, & Yousfi M (2021). The Inhibitory Effects of Some Artificial Food Colorings on α -amylase and α -glucosidase: In vitro and In silico Studies. *Current Enzyme Inhibition*. 17 (3) : 223–233. <https://doi.org/10.2174/1573408017666211018102605>.

- [152]. Khokhar, Santosh & Owusu-Apenten, Richard. (2003). Iron binding characteristics of phenolic compounds: Some tentative structure-activity relations. *Food Chemistry*. 81. 133-140. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00394-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00394-1).
- [153]. Ekundina O V, Omon A E, Ayomide U, Ejelue C C (2023). Histopathology Review of Free Radicals. *Journal of Biological Sciences and Bioconservation*. 15 (1): 1-41
- [154]. Sadeer, Nabeelah & Montesano, Domenico & Albrizio, Stefania & Zengin, Gokhan & Mahomoodally, Fawzi. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety-Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*. 9. 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>.
- [155]. Michalak M (2022). Plant-Derived Antioxidants: Significance in Skin Health and the Ageing Process. *International Journal of Molecular Sciences*. 23 (2): 585. <https://doi.org/10.3390/ijms23020585>.
- [156]. Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International journal of molecular sciences*. 18 (1): 96. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>.
- [157]. Gutiérrez-Del-Río, I., López-Ibáñez, S., Magadán-Corpas, P., Fernández-Calleja, L., Pérez-Valero, Á., Tuñón-Granda, M., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2021). Terpenoids and Polyphenols as Natural Antioxidant Agents in Food Preservation. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(8), 1264. <https://doi.org/10.3390/antiox10081264>
- [158]. Sánchez-Marzo N, Lozano-Sánchez J, Cádiz-Gurrea M L, Herranz-López M, Micol V, & Segura-Carretero A (2019). Relationships between chemical structure and antioxidant activity of isolated phytochemicals from *Lemon verbena*. *Antioxidants*, 8 (8): <https://doi.org/10.3390/antiox8080324>.
- [159]. Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, & Kim C K (2020). Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific Reports*. 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z>.
- [160]. Mohammed HA, Al-Omar MS, Mohammed SAA, Alhowail AH, Eldeeb HM, Sajid MSM, Abd-Elmoniem EM, Alghulayqeh OA, Kandil YI, Khan RA (2021) Phytochemical Analysis, Pharmacological and Safety Evaluations of Halophytic Plant, *Salsola cyclophylla*. *Molecules*. 26:2384. <https://doi.org/10.3390/molecules26082384>
- [161]. Parvin, M. S., Chlebek, J., Hošťáková, A., Catapano, M. C., Lomozová, Z., Macáková, K., & Mladěnka, P. (2022). Interactions of Isoquinoline Alkaloids with Transition Metals Iron and Copper. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(19), 6429. <https://doi.org/10.3390/molecules27196429>
- [162]. Shang, X. F., Yang, C. J., Morris-Natschke, S. L., Li, J. C., Yin, X. D., Liu, Y. Q., Guo, X., Peng, J. W., Goto, M., Zhang, J. Y., & Lee, K. H. (2020). Biologically active isoquinoline alkaloids covering 2014-2018. *Medicinal research reviews*, 40(6), 2212–2289. <https://doi.org/10.1002/med.21703>.
- [163]. Pincemail J, Meurisse M, Limet R and Defraigne J O (1999). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancerologie MS*.

- [164]. Valko M, Rhodes C J, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006) Free Radicals, Metals And Antioxidants In Oxidative Stress-Induced Cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160 (1) :1–40.
- [165]. Hasanloo T, Roshanak S, Homa H (2011). Levels of phenolic compounds and their effects on antioxidant capacity of wild *Vaccinium arctostaphylos* L. (Qare-Qat) collected from different regions of Iran. *Turk J Biol*. 35: 371-377.
- [166]. Dragana Jakovljević, Milan Stanković S, Marina Topuzović D (2013). Seasonal variability of *Chelidonium majus* L. secondary metabolites content and antioxidant activity. *EXCLI Journal*. 12: 260-268.
- [167]. Serrano-Martínez A, Francisco A, Maria Isabel F, Lucas-Abellán C, López-Miranda S and Núñez-Delicado E (2014). Effect of Plant Age and Saline Water on Antioxidant and Peroxidase Activity in Sweet Pepper Fruit. *Journal of Agricultural Science*. 6 (12): 139-151
- [168]. Carlos H. Blum-Silva, Vitor C. Chaves, Eloir P. Schenkel, Geraldo C. Coelho, Flávio H. Reginatto (2015). The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 25: 1–6
- [169]. Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim CK (2020). Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific Reports*. 10(1) <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z>.
- [170]. Arumugam G, Manjula P, Paari N (2013). A review: Anti diabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *J. Acute Dis*. 2: 196–200
- [171]. Kooti W, Moradi M, Akbari S, Sharafi-Ahvazi N, AsadiSamani M, Ashtary-Larky D (2015). Therapeutic and pharmacological potential of *Foeniculum vulgare* Mill: A review. *J. Herb Med Pharm*. 4: 1–9.
- [172]. Afrisham R, Aberomand M, Ghaari M, Siahpoosh A, Jamalan M (2015). Inhibitory effect of *Heracleum persicum* and *Ziziphus jujuba* on activity of alpha-amylase. *J. Bot*. 824683.
- [173]. Salehi B, Ata A, Nanjangud V, Anil Kumar, Farukh Sharopov, Karina Ramírez-Alarcón, Ana Ruiz-Ortega, Seyed Abdulmajid Ayatollahi, Patrick Valere, Tsouh Fokou, Farzad Kobarfard, Zainul Amiruddin Zakaria, et al (2019). Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components, *Biomolecules*. 9 (551): 1-121. <https://doi.org/10.3390/biom9100551>.
- [174]. Hossain, U., Das, A. K., Ghosh, S., & Sil, P. C. (2020). An overview on the role of bioactive α -glucosidase inhibitors in ameliorating diabetic complications. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 145, 111738. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111738>
- [175]. Zhang H, Xu H, Lin Z, et al. (2017). Alpha-glucosidase inhibitors from natural products as a potential therapeutic option for diabetes mellitus: a review. *J Tradit Chin Med*. 37 (5): 653-664. [https://doi.org/10.1016/S0254-6272\(18\)30004-1](https://doi.org/10.1016/S0254-6272(18)30004-1).
- [176]. Wang J, Liu Y, Li Y, et al. (2017). Investigation of traditional Chinese medicinal plants with therapeutic potential for diabetes via inhibition of alpha-amylase and alpha-

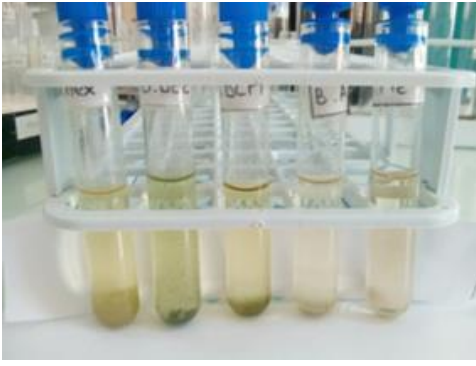

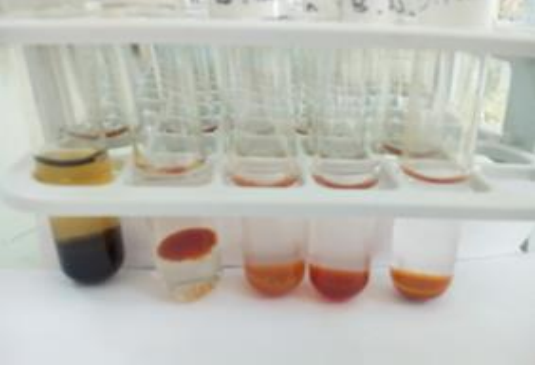
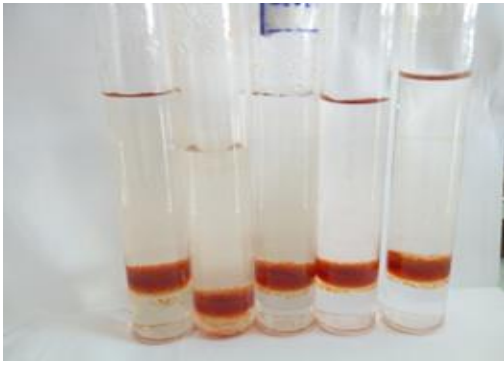
- glucosidase. *BMC Complement Altern Med.* 17 (1): 635. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1918-8>.
- [177]. Proença, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Tomé, S. M., Oliveira, E. F. T., Viegas, M. F., Araújo, A. N., Ramos, M. J., Silva, A. M. S., Fernandes, P. A., & Fernandes, E. (2019). Evaluation of a flavonoids library for inhibition of pancreatic α -amylase towards a structure-activity relationship. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 34(1), 577–588. <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1558221>
- [178]. Martínez-González AI, Díaz-Sánchez G, de la Rosa LA, Bustos-Jaimes I, Álvarez-Parrilla E (2019). Inhibition of α -amylase by flavonoids, Structure activity relationship (SAR). *Spectrochimica Acta - Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 206: 437–447. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.08.057>.
- [179]. Boath AS, Grussu D, Stewart D, McDougall GJ. 2012. Berry polyphenols inhibit digestive enzymes: A source of potential health benefits. *Food Digestion*. 3(1–3):1–7.
- [180]. Kandra L, Gyémánt G, Zajác Á, & Batta G (2004). Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319 (4): 1265–1271. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.05.122>
- [181]. Kato C G, De Almeida Gonçalves G, Peralta R A, Seixas F A V, De Sá-Nakanishi A B, Bracht L, Peralta R M (2017). Inhibition of α -Amylases by Condensed and Hydrolysable Tannins: Focus on Kinetics and Hypoglycemic Actions. *Enzyme Research*. <https://doi.org/10.1155/2017/5724902>
- [182]. Barrett A H, Farhadi N F, & Smith T J (2018). Slowing starch digestion and inhibiting digestive enzyme activity using plant flavanols/tannins— A review of efficacy and mechanisms. *LWT. Academic Press*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.002>
- [183]. Amin E, Abdel-Bakky M S, Darwish M A, Mohammed H A, Chigurupati S, Qureshi, K A, Hassan M H A (2022). The Glycemic Control Potential of Some *Amaranthaceae* Plants, with Particular Reference to In Vivo Antidiabetic Potential of *Agathophora alopecuroides*. *Molecules*. 27: 973. <https://doi.org/10.3390/molecules27030973>
- [184]. Yan L, and Christian Z (2022). Seasonal variations of natural products in European herbs, *Phytochem Rev*. 21: 1549–1575, <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09797-7>.
- [185]. Ahmad Z, Mehmood S, Fatima I, Malik A, Ifzal R, Afza N, et al. (2008). Structural determination of salsolins A and B, new antioxidant polyoxygenated triterpenes from *Salsola baryosma* by 1D and 2D NMR spectroscopy. *Magn Reson Chem*. 46: 94-8.
- [186]. Tundis R, Menichini F, Conforti F, Loizzo M R, Bonesi M, Statti G, & Menichini F (2009). A potential role of alkaloid extracts from *Salsola* species (Chenopodiaceae) in the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24 (3): 818–824. <https://doi.org/10.1080/14756360802399662>
- [187]. Hamed A I, Masullo M, Sheded M G, Mahalel U A, Tawfik M M, Perrone A, Piacente S (2011). Triterpene saponins from *Salsola imbricata*. *Phytochem. Lett*. 4: 353–356.
- [188]. Dalimunthe A, Hasibuan P A Z, Silalahi J, & Satria D (2018). Antioxidant activity of alkaloid fractions of *Litsea cubeba* Lour. Fruits. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 11 (Sp issue 1): 31–32. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11s1.26558>.
- [189]. Perez Gutierrez R M, Ramirez A M, Mota Flores J M, & Garcia Campoy A H (2020). Antioxidant activity of a new multiflorane-type triterpene from *Cucurbita*

- argyrosperma* seeds and their protective role in hydrogen peroxide induced oxidative stress. *Functional Foods in Health and Diseases*. 10 (2): 95–111. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v10i2.680>.
- [190]. Brindhadevi K, Chidambaram M, Kavitha R, Govindaraj R, Chinnathambi A, Salmen S H, Natesan V (2022). Extraction, antioxidant, and anticancer activity of saponins extracted from *Curcuma angustifolia*. *Applied Nanoscience (Switzerland)*. <https://doi.org/10.1007/s13204-021-02096-9>.
- [191]. Cybulska I, Brudecki G, Alassali A, Thomsen M, & Jed Brown J (2014). Phytochemical composition of some common coastal halophytes of the United Arab Emirates. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. United Arab Emirates University. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i12.19104>
- [192]. Qasim M, Abideen Z, Adnan M Y, Gulzar S, Gul B, Rasheed M, & Khan M A (2017). Antioxidant properties, phenolic composition, bioactive compounds and nutritive value of medicinal halophytes commonly used as herbal teas. *South African Journal of Botany*. 110: 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.10.005>
- [193]. Stevanović Z D, Stanković M S, Stanković J, Janačković P, & Stanković M (2019). Use of halophytes as medicinal plants: phytochemical diversity and biological activity. In *Halophytes and climate change: adaptive mechanisms and potential uses* (pp. 343–358). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781786394330.0343>
- [194]. Mohammed H A, Al-Omar M S, Mohammed S A A, Alhowail A H, Eldeeb H M, Sajid M S M, Abd-Elmoniem E M, Alghulayqeh O A, Kandil Y I, Khan R A (2021). Phytochemical Analysis, Pharmacological and Safety Evaluations of Halophytic Plant, *Salsola cyclophylla*. *Molecules*. 26: 2384. <https://doi.org/10.3390/molecules26082384>
- [195]. Bensaffeidine F, Asseli B, Mahfoudi R, Djeridane A, Yousfi M (2019). High Antioxidant Capacities and Anti-inflammatory Effects of Hammada elegans Botsch. Extracts, An *in vitro* Assessment. *Current Enzyme Inhibition*. 15 (1): 55–68. <https://doi.org/10.2174/1573408015666190225151916>
- [196]. Moheylden A. Osman, Ghada I. Mahmoud, and Shaimaa S. Shoman (2020). correlation between total phenols content, antioxidant power and cytotoxicity. *biointerface research in applied chemistry*. 11 (3): 10640-10653
- [197]. Nowak R, Szewczyk K, Gawlik-Dziki U, Rzymowska J, and Komsta L (2016). antioxidative and cytotoxic potential of some *Chenopodium* L. species growing in Poland, *Saudi Journal of Biological Science*. 23: 15-23
- [198]. Munteanu I G, Apetrei C (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 22 : 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- [199]. Ben Mahmoud K, Wasli H, Ben Mansour R, Jemai N, Selmi S, Jemmali A, & Ksouri R (2022). Antidiabetic, antioxidant and chemical functionalities of *Ziziphus jujuba* (Mill.) and *Moringa oleifera* (Lam.) plants using multivariate data treatment. *South African Journal of Botany*. 144: 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.08.017>.
- [200]. Gammoh S, Alu'datt M H, Alhamad M N, Rababah T, Ereifej K, Almajwal A, Hussein N M (2017). Characterization of phenolic compounds extracted from wheat protein fractions using high-performance liquid chromatography/liquid chromatography mass spectrometry in relation to anti-allergenic, anti-oxidant, anti-hypertension, and anti-diabetic properties. *International Journal of Food Properties*. 20 (10): 2383–2395. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1238832>

- [201]. Zhang B W, Xing Y W, Yu X, Sun W L, Xiu Z L, & Dong Y S (2017). Pentacyclic triterpenes as α -glucosidase and α -amylase inhibitors: Structure-activity relationships and the synergism with acarbose. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 27 (22): 5065–5070. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.09.027>.
- [202]. Liu Z, Yang Y, Dong W, Liu Q, Wang R, Pang J, Liu Y (2019). Investigation on the enzymatic profile of mulberry alkaloids by enzymatic study and molecular docking. *Molecules*. 24 (9). <https://doi.org/10.3390/molecules24091776>
- [203]. Benkherara S, Bordjiba O, Harrat S, & Djahra A B (2021). Antidiabetic Potential and Chemical Constituents of *Haloxylon scoparium* Aerial Part, An Endemic Plant from Southeastern Algeria. *International Journal of Secondary Metabolite*, 398–412. <https://doi.org/10.21448/ijsm.990569>.
- [204]. Oueslati M H, Bouajila J, Jannet H (2017). Two new bioactive biphenylpropanoids from the roots of *Salsola imbricate* (*Chenopodiaceae*) Growing in Saudi Arabia. *OJC*. 33: 1871–8.
- [205]. Osman, S.M.; El Kashak, W.A.; Wink, M.; El Raey, M.A. (2016). New isorhamnetin derivatives from *Salsola imbricata* Forssk. leaves with distinct anti-inflammatory activity. *Pharmacogn. Mag.*, 12, S47.
- [206]. Zerargui, Fatima & Saffidine, Karima & Guemmaz, Thoraya & Laroui, Haifaa & Trabsa, Hayat & Baghiani, Abderrahmane & Khanouf, Seddik & Zarga, Muza. (2023). Antioxidant potentials of five flavonoids compounds isolated from *Varthemia iphionoids*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 22. 1417-1425. [10.4314/tjpr.v22i7.9](https://doi.org/10.4314/tjpr.v22i7.9).
- [207]. Kalinowska, M., Gołębiewska, E., Świdorski, G., Męczyńska-Wielgosz, S., Lewandowska, H., Pietryczuk, A., Cudowski, A., Astel, A., Świsłocka, R., Samsonowicz, M., Złowodzka, A. B., Priebe, W., & Lewandowski, W. (2021). Plant-Derived and Dietary Hydroxybenzoic Acids-A Comprehensive Study of Structural, Anti-/Pro-Oxidant, Lipophilic, Antimicrobial, and Cytotoxic Activity in MDA-MB-231 and MCF-7 Cell Lines. *Nutrients*, 13(9), 3107. <https://doi.org/10.3390/nu13093107>.
- [208]. El-Lateef, H. M. A., El-Dabea, T., Khalaf, M. M., & Abu-Dief, A. M. (2023). Recent Overview of Potent Antioxidant Activity of Coordination Compounds. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(2), 213. <https://doi.org/10.3390/antiox12020213>.
- [209]. Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J., & Borges, F. (2013). Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. *BioMed research international*, 2013, 251754. <https://doi.org/10.1155/2013/251754>.

