رقم الترتيب :.....
رقم التسلسل :.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح ـــــ ورقلة

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء

مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر أكاديمي

المجال: علوم المادة

الفرع: كيمياء

التخصص: كيمياء مطبقة

من إعداد : بيرش كميليا و مبروكي سارة

الموضوع:

المساهمة في التعرف على طبيعة مركبات المستخلص الكلوروفورمي لأحد نباتات الفصيلة القرعية المحلية

نوقشت يوم 26 ماي 2015

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

سلوقي نبيلة	أستاذة محاضرة أ	جامعة ورقلة	رئيسا
دحاك نبيلة	استاذة مساعدة أ	جامعة ورقلة	مناقشة
دندوقي حسين	أستاذ تعليم عالي	جامعة ورقلة	مؤطرا

الفهرس

الفهرس

الفهرس
المقدمة 2
الجانب النظري
الفصل الأول: الفصيلة القرعية 5
I– الفصيلة القرعية 5
I – 1– الوصف النباتي لفصيلة القرعيات 5
I–2– الوصف النباتي لجنس(L) *Cucurbita* 6
I–2 –1 الوصف النباتي لــنوع (L) *C.pepo* 6
I– 3 – الوصف النباتي لجنس(L) *Cucumis* 6
I – 3 –1 الوصف النباتي لــنوع (L) *C.sativus* 6
I– 4 – الوصف النباتي لجنس *Lagenaria* 6
I– 4 – 1– الوصف النباتي لنوع (L) *L.siceraria* 6
الفصل الثاني : منتجات الأيض الثانوي 8
II – منتجات الأيض الثانوي 9
II –1– تعريف منتجات الايض الثانوي 9
II – 2– المركبات الفينولية 9
II –2– 1– الفلافونيدات 10
II –2– 2–الكومارينات 10
II –3– القلويدات 14

II –4– التربينات 14
II –4–1–التربينات الأحادية 14
II – 4–2– السيسكوتربينات 15
II – 4–3–التربينات الثنائية 15
II –4 –4– التربينات الثلاثية 16
II –4 –4–1–الإصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية 16
II –4–4–1–1–الاصطناع الحيوي لهيكل السكوالين 18
II –4–4–1–2–الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية بدءا من السكوالين 22
II – 4 – 4–2 – الككربيتاسينات Cucurbitacin 25
II –4– 4–2 – 1– المسح الكيميائي للككربيتاسينات Cucurbitacins 26
الفصل الثالث:الدراسة الكيميائية للتربينات الثلاثية 27
III– الدراسة الكيميائية للتربينات الثلاثية 27
III–1– الكشف الأولي 27
III–2– الإستخلاص 27
III –3– الفصل والتنقية 27
الجانب التطبيقي
الفصل الرابع :الدراسة الكيميائية للمستخلص الكلوروفومي لقرعية 30
IV– 1– المادة النباتية 30
IV– 2 – طريقة العمل 30
IV–2–1– النقع و الإستخلاص 30

IV– 2– 2– الكشف الأولي 32

IV– 2– 3– فصل مكونات المستخلص الكلوروفورمي 33

IV – 2 – 3 – أ– تحضير العينة 33

IV– 2 – 3– ب– تحضير العمود 33

الفصل الخامس: تقييم الفعالية المضاد للبيكتيريا 36

V –1– تعريف البكتيريا 36

V – 2 – إختبار الحساسية 36

V– 2– 1 – المادة البكتيرية 36

V – 2– 2 – تحضير وسط الزرع 36

V –2– 3– تحضير الأقراص 36

V– 2– 4– تحضير المستخلصات النباتية 37

V –2 – 5– تحضير المعلق البيكتيري 37

V – 2– 6– الزرع والحضن 37

V –2 – 7– طريقة القياس 37

الفصل السادس: النتائج والمناقشة 39

VI– 1 – الوميض الكروماتوغرامي 40

VI– 2 – دراسة الكسر 22 42

VI – 3 – دراسة الكسر 7 43

VI – 4 – تقييم الفعالية المضاد للبكتيريا 45

الخاتمة 47

المراجع

قائمة الأشكال

الشكل(1):تماكب Chalcon 10

الشكل (2): أمثلة على الكومارينات 10

الشكل(3):هيكل القلويد :Haraman 10

الشكل(4):إصطناع السكوالين إنطلاقا من حمض ميفالونيك 16

الشكل(5): آلية إصطناع السكوالين 17

الشكل(6):أكسدة الـ squalène 18

الشكل(7): آلية حلقنة الـ Epoxysqualène 18

الشكل(8): مختلف مراحل تشكيل التربينات الثلاثية و الستيرويدات ابتداء من السكوالين 21

الشكل(9):إعادة ترتيب الـ Protostane 22

الشكل(10): تصنيف الككربيتاسينات 24

الشكل (11): إستضهاركروماتوغرامات المستخلصات الكلوروفورمية للأنواع لأربعةو تحت مصباح (365ن م) 31

الشكل(12):إستضهاركروماتوغرامات المستخلصات الكلوروفورمية للأنواع لأربعة و تحت مصباح (254ن م) 31

الشكل(13):الكشف عن التربينات الثلاثية 32

الشكل(14): تقنية الوميض الكروماتوغرافي 33

الشكل (15):كروماتوغرامات الكسور بعد التجميع وتحت مصباح الأشعة البنفسجية(365 ن م) 41

الشكل (16):إستظهاركروماتوغرامات الكسور بعد التجميع بـ H_2SO_4 41

الشكل (17): الكسر 22 42

الشكل(18): كروماتوغرامات المركب A ذو اللون الأزرق المفصول من الكسر 22 42

الشكل (19): كروماتوغرامات المركب B ذو اللون الأخضر المفصول من الكسر 22 43

الشكل(20): كروماتوغرامات المركب C المفصول من الكسر 7 43

الشكل (21):مخطط لمختلف مراحل دراسة المستخلص الكلوروفورمي 44

الشكل(22):علبة بيتري لبكتيريا*S.aureus* 45

قائمة الجداول

الجدول (1):المسح الكيميائي والبيولوجي لبعض أنواع الفصيلة القرعية 12

الجدول(2): السلاسل البكتيرية 36

الجدول (3):قياسات الـ IPM 38

الجدول(4): نتائج فصل الوميض الكروماتوغرافي للمستخلص الكلوروفورمي 40

الجدول (5):نتائج تقييم الفعالية البيولوجية 45

المقدمة

المقدمة

إستطاع الإنسان منذ القدم التعرف على أهمية النباتات بالتجربة و البحث عن ما يمكنه أن يعالج به نفسه و مع مرور الزمن و تنقُل المعلومات من جيل إلى آخر، تمكن من ذلك، غير أن قلة معرفته بم ركباتها سبب له الكثير من الأعراض الجانبية التي يمكن أن تكون خطيرة لحد الموت.

وطبعا الإنسان المعاصر يختلف عن الإنسان البدائي كونه يميل إلى السرعة بشكل لا عقلاني يجعله إتكاليا نوعا ما، فنجد أكثر الناس في حالات المرض يميلون إلى تناول الأدوية بنسبة كبيرة ويتغاضون أو يتناسون الأعشاب رغم فائدتها المعروفة فيا يخص صحة الإنسان والمتوارثة من جيل إلى آخر.

ورغم تطور الأدوية المصنعة يدويا وفعاليتها في التطبيب إلا أنها تسفر عن أعراض جانبية يمكن أن تكون جد خطيرة ونتائجها غير عكوسة، لذلك عاد الأنسان وإهتم من جديد بإستغلال ما توصل إليه الإنسان البدائي وخبرته مع النباتات لاسيما الأعشاب الطبية منها من جهة، ومن جهة أخرى استغل التطور التكنولوجي في إكمال ما لم يكن بإمكان الإنسان التقليدي إكتشافه عن هذه النباتات، حيث أنه يمكنه بالتقنيات الكيميائية المتطورة دراسة النباتات كميائيا وبيولوجيا لإكتشاف وتحديد وفصل المركبات الفعالة بإستغلال جميع أجزاء النباتات للوصول بها إلى عقاقير علاجية بأدنى التأثيرات الجانبية أو إنعدمها إن أمكن.

وتعتبر القرعيات أحد فصائل المملكة النباتية ذات التنوع المنفعي، فمنها ما يستخدم للعلاج ومنها ما يستخدم في الغداء ومنها ما يسخر للزينة، ولقد حبيت الجزائر بأنواع من القرعيات ذات المنافع الثلاث رغم قلة تنوع أعددها .

ولهذا سوف تبنى دراستنا على أحد أنواع الفصيلة القرعية المحلية بالمساهمة في التعرف على مركبات مستخلصها الكلوروفورمي، حيث سنتناول بعد مقدمة عملنا، الجانب النظري الشامل على ثلاث فصول:

الفصل الأول: الفصيلة القرعية.

الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي.

الفصل الثالث: التربينات الثلاثية.

كذلك الجانب التطبيقي تضمن ثلاث فصول:

الفصل الرابع: الدراسة الكيميائية للمستخلص الكلوروفورمي لأوراق الخيار.

الفصل الخامس: تقييم الفعالية البيولوجية للمستخلص الكلوروفورمي للأربعة أنواع من الفصيلة القرعية.

الفصل السادس: النتائج و المناقشة.

وأنهينا عملنا بالخاتمة .

الجزء النظري

الفصل الأول :

الفصيلة القرعية

I- الفصيلة القرعية:

تعتبر القرعيات ذات أهمية بالغة غذائيا و علاجيا حيث تكمن القيمة الغذائية في ثمارها الأكول (خيار، كوسى، يقطين، بطيخ...) بينما ثمارها غير الأكول تستعمل عادة في الوصفات الشعبية بغرض العلاج (كمخفضات للسكر، مسهلات...)، كما تعرف بأصناف مرة وغير مرة وقد وجد أن للقرعيات مخاطر عند تراكيز معتبرة، كأن تكون سببا في عدة تسممات كما هو الحال مع الحنظل *Citrullus colocynthis*. [3]

كيميائيا تعد القرعيات مصدرا هاما لنوع من التربينات الثلاثية رباعية الحلقة وهي مسؤولة عن الذوق المر في بعض أنواعه ونظرا لإختلاف أجناسها من حيث الوصف النباتي سيقتصر تناولنا للوصف النباتي على الفصيلة القرعية و على ثلاث أجناس منها: *Cucurbita*،*Cucumis*، *Lagenaria*. [3]

I-1- الوصف النباتي للفصيلة القرعيات : [3]

المملكة: النباتات	kingdum : planta
الشعبة:كاسيات البذور	Division :Mognoliophyta
الصف:ذوات الفلقتيـــن	Class : Mognoliopsida
الرتبة:القرعيـــــات	Ordre :Cucubitales
الفصيلة:القرعيـــــة	Family : Cucurbitaceae

تشمل رتبة القرعيات فصيلة واحدة تدعى بالقرعية، تضم حوالي 120 جنس وأكثر من 900 نوع [4] منتشرة في المناطق ذات المناخ الاستوائي وشبه الإستوائي: في افريقيا، أسيا و أمريكا ومن أشهر أجناسها *Cucurbita*، *Cucumis* ، *Citrullus*، *Luffa*، *Lagenaria*، *Bryonia*.

ونباتات هذه الفصيلة أعشاب حولية أو معمرة، إما زاحفة أو متسلقة بواسطة محاليق ملتوية، وفي الغالب تكون سيقانها طويلة ذات مقطع خماسي.

الأوراق: متبادلة راحية مفصصة ولها أعناق طويلة عديمة الأذينات وتكسو سيقانها و أوراقها أوبارا.

الزهرة: وحيدة الجنس و تخرج الأزهار من أباط الأوراق ،والزهرة منتظمة علوية ،والنبات أحادي أو ثنائي المسكن.

البذرة:عديمة السويداء والجنين مستقيم.[5]

I–2 –الوصف النباتي للجنس(L) *Cucurbita*

يشمل حوالي اثني عشر نوعا تعرف كلها بالكوسى ويمتاز هذا الجنس بأعشاب خشنة تنمو بسرعة، وبأزهار صفراء كبيرة، أغصان مشقوقة أو متفرعة، أوراق متبادلة راحية، ومن أشهر أنواعه في الجزائر *C.pepo* (L) المعروف محليا بإسم الجريوات.

I –2–1 الوصف النباتي لــلنوع (L) *C.pepo*

نبات عشبي حولي يملك ساقا زاوية يصل طولها إلى 10 سم ويحمل أوراقا كبيرة خماسية الشكل و متبادلة راحية و سويقات طويلة وأغصان متفرعة، أحادي المسكن و ذو أزهار كبيرة صفراء و ثماره لحمية غير متفتحة ومتطاولة يصل طولها أحيانا إلى 40 سم واللب كثيف، اسفنجي، وبعدد من البذور البيضاء المستوية متوضعة على المحيط الداخلي للثمرة.

I–3–الوصف النباتي للجنس(L) *Cucumis*

يضم حوالي 60 نوعا ينتشر أغلبها في المناطق الجافة الأفريقية، تتميز بأغصان غير متفرعة وأزهار كبيرة صفراء ذات خمسة بتلات ومن أنواعه *C.sativus* المعروف محليا بالخيار.

I–3–1 الوصف النباتي للنوع (L) *C.sativus*

نبات عشبي متسلق، ذو أوراق متبادلة راحية وأزهار صفراء وحيدة المسكن، لون الثمرة من الداخل أخضر فاتح وغامق من الخارج وهي ذات شكل اسطواني.

I–4 الوصف النباتي للجنس *Lagenaria*

يشمل حوالي خمسة أنواع فقط منتشرة في المناطق الاستوائية في إفريقيا أحد أنواعه يدعى *L.siceraria* (L) المعروف محليا بالقرعة.

I–4–1–الوصف النباتي لــلنوع (L) *L.siceraria*

نبات عشبي، حولي، متسلق، يتراوح طول ساقه من 8 إلى 10 م، وحيد المسكن، وفي أباط أوراقه العريضة الراحية أزهار بيضاء، والثمرة لها شكل القنينة ذات لب لحمي كثيف في مركزه بذور مستوية بيضاء، بيضاوية الشكل يصل طولها حوالي 9 مم.[3]

ولإحتواء القرعيات على بعض منتجات الأيض الثانوي، أهمها التربينات الثلاثية، فالقلويدات إلى جانب الفلافونيدات، وعليه سنتطرق بإيجاز إلى القلويدات و المركبات الفينولية، وبالتفصيل إلى التربينات الثلاثية كونها محل دراستنا.

