رقم الترتيب:.....
رقم التسلسل:.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر– الوادي–

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص : كيمياء العضوية

من إعداد: الأبيض ليلى

ميموني سمية

تحت عنوان :

فصل نواتج الأيض الثانوي الفلافوني لنبات *Moltkia Ciliata* و تقييم الفعالية المضادة للأكسدة

نوقشت يوم: 2019/06/20

أمام لجنة المناقشة:

مازري راضية	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي-	رئيسا
التجاني سكينة	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي-	مناقشا
حداد العربي	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي-	مناقشا
شيحي سمية	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي-	مقررا

السنة الجامعية: 2019/2018

بسم الله الرحمن الرحيم
١٤٢٠

شكر وعرفان

بسم الله الرحمن الرحيم والصلاة والسلام على خاتم الانبياء والمرسلين محمد صلى الله عليه وسلم

الهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ، ولا يطيب النهار إلا بطاعتك ، ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ، ولا تطيب الاخرة إلا بعفوك ، وتطيب الجنة إلا برؤيتك لك الشكر والحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك .

الشكر والحمد اولا واخرا لله سبحانه وتعالى الذي هدانا إلى سبيل الرشاد وألهمنا من العلم والعمل ما يشد

أزرنا في هذه الحياة و أمدنا بالقوة والعزيمة والإرادة لإتمام وانجاز هذا البحث أما بعد :

نتقدم بخالص الشكر و تقدير وعرفان التي ساهمت بمجهودها وافكارها العلمية من البداية وحتى النهاية

الأستاذة شيحي سمية لقبولها الإشراف على هذا العمل.

كما نتوجه للامتنان والشكر الجزيل إلى عمال مخبر الكيمياء كنزة و مني.

والى كل زملاء دفعتنا كيمياء عضوية تحليلة 2019/2018 .

وختاما نتقدم بالشكر للوالـــــــدين الكريمـين أطـــــال الله في عمرهـــــــا.

كما نتقدم بالشكر إلى أعضاء اللجنة المناقشة لقبولهم مناقشة مذكرتنا

الحمد لله ربي العالمين والصلاة والسلام على رسوله الكريم

أهدي ثمرة عملي هذا:

إلى ملاكي في الحياة....إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني.....إلى بسمة الحياة وسر الوجود

إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب

أمي الحبية

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار...إلى من علمني العطاء بدون انتظار...إلى من احمل اسمه بكل افتخار

أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى

كلماتك نجوم اهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد.....

والدي الحبيب

إلى من أرى التفاؤل بعينه...والسعادة في ضحكته إلى شعلة الذكاء والنور...

أسأل الله العلي القدير أن يحفظك ويحميك وينور دربك

أخي العزيز عبد الحق

إلى من حبهم يجري في عروقي ويلهج بذكراهم فؤادي إلى إخوتي نور الهدى وحليمة وعفاف

إلى كل الاهل والأحباب الكبير منهم والصغير وإلى الكتكوتة الحلوة

روشـــان

إلى من علمونا حروفا من ذهب وكلمات من درر ...إلى من صاغوا لنا علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا فكرة العلم والنجاح إلى....

أساتذتنا الكرام

سمية

الإهداء

أحمد الله عز وجل على منه و عونه لإتمام هذا البحث

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة .. ونصح الأمة .. إلى نبي الرحمة ونور العالمين

إلى الوجه الذي لا يكف ابتساما، إلى من علمني كل حرف فكان نعم المعلم، إلى الذي علمني طعم الحياة

وعلمني كيف امضي في دروبها .... أبي العزيز.

إلى النهر الذي لا يجف حنانا أمي الحنونة التي أسأل الله أن يرزقني برها ما حييت، فهي التي كانت ومازالت تغرق علي برعايتها وعطفها وسداد رأيها في أموري كلها

إلى كل إخوتي حسن وعمر وحمزة خاصة أخي خالد الذي كان سند لي في مشواري الجامعي وأخواتي إكرام وإيمان فاطمة واحفاد حنين ونصر الله ومحمد منيب ورودينا

وإلى رفيقة دربي وصديقة الوفية و التي لم تبخل عنى بشيء طوال مشوار الجامعي شيماء

وإلى كل صديقاتي التي شركنني مقاعد الدراسة نادية وسرين وسمية ونور الهدي

وإلى كل صديقاتي في دفعة ماستر كيمياء 2019

وإلى من تعرفت عليهم وكانوا احسن الصديقات وصال وخلود وامنة و ابتهال

وإلى كل من يعرفني من القريب اومن بعيد .

ليلى

الملخص:

تم التطرق في هذا البحث إلى دراسة فيتو كيميائية وتقييم للفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات العضوية (مستخلص أسيتات الأيثيل ، البنتانول) لنبات *Moltkia Ciliata* المحصل عليها باستخدام المزيج ميثانول / ماء (20/80) ، أستون / ماء (20/80).

تم الكشف عن المواد الفعالة في الجزء الهوائي الجاف للنبات وأظهرت النتائج غناها بمعظمها.

ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية ، الفلافونيدات ، الفلافانول ،باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية(UV-visible) والفصل الكروماتوغرافي بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) حيث تمكنا من التنبؤ ببعض الانواع الفلافونيدية .

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بإتباع الاختبارات الكيميائية DPPH،ABTS و بالطريقة الكهروكيميائية ،و عند المقارنة بين المستخلصات العضوية المدروسة نجد أن المحصل عليها من مزيج أستون / ماء كانت أفضلها من حيث الطرق المتبعة في الدراسة .

الكلمات المفتاحية: *Moltkia Ciliata*، المستخلصات العضوية ، الفعالية المضادة للأكسدة، الاستخلاص .

Résumé :

Ce travail a été consacré à l'étude chimique et l’évaluation du pouvoir antioxydant des extraits organiques de *Moltkia Ciliata*, ces dermiers ont ètè produit par les mélange méthanol /eau (80/20), Acétone / eau (80/20). Après l'épreuve ,dans la partie de l'air sec de la plante qui est riche par les produit sefficaces .

Nous avons fait l’estimation quantitative des composées phénoliques flavanoles, flavonoïdes par utilisation de la spectroscopie UV-visible et sèparation chromatographique par chromatographie sur couche mince (CCM) , ce qui nous a permis de prédire de certaines classes de flavonoïdes.
L'efficacité antioxydants a été évaluée par des tests chimiques (DPPH, ABTS) et methode électrochimique.