الملاحق

الملحق 01: بعض صور الموضحة للدراسة الفيتوكيميائية

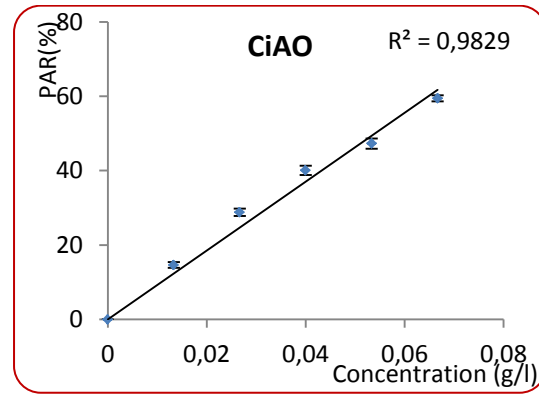
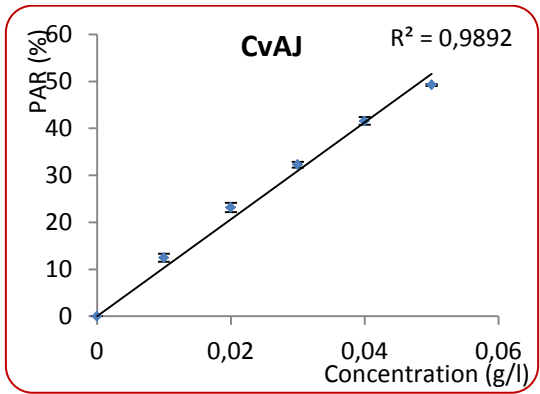
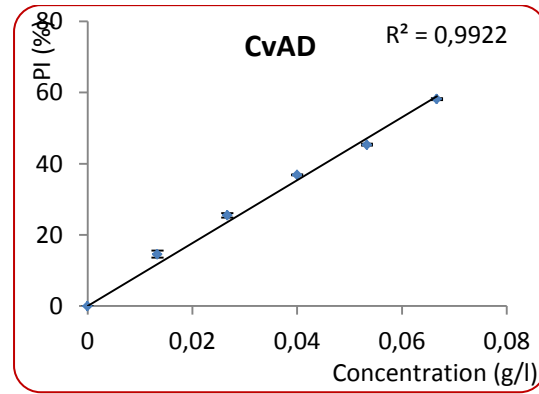
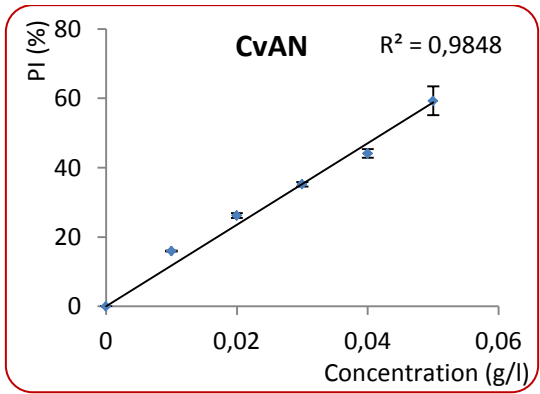
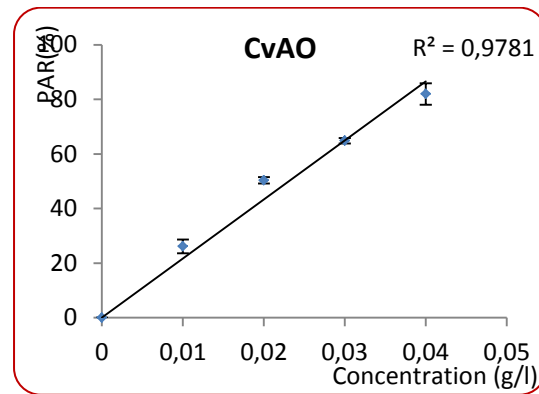
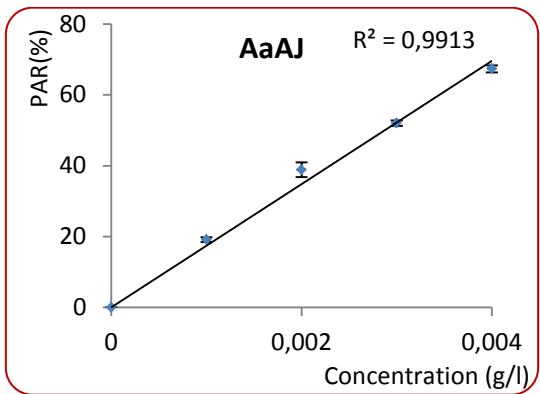
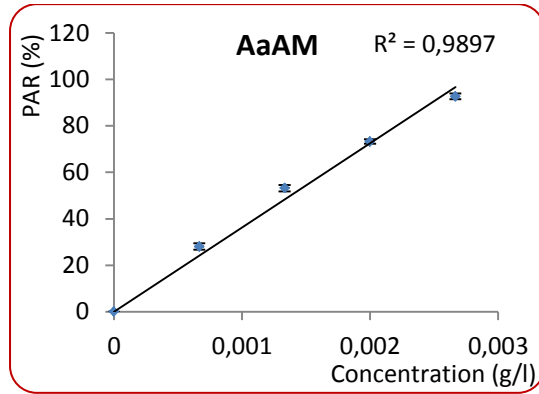
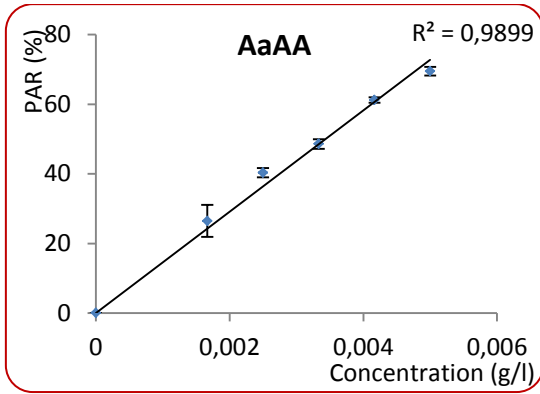
	
نتائج الكشف عن الفلويونات	نتائج الكشف عن الأنثوسيانينات
	
نتائج الكشف عن anthracenique combinés (anthrone و/أو anthranols)	نتائج الكشف عن anthraceniques combinés (C-hétéroside)

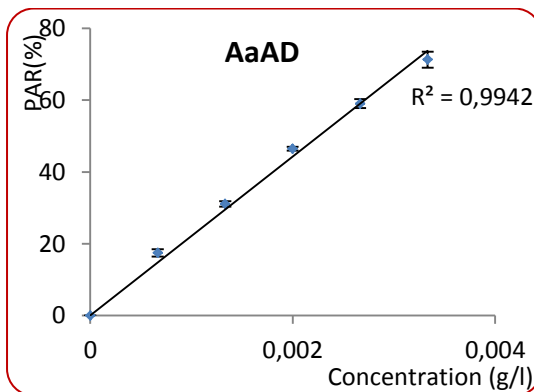
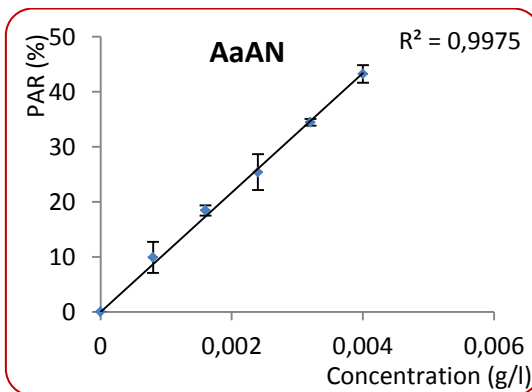
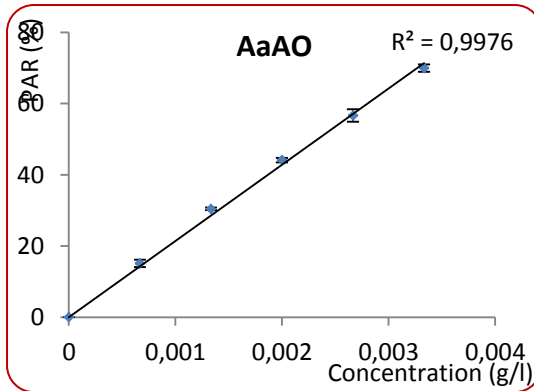
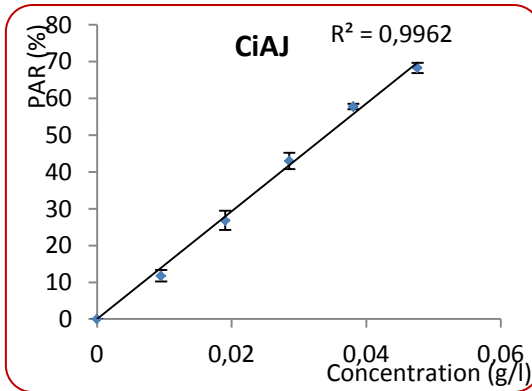
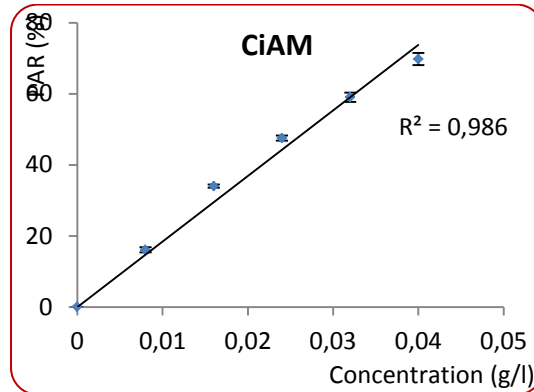
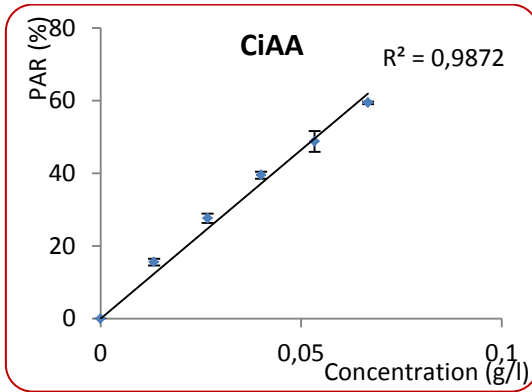
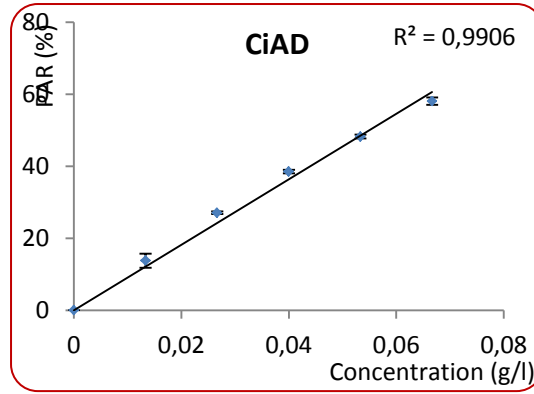
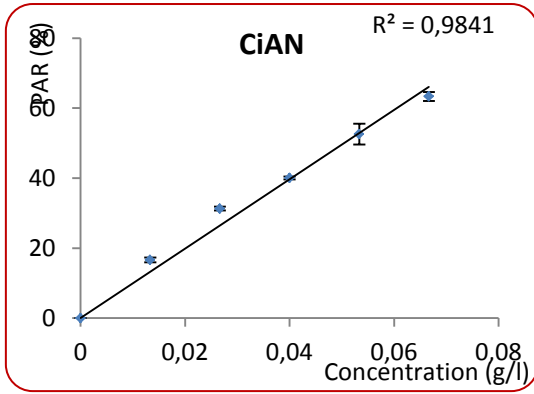
الملاحق

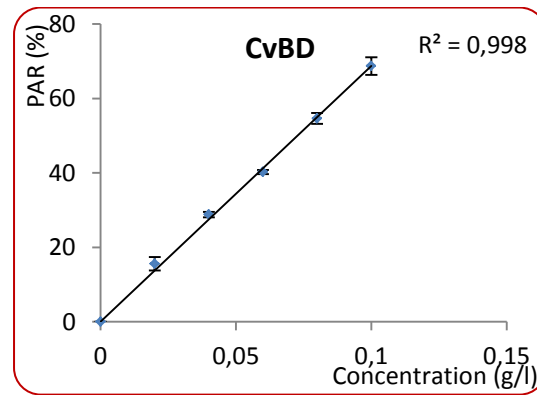
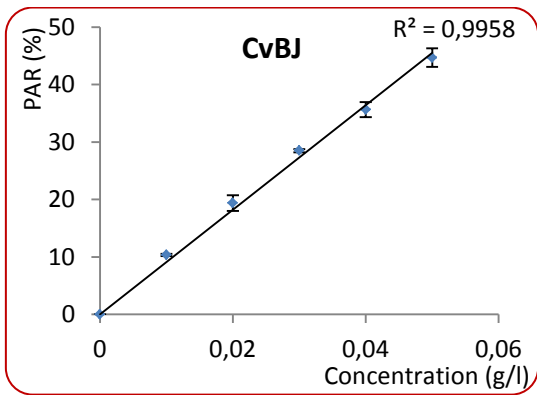
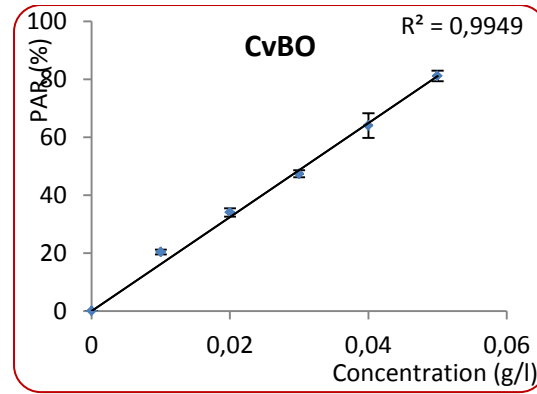
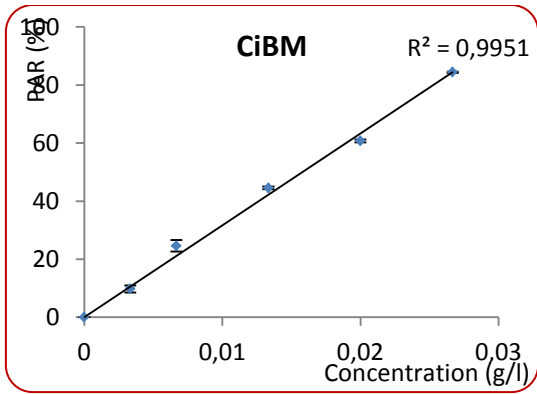
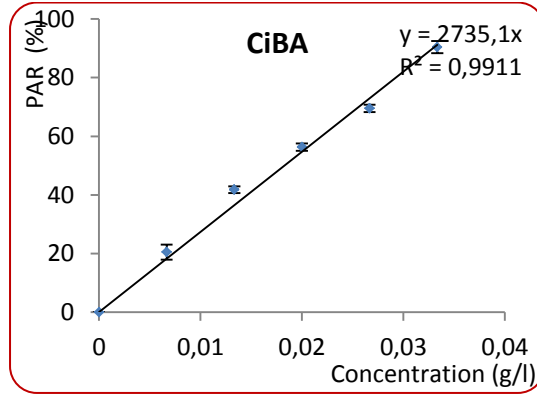
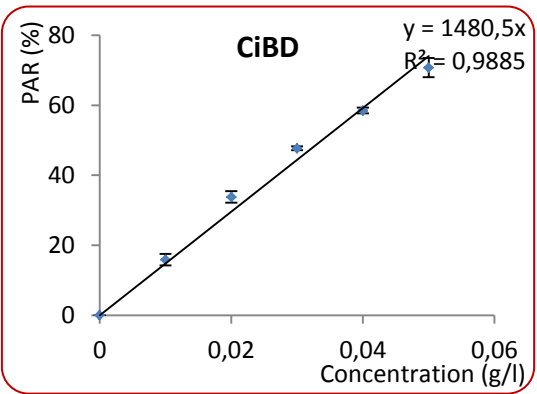
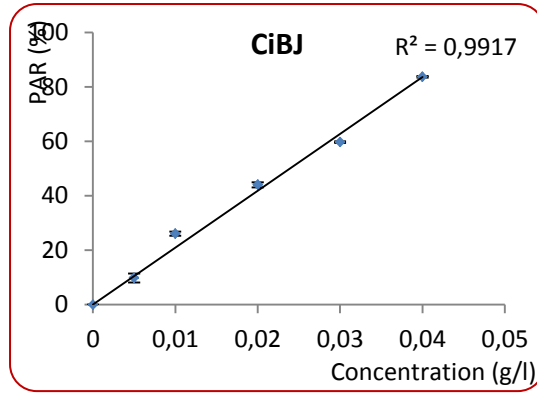
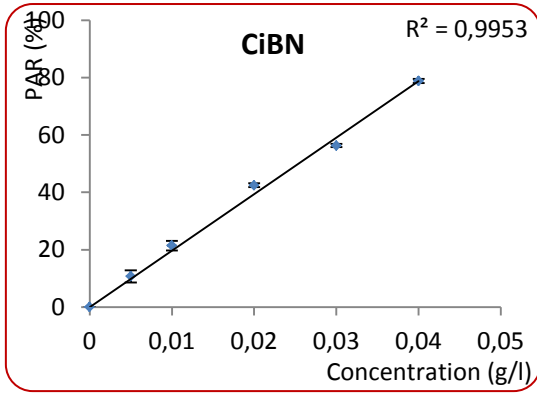
الملحق 02: المتوسط درجة الحرارة ونسبة التساقط في فترة جمع العينات (حسب الديوان الوطني للأرصاد الجوية (O.N.M.