الفصل الثاني:

منتجات الأيض الثانوي

II – منتجات الأيض الثانوي:

تنتج النباتات العديد من المركبات متعددة الوظائف، ضمن أهم ما تنتج منتجات الأيض الثانوي ومنتجات الأيض الأولي التي لها دور مفتاحي و رئيسي لنمو و بقاء الكائنات الحية على قيد الحياة [6]، أما منتجات الأيض الثانوي فأهميتها بالنسبة للكائن النباتي الحي ما زال يعتريها الكثير من النقص، إلا أنها بالغة الأهمية للإنسان حيت تمتاز منتجات هذا الأخير بفعاليتها البيولوجية جد المتنوعة والمهمة للوقاية والعلاج ضد أمراض عديدة قد يصاب بها الإنسان أو للتقليل من حدة أعراضها، ل ذى نجد أغلبية مختصي مجال كيمياء النبات، والمواد العلاجية وما شابها يهتمون بفصل و تنقية هذه المنتجات لاكتشاف فعالياتها العلاجية.

II –1– تعريف منتجات الايض الثانوي:

تمثل هذه المنتجات مجموعة هائلة من المركبات الطبيعية المصنعة حيويا من طرف الكائنات الحية ابتداء من منتجات الأيض الأولي المتمثلة أساسا في الأحماض الآمينية، السكريات، الدهون، البروتينات...، وتصنف منتجات الأيض الثانوي إما على أساس مصدرها الطبيعي أو على أساس تأثيراتها البيولوجية والتصنيف الأكثر شيوعا يكون على أساس البنية الكيميائية:

- المركبات الفينولية.
- التربينات و مشتقاتها.
- القلويدات.
- المضادات الحيوية.
- الفيتامينات.

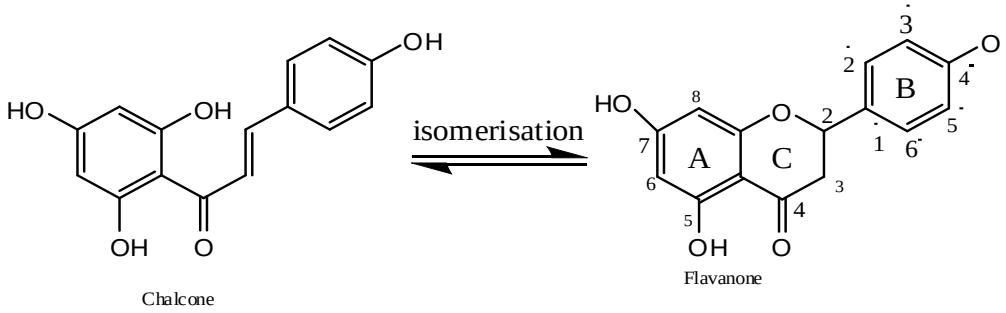
II –2– المركبات الفينولية:

تضم مجموعة شاسعة من المركبات، مشتقة من الفينول، وتُعَرَف بأنها مركبات غير آزوتية تحتوي على حلقة أو أكثر، تصنع حيويا من حمض الشيكيميك (Shikimique) و/أو متعدد الخلات (Polyacétate) ومن أصنافها الفلافونيدات والكومارينات:

II –2–1– الفلافونيدات:

تواجد بكثرة في المملكة النباتية حيث يكاد لا يوجد نبات خالي منها و عموما هي مركبات ملونة، مسؤولة عن لون الأزهار والثمار و حتى الأوراق في بعض الأحيان، تمتاز بهيكل يحتوي 15 ذرة كربون في صورة

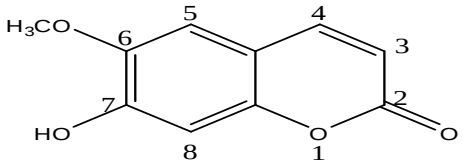
حلقتين بترينيتين عطريتين (A،B) تتصلان بسلسلة غير متجانسة من 3 ذرات كربون و هيتعرف بـــ (C)، بإختلاف هذه الأخيرة تختلف الفلافونيدات، حيويا تصنع مختلف الفلافونيدات بدءا من الشالكون Chalcone. كما في الشكل (1).



الشكل 1: تماكب الـــ Chalcone

II -2-2-الكومارينات:

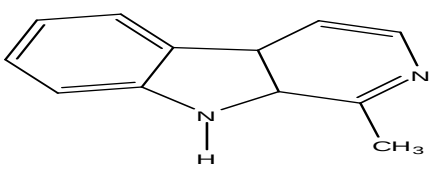
تنتشر بكثرة في المملكة النباتية وتنقسم إلى كومارينات بسيطة ومتعددة الحلقة في صورة حرة أو إيتيروزيدية.



الشكل (2): أمثلة على الكومارينات

II -3- القلويدات:

تشمل عددا معتبرا من المركبات ذات طابع قاعدي،تضم حلقة مغايرة آزوتية أو أكثر، أغلبها مولدة من أحماض آمينية، مختلفة ومتنوعة الصيغ والفعاليات البيولوجية. [8،7]



الشكل(3):هيكل القلويدHaraman

ولكثرة تنوع المركبات التي تنتجها القرعيات وكذا التأثيرات البيولوجية المختلفة لها إرتأينا الاقتصار على الأنواع المتواجدة في الجزائر وتضمنها الجدول(1).

المركبات	الفلافونيدات	التربينات	الكربوهيدرات	الستيرويلات	الصابونيات	القلويدات	الفينولات	التانينات	الكوكوربيتاسينA	الكوكوربيتاسينB	الكوكوربيتاسينC	الكوكوربيتاسينD	الكوكوربيتاسينE	الكوكوربيتاسينG	الكوكوربيتاسينH	مضاد للالتهاب	مضاد للأورام	مضاد للسرطان	مضاد للفطريات	مضاد للحساسية	مضاد للسكر	مضادات الأكسدة	مضاد للبكتيريا	Antiurolithiatic	مضاد الميكروبات	Cardiac gly cosides	الجزء	المراجع
	المسح الكيميائي															*المسح البيولوجي*												
Cucurbita pepo.L	+	+		+	+	+										+									+		s	[9],[10]
		+		+	+																						l	[11],[12]
			+	+	+																						r	[11],[12]
		+	+	+	+																						st	[11] , [12]
		+		+	+																						fr	[11] ,[12]
		+		+																							fl	[11]
Cucurbita maxima					+	+	+	+																			fr	[13],[14],[15]
	+		+	+	+	+	+	+													+		+				s	[16-22]
						+																					P	[14]
										+		+		+	+												S f	[14] ,[23],
cucumis sativus (Cucumber)	+	+	+	+	+	+	+	+																+		+	fr	[24], [25]
	+				+	+	+												+								st	[26]
	+	+			+	+	+	+																		+	p	[26]
Cucumis melo	+		+	+	+		+	+																			fr	[27],[28]
		+	+			+										+		+			+	+	+				s	[29] ,[30]
	+								+	+			+														st	[31]

المركبات	الفلافونيدات	التربينات	الكربوهيدرات	الستيرويلات	الصابونيات	القلويدات	الفينولات	التانينات	الكوكربيتاسينA	الكوكربيتاسينB	الكوكربيتاسينC	الكوكربيتاسينD	الكوكربيتاسينE	الكوكربيتاسينG	الكوكربيتاسينH	مضاد للإلتهاب	مضاد للأورام	مضاد للسرطان	مضاد للفطريات	مضاد للحساسية	مضاد للسكر	مضادات الأكسدة	مضاد للبكتيريا	Antiurolithiatic	مضاد للمكروبات	Cardiac glycosides	الجزء النباتي	المراجع
Citrullus lantus	+	+				+	+									+	+	+		+	+						s	[32], [33]
	+	+			+	+	+																				fr	[32]
	+	+	+			+																					l	[34]
citrullus colocynthis	+	+			+	+			+	+	+	+				+		+			+		+		+		fr	[35] ,[36]
																	+	+			+				+		s	[35]
Lagenaria siseraria	+	+	+	+		+		+	+	+		+	+			+						+			+		fr	[23],[37],[15]
	+	+			+	+								+													s	[23]
	+	+			+	+																					st	[23]
	+	+		+	+	+		+																	+	+	l	[5]
	+	+		+	+	+				+		+	+														r	[23]
										+		+		+	+												s f	[23]
Bryonia dioicica	+	+		+		+																					l	[38]
	+	+	+	+	+	+	+											+									r	[39]
Luffa cylindrica	+				+	+											+	+	+			+	+		+	+	s	[40]
	+		+	+	+	+		+											+		+		+		+		fr	[40 - 42]
																	+	+				+					fl	[40]

s=Seed / fr= fruit / l= leaf / r= root / st= steem / fl= flowers / p= pulp / s f = solid foam

الجدول -1- المسح الكيميائي والبيولوجي لبعض القرعيات المتواجدة في الجزائر

II -4- التربينات :

التربينات مع الستيرويدات تؤلف بدون شك مجموعة من أهم منتجات الأيض الثانوي في المملكة النباتية، كما يمكن تعدي وجودها إلى الطحالب، الفطريات ... .

في عام 1877 افترض O.Wallach أن التربينات تنتج من تكاثف وحدات الإيزوبران (Isoprène) 2- méthyl butadiéne ، وفي عام 1953 أكدت هذه النظرية من طرف العالم Ruzéka.

أغلب التربينات تنتج من تكاثف "رأس ـــــــــ ذيل" لعدد معين من وحدات الايزوبران مع وجود بعض الاستثناءات كما هو الحال في التربينات الثلاثية وقد تبين فيما بعد بإستعمال C^{14} المشع أن المادة الأساسية لبناء التربينات ليست وحدة الإيزوبران بل وحدة شبيهة لها تدعى ب ـــــــ isopentenyl pyrophosphat الذي يرمز له اصطلاحا ب IPP. وتصنف التربينات كذلك حسب عدد IPP الداخل في تركيبها:[43]

تربينات أحادية Monoterpénes (وحدتين منIPP).

سيسكويتربينات Sesquiterpénes (ثلاث وحداتIPP).

تربينات ثنائية Diterpénes (أربع وحداتIPP).

سيسترتربينات Sesterterpénes (خمس وحداتIPP).

تربيات ثلاثية Triterpénes (ست وحداتIPP).

تربينات رباعية Tetraterpénes (سبع وحدات من IPP).

تربينات المتعددة Polyterpénes (أكثر من سبعة وحدات منIPP).

II -4-1-التربينات الأحادية :

تشتمل على 10 ذرات كربون، حلقية أو مفتوحة، وهي من المكونات الأساسية للزيوت الطيارة مع السيكيوتربينات، وبعض المركبات الفينولية الصغيرة.

II -4-2- السيسكوتربينات:

ويدخل في تركيبها 15 ذرة كربون لها هياكل متعددة مفتوحة أو حلقية أحادية، ثنائية أو ثلاثية وعادة تكون في صورة هيكل متعدد الحلقة.

II -4-3-التربينات الثنائية:

تشتمل على 20 ذرة كربون كذلك تتميز بهياكل متعددة مفتوحة أو حلقية أحادية، ثنائية أو ثلاثية و عادة تكون في صورة هيكل متعدد الحلقة.[8]

II -4-4-التربينات الثلاثية:

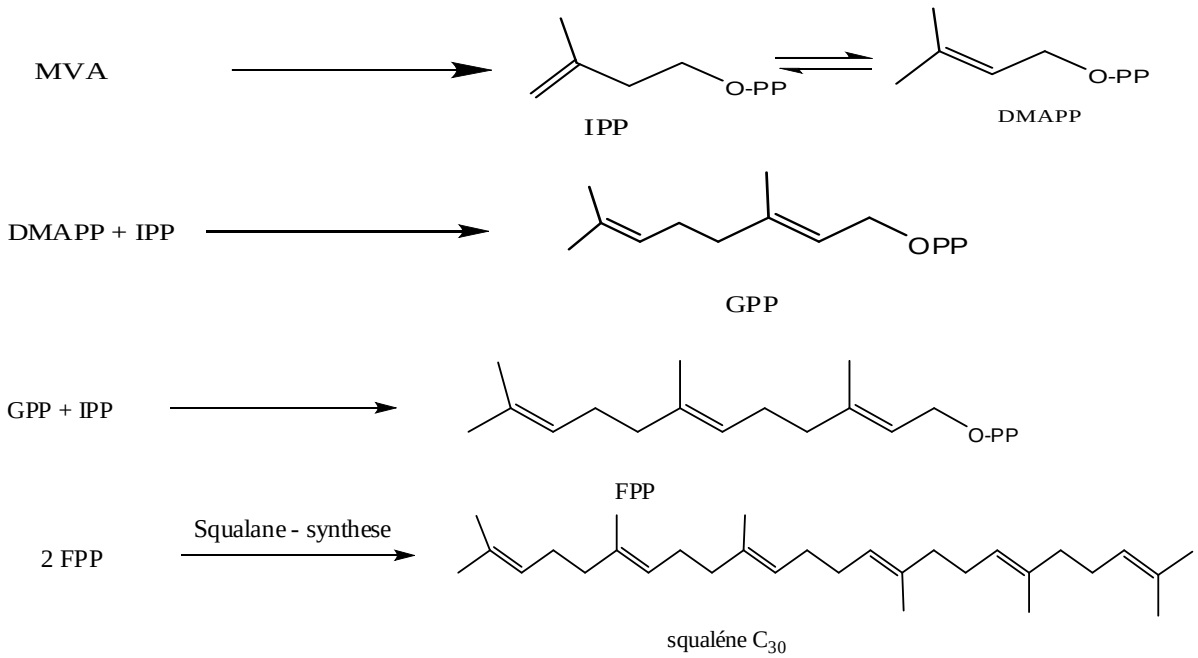
تضم أكثر من 4000 مركبا، تشتمل على 30 ذرة كربون، عديمة اللون، صلبة، أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية، فعالة ضوئيا، تكون حرة أو في صورة إيتيروزيدية وعادة ما تنتج من حلقنة 3S-2,3- epoxydo-déhydroxy squalène ونادرا من squalène نفسه، وتمتلك التربينات الثلاثية بنية مميزة وتفسر الإختلافات الرئيسية في البنية للـ epoxy squalène و squalène قبل الحلقنة وكذلك للإنتقالات1،2 للبروتونات والميثيلات على مستوى الكاتيون الناتج من الحلقنة. هنالك من صنف التربينات الثلاثية إلى عدة مجموعات جزئية: تربينات ثلاثية حقيقية، ستيرويدات (stéroides)، قلويدات ستيرويدية (alcamines stéroidique)، صابونيات (saponosides) وقلويدات قلبية glycosides). (cardiotoniquesوالمجموعتان الأخيرتان هما أساسا تربينات ثلاثية حقيقية أوستيرويدات موجودة في صورة جليكوزيدية glycosides، و يكون الشق السكري للصابونيات (saponosides) عبارة عن D-glucose، L- arabinose D – Galactose ، L- rhamnose، D-xylose،fructose، ويتعدد السكر ليصل من إثنين إلى عشر سكريات و يرتبط السكر بالموقع C_3 من الـ sapogenines.