Nous avons fait la comparaison entre les extraits ètudies nous avons trouvè les extraits obtenus par (Acetone / eau) étaient les meilleurs en termes des méthodes utilisées dans l'étude

Mots clés: *Moltkia Ciliata* , activité antioxydants , extraits organiques ,extraction .

الفهرس

	تشكرات
	الإهداء
	الملخص
viii	قائمة الجداول.....
ix	قائمة الأشكال و المخططات.....
x	قائمة المنحنيات.....
xi	قائمة الرموز والمختصرات.....
1	مقدمة عامة.....
3	مراجع المقدمة.....
	الجزء النظري
	الفصل الأول **الدراسة النظرية لنبتة *Moltkia Ciliata***
4	I-1- التعريف بالعائلة البوراجينية (*Boraginaceae*).....
4	I-2- بعض نباتاتها.....
4	I-3- وصف نبات الحلمة *(Moltkia ciliata)*.....
5	I-4- تسمية نبات الحلمة *(Moltkia ciliata)*.....
6	I-5- التوزيع الجغرافي لنبات الحلمة(*Moltkia ciliata)*.....
7	I-6- التصنيف العلمي لنبات الحلمة (*Moltkia ciliata*).....
7	I-7- أماكن التواجد.....
7	I-8- الاستعمالات.....
8	المراجع.....
	الفصل الثاني **عموميات حول الفلافونيدات**
9	مدخل.....
9	II-1- تعريف الفلافونيدات.....
10	II-2- تصنيف الفلافونيدات.....
10	II-3- أهمية الفلافونيدات.....
10	II-3-1- في عالم النبات.....
12	II-3-2- في عالم الحيوان.....
12	II-4- الاهمية الصيدلانية.....
13	II-5- الفعالية المضادة للأكسدة.....
13	II-6- الفعالية المضادة للالتهاب.....
13	II-7- ذوبانية الفلافونيدات.....
13	II-8- الكشف عن الفلافونيدات.....
14	II-9- الاستخلاص.....
14	II-10- الفصل الكروماتوغرافي.....
14	II-10-1- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).....
15	II-10-2- كروماتوغرافيا الورق (CP).....
15	II-10-3- كروماتوغرافيا العمود (CC).....

II-11- الخصائص اللونية للفلافونيدات.....	15
المراجع.....	17
الفصل الثالث **الفعاليات المضادة للأكسدة**	
مدخل.....	20
III-1- الجذور الحرة.....	20
III-1-1- تعريف الجذور الحرة.....	20
III-1-2- تصنيف الجذور الحرة.....	20
III-1-2-1- التصنيف على أساس الاستقرار.....	20
III-1-2-2- التصنيف على أساس النوع.....	21
III-1-3- مصادر الجذور الحرة.....	21
III-1-3-1- مصادر داخلية.....	21
III-1-3-2- مصادر خارجية.....	21
III-1-4- أضرار الجذور الحرة على مختلف الجزيئات الداخلية.....	22
III-2- مضادات الأكسدة.....	22
III-2-1- تعريف مضادات الأكسدة.....	22
III-2-2- تصنيف مضادات الأكسدة.....	22
III-2-2-1- مضادات الأكسدة الطبيعية.....	22
III-2-2-2- مضادات الأكسدة المصنعة.....	22
III-3- طرق تقدير الفعالية مضادة للأكسدة.....	23
III-3-1- الطرق الطيفية.....	23
III-3-1-1- طريقة DPPH.....	23
III-3-1-2- طريقة ABTS.....	24
III-3-2- الطريقة الكهروكيميائية.....	24
III-3-2-1- طريقة الفولتامتري الحلقي.....	25
المراجع.....	26
الجزء العملي	
الفصل الرابع **الطرق و الوسائل**	
IV-1- تحضير العينة النباتية.....	29
IV-2- الأجهزة و المواد المستعملة.....	29
IV-3- الاستخلاص.....	30
IV-4- اختبارت الكشف عن المواد الفعالة في العينة النباتية الجافة.....	33
IV-5- اختبار الكشف عن الفلافونيدات في المستخلصات.....	34
IV-6- الفصل الكروماتوغرافي.....	34
IV-7- التقدير الكمي بواسطة الأشعة فوق البنفسجية – المرئية.....	35
IV-7-1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية (UV-Visible).....	35
IV-7-2- التقدير الكمي للفينولات الكلية	35
IV-7-3- التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية.....	36
IV-7-4- التقدير الكمي للفلافانول الكلي	36
IV-8- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية.....	36
IV-8-1- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH.....	37

IV-8-2- اختبار تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS.....	38
IV-9- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية.....	38
IV-9-1- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالفولتامتري الحلقي.....	39
IV-9-2- رسم منحنيات الفولتا امبيرومترية الحلقية للكرستين.....	41
IV-9-3- رسم منحنيات الفولتا امبيرومترية الحلقية للعينات.....	41
IV-9-4- تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة اعتمادا على الميل.....	41
IV-9-5- تقديراجمالي الفعالية المضادة للأكسدة(TAC)	42
المراجع.....	43
الفصل الخامس **النتائج والمناقشة**	
V - 1- نتائج الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية.....	45
V -2- مردود الاستخلاص.....	47
V - 3- نتائج الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM.....	47
V-4- التقدير الكمي باستخدام جهاز الاشعة فوق البنفسجية و المرئية.....	51
V-4-1- التقدير الكمي للفينولات الكلية	51
V-4-2- التقديرالكمي للفلافونيدات الكلية.....	53
V-4-3- التقدير الكمي للفلافانول الكلي.....	54
V -5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية	56
V-5-1- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	56
V-5-2- اختبار تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS.....	58
V-6- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية.....	60
V-6- 1- تحديد الفعالية المضادة للأكسدة اعتمادا على قيمة الميل.....	62
V-6-2- تحديد اجمالي الفعالية المضادة للأكسدة بحساب المقدار TAC.....	63
المراجع	67
الخاتمة	69
الملاحق	70

قائمة الجداول:

الجدول (I-1) : بعض نباتات العائلة البوراجينية.....	4
الجدول (I-2): التصنيف العلمي لنبات الحلمة *Moltkia ciliata*.....	7
الجدول (II-1) : كمية الفلافونيدات في بعض الأغدية.....	11
الجدول (II-2) : العلاقة بين طبيعة الفلافونيد و اللون الظاهر تحت UV.....	15
الجدول (IV -1): الأجهزة والمواد المستعملة.....	29
الجدول (V-1): نتائج الاختبارات.....	45
الجدول (V-2): نتائج اختبار الفلافونيدات لمستخلصات النبتة.....	46
الجدول (V-3): مردود الاستخلاص.....	47
الجدول (V-4): نتائج الفصل بـ CCM للطور المتحرك كلوروفورم/ميثانول/بيتانول.....	48
الجدول (V-5): نتائج الفصل بـ CCM للطور المتحرك كلوروفورم/ميثانول/ماء.....	49
الجدول (V-6): نتائج الفصل بـ CCM للطور المتحرك كلوروفورم/ميثانول.....	50
الجدول (V-7): نتائج تقدير الكمي للفينولات الكلية.....	52
الجدول (V- 8): نتائج تقدير الكمي للفلافونيدات الكلية.....	53
الجدول (V-9): نتائج تقدير الكمي للفلافانول الكلي.....	55
الجدول (V-10): قيم IC_{50} للمستخلصات وحمض الاسكوربيك.....	57
الجدول (V-11): قيم IC_{50} للمستخلصات وBHT.....	59
الجدول (V-12): قيم الميل للمستخلصات وحمض الكرستين	63
الجدول (V-13): قيم نسبة تثبيط $O_2^{\bullet}$% المئوية الموافقة لكل إضافة من المستخلصات.....	63
الجدول (V-14): قيم نسبة تثبيط $O_2^{\bullet-}$% المئوية الموافقة لكل اضافة من الكرستين.....	64
الجدول (V-15): قيم IC_{50} للمستخلصات و الكرستين.....	66

قائمة الأشكال والمخططات:

قائمة الأشكال:

الشكل (I-1): صور فوتوغرافية لمختلف أجزاء النبتة.....	5
الشكل (I-2): صورة توضح الشكل الخارجي لنبات الحلمة (*Moltkia ciliata*).....	6
الشكل (I-3) : التوزيع الجغرافي للحلمة في افريقيا سنة 2007.....	6
الشكل (II-1) : البنية العامة للفلافونيدات.....	9
الشكل (II-2) : مختلف أقسام الفلافونيدات.....	10
الشكل (III-1): مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية.....	23
الشكل (III-2): معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة.....	24
الشكل (IV -1): عملية الطحن.....	29
الشكل (IV -2): الرشاحات المحصل عليها.....	33
الشكل (IV -3): المكونات الاساسية لجهاز(*VOLTALAB 40 ، PGZ 301*)وخلية العمل.....	40
الشكل (V -1): التمثيل البياني للتقدير الكمي للفينولات الكلية	52
الشكل (V-2): التمثيل البياني للتقدير الكمي للفلافونيدات الكلية	54
الشكل (V -3): التمثيل البياني للتقدير الكمي للفلافانول الكلي.....	55
الشكل (V-4) : منحنيات تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلصات.....	56
الشكل (V-5): التمثيل البياني لقيم IC_{50} للمستخلصات وحمض الأسكوربيك.....	57
الشكل (V-6): منحنيات تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS للمستخلصات.....	58
الشكل (V-7): التمثيل البياني لقيم IC_{50} للمستخلصات و BHT	59
الشكل (V-8): منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (0.1ml الى 1 ml)من المستخلص (2) عند سرعة المسح υ=100mV/s.....	60
الشكل (V-9): منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (0.1ml الى 1 ml)من المستخلص (1) عند سرعة المسح υ=100mV/s.....	60
الشكل (V-10): منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (0.1ml الى 1 ml)من المستخلص (3) عند سرعة المسح υ=100mV/s.....	61
الشكل (V-11): منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (0.1ml الى 1 ml)من المستخلص (4) عند سرعة المسح υ=100mV/s.....	61
الشكل (V-12): منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (0.1ml الى 1 ml)من الكرستين عند سرعة المسح υ=100mV/s.....	61
الشكل (V-13): منحنيات تغير نسبة تثبيط $O_2^{\bullet -}$ بدلالة التركيز الكتلي لكل المستخلصات...	65
الشكل (V-14): تمثيل بياني لقيمIC_{50} للمستخلصات و الكرستين.....	66

قائمة المخططات :

المخطط (IV -1) : طريقة الاستخلاص	32

قائمة المنحنيات:

قائمة المنحنيات :

منحنى(IV -1): فولتموغرام الأكسجين في الوسط العضوي (DMF) في وجود (TNBHFP) 0.1 M، بقطب كربوني (*CV*)، 100mV/s، E= ..... (0à -1600) *mV*	41
منحنى (V- 1) :المنحنى العيارى للغاليك	51
منحنى (V-2): المنحني العياري للروتين.....	53
منحنى (V-3): المنحني العياري للكرستين	54
منحنى (V-4): المنحنى العياري لحمض الاسكوربيك	57
منحنى (V-5): المنحنى العياري ل BHT.....	59
منحنى (V-6): تغير كثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 1.....	62
منحنى (V-7) : تغيركثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 2.....	62
منحنى (V-8) : تغير كثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 3.....	62
منحنى (V-9): تغيركثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 4.....	62
منحنى (V-10) :تغيركثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للكرستين.....	63
منحنى(V-11): تغير نسبة تثبيط $O_2^{\bullet-}$ بدلالة التركيز للكرستين	65

قائمة الرموز و المختصرات

ABTS	2,2 -azino-bis (3- ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
BHT	Butyl hydroxytoluéne
DPPH	diphényle picrylhydrazyl
DMF	Dimethylformamid
TNBHFP	tetra-n-butylammonium hexafluorophosphate
A	– الامتصاصية
E	– الكمون
I	– كثافة التيار
IC_{50}	التركيز الموافق لنسبة تثبيط 50%من جذر الحر
ip_a	– كثافة التيار المصعدية
ip_C	– كثافة تيار المهبطية
mg EAG/g-	– كمية الفينولات المكافئة الغاليك الموجودة في 1 غ من كل مستخلص
mg ER/g-	– كمية الفلافونيدات المكافئة الروتين الموجودة في 1 غ من كل مستخلص
mg EQ/g-	– كمية الفلافانول المكافئة الكرستين الموجودة في - غ من كل مستخلص
R	– المردود
%-	– النسبة المئوية

مقدمة عامة

مقدمة عامة :

تتنوع المناطق الجغرافية في بلادنا من حيث الظروف البيئية، ويؤدي هذا إلى اختلاف الغطاء النباتي من منطقة إلى أخرى، فالنباتات تنتشر بحسب احتياجاتها وتبعا لقدرتها في التأقلم والتكيف، وتتميز بعض المناطق بظروفها البيئية القاسية وغير المشجعة لنمو النباتات، مثل ما هو موجود في البيئات الصحراوية القاحلة ذات الغطاء النباتي المتواضع والذي يتكون من أنواع نباتية متكيفة مع هذه الظروف [1] .