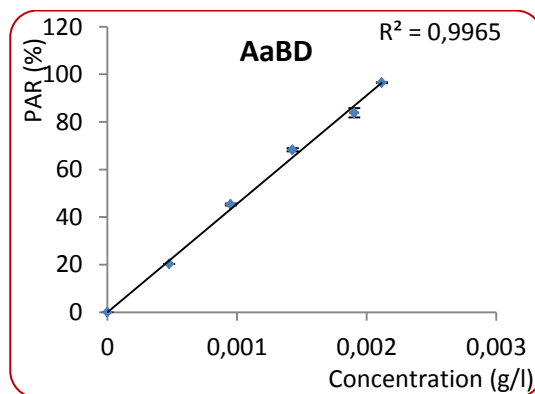
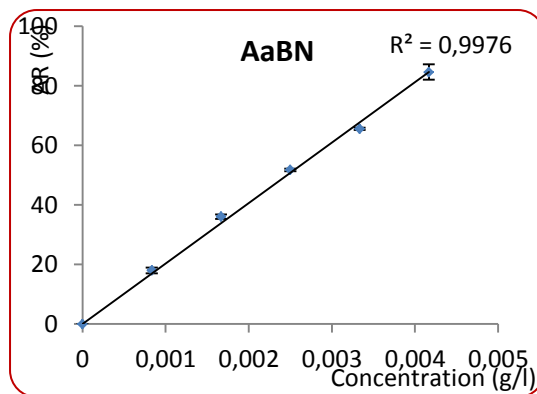
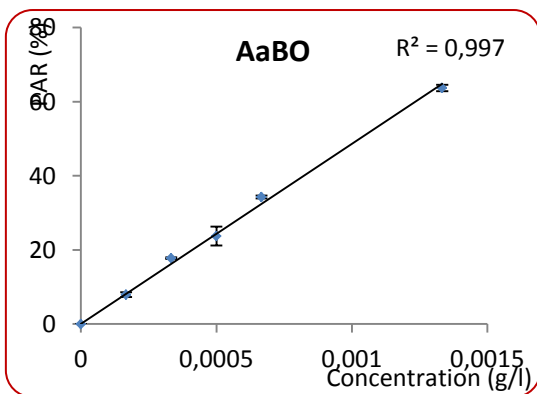
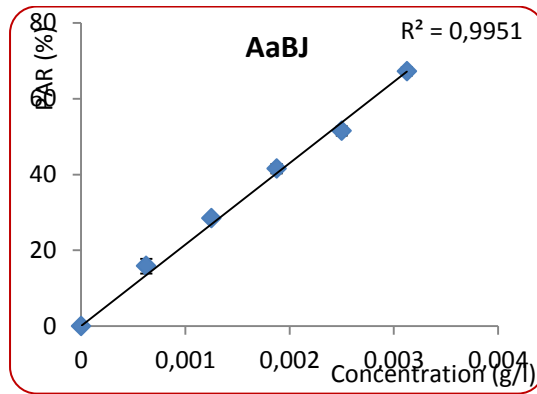
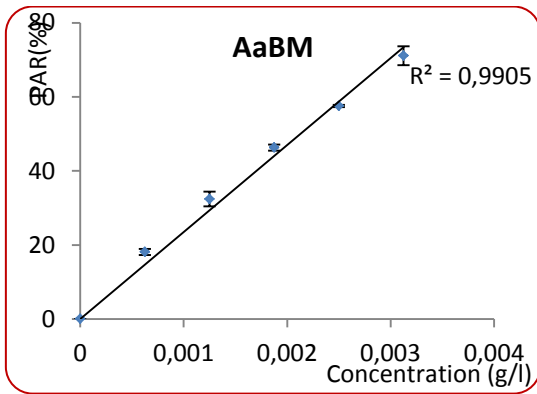
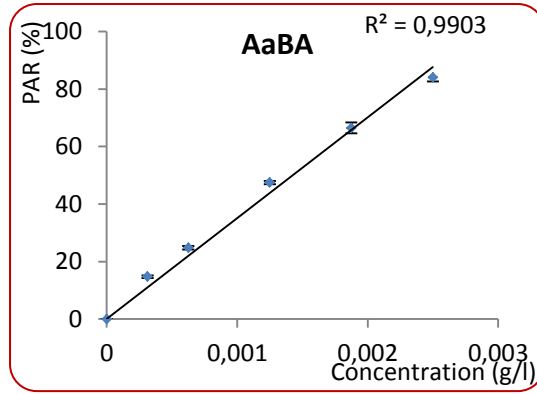
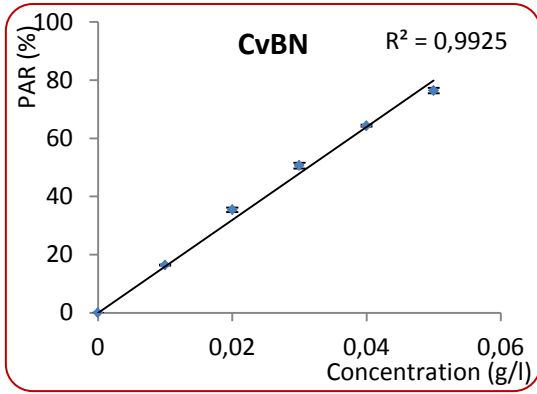
Année	2012			2013		
	Oct.	Nov.	Dec.	Avril.	Mai	Juin
T (°C)	17.9	12.9	08.5	16.9	21.4	30.5
P (mm)	25.0	04	10	33.5	1.6	/

الملحق 03: منحنيات التأثير الإزاحي للمستخلصات النباتية على جذر الـ DPPH

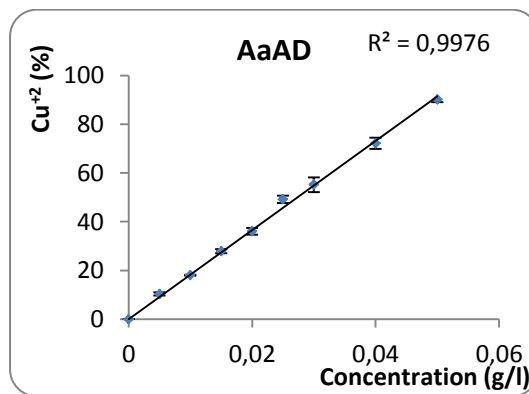
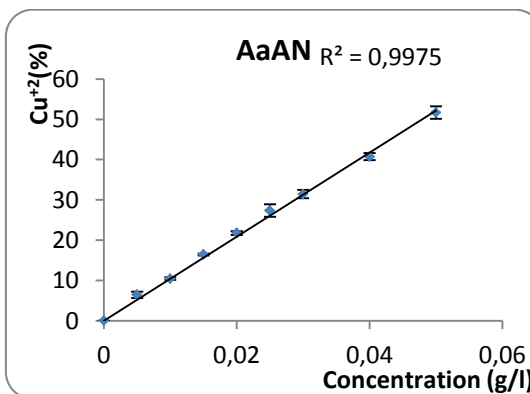
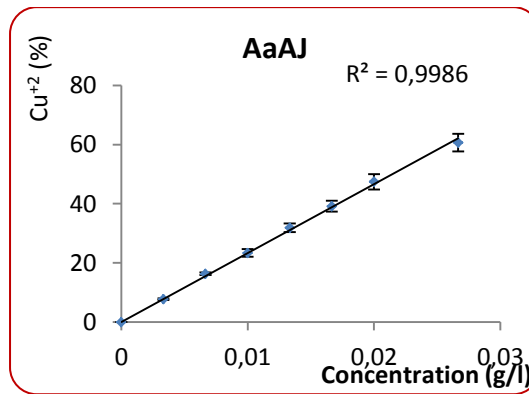
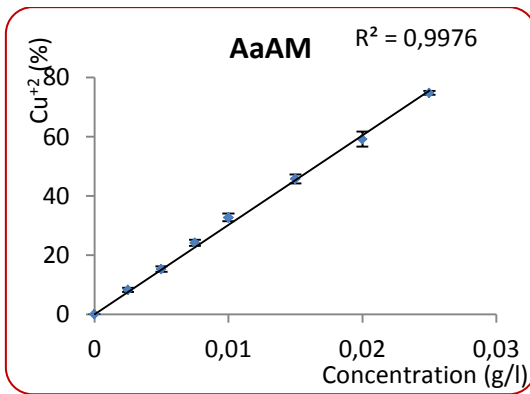
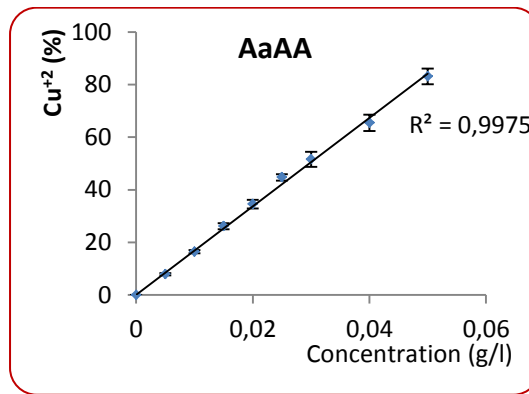
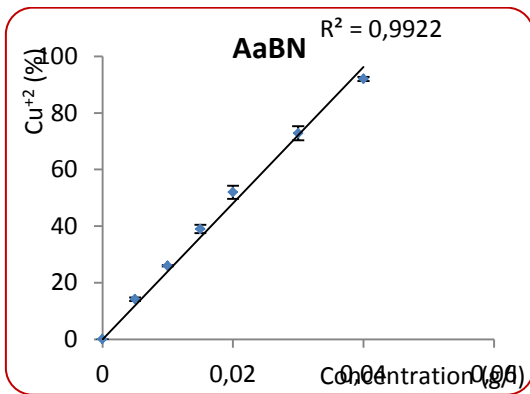
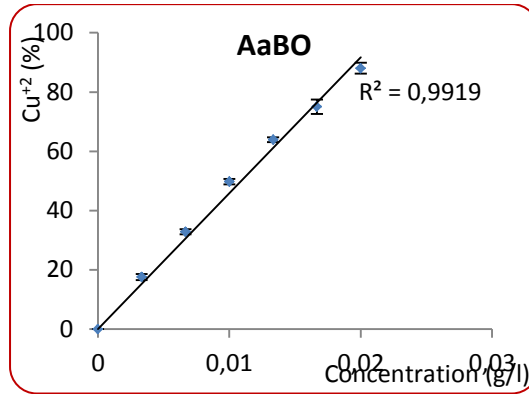
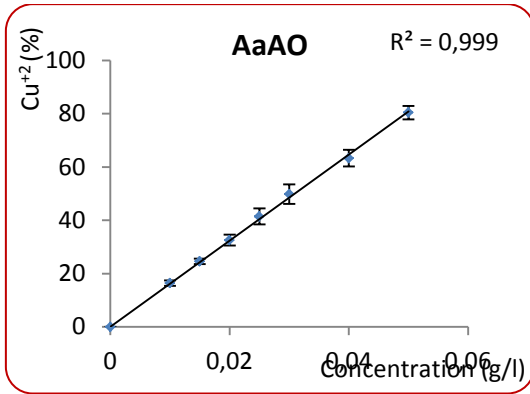


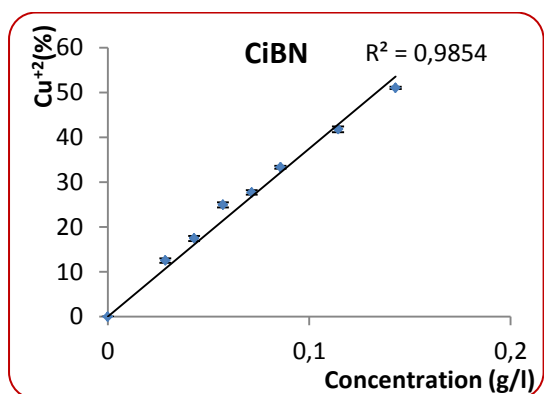
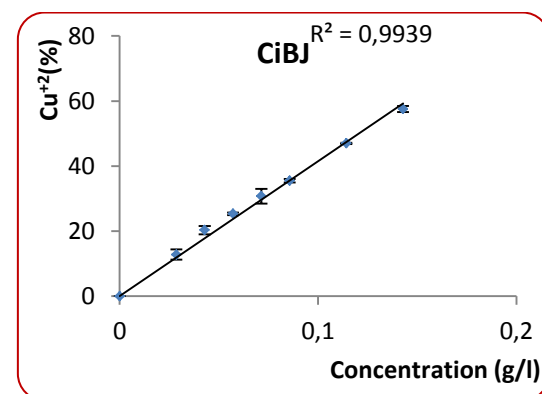
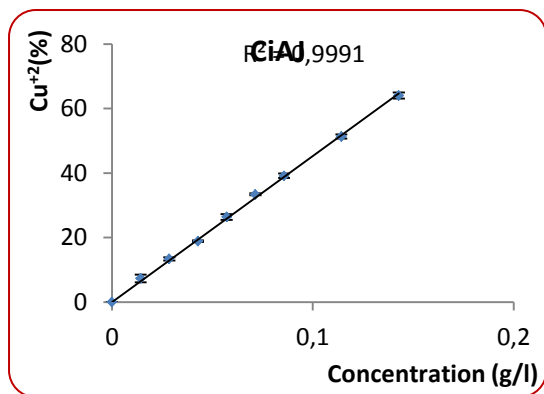
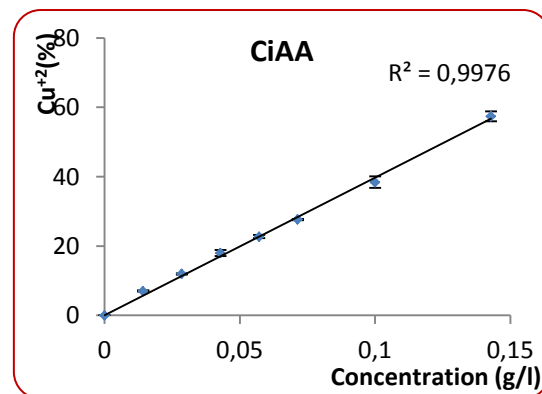
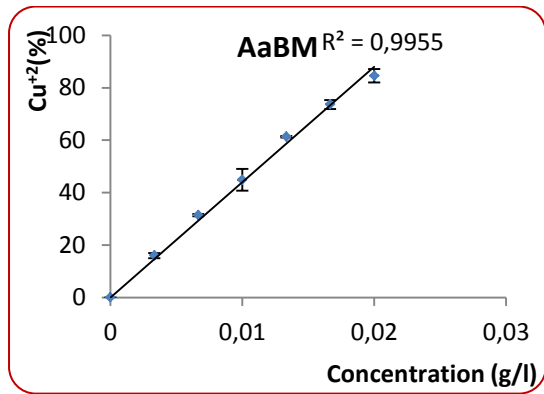
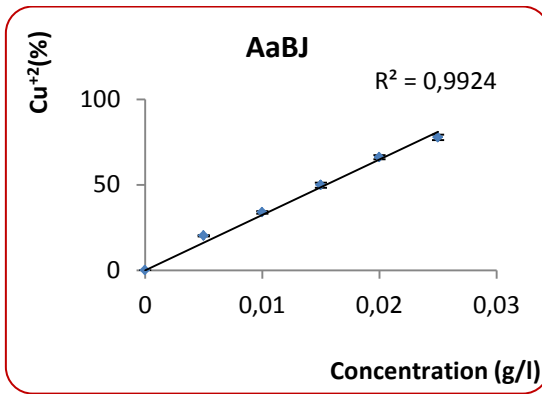
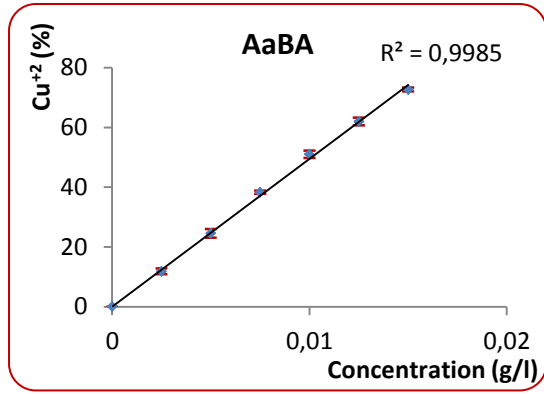
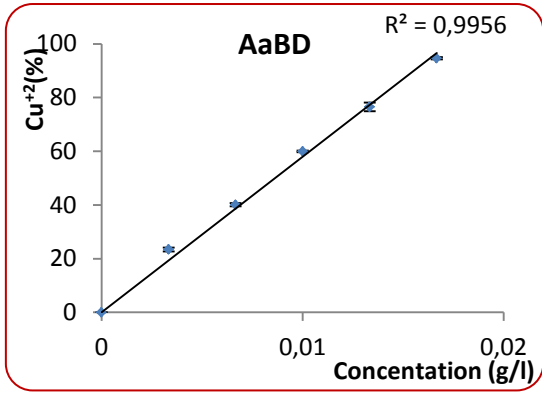


