الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي

رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة
شعبة: علوم بيولوجية
تخصص: التنوع الحيوي وفزيولوجيا

الموضوع

تاثير طرق الاستخلاص على المحتوى الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات والنشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات *Anabasis articulata*

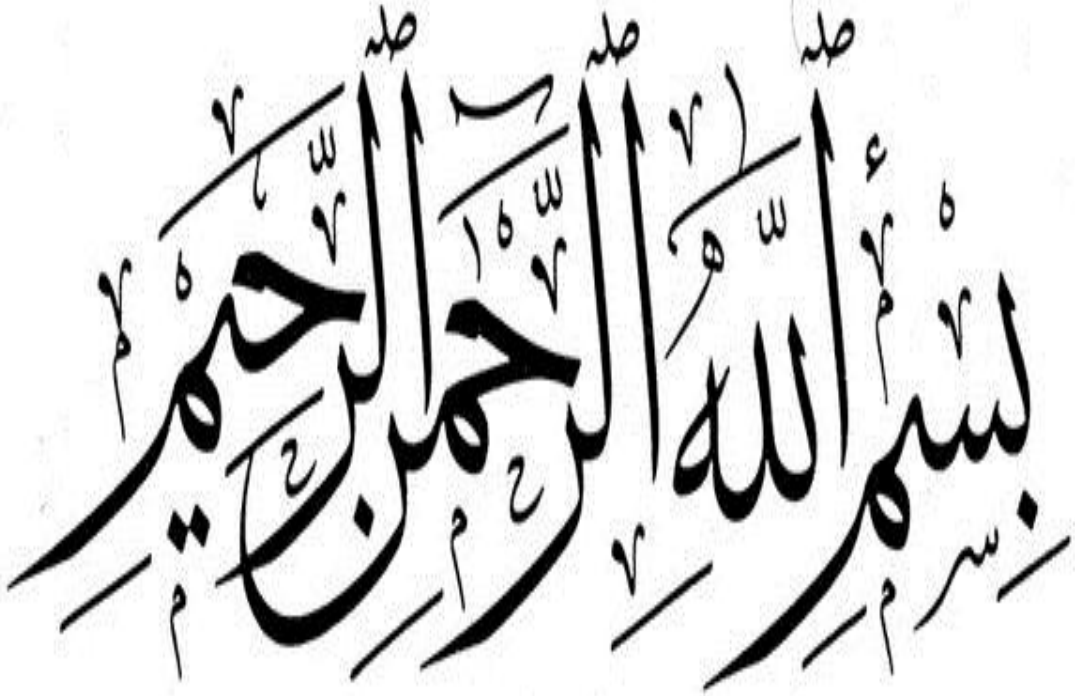
من إعداد:

برير بلقاسم ــ بحير عبد الكريم

نوقشت يوم 03 /06/ 2018 من طرف لجنة المناقشة:

➢ أ. خراز خالد	أستاذ مساعد قسم "أ"	رئيسا	جامعة الوادي
➢ د.أحمد الخليفة شمسة	أستاذ محاضر قسم "ب"	مؤطرا	جامعة الوادي
➢ د.عاطف شويخ	أستاذ محاضر قسم "أ"	ممتحننا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي:2017 / 2018


بسم الله الرحمن الرحيم

الشكر والتقدير

قال رسول الله صلى الله عليه و سلم: "من لم يشكر الناس لا يشكر الله"

صدق رسول الله صلى الله عليه و سلم

الحمد لله الذي أكرمنا بعطفه، وهدنا إلى خير سبله، وأنار بصائرنا بالعلم، وفتح لنا خزائن حكمته ورحمنا برحمته.

الحمد لله الذي اختارنا لنكون لعباده مددا، وأرادنا لنكون للعلم سندا، وسدد خطيانا وقبل دعانا.

الحمد لله الذي وفقنا لإتمام هذا البحث، الحمد للذي به نبدأ وبه نستعين لتقديم شكرنا الجزيل وامتنانا الكبير إلى:

الأستاذ الفاضل الدكتور ***شمسة احمد الخليفة*** الذي لم يبخل علينا بإرشاداته، نصائحه وتوجهاته، وعلى صبره وسعة صدره، وحثه المستمر ومتابعته الدائمة لإتمام هذا البحث في أحسن صورة، ونرجو من الله جلى وعلى أن يمن عليه بدوام الصحة والعافية ويديمه لنا أستاذا نافعا ومشرفا جادا ومرشدا متواضعا ورافد من روافد العلم، فجزاه الله عنا خير الجزاء وجعله ذخرا وفخرا لكل طلبة العلم والتعلم.

وتتقدم بأطيب العرفان وجزيل الامتنان للأستاذ **خزان خالد** على قبوله رئاسة اللجنة لهذا البحث

كما تتقدم بفائق التقدير والاحترام الكبير للدكتور **شويخ عاطف** لقبوله عضوية اللجنة وإثراء بحثنا بالتوجيه القيم والنصح النير الذي يفيدنا في زيادة تحسين بحثنا هذا.

وفي الأخير يجدر بنا التوجه بأسمى وأبلغ عبارات الشكر والتقدير إلى كل أساتذتنا الأكارم الذين أشرفوا وساهموا وشاركوا في تكويننا طيلة مسارنا الجامعي، إلى كل تقني المخابر بكلية علوم الطبيعة والحياة وإلى كافة عمال وعاملات جامعة الشهيد حمه لخضر.

وإلى كل طلبة وطالبات الماستر دفعة 2018.

الإهداء

أحمد الله عز وجل على منه و عونه لإتمام هذا البحث

إلى الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق له آماله، إلى من كان يدفعني قدما نحو الأمام لنيل المبتغى، إلى الإنسان الذي إمتلك الإنسانية بكل قوة، إلى الذي سهر على تعليمي بتضحيات جسام مترجمة في تقديسه للعلم، إلى مدرستي الأولى في الحياة، أبي الغالي على قلبي أطال الله في عمره؛

إلى التي وهبت فلذة كبدها كل العطاء و الحنان، إلى التي صبرت على كل شيء، التي رعتني حق الرعاية و كانت سندي في الشدائد، و كانت دعواها لي بالتوفيق،

نبع الحنان أمي أعز ملاك على القلب إليهما أهدي هذا العمل

إلى إخوتي وأخواتي، أقاربي واصدقائي والى كل من عائلة بجير وبربر

إلى منيري جهلي وعلمي أساتذتي الأكارم وأستاذتي الكريمات، إلى كل من رافقني في مساري الدراسي

إلى كل من ساعدني وأسعدني، إلى كل من حفظهم قلبي ونسيهم قلمي

أهدي هذا العمل

بلقاسم _عبد الكريم

الملخص

الملـخـص

يهدف هذا العمل إلى التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا ، لكل المستخلصات (Hexane ، Acétate Ethyle، méthanol) المحضرة بطريقة النقع (**maceration**) وبجهاز Soxhlet لنبات الباقل *Anabasis articulata*، النامي في منطقة وادي سوف، وذلك خلال مرحلة إزهاره.

حيث بينت النتائج أن أعلى قيمة للمردود سجلت عند مستخلص الميثانولي بطريقة النقع بـ (8.42%)، وأدناها عند مستخلص الهكسان لجهاز Soxhlet بـ (3.08 %). كما أظهرت النتائج وجود تناسب طردي بين المحتوى الكمي لكل من عديدات الفينول والفلافونويدات، حيث أظهر مستخلص الميثانولي لجهاز Soxhlet أعلى نسبة لهما و التي قدرت بـ (96.11 ± 2.31 (mg EAG/g EP و 1.93± (mg EQu/g EP) 30.75 ، وأقلها في مستخلص الهكسان بطريقة النقع و التي قدرت بـ (18.66 ± 0.47 (mg EAG/g EP و 5± 1.33 (mg EQu/g EP) . في حين أبدت نتائج النشاطية المضادة للأكسدة للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ تفوق مستخلص الميثانولي لجهاز Soxhlet بقدرة ثبيطية مقدرة بـ (IC_{50}= 89.23±3.21 (µg/ml)، أما في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) فأبّدت النتائج تميز مستخلص الميثانولي لجهاز Soxhlet بأقل نسبة انحلال قدرت بـ 49.26%.

تم استعمال طريقة الإنتشار بالأقراص في دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة حيث اظهر أن مستخلص الميثانولي لجهاز Soxhlet من أكثر المستخلصات نشاط ضد السلالات الموجبة و السالبة غرام.

الكلمات المفتاحية :

Anabasis articulata، عديدات الفينول، الفلافونويدات، النشاطية المضادة للأكسدة، ، اختبار الـ$DPPH^{\bullet}$ اختبار الـ Hémolyse، النشاطية المضادة للبكتيريا ، جهاز Soxhlet، نقع .

Résumé

Ce travail pour faire une étude quantitative des polyphénols et des flavonoïdes, et étudiés l'activité antioxydante et antimicrobienne, de l'extrait (méthanol, Acétate Ethyler et Hexane) qui préparer par la méthode de macération et avec le soxhlet en utilisant la plante *Anabasis articulata* qui vive dans la région d'oued souf pendant la floraison.

Les résultats obtenus montrent une valeur élevée du rendement enregistrée chez l'extrait méthanoïque de (8.42%), avec une faible valeur de (3.08%), chez l'extrait d 'Hexane (Soxhlet). les résultats montrent aussi il y a une corrélation positive entre la quantité des polyphénols et celle des flavonoïdes, avec des valeurs élevée de l'extrait méthanoïque (Soxhlet) respectivement 96.11±2.31 (mg EAG/g EP) et 30±1.91 (mg EQu/g EP), et de minimum concentration de l'extrait d 'Hexane (macération) 18.66±0.47(mg EAG/g EP) et 5±1.33 (mg EQu/g EP) respectivement.

concernent l'activité antioxydant des radicaux libres (DPPH) est supérieure a l'extrait méthanoïque (Soxhlet) avec capacité d'inhibition de IC50 qui égale a 89.23±3.21 (µg/ml)،le teste d'hémolyse révélé que l'extrait méthanoïque (Soxhlet) est très efficace avec une valeur de 49.26% .

dans cette étude l'activité antimicrobienne montre que l'extrait méthanoïque (Soxhlet) sont très efficace pour les bactéries gramme positive et négative .

Les Mots Clé: *Anabasis articulata* , les polyphénols, les flavonoïdes, l'activité antioxydant, Test DPPH•, Test d'hémolyse . Soxhlet , maceration .

Abstract

This study examined the polyphenol and flavonoid contents with antioxidant activity by measuring the radical 2,2 diphenyl-1-picylhydrazyl scavenging activity and antibacterial activity by using disc diffusion method of three extracts (Hexane, Ethyl acetate and Methanol) were prepared by two methods (Maceration and Soxhlet apparatus) of *Anabasis articulata* growing widely in Oued Souf region during flowering period.

The highest yield of methanol (maceration) extract was (8.42%), and the lowest was in hexane(Soxhlet) (3.08%). Total phenolic content Determination showed that the highest amount with Methanol (Soxhlet) extract 96.11±2.31 (mg EAG/g EP) ,and the lowest was in Hexane (maceration) 18.66±0.47(mg EAG/g EP). While these extracts contained a significant amount of flavonoids where the largest amount was estimated in the methanol extract(Soxhlet) 30±1.91 (mg EQu/g EP) ,and the lowest was in Hexane (maceration) 5±1.33 (mg EQu/g EP) .

the results of antioxidant activity by DPPH assay showed that methanol extract(Soxhlet) had the IC_{50} value with 89.23±3.21 (µg/ml). while Hemolysis test indicated that these results showed that the antioxidant activity of this extracts are weak in comparison with the Ascorbic acid activity, the best activit showed with methanol extract(Soxhlet) by 49.26%.

Anabasis articulata extracts have shown significantly antibacterial activity against various gram positive and negative bacteria. The higher antibacterial activity have shown with Méthanol Soxhlet extract .

Key words: *Anabasis articulata* , Polyphenols , Flavonoids , Antioxidant Activity , test $DPPH^{\cdot}$, test Hemolysis ، Soxhlet , maceration

الفهرس

الفهرس

العنـوان	الصفحة
المـلخص	
الفـهرس	
فـهرس الوثـائق	
فـهرس الأشكـال	
فـهرس الجـداول	
قـائمة الاختصـارات	
المقدمـة	
الجـزء النظـري	
الفصـل الأول : النبات *Anabasis articulata* (Forsk). Moq	
I. عموميات حول العائلة الرمراميــة *(Salsolaceae)* *Chenopodiaceae*	**5**
1. تعريف	**5**
2. الإنتشار الجغرافي للعائلة الرمراميــة (*Chenopodiaceae*)	**5**
3. الخصائص العامة للعائلة الرمراميــة *Chenopodiaceae*	**6**
4.الصفات المميزة لنباتات العائلة الرمراميــة*Chenopodiaceae*	**7**
5.الأهمية الاقتصادية للعائلة الرمراميــة *Chenopodiacea*	**7**
6.بعض المركبات المعزولة من *العائلة Chenopodiacea*	**8**
II. دراسة الجنس *Anabasis*	**10**
1.تعريف الجنس *Anabasis*	**10**
2.أنواع *Anabasis* المتواجد في الوطن العربي	**10**
3.أنواع Anabasis الغير متواجد في الوطن العربي	**11**
III. الوصف النباتي لـ *Anabasis articulate*	**11**
1.التصنيف النباتي لـ *Anabasis articulata*	**12**

2.الدراسات السابقة لنبات *Anabasis articulate*:	**13**
3 .خصائص والاستخدامات العلاجية	**14**
الفصل الثاني: الإجهاد التأكسدي - مضادات الأكسدة	
I. الإجهاد التأكسدي	**16**
1. تعريف الإجهاد التأكسدي	**16**
2. تعريف الجذور الحرة	**16**
3. أنوع الجذور الحرة:	**16**
1.3. التقسيم على أساس الاستقرار	**16**
2.3. التقسيم على أساس النوع	**17**
4. مصادر الجذور الحرة	**18**
1.4. المصادر الداخلية	**19**
2.4. مصادر الخارجية	**20**
5. أضرار الجذور الحرة	**20**
II. مضادات الأكسدة .	**21**
1. تعريف مضادات الأكسدة	**21**
2. تصنيف مضادات الأكسدة	**22**
1.2 . مضادات الأكسدة الطبيعية	**22**
2.2. مضادات الأكسدة الصناعية	**26**
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: المواد والطرق	
I. المواد	**30**
1. المادة النباتية المدروسة *Anabasis articulata*	**30**
1.1 الأدوات والطرق المستعملة في تحضير العينة النباتية	**30**
2.1 الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة	**31**

II. الطرق البحث	34
1. تحضير المستخلص النباتي لـ *Anabasis articulata*	34
1.1. الاستخلاص بالنقع (صلب _سائل) (macération)	34
2.1.الاستخلاص بجهاز Soxhlet	35
2. تقدير نسبة المردود	36
3. التقدير الكمي لعديدات الفينول	36
4.التقدير الكمي للفلافونيدات	37
5.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	37
1.5.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	37
2.5. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء	39
6. دراسة النشاطية المضادة للسلالات البكترية الممرضة	39
1.6.عموميات حول الأنواع البكتريا المختبرة	40
2.6. تحضير أوساط الزرع	41
3.6. تحضير المعلق البكتيري	41
4.6. زراعة البكتيريا	41
5.6. وضع الاقراص	42
الفصل الثاني: النتائج والمناقشة	
I. النتائج	44
1 . حساب المردود لمستخلصات النبات R%	44
2. تقدير الكمي للمركبات الفينولية	45
1.2. التقدير الكمي لعديدات الفينول	45
2.2. التقدير الكمي للفلافونويدات	46
3. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	47
1. 3.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH•	47

الفهرس

3 .2. دراسة الارتباط الخطي بين عديدات الفينول - النشاطية المضادة للاكسدة والفلافونيدات - النشاطية المضادة للاكسدة	**50**
4. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse	**52**
5. دراسة النشاطية المضادة للاحياء الدقيقة	**56**
II. المناقشة	**62**
الخاتمة	
المراجع	
الملاحق	

فهرس الوثائق

الرقم	العنـوان	الصفحة
01	خريطة تبين التوزيع الجغرافي لنباتات العائلة الرمرامية حول العالم	06
02	رسم تخطيطي لنبات *Anabasis articulata*	12
03	صورة تبين أزهار نبات *Anabasis articulate*	12
04	صورة حقيقة لنبات *Anabasis articulate*	12
05	تأثير المستخلصات الكحولية لنبات *Anabasis articulata* بطريقة النقع البارد على السلالات البكترية المختبرة .	58
06	تأثير المستخلصات الكحولية لنبات *Anabasis articulata* بطريقة Soxhlet على السلالات البكترية المختبرة	59

فهرس الاشكال

الرقم	العنـوان	الصفحة
01	مصادر الجذور الحرة	18
02	مخطط يوضح آلية التخلص من الجذور بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة	24
03	التركيب الكيميائي للفيتامين E (*a*-tocopherols)	25
04	التركيب الكيميائي للفيتامين A	25
05	التركيب الكيميائي للفيتامين C	26
06	التركيب الكيميائي لـ BHT	27
07	التركيب الكيميائي لـ BHA	27
08	طريقة الحصول على المستخلصات النباتية بطريقة النقع	35
09	مخطط الاستخلاص بجها ز Soxhlet	36
10	تفاعل الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ مع مضاد للأكسدة	38
11	مردود المستخلصات المختلفة لنبات الباقل *A. articulata*	44
12	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	45
13	المنحنى القياسي للكرستين	46
14	منحنى الارتباط بين عديدات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة لجهاز Soxhlet	50
15	منحنى الارتباط بين الفلافونويدات والنشاط ا لمضاد للأكسدة لجهاز Soxhlet	51
16	منحنى الارتباط بين عديدات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة لطريقة النقع	51

17	منحنى الارتباط بين الفلافونويدات والنشاط ا لمضاد للأكسدة لطريقة نقع	52
18	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse).	53
19	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الميثانولي بطريقة السوكسلي	53
20	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص أسيتات الإثيل بجهاز السوكسلي	54
21	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الهكسان بجهاز السوكسلي	54
22	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الميثانولي بطريقة النقع	55
23	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص أسيتات الإثيل بطريقة النقع	55
24	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الهكسان بطريقة النقع	55
25	نسب انحلال كريات الدم الحمراء للمستخلصات المدروسة ولحمض الأسكوربيك عند تركيز 1 mg/ml .	56
26	متوسط الأقطار التثبيطية بـ (مم) للسلالات البكتيرية المختبرة مع مستخلصات المدروسة لنبات *Anabasis articulata*	57

فهرس الجداول

الرقم	العنـوان	الصفحة
01	بعض المركبات المعزولة من *العائلة Chenopodiacea*	9
02	التصنيف العلمي لنبات الباقل *Anabasis articulata* (Forsk). Moq	13
03	الأدوات والطرق المستعملة أثناء تحضير العينة النباتية	30
04	الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة أثناء العمل المخبري	31
05	كمية عديدات الفينول للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات الباقل *Anabasis articulata* بالملغ المكافئ لحمض الغاليك على الغرام من المستخلص النباتي (mg EAG/g EP)	45
06	كمية الفلافونويدات للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات الباقل *Anabasis articulata* بالملغ المكافئ للكرستين على الغرام من المادة الجافة (mg EQu/g EP)	47
07	النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة و Vit C	48
08	القيم IC_{50} المثبطة لنسبة 50% من جذور $DPPH^{\bullet}$ لمستخلصات نبات *A .articulata* ولحمض الأسكوربيك.	49

قائمة الاختصارات

AA% : Absorbation Activité

AlCl3 : Trichlorure d'Aluminum.

BHA : Buthyl hydroxyle anizole

BHT : Buthyl hydroxyle toluène

CAT : Catalase

DPPH : 2,2'Diphenyl-1-picrylhdrazyl.

ETH : L'acétate d'éthyle .

GRx : Glutathion peroxidase

GR : Glutathion reductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG: Glutathion oxydé.

H_2 O_2 : peroxide d'hydrogène.

I % : نسبة التثبيط

IC_{50}: Inhibition Concentration 50%.

LOX : Lipoxygnase

LOO: Radical peroxide.

M: Macération.

Mg EAG/g MP: Milligramme Equivalent Acide Gallique sur Gramme des Matières d'Extraits.

Mg EQu/g MP: Milligramme Equivalent Quercitine sur Gramme des Matières d'Extraits

HEX : Hexane.

قائمة الاختصارات

MeOH: Méthanol .

M : Macération .

Na2CO3: Carbonate de Sodium.

NOS : Nitric Oxygen Synthase.

NADPH: Nicotinamide Adenine Dinucliotide Phosphate.

R %: Pourcentage de rendement.

ROS : Resctive Oxygen Species.

S : Soxhlet.

Ug : Microgramme.

W8O23: Oxyde Tungstène.

% : Percentage.

Vit C : Vitamine C.

المقدمة

مقدمـة

أنعم الله علينا من النعم ما لا تعد ولا تحصى ومن بينها النباتات، وهي من نعم الله عزوجل على خلقه وذكرها في مواضع كثيرة من القرآن الكريم فقال سبحانه وتعالى﴿ أَمَّنْ خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالأَرْضَ وَأَنْزَلَ لَكُمْ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا بِهِ حَدَائِقَ ذَاتَ بَهْجَةٍ مَا كَانَ لَكُمْ أَنْتُنْبِتُوا شَجَرَهَا أَءِلَهٌ مَعَ اللَّهِ بَلْ هُمْ قَوْمٌ يَعْدِلُونَ﴾ سورة النمل الاية (60) .

النباتات من أعظم الممالك الموجودة على الكرة الأرضية، فهي تضم مجموعة كبيرة من الكائنات الحية على مختلف أنواعها، بحيث تحظى هذه النباتات بإعتراف عالمي كبير كعنصر حيوي للتنوع البيولوجي ومورد أساسي وهام من ناحية الأهمية الإقتصادية والطبية خاصة النباتات البرية منها، توفر النباتات الغذاء،الدواء، الوقود، الماوئ لبني البشر بصفة خاصة والكائنات الأخرى بصفة عامة في مختلف مناطق العالم، كما تلعب دورا هاما في الحفاظ على النظام البيئي وإستقرار النظام الايكولوجي (جغلان أ،2009).

قد ربط الإنسان الأول العلاقة بين النباتات البرية التى تغطي الأرض، وبين الأمراض التى يصاب بها فاستعمل هذه الأعشاب أو جزء منها في التداوي (صلاح ع.،2011). حيث تعتبر النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان ولا تزال العديد من الثقافات تثمن الوصفات الطبية والعلاجية، وتعتبر مصدر رئيسي للعقاقير النباتية التى تدخل في تحضير الأدوية على شكل خلاصات، مواد فعاله مواد خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية (العابد إ.،2009).

يعيش الإنسان الحديث أضرار لم يكن يعرفها أو منتشرة من قبل، وقد وجد نفسه في عصر الأمراض المزمنة بسبب التقدم المتسارع في مجال كيمياء العضوية (بن عاشور ص،2007)، حيث لوحظ إنخفاض في الإصابة لمجموعة من هذه الأمراض عند تناول الأطعمة والمشروبات الغنية بالمركبات الفينولية وخاصة الفلافونويدات مثل مرض القلب والسكري ...إلخ، يمكن للفلافونويدات أن تمنع الأصابات الناتجة عن الجذور الحرة وذلك بإزاحتها أو تثبيط الإنزيمات المسوؤلة عن تخليقها (جرموني م، 2009).

تسخر الجزائر بمساحة شاسعة وتنوع مناخي كبير وهذا ما يجعلها من أغنى الدول التى تحتوي على النباتات الطبية وتنوع في الغطاء النباتي، وذلك تم إستعمال في هذه الدراسة نبات *Anabasis articulata* الذي ينتمي إلى جنس *Anabasis L* وإلى العائلة *Chenopodiaceae*، ينتشر هذا النوع النباتي في المناطق الصحراوية ويستخدم في الطب الشعبي البديل كعلاج ضد مرض السكري والإسهال، السرطان، الروماتيزم، يحتوي هذا النبات على مركبات كيميائية فعالة من بينها الفلافونويدات والصابونيات ...إلخ .

وعملنا هذا الذي يهدف الي دراسة التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات وتأثير نوع المذيب (Hexane ، Acétate éthyle; Methanol) عليهما، وكذلك الفاعلية المضادة للأكسدة ،والنشاطية ضد الأحياء الدقيقة، للمستخلصات الكحولية لنبات الباقل *Anabasis articulata* المستخلص بطرقتي النقع وبجهازSoxhlet . حيث قسمنا البحث الى جزئين :

- **الجزء النظري:** يحتوي على فصلين أولهما درسنا فيه النبات المدروس *Anabasis articulata* وخصائصه وأيضا توزيعه الجغرافي وكذلك أهميته البيولوجية وغيرها.
  اما الفصل الثاني فقد تطرقنا فيه الى الاجهاد التاكسدي والمضادات الأكسدة وأنواعها.
- **الجزء التطبيقي**: يتضمن هو الاخر على فصلين، تطرقنا في فصله الأول بالحديث عن المواد المستعملة والطرق المتبعة في هذه الدراسة، اما في فصله الثاني قمنا بتحليل ومناقشة النتائج المتحصل عليها ومقارنتها بالدراسات السابقة .

الجزء النظري

الفصل الأول

نبات

Anabasis articulata

(Forsk) Moq

I. عموميات حول العائلة الرمرامية *(Salsolaceae) Chenopodiaceae*

1. تعريف

تسمي أيضا بالعائلة السرمقية، هي عائلة كبيرة نسبيا ومهمة تتكون من أعشاب معمرة تابعة إلى الفصيلة القطيفية لها القدرة على التأقلم في مختلف الظروف المناخية، تضم العائلة الرمرامية حوالي 100 جنس و 1400 نوع معظمها تتواجد في المناطق الجافة و المالحة حول العالم (Thulin M, 2008) .

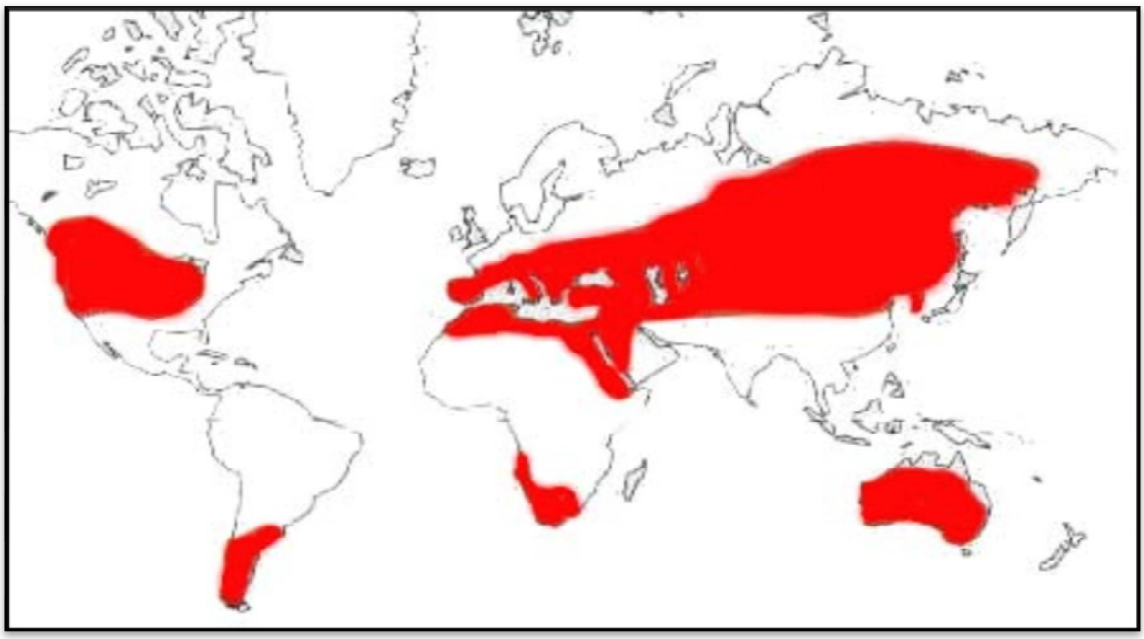
تتضمن بعض الأعشاب الضارة والتى تنمو في المناطق المزروعة، معظم ما تضمه هذه العائلة من النباتات هي أعشاب وشجيرات وتضم أيضا بعض الشجيرات الطويلة وأشباه الأشجار وقد يكون (الجذع) ساق عشبيا أو خشبيا (شكري، 1994).