فالبيئة الصحراوية والتي تمثل مساحة شاسعة من بلادنا تزخر بأنواع هائلة من النباتات التي تتكيف مع جوها، مناخها، تربتها.....إلخ وبالرغم من مساحتها الواسعة وقساوة طبيعتها، إلاانها تتميز بشروط وعوامل مناخية تجعل الوسط مزود بمختلف الأنواع النباتية والحيوانية إضافة إلى ان هذه الشروط تساعد الكائنات الحية على البقاء العفوي والعيش بانسجام .

قد يخيل للكثير ان النباتات الصحراوية لا فائدة منها لكن الواقع يمحو هذه الاعتقادات، والله سبحانه وتعالى لم يخلق الكائنات الحية عبثا، فالنباتات الصحراوية لها فوائد كثيرة كغيرها من النباتات الاخرى .

فوجودها البيئي ضروري جدا للمحافظة على العديد من الحيوانات من الانقراض كما أن لها خصائص غذائية وعلاجية و اخرى صناعية (الاستفادة من ثمارها، أوراقها، وأزهارها .....إلخ) فالمركبات المتواجدة بها تلعب دورا هاما في إكسابها مثل هذه الفوائد [2] .

فالنبتة في الواقع هي صيدلية كاملة بما تحتويه من مئات إلى لم يكن الاف من المواد الفعالة قد توزعت بنسب وضعها الله سبحانه وتعالى بميزان أدق من ميزان الذهب دلالة على حكمة الخالق وتقديره العظيم، حيث تتفاعل بطرق معقدة، ومن المألوف أن لا نعرف بالتفصيل كيف تعمل نبتة معينة رغم ان فائدتها الطبية مثبتة بينما أبت حكمة الخالق عز وجل إلا أن نجعل هذه المواد في النباتات بتراكيز منخفضة، يمكن الجسم البشري التفاعل معها في صورتها الطبيعية [3] .

وتشير تقديرات منظمة الصحة العالمية (WHO) أن نسبة كبيرة من سكان العالم تستخدم الأعشاب كأدوية وزادت نسبة الأدوية المصنعة من النباتات [4] [5] [6] ويرجع ذلك لإحتواء النباتات على مركبات كيميائية تكون نواتج اولية وثانوية من عمليات الايض داخل النبات.

وبما ان وظائف الجسم ترتبط بتفاعلات الأكسدة و الإرجاع التي تؤدي الى انتاج الانواع الاكسجينية النشطة ومضادات الاكسدة الطبيعية ،فالتوازن بين إنتاج هذه الجزيئات و التخلص منها يضمن الحفاظ على الفيزيولوجية الطبيعية للجسم ،إلا ان الإفراط في انتاجها يؤدي الى اضرار على مستوى الجزيئيا مسببا ضرر الانسجة وحدوث العديد من الامراض،ويمكن حماية الجسم من اضرار هذه الجزيئات عن طريق مضادات الاكسدة التي تستعمل بكثرة كإضافات في الاغذية او كأشكال صيدلانية مختلفة [7].

مقدمة عامة :

ومنه اتجه البحث نحو المركبات التي لها القدرة على منع حدوث اوالتخفيف من التوتر التاكسدي و المتمثلة في مضادات الاكسدة الطبيعية وغيرها من مركبات الفعالة الموجودة في النباتات الطبية و الاعشاب البرية [8]

ومساهمة منا في اثراء هذا الجانب اجرينا هذه الدراسة على احدى الاجناس البرية لنباتات العائلة البوراجينية جنس *Moltkiopsis* الذي يمتاز بأهميته الطبية و العلاجية ووقع الاختيار على نبتة *Moltkia ciliata* لكونها كثيرة الانتشار بمنطقتها وقلة الدراسة الكيميائية حول فعاليتها ،لهذا تبادرت العديد من الاسئلة للتعرف على مدى فعالية مستخلصاتها ،وهل لتغير المذيب المستعمل في الاستخلاص تاثير على تركيب المستخلصات وفعاليتها .

وللإجابة على كل هذه الأسئلة إرتأينا في ان نساهم بدراسة فيتوكيمائية وتقييم الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلصات العضوية لنبات *Moltkia ciliata* بعدة طرق، إذ تشمل المذكرة جزئ نظري يتضمن ثلاثة فصول :

الفصل الأول : تم التطرق فيه الى دراسة نظرية للنبتة .

الفصل الثاني : وهو عبارة عن عموميات حول الفلافونيدات .

الفصل الثالث: الفعالية المضادة للأكسدة.

أما الجزء التطبيقي يحوي على فصلين:

الفصل الرابع: خصص لذكر الطرق والوسائل المنجزة خلال البحث.

الفصل الخامس: يتناول النتائج المحصل عليها و مناقشتها.

و أخيرا خاتمة تم فيها تقييم نتائج البحث.

المراجع

المراجع :

المراجع بالأجنبية :

[4] M. Gossell-Williams ،O. R. Simon ،M. E. West ،J.West Indian Med ،2006 ، 55(4) ،217-218.

[5] A. A. Elujoba ،O. M. Odeleye ،C. M. Ogunyemi. Afr. J. Trad ،2005 ،2(1) ، 46- 61.

[6] B. Abdul Rasool Hassan. Pharmaceutical Analytica Acta ،2012 ،3(10) ، ISSN: 2153-2435.

[7] OZGEN U., MAVI A., TERZI Z., YILDIRIM A., COSKUN M., HOUGHTON P.J., 2006- Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species. Pharm Biol. 44: 107-112

المراجع بالعربية :

[1] حليس(2007). الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ' النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. دار النشر بالمنطقة الصناعية كوينين ولاية الوادي، مطبعة الوليد ص : 5.

[2] ز.عزوز، س.رجيل (2009) الدراسة النظرية لطرق استخلاص بعض المنتجات الطبيعية الفعالة لبعض النباتات الصحراوية، ليسانس أكاديمي . المركز الجامعي بالوادي .

[3] ف.علي عبد الحميد (2017) دراسة الفعالية البيولوجية لنبات القطف، ماستر أكاديمي . جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي .

[8] بن سلامة ع.ر.،2012 – النشاطات المضادة للاكسدة والمثبطة للإنزيم الموكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertia cheirifolial. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء ،جامعة فرحات عباس سطيف ،الجزائر، ص 90 .