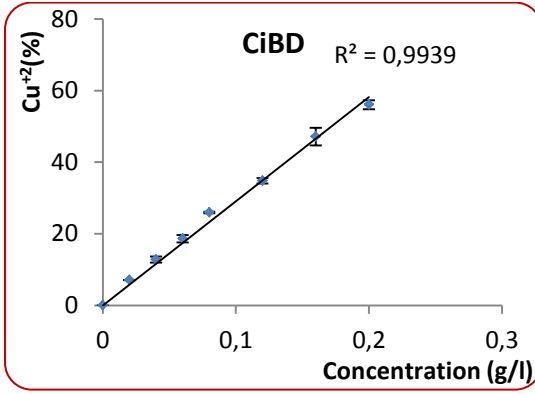
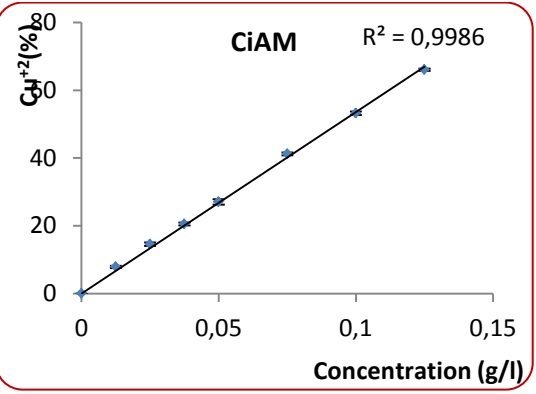
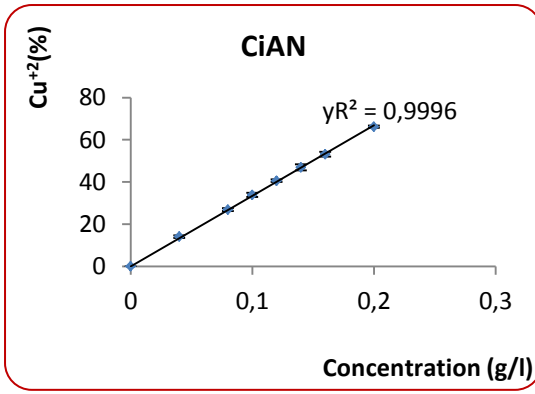
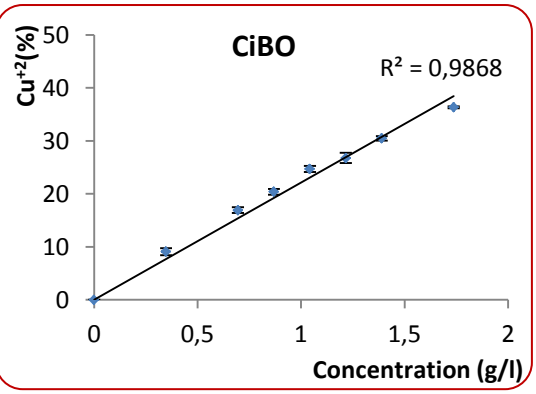
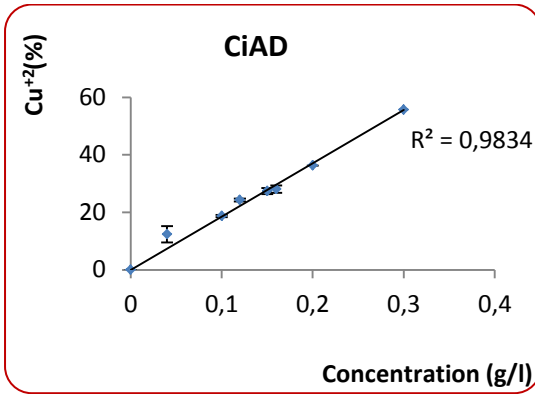
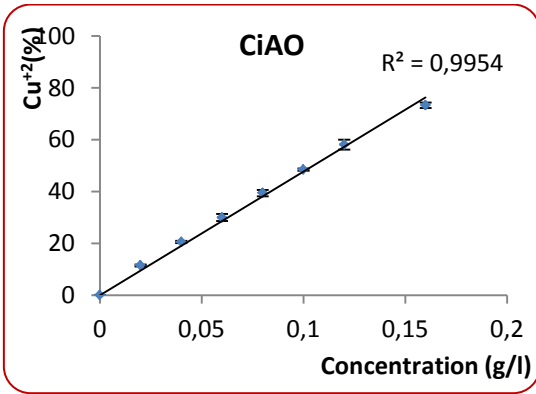
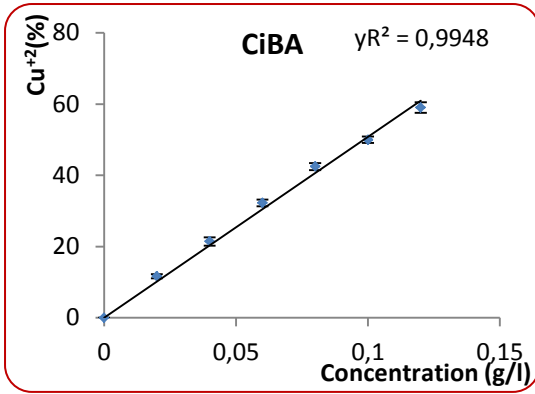
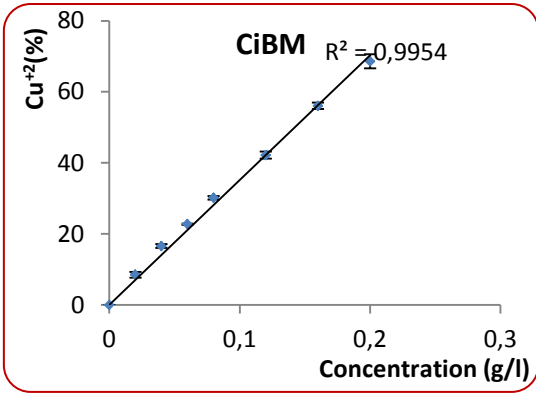


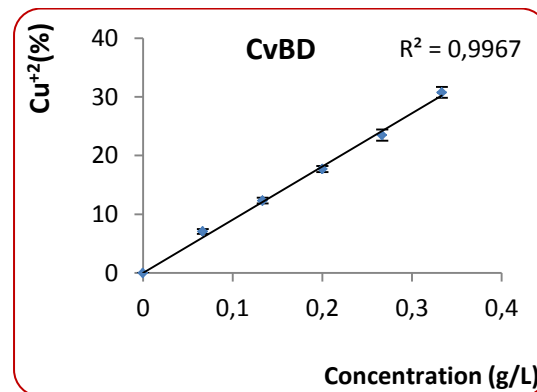
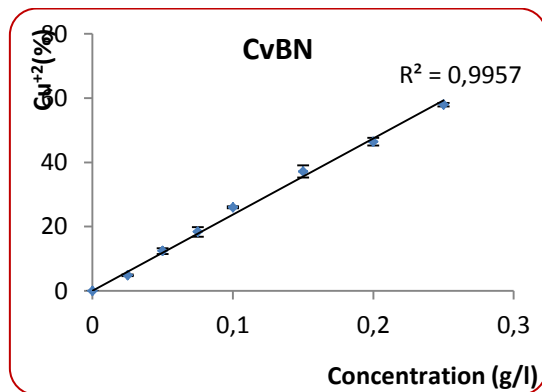
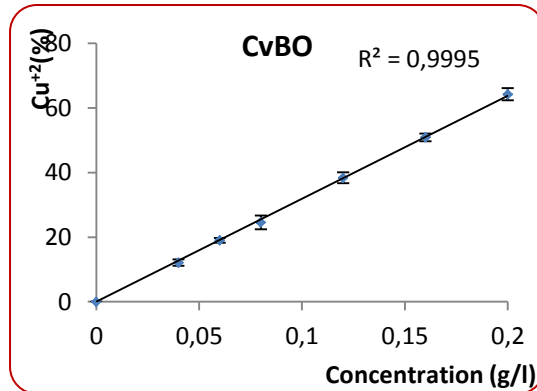
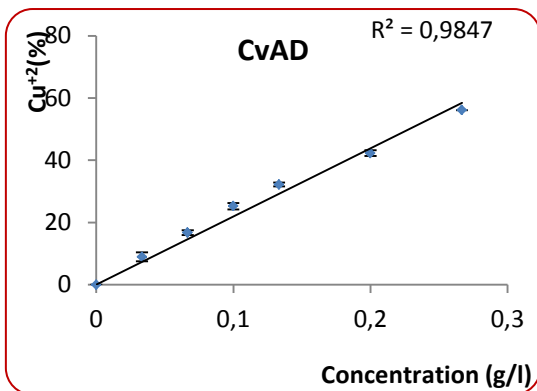
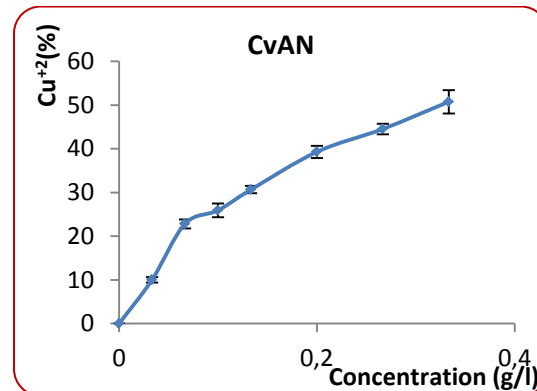
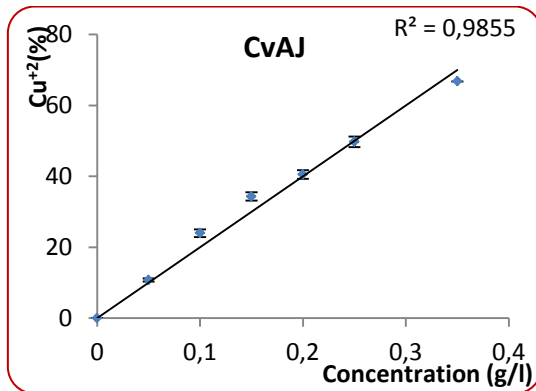
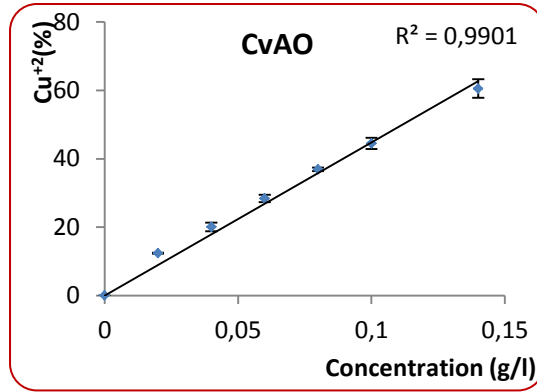
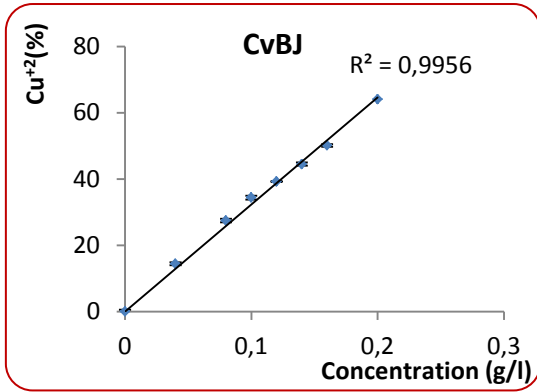


الملحق 04: منحنيات النشاط الارجاعي لأيونات النحاس الثنائية للمستخلصات النباتية

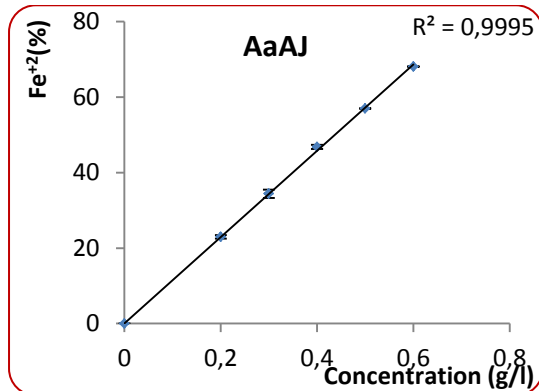
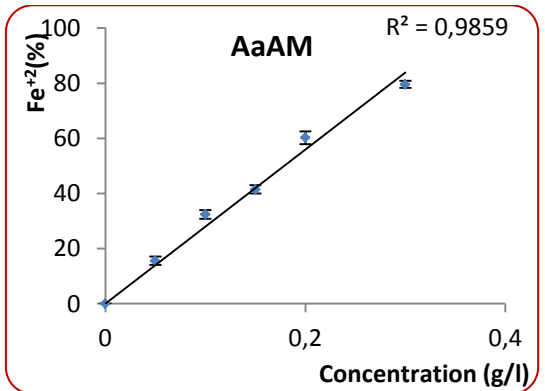
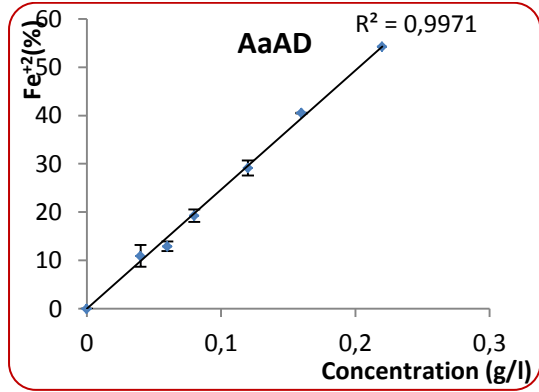
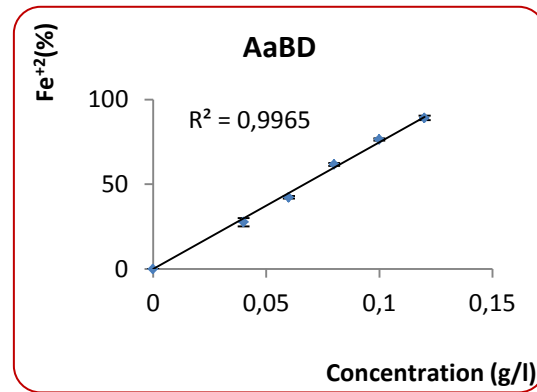
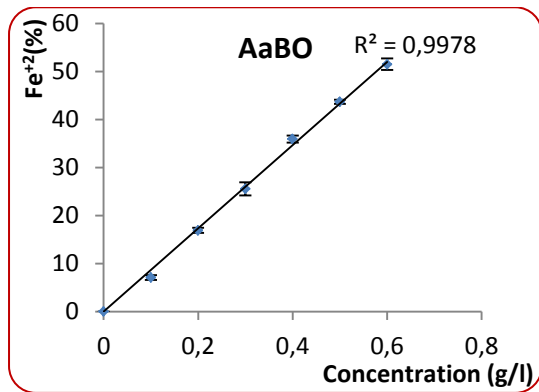
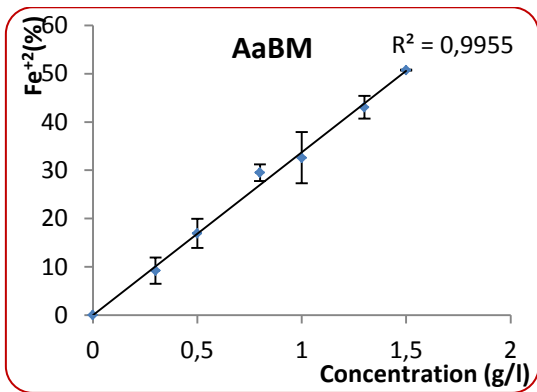
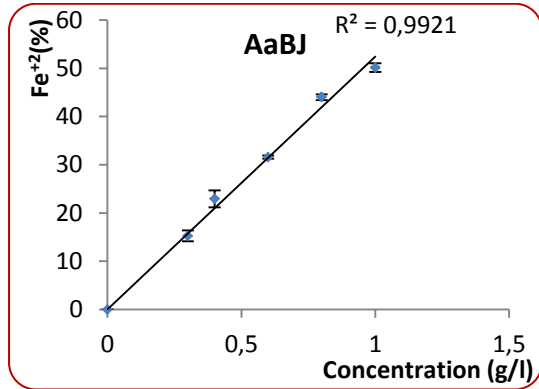
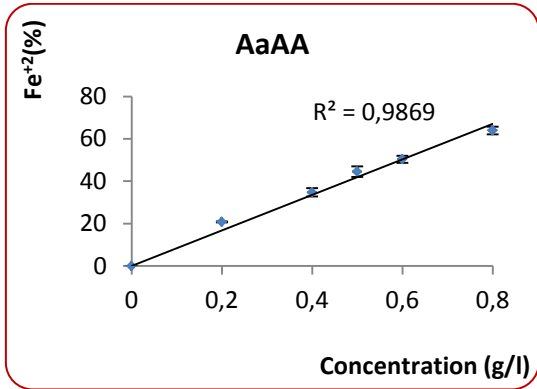