تعرف نباتات هذه العائلة بأزهارها عديمة البتلات كما تتميز أيضا بوجود أنواع يمكن زرعها مثل (الشمندر، السبانخ والسلق) وأنواع أخر تنبت في الصحاري.

يوجد في الجزائر75 جنس من عائلة (*Chenopodiaceae*) ومن بينها جنس *Anabasis* (خطاف ع،2011).

2. الإنتشار الجغرافي للعائلة (*Chenopodiaceae*)

توجد نباتات هذه العائلة بشكل رئيسي في المناطق القاحلة، الصحراوية، الأماكن المالحة والساحلية لشمال وجنوب قارة أفريقيا، آسيا، أستراليا، أوروبا وأمريكا الشمالية والجنوبية. تنمو نباتات هذه العائلة في المناطق الساحلية (البحر الأبيض المتوسط والبحر الأحمر)، **الوثيقة (1).** تمتلك نباتات هذه العائلة صفة المقاومة للظروف المناخية (الملوحة، الحرارة) لذا وجد كثير من أشكال أورق نباتات هذه العائلة اسطواني أو شبه اسطواني. والسيقان خالية منها ذات عقد ظاهرة (Cabral et al. ,2015 ; Bouzghaia B ,2008).



الوثيقة (1) : خريطة تبين التوزيع الجغرافي لنباتات العائلة الرمرامية حول العالم (Cabral et al, 2015)

3 .الخصائص العامة للعائلة الرمراميــة (*Chenopodiaceae*)

معظم ما تضمه هذه العائلة من النباتات هي أعشاب و شجيرات لكن تضم أيضا بعض الشجيرات الطويلة، وقد يكون الجذع (الساق) عشبيا أو خشبيا و غالبا عصوي في عديد من النباتات.

- **الأوراق**:- تكون متبادلة أو شبه متقابلة، عديمة الاذينات، مسطحة، أسطوانية، بيضاوية أو مختزلة إلى حراشف صغيرة أحيانا ما تكون شوكيه، قد تكون عصارية بسيطة، وتكون مرتبة ترتبا حلزونيا.
- **الزهرة**:- تكون صغيرة ثنائية الجنس أو أحيانا أحادية الجنس،منتظمة سفلية ماعدا في جنس Beta فالزهرة علوية.
- **النورة**:- محدودة ذات شعبتين تتحول في النهاية إلى وحيدة الشعبة، وقد تكون وحيدة من البداية.
- **الغلاف الزهري**:- محيط واحد من أربعة الى خمسة الأوراق زهرية منفصلة وقد تلتحم من الأسفل.
- **الطلع**:- عدد الأسدية مساوي لعدد الأوراق الزهرية ومقابلة لها، وقد تختزل عدد الأسدية إلى سداة واحدة، قد تختلف عدد الأوراق الغلاف الزهرية وكذالك الأسدية في الجنس والواحد، وتمتاز حبوب لقاح هذه الفصيلة بوجود عدد كبير من الاخاديد لإنبات المستديرة لجنس واحد.
- **المتاع**:- يتكون من كربلتين ملتحمتين ونادرا ما يكون خمسة كرابل، يحمل قلما واحد ينتهي بميسمين.

- **المبيض:**- يكون ضخم ذو حجرة واحدة يحوي بويضة واحدة كلوية الشكل في وضع مشيمي قاعدي.
- **الثمرة**:- كيسي أو بندقة محاطة بالغلاف الزهري، وقد تنشق بشق مستعرض كما عند نبات السلق.
- **البذرة:-** اندوسبرمية وجنين إما دائري، منحني صغير أو حلزوني يملا فراغ البذرة.
- **التلقيح**:- تلقيح يكون ذاتي أو خلطي نتيجة وجود أزهار وحيدة الجنس، والأزهار خنثى (ثنائية الجنس). إما مبكرة الطلع كما عند نبات البنجر والخريزة أو مبكرة المتاع كما عند نبات الرمرام، التلقيح خلطي هوائي نظرا لصغر الأزهار ووفرة لقاحها وتركيب الاسدية (شكري ا،1994; خطاف ع،2011).

4. الصفات المميزة لنباتات الفصيلة (*Chenopodiaceae*)

- النباتات لا تحتوى على قنابات غشائية.
- الأزهار عديمة البتلات، صغيرة خضراء.
- المتاع ذو حجرة واحدة يحوي بويضة واحدة.
- الجنين كلوي (لوبي) منحني.
- تحتوى على نباتات دائمة الخضرة (خطاف ع ،2011) .

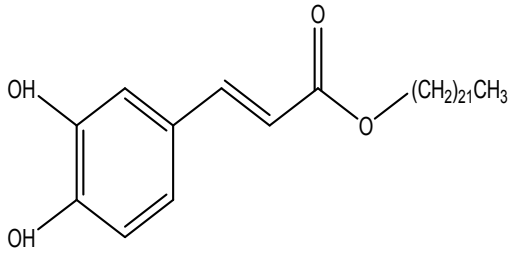
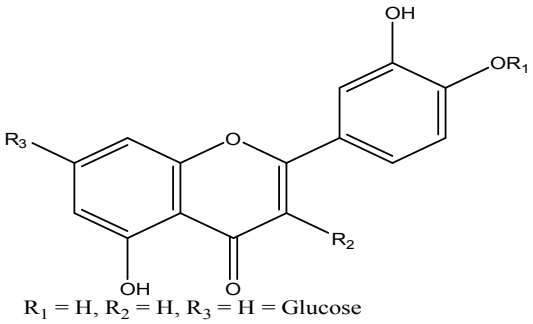
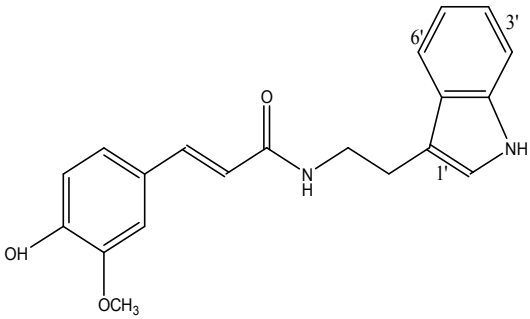
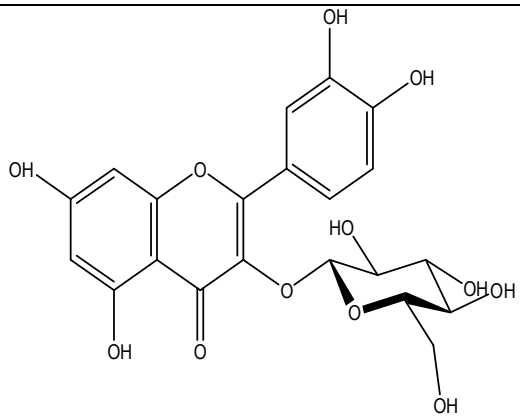
5. الأهمية الاقتصادية للعائلة الرمراميــة (*Chenopodiaceae*)

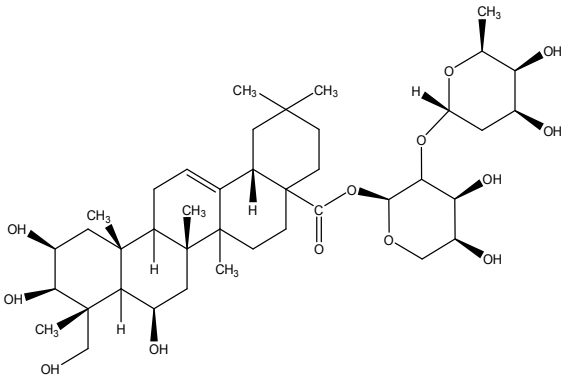
تحتوى هذه العائلة على نباتات عالية القيمة الغذائية صالحة للإستهلاك البشري مثل البنجر(*bettes*) والشمندر (*betteravrs*) والسبانخ (*spinacia alercea*) كما نذكر أيضا (*atriplex hotensis*) والسبانخ البرية (*chenpoduim bomus henricus*) وأيضا (*chenpoduim quinoa*) والذي يزرع في أمريكا الجنوبية كحبوب و(*kochia scoina*) الذي يعرف بالسرور الصيفي وهو النوع يستعمل في الزينة، يوجد قسم آخر من هذه العائلة يعتبر من النباتات الضارة (لموى ر، 2010).

تحتوي هذه العائلة على أنواع لها استخدامات طبية مثل نبات الرمرام (*chenpoduim ambrosides*) لارتفاع الموادة الفعالة في زيته، وهذا الأخير يعتبر من أحسن أنواع الزيوت والتي تستعمل لطرد الديدان الحلقية والشريطية والخطافية، ولهذه العائلة نباتات تستعمل كثيرا في الترميم البيولوجي للمناطق الصحراوية وعلى سبيل المثال نبات *Halaxylon ammadendron*، وهناك أيضا أنواع أخرى مهمة تستغل كعلف لحيوانات الصحراوية والسهلية (خطاف ع ، 2011; Herbs A, 1980).

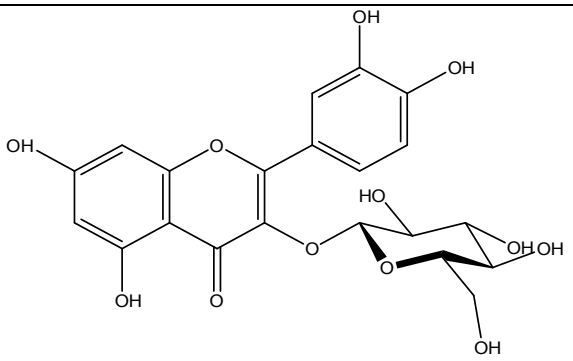
6.بعض المركبات المعزولة من *العائلة Chenopodiacea*

جدول (01): بعض المركبات المعزولة من العائلة الرمرامية(Chenopodiaceae)

إسم المركب	الشكل الكيميائي	إسم النبات	المرجع
3,4-dihydroxy cinnamic acide		*Halocnemun strobilaceum*	(Simon, G.*et al* .,1999)
Luteolin-7-O-rhamnoside		*Cornulaca monacanth*	(Fayez, E.K. *et al*.2001)
N-Trans-Feruloyl Tryptanine		*Chenopodium album*	Francesca,C.*et al* (.,2003)
Isorhamnétin -3-O- rutinoside		*Salsola Kali*	(Tomas. F,*et aL* ., 1985)



(Yoshikawa. K,*et al*., 2000)	*Bassia (Madhuca) Iongifolia*		D-Madlongiside
(Syrchina,A.I.*et al*.,1989)	*Salsola Collina*		Quercétin 3-O-B-D glucoside



II.دراسة الجنس *Anabasis*:

1. تعريف

ينتمي جنس *Anabasis* إلى العائلة الرمرامية، وهو شجيرة عشبية ويكون على شكل شجيرات، أشباه شجيرات أو شجيرات صغيرة. دائمة التفرع معمرة على مدار السنة، تكون الأوراق عكسية، لحمية، قشرية (Bouzghala B,2008)، ينمو في الصحاري العراقية، المصرية والجزائرية وبصفة عامة في قارة أفريقيا، آسيا وأوروبا، عادة ما تنمو هذه النباتات في المناطق المالحة وقليلة الملوحة والأراضي الجافة وشبه جافة، كما تنمو في المستنقعات المالحة.

يضم جنس *Anabasis* حوالي 29 نوع، منها خمسه تنمو في الجزائر وهي:

- *anabasis aphylla*.
- *Anabasis aretioides*.
- *Anabasis articulta* .
- *Anabasis oropediorum*.
- *Anabasis prostrate*. (**www.algerianativeplants.net**).

2.أنواع المتواجدة في الوطن العربي

- الشنان الجاف (*Anabasis aretioides*) في المغرب العربي.
- الشنان السوري (*Anabasis syriaca*).
- الشنان الشعيري (*Anabasis setifera*).
- الشنان العرباوي (*Anabasis oropediorum*).
- الشنان المفترش (*Anabasis prostrata*).
- الشنان المفصلي (*Anabasis articulata*). (لينوس ك،1753)

3. أنواع الغير متواجدة في الوطن العربي

- الشنان الإيراني (*Anabasis iranica*).

- الشنان التركستاني (*Anabasis turkestanica*).

- الشنان الجبسي (*Anabasis gypsicola*).

- الشنان الجيري (*Anabasis calcarea*).

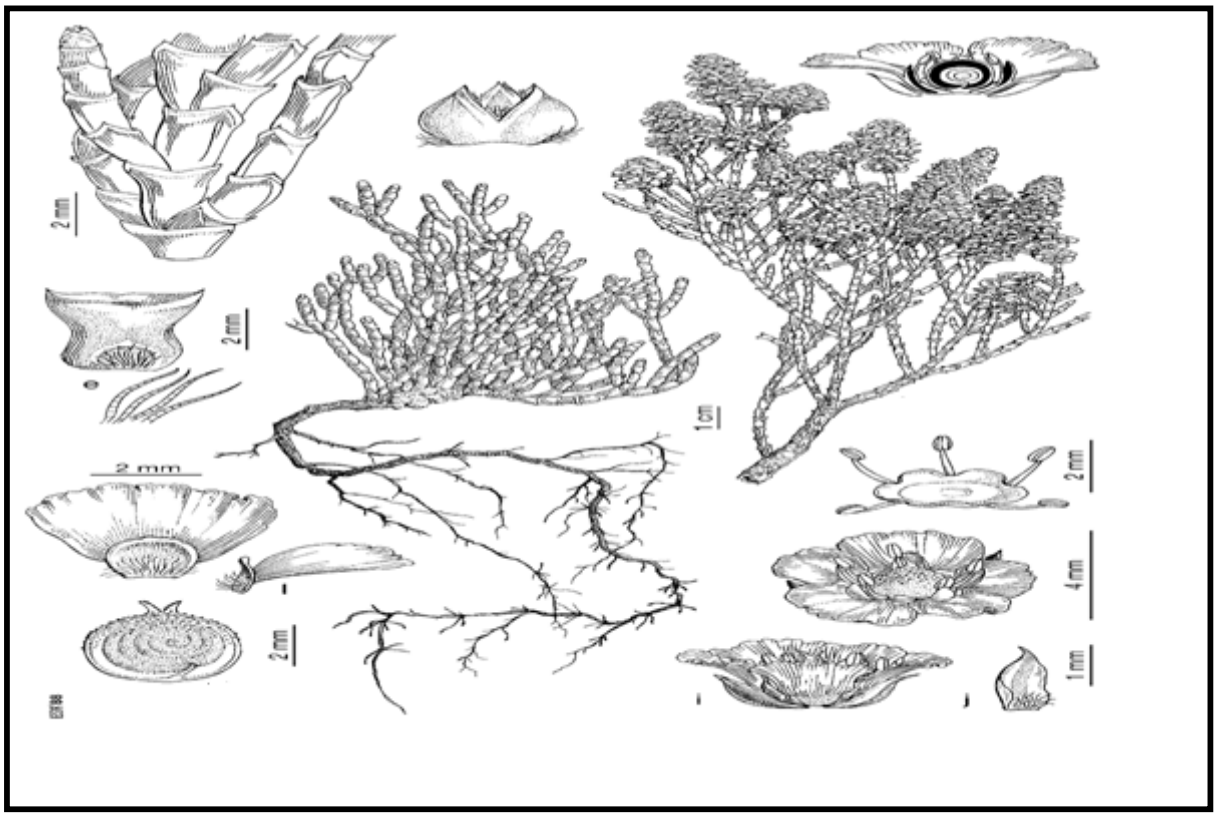
- الشنان العالي (*Anabasis elatior*) (لينوس ك،1753) .

III. الوصف النباتي لـ *Anabasis articulate*

الباقل عبارة عن شجيرة صغيرة معمرة من العائلة الرمرامية (حليس ي.،2007)، برية صحراوية (Ozenda, 2004)، محبة للملوحة (Hamdoon *et al.,* 2013)، ذات علو يتراوح بين20- 40 سم (Kherraze et al, 2010).

شجيرة كثيرة التفرع، ليس لها ساق رئيسية واضحة وإنما تنمو على شكل باقة من الأفرع والسيقان المتجاورة (حليس ي،2005)، ذات اللون الأخضر الشاحب والتي تعمل على تثبيت كميات كبيرة من الرمال. (Kherraze et al., 2010)، الساق مقسمة إلى سلاميات منفصلة، والأوراق متحورة إلى حراشف ضامرة جدا، الأزهار غشائية وردية اللون، تتجمع عند نهايات الأفرع (حليس ي،2007)، الثمرة محاطة بثلاثة أجنحة نتيجة لاستطالة كأس الزهرة (Ozenda, 2004).

الباقل هو نبات معمر ينمو طول العام، عملية الإزهار تكون في فصل الخريف من سبتمبر حتى نهاية نوفمبر.



الوثيقة (02): رسم تخطيطي لنبات *Anabasis articulata* (Cabral., et al 2015).

الوثيقة (04): صورة حقيقة لنبات *Anabasis articulate*

الوثيقة (03): صورة تبين أزهار نبات *Anabasis articulate*

1.التصنيف النباتي لـ Anabasis articulata

جدول(02):التصنيف العلمي لنبات الباقل *Anabasis articulata (Forsk). Moq*

(Quezel et Santa, 1963; Dupont et Guignard, 2007).

Règne	Végetal	**المملكة**
Embranchment	Phanérogames ou Spermaphytes	**الشعبة**
Sous embranchment	Angiospermes	**تحت الشعبة**
Classe	Eudicots (Magnoliopside)	**الصف**
Sous classe	Pré-astéridées (Caryophyllidae)	**تحت الصف**
Ordre	Caryophyllales	**الرتبة**
Familles	Amarantacées (Chenopodiacées)	**العائلة**
Genre	*Anabasis*	**الجنس**
Espèce	*Anabasis articulata (Forsk.) Moq*	**النوع**

Noms vernaculaires : Baguel (Kherraze et *al., 2010*) et Remt en arabe.

2.الدراسات السابقة لـ *Anabasis articulate*

يعُتبر نبات *Anabasis articulata* من النباتات الغير شائعة إلى حد كبير عند سكان منطقة سوف، و يعتبر من النباتات الرعوية الهامة للإبل خاصة في فترة الصيف (حليس ي،.2007). وتعتبر الدراسات المخبريةٌ لهذا النوع قليلة جدا ومن أهم الدراسات المتعلق بكيمياء هذا النبات مايلي:

- دراسة قام بها (Batanouny, 1999 ; Kambouche *et al*., 2009 (b) ; Eman, 2011)**.** وقد أثبتو وجود كل من الفلافونويدات، العفص، الصابونيين، القلويدات، الكربوهيدرات، جليكوسيدات، الكومارين، التيربينات الثلاثية في مستخلصات هذا النوع.
- وفي دراسة أخرى أجراها (Benhammou, 2012; Ghambaza., 2015)، وجدوا أن هناك فعالية مضادة للأكسدة للمستخلص مائي والميثانولي خاصة بهذا النوع. كما أظهر بعض الباحثين الآخرين علي أن المستخلص البيوتانول للصابونينات لنبات *Anabasis articulata* له نشاط مضادا للميكروب

عالي ضد عدة سلالات بكتيرية، و يحتوي على المركبات القلويدية مثل: Tetrahydroisoquinoline ومركب Beta-carboline (Maatalah *et al*.,2012)

- في دراسة قام بها (Kambouche N *et al*.,2010) تم فصل فيها مركب Beta-sitoglucosid sapouin من مستخلص البوتانولي لنبات *Anabasis articulata* الذي كانت له فعالية ضد مرض السكري عند الفئران المختبرة نتج عنها انخفاض بنسبة السكر ب 20% بعد تناوله بست ساعات من العلاج.
- قام (Waleed K et al., 2015) بدراسة على نبات *Anabasis articulata* أظهرت هذه الدراسة أن آلية النشاطية المضادة للأوعية الدموية لمستخلص الميثانولي من سيقان هذا النبات تكون مرتبط بهذه المواد 1-2dimethyl-peridine، 2-methoxy-4 vinylphenol ، scoppletin glycime التى لها القدرة على تثبيط مستقبلات VEGF بالتالي تكوين الاوعية المسبب لأمراض السرطانية والتهابات .
- كما قام (M.hadri ,chembaza M.,2015) بدراسة اثبت ان المستخلصات الميثانولية لنبات *Anabasis articulata* غنية بالعفص (التانينيات) ، الفلافونوييدات ،الصابونيات . وعن طريق تقنية CLHP والمطيافية الضوء المرئي فوق البنفسجي تم تحديد جزيئتين من غليكوزييدات الفلافون هما :

- 7,3-dihydroyflavone-5-O-dihexosyl-4-O-désoxyhexose
- 7,3-dihydroyflavone-5-O-hexosyl-4-O-désoxyhexose

3 . خصائص والاستخدامات العلاجية

العديد من الأنواع النباتية الصحراوية لها فوائد ثمينة، وقد استخدمت في الطب التقليدي من قبل السكان الأصليين ضد الإسهال والسكري والربو والروماتيزم والسرطان.(Chopra, 1956).

يعتبرنبات *Anabasis articulata* من النباتات الطبية، ويقال أن شرب المغلى المركز للباقل مفيد ضد لسعات العقارب والثعابين، كما أن الغسل بهذا المغلى يساعد على إلتئام الجروح ويعالج الجرب، من جهة أخرى أشار بعض المؤلفين إلى أن شرب المستحلب يفيد ضد الإسهال والالتهابات الناتجة عن الجراثيم في الجهاز التناسلي. كما يمكن التضميد بواسطة أوراق الباقل المهروسة مع أوراق النتين لمعالجة آلام الرأس (حليس ي،2007)، ويستعمل في علاج مرض السكري (Kambouche *et al*., 2011). وتستخدم الأجزاء الهوائية بعد غلي على شكل كمد لعلاج الأمراض الجلدية، والصداع والحمى (Hammiche et Maiza, 2006)، الآثار العلاجية الأخرى ضد تلف الكبد والتهابات الكلى(Azza *et al*., 2014).

الفصل الثاني

الإجهاد التأكسدي

مضادات الأكسدة

I. الإجهاد التأكسدي:

إنتاج الخلايا للجذور الحرة وهو إنتاج طبيعي يعتبر كجزء من المسالك الأيضية، يتحكم في نشاط هذه الجذور في وجود نظام مضادة للأكسدة إنزيمي مثل: Catalase, Superoxide Dismutase ونظام لا إنزيمي مثلا: الفيتامينات والفلافونيويدات ....إلخ. إلا أن في حالة عدم توازن بين إنتاج مولدات الأكسدة ومضاداتها يؤدي إلى حدوث ما يعرف بالإجهاد التأكسدي (Maria *et al*, 2003).

1. تعريف الإجهاد التأكسدي:

الإجهاد التأكسدي هو حالة اختلال توازن في إنتاج مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة ومن بين الأسباب التي تؤدي إلى هذه الحالة هو إنتاج المفرط الداخلي لمولدات الأكسدة ذات أصل التهابي، نقص غذائي لمضادات الأكسدة أو التعرض إلى عوامل خارجية مثلا (الكحول، الأدوية، الأشعة قاما، معادن سامة). (Favier, 1997). الأوكسجين عنصر مهم وأساسي في إنتاج الطاقة للمستهلك عن طريق أكسدة الغذاء (Cyrus et Pratico, 2006)، إن إختزال الأوكسجين لا يكون كاملا حتى في الظروف العادية، وهذا ما يؤدي إلى ظهور مجموعات كيميائية وسطية نشطة طبيعيا وهي التي يطلق عليها بالجذور الحرة (Palazzetti., 2005) .

2. تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي تلك الأنواع الكيميائية (ذرات أو جزيئات) تملك واحد أو أكثر من الإلكترونات الحرة في المدار الخارجي، قد تكون مشتقة من الأوكسجين مشكلة بذالك (ROS) أو من النتروجين مشكلة بذالك (NOS) ، وجود إلكترون وحيد في المدار الخارجي يجعل الجذر الحرة نشطة، قد تكون هذه الأنواع مؤكسدة (تكتسب إلكترون) أو مرجعة (تفقد إلكترون) (Bonnefont. Rousselot., *et a*l 2003)، يرمز للجذر الحر بنقطة متواجدة فوق وعلى اليمين لرمز الذرة، مثل : $RO^{\cdot}$، $OH^{\cdot}$، $N^{\cdot}$، $O^{\cdot}$ (بوديار ط، 2008).

3. أنوع الجذور الحرة:

1.3. التقسيم على أساس الاستقرار:

1.1.3. الجذور النشطة (غير مستقرة)

تتميز هذه الجذور بأعمار قصيرة جدا تقدر بـ (بيكوثانية) وهي غير مستقر في الظروف العادية تكون هذه الجذور ذرات عناصر أوزانها الجزيئية صغيرة مثلا: $CL^{\bullet}$، $HO^{\bullet}$، $I^{\bullet}$، $CH^{\bullet}$ (مصطفى ب، 2008).

2.1.3. الجذور الصامدة (مستقرة)

تتميز هذه الجذور بأعمار طويلة تقدر أعمارها بالثانية والدقيقة والساعة ومن أبرزها DPPH فهو عبارة عن مادة صلبة لونها بنفسجي مسود وهو جذر مستقر لعدة أيام (سعيدع، 2001).

2.3. التقسيم على أساس النوع:

1.2.3. الجذور الحرة الأوكسيجينية:

يرمز للجذور الحرة الأوكسيجينية بالرمز (ROS)، وأهمها شق الهيدروكسيل الحر، ومن بين أنواعها:

1.1.2.3. أيون السوبير أكسيد($O_2^{\bullet -}$) Superoxide anion:

هو جذر أحادي مشحون بالشحنة السالبة، ينتج من اختزال الأحادي لجزئية الأوكسجين الذي يكسب إلكترون أثناء تفاعل يتطلب طاقة (Kohen *et al*,2002) وفقا للمعادلة التالية:

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\bullet -}$$

2.1.2.3. فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2:

هو النوع الأكثر سمية لغياب الشحنة عليه مما يجعله قابل لمرور في الأغشية البيولوجية، ينتج عن طريق عملية الدسمته لأيون Superoxide بواسطة إنزيم وفقا للمعادلة التالية:

$$2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

3.1.2.3. جذور الهيدروكسيل $OH^{\bullet}$:

يتكون هذا الجذر من $OH^{\bullet}$ و H_2O_2، بتفاعل غير إنزيمي (تفاعل Fenton) يتم تحفيز بأيون الحديد (Fe^{2+}) (Kohen *et al.*,2002) وفقا لمعادلة التالية:

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^- + Fe_2^{+3}$$

2.2.3. الجذور النتروجينية:

هذا النوع هو أكثرا خطورة، ويشمل أكسيد النيتروجين بيروكسيد النتروجين الهيدروجيني، بيروكسيد النتريت، وأكسيد النتريك (حوة ا، 2013).

3.2.3. الجذور الحرة الدهنية:

تتميز الدهون بأعلى درجة اختزال من عناصر الجسم وبالتالي فهي أكثر عرضة من غيرها للتأكسد بجذور الحرة الأوكسجينية والنتروجينية خاصة الغير مشبعة منها وهي أطول عمرا (ريده ا ، 1999).

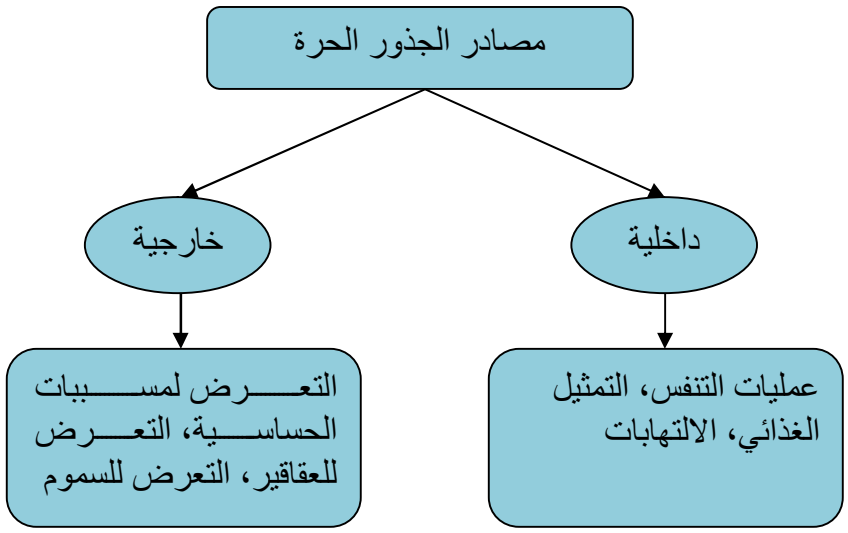
4.2.3. جذور السموم الحرة:

وتشمل معظم المواد السامة والمواد الكيميائية المسرطنة (ريده ا، 1999).