كما أن هذه البنية المتميزة تم ملاحظتها عند الستيرويدات حيث يمكن إعتبار الستيرويدات تربينات ثلاثية، رباعية الحلقة فقدت على الأقل 3 ميثيلات في C_4, C_4 و C_{14}، وفي الواقع يؤخذ الإصطناع الحيوي بعين الإعتبار للتفريق بينها فـ Dammarane يعتبر من التربينات الثلاثية رباعية الحلقة ويتساءل أتظم الكوربيتاسينات أتضم الى الستيرويدات أو التربينات الثلاثية كما يصنفها أغلب الباحثين؟ و سنقتصر إلى التطرق للإصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية لأهميتها في دراستنا. [43]

II -4-4-1الإصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية:

II -4-4-1-1 الاصطناع الحيوي لهيكل السكوالين:

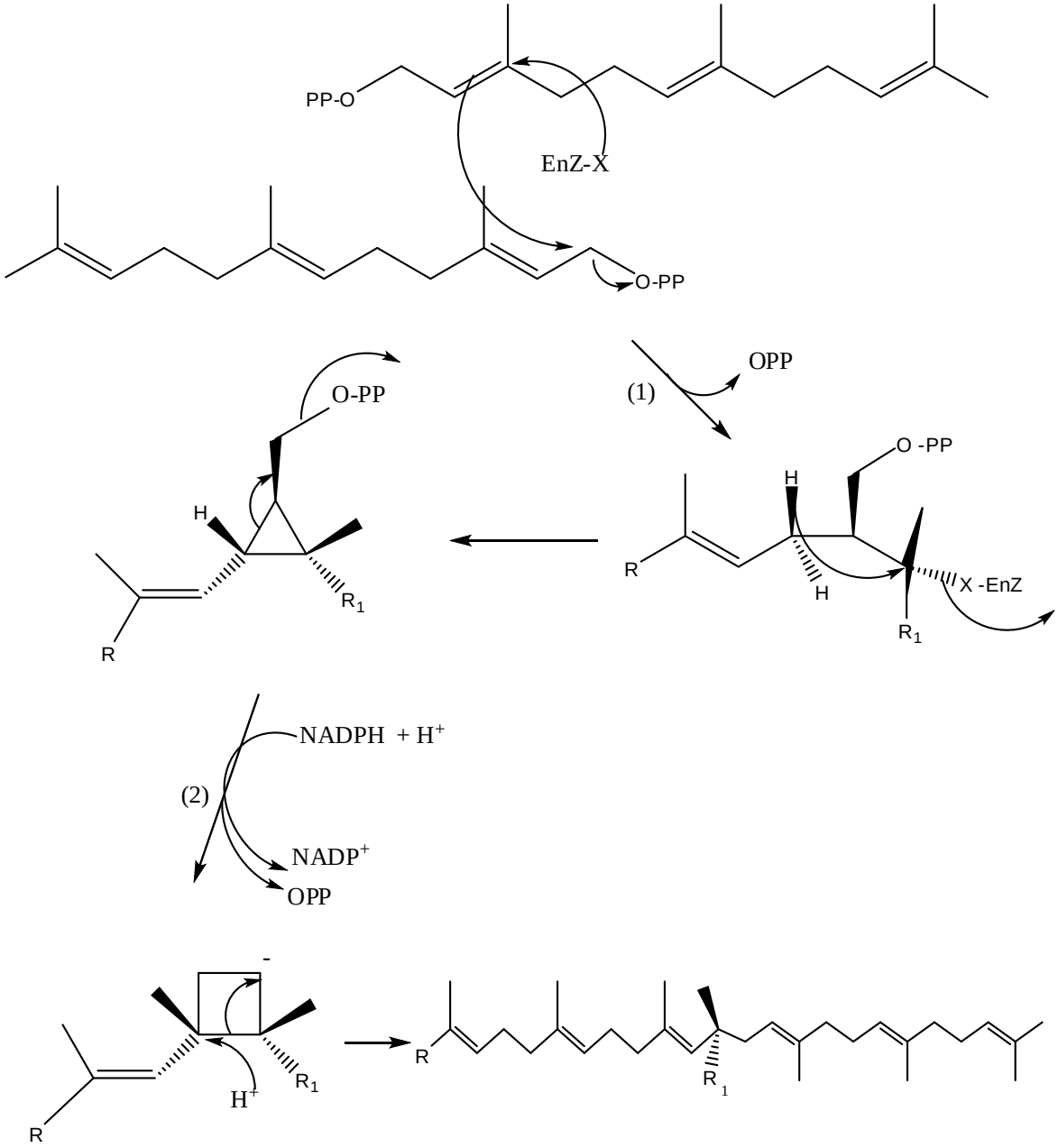
يؤدي تماكب 3 وحدات من IPP المتماكبة بقاعدة رأس ـــــــــــ ذيل الى تكوين FPP (Farnesylpyrophosphate) ويحدث لهذا الأخير ازدواج ذيل ـــ ـــــــ ذيل ليكون السكوالين Squaléneمولد التربينات الثلاثية والستيرويدات على النحو التالي:



الشكل (4): اصطناع السكوالين انطلاقا من MVA

DMAPP:Dimithyl allyl pyrophosphate.
IPP: Isopentenyl pyrophosphate .
GPP: Geranylprophosphat.
FPP: Farnesylpyrophosphate.

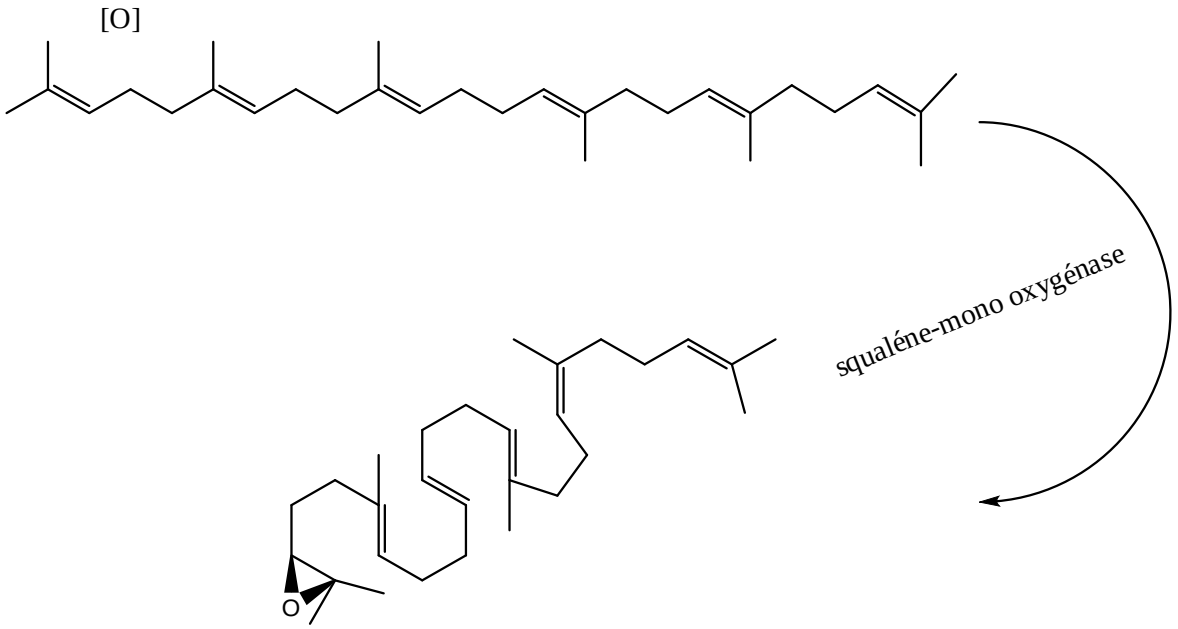
وقد أكتشفت آلية ذيل ـــــــ ذيل بعدما تم عزل أنزيم جديد آخر Pyrophosphate présqualéne de حيث سمحت بنية البروبان الحلقي لهذا الأنزيم بإعتقاد أن الرابطة C_2-C_3 لل FPP أدت الى أَلكَلت ميثيل مع جزيء أخر من FPP وهو ما أدى إلى حذف H^+ وتشكيل بروبان حلقي، حيث يعتبر السكوالين المركب الأم (المولد) للتربينات الثلاثية وما شابهها من المركبات.



(1)و(2) يعبران عن الانزيمات المسؤولة على تشكل squaléne

الشكل (5) ألية اصطناع السكوالين

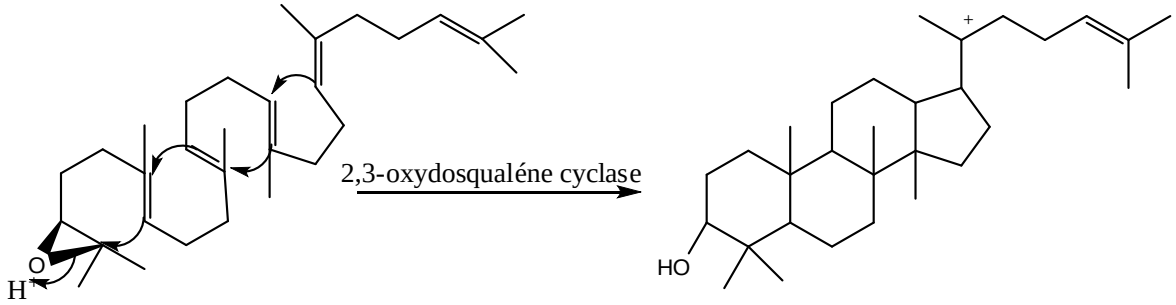
II -4-4-1-2الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية بدءا من السكوالين:



2,3-Epoxysqualène

الشكل (6): أكسدة الـ Squaléne

بعد الحلقنة الأولية، يثبت أنزيم الحلقنة الـ epoxysqualéne في تشكيل فراغي مناسب ثم يُفتَح الإيبوكسيد ليهيأ الحلقنة التي تؤدي إلى غلق الهيكل ومن ثَمَ يوجه الإصطناع الحيوي نحو الستيرويدات أو التربينات الثلاثية على حسب توضع الـ epoxysqualéne على سطح الأنزيم وفي الأخير تحدث انتقالات للرابطة الثنائية لتغلق الجزيئة.



الشكل (7): حلقنة الـ Epoxysqualéne

فإذا كان تشكيل الحلقات كرسي ـــ قارب ـــ كرسي ـــ قارب الحلقنة تؤدي الى كاتيون Protostane المولد المباشر لـ Cyclo artanes و Cucurbitanes.

وقد شملت انتقالات البروتونات ومثيلات مواقع 14،17،13،8 التي تتوسط فيها الانزيمات بالوضعية المعروفة.

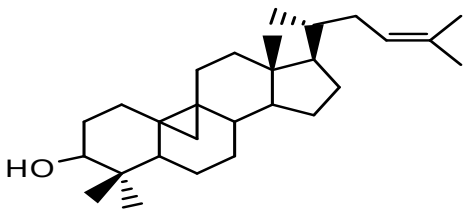
أما اذا كانت تشكيلاتها كرسي ـــــ كرسي ـــــ كرسي ـــــ قارب الحلقنة تؤدي الى تشكيل Dammarane الذي يمكنه إعادة التركيب إما:

1ـــ لتشكيل حلقة إضافية منتجا تربينات ثلاثية خماسية الحلقة (الحالة الأكثر إعتيادية) مثل (Oléananes)، (Taraxastanes).

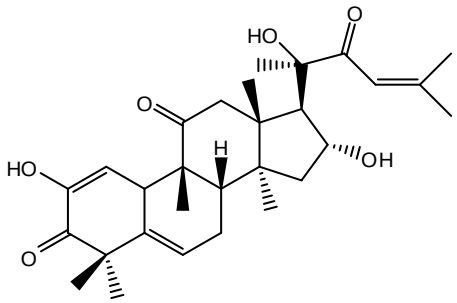
2ـــ أو لتشكيل مركبات رباعية الحلقة حيث الحلقة D سداسية (نادرا ما تحدث).

وفي حالة كون تشكيلات الحلقات كرسي ـــــ كرسي ـــــ كرسي ـــــ كرسي ـــــ قارب تحدث حلقنة مباشرة للـ squaléne يؤدي لتربينات ثلاثية خالية الهيدروكسيل في الموقع C_3 وهي تعتبر حالة خاصة مثل Fernanes.