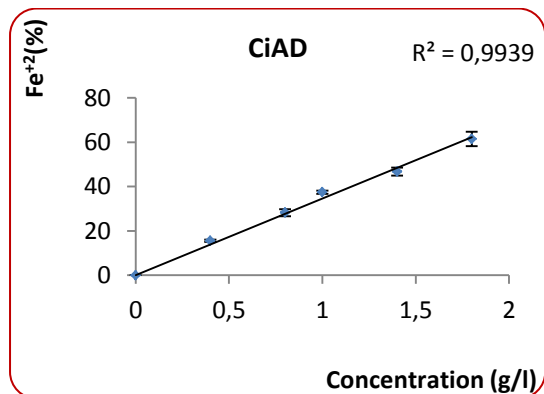
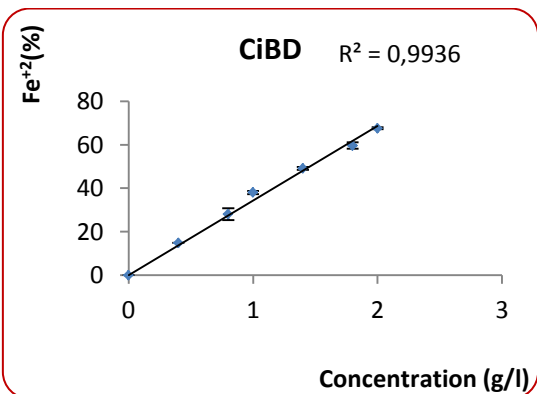
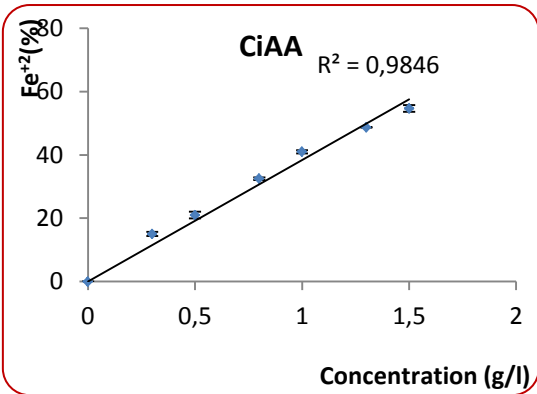
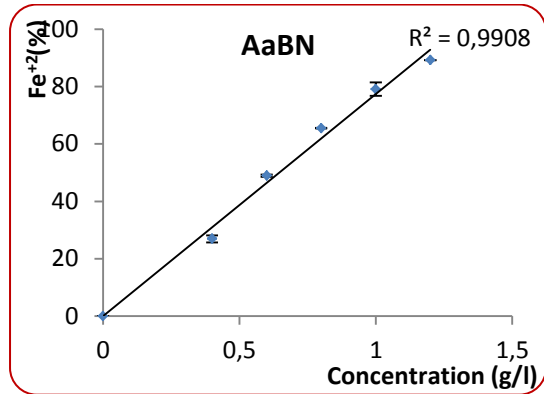
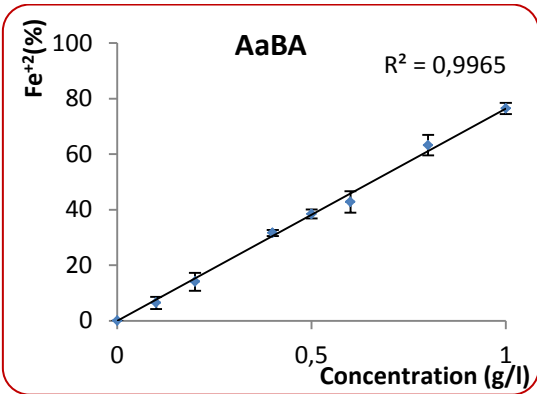
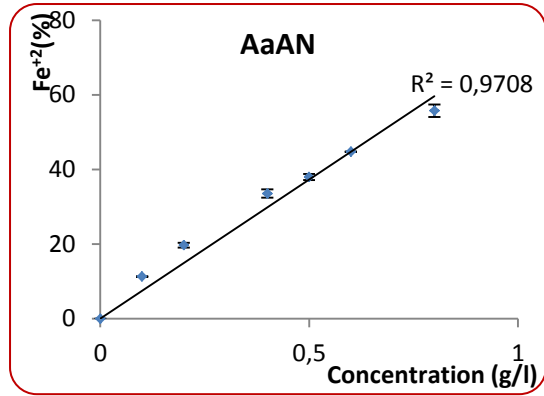
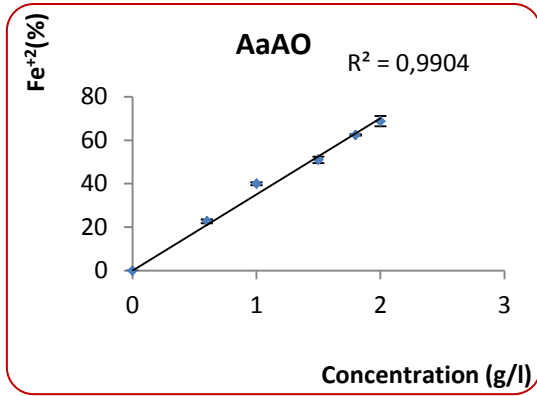


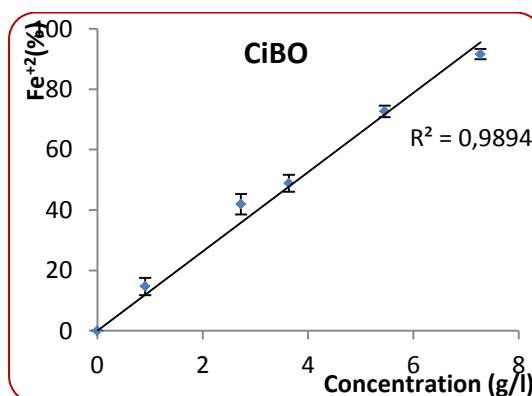
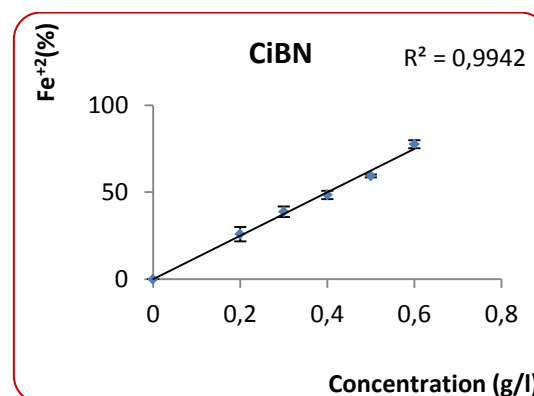
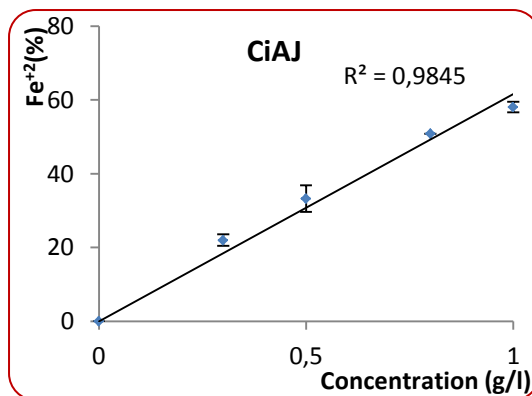
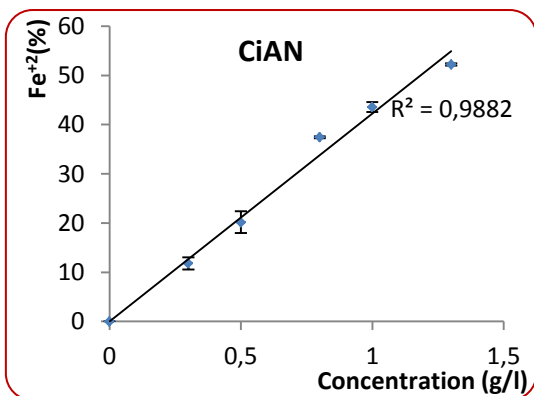
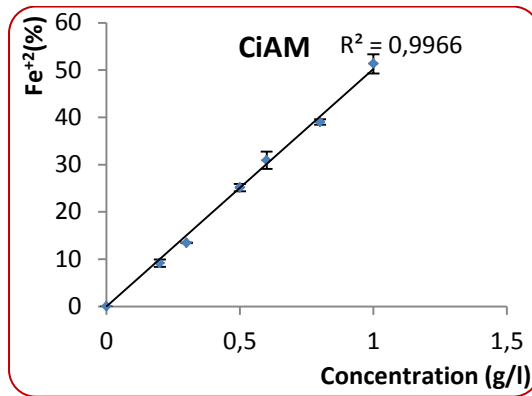
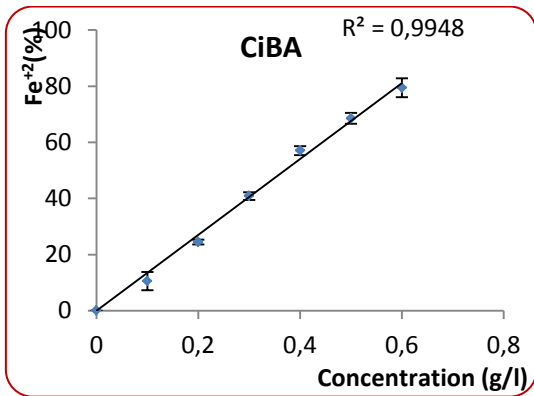
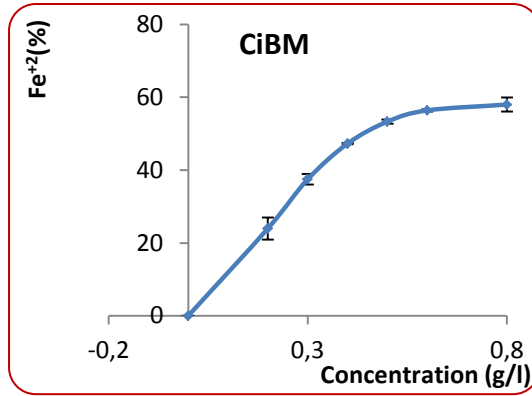
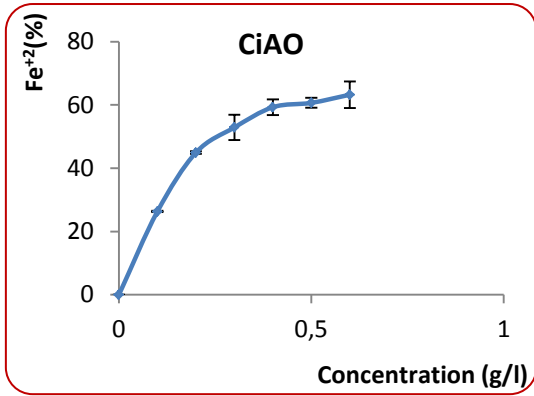


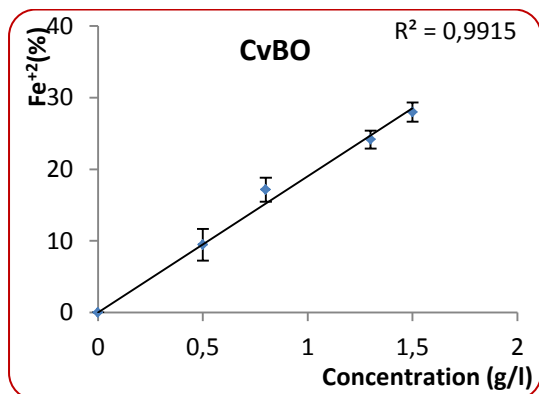
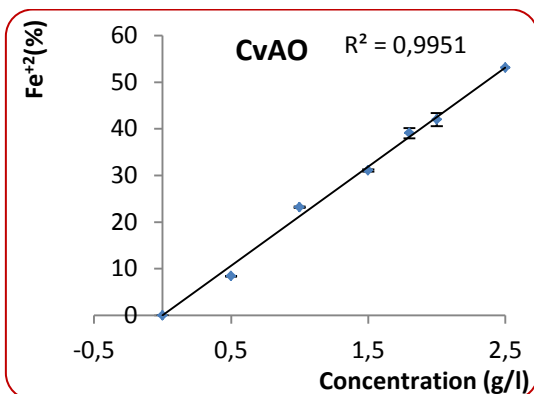
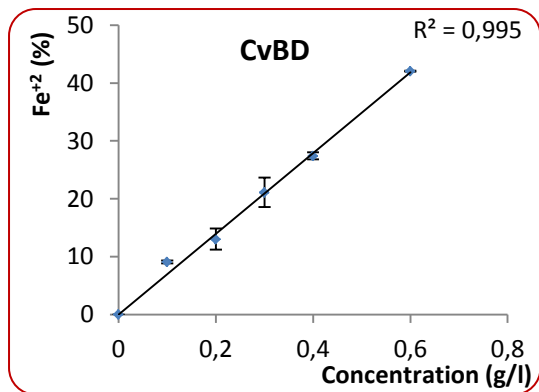
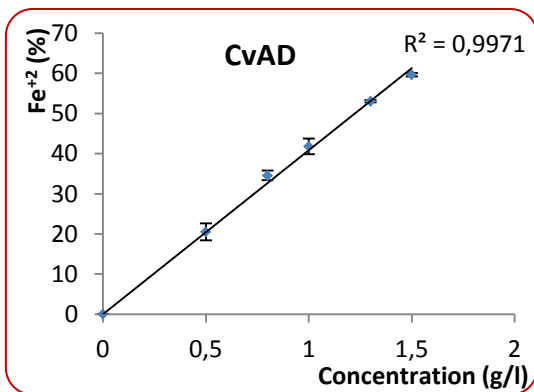
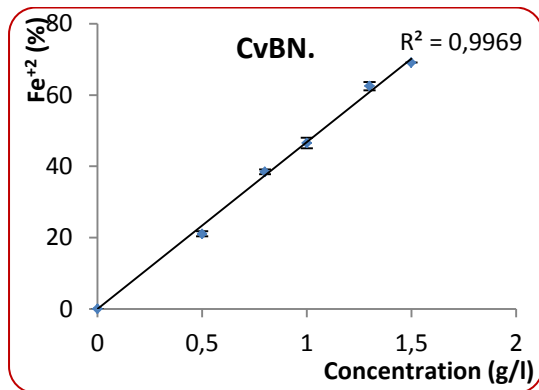
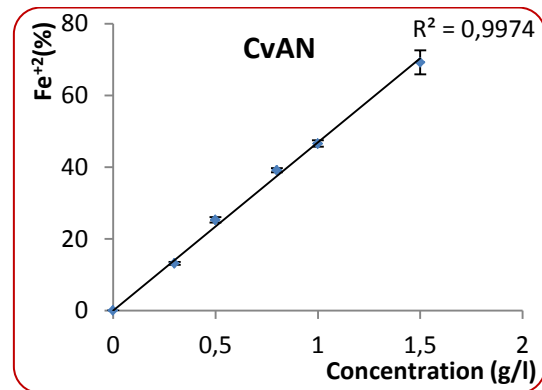
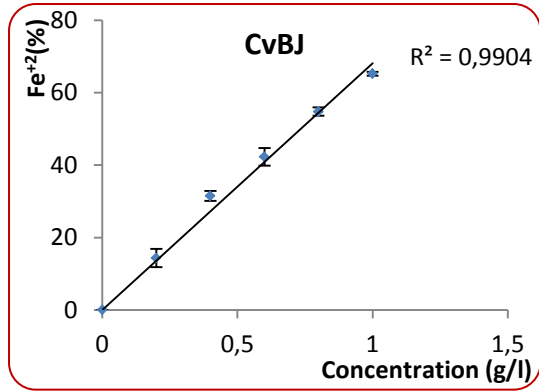
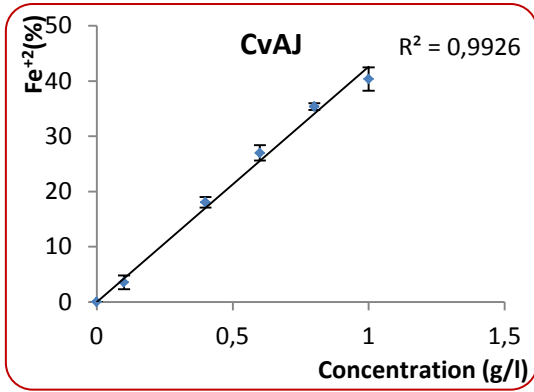


الملحق 05: منحنيات نشاط استخلاص أيونات الحديد الثنائية Fe^{+2} للمستخلصات النباتية