4.مصادر الجذور الحرة:

زاد اهتمام الباحثين بدور الجذور الحرة في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الإنسان **(أبو سميرة، أبو عسل; 1999)**، يتم إنتاج الجذور الحرة بشكل مستمر من خلال آليات مختلفة حيث تمثل الميتوكندري المصدر الرئيسي لجذور الحرة إذ تنتج تقريبا 90% من هذه الجذور الحرة ROS عبر السلسلة التنفسية عملية الأيض الخلوي، يعتبر كل من المركبين Oxidoreductase NADH- ubiquinone و ubiquinone cyt c reductase من إنزيمات الميتكوندري التي تنتج H_2O_2 و O_2^- .(Gutierrez *et al*., 2006)

كما يزداد تشكيل الجذور الحرة بفضل عدة عوامل داخلية وخارجية



الشكل (01): مصادر الجذور الحرة (Percival,.1998) .

1.4. المصادر الداخلية

1.1.4. الميتوكوندري

يختزل أكثر من 95% من الأوكسجين المستهلك خلال الميتابوليزم الخلوي العادي إلى ماء في السلسلة التنفسية الميتوكوندرية حسب عملية رباعية التكافؤ يتوسطها إنزيم Cytochrom oxidase، إذ يؤمن أربعة إلكترونات من جزئية الأوكسجين التي تختزل إلى ماء.

$$O_2 + 4H^+ + 4e^- \longrightarrow 2H_2O$$

بالمقابل يتم فقد 2 إلى 5 % من الالكترونات التي تتفاعل مع الأوكسجين وتختزله تبعا لسلسلة وحيدة الالكترونات مؤدية إلى تكون جذور فوق أكسيد، حيث تمثل السلسلة التنفسية المنطقة الأساسية للإنتاج $O_2^{\bullet-}$ (Kerkrni A., 1998).

توجد مجموعة من النواقل في الأغشية الميتوكوندرية والتي تعمل على إرجاع $O_2^{\bullet-}$ ومن بينها إنزيمات:

- Ubiquinon cyct C Redutase.
- NADPH dehydrogenase (Niviere. V and Fontecove M, 1994).

كما تقوم الميتوكوندري بإنتاج جدر فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 عن طريق دسمتة لايون السوبير أكسيد $O_2^{\bullet-}$ كما ينتج جذر الهيدروكسيل $OH^{\bullet}$ في الميتوكوندري (Freman B and James D, 1982).

2.1.4. تنشيط NADPH oxidase:

تستهلك البالعات الكبيرة وكريات الدم البيضاء متعددة النوى المتعادلة (المنبهة بالأنترلوكين و الأندوتوكسين) كمية كبيرة من الأوكسجين الذي يتحول بأكمله تقريبا إلى جذر فوق الأكسيد وذلك بتدخل إنزيم NADPH oxidase الذي يوضع على الغشاء البلازمي (Held, 2010).

$$NADPH^+ + 2O^2 \longrightarrow NADP^+ + H^+ + 2O_2$$

3.1.4. تنشيط إنزيم Lipoxygnase (LOX):

يتواجد هذا الإنزيم في جدران الأوعية الدموية وهو أحد مصادر الجذور الحرة (Koshiishi I, 2009)، يعمل على أكسدة الأحماض الدهنية الغير مشبعة لإعطاء مشتقات هيدروبيروكسيد (مشتقات سامة للخلية)، كما يتداخل في إنتاج أنواع أوكسجينية أخرى.

2.4. مصادر الخارجية:

- التدخين و تعاطي المشروبات الكحولية.
- التعرض لأشعة الشمس و الأشعة الكونية.
- أشعة X.
- أشعة التأين الصادرة من الصناعة.
- المعادن الثقيلة (الرصاص، الكادنيوم، الزنق وعناصر أخرى) .
- الدهون الغيرة مشبعة.
- الكيماويات التى تلوث الماء والغذاء والهواء.
- المبيدات الحشرية والأدوية الزراعية (Drog., 2002).

5. أضرار الجذور الحرة:

إن عدم تمكن الأنظمة المضادة للأكسدة من مواجهة الأنواع الأوكسجينية الناتجة يؤدي بالخلية لظاهرة التوتر الأكسدة، ويسبب هذا أضرار على مستويات عدة منها:

- ✓ ضرر واقع على مستوى ADN والذي ينجر عنه طفرات تؤدي إلى موت الخلايا أو ضعف المناعة.
- ✓ ضرر واقع على مستوى البروتينات والذي يؤدي خلل في طبيعة البروتينات ومن ثم تحويل في وضيفتها ويسبب هذا الضرر إلى أمراض المناعة الذاتية.
- ✓ ضرر واقع على مستوى الدهون وهذا أخطر ضرر(أكسدة فوقية للدهون) ينتج عنها جذور لها شراهة تكسبها عمر طويل وانتشار واسع مسببتا عموما خلايا سرطانية (Anyasor *et al,* 2010) وأمراض أخرى نذكر بعضها:

- أمراض العيون اضطرابات في الرؤية.
- أمراض القلب والأوعية الدموية.
- أمراض الجهاز الهضمي .
- أمراض الجلدية والحساسيات المفرطة.
- أمراض الكلى والكبد.
- زيادة في أعراض الشيخوخة (Drog, 2002).

II. مضادات الأكسدة:

إن التغيرات التي تحدثها الانفعالات التأكسدية على المستوى الخلوي تؤدي إلى العديد من الأمراض. لذالك توجد بعض المركبات التي تستطيع أن تحمي أو تؤخر أكسدة الجزيئات الأخرى تعرف بمضادات الأكسدة.

1. تعريف مضادات الأكسدة:

هي مجموعة من العناصر والمركبات الكيميائية والعضوية تملك القدرة على منع أو إعاقة عملية الأكسدة، حيث تقوم بتقديم الكترونات إلى الجذور الحرة لتتحول بدورها إلى جذور حرة ضعيفة الفعالية والسمية على الخلية (Bossoki I, 2003)، تتواجد مضادات الأكسدة في جسم الكائن الحي على صورة إنزيمات أو مرافقات إنزيمية Co-enzyme، أو مركبات تحتوى على عنصر الكبريت المختزل مثل الجلوتاثيون Glutanthion، ويمكن أن تكون بصورة طبيعية في الخضروات والفواكه، أو أعشاب طبية (بوبلوطية ح ، 2009).

والدور الأساسي الذي تلعبه مضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الوسطية للجذور الناتجة من عملية الأكسدة، ولهذا زاد الاهتمام بمضادات الأكسدة في السنوات الأخيرة بسبب قدرتها على تحصين الجسم ضد غزو الجراثيم والقضاء عليها كما تقي الجسم من أمراض العصر الشائعة (العابد ا، 2009). وتقسم مضادات الأكسدة من حيث مصدرها إلى قسمين منها ما هو طبيعي وأخرى مصنعة.

2. تصنيف مضادات الأكسدة:

1.2 .مضادات الأكسدة الطبيعية:

تلعب مضادات الأكسدة الطبيعية دورا أساسيا في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي، تتمثل في الأغذية اليومية مثل الفيتامينات من أصل بيتاكاروتين وفيتامين (C)، وفيتامين (E)، معادن الزنك (Zn)، والسلنيوم (Sn) (العابد ا، 2009)، وتنقسم إلى نوعين مضادات أكسدة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية.

1.1.2. مضادات الأكسدة الإنزيمية:

يمتلك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة الأكسدة ومن أهمها:

1.1.1.2. إنزيم سوبر الأكسدة ديسموتاز Superoxide dismutase(SOD):

هو إنزيم من أهم الإنزيمات الفاعلة كمضاد لأكسدة، وهو عبارة عن بروتين معدني يتواجد في كل العضيات الحيوانية والنباتية والكائنات الدقيقة (الدنيا) الهوائية، كما يعتبر من الإنزيمات التي تدخل في تحاليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي (Fukai.T .*et al*.,2001).

يقوم هذا الإنزيم (SOD) بإزالة الجذور فوق أوكسجينية وبذالك بتسريع معدل الإزالة حوالي أربعة مرات بمساعدة بعض المعادن مثل النحاس، الزنك، السلينوم (عامل مؤكسد ومختزل في آن واحد) (Yen.K.*et al*.,2009).

إن إنزيمات SOD عبارة عن بروتينات معدنية تحفز التحويل المزدوج Dismutation للايونات فوق الأكسيد $O_2^{\bullet-}$ إلى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 و أوكسجين O_2 (Serrano et Klann.,2004) حسب المعادلة التفاعل التالية:

$$O_2^{\bullet-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

2.1.1.2. إنزيمات الكاتالاز Catalase (CAT):

إنزيم CAT يوجد في الخلايا النسيجية الراقية كالدم، نخاع العظام،الأغشية المخاطية،الكبد والكلى (Yu B,1994; Januel C,2003)، ويوجد أيضا في أجسام البيروكسية Peroxismes (ابوالقندول،2011)، كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو الأكسيداز Oxidase، بينما يعمل الأكسيداز على تكوين H_2O_2 ويقوم الكاتالاز بتكسيره وتحويله إلى ماء وأكسجين وذالك حسب التفاعل التالي:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} H_2O + O_2$$

حيث إن الماء و الأوكسجين هما الناتج الثابت والمستقر ولا ضرر منهما. لإنزيم الكاتالاز نشاط البيروكسيداز فهو يمكن أن يستخدم جزئيات H_2O_2 كركيزة مانحة للالكترونات وجزئيات H_2O_2 أخرى كمؤكسد أو مستقبل للإلكتروني (Ryter S;Tyrrell R.,2000).

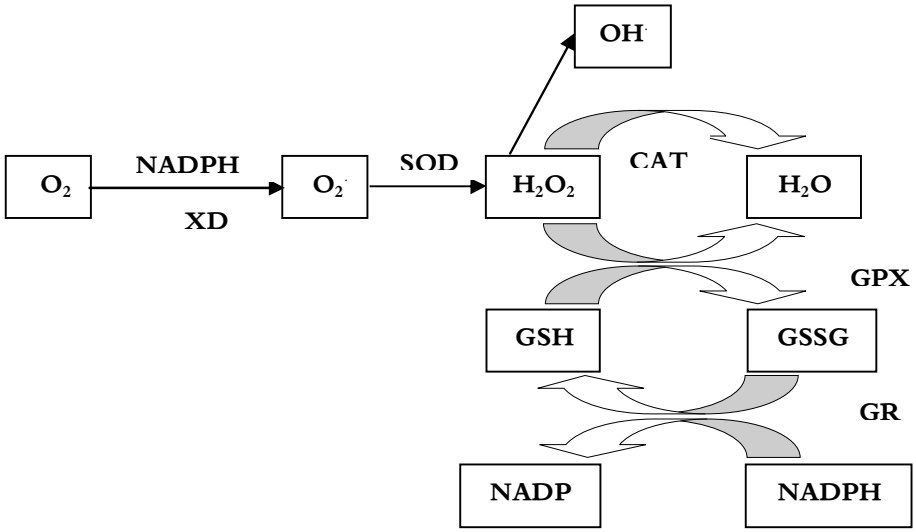
3.1.1.2. إنزيم Glutathione peroxidae و Glutathione reductase:

يتواجد كل من Glutathione peroxidae (GRx) و Glutathione reductase (GR) في النبات وتدخل في تكوين الجدار الخلوي وبالأخص تكوين اللجنين والسيوبرين ويتواجدا أيضا في الميتوكوندري والسيتوزول، يقوم الجلوتاثيوم بيروكسيداز بحماية دهون الأغشية الحيوية والهيموغلوبين ضد الأكسدة بواسطة Peroxides، وهما يعتبران من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة وذالك من خلال تحفيز تكسير H_2O_2 والبيروكسيدة الليبيدية الناتجة عن أكسدة الكولسترول والأحماض الدهنية (Herbette *et al* .,2007) وفقا التفاعل التالي:

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

$$LOO^{\bullet} + 2GSH \longrightarrow LOH + H_2O + GSSG$$

يقوم GR بإعادة تجديد GSH (Y-glutamul-cystinyl-glycine) انطلاقا من GSSG ويتطلب هذا التفاعل عامل مساعد هو NADPH (Shilina N,2009) كما هو موضح في الشكل التالي:



الشكل(02): مخطط يوضح آلية التخلص من الجذور بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة.

(Shilina N,2009)

2.1.2.مضادات الأكسدة الغيرالإنزيمية:

معظم هذه المركبات لا تنتج من طرف العضوية، قد يكون مصدرها من الأغذية مثل الفيتامينات وبعض العناصر المعدنية والجلوتاثيون ...الخ. والتي تلعب دور حماية الخلية من ضرر الجذور الحرة (Kanthikeyan J .Rami .,2003 ;Meydain M.,2004) غالبا ما تتميز هذه المضادات الغير إنزيمية بأوزان جزيئية منخفضة (Yin M .CHank .,2007) يوجد مجموعة كبيرة من مضادات الأكسدة الغير إنزيمية ومنها:

1.2.1.2. الجلوتاثيون Glutathione:

هو عبارة عن ثلاثي ببتيد بسيط (Gly-Gys-Gly) إسمه المختصر (GSH) وشكله المؤكسد GSSG. يعتبر GSH كلاقط لجذور الهيدروكسيل والأوكسجين المفرد ومنشط للإنزيمات المثبطة بتعريضها لتراكيز عالية من الأوكسجين، وذالك بإرجاع الروابط الثنائية الكبريت للإنزيم.

يتفاعل GSH بسرعة مع جذر الهيدروكسيل ويتأكسد بواسطة H_2O_2 في وجود ايونات المعادن الانتقالية مثل النحاس والحديد، كما يحفز إنزيم GRx أكسدة GSH إلى GSSG (Deshpande et al.,1996) وذالك حسب معادلة التفاعل التالية :

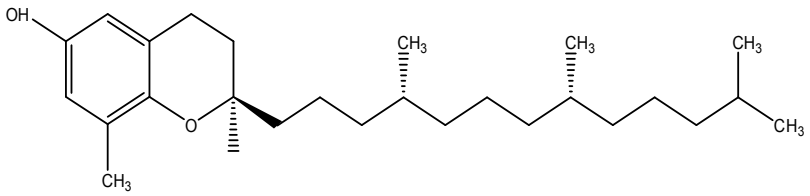
$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow[Fe^{+}]{GRx} 2H_2O + GSSG$$

2.2.1.2. مضادات الأكسدة المعدنية:

يمكن دور كل من النحاس،الزنك،الحديد،السيلينيوم كمضادات للأكسدة من خلال دورهم كعوامل مرافقة للإنزيمات المضادة للأكسدة مثل SOD، CTA، GRx (عمراني أ .، 2013).

3.2.1.2. الفيتامين E :

فيتامين E مصطلح عام وشامل يطلق على أربعة مواد قابلة للذوبان في الدهون تسمى tocopherols ومن أهمها *a*-tocopherols الذي له دور حماية الأغشية من التلاف التأكسدي الشكل (03)، ومن أهم مصادره الطبيعية الزيوت النباتية (Bermond., 1997).

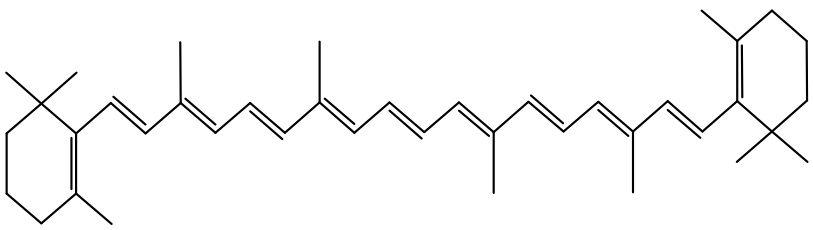


الشكل (03):التركيب الكيميائي للفيتامين E(*a*-tocopherols)

تعتمد الوظيفة المضادة للأكسدة فيتامين E على القدرته على اقتناص الجذور الحرة مثل البيروكسيد والأوكسجين المفرد، بالتالي إخماد نشاط الجذور الحرة على مستوى الأغشية في مرحلتها الأولى (Magnin.,1992;Packer.,1991).

4.2.1.2. فيتامين A :

هو فيتامين قابل للذوبان في الدهون، يتواجد هذا الفيتامين في الأغذية ذات المصدر الحيواني (الحليب ومشتقاته، كبد الحوت)، كما يوجد في صورة carotenoids في الخضر والفواكه شكل (04) .



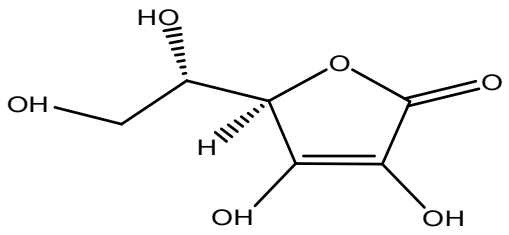
الشكل (04):التركيب الكيميائي للفيتامين A (Gardés.Albert et al.,2003)

دور الفيتامين A كقانص للجذور الحرة، حيث يظهر β-carotene حماية خاصة للأغشية الليبيدية ضد الأكسدة الفوقية لليبيدات، كما يمنع أكسدة LDL، وأيضا يعمل على توقيف تفاعلات السلسلة من خلال اقتناصه لجذور البيروكسيل مشكلا جذر carotenoids (Deshpande et al,.1996) كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$\beta - \text{Cartone} + ROO^{-} \longrightarrow \beta - \text{Cartone}^{-}$$

5.2.1.2. فيتامين C :

يعتبر فيتامين C من المركبات القابلة للذوبان في الماء، ذو تركيب مشابه للكربوهيدرات سداسية الكربون شكل (05).



الشكل (05) : التركيب الكيميائي للفيتامين **C**

يسمى الفيتامين بحمض الأسكوربيك، وهو من العناصر الصغيرة التي يحتاجها الجسم لأداء وظائفه العادية، ومن أهم مصادره الفواكه، الخضار، الحمضيات (Can and Frie.,1999).

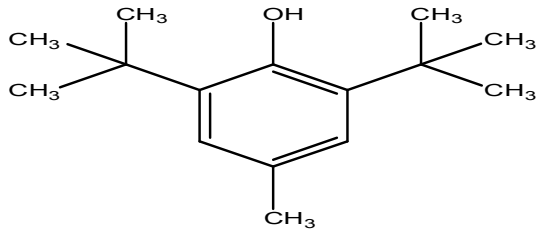
الفيتامين يعتبر من أهم مضادات الأكسدة القابلة للذوبان في السوائل البيولوجية وبين الخلايا، له القدرة على التداخل مع الغشاء البلازمي بإعطائه إلكترون لجذر tocopheroxyl. كما يعمل على اقتناص الأشكال النشطة الأوكسجينية (جذور الهيدروكسيل، أوكسجين المفرد، فوق الأكسيد hydroperxy ، hypohlorous) وأشكال النتروجين وثاني أكسيد النتروجين.

2.2. مضادات الأكسدة الصناعية:

مضادات الأكسدة المصنعة تعتبر من العناصر الأساسية التي يجب إضافتها للأغذية المعلبة لتقليل من فسادها و زيادة مدة الصلاحية، هذه المركبات (BHA، BHT، PG، TBHQ) واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية لأنها فعالة وقليلة التكلفة مقارنة بمضادات الأكسدة الطبيعية، ولكن لها أضرار جانبية على مدى بعيد (وائل غ ،2008).

1.2.2 .مركب Buthyl hydroyl toluéne (BHT):

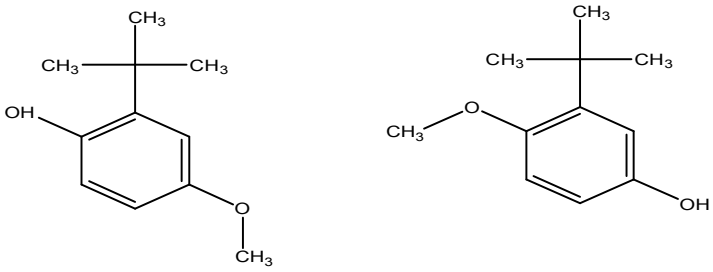
مركب BHT من مضادات الأكسدة المصنعة عديم الرائحة هو مادة متبلورة ذات لون أبيض، يذوب في المذيبات العضوية ولا يذوب في الماء. (فرحات،2013; وائل غالب، 2008)



الشكل(06):التركيب الكيميائي لـ BHT

2.2.2. المركب Buthyl hdroxyly anizole (BHT) :

يصنع هذا المركب بطريقة butyltation للمركب Paramethxoyphenol ، وللمركب BHA صغتين ولكيهما رائحة الفينول ومن أهم خواص هذين المركبين هو قدرتهما عمل كمضادات الأكسدة في الغذاء أثناء التسخين(فرحات،2013; وائل غالب، 2008).



الشكل (07): التركيب الكيميائي لـ BHA

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

المواد وطرق البحث

I. المواد

1. المادة النباتية المدروسة *Anabasis articulata*

في هذه الدراسة تم جمع الجزء الهوائي لنبات الباقل بتاريخ 29 أكتوبر2017 خلال فترة إزهاره من منطقة الدويلات (33°59′53″ ، N 7°20′10″E) (إرتفاعها على مستوى سطح البحر 28)، التابعة إقليميا لبلدية بن قشة ولاية الوادي، والواقعة على بعد 119 كلم من مقر الولاية .

1.1 الأدوات والطرق المستعملة في تحضير العينة النباتية

عند تحضير العينة النباتية استعملنا الأدوات والطرق الموضحة في الجدول (03).

الجدول (03):الأدوات والطرق المستعملة أثناء تحضير العينة النباتية .

الطرق المستعملة		الأدوات
التجفيف	بعد عملية الجمع قمنا بتجفيف النبات بعد غسله بماء الحنفية لإزالة الشوائب العالقة به، ثم يوزع على قطع قماش بيضاء و بتعريضه للتيار الهوائي الطبيعي في الظل و بعيد عن أشعة الشمس المباشرة والرطوبة لمدة ثلاثة أسابيع، وذلك حتى التجفيف الكامل للنبات .	قطعة قماش
بعد التجفيف	بعد جفاف الجزء الهوائي للنبات نقوم بتقطيعه إلى أجزاء صغيرة بواسطة مقص لتسهيل عملية الطحن .	مقص
الطحن	نقوم بطحن النبات جزئيا، بآلة طحن كهربائية ويتم المحافظة على الأجزاء النباتية المطحونة في أكياس وراقية محكمة الغلق بعيد عن الضوء، الرطوبة والحرارة إلى حين استعمالها.	- آلة طحن كهربائية - أكياس ورقية

2.1 الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة

بهدف تحضير المستخلصات النباتية، وتقدير الكمي لكل من عديدات الفينول والفلافونويدات وأيضا النشاطية المضادة للأكسدة وللإحياء الدقيقة (البكتريا)، استعملت الأدوات والمحاليل المدونة في جدول أدناه (04).

الجدول(04): الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة أثناء العمل المخبري .

تحضير المستخلص النباتي		
الأدوات	**المحاليل والمواد**	**الأجهزة**
- بيشر Becher - قمع Entonnoir - أوراق ترشيح Papier filtre - قارورات زجاجية - أوراق الألمنيوم Papier aluminium - Erlenmeyer - ملعقة spatule - Micropipette	- Méthanol - Acétate d' ethyle - Hexane - ماء مقطر Eau distillé - المادة النباتية Matériel végétale	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز تسخين - جهاز التبخر الدوراني Rotavapeur - جهاز Soxhlet
التقدير الكمي لعديدات الفينول		
الأدوات	**المحاليل والمواد**	**الأجهزة**
- بيشر Becher - أوراق الألمنيوم Papier aluminium - أنبوب مدرج - أنابيب الإخبار Tube à essais - Micropipette	- المستخلصات النباتية Les extraits de plante - ماء مقطر Eau distillé - حمض الغاليك Acide gallique - Folin-ciocalteau (10%)	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotometer

- حامل أنابيب الاختبار Support de Tube à essais - ملعقة spatule - Les cuves	- كربونات الصوديوم Carbonate de sodium- Na CO3 (2-7%) méthanol-	

التقدير الكمي للفلافونيدات

الأدوات	المحاليل والمواد	الأجهزة
- بيشر Becher - أوراق الألمنيوم Papier aluminium - أنبوب مدرج - أنابيب الاختبار Tube à essais - حامل أنابيب الإختبار Support de Tube à Essais - Micropipette - ملعقة spatule - Les cuves	- Méthanol - المستخلصات النباتية Les extraits de plante - ماء مقطر Eau distillé *Aluminum nitrate* 10%- $(Al(NO_3)_3, 9H_2O)$ 1 M Potassium d ' acétate - (CH_3COOK) Qurcétine-	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotometer

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$

الأدوات	المحاليل والمواد	الأجهزة
- بيشر Becher - أوراق الألمنيوم Papier aluminium - أنبوب مدرج - أنابيب الإختبار	- Méthanol - المستخلصات النباتية Les extraits de plante - حمض الأسكوربيك	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotometer

Tube à essais - حامل أنابيب الإختبار Support de Tube à Essais - Micropipette - Les cuves	Acide ascorbique - محلول جذر $DPPH^{\bullet}$	
اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse		
الأدوات	**المحاليل والمواد**	**الأجهزة**
- بيشر Becher - أوراق الألمنيوم Papier aluminium - أنابيب الاختبار Tube à essais - حامل أنابيب الإختبار Support de Tube à Essais - Micropipette -Les cuves - Seringue	- المستخلصات النباتية Les extraits de plante -ماء مقطر Eau distillé - محلول البر وكسيد H_2O_2 (30ml mol) - محلول ثلاثي كلور الحديد Fe cl3 (80ml mol) - حمض الأسكوربيك Acide ascorbique (50ml mol)	- جهاز الطرد المركزي - Centre fugueuses - حاضنة Etuve -Spectrophotometer
دراسة الفاعلية البيولوجية المضادة للسلالات البكترية الممرضة		
الأدوات	**المحاليل والمواد**	**الأجهزة**
- Micropipette - Bécher - أطباق بتري - ماسح قطني - مسطرة مدرجة - Pipette Pasteur - Tube à essais	- المستخلصات النباتية – Muller Hinton وسط الزرع - ماء فيزيولوجي معقم - ايثانول - مضادات حيوية Gentamicin	- ميزان حساس - موقد بنزن - حاضنة - Autoclave

- Papier aluminium -Support de Tube à essais - Spatule - ملقط	- سلالات البكترية المختبرة	

II. الطرق البحث

1. تحضير المستخلص النباتي لـ *Anabasis articulata*

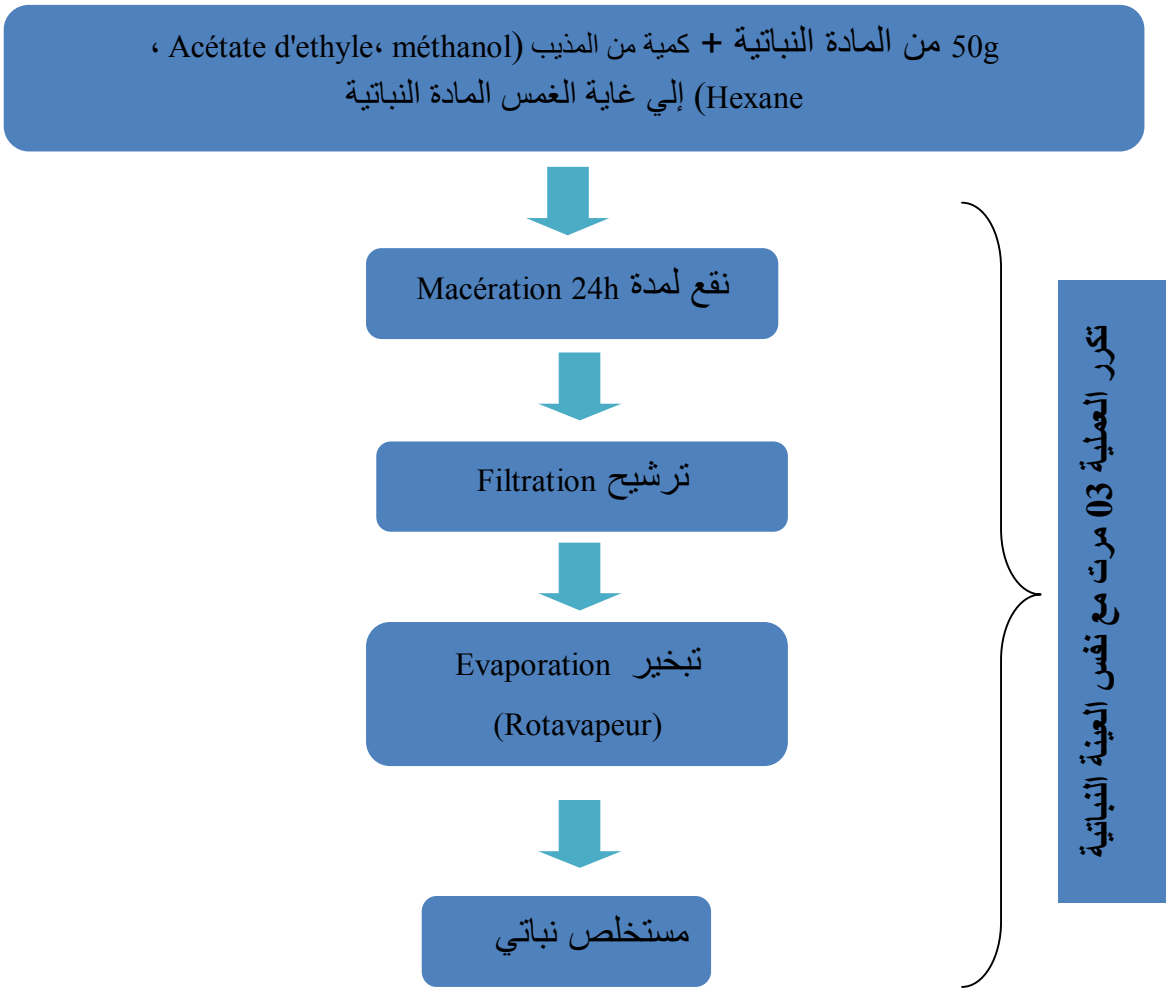
تمت عملية الاستخلاص بطريقتين وهما طريقة الاستخلاص بالنقع (macération) والاستخلاص بجهاز (Soxhlet) 250ml،حيث تم الحصول على المستخلصات النباتية بثلاث مذيبات مختلفة على التوالي (Hexane ، Acétate d'ethyle، méthanol)، وذلك حسب التدرج في القطبية للمذيبات .