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة نظرية لنبتة *Moltkia Ciliata*

I-1- التعريف بالعائلة البوراجينية (*Boraginaceae*) :

نباتات هذه العائلة عبارة عن أعشاب أو شجيرات وأحيانا متسلقات وعادة تغطى بأوبار خشنة وأحيانا ملساء . تتوزع نباتات العائلة البوراجينية في جميع أنحاء العالم، حيث تتواجد معظمها في المناطق الصحراوية العربية، وتشمل هذه العائلة 100جنس و 2000 نوع وتزرع معظمها للزينة و بعض الصفات المميزة للعائلة هي :

1- الأوراق متبادلة والسيقان أسطوانية .
2- السيقان والاوراق مغطاة بالأوبار الخشنة .
3- تتكون الثمرة من أربع بندقات [1] [2].

I-2- بعض نباتاتها : [2] [3] [4]

الجدول (I-1) :بعض نباتات العائلة البوراجينية

الحمحم المخزني (Borrage officinalis)
حشيشة الرئة المخزنية (pulmonaire)
حمير (Arnebia decumbens)
حمرة راس (Echiochilon fruticosum)
حميميش (Echium pycnanthum)
البيجوم الإفريقي(pygeum africanum
حشيشة الأفعى (Echium vulgare)

I- 3- وصف نبات الحلمة (*Moltkia ciliata*) :

الحلمة نباتات صغيرة معمرة، كثيرة التفرع وتكسوها شعيرات قاسية طولها لا يتعدى 30 سم، الفروع والأغصان الحديثة محمرة أو وردية و الأوراق متبادلة على الساق خضراء مبيضة ولها قاعدة واسعة، حواف الأوراق تحمل شعيرات طويلة وواضحة . ازهارها زرقاء بنفسجية أو أرجوانية نوعا ما وتتجمع هذه الأزهار في نورات كثيفة على قمم السيقان.

الحلمة نبات معمر نجده في جميع الفصول، إلا أنه يكون اكثر ازدهارا ونموا في أواخر الشتاء وخلال فصل الربيع عملية الإزهار تتم بشكل رئيسي في فصل الربيع، كما يمكن ان تظهر الازهار خلال الفصول الأخرى خاصة فصل الصيف [2] .

الشكل (I-1): صور فوتوغرافية لمختلف أجزاء النبتة [5]

I-4- تسمية نبات الحلمة :

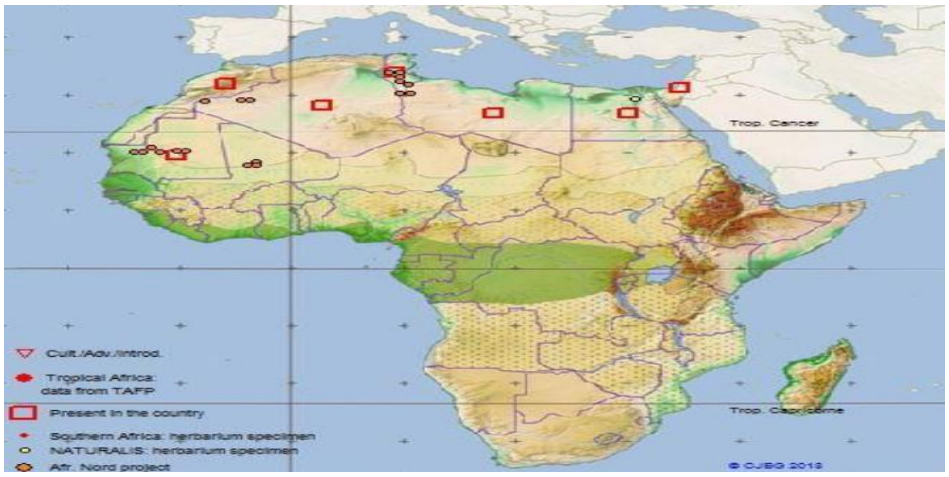
تختلف التسميات لهذا النبات (*Moltkia Ciliata*) من منطقة لأخرى .

الاسم العلمي: *Moltkia Ciliata* [6] **الاسم الشائع:** *الحلمة* [6]

الشكل (I-2): صورة توضح الشكل الخارجي لنبات الحلمة *Moltkia ciliata* [5]

I- 5- التوزيع الجغرافي لنبات الحلمة : [2] [7]

ينتشر في المناطق الصحراوية العربية، شائع الى حد كبير في جميع أنحاء الصحراء وينتشر الحلم (حلمة) في جميع دول الخليج العربي وكذلك مصر و العراق وإيران وفلسطين، يوضح الشكل (3) الانتشار الجغرافي للنوع النباتي ***Moltkia Ciliata*** في افريقيا.



الشكل (I-3) : التوزيع الجغرافي للحلمة في افريقيا سنة 2007

I- 6- التصنيف العلمي لنبات الحلمة **Moltkia ciliata (forsk.) Johnst** [6] :

الجدول (I-2) : التصنيف العلمي لنبات الحلمة *Moltkia ciliata*

المملكة	***Plantae***
الشعبة	***Tracheophyta***
العائلة	***Boraginaceae***
تحت العائلة	***Boraginoideae***
الفصيلة	***Boraginoideae***
القبيلة	***Lithospermeae***
القسم	***Magnolipsida***
الرتبة	***Lamiales***
الجنس	***Moltkiopsis***
النوع	***M. ciliate (Forssk.) I.M.Johnst***

I-7- أماكن التواجد:

نبات شائع في المناطق ذات التربة الثابتة والأماكن المحمية القريبة من المرتفعات الرملية [2].

I-8- الاستعمالات:

يعتبر هذا النبات الملاذ الغذائي لبعض الحيوانات الصحراوية خاصة الجمال و له عدة استعمالات تقليدية منها في المجال الطبي يستخدم:

- لأمراض البطن
- التئام الجروح
- العلاج ضد لسعات العقارب.

لقى هذا النبات اهتمام العديد من الباحثين خاصة في الدراسات الاحصائية لبعض الخصائص الخاصة بالنباتات الصحراوية [8][9][10].

المراجع

المراجع :

المراجع بالأجنبية :

[5] http://www.floraofqatar.com/moltkiopsis_ciliata.htm ،22:50 ،07/05/2019

[8] 4.Benchelah.A.C ،Bouzaine.H ،Maka .M ،Ouahés.C ،2000. Flore du Sahara ، voyage ethno botanique avec les touaregs du Tassili. Préface de Théodore Monod. Ibis Atlantic. Paris .

[9] J. MALEY. ،Bothalia 14 ،3 & 4: 377-389.