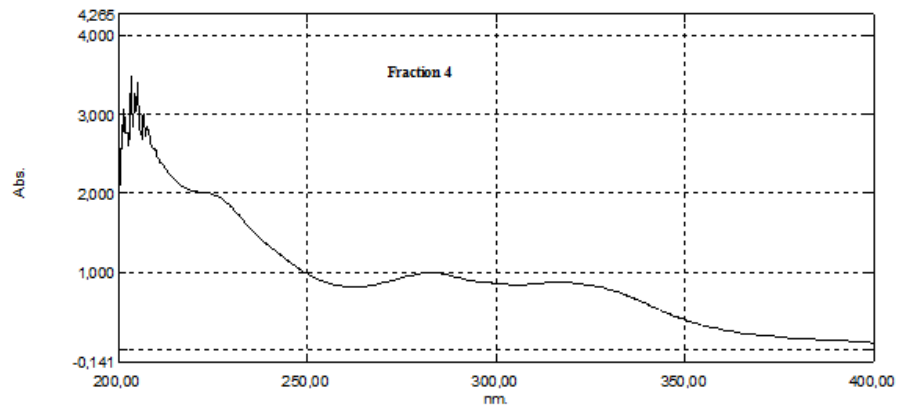
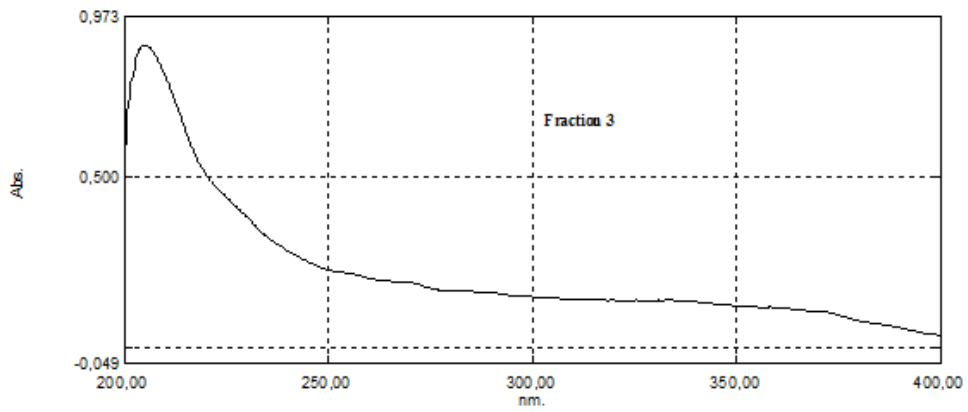
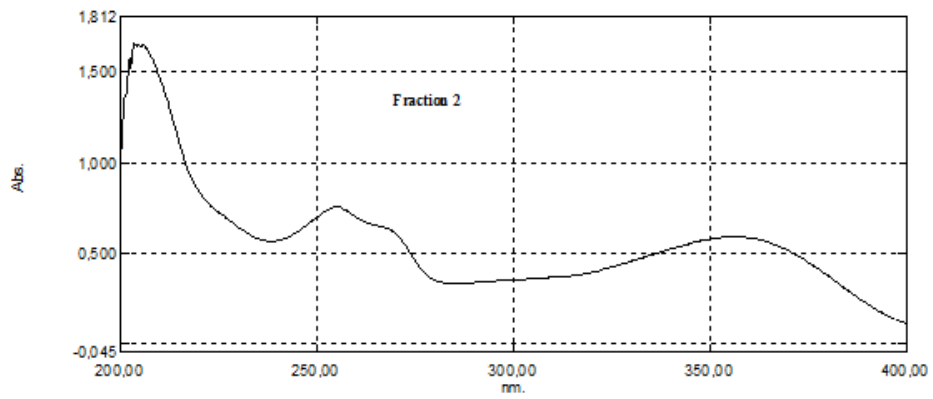
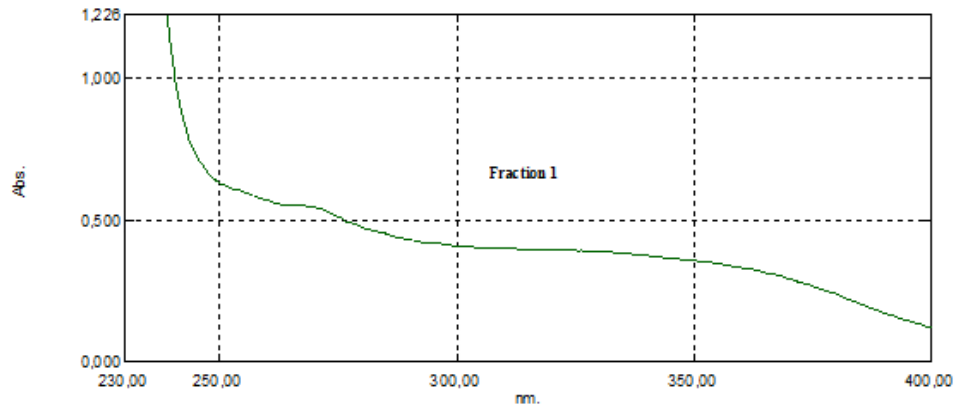


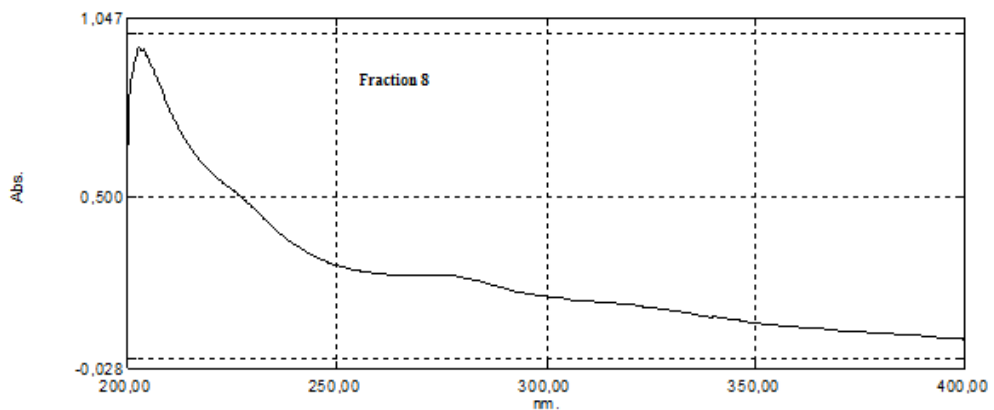
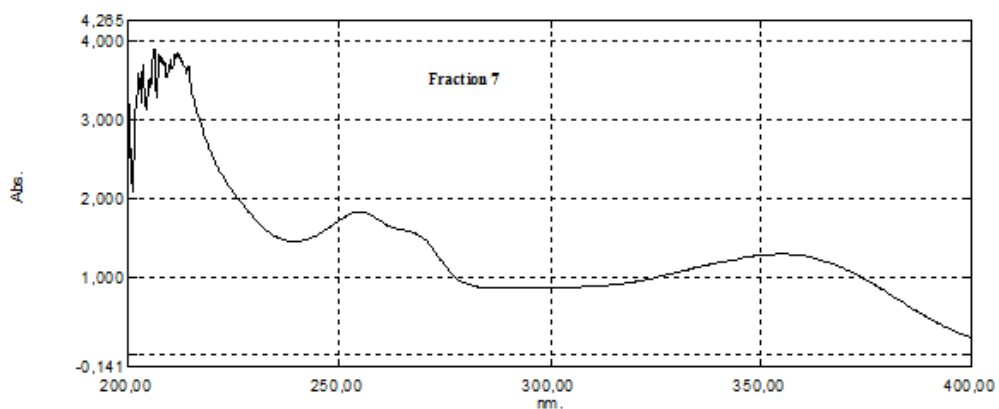
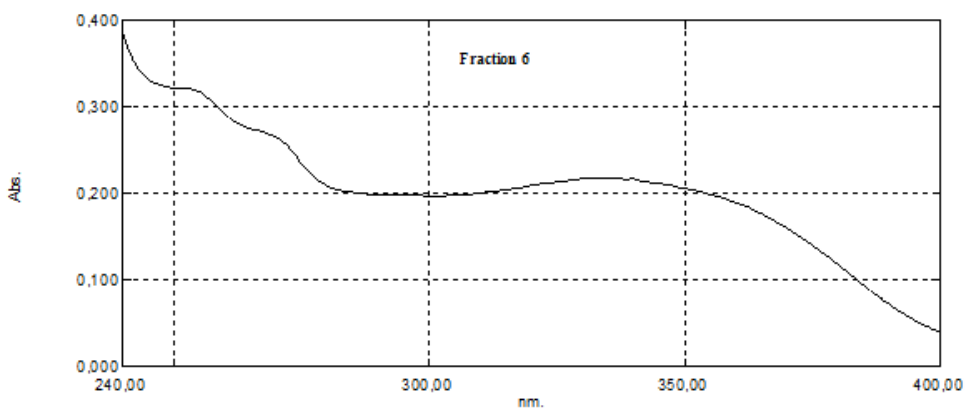
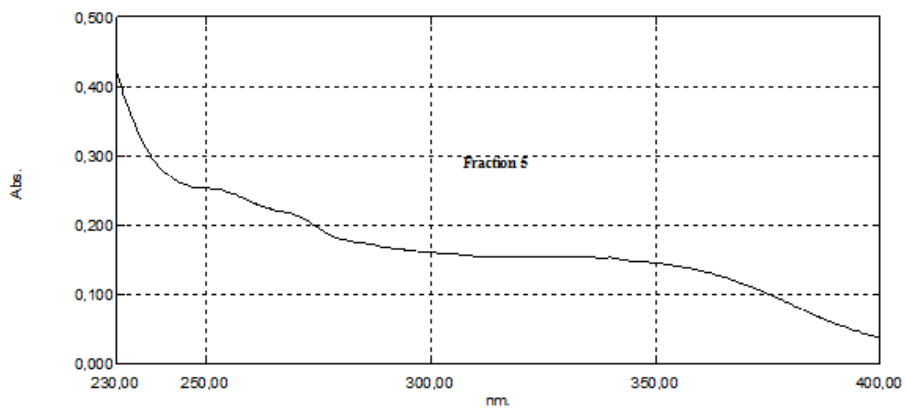


الملحق 06: إحداثيات العينات على المحورين F1 و F2 حسب التحليل PCA

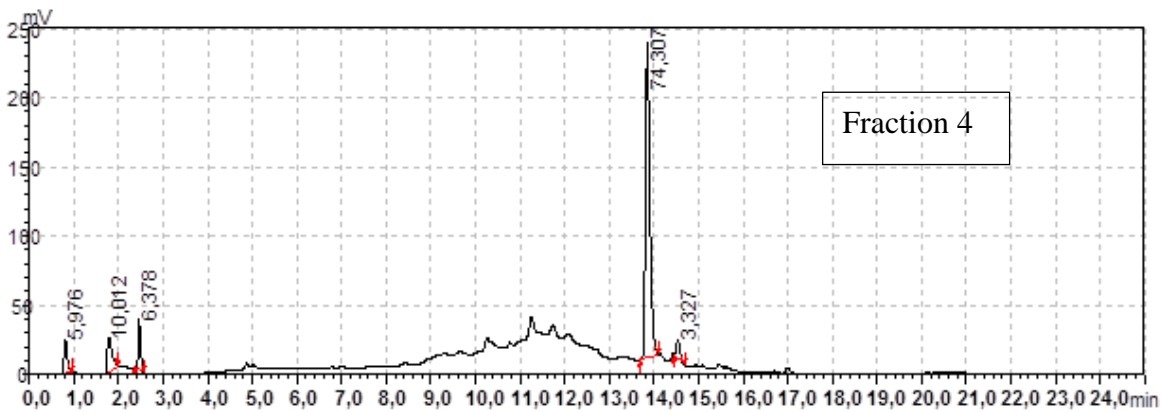
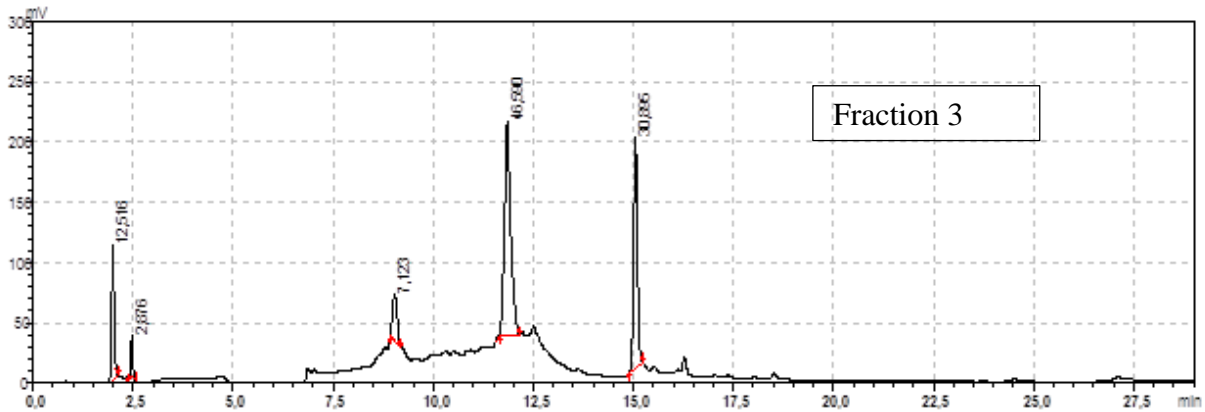
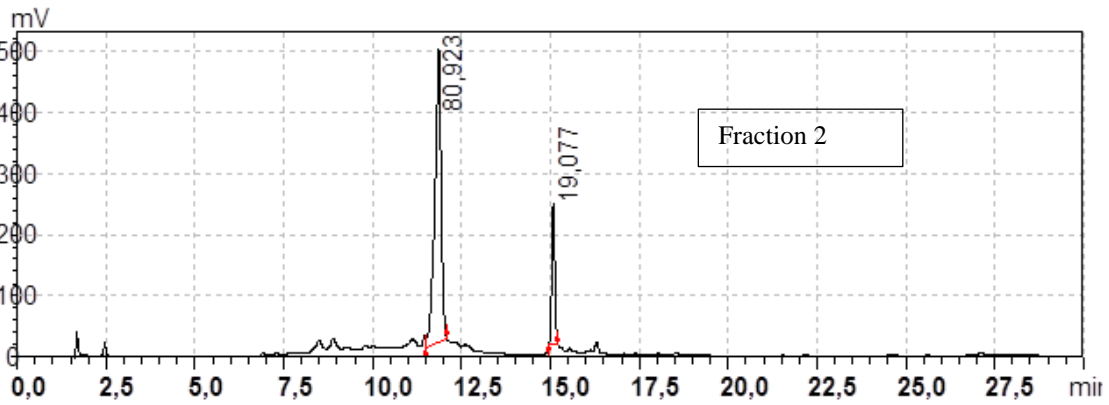
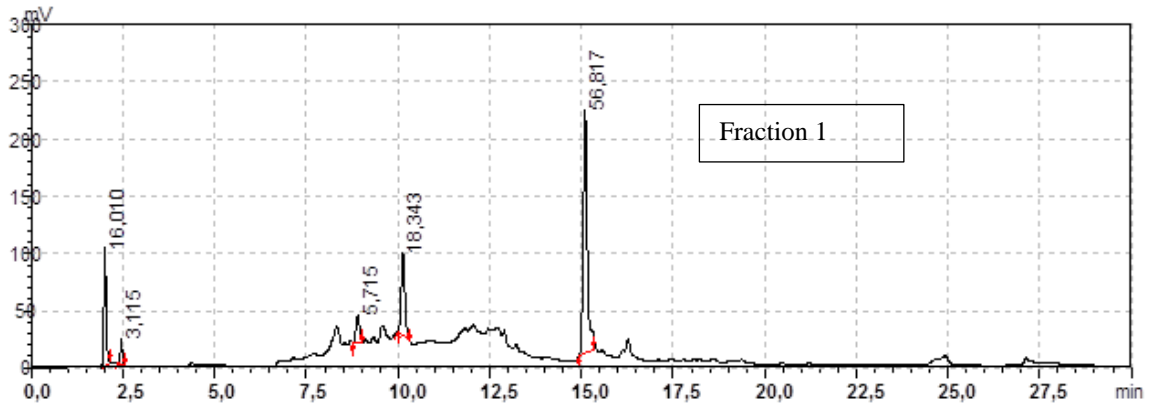
F2	F1	العينة	F2	F1	العينة	F2	F1	العينة
0,1084	-0,4363	CvAJ	-0,1197	-1,1473	CiAA	0,5532	2,5357	AaAA
-0,7956	1,1670	CvAO	-0,1882	-0,6091	CiAM	0,3943	0,7331	AaAM
-0,4881	-1,1369	CvAN	0,0454	-0,8735	CiAJ	-0,2124	1,0806	AaAJ
-0,3822	-0,7090	CvAD	3,2655	-1,5149	CiAO	-0,3232	1,7703	AaAO
-1,4198	-1,0921	CvBJ	-0,2072	-0,8817	CiAN	0,6670	1,6446	AaAN
-1,6785	-0,6629	CvBO	-0,9876	-1,8282	CiAD	1,5533	1,1150	AaAD
-0,1712	-1,5640	CvBN	-0,4057	-2,1106	CiBA	-0,5744	3,0110	AaBA
-0,4850	-0,9587	CvBD	-0,7603	-2,0357	CiBM	0,0408	3,9989	AaBM
			-0,3078	-1,8039	CiBJ	-0,4643	3,1472	AaBJ
			2,9395	-2,5505	CiBO	0,5558	4,0427	AaBO
			-0,0899	-2,1513	CiBN	-0,2682	0,6664	AaBN
			-0,3026	-1,8676	CiBD	0,5088	1,0220	AaBD