1.1. الاستخلاص بالنقع (صلب _سائل) (macération)

توضع المادة النباتية المسحوقة جزئيا بكمية متساوية و التي تقدر بـ50غ في حوجلة مخبريه، ثم نضيف لها الميثانول (التركيز 99.7%) إلى غاية غمس المادة النباتية كلها، يتم رج الخليط من حين إلى أخرمن أجل تجانس المكونات، و تترك لمدة 24 ساعة في الظلام وفي درجة حرارة المخبر .

بعد 24 ساعة من النقع يتم ترشيح الخليط باستعمال ورق ترشيح، ثم توضع الرشاحة في الزجاجية لجهاز Rota vapor على درجة حرارة 60C° إلى غاية تبخر كمية الميثانول الموجودة في المستخلص، يوضع هذا المستخلص النباتي في بيشر بدرجة حرارة الغرفة للحصول على مستخلص نباتي خالي من ميثانول (Markham KR, 1982; Bruneton J, 1999) .

وتكرر هذه العملية 03 مرات لنفس العينة النباتية مع نفس المذيب، وتعاد نفس الخطوات السابقة مع كل من المذيبات المتبقية (Hexane ، 99.5% Acétate d' ethyle).

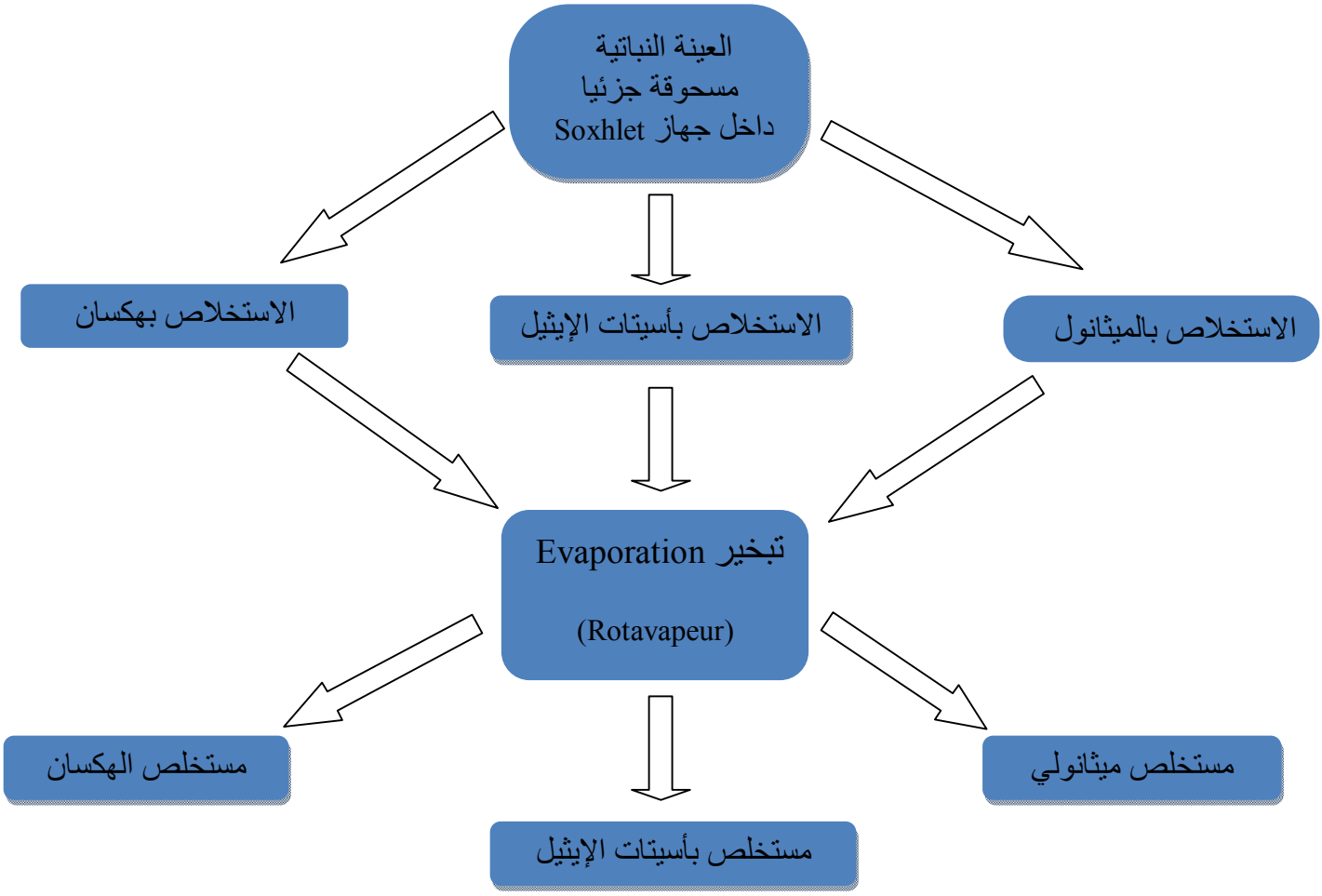


الشكل (08): طريقة الحصول على المستخلصات النباتية بطريقة النقع (macération).

2.1.الاستخلاص بجهاز Soxhlet

توضع المادة النباتية المسحوقة جزئيا بكمية متساوية و التي تقدر بـ20غ نفرغها داخل عبوة جهاز (*cartouches*)، ثـم نـدخل العبوة في الجهاز، و نوصله بحوجلة كروية بها حجما من المذيب(méthanol، Acétate d'ethyle، Hexane) ، وفي الأخير نضع تجهيز سوكسلي فوق السخان الكهربائي، درجة الحرارة السخان تضبط على درجة غليان المذيب، ، نتـرك التجهيز يعمل لخمس دورات أو ستة دورات (حوة إ، 2013)

ثم يوضع المستخلص النباتي في الزجاجية لجهاز التبخير الدوراني على درجة حرارة المناسبة لتبخر المذيب المستعمل الموجود في المستخلص، يوضع هذا المستخلص النباتي في بيشر بدرجة حرارة الغرفة للحصول على مستخلص نباتي خالي من المذيب .



الشكل (09): مخطط الاستخلاص بجهاز Soxhlet .

2. تقدير نسبة المردود

هي عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة المستخلص النباتي على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص وتقدر حسب (Gettaf., *et al*.2016) بالعلاقة التالية .

المردود % = (كتلة المستخلص \ كتلة المادة النباتية الابتدائية جافة) × 100

3 .التقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول حسب طريقة Singleto- Rossi باستخدام الكاشف-Ciocalteu Folin حيث تعتمد هذه الطريقة على إرجاع مكونات الكاشف بواسطة المركبات الفينولية ، وذلك بمنحها كيتون أو كينون إلي أكاسيد التنغستين W8O23 والموليبدنMO8O3 المميزة بالون الأزرق(DIF . ,2015).

في أنبوب اختبار يوضع 125µl من المستخلص النباتي لكل من (Acétate d'éthyle، méthanol ، Hexane)، 500µl ماء مقطر، 125µl من Folin-ciocalteur يرج الخليط جيدا وبعد 3 دقائق يتّم إضافة 1250µl من من كربونات الصوديوم و يرج ثانية، يترك الخليط في الظلام وفي درجة حرارة المخبر لمدة 02 ساعة وتقرا الامتصاصية على طول الموجة 760 nm في جهاز التحليل الطيفي.
(Slinkard .K *et al*.,1977) .

4.التقدير الكمي للفلافونيدات

تم تقدير الفلافونويدات الكلية للمستخلصات النباتية بطريقة AlCl3،في أنبوب اختبار نضع 250µl من المستخلص النباتي (Hexane، Acétate d'ethyle، méthanol)، 2250µ l من Méthanol ، 100µ l من Aluminium nitrate .يترك الخليط في الظلام وفي درجة حرارة المخبر لمدة 40 دقيقة وتقرا الامتصاصية على طول الموجة 415nm في جهاز التحليل الطيفي (Markham KR., 1982; Bruneton J., 1999) .

ملاحظة : يتم تقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات لكل المستخلصات المدروسة بطريقتي الاستخلاص بالنقع و السوكسلي لكل من المذيبات (Hexane، Acétate d'ethyle، méthanol).

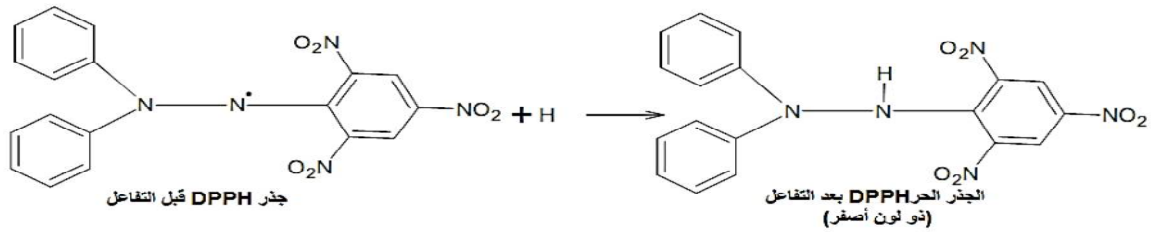
5.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

بغرض تقدير الفعل التثبيطي المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي،تم استعمال اختبار DPPH˙ الذي يعتبر من أكثر الطرق استعمالا في تقدير التأثير الإزاحي المضاد للتأكسد *in vitro* ،واختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse باعتباره اختبار *in vivo* .

1.5.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH˙

يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذور الحرة DPPH˙ (2,2-Diphényle-1picrylhydrazyle) و ذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات لذرة هيدروجين حيث يمكن تتبع عملية إرجاع DPPH˙ لونيا باستعمال جهاز الطيف اللوني و ذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية، هذا الانخفاض يمكننا من معرفة قدرة المستخلصات من تثبيط الجذور الحرة .

حيث يعرف DPPH˙ على انه مادة صلبة ذو اللون البنفسجي المسود، يعطي لونا برتقالي مصفر عند استقراره (Dziri et al., 2012) .



الشكل(10): تفاعل الجذر الحر DPPH• مع مضاد للأكسدة .

(Parejo *et al*., 2002; Maisuthisakul *et al*., 2007)

- **تحضير محلول DPPH :**

تم تحضير محلول DPPH• ذو التركيز 0.1mM و ذلك بإذابة 4mg من DPPH في 100ml من الميثانول

- **تحضير التراكيز :**

نحضر التراكيز المخففة بإضافة الميثانول للمستخلصات بالمذيبات الثلاثة (méthanol ، Acétate d'ethyle، Hexane)، وكانت التراكيز كالتالي :

(4mg/ml, 2mg/ml,……, 0. 03125mg/ml)

- **طرية العمل :**

في خلية ضوئية سعتها 1ml يتم أخذ من كل تركيز 500µl و يضاف اليه 500 µl من محلول DPPH• ذو التركيز (0.1mM) و ذلك بمعدل 3 تكرارات لكل تركيز، و تحضن العينات في الظلام لمدة 30 دقيقة، يتم قياس الامتصاصية عند طول موجة 517 nm بجهاز Spectrophotometer .

ملاحظة

نستعمل حمض الأسكوربيك (Vitamine C) كمركب مرجعي لغرض المقارنة بينه وبين المستخلصات المدروسة .

- **حساب نسبة التثبيط % I للجذر الحر DPPH•**

يتم حساب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH• للتركيز المختلفة للمستخلصات المدروسة وفقا للمعادلة التالية :

$$\mathbf{I\ \% = [(Ac - As)/Ac] \times 100}$$

I % :نسبة تثبيط الجذر الحر .

Ac: امتصاصية الشاهد Contrôle.

As: امتصاصية DPPH• مع المادة المدروسة أو مع حمض الأسكوربيك.

- **تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر DPPH**

يعرف مقدار IC_{50} على انه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط 50%من جذر DPPH و الذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط (%) بدلالة تراكيز المستخلصات المدروسة . (Ramesh D *et al*,2015 ;Aktumsek A *et al*,2011)

2.5. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء

ان الهدف من هذا الاختبار هو التعرف على مدى حماية المستخلص النباتي *Anabasis articulata* لكريات الدم الحمراء من المواد المؤكسدة والجذور الحرة المسببة في انحلالها ، وذلك من خلال قياس نسبة الكريات المنحلة، والطريقة المتبعة حسب كل من Abirami *et* ces collaborateurs (2014) وهي كالآتي:

- اخذ كمية من دم من شخص بالغ ثم يؤخذ 40 µl من كريات الدم الحمراء بعدها فصلها عن المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000دورة/د لمدة 15 دقيقة.
- يضاف لها 2ml من مستخلص نباتي المدروس *Anabasis articulata* بتراكيز مختلفة ، ويحفظ لمدة 5 min في درجة حرارة 37C° .
- ثم يضاف للمزيج 40µl من محلول كل من البروكسيد الهيدروجين H_2O_2(30 mM)، و40µl من ثلاثي كلور الحديد $FeCl_3$ (80 mM) ، و40µl من محلول حمض الأسكوربيك (50 mM)، ثم يترك الخليط لمدة ساعة في الحاضنة عند درجة حرارة 37°C .
- بعدها ينقل لجهاز الطرد المركزي ويوضع في سرعة 700 Tour / min لمدة 10 min، ثم يقرأ في جهاز الامتصاصية الضوئية عند طول موجة 540nm =λ. وتحسب نسبة انحلال كريات الدم الحمراء وفقا للقانون الآتي:

$$\text{Hémolyse\%= [Abs contrôle /Abs échantillon]} \times 100$$

- **Abs contrôle** :امتصاصية الخليط في غياب المستخلص النباتي .
- **Abs échantillon**: امتصاصية الخليط في وجود المستخلص النباتي.

6. دراسة النشاطية المضادة للسلالات البكترية الممرضة

في هذه الدارسة قمنا باختبار حساسية البكتيريا للمستخلصات النباتية السابقة، وهذا بتطبيقها على 06 سلالات بكتيرية ممرضة والتي تم الحصول عليها من معهد من معهد باستور بالجزائر العاصمة وهي :

الرمز	*الاسم العلمي*
Pa	*Pseudomonas aeruginosa* *ATCC27853*
Ba	*Bacillus anthracis* *ATCC700603*
Se	*Salmonella enteric* *ATCC259*
Ec	*Escherichia coli* *ATCC25922*
Sf	*Enterococcus faecalis* ATCC700603
KP	*Klebsielle Pneumonia* *ATCC700603*

1.6.عموميات حول الأنواع البكتريا المختبرة

- ***Salmonella enterica***

تنتمي الى العائلة Enterobacreriaceae و هي بكتيريا عصوية صغيرة، سالبة الغرام، لاهوائية، تنمو في الاوساط العادية،عموما تسبب هذه البكتيريا التهابات وفي بعض الاحيان مسؤولة على امراض خطيرة مثل حمى التيفويد، كما تسبب ايضا امراض للجهاز الهضمي (Fedreghi M.,2005).

- ***Pseudomonas aeruginosa***

تنتمي الى العائلة Enterobacreriaceae وهي بكتيريا من نوع سالبة الغرام، تملك سوط أو عدة اسواط للحركة عادة ما تكون قطبية، هوائية، تتواجد في التربة والماء وهي عامل ممرض لكل من الإنسان،الحيوان والنبات (Singlenton P.,2004) يسبب هذا النوع التهابات في المجاري البولية وأيضا على مستوى الجهاز الهضمي (Hidron A et al.,2008) .

- ***Escherichia coli***

تنتمي الى العائلة Enterobacreriaceae وهي بكتيريا عصوية،سالبة الغرام، ذات الأبعاد من (µm 1-3)، معظمها ليست ممرضة ،تتواجد عادة في أمعاء الثديات بما في ذلك الإنسان، يمكن أن تتسبب في عدة أمراض منها : التهابات معوية، التهابات الأعضاء التناسلية وأيضا تسبب التهاب السحايا لدى الأطفال حدثي الولادة (Silivia M.,2003 ;SinglentonP.,2004)

- ***Klebsielle Pneumonia***

هي سالبة الغرام ,خلايا هذا النوع البكتيري عصوية الشكل لاهوائية اختياريا يتراوح طولها 1- 2ميكرومتر وعرضها حوالي 0,5-0,8 ميكرومتر تتواجد منفردة او في ثنائيات او على هيئة سلاسل قصيرة .(محمد.واخرون, 2013)

- ***Bacillus anthracis***

وهي بكتيريا نوع موجبة الغرام ذات حجم كبير، يتراوح طولها من (5-3µm) وقطرها (µm 1 -2)،حركية ، هوائية أو لاهوائية، تنمو في الأوساط المالحة التي يتراوح فيها تركيز NaCl 0.5 %، درجة الحرارة للنمو (c°42-5c°) و(PH=4.5-8)، تصيب كل من الإنسان و الحيوان مسببة في ذلك أعراض أهمها الإسهال والغثيان(Fedreghi M.,2005).

- ***Enterococcus faecalis***

وهي بكتيريا موجبة الغرام , يعتبر هذا النوع البكتيري هوائيا وله القدرة على النمو في درجة حرارة تتراوح ما بين 45-10 درجة , تتواجد في ثنائيات أو على هيئة سلاسل قصيرة وتتواجد بصورة طبيعية في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان و الأعضاء التناسلية .(محمد م. وآخرون .2013)

2.6. تحضير أوساط الزرع

بعد تحضير وسط الزرع و تعقيمه بجهازAutoclave عند درجة حرارة 121 ºC ،قمنا بتعقيم منطقة العمل أولا ثم يتم تحضير مجموعة من أطباق بتري ذات أقطار متساوية 9 cm و نسكب بها وسط الزرع (Miller Hinton) الذي تم إذابته بحذر، تتم كل خطوات بقرب موقد بنزن Bec de Benzene للحصول على وسط معقم، وتترك الأطباق لتبرد وتتجمد. (Chakraborty M and Mitra A., 2008)

3.6. تحضير المعلق البكتيري

لأجل تحضير المعلق البكتيري أخذنا مستعمرة من كل سلالة بكتيرية نقية بواسطة ماصة باستور معقمة، ونضعها في أنبوب اختبار محتوي على ماء فيزيولوجي، ثم نرج قليلا حتى الحصول على معلق عكر اللون (العابد، 2009) .

4.6. زراعة البكتيريا

لزراعة البكتيريا نغمس الماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يتم مسحه على كامل أوساط الزرع المحضرة سابقا في أطباق بتري بشكل خطوط متقاربة مع تكرار العملية 3 مرات مع تدوير الطبق بزاوية 60^0 في كل مرة . (Chakraborty M and Mitra A., 2008)

5.6. وضع الأقراص

باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص وبعد تحضير أوساط الزرع : يتم تحديد 4 أجزاء في كل طبق بتري حيث خصصت 3 أجزاء للمستخلصات المحضرة ذو التركيز2mg\mL ، تم استعمال أقراص محضرة من ورق Wath man ذات أقطار متساوية 05 mm معقمة و بواسطة Micropipette نضع في كل قرص تقريبا20µl من كل المستخلص ،في حين خصص الجزء الرابع للمضاد الحيوي (Gentamicin) أما الجزء الخامس خصص لـ Ethnol بحيث يوضع في مركز الطبق لغرض المقارنة السلبية .

- يتم وضع علب بتري بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37^0 لمدة 24 ساعة .
- بعد انتهاء مدة الحضن نقوم بإخراج علب بتري لقياس الأقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلصات و المضادات الحيوية و الشاهد . (Chakraborty M and Mitra., 2008).

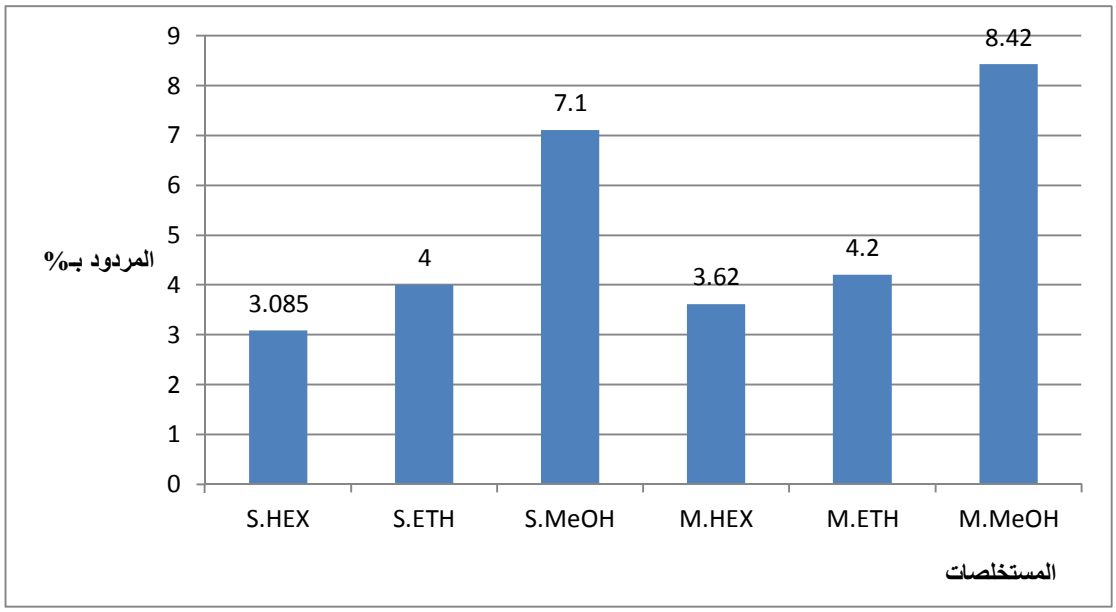
الفصل الثاني

النتائج و المناقشة

I. النتائج

1 . حساب المردود لمستخلصات النبات R%

بعد عملية الاستخلاص بطريقتي النقع وبجهاز Soxhlet تم تقدير المردود بـ: (%) لكل مستخلص اعتمادا على العلاقة المذكور عند (GETTAF et al.,2016) ، حيث كانت النتائج، كما هي موضحة في الشكل (11).



الشكل (11): مردود المستخلصات المختلفة لنبات الباقل *A. articulata*

ETH: مستخلص أسيتات الإيثيل . **HEX:** مستخلص الهكسان . **MeOH**:مستخلص الميثانول.

Mالاستخلاص بطريقة النقع البارد . **S** الاستخلاص بجهاز Soxhlet .

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (11) نلاحظ ما يلي :

سجل المستخلص الميثانولي بطريقة النقع أعلى مردود حيث قدر بنسبة% 8.42 ، في حين سجل مستخلص أسيتات الإيثيل مردود بنسبة % 4.2 ، بينما سجلت ادني نسبة عند مستخلص الهكسان بنسبة % 3.62.

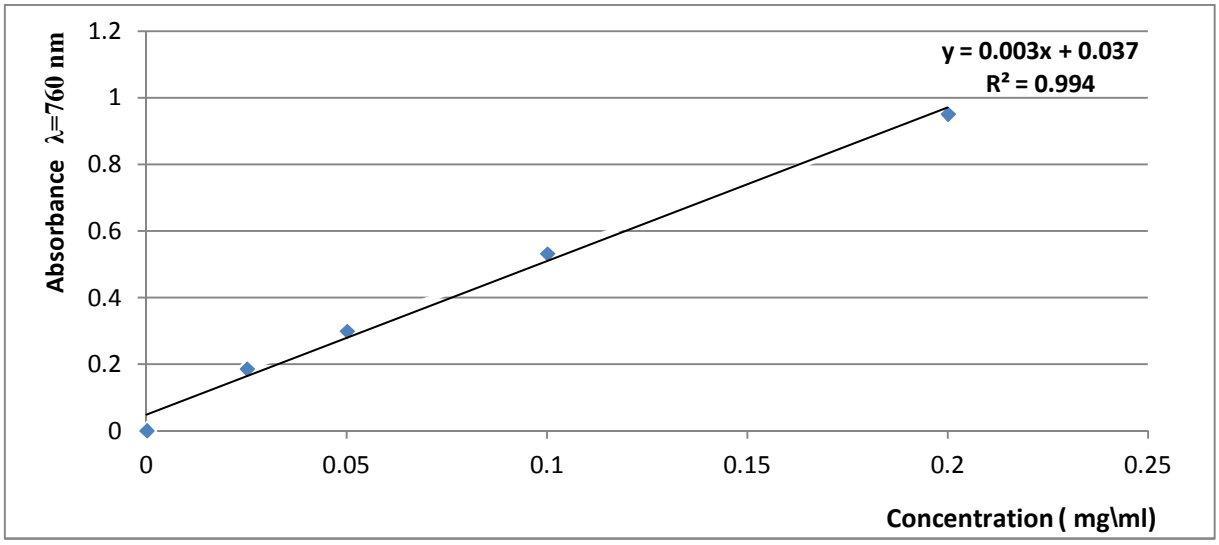
أما بالنسبة لمستخلصات بطريقة Soxhlet لاحظنا أن مستخلص الميثانولي سجلت عنده أعلى نسبة قدرت بـ % 7.1 ، وبنسبة % 4 لكل من أسيتات الإيثيل وأدني نسبة عند مستخلص الهكسان بنسبة % 3.08 .

تفوق نسبة المردود بطريقة النقع لمختلف المذيبات على نسب المردود لمستخلصات جهاز سوكسلى ونسبة المردود في المستخلصات الميثانولية لكلا طرقتين تفوقت بنسب عالية مقارنة مع المذيبات الأخرى، حيث نلاحظ انه كلما زادت قطبية المذيب زادت نسب المردود أي وجود تناسب طردي .

2. تقدير الكمي للمركبات الفينولية

1.2. التقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول باستخدام طريقة Singleton and Rossi وباستخدام الـ Folin-Ciocalteau ككاشف لذلك، حيث يُعبّر كميا عن المحتوى الكلي لعديدات الفينول للمستخلصات المدروسة باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك Acide Gallique الشكل (12). حيث تقدر قيم عديدات الفينول للمستخلصات بالملغ المكافئ لحمض الغاليك على الغرام من المستخلص نباتي (mgEAG/g EP)،كماهومدرج في الجدول (05).