[10] M. Bouallala ،A. Chehma et F. Hamel. ،Lebanese Science Journal ،Vol. 14 ،No.1 ،2013

المراجع بالعربية :

[1] ش.إبراهيم سعد، "النباتات الزهرية: نشأتها، تطورها و تصنيفها ".دار الفكر العربي. 2010 . ص 572-57.

[2] حليس، (2007) . الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. دار النشر بالمنطقة الصناعية كوينين ولاية الوادي، مطبعة الوليد ص : 102-103 .

[3] أ.شوقالييه ."الطب البديل التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية".الطبعة الأولى.2001 .ص : 50 .

[4] ح.ميشال."موسوعة النباتات الطبية". الطبعة الثالثة.2001.ص : 177-201

[6] م.منال، (2017) تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي للنبات الصحراوي Moltkia ciliata تجاه تآكل الفولاذ الكربوني XC70. مذكرة ماستر في الكيمياء العضوية التحليلية، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي .

[7] ج .خولة، و.قطر الندى، (2018) الأثر المضاد للأكسدة لعشرة أنواع نباتية نامية بمنطقة الوادي جنوب شرق الجزائر. مذكرة ماستر في بيولوجيا وتثمين النبات، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي.

الفصل الثاني

عموميات حول الفلافونيدات

مدخل:

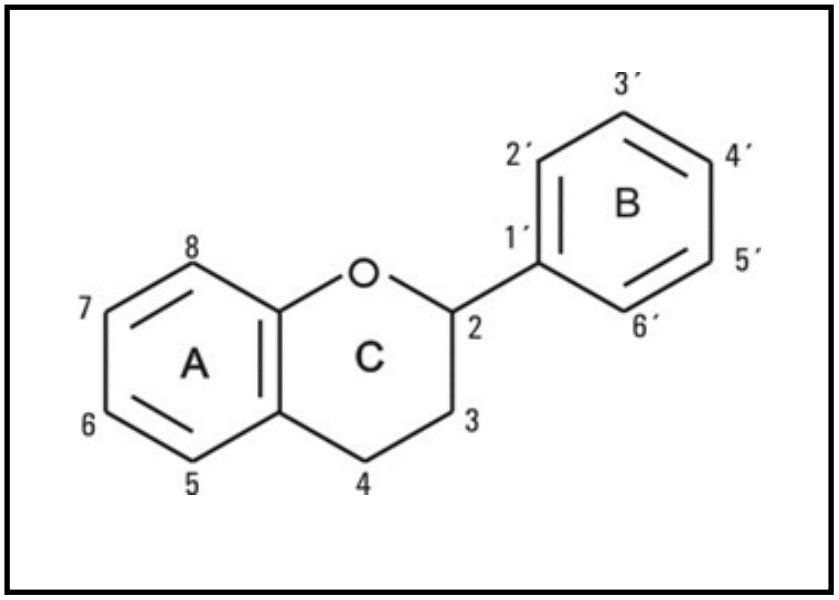
تنتج النباتات عدد كبير من المركبات التي تأتي نتيجة للتفاعلات الكيميائية اللاحقة، وتسمى هذه المركبات بمواد الأيض الثانوي المتمثلة في المركبات الفينولية و الفلافونويدية والمركبات الازوتية (القلويدات) .....الخ [1] [2].

نتيجة لاستعمال الفلافونويدات في ميادين حيوية متعددة بالإضافة إلى فائدتها الصيدلانية فقد أثارت اهتمام العديد من الباحثيين والصيادلة حيث تمثل إحدى المجموعات الطبيعية [3] .

توجد الفلافونيدات في معظم الأعضاء النباتية الهوائية خاصة الأوراق، الأزهار، والبذور، وفي معظم الاصناف الغذائية ذات الاصول النباتية مثل الخضر والفواكه (بصل - تفاح – قرنبيط – ليمون – صوجة – برتقال –ليمون – شاي – عصير فواكه) إلا أن نسبتها تختلف من صنف لآخر [4].

II-1- تعريف الفلافونيدات (flavonoïde):

عرف مصطلح ال flavonoïde منذ 1952 من طرف العالمان (HINREINER، GEISSMAN) وهو في اللغة اللاتينية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus والتي تعني اللون الأصفر والفلافونويدات تمثل القسم البالغ أهمية من عمليات الأيض الثانوي وهي عبارة عن عائلة واسعة من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات، حيث تمتلك جميع الفلافونيدات بنية كيميائية مشتركة يتكون هيكلها الكربوني من 15 ذرة كربون في هيكلها الأساسي (C6-C3-C6) موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (حلقتين A و B) مرتبطتين بحلقة غير متجانسة Pyran أو pyrone وتدعى بالحلقة C [7، 5] كما موضح بالشكل (1) :