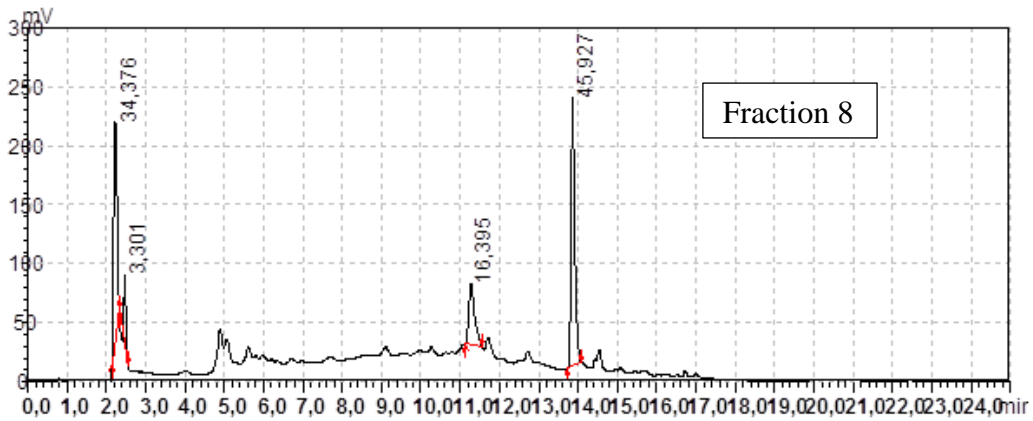
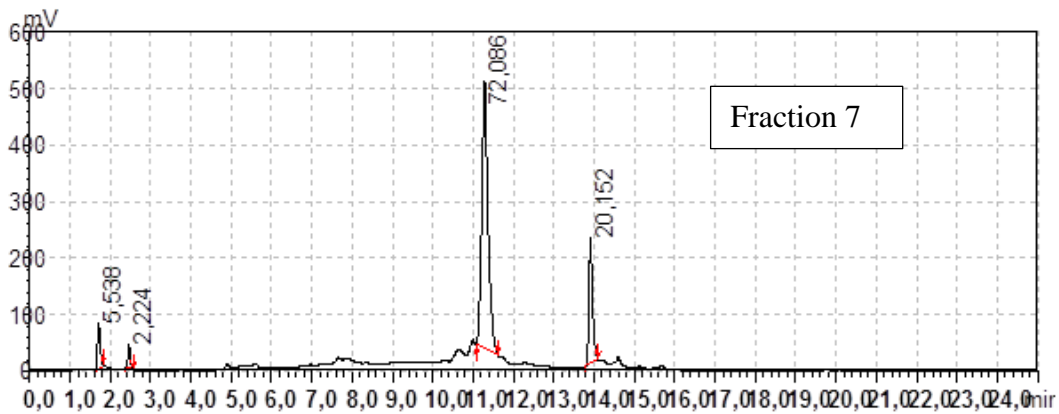
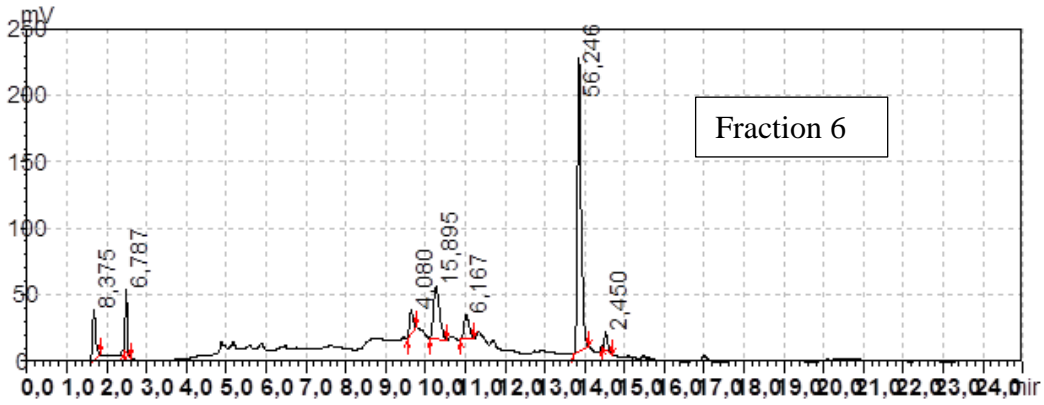
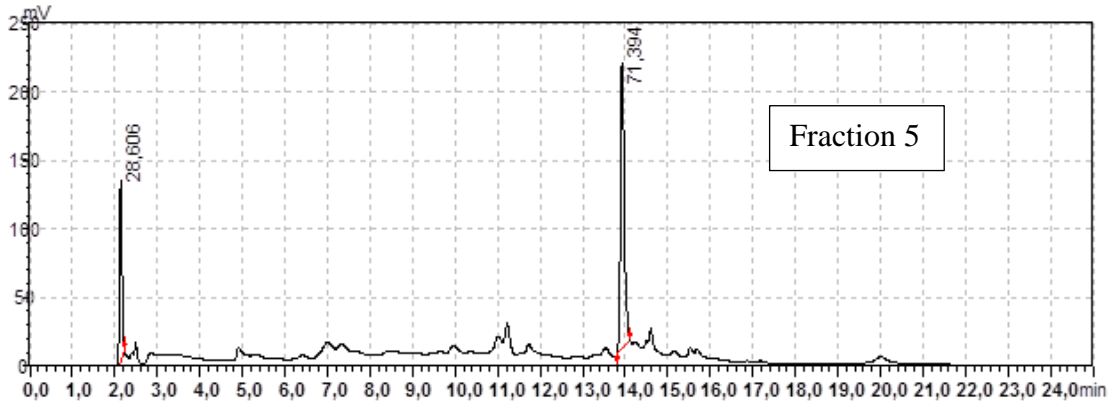
الملحق 07: طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المسجل للكسور المفصولة



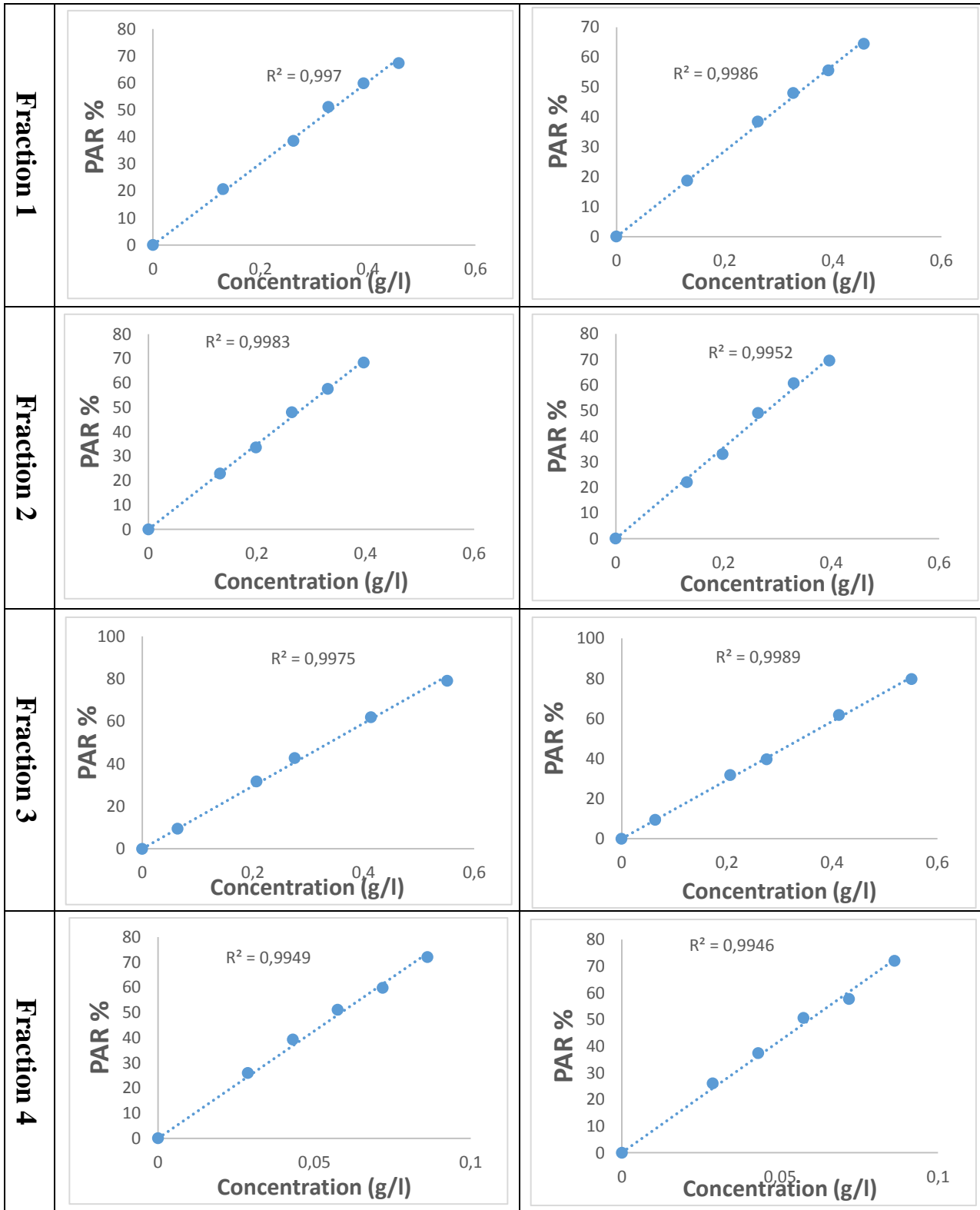


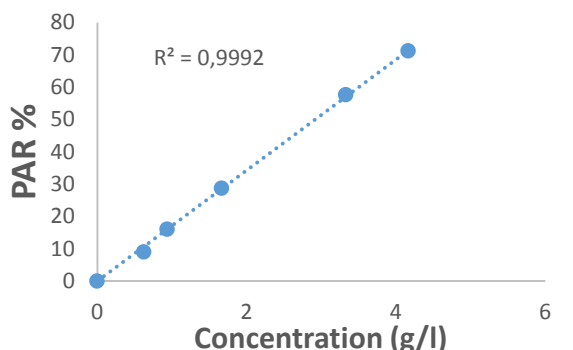
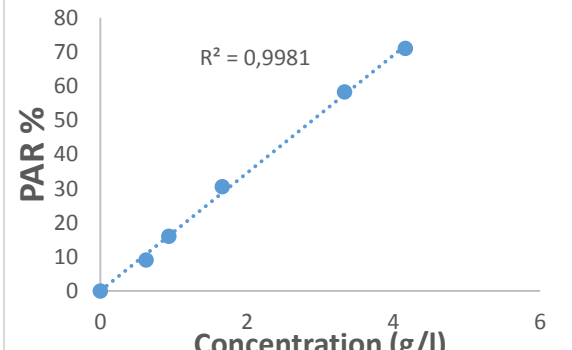
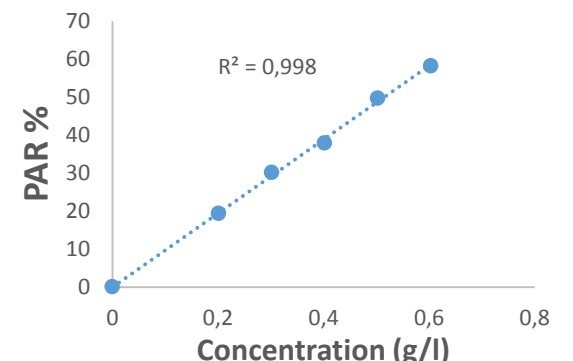
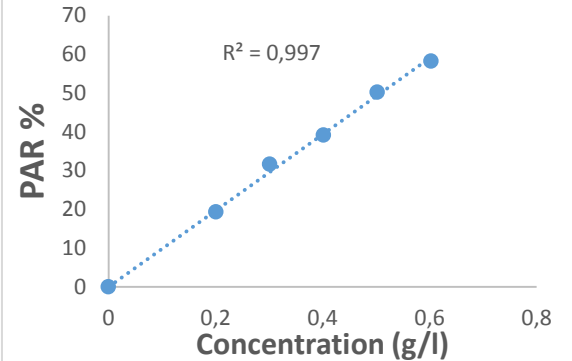
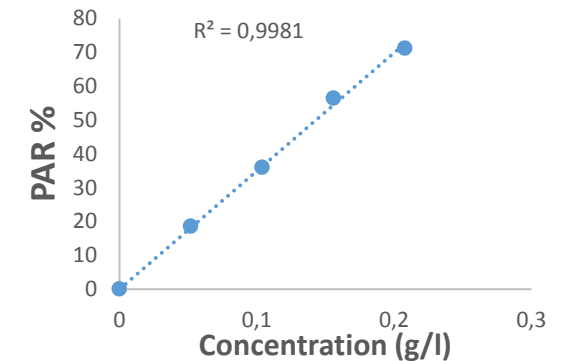
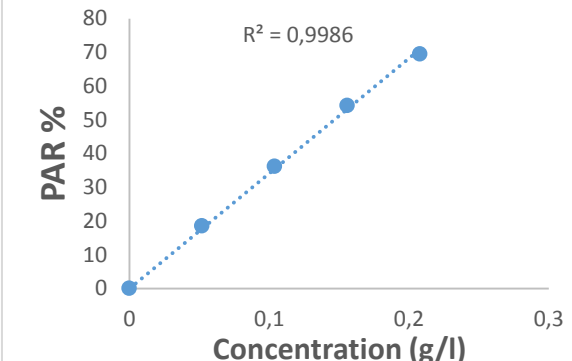
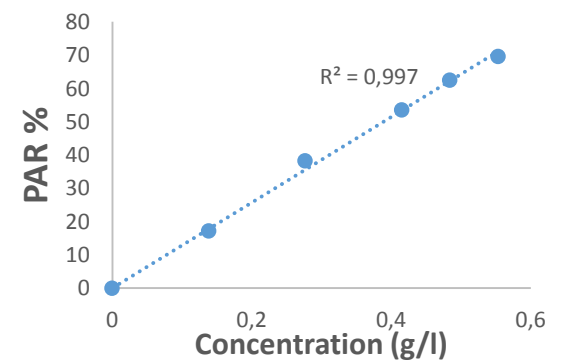
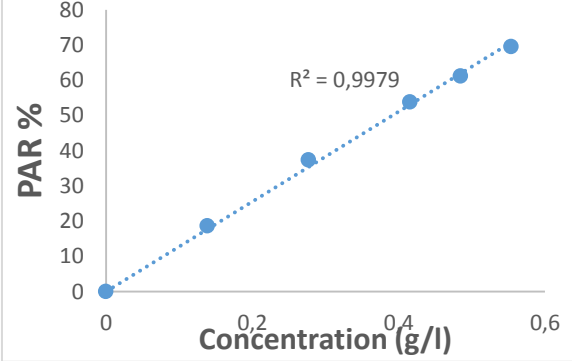
الملحق 08: المنحنيات الكروماتوغرافية للكسور المدروسة