الشكل (12): المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

الجدول (05): كمية عديدات الفينول للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات الباقل *Anabasis articulata* بالملغ المكافئ لحمض الغاليك على الغرام من المستخلص النباتي (mg EAG/g EP)

مستخلصات نبات *A. articulata*	M.MeoH	M.ETH	M.Hex	S.MeOH	S.ETH	S.Hex
كمية عديدات الفينول	85.55 ±2.34	67.37 ±1.24	7.55 ± 0.95	96.11 ±2.31	77.11 ± 2.46	18.66 ± 0.47

من خلال النتائج المدرجة في الجدول (05):

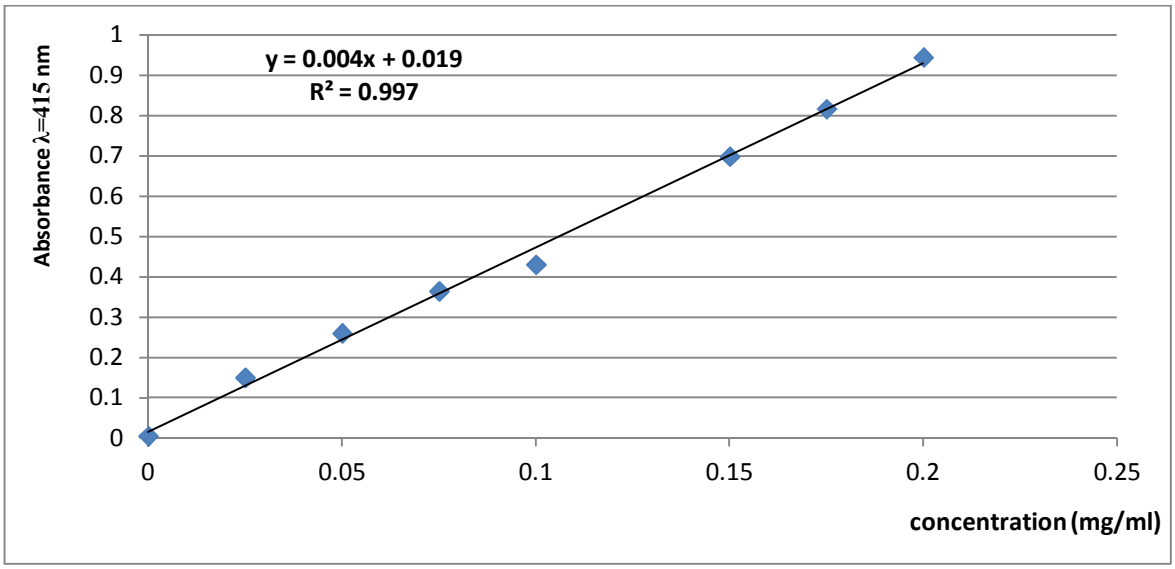
- ❖ نلاحظ أن كمية عديدات الفينول للمستخلص الميثانولي بواسطة جهاز soxhlet أعطي أعلى كمية و التي قدرت بـ(96.11± 2.31(mg EAG/g EP مقارنة بالمستخلصات Hexane وAcetate d'ethyl و المقدرة بـ (18.66 ± 0.47(mg EAG/g EP ، (mg EAG/g EP)46 .2 ± 77.11 على التوالي .
- ❖ بطريقة النقع البارد أظهرت خلاصة Méthanol أعلى نسبة من عديدات الفينول و التي قدرت بـ (85.55 ± 2.34(mg EAG/g EP مقارنة بالمستخلصات Hexane وAcétate d'éthyle و المقدرة بـ (7.55 ±0.47 (mg EAG/g EP ، (67.37 ±1.24 (mg EAG/g EP على التوالي .

- تفوق طريقة الاستخلاص بجهاز soxhlet في المحتوي الكمي لعديدات الفينول عن طريقة الاستخلاص بطريقة النقع ، حيث نلاحظ انه كلما زادت قطبية المذيب زاد المحتوي الكمي لعديدات الفينول حيث يوجود تناسب طردي بينهما.

M.Hex < S.Hex < M.ETH < S.ETH < M.MeoH < S.MeOH

2.2. التقدير الكمي للفلافونويدات

تم التقدير الكمي للفلافونويدات للمستخلصات المدروسة باستخدام كاشف $AlCl_3$و استعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكرستين الشكل (13). ، حيث يتم التعبير عن النتائج والمدرجة في الجدول(06) بالملغ مكافئ للكرسيتين في الغرام من المستخلص النباتي .



الشكل (13): المنحنى القياسي للكرستين.

الجدول (06): كمية الفلافونويدات للمستخلصات النباتية المختلفة لنبات الباقل *Anabasis articulata* بالملغ المكافئ للكرستين على الغرام من المستخلص النياتي (mg EQu/g EP)

مستخلصات نبات A.articulata	M.MeoH	M.ETH	M.HEX	S.MeoH	S.ETH	S.HEX
كمية الفلافونويدات	24.83 ±0.77	20.31 ±0.47	5 ±1.33	30.75 ±1.93	24.75 ±0.93	12.28 ±6.2

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول (04) لتقدير الكمي للفلافونويدات للمستخلصات النباتية لنبات الباقل *Anabasis articulata* فإننا نلاحظ ما يلي :

- أظهرت خلاصة Méthanol بجهاز soxhlet أعلى إنتاجية و التي قدرت بـ 30 ±1.93 (mg EQu/g EP) مقارنة بالمستخلصات Hexane وAcétate éthyle و المقدرة بـ 12.28±6.2 (mg EQu/g EP)، 24.75 ± 0.93 (mg EQu/g EP) على التوالي .

بطريقة النقع البارد لكمية الفلافونويدات للمستخلص الميثانولي أعطت أعلى نسبة و التي قدرت بـ(mg EQu/g EP) 20.31 ± 0.47 مقارنة بالمستخلصات Hexane وAcetat d'ethyl و المقدرة5± 1.33 (mg EQu/g EP)، 20.31 ± 0.47(mg EQu/g EP) على التوالي .

- تفوق طريقة الاستخلاص بجهاز soxhlet في المحتوي الكمي للفلافونويدات عن طريقة الاستخلاص بطريقة النقع مع كل المذيبات المستعملة . ، حيث نلاحظ انه كلما زادت قطبية المذيب زاد المحتوي الكمي للفلافونيويدات حيث يوجود تناسب طردي بينهما.

M.Hex < S.Hex < M.ETH < S.ETH < M.MeoH < S.MeOH

3. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

3 .1.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH•

بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات *Anabasis articulata* ، تم الاعتماد على اختبار DPPH• باعتباره الاختبار الأكثر تداولا لهذا الغرض، تم استعمال Acide ascorpique للمقارنة الايجابية، تتم قراءة الامتصاصية و حساب النشاطية المضادة للأكسدة لمختلف التراكيز بالنسبة للمستخلصات المدروسة والموضحة في الجدول (07).

الجدول (07) : النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة و Vit C

التراكيز (µg/ml)	S.HEX	S.ETH	S.MeOH	M.HEX	M.ETH	M.MeOH	Vit C
15.62	19.93±0.2	18.84±5.29	25.15±2.45	13.14±1.51	17.22±2.72	26.24±1.45	19.89±1.73
31.25	27.43±0.68	27.43±3.60	33.08±2.17	21.07±2.52	26.53±5.25	32.74±0.72	35.82±1.42
62.5	30.89±0.90	39.2±3.32	41.57±2.57	28.04±4.32	37.2±2.22	38.72±2.06	47.75±1.10
125	40.43±1.48	54.1±2.51	45.51±1.28	34.97±3.64	50.21±1.80	50.07±2.90	72.14±0.63
250	51.82±3.49	62.52±1.22	66.58±1.58	40.55±1.97	60.54±1.75	63.78±3.27	86.6±0.99
IC 50 (µg/ml)	**234.32±1.23**	**112.43±5.78**	**89.23±3.21**	**256.05±7.4**	**149.07±4.2**	**142.69±6.05**	**61.23±0.94**

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول (07) لاختبار تثبيط الجذر الحر DPPH• للمستخلصات النباتية لنبات الباقل*Anabasis articulata* يتضح أن أكبر نسبة لكسح الجذر الحر DPPH• شوهدت عند التركيز 250 µg/ml ، حيث أظهرت خلاصة Méthanol بجهاز Soxhlet أعلى نسبة تثبيط قدرت بـ 66.58 % في حين سجل الشاهد المرجعي عند نفس تركيز نسبة 86.6 % أما مستخلصات Acétate d'éthyle و Hexane و فقد أظهرت قيم اقل بكثير حيث كانت 62.52% و 51.82%على التوالي .

بطريقة النقع البارد أظهرت خلاصة Méthanol نسبة ثبيط قدرت بـ 63.78 وكانت نسبة اقل مقارنة بشاهد المرجعي الذي قدر بـ 86.6% أما مستخلصات Acetat d'ethy و Hexane و فقد أظهرت قيم اقل بكثير حيث كانت60.54% و40.55% على التوالي .

تفوقت طريقة الاستخلاص بجهاز soxhlet طريقة الاستخلاص بطريقة النقع مع كل المذيبات المستعملة في نسب تثبيط الجذر الحر DPPH•

الجدول (08) :القيم IC_{50}المثبطة لنسبة 50%من جذور DPPH• لمستخلصات نبات ***A .articulata*** ولحمض الأسكوربيك.

مستخلصات نبات A .articulata	Vit C	M.MeOH	M.ETH	M.HEX	S.MeOH	S.ETH	S.HEX
قيمة IC50 (µg/ml)	61.23 ±0.94	142.69 ±6.05	149.07 ±4.2	256.05 ±7.4	89.23 ±3.21	112.43 ±5.78	234.32 ±1.23

تم تحديد قيم مقدار الـ IC_{50} المعبِّر عن التركيز المثبط لـ 50%من الجذر الحر DPPH• من خلال المعادلات الخطية لمنحنيات التثبيط (I%)للمستخلصات النباتية - أنظر الملحق رقم (**01**) - وحمض الأسكوربيك - الشكل (06). ومن المعروف أن الفعالية المضادة للأكسدة تتناسب عكسيا مع قيم IC_{50}، فكلما كانت قيم الـ IC_{50} ضعيفة كانت النشاطية الكابحة للجذور الحرة أفضل.

من خلال الشكل (08) الموضِّح لقيم IC_{50} نلاحظ تفوق حمض الأسكوربيك على جميع المستخلصات في القدرة الكاسحة للجذر الحرة DPPH•، حيث دُوّنت عنده قيمة بلغت (µg/ml) 61.23، كما نلاحظ أن مستخلص Methanol بجهاز soxhlet أعطي اكبر قيمة تثبيط مقارنة بمستخلصات الأخرى حيث بلغت (µg/ml) 89.23 أما مستخلصات Acetat d'ethy و Hexane بنفس طريقة الاستخلاص فقد أظهرت قيم اقل بكثير حيث كانت(µg/ml) 122.32 و(µg/ml) 234.32 على التوالي .

كما لاحظنا تفوق كبير في قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك على الممستخلصات بطريقة نقع حيث بلغ الاخير **(µg/ml)** 61.23 وظهرت خلاصة Méthanol بنفس طريقة تفوق كبير عن المستخلصات الاخري حيث بلغت 142.69 أما مستخلصات Acetat d'ethy و Hexane اعطت قيم اقل بكثيربنشاطية تثبيطية حيث كانت **(µg/ml)** 149.07 و**(µg/ml)** 256.05 على التوالي .

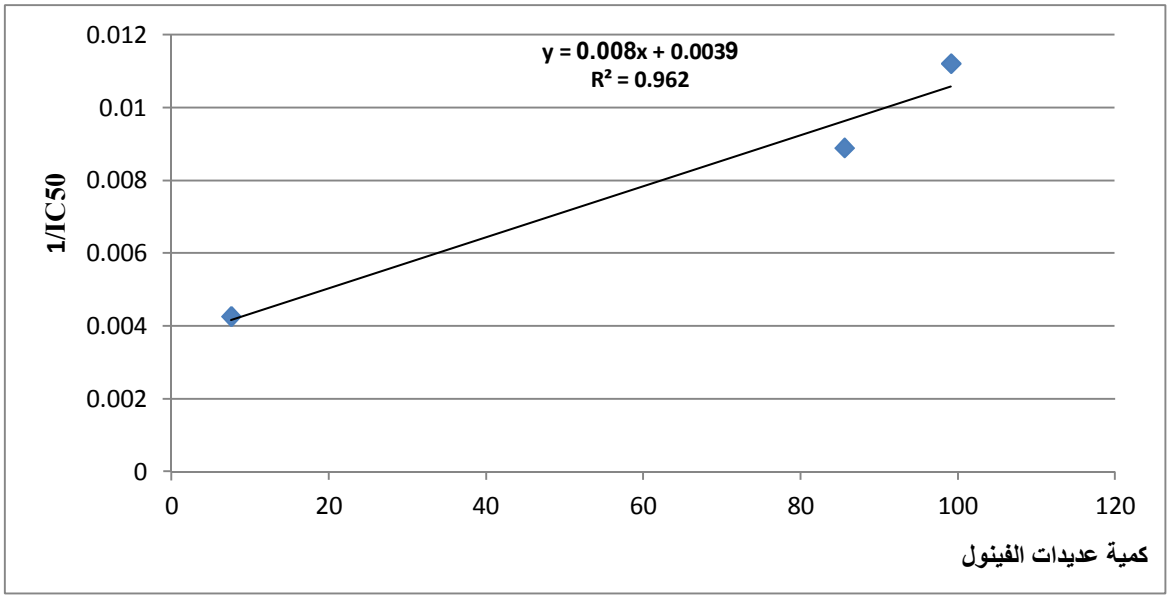
تفوق طريقة الاستخلاص بجهاز soxhlet في قيم IC_{50}المثبطة للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ عن طريقة

الاستخلاص بطريقة النقع مع كل المذيبات، حيث نلاحظ انه كلما زادت قطبية المذيب زاد نشاطية المضادة للأكسدة حيث يوجد تناسب طردي بينهما.

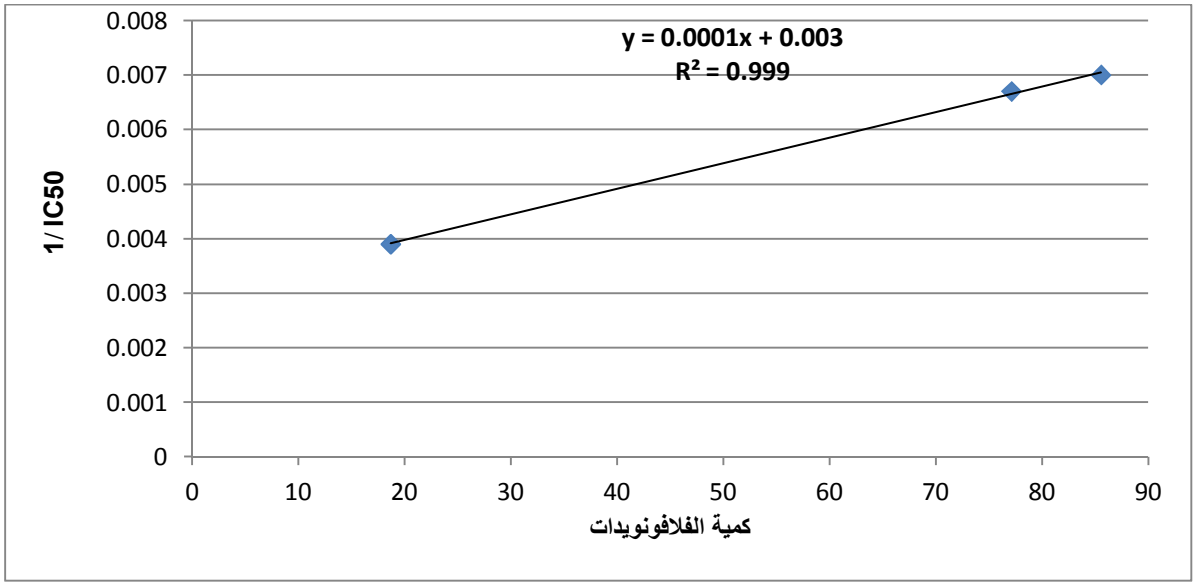
M.Hex < S.Hex < M.ETH < S.ETH < M.MeoH < S.MeOH

2.3. دراسة الارتباط الخطي بين عديدات الفينول - النشاطية المضادة للأكسدة و الفلافونويدات - النشاطية المضادة للأكسدة

تم إجراء 3 تكرارات لكل التجارب و النتائج تم التعبير عنها بالشكل التالي معدل± الانحراف المعياري (Mean ±SD) معامل الارتباط الخطي(R^2) بين المحتوي الفينولي والفلافونويدي من جهة ومن النشاطية المضادة للأكسدة من جهة أخري ثم حسابه من معادلة خطية ($P<0.05$ عند Person) .

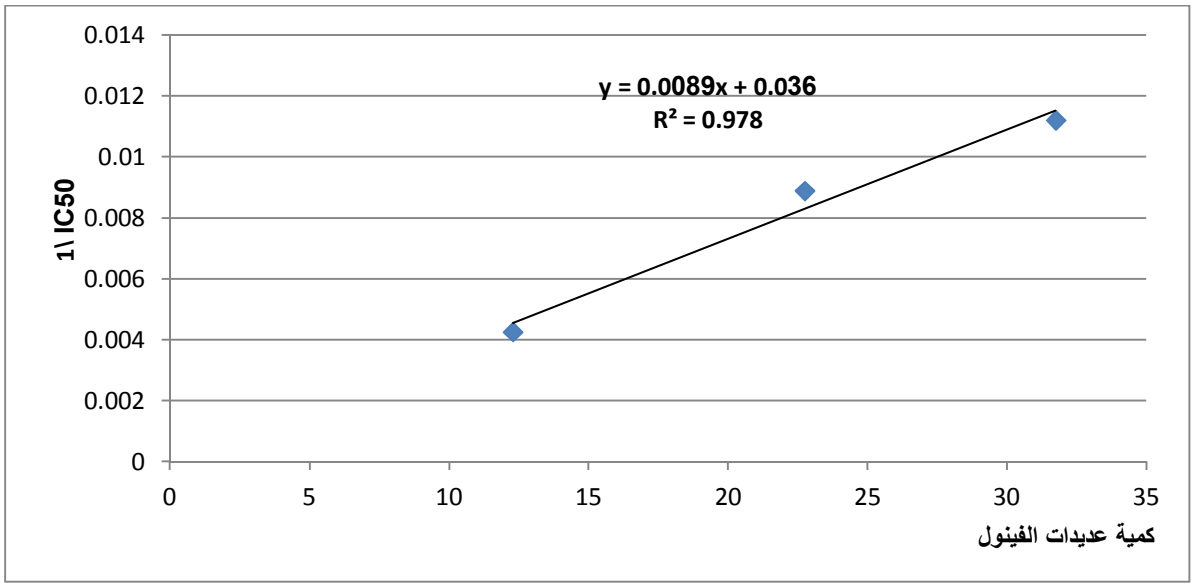


الشكل (14): منحنى الارتباط بين عديدات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة لجهاز Soxhlet

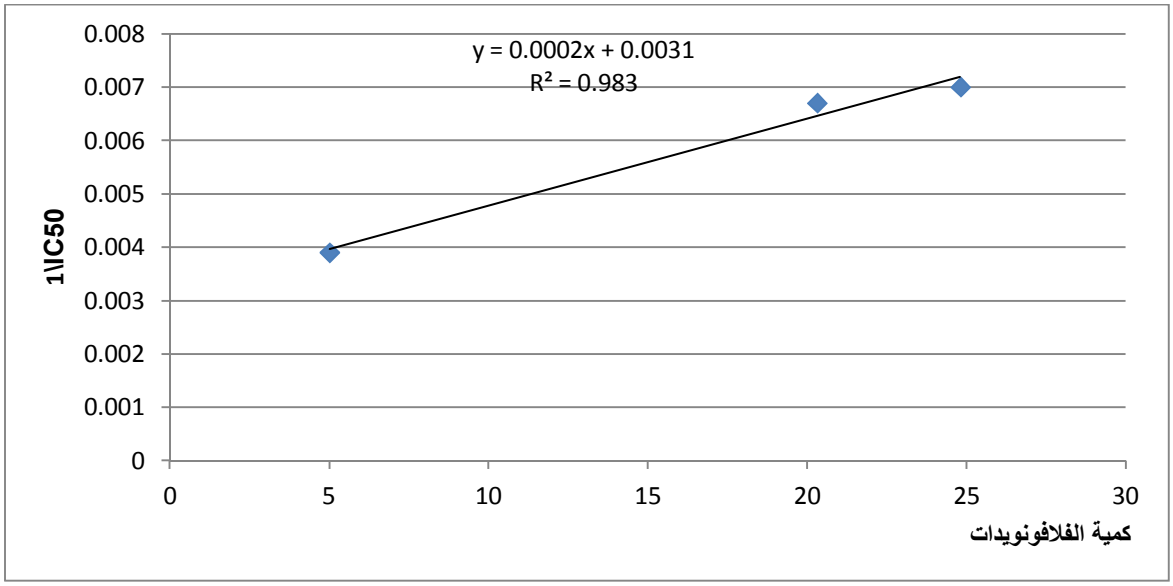


الشكل (15): منحنى الارتباط بين الفلافونويدات والنشاط ا لمضاد للأكسدة لجهاز Soxhlet

من خلال الشكل (14) ارتباط قوي (R^2 =0. 96) بحيث كلما زادت كمية الفينولات زادت قيم IC_{50} ، من خلال الشكل (15) ارتباط قوي جدا (R^2 =0. 99) بحيث كلما زادت كمية الفلافونويدات زادت قيم IC_{50} .



الشكل (16):منحنى الارتباط بين عديدات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة لطريقة النقع.



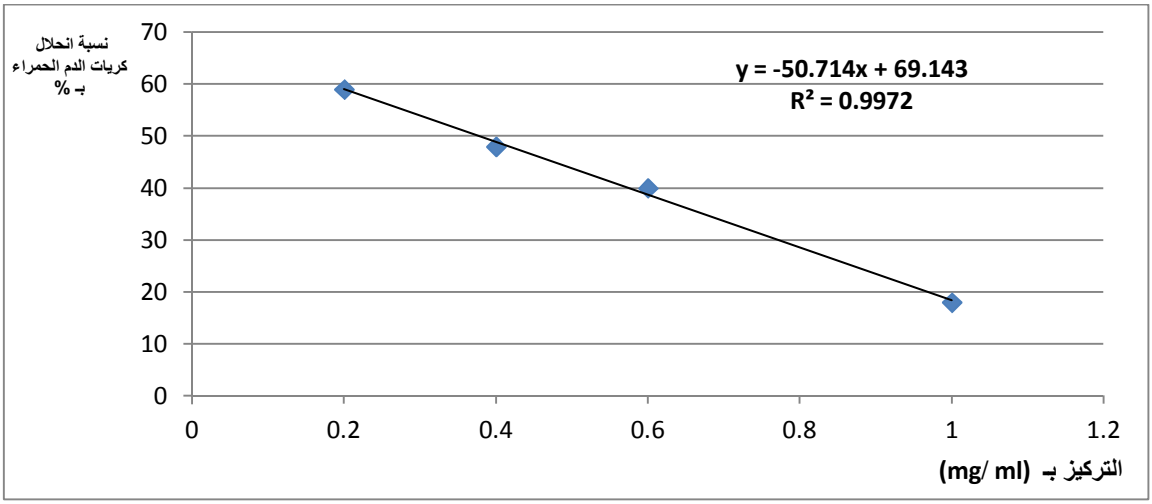
الشكل (17):منحنى الارتباط بين الفلافونويدات والنشاط ا لمضاد للأكسدة لطريقة نقع

من خلال الشكل (16) ارتباط قوي (R^2 =0. 97) بحيث كلما زادت كمية الفينولات زادت قيم IC_{50} ، من خلال الشكل (17) ارتباط قوي جدا (R^2 =0. 98) بحيث كلما زادت كمية الفلافونويدات زادت قيم IC_{50} .

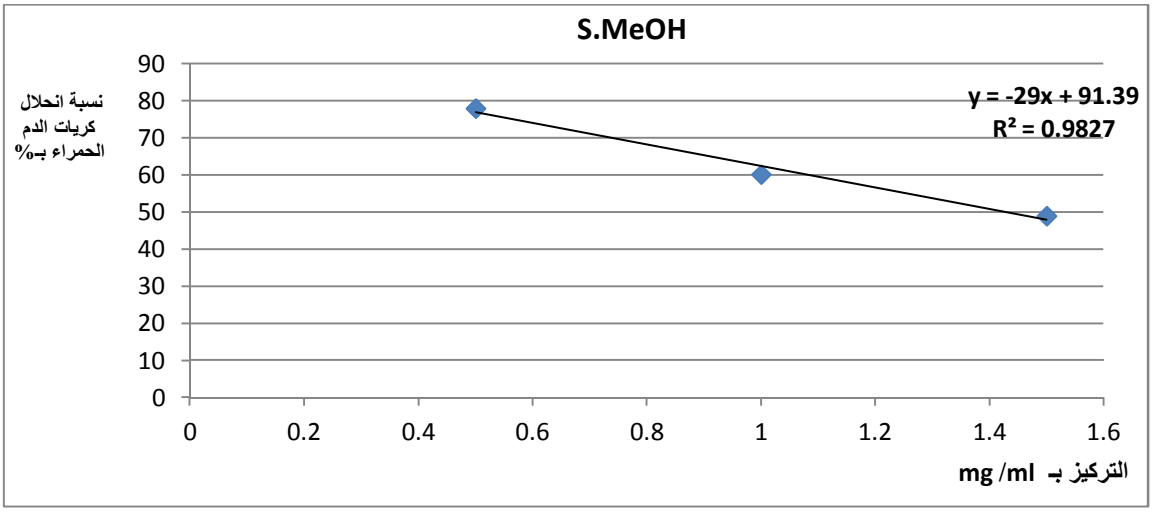
من خلال الأشكال السابقة أعطي الاستخلاص بجهازSoxhlet ارتباط خطي قوي بين عديدات الفينول - النشاطية المضادة للأكسدة و الفلافونويدات - النشاطية المضادة للأكسدة مقارنة بطريقة الاستخلاص بطريقة النقع .

4. إختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse

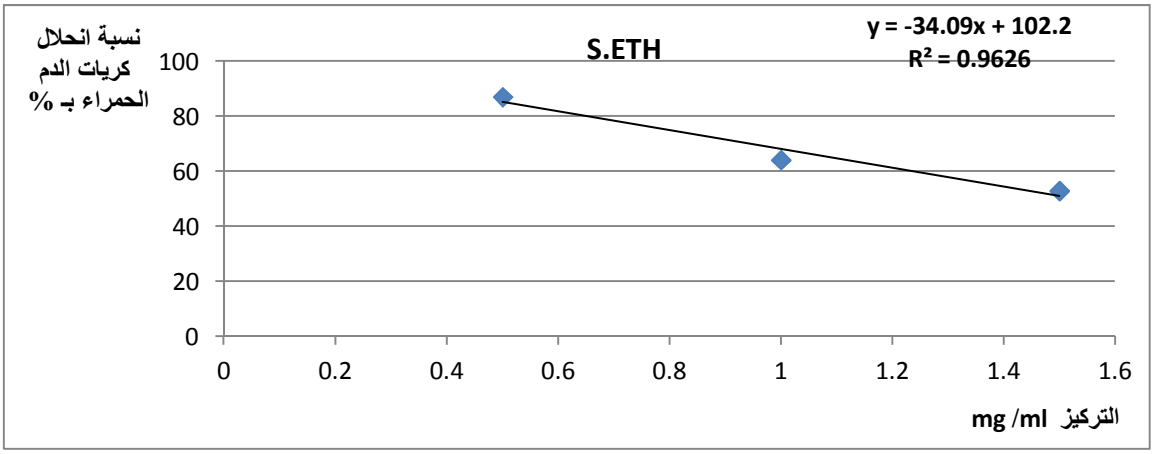
بغرض تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات النبات المدروسة *In vivo*، تم الاعتماد اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) باعتباره الاختبار الأكثر سهولة والأسرع لهذه الغاية، حيث تم تحديد نسب انحلال كريات الدم الحمراء مع المستخلصات انطلاقا من القانون الوارد عند*collaborateurs ces* et Abirami(2014)، ويتم تقدير الفاعلية استنادا لنشاطية حمض الأسكوربيك Acide Ascorbique-الشكل (18)- باعتباره مرجعا قياسيا.