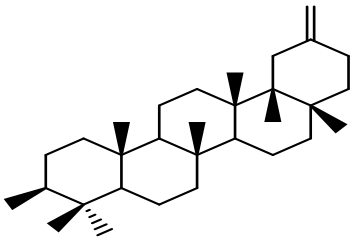
وتلاحم الحلقات الاربعة للتربينات يحول دون انقلاب الكرسي من هيئة لأخرى.[8،43]



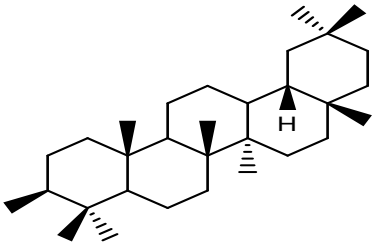
Cyclo- artenol



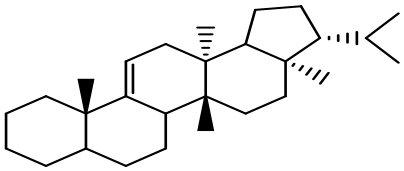
Cucrbitacine I



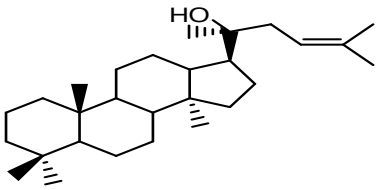
Taraxastanes



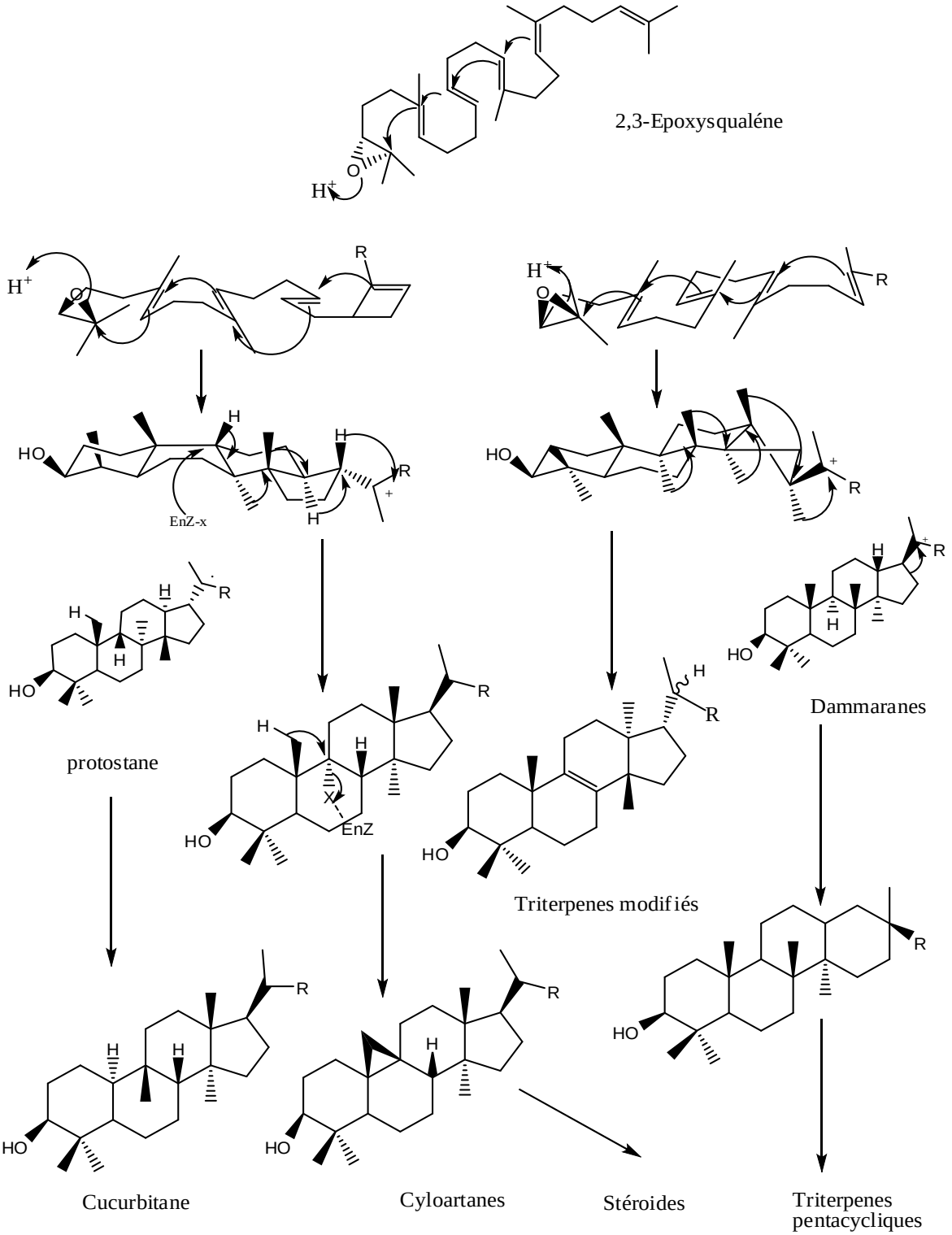
B Amyrine
Oleananes



Fernanes



Dammaranes

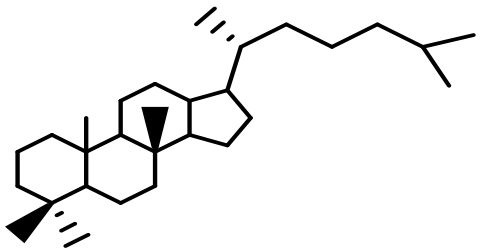


الشكل (8): مختلف مراحل تشكيل التربينات الثلاثية والستيرويدات ابتداء من السكوالين

ونظرا لإحتواء القرعيات على تربينات ثلاثية رباعية الحلقة عالية الأكسجة مسماة بالككربيتاسينات سنقتصر على ذكرها كأحد أنواع التربينات الثلاثية.

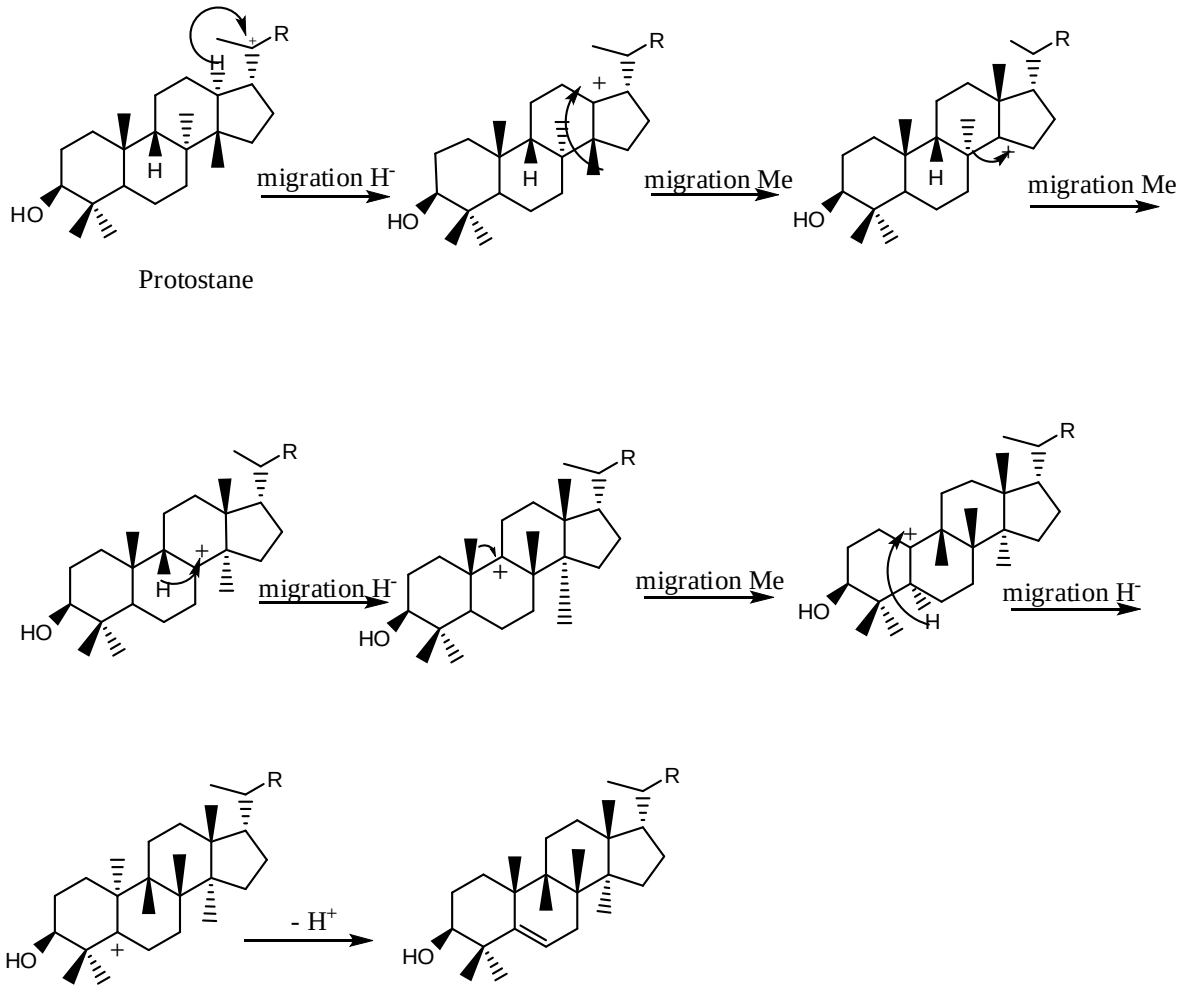
II -4-4-2- الككربيتاسينات Cucurbitacins :

هي تربينات ثلاثية رباعية الحلقة ذات هيكل هيدروكربوني لـــ cucurbitane



cucurbitane

و هي ناتجة من إعادة ترتيب كاتيون prostostane وهي غير مشبعة، متعددة الوظائف عالية الأكسجة حيث تتسع من 7 إلى 9 ذرات أكسجين، توجد في أغلب الأحيان في صورة ايتيروزيدية.



الشكل (9): اعادة ترتيب الـــProtostane

وجود الككربيتاسينات في الكثير من القرعيات يسبب مرارة من جهة ومن جهة أخرى فهي المسؤولة على الخصائص المسهلة التي تتميز بها القرعيات، وهذه المركبات يمكن تواجدها في جميع أجزاء النبتة إلا أن تمركزها

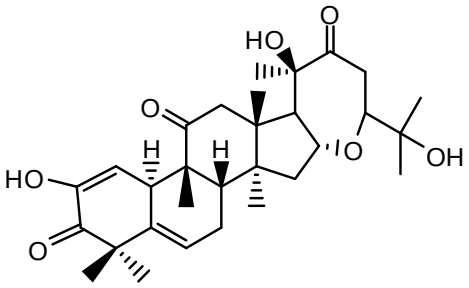
يكون عادة في الجذور أو الثمار، ويرتبط وجودها بالعوامل الوراثية والمحيطية ومكان نمو النبتة وهي موجودة إما في صورة حرة أو مرتبطة بسكر ولقد تم عزل العديد منها وسميت نسبة للقرعيات(Cucurbitaceae)للإعتقاد أنها محصورة في هذه الفصيلة النباتية وصنفت حسب الحروف الأبجدية اللاتينية (A,B,C…T) Cucurbitacin ولكن تم إكتشافها فيما بعد في فصائل نباتية أخرى مثل Rubiacea، Datiscaceae،…[3،43]

تختلف ككربيتاسينات فيما بينها تبعا لـــ:

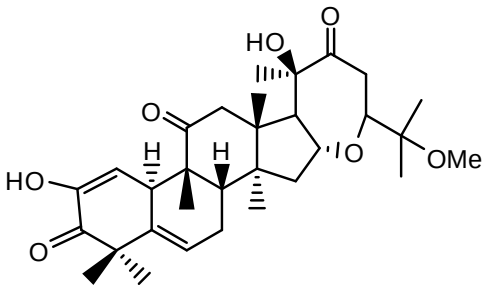
-غياب أو وجود روابط مضاعفة في مواقع معينة، حيث كلها تحتوي رابطة مضاعفة عند C_5-C_6 معظمها عند C_{23} والقليل منها عند C_1.

- حالة التأكسد:معظمها يحتوي 3,11,22,trione و 16,25-dihydroxy و جلها يحمل ذرة اكسجين في الموقع C_{20} و في الموقع C_2 هيدروكسيل أو سكر و النادر منها يحمل ذرة أكسجين عند C_{24}

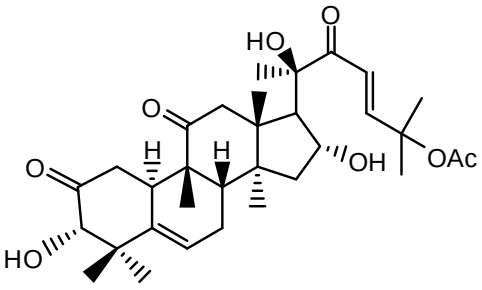
-نوعية المستبدلات :هيدروكسيل، أسيتات أو سكر. [43]



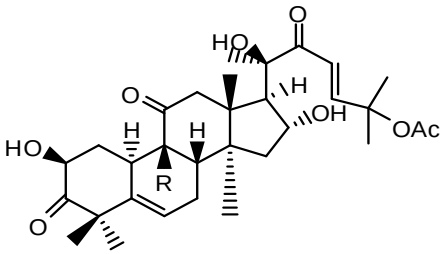
Cucurbitacine S



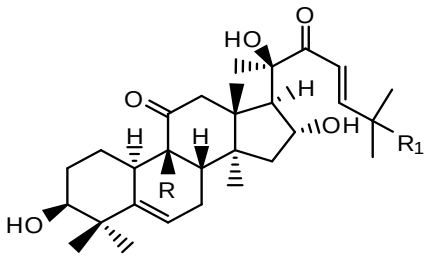
Cucurbitacine T



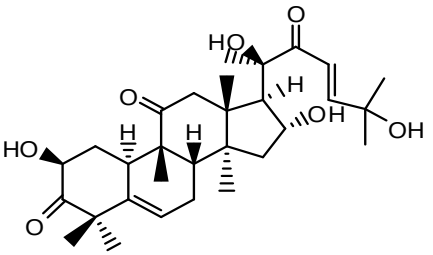
Isocucurbitacine B



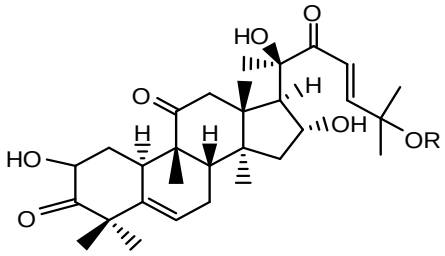
R= CH_2OH Cucurbitacine A
R=CH_3 Cucubitacine B



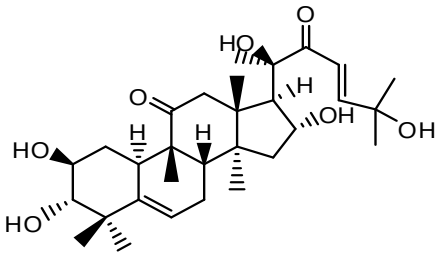
R=CH_2OH ; R_1=Ac Cucurbitacine C
R=CH_3 ; R_1= H 23,24-Dihydro Cucurbitacine U