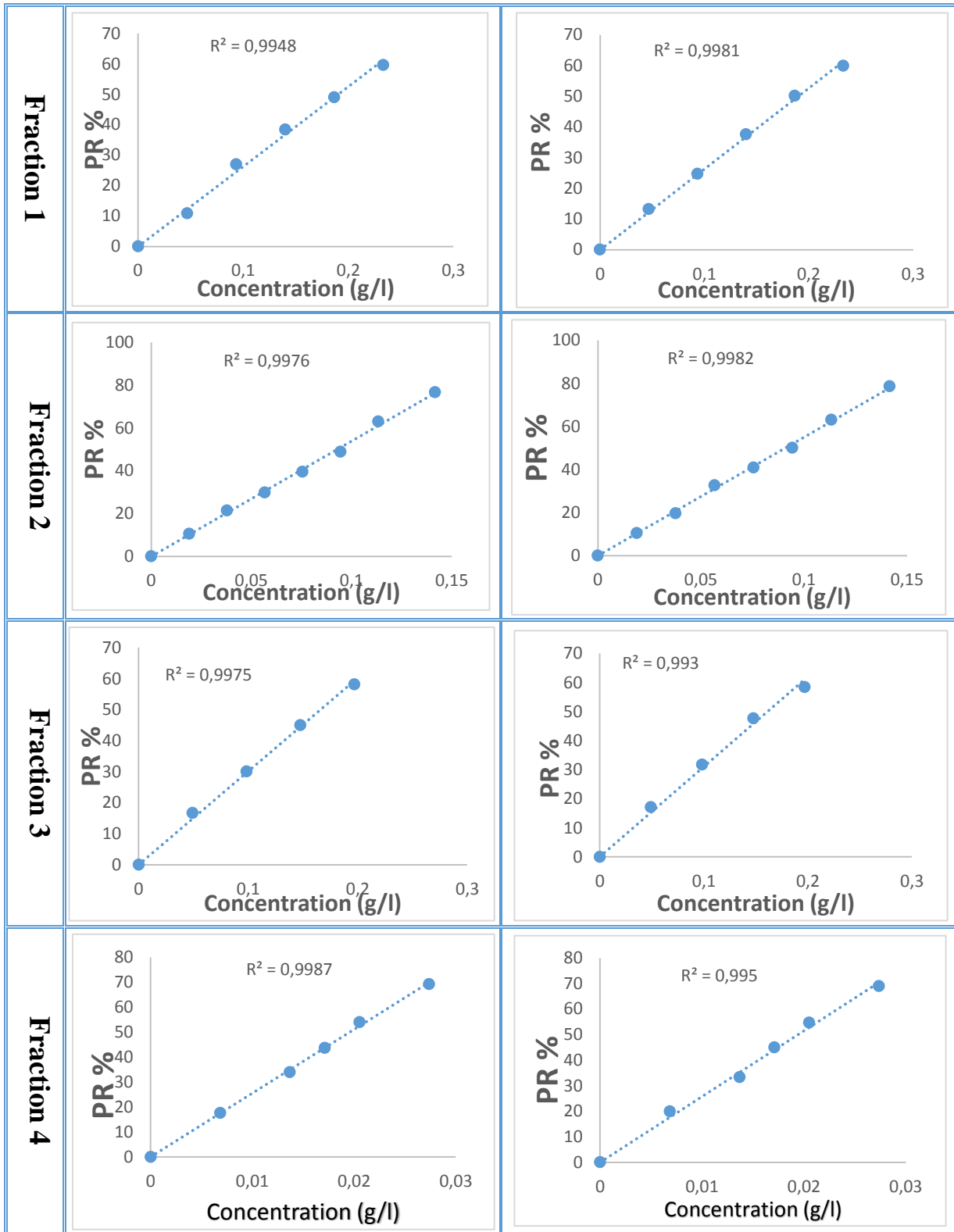


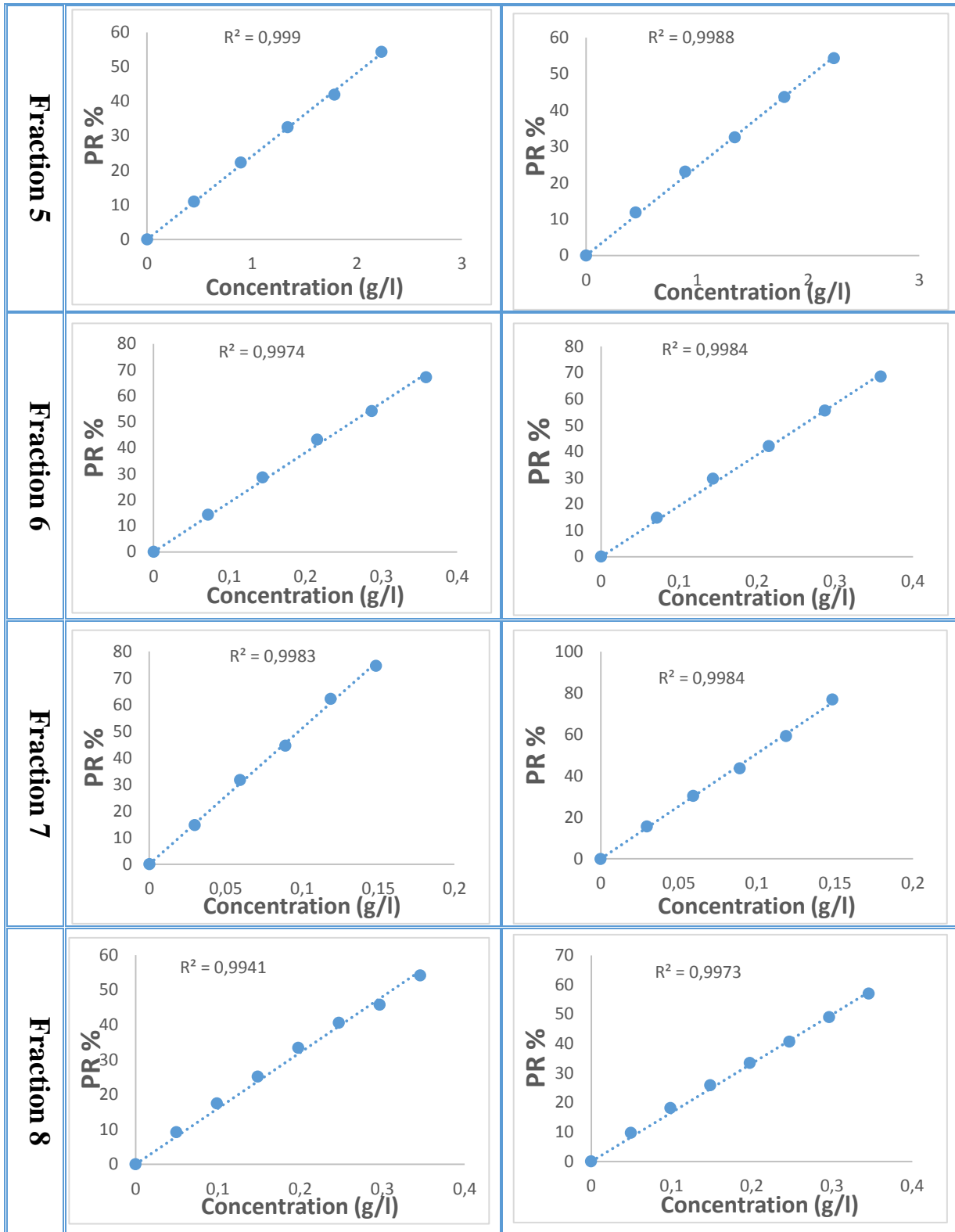
الملحق 09: منحنيات النشاط الإزاحي لجذر الـ DPPH بواسطة الكسور المفصولة



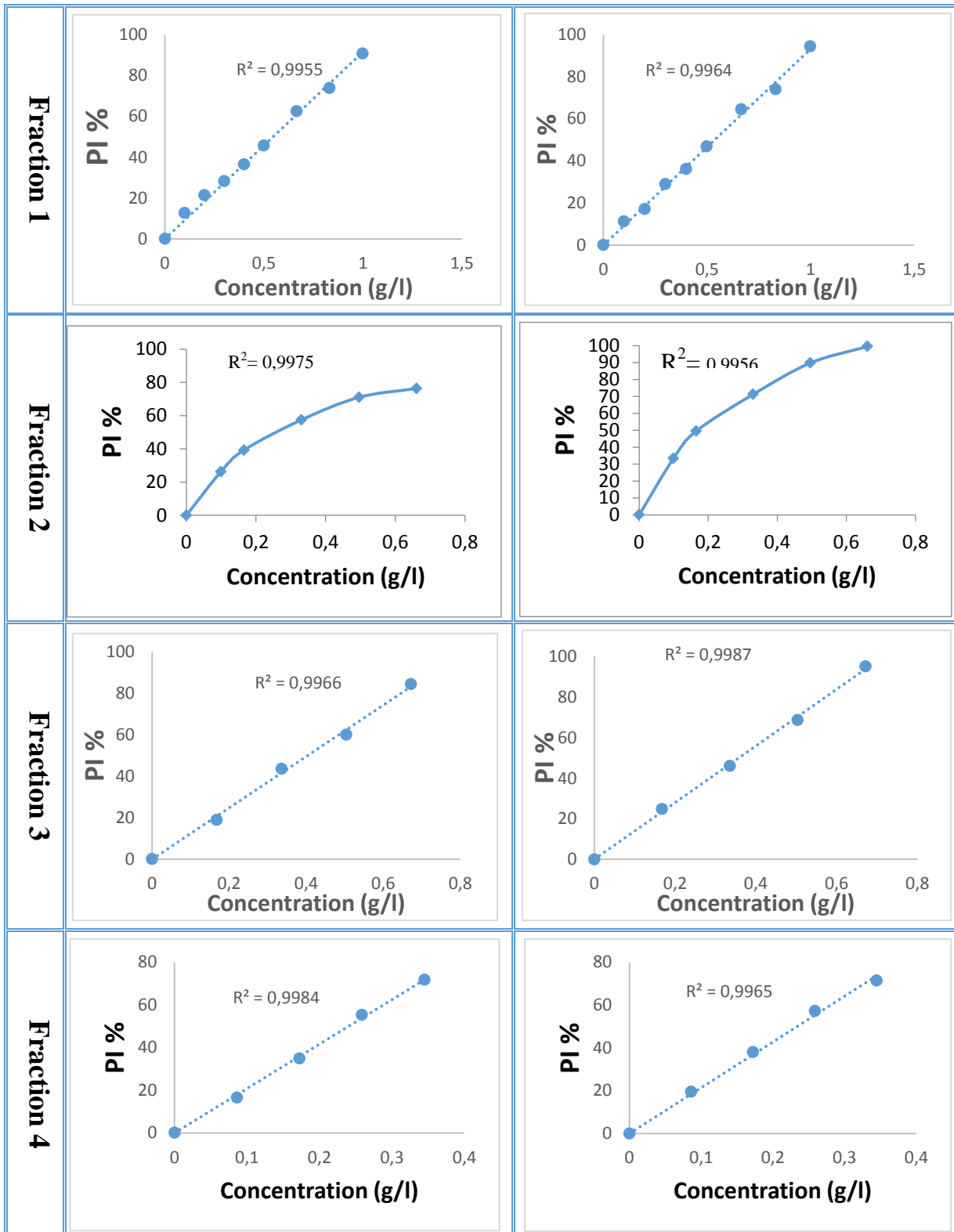
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 5</p>	 <p>$R^2 = 0,9992$</p>	 <p>$R^2 = 0,9981$</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 6</p>	 <p>$R^2 = 0,998$</p>	 <p>$R^2 = 0,997$</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 7</p>	 <p>$R^2 = 0,9981$</p>	 <p>$R^2 = 0,9986$</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 8</p>	 <p>$R^2 = 0,997$</p>	 <p>$R^2 = 0,9979$</p>

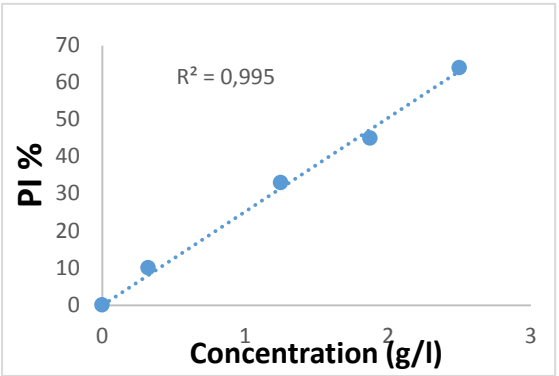
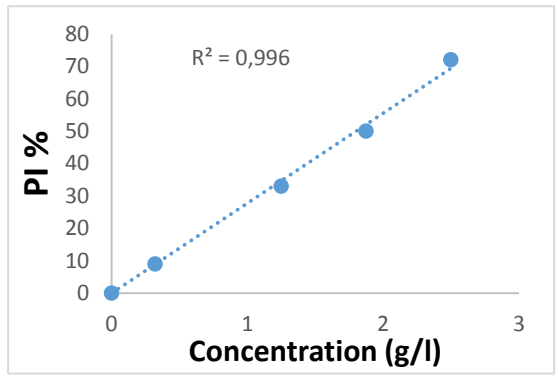
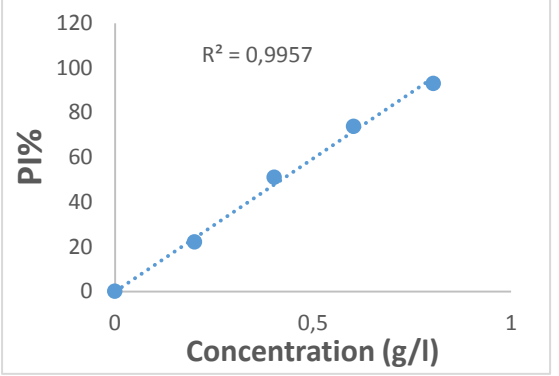
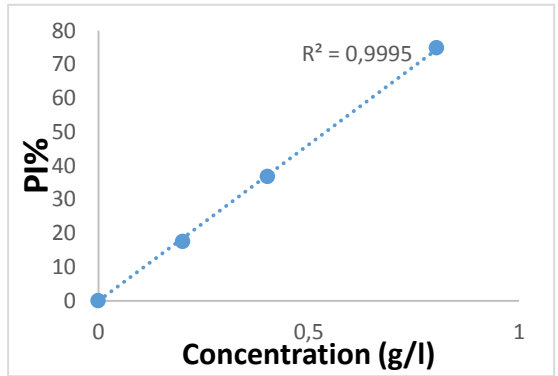
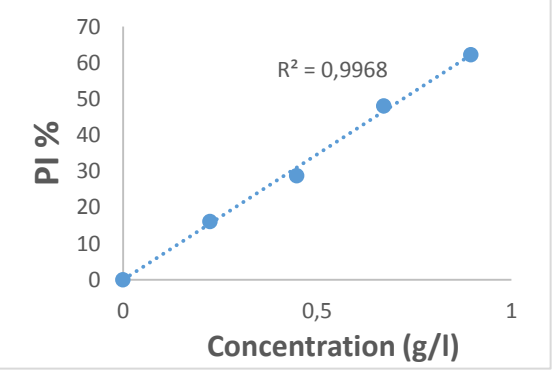
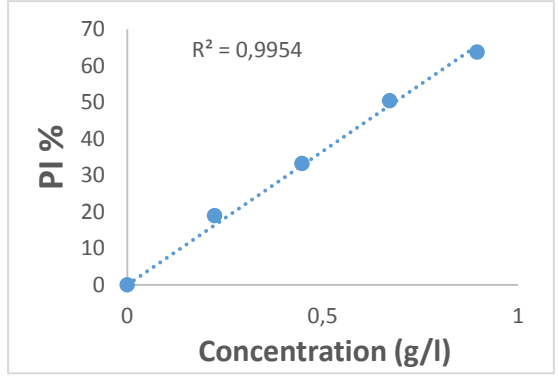
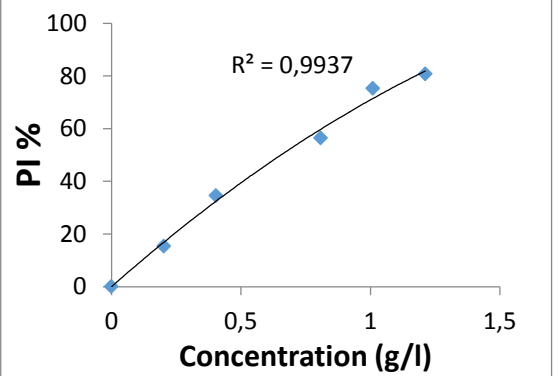
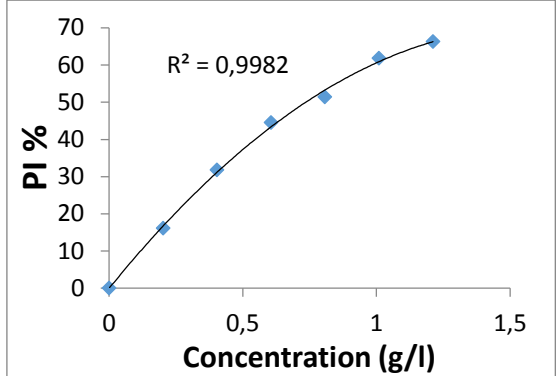
الملحق 10: منحنيات النشاط الإرجاعي لأيونات النحاس الثنائية بواسطة الكسور المفصولة



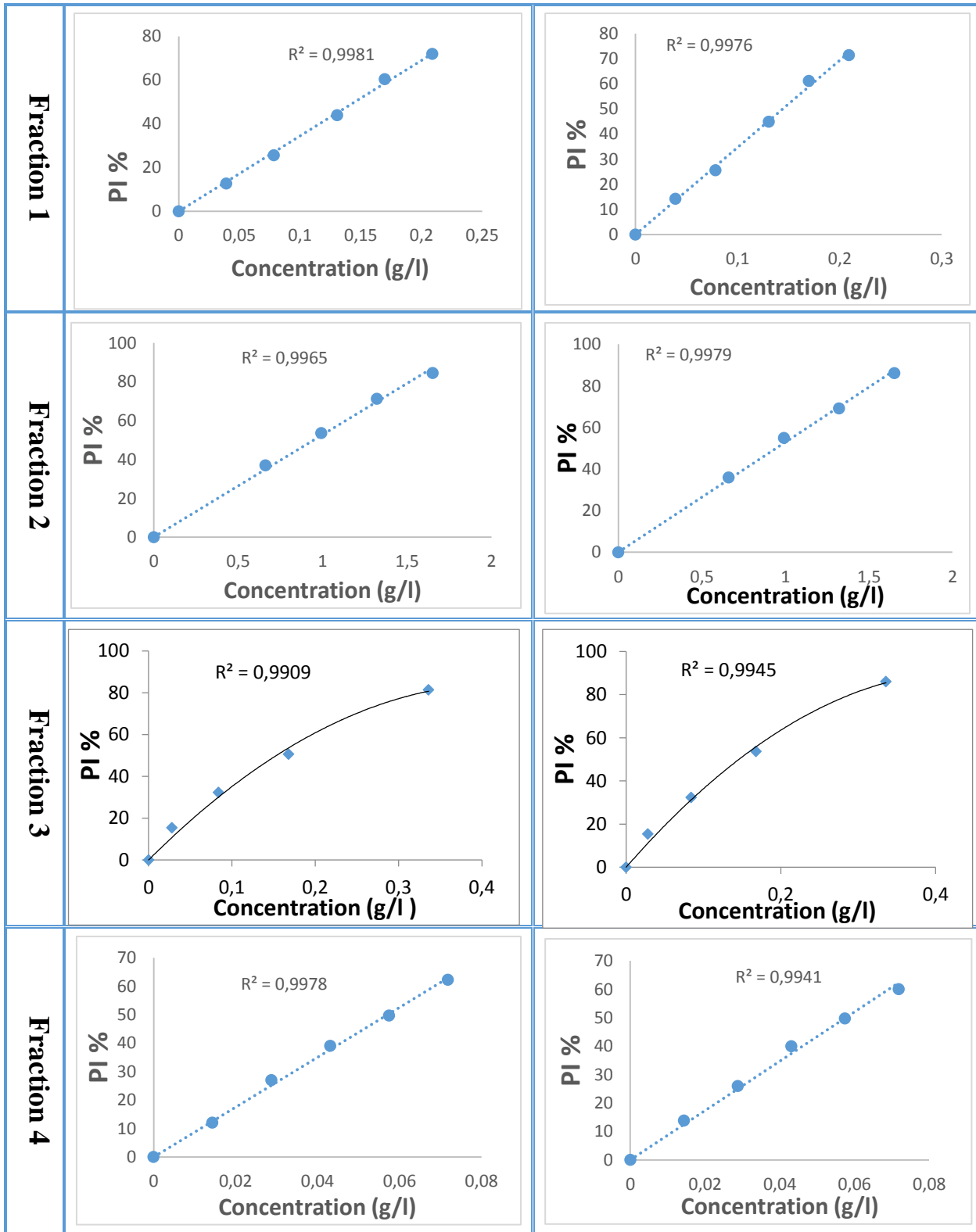


الملحق 11: منحنيات النشاط التثبيطي للكسور على α -أميلاز



<p>Fraction 5</p>		
<p>Fraction 6</p>		
<p>Fraction 7</p>		
<p>Fraction 8</p>		

الملحق 12: منحنيات النشاط التثبيطي للكسور على α -غليكوزيداز



<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 5</p>	<p>$R^2 = 0,9975$</p>	<p>$R^2 = 0,99$</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 6</p>	<p>$R^2 = 0,9909$</p>	<p>$R^2 = 0,9943$</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 7</p>	<p>$R^2 = 0,9959$</p>	<p>$R^2 = 0,9959$</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Fraction 8</p>	<p>$R^2 = 0,9933$</p>	<p>$R^2 = 0,993$</p>