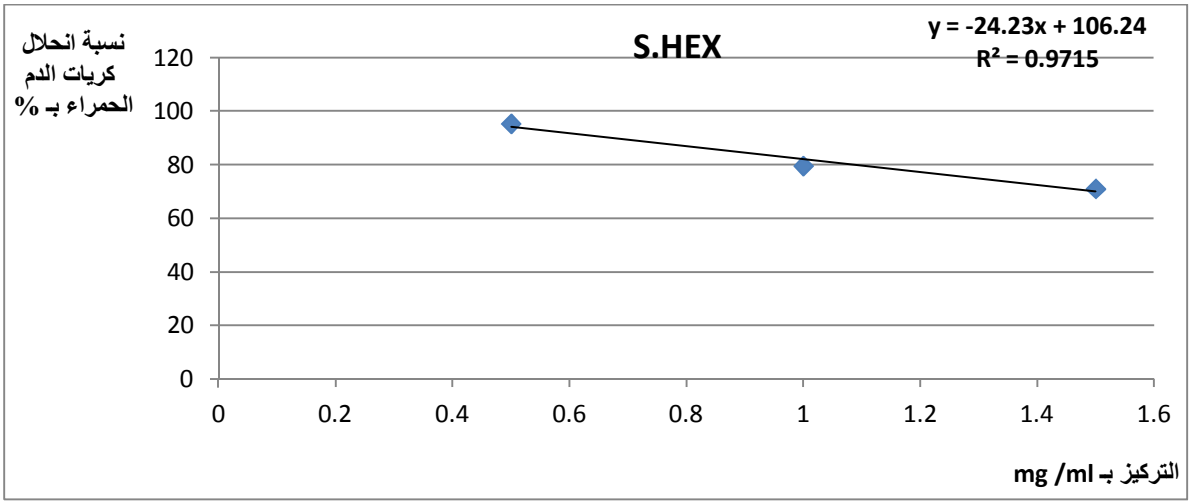
الشكل (18): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse).



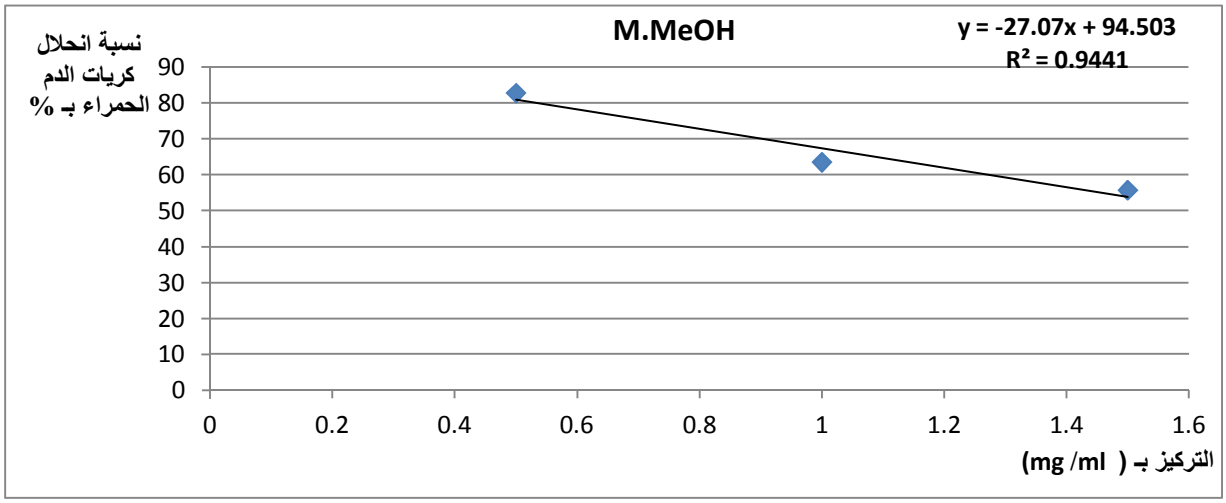
الشكل (19): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الميثانولي بطريقة السوكسلي.



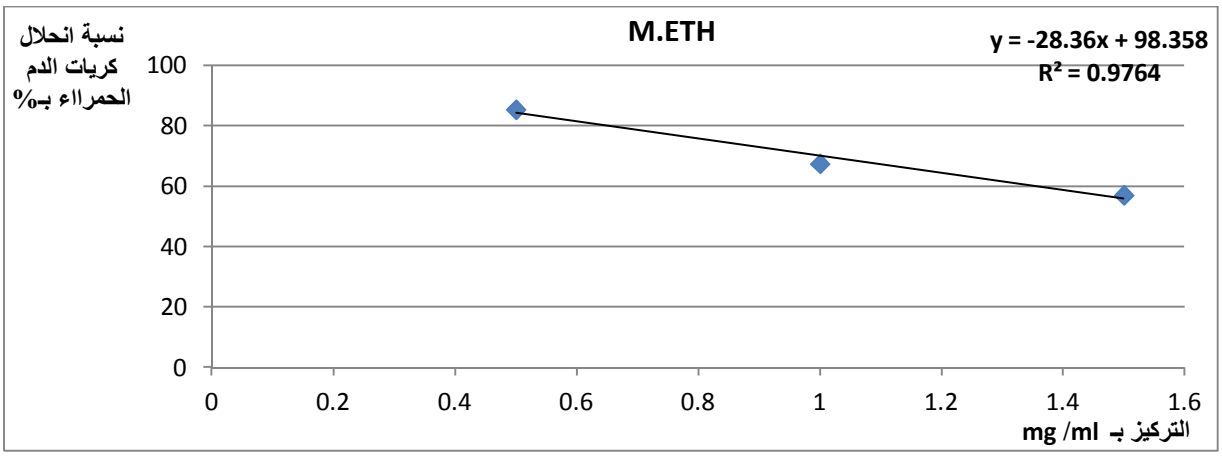
الشكل (20): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص أسيتات الإثيل بجهاز السوكسلي .



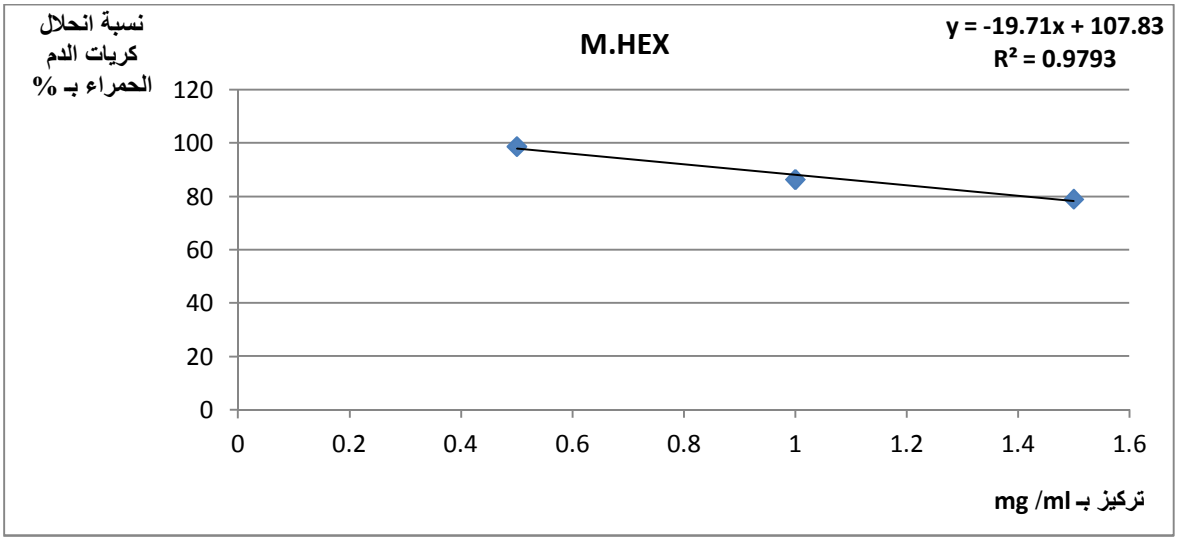
الشكل (21): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الهكسان بجهاز سوكسلي



الشكل (22): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الميثانولي بطريقة النقع



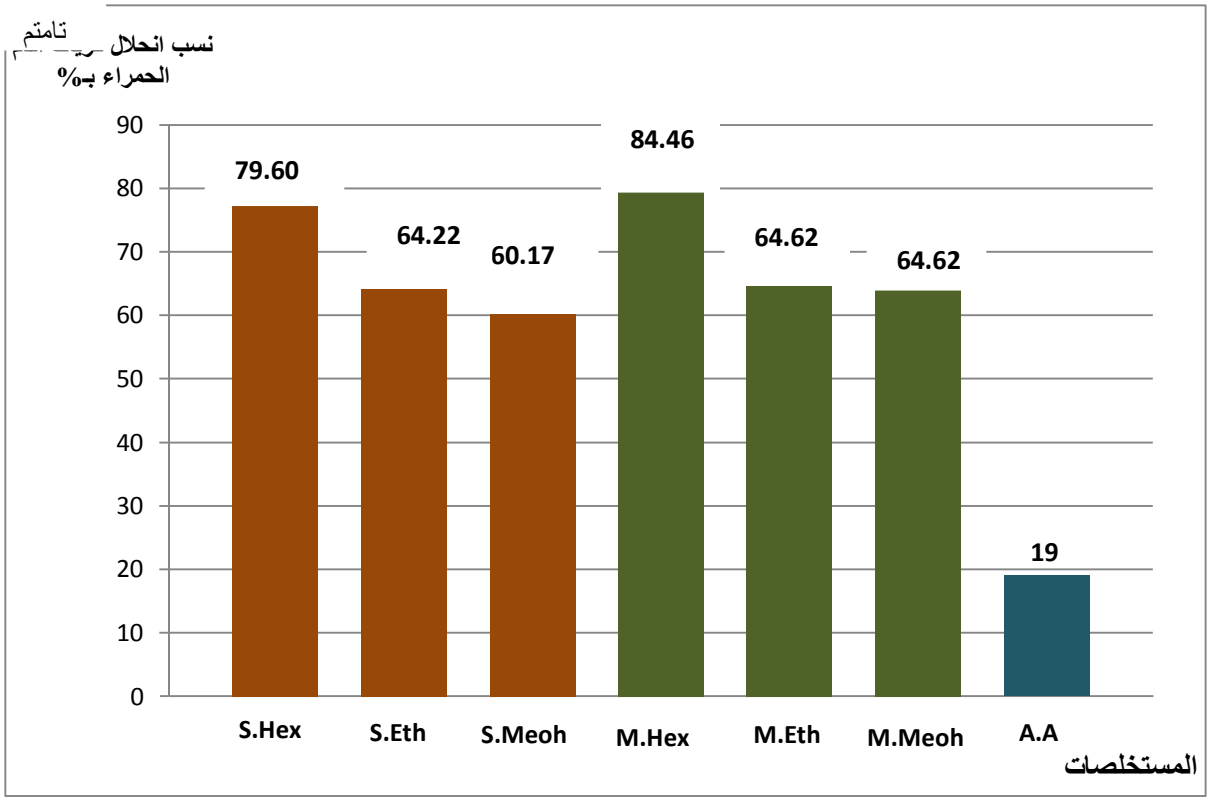
الشكل (23): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص أسيتات الإثيل بطريقة النقع



الشكل (24): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الهكسان بطريقة النقع

من خلال الأشكال (22,23,24) الموضحة لنسب انحلال كريات الدم، نلاحظ تناسب عكسي بين نسب الانحلال وتراكيز المستخلصات، حيث كلما زاد تركيز المستخلصات قلة نسبة كريات الدم المنحلة .

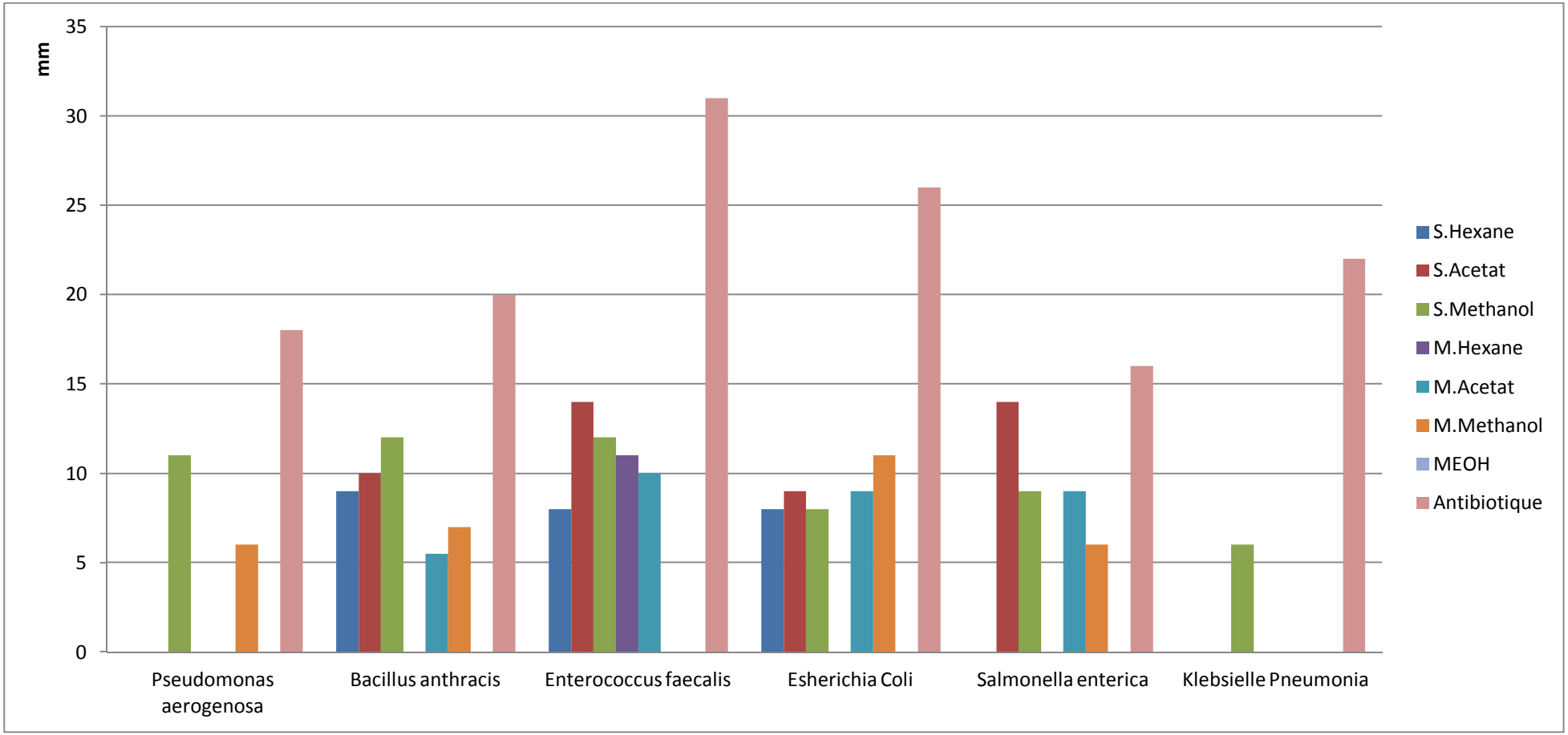
من خلال الشكل (21) الموضّح لنسب انحلال كريات الدم نلاحظ تفوق حمض الأسكوربيك على جميع المستخلصات الذي دوّنت عنده أدنى قيمة انحلال قدرت بـ % 19. كما نلاحظ أن مستخلص Méthanolو Acétate d'éthyleبطريقة النقع البارد وبجهاز السوكسلسي كانت نتائج لنسبة انحلال متقاربة بينهما، في حين سجل المستخلص Hexane كأدني قيمة قدرت بـ% 84.46 بطريقة الاستخلاص بالنقع البارد و79.60% لجهاز سوكسلي .



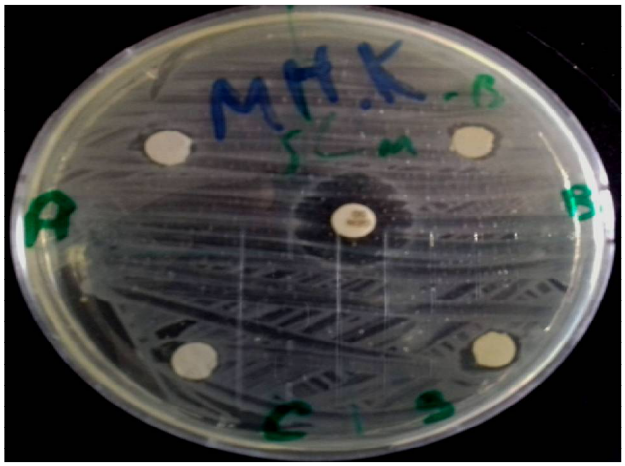
الشكل (25): نسب انحلال كريات الدم الحمراء للمستخلصات المدروسة ولحمض الأسكوربيك عند تركيز 1 mg/ml .

4. دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا

من خلال دراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات *Anabasis articulata* و بعض المضادات الحيوية على لبعض الأنواع البكتيرية الممرضة تحصلنا على النتائج المرفقة في الصور و في الشكل (26).

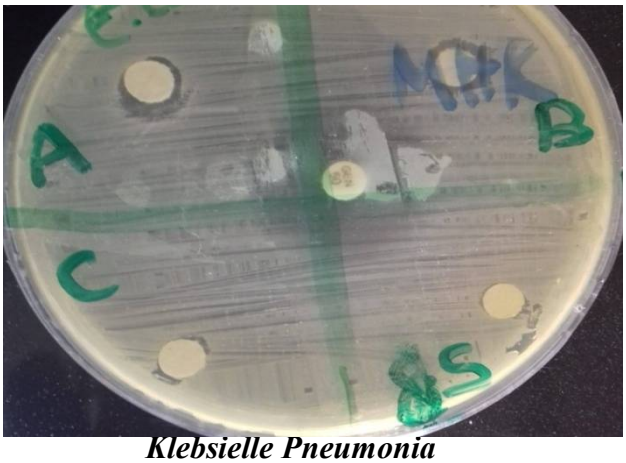


الشكل:(26) متوسط الأقطار التثبيطية بـ (مم) للسلالات البكتيرية المختبرة مع مستخلصات المدروسة لنبات *Anabasis articulata* .

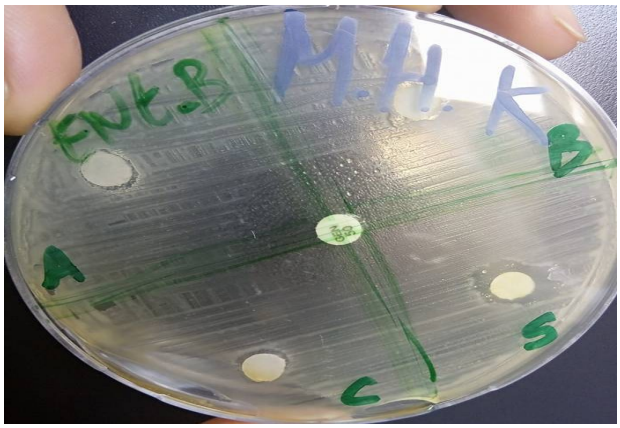


Salmonella enterica

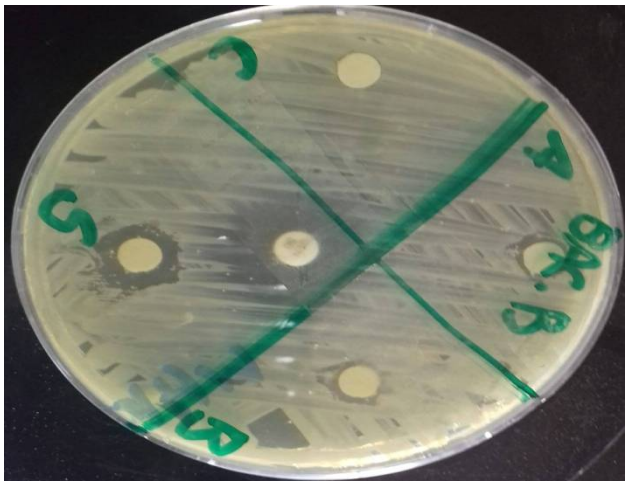
Escherichia Coli



Klebsielle Pneumonia



Enterococcus faecalis

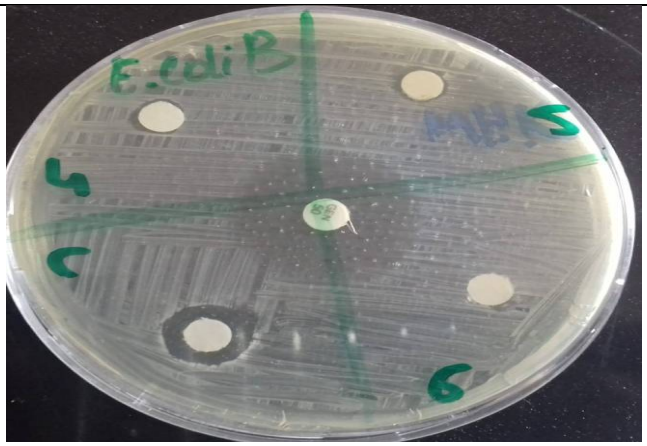


Bacillus anthracis

Pseudomonas aerogenosa

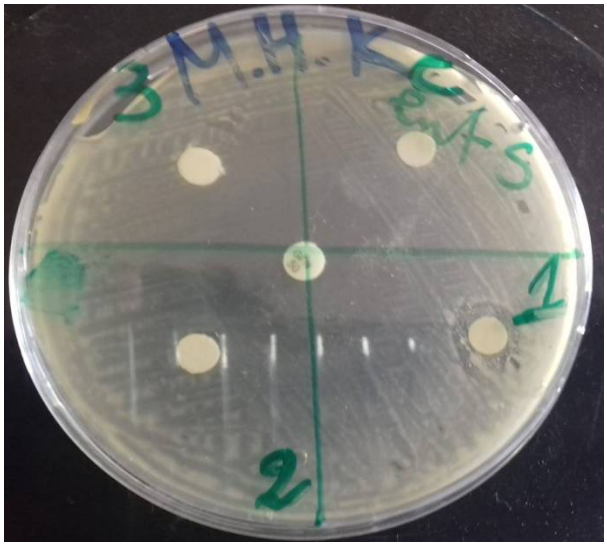
الوثيقة (05): تأثير المستخلصات الكحولية لنبات *Anabasis articulata* بطريقة النقع البارد على السلالات البكترية المختبرة .

A: الميثانول **B :** الهكسان **S** : Acétate d'éthyle **C :**الشاهد



Escherichia Coli

Salmonella enterica



Enterococcus faecalis

الوثيقة (06): تأثير المستخلصات الكحولية لنبات *Anabasis articulata* بطريقة Soxhlet على السلالات البكترية المختبرة

A: الميثانول **B :** الهكسان **S :** أسيتات الإيثيل **C :**الشاهد

من خلال النتائج المدرجة في الشكل (26) والوثائق المرفقة (06) لاحظنا أن :

- **السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa***

اظهر المستخلص Méthanol لجهاز Soxhlet فعالية معتبرة ضد هذه السلالة وسجل أحسن قطر التثبيطي قدر بـ 11 mm بينما أظهرت السلالة مقاومة للكل من مستخلص Hexane Acétate d'éthyle بنفس طريقة الاستخلاص حيث لم تظهر أي أقطار تثبيطية .

وبالنسبة لمستخلصات بطريقة النقع سجل المستخلص Méthanol قطر ثبيطي قدر بـ 6 mm ، بينما أظهرت السلالة مقاومة شديدة لكل من مستخلص Acétate d'éthyle و Hexane حيث لم نسجل أي قطر تثبيطي ، كما أظهرت السلالة حساسية شديدة للمضاد حيوي بقطر تثبيطي بلغ 18 mm .

- **السلالة البكتيرية *Bacillus anthracis***

أظهرت هذه السلالة حساسية متوسطة بالنسبة لكل من المستخلص Méthanol و Acétate d'éthyle و Hexane بطريقة soxhlet حيثٌ سجلت أقطار تثبطية قدرت بـ 12mm ، 10mm ، 9mm ، على توالي

وبالنسبة لمستخلصات بطريقة النقع سجلنا حساسية ضعيفة للكل من مستخلص Méthanol و Acétate d'éthyle وكانت أقطار تثبطية لها على التوالي 7mm، 6mm ، بينما أظهرت السلالة مقاومة شديدة لمستخلص الهكسان حيث لم نسجل أي قطر تثبيطي. كما أظهرت السلالة حساسية شديدة للمضاد حيوي(Gentamicin) بقطر تثبيطي بلغ 20mm .

- **السلالة البكتيرية *Enterococcus faecalis***

أظهرت هذه السلالة حساسية متوسطة بالنسبة لكل من المستخلص Méthanol و Acétate d'éthyle بجهاز Soxhlet حيث اظهر المستخلص Acétate d'éthyle أحسن قطر التثبيطي بـ 15 mm ومستخلص Méthanol بـ 12 mm والمستخلص Hexane اقل فعالية بـقطر ثبيطي قدر بـ 8 mm ،

أما بالنسبة للمستخلصات بطريقة نقع فسجل المستخلص Méthanol أحسن الأقطار التثبيطية بـ 11 mm و المستخلص Acétate d'éthyle بـ 10 mm ،ولم يسجل المستخلص Hexane اي قطر تثبيطي ،كما أظهرت السلالة حساسية شديدة للمضاد حيوي بقطر تثبيطي بلغ 31mm .

- **السلالة البكتيرية *Escherichia Coli***

أظهرت هذه السلالة حساسة ضعيفا نسبيا بالنسبة لكل من المستخلصات (Méthanol، Acétate d'éthyle، Hexane) التي تراوحت أقطارها التثبيطية ما بين 8 mm إلي 11 mm، ماعدا المستخلص Hexane بطريقة النقع الذي لم يسجل اي قطر تثبيطي ، كما أظهرت السلالة حساسية شديدة للمضاد حيوي (Gentamicin) بقطر تثبيطي بلغ 26mm .

- **السلالة البكتيرية *Salmonella enterica***

أظهرت هذه السلالة حساسة معتبرة للمستخلص Acétate d'éthyle لجهاز Soxhlet حيث سجل أحسن قطر تثبيطي بـ 14 mm، و سجل المستخلص Méthanol قطر تثبيطي بـ 9 mm ، وأظهرت هذه السلالة مقاومة مع مستخلص Hexane حيث لم نسجل أي قطر تثبيطي .

أما بالنسبة للمستخلصات بطريقة النقع سجل المستخلص Acétate d'éthyle أحسن قطر التثبيطي بـ 9 mm ، و اعطي المستخلص Méthanol قطر تثبيطي بـ 6 mm، ،بينما أظهرت السلالة مقاومة شديدة لمستخلص Hexane حيث لم نسجل أي قطر تثبيطي، كما أظهرت السلالة حساسية شديدة للمضاد حيوي بقطر تثبيطي بلغ 16mm .

- **السلالة البكتيرية *Klebsielle Pneumonia***

أظهرت هذه السلالة مقاومة شديدة حيث لم نسجل أي أقطار تثبيطية مع كل المستخلصات ماعدا المستخلص Méthanol لجهازSoxhlet بقطر تثبيطي قدر بـ mm ، كما أظهرت السلالة حساسية شديدة للمضاد حيوي بقطر تثبيطي بلغ 22mm .

ملاحظة

أظهرت السلالات البكتيرية المختبرة مقاومة شديدة بالنسبة للشاهد (Ethanol) حيث لم يتم تسجيل أي أقطار تثبيطية له .

II. المناقشة

1.المردود

بعد تقدير مردود كل مستخلصات لنبات *Anabasis articulata* ومن خلال النتائج المتحصل عليها وجود اختلافات كمية بين المستخلصات النباتية ، حيث يمكن أن نفسر سبب التذبذب في المردود إلى :

للمذيب دور في عملية الاستخلاص إذ يعود الاختلاف في نسبة المردود بين المستخلصات إلى نوع المذيب المستخدم ، و اختلاف قطبيته (NAJAA et al, 2011; LEE et al, 2003)، من المعروف أن المذيب Acétate d'éthyle وHexane يتميزان بقطبيتهما الضعيفة مقارنة بقطبية Méthanol ، الأمر الذي يفسر انخفاض المردود عند المستخلصين Acétate d'éthyle وHexane (الفراجي، 2003 ؛ حجاوي و آخرون، 2009) .

اختلاف في خصائص وطبيعة المذيب من حيث القطبية والطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في النبات،(Djamai.,2009)، وهذا يوافق ما توصل إليه (Rajan *et al*., 2013) في دراسته لمردودية نبات *Osbeckia parvifolia Arn* في مذيبات مختلفة القطبية (Méthanol ، Acétate d'éthyle، Hexane) وكانت أعلى مردود للمستخلص أكثر قطبية (Méthanol) ثم يليه المستخلص الأقل قطبية (Acétate d'éthyle) ثم مستخلص (Hexane) و هذا يتوافق مع نتائج الدراسة المتحصل عليها بأن الإختلاف في نسبة المردود مرتبطة بدرجة قطبية المذيب .