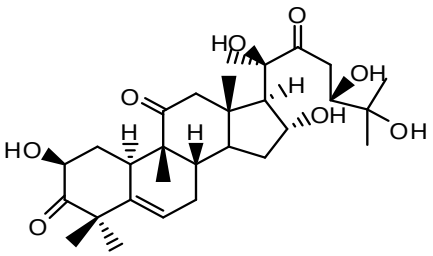
Cucurbitacin D
23,24-Dihydro Cucurbitacine R



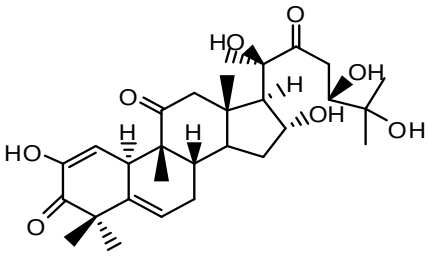
R=Ac Cucubitacine E
R=H Cucurbitacine I
R=H 23,24-Dihydro cucurbitacine L



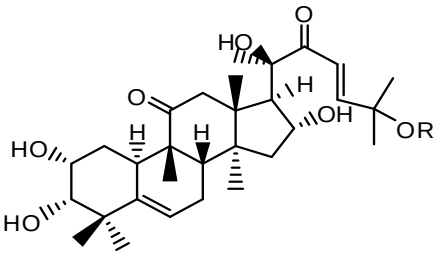
Cucurbitacine F



Cucurbitacine G
Cucurbitacine H (24-épimer)



Cucurbitacine J
Cucurbitacine k (24-épimer)



R=Ac Cucurbitacine Q
R=H Cucurbitacine O
R=H 23,24-Dihytro cucurbitacins P

الشكل (10): تصنيف الككربيتاسينات

II -4-4-2-1 – المسح الكيميائي للككربيتاسينات Cucurbitacins :

خلال عدة تحريات أكتشف أن للفصيلة القرعية العديد من الفعاليات البيولوجية، كما فسرت هذه الفعاليات بإحتوائها على ككربيتاسينات ونذكر على سبيل المثال بعض الفعاليات للككربيتاسينات فمثلا لمزيج الككربيتاسين CوB في صورة جليكوزيدية قدرة عالية مضادة للأكسدة تفوق ما سجل لفعاليات مضادة طبيعية مشهورة كبذور العنب والقمح ، كما أن عدة بحوث أشارت إلى أن للككربيتاسينات R،I،E،D،B فعالية مضاد للإلتهاب وللككربيتاسين dihydroxycucurbitacin B 24-23 فعالية مضاد للإلتهاب و الحساسية، وبعض الباحثين اهتموا بدراسة الككربيتاسينات كمضادات سرطانية.

وثمرة الدراسات لخصت بإيجاد أن للككربيتاسينات B، D، E، I، F ، P ، O ، Q ، وأغلب مشتقاتها فعالة كمضادة سرطانية قوية كما ينبغي توخي الحذر في أن ليس لكل ككربيتسينات المشتقة من نفس الصنف لها نفس الفعالية المضاد للسرطان فمثلا ككربيتاسين D أظهر فعالية مضادة لسرطان الخلايا البشرية الجذعية أما 2-O-glucosylecucurbitacin D لم يظهر تأثيراً. [43-47].

الفصل الثالث:

الدراسة الكيميائية

للتربينات الثلاثية

III- الدراسة الكيميائية للتربينات الثلاثية:

III-1-الكشف الأولي:

من أكثر التفاعلات شهرة واستعمالا في الكشف عن التربينات الثلاثية هو تفاعل Liebermann-Buchard حيث يدل تغير لون المستخلص الى أزرق مخضر على وجود ستروييدات و أما تشكل حلقة حمراء فيدل على وجود التربينات الثلاثية.

III-2-الإستخلاص :

في البداية يتم نقع النبات في إيثر البترول لتخليصه من الدهون والكلوروفيل ثم يجرى الاستخلاص باستعمال ماء/ميثانول بنسبة (70/30) أو (80/20) بعد الترشيح يركز الراشح الكحولي تحت ضغط منخفض بإستخدام جهاز التبخير الدوار،بعد التأكد من التخلص الكلي من الكحول يضاف له كمية من الماء المقطر، تترك ليلة كامله للراحة ثم يرشح بحذر، يعامل الراشح (مستخلص كحولي ممدد) بالكلوروفورم ويركز الطور الكلوروفورمي الحاوي على هذا النوع من المركبات، كما قد تستخلص التربينات الثلاثية بجهاز سوكسلي بإستعمال المذيبات $CHCl_3$،C_4H_9OH، AcOEt [43].

III-3-الفصل والتنقية:

فصل التربينات الثلاثية عملية صعبة وحساسة جدا لأن هذه المركبات اذا وجدت بكميات معتبرة فإنها تكون في صورة خلائط معقدة كما أن الاختلافات البنيوية البسيطة بين مكونات الخلائط تزيد الأمر صعوبة، وعادة نلجأ الى تقنيات الكروماتوغرافي المختلفة لفصل هذا النوع من المستخلصات، كما هو الحال مع باقي منتوجات الأيض الثانوي[43].

من أكثر الكواشف المستعملة للتدليل على التربينات الثلاثية كاشف Carr-price (trichlorure antimoine 20% في الكلوروفورم) كما أن استعمال كاشف Liebermann Buchardعلى كروماتوغرام الطبقة الرقيقة أصبح شائعا وذلك برش الكروماتوغرام بخليط من H_2SO_4 (1ml) و (20ml) من Anhydride Acétique و 50ml من $CHCl_3$ ثم نقوم بتسخينه مدة 10 الى 15 دقيقة عند درجة حرارة 85 C ـــــــــــ 90 اذ يتشكل مجال من الألوان التربينات الثلاثية المختلفة ويعتبر هذا الكاشف ذو حساسية عالية (2-5 µg) كما قد تستعمل كواشف أخرى عن التربينات عموما مثل محلول حمض الكبريتيك H_2SO_4.[43]

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع:

الدراسة الكيميائية للمستخلص الكلوروفورمي لقرعية

IV- الدراسة الكيميائية للمستخلص الكلوروفورمي لقرعية:

IV- 1- المادة النباتية:

نظرا لإتسام الموسم الحالي وما سبقه من جفاف ونقص تساقط الأمطار من جهة ومن جهة ثانية نظرا لإنتشار المزروعات البلاستيكية بالخصوص في المدينة، وقع اختيارنا على جملة من القرعيات واسعة الزرع و الإستهلاك ألا وهي (الكوسا، الخيار، البطيخ، اليقطين)،حيث تم قطف و جمع أوراق الأنواع الأربعة من الفصيلة القرعية من منطقة حاسي بن عبد الله، حيث تم تخلصها بعناية من الشوائب، ثم تم تجفيفها بوضعها على قطع قماش وفي مكان جيد التهوية بعيدا عن الرطوبة والشمس، حيث تم تقليبها من حين لآخر، ثم طحنت طحنا جزئيا، ثم أخضعت لعملية النقع و الإستخلاص وصولا إلى التحليل الكيفي بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لإختيار أفضلها.

IV- 2 – طريقة العمل

IV-2-1- النقع و الإستخلاص:

- أخذنا 10 غ من كل عينة من العينات الأربعة وأخضعناها لسلسلة من التجارب: بدأنا بنقعها في إيثر البترول لمدة 24 ساعة بغية تخلصها من الدهون والكلوروفيل، ثم رشحت وجففت ونقعت من جديد في مزيج أكثر قطبية :إثانول/ماء(3/7:حجم/حجم) لمدة 24 ساعة ثلاث مرات متتالية لإستخلاص معتبر وكاف.

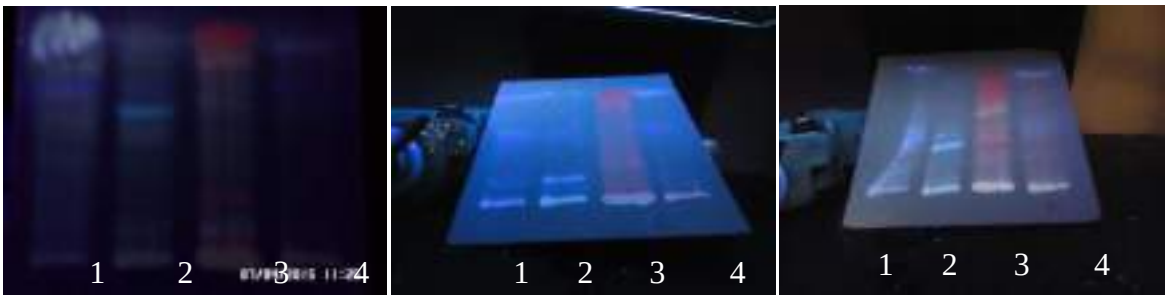
- ثم ركزنا المستخلصات الكحولية تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة لا تتعدى 40°م إلى حد قريب من الجفاف، ثم أضفنا لها كمية مناسبة من الماء المقطر الدافيء وتركنها ليلة كاملة للراحة، ثم قمنا بعملية الترشيح لإزالة ما لم يذوب في الماء بالإضافة إلى الأتربة والشوائب العالقة .

- ثم قمنا بإستخلاص جديد من نوع سائل – سائل في قمع فصل بمذبيين: إيثرالبترول مرة واحدة ثم الكلوروفورم ثلاث مرات، ثم جمعنا المستخلصات وركزنها جيدا، ثم أذبنها في أقل كمية ممكنة من إيثرالبترول والكلوروفورم على التوالي.

- حللنا المستخلص الكلوروفورمي بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بسلسلة من التجارب بإستخدام العديد من الأنظمة الكروماتوغرافية على غرار:

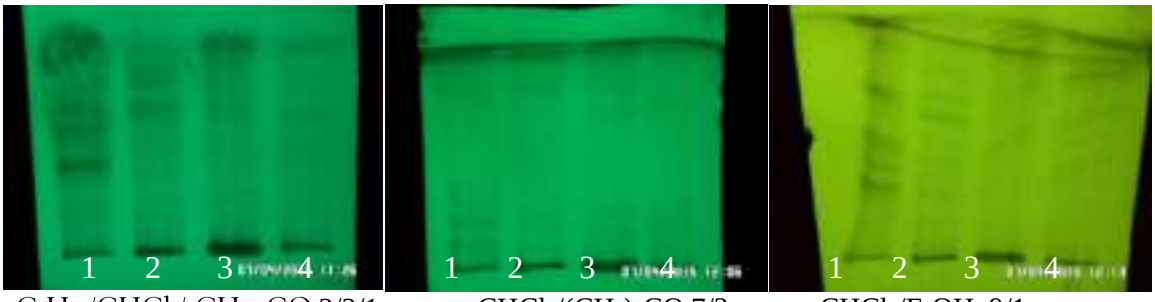
Et-Pet /Et_2O	4/1
Toluène/Et_2O	4/ 1
$C_6H_{14}/CHCl_3/(CH_3)_2CO$	4/4/1
$C_6H_{14}/CHCl_3$/EtOH	4/4/0.5
$CHCl_3/(CH_3)_2CO$	8/2
$CHCl_3$/EtOH	9/1
$(C_2H_5)_2O$/EtOH	20 /1

للبحث عن الأطوار المتحركة المناسبة لفصل أكبر عدد من محتويات المستخلصات الكلوروفورمية، و في النهاية خلصنا من سلسلة التجارب بثلاث أطوارمتحركة جيدة الفصل وهي موضحة في الشكل (11،12):



$C_6H_{14}/CHCl_3/(CH_3)_2CO$ 2/2/1 $CHCl_3/(CH_3)_2CO$ 7/3 $CHCl_3$/EtOH 9/1

الشكل (11): إستضهاركروماتوغرامات المستخلصات الكلوروفورمية للأنواع لأربعة و تحت مصباح (365نم)



$C_6H_{14}/CHCl_3/(CH_3)_2CO$ 2/2/1 $CHCl_3/(CH_3)_2CO$ 7/3 $CHCl_3$/EtOH 9/1

الشكل (12):إستضهاركروماتوغرامات المستخلصات الكلوروفورمية للأنواع لأربعة و تحت مصباح(254نم)

1:Cucumis sativus ,2:Cucurbita pepo ,3: Cucumis melo ,4:Cucurbita maxima

- استنادا على التجارب المستعملة في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة واستعمال العديد من الأنظمة المناسبة لها والمقارنة بين كروماتوغرامات المستخلاصات الكلوروفورمية الأربعة تبين لنا أن أفضلها هو المستخلص

الكلوروفورمي لـــنبتة *Cucumis sativus* المعروف بالخيار، لإحتوائها على أكبر عدد من المركبات، إلا أنه خلال التحاليل الأولية لاحظنا أنه غني جدا بالكلوروفيل لذا ارتأينا توفير كميات كافية من بديل عن إيثر البترول لعدم توفره في المخبر للتخلص من أكبر كمية من الكلوروفيل و ذلك بتقطير بترين بدون رصاص، في المجـــــــالين 40 °م-60 °م و 60° م- 80° م

- و بعد توفير الكميات المطلوبة، تم وزن 530 غ من أوراق نبتة *Cucumis sativus* ونقعت في إيثر البترول لمدة 24 ساعة، ثم رشحت وركزت الرشاحة لإعادة إستخدامها في التنقيع مرة أخرى لمدة 24 ساعة كذلك، ثم رشحت مرة أخرى وجُففت النبتة ثم نقعت من جديد في مزيج إثانول - ماء(3/7:ح/ح) دافئ، ثلاث مرات لمدة 48 ساعة و خلالها ركزنا المستخلصات الكحولية الثلاث ليعاد استعمال المذيب المحصل عليه في التنقيع الموالي، و في الأخير ركزنا المستخلص جيدا، ثم أذبنا المستخلص المركزفي 320مل من الماء المقطر الدافئ وتركناه ليلة كاملة للراحة، ثم قمنا بالترشيح، إلا أنه تبين لنا أن ترشيح واحد لم يكن كافيا للتخلص من دقائق النبتة المطحونة فأعدنا الترشيح مرتين للتخلص الكلي من الشوائب العالقة .