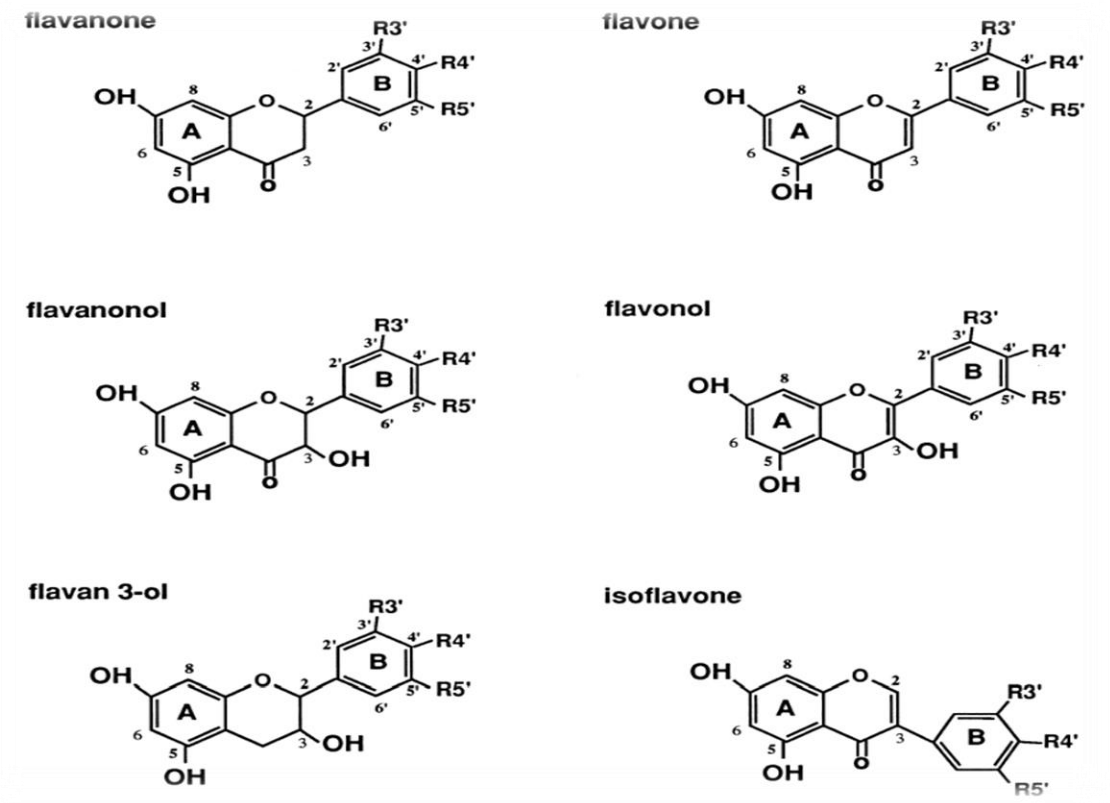


الشكل(II-1): البنية العامة للفلافونيدات[8]

الفلافونيدات مركبات هيدروكسيلية ذات صفة حمضية ضعيفة تذوب في القواعد الضعيفة مثلا : هيدروكسيد الصوديوم NaOH ، أما بالنسبة للفلافونيدات التي تحتوي على عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة فهي تتميز بقطبية قوية لذلك تذوب في الماء خاصة الساخن، أيضا قابلة للذوبان في الكحولات والأسيتون ومختلف المذيبات العضوية القطبية، أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل: الإيزوفلافونات و الفلافونولات التي تحتوي على مجموعات ميثوكسيلية مستبدلة فهي قابلة للذوبان في المذيبات العضوية غير القطبية كالكلوروفورم والإيثر[9].

II-2- تصنيف الفلافونويدات:

بنيويا تتفرع الفلافونيدات إلى عدة أنواع تبعا لعدد وموضع وطبيعة المستبدلات التي تكون في أغلب الأحيان عبارة عن مجموعات ميثوكسيل أو جليكوزيل أو تبعا لمستوى الأكسدة للحلقة غير المتجانسة. والشكل (II-2) يبين أهم أقسام الفلافونيدات [10] .



الشكل (II-2): مختلف أقسام الفلافونيدات

II- 3: أهمية الفلافونويدات:

II– 3 - 1: في عالم النبات:

النبات هو كائن حي عديم الحركة يملك نظام مقاومة يسمح له بمكافحة اثار البيئة من اجل المحافظة على شكله وانتزاع حق العيش، قلب هذا النظام هو احدى أهم نواتج الأيض الثانوي و هي " **المركبات الفلافونيدية** ".

تتوزع هذه الأخيرة على كافة الأعضاء النباتية تقريبا فتوزعها على المساحات الورقية يشكل طبقة واقية تعمل على الحماية من الظواهر النحتية التبخرية في الأوساط الجافة، ومن المهام الأكثر ذكر المركبات الفلافونويدية هوانها تعمل بمثابة مرشحات لأشعة فوق البنفسجية، مما يؤدي الى توفير حماية للمواد الأساسية مثل :البروتينات والأحماض النووية من التأثر السام بهذه الإشعاعات.

إن الامتصاص في المجال المرئي لبعض أنواع الفلافونيدات يضفي لها دور صبغة النباتات وخاصة الأزهار، مما يؤدي إلى جذب الحشرات و الطيور المؤبرة لمباشرة عملية التلقيح فبعض النباتات تغير في الاصطناع الحيوي للفلافونيدات بعد هذه العملية لتجنب تكرارها كما يسند لها بالمثل مراقبة نمو وتطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة بتشكيلها معقدات مع هرمونات النمو، كما أنها تقوم بدور مثبطات أو منشطات لبعض التفاعلات الإنزيمية، إضافة إلى ذلك فان مركبات الفلافونويدات تسمح للنباتات البقاء في تربة بها معادن سامة مثل: الألمونيوم [11 -12] .

وقد لوحظ أن الفلافونيدات تلعب دور في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها الفطريات والبكتيريا، حيث أنها تعمل كجزيئات انذرا، والبعض منها تقوم بدور مبيدات للحشرات أو مضادات حيوية مثل : الايزوفلافونات المعروفة بالسمية العالية ضد الفطريات الممرضة فتعمل كمبيدات للحشرات، فبعض النباتات تفرز بعض الأنواع من المركبات الفلافونيدية على مستوى الأوراق والجذور لاستعمالها كمواد سامة ضد نمو النباتات المتطفلة وتعتبر أيضا مضادات للتأكسد جيدة تقي من التأثر بالوحدات الجذرية الأوكسجينية [13-14].

تنتج المضادات الميكروبية النباتية في الحالات التالية: [15]

- تنتج ضمن النمو الطبيعي للنبات.
- تنتج أثناء تطور النبات وتمايز تراكيبه.
- تنتج استجابة لمهاجمة الأحياء الممرضة مثل: البكتيريا.
- تنتج استجابة للإجهادات التي تعرض لها

الجدول (II-1) : كمية الفلافونيدات في بعض الأغذية[27]

العينة النباتية		وزن الفلافونيدات في العينة النباتية(في الحالة الطازجة) بملغ/كلغ
الخضر	الكرنب الأبيض	17.7
	البصل الأحمر	124.1
	الفلفل	20.1
	السبانخ	338.6
	أوراق البقدونس	80.8
	أوراق الكرفس	402.8
	جذور الكرفس	25.9

الفواكه	البطيخ	18.4
	الفراولة	52.8
	العنب	1003
	الجوز	5465
	الكيوي	22.3
	الموز	22.8
	التفاح	65.3
	الإجاص	24.7
	البرقوق	23.3
	المشمش	11.5

II– 3 -2- في عالم الحيوان:

وبالمقابل الفلافونيدات لها دور بالغ الأهمية في عالم الحيوانات، على سبيل المثال نذكر خاصية مضادة للفطريات ومضادة للبكتيريا لهذه المركبات التي يستعملها النحل بصفة فطرية لتعقيم خلاياه، وذلك من خلال تواجدها في المادة اللزجة التي تفرزها هذه الحشرات لسد الثغرات بين الخلايا، ولقد استعمل الرومانيون والمصريون واليونانيون هذه المادة اللزجة كمضادة للعدوى وكمرهم لإزالة آثار الجروح، ومن أمثلة الفلافونيدات التي تحتويها هذه المادة نذكر: (Quercétine - Chrysine).