أو من الممكن أن يعود ذلك إلى طريقة الاستخلاص (النقع، جهازSoxhlet) ودرجة الحرارة وظروفها (Yeo Sounte et *al*., 2014)، حيث ذكر MADI (2010) أن تكرار عملية الاستخلاص وكمية المذيب بالنسبة للمادة النباتية إضافة إلى مدة عملية الاستخلاص من شأنها تحديد قيمة المردود (جيدل، 2015).

حيث يفسر(2010) .Rajaet et *al* ذلك بدرجة تشبع المذيب أي عدم كفاءة حجمه المستعمل لاستخراج جل جريئات العينة، أو عدم استغراقه الوقت الكافي للقيام بذلك .

2 .التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات

من خلال النتائج المتوصل إليها نلاحظ وجود اختلافات في المحتوي الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات بين المستخلصات النباتية حيث أظهر المستخلص (Méthanol) لكلا طرقتين الاستخلاص قيم اعلي من المستخلصات(Acétate d'éthyle، Hexane) إذ يمكن تفسير هذا الاختلاف إلي :

إلى اختلاف قطبية المذيبات مثلما وضح (Mahmodi el al, 2012) في دراسته لأجزاء مختلفة لنبات *Cynara scolymus L* لمستخلصات مختلفة القطبية، وكان أفضلها المائي و الميثانولي باعتبارهما مذيبات مرتفعة القطبية، تتغير كمية الفينولات من مستخلص إلى آخر حسب اختلاف المركبات الفينولية في كل مستخلص فسلوكها يختلف مع اختلاف بنيتها الكيميائية حسب عدد مجموعة الهيدروكسيل والوزن الجزيئي، كذلك طول السلسلة الكربونية للهيكل القاعدي(Mahmodi el al ,2010)، و الوسط الموجودة فيه(حمضي -قاعدي) (Hayouni *et al*.,2007).

كما لطرق الاستخلاص و المذيبات المستعملة دور مهم في تغير كمية الفينولات و الفلافونويدات في المستخلصات.(Toledo *et a*l ,2011) .

أوربما يعود إلى درجة نقاوة المستخلص، إذ يحتمل أن يعمل المذيب على استخراج مركبات غير فينولية كالسكريات والبروتينات(Djeridane et *al*, 2007) مؤدية بذلك إلى التأثير على تقدير المحتوى الكلي لكل من عديدات الفينول والفلافونويدات.

كاشف Folin كاشف يتميز بحساسيته للمجموعات الهيدروكسيل ليس في المركبات الفينولية فحسب بل في كل المركبات السكرية والبروتينة لذلك يمكن أن يعزى الاختلاف في قيم عديدات الفينول لهذا السبب (Grossi *et a.l*, 2015; Gmez-Caravaca *et al*., 2006)

أما من ناحية تفسير إختلاف المحتوي الكمي بين طرقتي الاستخلاص (النقع ، جهاز Soxhlet) ، حيث لاحظنا من خلال نتائج تفوق مستخلصات Soxhlet على مستخلصات بطريقة النقع يمكن تفسيره بـ :

حيث قدم كل من Harrar (2012)؛ Igor Passi (2003) طريقة التسخين عند استخلاص عديدات الفينول وذلك بسبب أوزانها الجزيئية الكبيرة إذ تعمل الحرارة على زيادة ذوبانيتها وتحررها في المذيب على عكس طريقة النقع لغياب الحرارة، وهذا يوافق ما توصل إليه (Rajan *el al*., 2013) في دراسته لتقدير المحتوي الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات لنبات *Osbeckia parvifolia Arn* حيث كانت نتائجه متوافقة لما توصلنا إليه في تفوق المستخلصات النباتية لجهاز soxhlet على المستخلصات بطريقة النقع .

3. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

- **اختبار الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$**

يعتبر اختبارDPPH من أفضل و أسهل الطرق المعتمدة في قياس قدرة المستخلصات النباتية في إزاحة الجذور الحرة(Kumar et *al*., 2012)، وذلك يتجلى مرئيا من خلال التغير اللون للجذر الحر$DPPH^{\bullet}$ من

اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر(Brand-Williams et *al*., 1995) ، ويعبّر هذا التحول كيميائيا على قدرة المستخلصات النباتية في تعديل واستقرار الجذر الحر(Pourmorad et *al*., 2006).

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ تذبذب في نسب التأثير الإزاحي بين مختلف المستخلصات، حيث أبدى مستخلص Méthanol أفضل فعل كابح للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ مقارنة بباقي المستخلصات، ومنه يمكن ربط نتائج التقدير الكمي للفلافونويدات بنتائج النشاطية المضادة للأكسدة ربطا ايجابيا فالنتائج تبين تناسبا طرديا بين المحتوى الكلي للفلافونويدات و القدرة المضادة للأكسدة(Mohammedi ., 2011) وهذا يتوافق مع النتائج المتوصل إليها من خلال دراسة الارتباط الخطي بين عديدات الفينول - النشاطية المضادة للأكسدة و الفلافونويدات - النشاطية المضادة للأكسدة،حيث أعطت النتائج ارتباط خطي قوي لكلا طرقتي الاستخلاص$0.96 \leq R^2 \leq 0.99$، وهذا ما أكده AHNوآخرون (2007) في دراسة أجريت عن النشاطية المضادة للأكسدة و المحتوى الفينولي لعدد من النباتات.

ارتفاع نشاطية للمستخلص الميثانولي مقارنة بالمستخلص الهكسان وأسيتات الايثيل، يرجع لكمية المركبات الفينولية و الفلافونويدية الحاوية لها (Umadevi *et al*., 1988) واختلاف بنياتها التركيبية في كل مستخلص(Romani *et al*., 2002)

واعتمادا على المعلومة المؤكدة أنه كلما نقصت قيمة الـ IC_{50} كلما كان زادت النشاطية المضادة للأكسدة (NOTO et *al*., 2016) فإنه يمكن القول أن القدرة الكابحة للجذور الحرة $DPPH^{\bullet}$ في المستخلصات المدروسة ضعيفة مقارنة بقدرة المرجع القياسي (حمض الأسكوربيك)، ومن هذا يمكن تخمين ضعف النشاطية المضادة للأكسدة لعينات النبات المدروس (*AnabasisArticulata*) إلى تدني محتواه من عديدات الفينول والفلافونويدات كمّا ونوعا، حيث تشير بعض الدراسات إلى أن الأثر الإزاحي للمستخلصات النباتية مرتبط عموما بوجود عديدات الفينول و بالفلافونويدات خصوصا (Javanmardi et *al*., 2003)، وذلك لقدرتها على منح الهيدروجين من خلال المجاميع الهيدروكسيلية (ATMANI et *al*., 2009)، و احتوائها على الرابطة المزدوجة بين ذرتي الكربون في الموضع C_2 وC_3(CAI et *al*., 2004)، إضافة إلى وجود مجموعة 4-OX غير المتجانسة (Khalaf et *al*.,2008).

في حين أشار.(Yordil et *al*., 2012) إلى أن الفعل المثبط للجذور الحرة من طرف عديدات الفينول يختلف من مركب لآخر، فمنها ما يرتبط مع ROS مشكلا معقدات مستقرة، ومنها ما يقوم بكسر رابطة تكافئية مؤديا بذلك إلى إرجاع العناصر المؤكسدة، ومنها ما يحتمل أن تكون عبارة عن مخالبيات، ومنها ما يمكن أن تكون مانحات للبروتونات.

- **اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)**

اختبار الـ Hémolyse من أسهل وأسرع التجارب *In vivo* المعتمدة لتحديد قدرة المستخلصات النباتية المضادة للأكسدة (Banerjee et *al*., 2008)، حيث أختيرت كريات الدم الحمراء لهذا الغرض لأنها أكثر الخلايا المتواجدة في الجسم، و نظرا لاعتبارها الأكثر عرضة للجذور الحرة (Abirami et *al*., 2014)،وذلك لاحتوائها على كمية عالية من الليبيدات وغناها بالأكسجين بالإضافة إلى احتوائها على الأيونات المعدنية كالحديد (Alvarez-Suarez et al.,2014).

يعمل الإجهاد التأكسدي على حدوث الأكسدة الليبيدية (أكسدة الغليكوليبيدات) لأغشية كريات الدم الحمراء للدهون غير المشبعة في الغشاء البلازمي (Usha & Yogish, 2016) محدثة بذلك فرقا في الكمون بين الوسط الداخل خلوي والخارج خلوي، الأمر الذي يسمح بزيادة نفاذية الماء إلى داخل الكريه الحمراء (Callen et Perasso.,2005; Marc et Lemullois, 2006)،

ومن ثمّ إحداث حلول خلوي مؤديا إلى تحرير محتوي كرية الدم الحمراء في الوسط الخارج الخلوي (Dolci & Panteghini, 2014; Lippi et *al*., 2006)، مما يسبب اختلال وظائفها من خلال التأثير على ميوعتها وعلى وظائف المستقبلات والإنزيمات المدمجة في الأغشية.

أظهرت نتائج اختبار كريات الدم الحمراء تذبذب طفيف فيما بينها، في حين ظهر فرق ملحوظ مقارنة بالحمض الأسكوربيك المعتمد كمرجع قياسي، وهذه النتائج تتوافق نوعا ما مع النتائج المتحصل عليها في اختبار الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$، حيث تحصلنا فيها على نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة عموما.

وعليه يمكن إرجاع قيم النشاطية المضادة للأكسدة في هذه الحالة إلى كمية ونوعية والكفاءة الوظيفية للمركبات الفينولية للعينات المدروسة، حيث أشار محمد بو عبد الله (2011) إلى أن عديدات الفينول والفلافونويدات ترفع من إمكانية حماية الأغشية الحيوية وذلك من خلال منع عملية تأكسدها بواسطة الجذور الحرة، وأشار Kalaivani et *al*.(2011) إلى أن المركبات الفينولية تعمل كقانصة للجذور الحرة، أو كمثبطات للعوامل المؤكسدة أو كمؤشرات لتنشيط الأنزيمات المسؤولة على إزالة السموم، في حين أشار Judith(2005) إلى أن الفينولات تعمل على خفض نفاذية الأغشية البيولوجية، ، ومن خلال الفارق بين مستخلصات في نسب الحماية يمكن أن يكون ذلك نتيجة تموقع الفلافونويدات ضمن الأغشية الخلوية التي تعتبر موقعا لأكسدة الليبيدات (Valente et al.,2010) وأيضا لنوع الفلافونويدات المتواجدة في المستخلص دور كبيرة في ذلك، أي أن كل ما كان المستخلص يحوي على فلافونويدات أقل قطبية أي محبة للذوبان في الدهون كلما زادت من سهولة عبورها للطبقة الفوسفوليبيدية للغشاء وبالتالي زيادة نسبة الحماية من الجذور الحرة (Khodapars *et al*., 2007).

4.النشاطية المضادة للبكتيريا:

بالنسبة لدراسة النشاطية المضادة للبكتيريا وذلك باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص ومن خلال النتائج الاختبار المتحصل عليها، أن الفعل المضاد للبكتريا للمستخلصات النباتية المدروسة على السلالات البكترية المختبرة كانت النتائج متباينة من حيث فعل المستخلص وقدرة السلالة على المقاومة أو وجود حساسية اتجاه المستخلصات.

سجلنا اختلاف في التأثير بين المستخلصات على السلالات البكتيرية المختبرة وذلك حسب تراكيز المواد الفعالة والي نوعية وكمية المركبات في كل مستخلص وذلك باختلاف طرق الاستخلاص والمذيبات المستعملة (Ivana., 2011) ، كما يعود الاختلاف في الحساسية بين السلالات المختبرة موجبة الغرام وسالبة الغرام إلى بنية وتركيبة و طبيعة جدار الخلية البكتيرية لكل نوع (Lambert.., 2002) .

أما بالنسبة لتفوق المستخلصات الميثانولية على المستخلصات (Acète d'éthyle/ Hexane) فيمكن تفسيريها إلى كونها تحتوي على مواد فعالة كالفينولات بقيم اكبر قادرة على تثبيط نمو البكتيريا، والتي تحتوي على جليكوسيدات قادرة على تثبيط نموالبكتيريا، وذلك بإذابة الطبقة الدهنية لجدار الخلية البكتيرية، وبالتالي يؤثر ذلك على نفاذية جدارالخلية، مما يسبب في خروج بعض مكونات الخلية أو دخول مواد كيمائية غريبة اليها، والذي يحدث اضطرابا في الخلية البكتيرية يؤدي الى موتها (العاني،2002) .

بالنسبة للسلالات البكتيرية التي أظهرت مقاومة للمستخلصات، يمكن أن يعود ذلك لاحتواء هذه البكتيريا على غشاء تفادي فعال يمنع دخول بعض مركبات المستخلصات المختبرة إلى داخل الخلية البكتيرية وبذلك يمنع تأثيرها التثبيطي (Hanafy et Hatem .,1991) كما تعود حساسية البكتيريا سالبة الغرام عند مقارنتها مع موجبة الغرام لأن هذه الأخيرة تملك جدار أسمك من سالبة الغرام (العابد، 2009)

أما بالنسبة المضاد الحيوي فهو يعمل على كبح البكتيريا فقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي حيث يوقف تركيب الجدار بتثبيط Transpeptidase وهذا ما يمنع Peptidoglycane تكوين وبالتالي يوقف عملها ونموها ويمكن ان يشمل تدميرها هذا من جهة، ومن جهة أخرى يعمل على الغلاف الداخلي لان المضاد الحيوي له خواص سطحية تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا مما يؤدي إلى تدميرها، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين كما يعمل على جزيء ADN فيؤدي إلى التثبيط الأنشطة الأيضية لنموADN للبكتيريا

الخاتمة

الخـاتمة

كانت النباتات محل اهتمام الإنسان منذ القدم ، حيث تؤكد منظمة الصحة العالمية أن حوالي 80 % من سكان العالم خاصة في البلدان النامية يعتمدون على النباتات من أجل الرعاية الصحية وذلك لاحتوائها على مركبات فعالة طبيعية تختلف فيما بينها في البنية والتأثيرات البيولوجية وكذلك آليات التأثير، وفي السنوات الأخيرة ازداد اهتمام بتثمين النباتات البرية وخاصة المحلية واستغلالها في عدة مجلات حسب المواد التي تحتويها، لذلك ارتأينا إلى إجراء هذه الدراسة الفيتوكيميائية التي تهدف إلى تثمين أحد النباتات الصحراوية الشائع نموها في بيئتنا المحلية(منطقة وادي سوف الواقعة في الجنوب الشرقي الجزائري)، ألا وهو نبات *الباقل A .articulata* .

حيث قمنا في هذا العمل بتحضير المستخلصات النباتية الخامة بثلاثة مذيبات مختلفة (méthanol ، Acétate d' ethyle، Hexane) بطرقتي النقع وبجهازsoxhlet ومن خلال ذلك تمكنا من تقدير نسب المردود، حيث أعطى مستخلص الميثانولي أعلى قيمة مقارنة مع المستخلصات الأخري ،اما بالنسبة لطريقة الاستخلاص فقد تفوقت طريقة النقع عن طريقة بجهاز soxhlet مع كل المذيبات .

ولغرض مقارنة بين المستخلصات بطريقة النقع وبجهاز soxhlet قمنا بـ :

- التقدير الكمي لعديدات الفينول وذلك استناد لطريقة Singleton and Rossi وبالاعتماد على الـ Folin-ciocalteau ككاشف لعديدات الفينول، حيث دونت أعلى كمية لعديدات الفينول في مستخلصات الميثانولية التي قدرت بـ (2.31(mg EAG/g MP ±96.11 و (2.34(mg EAG/g MP ± 85.55 ، مقارنة بمستخلصات أسيتات الإيثيل المقدرة بـ (0.47(mg EAG/g MP ± 18.66 و mg 2.34(EAG/g MP ± 85.55 ومستخلصات الهكسان ، (mg EAG/g MP)46 .2 ± 77.11 و (mg EAG/g MP) 1.24± 67.37 ، مع تفوق طريقة الاستخلاص بجهاز soxhlet في المحتوي الكمي لعديدات الفينول عن طريقة الاستخلاص بطريقة النقع .
- لتقدير الكمي للفلافونويدات وذلك باستخدام $AlCl_3$ ككاشف،حيث سجلنا أعلى كمية لها في مستخلصات الميثانولية التي قدرت بـ(1.93 (mg E Qu/g MP ± 30 و بـ (mg E Qu/g MP) 0.47 ± 20.31 ، مقارنة بمستخلصات أسيتات الإيثيل المقدرة بـ(6.2 (mg E Qu/g MP ±28. 12 و(1.33 (mg E Qu/g MP ±5 ومستخلصات الهكسان (0.93 (mg E Qu/g MP ± 75. 24و (0.93 (mg E Qu/g MP ± 24.75 ، .

ومن خلال المقارنة بين طرق الاستخلاص تفوقت طريقة الاستخلاص بجهاز soxhlet في المحتوي الكمي للفلافونويدات عن طريقة الاستخلاص بطريقة النقع مع كل المذيبات المستعملة .

- وبغية دراسة النشاطية البيولوجية للنبات تطرقنا لدراسة النشاطية المضادة للأكسدة وذلك بالاعتماد على اختبار الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$الذي يسمح بتحديد قدرة المستخلص في اقتناص الجذر الحر الـ$DPPH^{\bullet}$وذلك من خلال تحديد قيمة IC_{50} المعبر عن التركيز اللازم لتثبيط 50% من الجذر الحر، حيث أظهرت قيم IC_{50}المتحصل عليها تفوق مستخلصات الميثانولية لكلا طرقتي بفعالية كابحة للجذر الحرة $DPPH^{\bullet}$ عن باقي المستخلصات، حيث قدرت قيم الـ IC_{50} له بـ(µg/ml) 89.23 و(µg/ml) 61.23 بالنسبة للمستخلصات الميثانولية بجهاز soxhlet وطريقة النقع على توالي ، وبقيمة(µg/ml) 122.32 و149.07 لمستخلصات أسيتات الإيثيل ، في حين سجلت أقل فاعلية عند مستخلص الهكسان بـ (µg/ml) 234.32و (µg/ml) 256.05 .
- ولتعرف على مدي قدرة المستخلصات النباتية على حماية أغشية كريات الدم الحمراء من التحلل إثر تعرضها للإجهاد التأكسدي، قمنا باختبار Hémolyse ،حيث أبدت النتائج تقارب في نسب الأثر الواقي المضاد للانحلال عند المستخلصات Méthanol و Acétate d'éthyle بطريقة النقع البارد وبجهاز soxhlet حيث كانت مابين% 60 الى% 63 ، في حين كان المستخلص Hexane كأدني قيمة قدرت بـ% 84.46 بطريقة الاستخلاص بالنقع البارد و%79.60 لجهاز soxhlet.
- دراسة نشاطية ضد البكتريا للمستخلصات النباتية المدروسة على 06 سلالات بكترية ممرضة.

(*Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus anthracis*، *Salmonella enteric* ، *Escherichia coli*، *Klebsielle Pneumonia*) باستعمال طريقة انتشار بأقراص ،حيث اضهرت النتائج المتحصل عليها ان المستخلصات الحكولية لنبات *A. articulata* *له فعالية بيولوجية متوسطة إلى حد ما Bacillus anthracis وEnterococcus faecalis وEsherichia Coli مقارنة بباقي السلالات وذلك من خلال أقطار تثبيطية (12، 14,11) على الترتيب ، كما ابدي المستخلص الميثانولي بجهاز* soxhlet أحسن *الأقطار التثبيطية مقارنة بباقي المستخلصات* .

قائمة

المراجع

I. مراجع اللغة العربية

1. **ابو القنديل .، 2011** - الدور الوقائي لبعض المستخلصات الفلافونيدية ضد الالتهاب الكبدي المحرض بالباراسيتامول لدى الجرذان .مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة قسنطينة. الجزائر.ص39:33.
2. **ابو سمرة ر.، ابوعسلي ع.، 1999** - الجذور الحرة، جملة المضادات المؤكسدة وداء التهاب المفاصل الرثياني، **مجلة** جامعة دمشق، سوريا. المجلد (5) ص: 101-115 .
3. **-العابد ا.، 2009** - دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا ومضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات لنبات الضمران *Traganum nurdatun* .مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة.الجزائر. ص:106.
4. **الموى ر.، 2010** - فصل وتحديد منتجات الايض الثانوي للمستخلص البوتانولي لنبات *Haloxylon Scoparicum(Chenopodiacea* ، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم تخصص تحاليل فيزيوكيميائية عضوية، شعبة كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة . الجزائر. ص: 56-55 .
5. **الحلو ج.، 2009** - علوم الاحياء الدقيقة الاصول والعلاقة –دار اسامة لنشر –عمان ص:216.
6. **الفراجي غ.، 2003** - تعيين و تنقية مساعد الأنزيم CoQ10في عشرة أصناف من التمور العراقية بأطوار النموالاربع، الكمري، والخلال،والرطب،والتمر .أطروحة دكتوراه فلسفة كيمياء،جامعة بغداد، العراق،ص : 38- 29 .
7. **الحجاوي غ. المسيمي ح .قاسم ر.، 2009** -علم العقاقير و النباتات الطبية .دار الثقافة للنشر و التوزيع , بيروت, لبنان ،ص : 126-129 ، 253-257 .
8. **العانيو .، 2002** - استخلاص بعض المركبات الفعالة في مسحوق ثمار الشوك (الخرنوب) *Prosopis farcta* وفصلها ودراسة فعاليتها البيولوجية .أطروحة دكتوراه كلية العلوم، جامعة الانبار، العراق، ص: 139.
9. **- بو ديار ط .، 2008** - فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة الاكسدة لنبتة *Euphorbia gugonina* .مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري قسنطينة، ص 128.
10. **بن عاشور ص.، 2007**- الفعالية المضادة لاكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية ل *Deverra scoparia* ، مذكرة لنيل شهادة الماجستير،جامعة ورقلة . ص :83 .
11. **جرموني م.، 2009**- النشاطية المضادة للاكسدة لمستخلصات نبتة الخياط *Teucrium polium* ، مذكرة لنيل شهادة ماجستير ،جامعة فرحات عباس،سطيف. ص :95 .
12. **جغلان ا.،2009** - الاتفاقية المتعلقة بالتنوع البيولوجي، تقرير عن حفظ النباتات ، استعراض التقدم المجرز في تنفيذ الاستراتيجة العالمية لحفظ النباتات (GSPC). ص: 48.

13.حواء إ.، 2013 - دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية و فيزيوكيمياء الجزيئات، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، 109 ص .

14.حليس ي.، 2005 -الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، الطبعة الاولة، مطبعة الوليد، ولاية الوادي الجزائر.ص : 87.

15.خطاف ع .، 2011 - فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للاكسدة لنيتة *Salsola tetrragona Del(Chenopodiaceae)* ، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري. قسنطية.

16.ريده ا .، 1999 - الجذور الحرة، جملة مضادات المؤكسدة وداء التهاب المفاصل الرثياني. مجلة جامعة دمشق، المجلد(5) العدد(2).

17.عمراني ا .، 2013 - دور فيتامين E و C والمستخلص البوتانولي لنباتي *Rhantheriun suaveolens* و *Chrysanthemun fontanesi* في الوقاية من تسمم المحرض بدواء sodiun valproate لدى الفئران الحوامل دراسة Invivo; Invitro، رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه العلوم في بيولوجيا وفسيولوجيا خلية الحيوان، جامعة قسنطينة 1. ص: 30-22.

18.سعدين ع .، 2001 - كيمياء الجذور الحرة، دار المسير للنشر والتوزيع والطباعة. الطبعة الاولة،ص192.

19.عمراني ا .، 2013 - دور فيتامين E و C والمستخلص البوتانولي لنباتي *Rhantheriun suaveolens* و *Chrysanthemun fontanesi* في الوقاية من تسمم المحرض بدواء sodiun valproate لدى الفئران الحوامل دراسة Invivo; Invitro، رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه العلوم في بيولوجيا وفسيولوجيا خلية الحيوان، جامعة قسنطينة 1. ص 22/30.

20.- مصطفى ب .،2008 - دراسة فيتوكيميائية للبيبيدات والفينولات في بعض انواع التمر المحلي، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح.ورقلة،ص 59.

21.شكري ا .، 2010 - النباتات الزهرية نشاتها وتطورها وتصنيفيها، دار الفكر العربي للتوزيع والنشر، القاهرة، مصر. ص:324-322 .

22.محمد بو عبد الله س.، 2011- دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia sinensis* على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا. رسالة لنيل شهادة الماجيستر، جامعة منتوري قسنطينة، ص: 78.

23.محمد م. عبد الرازق س. عبد الباسط ر.،2013 - اساسيات التشخيص البكتريولوجي المعملي والسريري، الطبعة الاولة، مركز التقنيات الحيوية . جامعة ليبيا. الفصل الاول.ص: 25-10.

24.صلاح ع.،2011 - مقدمة عن النباتات الطبيعية، كلية العلوم النبات، جامعة بابل. العراق.

25.فرحات س.، 2013 - دراسةمقارنة فعالية المواد المضادة للاكسدةراللبروبوليس لمناطق مختلفة في الجزائر حسب الخريطة المناخية بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، مذكرة لنيل شهادة الماستر. جامعة الوادي. الجزائر. ص : 55-24 .

26.لينوس ك.، 1753- مكتبة تراث التنوع البيولوجي، اصدار (1)، المجلد(2) ، ص: 223

27.وائل غ .، 2008 . اسس الكيمياء العضوية، دار الكتب الوطنية، الطبعة الاولى ، ليبيا. ص 296 .

28.هيكل م .عمر ع.، 1993- النباتات الطبية والعطرية (كيميائها- انتاجها - فوائدها) ، الطبعة الثانية، دار منشاة المعارف، الاسكندرية، مصر .ص :510.

II.المراجع الاجنبية:

1. **ANVASOR G. KAYODE O.,2010**. Comparative antioxidant phytochimical antproximat analyse is of aqueous and methanolic extracts of veronicas amy gdalina and thallium triangular. Pakistan Journal of Nutrition 9(3). PP 259-264.
2. **ABIRAMI A., GUNASEKARAN N., & PERUMAL S., 2014-** *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitiry potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. Food Science and Human Wellness, (03): 18-22.
3. **ALVAREZ S.,TULIPANI, S., ARMENI, T., GIMAPIERI, F., J.M., GONZALEZ-Paramas, A.M., Santos-Buelga, C., Busco, F., Principato, G., Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M., 2014**- Strawberry intake increases blood fluid, erythrocyte and mononuclear cell defenses against oxidative challenge. *Food Chemistry* 156, 87-93.
4. **ATMANI D. CHAHAR N. BERBOUCHA M. AYOUNI K. LOUNIS H. BOUDOUD H. DEBBACHE. & ATMANI D., 2009-** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry, 112: 305.
5. **AHN M.R., KUMAZAWA S., USUI Y., NAKAMURA J., MATSUKA M., ZHU F., 2007-** Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. Food Chem, 101(4): 1383-1392.
6. **BRUNETON J., 1999**- Pharmacognosie, phytochimie et plantesmédicinales. La Voisier TEC et DOC, Paris. 5ème édition. p.250-270.
7. **BANERJEE A. KUNWAR A. MISHRA B. & PRIYADARSINI K. L., 2008-** Conce,tration dependent antioxidant / pro-oxidant activity of curcumam studies from AAH induced hemolysis of RBCs. Chemico-bioligical Interactions, 174: 138.