- بعدها أخضعنا الطور المائي لعمليات إستخلاص من نوع سائل – سائل بمذيبات متزايدة القطبية، وعديمة الإمتزاج بالماء فبدأنا بإيثر البترول ثم الكلوروفورم إذ يلاحظ أن الطور العضوي بإستخدام إيثر البترول يكون في الأعلى، بينما عند استخدام الكلوروفورم فإن الطور العضوي يكون في الأسفل، بعدها ركزنا الأطوار الكلوروفورمية تحت ضغط منخفض عند درجة حرارة لم تتجاوز 33 م° لنتحصل في الأخير على مستخلص كلوروفورمي مركز يزن 0.97 غ.

IV- 2- 2- الكشف الأولي

إستعمالنا كاشف Liebermann-Buchard على المستخلص الكلوروفورمي حيث تشكلت حلقة حمراء، مما يدل على وجود التربينات الثلاثية، كماهو موضح في الشكل (11).

الشكل(13):الكشف عن التربينات الثلاثية

IV– 2– 3– فصل مكونات المستخلص الكلوروفورمي:

إخترنا طريقة كروماتوغرافيا العمود لفصل مكونات المستخلص الكلوروفورمي، وذلك لوجود عدد معتبر من المركبات، وتحديد إخترنا تقنية الوميض الكروماتوغرافي Flash Chromatographique.

IV – 2 – 3 – أ– تحضير العينة :

قمنا بإذابة المستخلص في كمية من الكلوروفورم وأضفنا إليها وزن مماثل من السيليكا جال، بعدها ركزنا الخليط للتخلص من المذيب مع أخذ الإحتياطات اللازمة لكي لا يتسرب لنا المسحوق لنتحصل في الأخير على مسحوق يكون به المستخلص مدمصا على السيليكا جال.

IV– 2 – 3– ب– تحضير العمود:

أخترنا عمودا مناسبا لمثل هذا النوع من الفصل حيث أبعاده: طوله 12سم، وقطره 4.5 سم، مزود بطبقة مزججة من الأسفل، ثم ملأناه بـــ 50 غ من السيلسكا جال مستخدمين باستمرار التفريغ لرصه جيدا ثم أضفنا بعناية كمية المستخلص المدمص في صورة طبقة متجانسة السمك، تلتها إضافة حلقة من ورق Whatamane 3 لضمان عدم تشوه السطح عند كل إضافة للمذيب.

الشكل (14): تقنية الوميض الكروماتوغرافي

- إستخدمنا لهذه العملية طورا متحركا متغير القطبية بدأ بـــ 100% إيثر البترول متبوعا بالكلوروفورم إلى غاية 100% من الكلوروفورم، ثم إشباع هذا الأخير بالإثانول وصولا إلى 100 % إيثانول.

- كما إعتمدنا في تغيير قطبية المذيبات على الفحوص كروماتوغرامات الطبقة الرقيقة التحليلية لمختلف الكسور، بعد معاينتها بمصباح فوق الاشعة البنفسجية (245نم و 365نم).

- ثم جمعت الكسور المتماثلة إعتمادا على نفس تلك فحوص كروماتوغرامات الطبقة الرقيقة التحليلية، بحيث تحصلنا في الأخير على 28 كسرا.

بعد الفصل الأولي لمكونات المستخلص الكلوروفورمي عن طريق الوميض الكروماتوغرافي، و بغية الوصول إلى مركبات نقية قمنا بسلسلة من الإختبارات على الكسور بإستخدام العديد من الأنظمة الكروماتوغرافية :

Et-Pet /$CHCl_3$	9/1
$C_6H_{14}/CHCl_3/(CH_3)_2CO$	4/4/1
$C_6H_{14}/CHCl_3$/EtOH	4/4/0.5
$CHCl_3/(CH_3)_2CO$	8/2
$CHCl_3$/EtOH	9/1

ومن خلال فحوص الكروماتوغرامات الشكل(10،9) وعلى الكمية المتوفرة من كل كسر، فقد وقع اختيارنا على الكسرين 7 و22 لكونها غير معقدة نسبيا وكذلك لتباعد ثابت إحتباس بقع المركبات المراد فصلها وعدم إلتصاق بقع الكلوروفيل بها .

الفصل الخامس:

تقييم الفعالية

المضادة للبكتيريا

V- تقييم الفعالية المضاد للبكتيريا

رغم أن هذا الجزء لم يكن مدرجا ضمن موضوع بحثنا غير أنه خلال فترة التنقيع أردنا إستغلال الوقت لتعزيز بحثنا بتقييم الفعالية المضاد للبكتيريا للمستخلص الكلوروفورمي للأنواع الأربعة من الفصيلة القرعية المذكورة سابقا، كمساهمة في معرفة مدى تأثير مركبات المستخلص الكلوروفورمي على بعض أنواع البكتيريا

V.1- تعريف البكتيريا:

تُعرف البكتيريا بأنها كائنات حية دقيقة مجهرية، البعض من أنواعها مفيد ونافع للإنسان، والبعض الأخر ضار ومسبب للأمراض: كأمراض الجهاز الهضمي والبولي، الإلتهابات، التعفنات الجلدية بعد عمليات الجراحية، وبعض التسممات..... وكل بكتيريا تنمو وتتكاثر في وسط محبب لها، وتعيش أعداد كبيرة منها في جسم الإنسان كالأمعاء، الرئتين، فوق الجلد ...، وتنتقل البكتيريا من إنسان إلى آخر عن طريق الهواء،الماء و الأكل مما يزيدها خطورة[48].

إخترنا في تقييمنا للفعالية المضادة للبيكتيريا لمستخلاصاتنا ثلاث أنواع من البيكتيريا متحصل عليها من مخبر مستشفى الأم و الطفل بتقرت،وهي مذكورة في الجدول (2).

V – 2 – إختبار الحساسية:

لإختبار حساسية البكتيريا للمستخلصات النباتية الكلوروفورمية الأربعة إستخدامنا طريقة الإنتشار في وسط Mueller Hinton بإستبدال فقط أقراص المضادات الحيوية بأقراص مشبعة بالمستخلصات المراد دراستها وتمت الدراسة حسب خطوات التالية:

V – 2– 1 – المادة البكتيرية:

لمادة البكتيرية تحتوى على ثلاث أنواع من البكتيريا اثنين منها ذات غرام سالب ،والثالثة ذات غرام موجب.

الجدول(2): السلاسل البكتيرية

السلالة البكتيرية	Gram
Staphylococcus aureus	+
Pseudomonas aeruginosa	–
Escherichia coli	–

V – 2– 2 – تحضير وسط الزرع :

حضرنا وسط Mueller Hinton بإذابته في الماء الفزيولوجي المعقم، حيث يسكب حوالي 20 مل في كل علبة، قرب موقد بترين لتفادي إتلاف الوسط من طرف البيكتيريا ويترك حتى يأخذ الصورة الجيلاتينية، [49،50]

V –2– 3– تحضير الأقراص :

نقص ورق ترشيح Whatman 3 بشكل أقراص ذات قطر 6 مم، ثم تنقع كل قرص في المستخلص وقرص بالشاهد لـــ كل علبة بيتري[49،50] .

V– 2– 4– تحضير المستخلصات النباتية:

تم تجفيف المستخلص الكلوروفورمي لكل نتبة جيدا ثم أضيف له كمية من مذيب الـــ DMSO حسب العلاقة: 10 مل لكل 150 غ ، و استعملنا مذيب الـــ DMSO لوحده كشاهد سالب[49،50].

V –2 – 5– تحضير المعلق البيكتيري

تم تحضير المعلق بأخذ مستعمرة واحدة لبكتيريا مفعلة لـــ 24 سا بماصة باستر مغلقة وإذابتها في 10 مل من الماء الفزيولوجي المعقم لكل بكتيريا تم أخد من كل معلق 1 مل و إذابتها في 10 مل أخرى من الماء الفزيولوجي المعقم، وعند القيام بهذا التحضير نكون قد حضرنا معلق يحتوي على حوالي 10^6 خلية/مل [49،50].

V – 2– 6– الزرع والحضن

بعد أن نتأكد من جفاف العُلب، نقوم بزرع البكتيريا في العلب بغمس الماسح القطني معقم في المعلق البكتيري ثم نمسح به على كامل الوسط الجاف بشكل خطوط متلاصقة مع تكرير العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير العلبة بـــ 60° كل مرة وفي الأخير نقوم بمسح كلي في محيط دائرة العلبة، تم تشفر أماكن وضع الأقراص في غطاء العلب ويوضع كل قرص في مكانه الخاص به و تحضن العلب في الفرن لمدة 24سا في درجة حرارة 37°م، وكل هذه التحضيرات تكون قرب موقد بترين [49،50].

V – 2 – 7– طريقة القياس

تقدر حساسية أو مقاومة المستخلص للبكتيريا عن طريق قياس قطر دائرة التثبيط بالملي متر، حيث حسب قطر دائرة التثبيط تحدد مدى حساسية البكتيريا وجدول (3)يوضح القياسات المعمول بها[48].

الجدول (3):القياسات

قطر دائرة التثبيط	حساسية البيكتيريا	النتائج
أقل من 7 مم	غير حساسةInsensible	-
مابين 7 مم و 8 مم	حساسةAssez sensible	+
ما بين 8 مم و 9 مم	حساسةSensible	++
أكبر من 9 مم	حساسة جداTrès sensible	+++

الفصل السادس:

النتائج والمناقشة

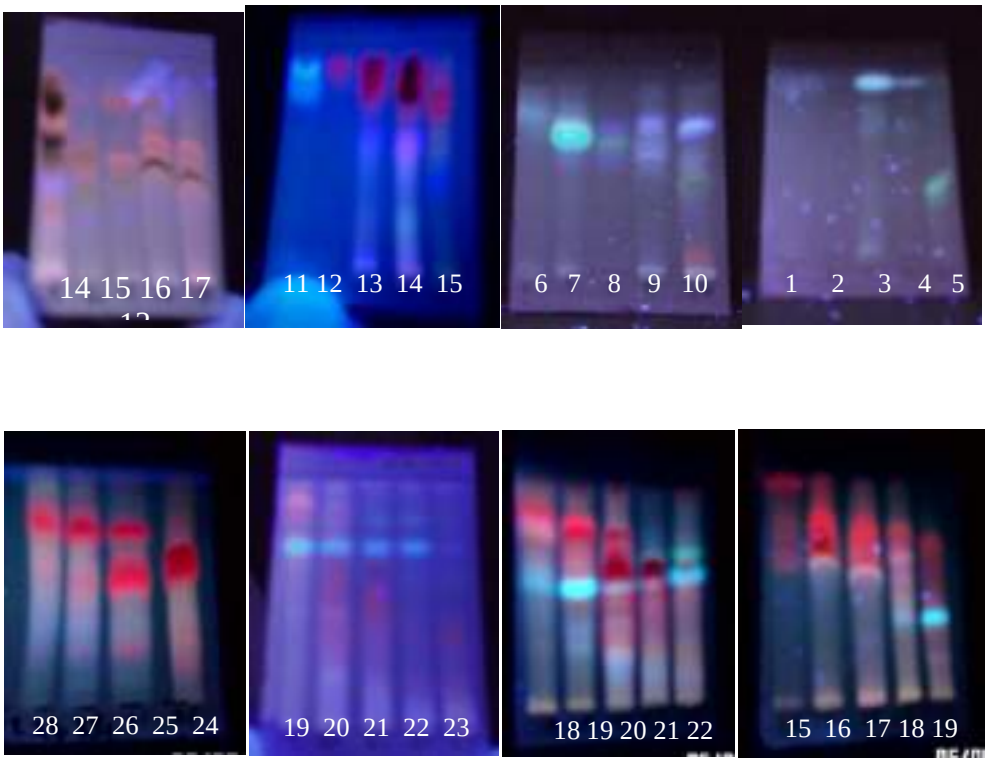
VI – النتائج والمناقشة

VI– 1 – الوميض الكروماتوغرامي.

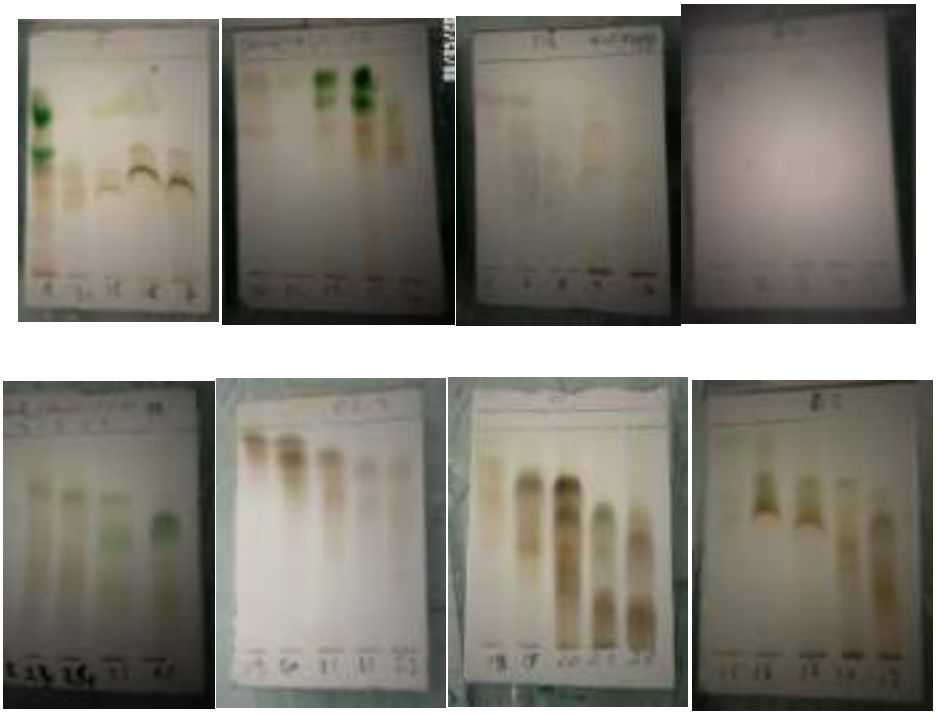
تحصلنا من التحليل الأولي للمستخلص الكلوروفورمي لأوراق نبتة *Cucumis sativus* بالوميض الكروماتوغرافي على 178 كسرا، تمت معاينتها بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية الشكلين (13،14) لتجميع المتشابهة منها، حيث تحصلنا في الأخير على 28 كسرا و الجدول (2) يوضح الكسور المتحصل عليها.