8. **BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., BERSET C., 1995-** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT., (28): 25-30.
9. **BOSSOKI ., 2003**. Etude des activité biologies de *fagaria zanthoxy* loides lan, Mémoire doctorat, PP127
10. **BOUZGHALE**.B.,2008. Etude phytochimique de le plante Bassia muricater. Mémoire pour l'obtention du diplone de megister en chimie organique .Univesite hadj lahkdar batna . Algern.
11. **BERMOND P.,1997** . Vitamine E therapeutic 8 (4) 25- 202 -10.
12. **CYPRUS T. PRATICO D., 2006**. Antioxident and chronic vasculaire diésas ,In Antioxitant cardiovasclar diseae ,ed Bourassa . PP 226-253.
13. **CAN A. C., Frei B., 1999** . Toward a new recommended dietary allowance and for vitamine C base on antioxidant and health effects in human, the American of chemical Nutrition. 69 (6).P:1086-1107.
14. **CABRAL , et al., 2015**. Guia de consultas botania 2 facultad de ciencies sxactas y naturales y agrimenusra (UNNE) , Caryophyllides. Chenopodiacea. Argentina. P: 150-152.
15. **CALLEN J. C. et PERASSO R., 2005**- Biologie cellulaire des molécules aux organismes. DUNOD, Paris, 500 p.
16. **CAI Y. LUO Q. SUN M. &CORKE H., 2004-** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional chinesemedicinal plants associated with anticancer. Life science, published by Elsevier In., 74: 2176**.**
17. **CHAKRABORTY . M and MITRA. A.,2008**-The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from Cocos nucifera mesocarp. Food Chem; 107: 994–999.
18. **DIF M. M. TOUMI F. B. BENYAHIA M. MEKHFI N. MOUMEN F**. **RAHMANI M. RAHMANI H. & TEHMI W., 2015**- First determination of phenolic content and antioxidant activity of Daphne gnidium L. flower extracts. Global Journal of Medicinal Plant Research, 3 (2): 1.

19. **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 threir antioxidant activity. J of Eur., Food Res., Technol., 224: 805.
20. **DOLCI A. & PANTEGHINI M., 2014**- Harmoniztion of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible?. Clinlca Chimica Asta, 432: 38.
21. **DESHPANDE S.S; DESHPANDE V.S; SOLUNKHE D .K., 1996**. Nutritionaland heath aspescts pf food, antioxidants.Marcel Dekker.INC. P:361- 469.
22. **-DROG W., 2002**. Free radicals in the physiologic control of cell function, cell physiology . PP 82-42.
23. **-FUKAI T et al.,2001**. Superoxi de dismutase,role in redox signaling vascular function and disease, PP 1583-1606.
24. **-FRERMAN B and JAMES D., 1982** . Biologie of disease free radicals an tissue injury. P:47 -412.
25. **FARZEZ. E.K., MARY .H.G., 2001**. Polyphenols form cormulaea monacntha . Phytochemistry.
26. **FRANCEXA , C., BRIGIDE, D., MARINA, D.G., CINZIA, D.M., ANNUNZIATA, G., TUCIO, P., ARMANDO, Z.,2003**- Cinnatic acid amides form chenopodium album. Effects on seeds germination and plant growth, phytochemistry (64).1381-1387p.
27. **-FEDREGHIE M., 2005**- Bacteriologie alimentaire. Ed economica, paris :276p.
28. **GROSSI M., DI LECCE G.E., ARRU M., GALLINA T., TULLIA RICCO B., 2015**- An opto-electronic system for in-situ determination of peroxide value and total phenol content in olive oil. Journal of Food Engineering, 146: 1-7p.

29. **GMEZ-CARAVACA A.M.G., MEZ-ROMERO M., ARR-ÉEZ-ROM-ÉN D., SEGURA-CARRETERO A. and FERN-ÉNDEZ-GUTIÑRREZ A., 2006**- Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. Journal Pharm, Biomed, Anal, 41: 1220-1234.
30. **GUETTAF S. ABIDLI N. KARICHE S. BELLEBCIR L. & BOURICHE H., 2016**- Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of Genista Saharae (Coss. &Dur.). Scholars Research Library, 8 (1): 51p.
31. **GARDESE M., BOMNFENT D., ABEDEDINZADAH. Z., Jore D., 2003** . Espèces Réactives de l'oxygène, comment l'oxygène peut il devenir toxique l'actualité chimique. P: 91 -96pp.
32. **HARRAR A., 2012**- Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L. Mémoire pour obtention diplôme de magister. Université FERHAT Abbas, Setif, p: 31-32.
33. **HAYOUNI E., ABEDRABBA M., BOUIX M., HAMDI M., 2007**- The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*. 105(3): 1126-1134pp.
34. **HANAFY M.S. and HATEM M.E., 1991-** Studies on the antimicrobial activity of*Nigella sativa* seeds (black cumin). Journal Ethnopharmaco, l.34 (2-3) :275-278pp.
35. **HADRi N., CHEMBAZA N.,2015**. Etude photochimique et activité antioxydant d'extraite de plants *sedum villosum*. L (orpin) et *Anabasis articulata* Moq. (*Forsk*), Thése doctorat en biologie cellulaira et biochime. Univesite abou Bekr Belkaid.Tlemcen. Algerie.
36. **HERBETTE et al., 2007** . Seleno – independents gluthione peroxides, more than simple antioxidant scavenger. P: 2163- 2180pp.
37. **HIDRON. A et al., 2008**- National healthcare safety network team and participating national healthcare safety network facilities. NHSN annual

update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention. Infect control hosp epidemiol.29: 996-1011pp.

38. **HOSNI K., 2012**- Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (Allium roseum var. odoratissimum). Journal of Functional Foods. 4: 423- 432.
39. **IGOR PASSI L. B., 2003-** Etude des activités biologiques de Fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae). Thése pour obtenir le grade de docteur, Université de Bamako, République du Mali, p: 109.
40. **IVANA K., MILENA N. and MIODRAG L., 2011-** Comparison of antioxidant andantimicrobial activities of methanolic extracts of the artemisia sp. recovered by different, extraction techniques. Biotechnology and bioengineering Chinese journal of chemical engineering, 19(3): 504-511p.
41. **IGOR PASSI L. B., 2003-** Etude des activités biologiques de Fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae). Thése pour obtenir le grade de docteur, Université de Bamako, République du Mali, p: 109.
42. **IVANA K., MILENA N. and MIODRAG L., 2011-** Comparison of antioxidant andantimicrobial activities of methanolic extracts of the artemisia sp. recovered by different, extraction techniques. Biotechnology and bioengineering Chinese journal of chemical engineering, 19(3): 504-511p.
43. **JAVANMARDI J. STUSHNOFF C. LOCKE E. & VIVANCO J. M., 2003-** Antioxidant activity and totol phenolic content of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry, 83: 549.
44. **JUDITH M. D., 2005-** Etude phytochimique et pharmacologique de Cassia nigricans Vahl. (Caesalpinpaceae) utilisée dans le traitement des dermatose au Tchad. Université de Bamako, Mali, Thèse pour obtenir le grade de docteur, 212p.

45. **JANUEL C., 2003**. Stress oxydant au niveau des plaquette sanguines humaines pours le contexte on peroxydas, Mémoire doctorat, Univrsite lyon.PP 41-50.
46. **KAPER B., NATARO P., HARRY L., MOBLEY T., 2004**. Pathogenic exherichia coli. Febreary- Vol(2). P: 123-139.
47. **KAMBOUCHE . N., Merach A., 2010**- Activité antitypes glycérinant d' un stérol B-sitoglucoside isolé de la plante *Anabasis articulata*, Onental Pharmacy and Expérimentale Médicine. Iraq.
48. **KANTHIKEGAN J. and RAMI. P., 2003** - Enzymatic and non-enzymatic antioxidant in selected piper species Indian. P:135-140.
49. **KALAIVANI T. RAJASEKARAN C. & MATHEW L., 2011-** Free radical scavenging, cytotoxic, and hemolytic activities of active antioxidant compound ethyl gallate from leaves of Acacia nilotica (L.) Wild. Ex. Delile Subsp. Indica (benth.) Brenan. Journal of Food Science, 76 (6):148.
50. **KERKENI .A., 1998** - Radicand libres systems antioxidants et pathogies oxidative, Deuxième colloque International. Elements trace, radicaux liber et pathogies. Manashi. Tunisie. P:17 -18.
51. **KHODAPARS. H., HOSEIN .M., ZINAB ,D** .(2007). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Henna Leaves Extracts (*LawsoniaInermis*),World Journal of Dairy&Food Sciences 2(1):38-41pp
52. **KHALAF A. SHAKYA K. AL-OTHMAN A. EL-AGBAR Z. & FARAH H., 2008**- Antioxidant Activity of Some Common Plants. Turk J Biol., (32): 52.
53. **Kherraze, M.E., Lakhdari, K., Benzaoui, T., Berroussi, S., Bouhanna, M., Sebaa.A., (2010).** Atlas floristique de la vallée de l'Oued Righ par écosystème. Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides, 52: 1-175.

54. **KOHEN R. NYSKA. A., 2002**. Oxydation redox reaction stress phénomène, antioxidants , redox réaction and méthode for hein quantification toxicologique pathologie, Vol(30): PP 620-650.
55. **KOSHISHI. I., 2009**. Lipide derived radical in lipoxygenase reaction sekagab, 81. P: 793-797.
56. **KUMAR A. KUMARI S. & BHARGAVAN D., 2012-** Evaluation of in vitro antioxidant potential of ethanolic extract from the leaves of Achyranths aspera. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 5 (3): 147.
57. **LEE K.W., KIM Y.J., LEE H.J. and LEE C.Y., 2003**- Cocoa Has More PhenolicPhytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. J. Agric. Food Chem. 51: 7292-7295pp.
58. **LIPPI G. SALVAGNO G. L. MONTAGNANA M. BROCCO G. GUIDI G. C., 2006-** Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. Cli. Chem. Lab. Med., 44 (3): 311.
59. **LAMBERT P.A., 2002-** Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria. Journal of Applied Microbiology, 92: 46-54p.
60. **MAGNIM P.,1992** - Les Vitamin- Parées Univesitiones de France ,P:73-104.
61. **MARKHAM K.R., 1982**- Technics of flavonoids identification. Academic Press (London); Chap.1 et 2: 1-113
62. **MEYDAIN M., 2004** - Vitamin demodulations of cardiovascular disease annual new academy of science, P: 271 – 279.
63. **MCKELVEY et al**., **1988** - Mechanisms Conversion of oxnthine dehydrogenises to oxydase in ischemic rat liver and kindney. P: 753-760.
64. **MOHAMMEDI Z., 2011-** Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant desHuile Essentielles et flavanoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister, Université de Tlemcen, Algérie, p:18-50p.

65. **NAJJAA H., NEFFATI M., ZOUARI S., AMMAR E., 2000**- Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *Comptes Rendus de Chimie*. 10: 820-826.

66. **-NIVIERE V and FONTECAVE M., 1994** - Biological sources of reduced oxygen species in training in free radical methodologies , protection, damage. Repair. P 1-16.

67. **PARKS D.,1988** - Conversion of oxnthine dehydrogenises to oxydase in rat intestine. P: 768 – 774p.

68. **PACKER P., 1991**- Protective role of vitamine E in biological systems, AMJCL in nut 53 10500S-5S.

69. **PALAZZETTI S., 2005**- Sport stress – Nutrition Ce que doit seoir le biologiste, Biologie médical .PP 87-128p.

70. **POURMORAD F. HOSSIENIMEHR S. J. & SHAHABIMADJ N., 2006-** Antioxidant activity, phenol and flavonooid contentsnof some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5 (11): 1142p.

71. **RAMESH D, RAMESH D , PRASHITH Kekuda TR, Onkarappa R, Vinayaka KS , Raghavendra L . , 2015** - Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(1), 105-110p.

72. **RAJAEI A. BARZEGAR M. HAMIDI Z. & SAHARI A., 2010**- Optimization of extraction conditions of phenolic compounds from pistachio (Pistachia vera) green hull through response surface method. J. Agr. Sci. Tech., 12: 608p.

73. **ROMANI A., PINELLI P., GALARDI N., MULINACCI N. et TATTINI M., 2002-** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L, Phytochemical Analysis, 13: 79 86.

74. **SERRANO and kLANN., 2004**-Reactiv oxygen species and synaptic plsticity in the aging hippocampus. Ageing research, reviews ,vol(3), PP:341-443.
75. **SHILINA N., 2009**- Mécanismes of the antioxydants défense in children.vol (78), P:11 -17.
76. **SOULYE A. et AMADOU B., 2004**- Etude de le phytochimie et activité biologique de combretum gluyiosum perr mémoir doctorat. PP :141.
77. **SLINKARD k., SINGLETON VL., 1977**- *American Journal of Enology and Viticulture*, , 28(1), 49-55.
78. **SILVIA M., 2003**- Escherichia coli O157:H7 la bacteria que dispar el HACCP en la indu stria de la carne, Enfasis Alimentos.17, P :40-42.
79. **SIMON, G., MATHERO. K.T., ALEXANDER. I.G ., 1999**- Acaffeir acid ester from halocnemdun strobimacem, phytochemistry ,(51). P:465-467.
80. **SINGLETON P., 2004**- Bactériologie pour la médicine la biologie et le biotechnologie, Ed dunod, paris, p 542.
81. **SYR CHINA ,A.I., Veseshagin, A.L., larin ,M.F., Semenor, A.A., 1989**. Khim Prir Soedin.(5) .P:725.
82. **TOLEDO C., BRITTAA E., CEOLEB L., SILVAC E., DE MELLOA J., DIAS FILHOB., NAKAMURA C., NAKAMURA T., 2011**- Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado ,using Brazilian cachaca as extractor liquid. Journal of Ethnopharmacology 133,420-425
83. **TOMAS, F., MORENILL. A., BARBERN, F.A., 1985-** Fitoterapia. 56 (6), P:365.
84. **THULIN. M.,2008**. Family chenopodiaceae –inch Salicormiaceae and salslacea) Flora Somalia.
85. **USHA & YOGISH, 2016**- Hemolytic index – A tool to measure hemolysis in vitro. IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry, 2 (2): 49.

86. **UMADEVI I., DANIEL M., SABNIS S.D., 1988-** Chemotaxonomic studies on somemembers of *Anardiaceae* In Proceedings of the Indian Academy of Sciences. Plant sciences, 98(3), p: 205-208.

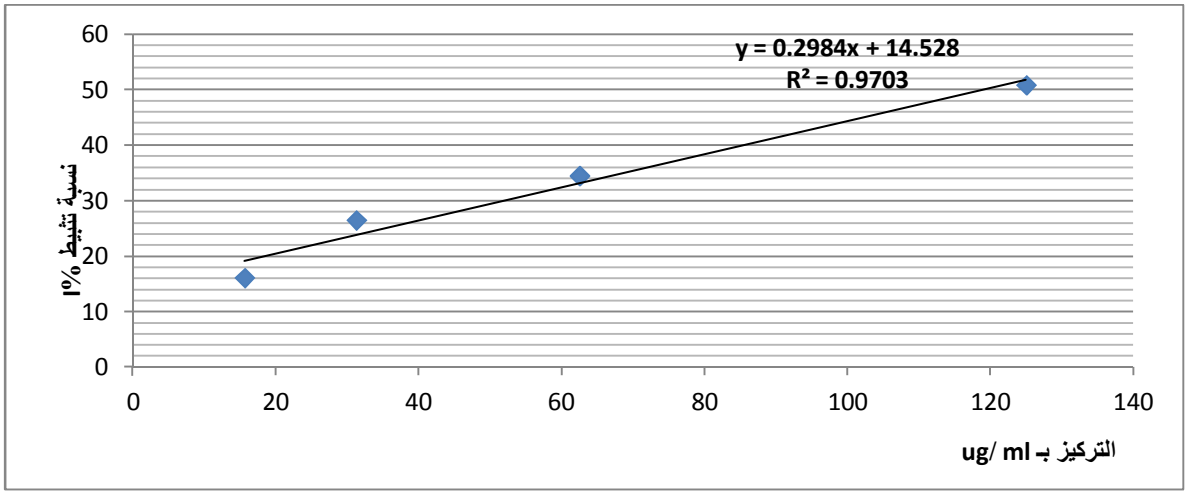
87. **VALENTE M.J., BALTAZAR A.F., HENRIQUE R., ESTEVINHO L., CARVALHO M., (2010)** -Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro, *Food Chem Toxicol*. 49: 86–92.
88. **WALEED K. ABDULSAHIB, ABDELKARIM. H, JUMAA Q., 2015**- Antiagiogenie Activity of Iraq *Anabasis articulata* Stems In vivo sludgy. International Journal of Science and Researcher (IJSR).
89. **WERY O, et al ., 2000** - Reactive oxygen species released form granulocytes stimulate 5-tipoxygenase actively in a B-lymphocytic cell line biochemist. P:1263-1269.
90. **YEO SOUNTA O. GUESSENND K. N. MEITE S. OUETTARA K. BAHI GNOGBO A. N'GUESSAN J. D. & COULBALY A., 2014**- In vitro antioxidant activity of extracts of the root Cochlospermum planchonii Hook. F. ex. Planch (Cochlospermaceae). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 3 (4): 167.
91. **YEN k. PATEL H. LUBLIN A. MOBBS C.,2009**- SODisoforms play no rol in lifespan inadlibor dietary restricted conditions ,but mutational inactivation of SOD-l reduces life extension by cold. Mech Ageing Dev130. PP173-178.
92. **YU B.,1994-** Cellular défenses gainât damage from reactive oxygen species, Vole(1). PP:39-162.-
93. **YIN M and CHAN K ., 2007**- Non enzymatic antioxydatif and antiglycative effects of oleanolic acide and ursolic acid. P: 177-181.

94. **-YOSHIKAWA , K., TANAKA, M., Arihara, S., Pal, B.C., Matsumura, E., Katayama,S., 2000-** New oleanene triterpenoid saponins form mathuca longiflia . J.N.P.63, 1679-1681.

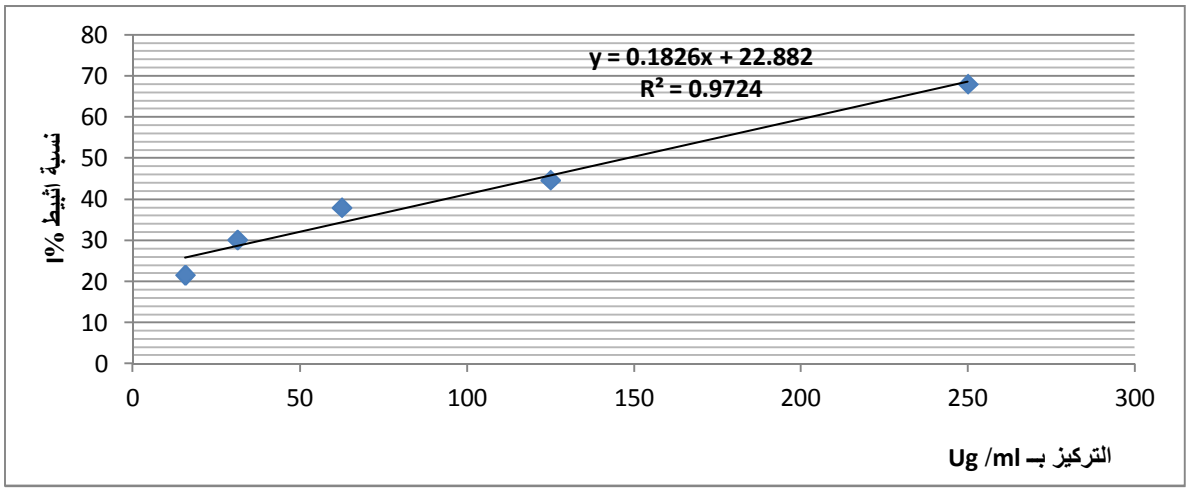
95. **YORDIl E., PÉREZ E., MATOS M. and VILLARES E., 2012-** Antioxidant and Pro- Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. Nutrition, Well- Being and Health, In Tech, ISBN 978-953-51-0125-3.

96. **ZHAG X.L., JEZA V.T., PAN Q., 2008**- Sabmonelle Tyhi: Form antihuman pathogen to a vector. Cellular et Molecular immunology. Vol(5), N(2).P:91-97.

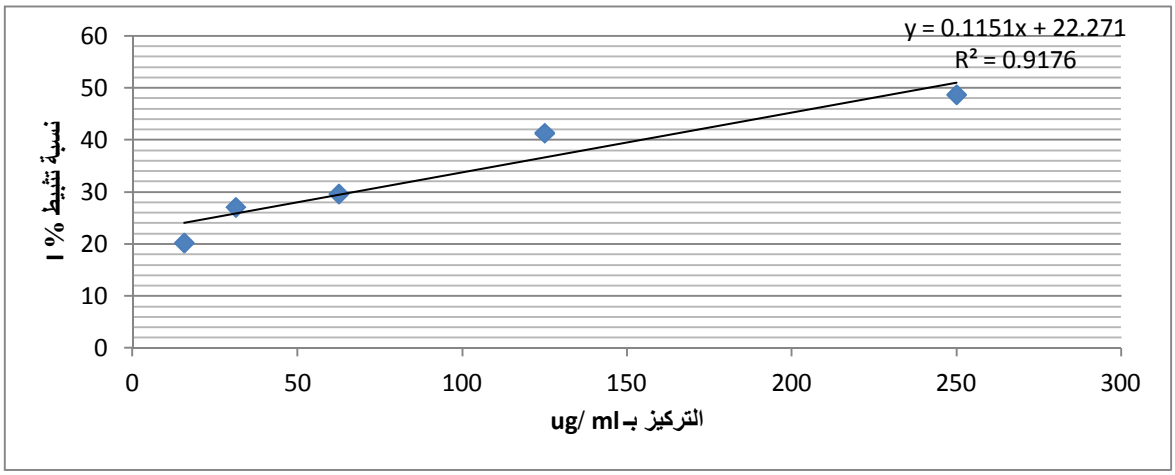
الملحق



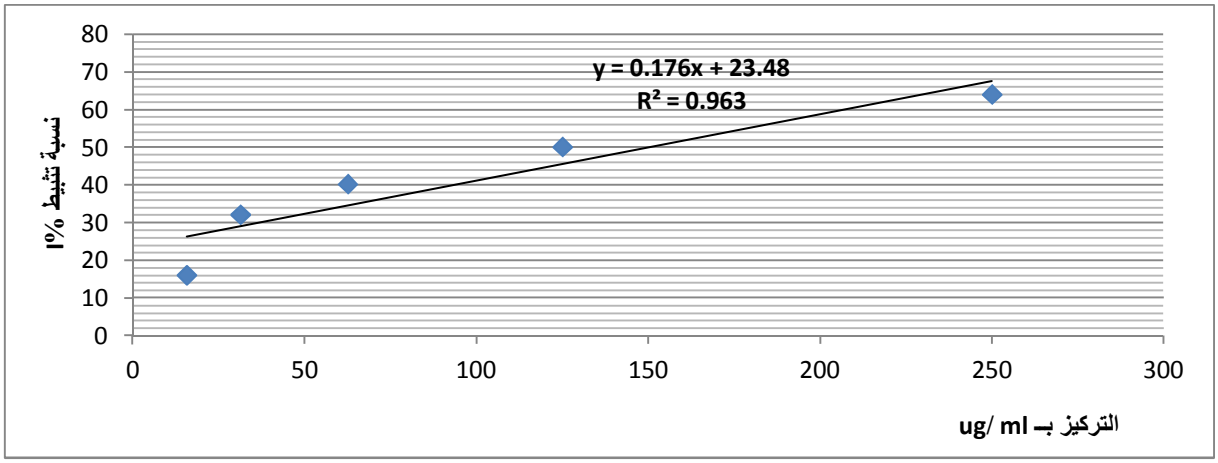
المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح الجذر DPPH للمستخلص الميثانولي لجهاز Soxhlet



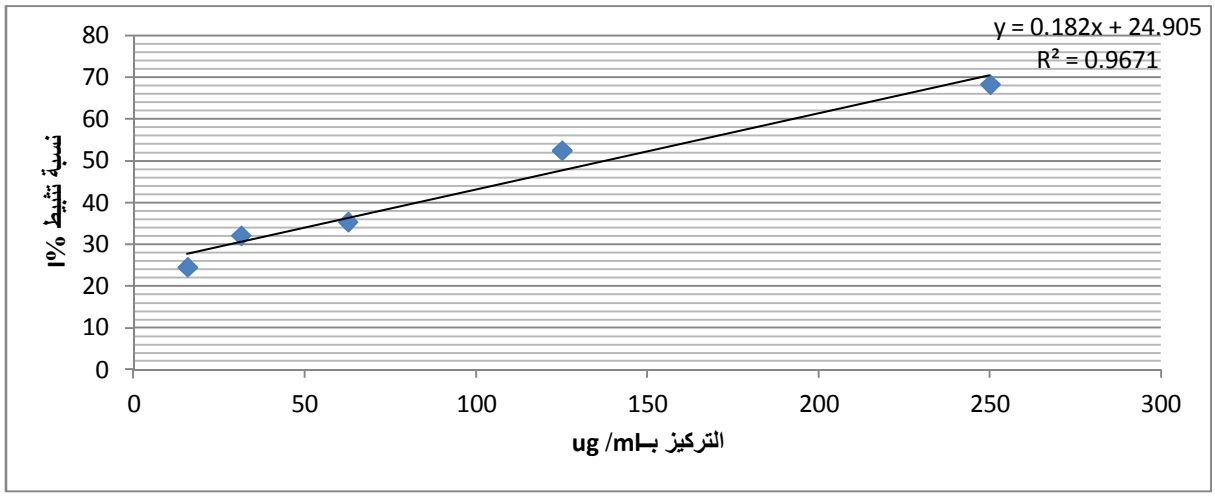
المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح الجذر DPPH للمستخلص اسيتات إثيل لجهاز Soxhlet



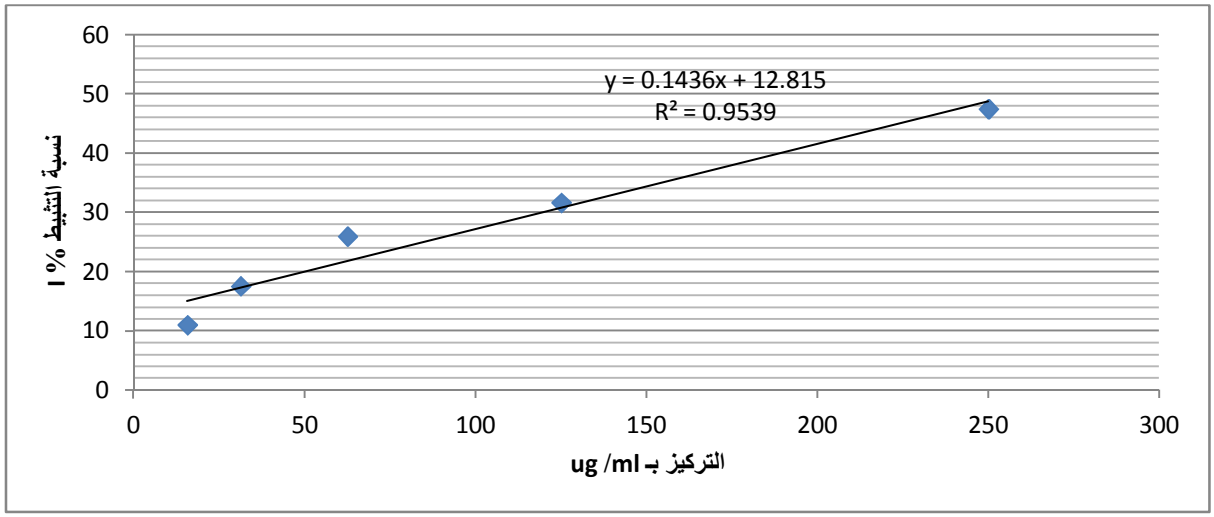
المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح الجذر DPPH للمستخلص الهكسان لجهاز Soxhlet



المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح الجذر DPPH للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع



المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح الجذر DPPH للمستخلص اسيتات إثيل بطريقة نقع



المنحنى القياسي للنشاطية المضادة للأكسدة لكبح الجذر DPPH للمستخلص الهكسان بطريقة النقع

معلومات عن الاجهزة المستعملة

1جهاز الحاضنة Etuve

LABTE CHASIA PTE. LTD ISO 9001 CERTIFIED	
MODEL	LIB-060M
VOLTS	220V-50Hz
WTAAS	200W/1A
SERIAL.NO	08061323

2-جهاز الأتوكلاف Autoclav

PBINTERNATIONAL VIA NONARA ,8920153	
MODEL	TIMO
VOLTS	220V-50/60Hz
WTAAS	1300W
SERIAL.NO	030004

3 جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotométre

SHIMADZU CORPORATION	
MODEL	UVmini-1240
VOLTS	220-240V 50/60Hz 106VA
CAT. No	206-24000-38
SERIAL.NO	A10934603363 CD

4 جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur

BUCHI LAORTECHNIK AG CH-9230 FLAWIL1/SWITZERAND	
MODEL	R-210
VOLTS	100-240VAC
CAT.No	206-24000-38
SERIAL.NO	1000048012
T 1.6AL 250V(2x)	