الجدول(4): نتائج فصل الوميض الكروماتوغرافي للمستخلص الكلوروفورمي

الكسور قبل التجميع	الكسور بعد التجميع	إيثر البترول	الكلوروفورم	إيثانول
1-6	1	100%	0	0
7		75	25	0
8	2	75	25	0
11-9	3	75	25	0
14-12	4	75	25	0
22 -15	5	50	50	0
28 – 23	6	25	75	0
30 – 29	7	25	75	0
32-31		0	100	0
33	8	0	100	0
39 -34	9	0	99.5	0.5
47-40	10	0	99	1
48	11	0	99	1
51-49	12	0	99	1
53-52	13	0	99	1
59-54	14	0	99	1
61	15	0	99	1
68-62	16	0	99	1
77-69	17	0	99	1
83-78	18	0	99	1
86-84	19	0	99	1
94 -87		0	98	2
99-95		0	97	3
110-100	20	0	96	4
118-111		0	95	5
124-119		0	94	6
129-125	21	0	93	7
134-130	22	0	92	8
138-135	23	0	91	9
146-137		0	90	10
154-147	24	0	85	15
159-155	25	0	80	20
162-160	26	0	80	20
170-163	27	0	50	50
178-171	28	0	0	100



الشكل (15):كروماتوغرامات الكسور بعد التجميع وتحت مصباح الأشعة البنفسجية (365 ن م)



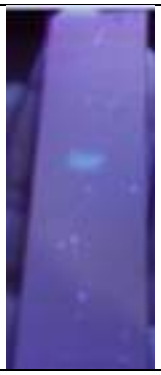
الشكل (16): كروماتوغرامات الكسور بعد التجميع وبإستظهارها بـ H_2SO_4

VI– 2 – دراسة الكسر 22

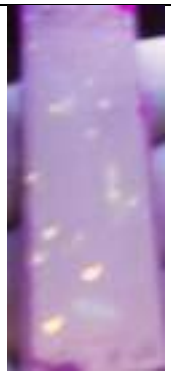
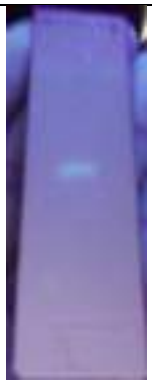
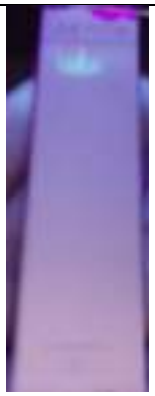
تضمن هذا الكسر بقع ذات ألوان مختلفة ، بأعداد قليلة نسبيا، إلا أنه تميز ببقعتيين متمييزتين، إحدهما ذات لون أزرق والأخرى ذات لون أخضر، فأجرينا عليه سلسلة ثانية من الإختبارات لإجتيار انسب وأليق التراكيز الواجب استخدامها لفصلهما بـــ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية فكان النظام (هكسان/كلوروفورم/أسيتون) (1/1/1) الأحسن لفصل هذا الكسر، و كذلك تأكد أن بعد إستظهار البقع بـــ كاشف H_2SO_4 لا يتغير مكانها.

الشكل (17): الكسر 22

بعد ذلك قمنا بتطبيق هذه الشروط في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية، وتحديد مكان الحزم الخاص بالمركبات المراد فصلها تحت مصباح الأشعة البنفسجية، ثم أزلنا هذه الأشرطة و أضفنا لها الإثانول، بعد ذلك رشحنها بقمع مزجج، و للتأكد من نقاوة المركب قمنا بتحليل المركبين المتحصل عليها بـــ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية بعدة أنظمة، كما هو موضح الشكل (18،19).

النظام	C_6H_{14} /$CHCl_3$/$(CH_3)_2CO$ 2 /2/1	C_6H_{14} /$CHCl_3$/EtOH 2/2/0.5	$CHCl_3$/$(CH_3)_2CO$ 8/2	$CHCl_3$/EtOH 10/1
الكروماتوغرام				
ثابت الإنحباس	0.13187	0.96364	0.57143	0.52542

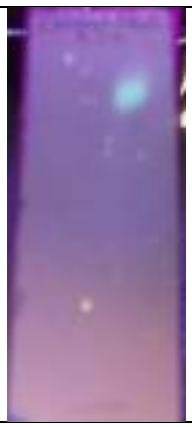
الشكل(18): كروماتوغرامات المركب A ذو اللون الأزرق المفصول من الكسر 22

النظام	C_6H_{14} /$CHCl_3$/$(CH_3)_2CO$ 2 /2/1	C_6H_{14} /$CHCl_3$/EtOH 2/2/0.5	$CHCl_3$/$(CH_3)_2CO$ 8/2	$CHCl_3$/EtOH 10/1
الكروماتوغرام				
ثابت الإنحباس	0.111	0.40909	0.46365	0.91071

الشكل (19): كروماتوغرامات المركب B ذو اللون الأخضر المفصول من الكسر 22

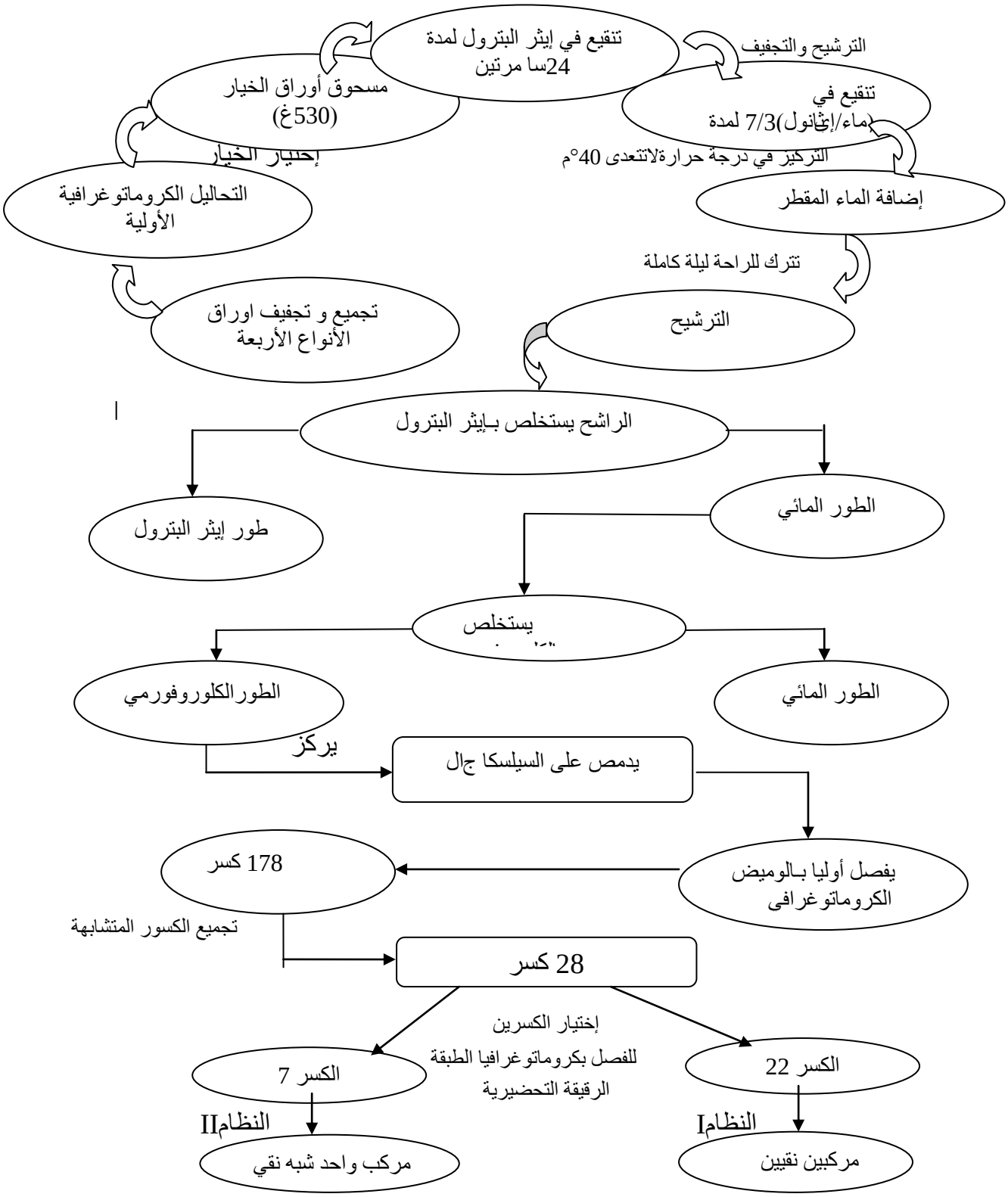
VI – 3 – دراسة الكسر 7

إحتوى هذا الكسر على بقعة واحدة واضحة ذات لون أزرق مخضر، إلا أنه تضمن كذلك بقعتين غير واضحتين، فأجرينا عليه سلسلة ثانية من الإختبارات لتحديد أنسب وأليق التراكيز الواجب استخدامها لفصله بـــكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة االتحضيرية، فكان النظام الأفضل له هو إيثر البترول/ كلوروفورم (3/7)، فستخدمنا هذا النظام على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية، وقمنا بتحديد الحزمة الموافقة للمركب المراد فصله، فأزلنها وقمنا بإضافة الإيثانول ورشحناها بقمع مزجج، وحللنا الراشح بـــ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية بعدة أنظمة، فتبين لنا من كونه يضم مركبا به شوائب، والشكل(18) يوضح كروماتوغرامات المتحصل عليها.

النظام	C_6H_{14} /$CHCl_3$/$(CH_3)_2CO$ 2 /2/1	Et-Pet/$(CHCl_3)$ 7/3	$CHCl_3$/$(C_2H_2)_2O$ 9/1	Et-Pet/$(CH_3)_2CO$ 9/1
الكروماتوغرام				
ثابت الإنحباس	0.77193	0.46341	0.40909	0.9024

الشكل(20): كروماتوغرامات المركب C المفصول من الكسر 7

و قد أمكن تلخيص هذا الجزء من عملنا بمخطط يوضح مختلف مراحل عمليات الفصل التي سلكناها.



النظام I: $C_6H_{14}/CHCl_3/(CH_3)_2CO$ 1/1/1 النظام II: Et-Pet/$CHCl_3$ 7/3

VI – 4 – تقييم الفعالية المضاد للبكتيريا

الشكل (21):مخطط لمختلف مراحل دراسة المستخلص

VI – 4 – أ – النتائج:

تقييم الفعالية المضاد للبكتيرياكانت إيجابية بالنسبة لثلاث أنواع من الفصيلة القرعية ضد نوع واحد من البيكتيريا المستجدمة في الدراسة،و الجدول(5) يوضح النتائج المتحصل عليها.

الجدول (5):نتائج تقييم الفعالية البيولوجية

السلالة البيكتيرية	غرام	المستخلاصات الكلوروفورمية الاربعة			
		الخيار	الكوسى	اليقطين	البطيخ
Staphylococcus aureus	+	14مم	11مم	8 مم	0مم
Pseudomonas aeruginosa	-	0 مم	0 مم	0 مم	0مم
Escherichia Coli	-	0 مم	0 مم	0 مم	0مم

الشكل(22):علبة بيتري لبكتيريا *S.aureus*

VI – 4 – أ – مناقشة النتائج:

من خلال النتائج السابقة نستنتج أن للمستخلص الكلوروفورمي للأنواع الأربعة لأوراق نبتة الخيار الفعالية الأكبر ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* حيث وصل قطر دائرة تثبيطه 14مم أي حساسة جدا، يليه المستخلص الكلوروفورمي لأوراق الكوسى بدائرة تثبيط قطرها 11مم،مما يجعلها حساسة ، ثم يأتي في المرتبة الثالثة المستخلص الكلوروفورمي لأوراق الكابويا بدائرة تثبيط قطرها 8مم أي تعتبر حساسة كافية، أما المستخلص الكلوروفورمي لأوراق البطيخ كان عديم الحساسية ضد كل الأنواع البيكتيرية وكذلك المستخلصات الكلوروفورمية للأربع أنواع كانت عديمة الحساسية ضد النوعيين الأخريين من البيكتيريا. تفسر فعالية المستخلص الكلوروفورمي على إحتوائه على مركبات فعالة كتربينات الثلاثية، كومارينات والفلافونيدات متعددت الميثوكسيل.

الخاتمة

الخاتمة

بغية التعرف على مكونات ما، ينيغي تحديد طبيعتها وأكثر ما يميزها، وبالتالي التوجه إلى طريقة إستخلاصها و استخدام ما يناسبها من مذيبات تتوافق مع قطبيتها، فالكلوروفورم متوسط أو دون المتوسط من حيث القطبية مقارنة مع باقي المذيبات المستخدمة في الاستخلاص، ونقصد بالذات تلك التي لا تمتزج بالماء.

فقد اقتفيا آثار الاستخلاص صلب- سائل متبوعا بسائل-سائل على أنواع من نباتات الفصيلة القرعية، تلاها استخدام سلسلة من تقنيات الكروماتوغرافيا المتنوعة، وباستخدام ما يتاح و يناسب من الوسائل وقتاووفرة، فاستطعنا تحديد طبيعة بعضا من مكونات المستخلص الكلوروفورمي لأوراق نبتةالخيار*Cucumis sativus* المحلي،فتبين وجود نوع ذات أوزان جزيئة عالية نوعا ما بها عدد ذرات الكربون الثالثون ومن ذرات الأكسجين ما يصل إلى الثمانية تعرف بالككربيتاسينات وتسند إليها من الفعاليات البيولوجية كأمثلة لا حصرا : مسهلات، مسكنات، مضادات للحساسية، مضادات للإلتهابات ومضادات سرطانية....، كما كانت نتائج الفعالية المضاد البيكتيريا إيجابية نوعا ما.

المراجع

المراجع

- [1] WHO monographs on selected medicinal, *World Health Organization* , volume3, 2007

- [2] دحليمي ع., النباتات الطبية. الإتحاد العالمي لحفظ البيئة I.U.C.N ، الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة. 1997.

- [3] ARMOGOM R. Etude de la fraction lipidique des grains de *cucurbitacées* tropicales des genres *Lagenaria*, *Luffa, Momordica*. Thèse de doctorat : Université de Réunion, **juillet 1998.**

- [4] SHORT P.S., COWIE I.D. Flora of the Darwa Region. *National Library* of *Australia*, 1(1), March 2011.

- [5] د. إ.شكري. النباتات الزهرية نشأتها وتطورها- تصنيفها. دار الفكر العربي, **1994.**

- [6] LAGUNEZ RIVERA L., Etude l'extraction de metabolite secondaire de diffentes matiares vegetales en reacteur chauffe par induction thermomagnetique directe.Thése de doctorat: Université de Toulouse,juillet 2006.

- [7] BRUNETON J. Pharmacognosie : phytochimie, plante médicinale. 3éme édition. Paris : tec et doc., **1999.**

- [8] BRUNETON J. Pharmacognosie :Plantes toxique végetaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2éme édition. New york : tec et doc., **1999.**

- [9] MALGWI i. S., OLORUNSHOLA k. V., HAMMAN E., Eze D. and ONAADEPO o. Effects of aqueous Cucurbita pepo linn seed extract on some haematological parameters and serum electrolytes of lactating albino rats. *Annals of Experimental of Biology*, 2(1), **2014**, p 11-16.

- [10] UMADEVI P., MURUGAN S., JENNIFER S., SUBAKANMANI S. Evaluation of antidepressant like activity of Cucurbita pepo seed extracts in rats. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*,**2011,** p110**.**

- [11] MOHAMED G. A., IBRAHIM S.R.M. phenolic constituents of Cucurbita pepo l. Cv "eskandrani" (summer squash) flowers**.** Assiut University: egypte, 32(2), **2009,** p 311-319.

- [12] Salwa E., Yuan Q., Ibrahim F., Khalil O., El Badri A. In Vitro Antimicrobial Activity of Summer Squash *(Cucurbita pepo L.)*. *University of Africa Journal of Science*, 1(1), 2010, p 77-89.

- [13] GURAV A., MONDAL D.B., VIJAYAKUMAR H. In vitro qualitative and quantitative phytochemical analysis of ethanolic and 50% ethanolic extracts of tinospora Cordifolia,Momordica charantia, Cucurbita maxima and raphanus sativus.*Indian Journal of Advances in Plant Research*,5(5), **2014**, 1937-1941.

- [14] Shweta S., Priyanka K., Ganesh G., Khadabadi S. Ancient and recent medicinal uses of Cucurbitaceae family. *International Journal of Therapeutic Applications*, 9, **2013**, p 16**.**

- [15] MAHAMUNI S. S., KILLEDAR S. G., More H. N., Nale A.B., Pawar A. A. and Chavan S. V. Evaluation Of Phytochemical And Antimitotic Potential Of Lagenaria siceraria Fruit Using Onion Root Model, *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 3(8), **2012**, p 2857-2861 .

- [16] SHARMA A., SHARMA A. K., CHAND T., KHARDIYA M., CHAND YADAV K. Antidiabetic And Antihyperlipidemic Activity Of Cucurbita maxima duchense (Pumpkin) Seeds On Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), 2013, p 108- 116.

- [17] SHARMA A., SHARMA A.K., CHAND T., KHARDIYA M., CHAND YADAV K. Preliminary phytochemical evaluation of seed extracts Of Cucurbita maxima Duchesne. *Journal of Pharmacognosy And Phytochemistry*, 2(3), p 62-65, **2013.**

- [18] BAJPAI R., JAIN N and PATHAK A. K. Standardization of Ethanolic Extract of Cucurbita maxima Seed. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(8), **2012,** p 92-95.

- [19] RAVISHANKAR K., KIRANMAYI, REDDY A., SOWJANYA V., BABA SAINADH V., DURGA L., SWAMINAIDU S.P. Preliminary Phytochemical Screening And In-Vitro Antibacterial Activity Of Cucurbita maxima seed extract and t. Prasad. *International journal of research in pharmacy and chemistry*, 2(1), **2012**.

- [20] DHANALAKSHMI A. Evaluation of Nutritional and Phytochemical Constituents of Cucurbita maxima Duchesne and Cucurbita moschata Lam Seeds. *Indian Journal of Natural Sciences*, **2010,** p 5.

- [21] PRASAD M.P. In Vitro Phytochemical Analysis And Antioxidant Activity Of Seeds Belonging To Cucurbitaceae Family *Indian Journal of Plant research*, 1(4), **2014**.

- [22] ANKITA S., PARMINDER K., GUPTA R. phytochemical screening and antimicrobial assay of various seeds extract of cucurbitaceae family. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* **2012,** p 404-409**.**

- [23] SANDHYA V., RODGE, BIRADAR S. D. Preliminary Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Lagenaria siceraria (Mol) Standal. *Indian Journal of Plant Sciences*, 2 (1) January-March, **2012**, p 126-130.

- [24] BOTHI GOPALAKRISHNAN S., KALAIARASI T. Comparative Phytochemical Screening of the Fruits of Cucumis Trigonus Roxb. And Cucumis sativus Linn. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(4), 2010, p 1455-1468.

- [25] JANAPAREDDI K., ELLANDALA R., PULLURU M., DUNDIGALLA S. K., et Al. antiurolithiatic activity of Cucumis sativus. International Journal of Pharmacological,3(2), **2013,** p46-52.

- [26] PRADHAN D., BISWASROY P., SINGH G., SURI K.A. Anti-Ulcerogenic Activity Of Ethanolic Extract Of Cucumis sativus L. Against Nsaid (Aspirin) Induced Gastric Ulcer In Wistar Albino Rats. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(3), **2013,** p 115-119**.**

- [27] Luhure R., Ghanwat D., Bidkar J., Dama G. Preclinical evaluation for determination of antihyperlipidemic potential of Cucumis melo fruit juice in High-Cholesterol diet induced hyperlipidemia in rats. *International Journal of Pharmaceutical and Boilogical Sciences Research and Devlopmente*, 1(1), September- **2013**, p.1-9

- [28] GHANWAT D., BIDKAR J., BHUJBAL M., GANESH Y. Dama Anti-Hyperlipidemic Activity Of Cucumis melo fruit peel different extract in triton x-100 induced hyperlipidemia in rats. *Journal of universal pharmacyand biosciences*, 1(1), 2012.

- [29] IMTIYAZ AHMAD M., ANSARI S.H., JAVED NAQUVI K., SHUAIB M. Pharmacognostical studies and establishment of quality parameters of Cucumis melo. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 4(4), 2012, p 324-329.

- [30] MILIND P., KULWANT S. Musk melon is eqt-must melon. *International Research journal of pharmacy*, 2(8), 2011, p 52-57**.**

- [31] SUMAM VARGHESE, NARMADHA R., GOMATHI D., KALAISELVI M., DEVAKI K. Phytochemical Screening And Hptlc

Finger Printing Analysis Of Citrullus lanatus (Thunb) Seed. *Journal of Acute Diseas*, 2013, p122-126.

- [32] OSENI O. A., OKOYE V. I. Studies of Phytochemical and Antioxidant properties of the Fruit of Watermelon (Citrullus lanatus) (Thunb). *Journal of pharmaceutical and biomedical Sciences*, 27(27), **2013**.

- [33] RAHMAN H., MANJULA K., ANOOSHA T., NAGAVENI K., CHINNA M., BARDALAI D. In-Vitro Anti-oxidant Activity of Citrullus lantus seed extracts. *Asian journal Pharmcy clinical research*, 6(3), **2013.**

- [34] BIU A., BURATAI A., ONWUATOGWU L.B., MOHAMMED J. and AGADA N.O. phytochemical screening of Citrullus lanatus leaf aqueous extract. *Journal of medical and applied biosciences*, 5(2), **2013.**

- [35] SANDHYA V., RODGE S. D., BIRADAR. Preliminary Phytochemical Screening And Antimicrobial activity of Citrullus colocynthis. *India journal of plant sciences*,1(2), **2013**, p 19-23**.**

- [36] GURUDEEBAN S ., SATYAVANI K., RAMANTHAN T. Bitter Apple (Citrullus colocynthis): An Overview of Chimical Composition and Biomedical Potentials. *Asian Jornal of Plant Scisnces*, 9(7), **2010**, p 394_401.

- [37] HETAL J., GORASIYA, PARANJAPE A., MURTI K. Pharmacognostic And Pharmacological Profile of Lagenaria siceraria (Molina) Standley. A Review. *Asian Jornal of Plant Scisnces*;, 3, **2011**.

- [38] KADHIM E. J. Phytochemicals Investigation and Hepato-Protective Studies of Iraqi Bryonia Dioica (Family Cucurbitaceae). *International Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 2014, P 187-190.

- [39] BENARBA A. B., MEDDAH B., AOUES A. Bryonia dioica Aqueous Extract Induces Apoptosis Through Mitochondrial

Intrinsicpathway In Bl41 Burkitt's Lymphoma Cells. *Journal Of Ethnopharmacology*, **2012,** p 510-516**.**

- [40] INDUMATHY R., SATHEESH KUMAR D., KOLAGANI PALLAVI, SASHIKALA Devi1 G. Antimicrobial activity of whole plant of Luffa cylindrica (linn) against some common pathogenic micro-organisms. *International Journal Pharmacy of Siences and Drug Research*, 3(1), January-March **2011,** p 29-31.

- [41] FOLAKE LUCY O., ABIDEMI O. food value and phytochemical composition of luffa cylindrica seed flour**.** *American journal of biochemistry*, 2(6), **2012**, p 98-103.

- [42] VELMURUGAN V., GEORGE S., SUREKHA S.P. phytochemical and biological screening of luffa cylindrical (linn.) Fruit. *International journal of pharmtecal research*,3(3) **,2011**.

- [43]د.حسين،دراسة الايض الفلافونيدي والتربيني لبعض انواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية، مذكرة دكتوراه جامعة منتوري قسنطينة،**سبتمبر 2002.**

- [44] HYUN LEE D., GABRIELA B., IWANSKI, NILS H. Thoennissen Cucurbitacin: Ancient Compound Shedding New Light on Cancer Treatment. *The Scientific World journal*, 10, **2010**, p 413-418**.**

- [45] YUANG G., WAHLQVIST M.L., G.HE, YANG M., D.Li. Natural products and anti-inflammatory activity. *Asia Pac Journal Clin Nutr*, 15(2), **2006**, p143-152**.**

- [46] S.A.Bernard ,O. Ayorinde; Olayinka Search for a novel antioxidant, antiinflammatory/analgesic or anti-proliferative drug:Cucurbitacins hold the ace. *Journal of Medicinal Plants Research.*. 4(25), pp. 2821-2826, Special, 2010.

- [47] TANNIN-SPITZ T., BERGMAN M., GROSSMAN S. Cucurbitacin glucosides: Antioxidant and free-radical scavenging activities. *Biochemical and Biophysical. Research Communications*, 364, p 181-186,**2007.**

- [48] TOTY A A., GUESSENND N., BAHI C ., KRA A. M., OTOKORE D. A. , DOSSOM .Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne del'extrait aqueux de l'écorce de tronc de Harungana madagascariensis sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 8(2) , p. 12 – 21,**2013**.

- [49] SHAHID R ., DURRANI IRAM S., DURRANI M., ALI KHAN F. Antibacterial activity in vitro of medicinal plants. *Sky Journal of Microboilogy Research* ,1(2),p.5-21 **, 2013.**

- [50] IBRAHIM N.Caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile essentielle des écorces de Cryptocarya crassifolia (Lauraceae) diplome d'etudes approfondies (d.e.a) de biochimie universite d'antananarivo, **octobre 2010.**

ملخص

يعتبر هذا العمل مساهمة منا في التعرف على طبيعة ونوع مركبات المستخلص الكلوروفورمي لأحد أنواع الفصيلة القرعية، إذ برغم من ضيق الوقت و ضآلة المستخلص إلا أنه لم يكن ذلك عائق ا بالمرة، فقد تمكنا من تجزئة المستخلص الكلوروفورمي لـ *Cucumis sativus* عبر الوميض الكروماتوغرافي إلى 178 كسرا، ثم تم تجميع المتشابهة منها إلى 28 كسرا بالإستعانة بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية، وجملة من الأطوار المتحركة متغيرة القطبية، و قد تم اختيار الكسرين 7و22 لوفرة كميتهما، وتباعد ثابت الإنحباس، ونقص طبقات الكلوروفيل فيها، فقادنا ذلك إلى فصل ثلاث مركبات اثنان منها خالصة نقية، عدا الثالث المحتوى على شوائب، بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيريةوالتحليلية.

كما تم تقييم الفعالية المضاد للبيكتيريا لأربعة أنواع من الفصيلة القرعية:
Cucumis melo،*Cucurbita pepo* ،*Cucumis sativus* ،*Cucurbita maxima* .

الكلمات الدالة:الفصيلة القرعية، المستخلص الكلوروفورمي، الوميض الكروماتوغرافي، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية، كروماتوغ رافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية،الفعالية المضاد للبكتيريا.

Résumé :

Ce travail est une contribution à l'identification de la composition de l'extrait chloroformique d'une plante de Cucurbitacées.

Nous avons fractionné l'extrait chloroformique de *Cucumis Sativus* par flash chromatographie en 178 fractions, ensuite nous avons regroupé les fractions identiques en 28 fractions à l'aide de la chromatographie sur une couche mince analytique, et à la fin nous avons choisi deux fractions la 7ème et la 22ème à cause de leurs abondances, en plus de leurs Rf éloignés et les couches chlorophylles sont moindres.

D'après les résultats obtenus, nous avons utilisé la technique de chromatographie sur une couche mince préparative et analytique pour séparer trois composés, deux d'entre eux sont purs par contre le troisième contient des impuretés.

Le test qui a contribué à la détermination de la sensibilité aux bactéries, a été effectué avec les extraits de Cucurbitacées : *Cucurbita pepo, Cucurbita maxima ,Cucumis sativus , Cucumis melo*.

Mots clés : Cucurbitacées, Extrait chloroformique, Flash chromatographique, Chromatographie sur une couche mince analytique, Chromatographie sur couche mince préparatif, Activité antibactérienne.