ولبعض الفلافونيدات مثل: Xylosidecatchin -7 دور في جذب وتوجيه آكلات الأعشاب إلى غذائها وتقوم الأيزوفلافونات بدور هام خلال دورة التكاثر للثدييات على أساس منشطات، أو مثبطات للتكاثر [16-18] .

II- 4 - الأهمية الصيدلانية:

الأهمية الأولية للفلافونيدات عرفت منذ اكتشاف الفيتامين C من طرف العالم Syzent gyorgyi الذي لاحظ تجريبيا أن أعراض النزيف لداء الحفر(مرض يفسد الدم) المرتبط بضعف الأوردة، عولج بتعاطي مستخلص الفلفل الحلو أو عصير الليمون الغني بالفيتامين C و الفلافونيدات، إذ أن استعمال حمض الهيدرواسكوربيك لوحده غير فعال لأن الفلافونيدات تعمل على اختزال حمض الهيدرواسكوربيك، عموما الفلافونيدات مثل الفينولات عبارة عن قناصات للجذور الحرة المتكونة [19].

II– 5- الفعالية المضادة للأكسدة:

من المعروف ان الفلافونيدات لها خصائص مضادة للأكسدة قوية تجاه كثير من الأمراض المرتبطة بالأكسدة، الإجهاد والشيخوخة و هذا بفضل ارتباطها بالجذور الحرة وبالتالي بالصيغة البنيوية لها، حيث اثبتت الدراسات تواجد مستبدلات كمجموعات الهيدروكسيل على الحلقة B لها تأثير كبير في زيادة هذه الخاصية بينما تواجد هذه المجموعات على الحلقتين AوC لها تأثير ضعيف، كما أثبتت الدراسات ان هذه الخاصية تزداد ببلمرة الفلافونيدات(بوليمر الكاتشين)مضاد للأكسدة قوي لأنه يملك عدد كبير من المجموعات الهيدروكسيلية، بينما وجود المستبدلات السكرية له تأثير سلبي في هذه الخاصية، ووجود أورثوا ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B وكذلك الترافق الموجود بين الحلقة ومجموعة الأوكسو (oxo) مرورا بالرابطة المضاعفة C_2-C_3 تعتبر عوامل ايجابية [20- 21] .

الخاصية الأساسية للفلافونيدات في المعالجة الطبية هي الوقاية من آفة انخفاض سماحية الشعيرات الدموية وتقوية مقاومتها (فيتامينP) وخفض مخاطر الإصابة بالأمراض القلبية، والأنواع الفلافونيدية التي لها دور في ذلك هي : الفلافونات، الفلافونولات، الفلافانونات، الكاتشين، الايزوفلافون والانثوسيانيدينس، وللمركبات الفلافونيية دور في حماية الدماغ من مرض تصلب الشرايين [22] .

II- 6- الفعالية المضادة للالتهاب:

تؤثر الفلافونيدات على مختلف الالتهابات من خلال تثبيطها لسلسلة من الأنزيمات التي تنشط خلال هذه العملية، وقد اثبتت الدراسات بان وجود الرابطة المضاعفة C_2-C_3 لها تأثير ايجابي بالإضافة الى ان عدد ومواضع المجموعات الهيدروكسيلية له تأثير بالغ الأهمية، حيث ان الخاصية التثبيطية تزداد بتواجد مجموعتي الهيدروكسيل في الموضعين 5 و 7 في الحلقة A و الموضع 4' على الحلقة B بينما تواجدها في الموضع 3 ' على الحلقة B ينقص من هذه الخاصية [23] .

II–7- ذوبانية الفلافونيدات:

الفلافونيدات ذوابة في القواعد القوية لكونها مركبات فينولية و تمتاز بصفتها الحمضية الضعيفة، و تزيد قطبيتها إذا كانت تحتوى على عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو جزيئة سكر أو أكثر و هذا ما يجعلها ذوابة في المذيبات القطبية مثل : الميثانول، الإيثانول، ثنائي سيلفوكسيد الأستون والماء و وجود السكر في الجزيء المركب يجعله أكثر ذوبانا في الماء، أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل : الايزوفلافونات وكذلك الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الإيثر و الكلوروفورم[24] .

II- 8- الكشف عن الفلافونيدات :

يمكن الكشف عن المركبات الفلافونيدية بالألوان المميزة التي تعطيها مع الكثير من الكواشف التي تستخدم في الدلالة على المركبات الطبيعية من بينها :

- كلوريد الألومنيووم (5%): يعطي بقع صفراء في وجود المادة الفلافونية التي تحمل مجموعة هيدروكسيل في الموضع 5.
- هيدروكسيد الصوديوم : يعطي بقع صفراء أو برتقالية مع جميع الفلافونيدات .
- حمض الكبريت المركز : يعطي في وجود كل الفلافونيدت ألوان صفراء أو برتقالية .
- محلول الفانيلين HCl (5%) : يحضر بإضافة HCl المركز إلى محلول فانيلين (vaniline) في الإيثانول بنسبة 1 : 4 على التوالي. ويستدل على وجود جميع الفلافونيدات في الحال أو بعد التدفئة البسيطة، إلا أن الفلافانونات تعطي إيجابية تجاه هذا الكاشف ولكن بصورة أبطأ من الفلافونيدات الأخرى [25].

II-9- الاستخلاص:

تستخلص الفلافونيدات باستخدام مذيبات مختلفة القطبية ويتم اختيار المذيب المناسب وفق نوع الفلافونيد المسيطر، فالفلافونيدات ضعيفة القطبية (ميثوكسيفلافون، فلافا نون، الايزوفلافون. . . الخ) تستخلص بأحد المذيبات : الكلوروفورم، ثنائي كلورميثان، ثنائي ايثيل ايثرأوخلات الإيثيل، بينما المركبات الاكثرقطبية، الفلافونيدات السكرية تستخلص باستعمال الكحولات اومزيج ماء/كحول.

اشهر الطرق اتباعا هي استخدام الميثانول أو الايثانول أومزيج احدهما مع الماء بنسب 70او 80 ٪ثم نبخر الكحول والطور المائي يخضع لاستخلاص سائل -سائل باستعمال مذيبات مختلفة وفق تدرج القطبية [26] .

II-10- الفصل الكروماتوغرافي :

من أهم طرق الفصل والتنقية هي الكروماتوغرافيا التي اكتشفت عام 1902م من قبل عالم النبات الروسي Twestوهي طريقة تحليلية تحضيرية ذات نطاق واسع الاستعمال في فصل الخلائط وتنقية المركبات، وتشمل الكروماتوغرافيا الآن أشكالا وأنماطا مختلفة بحسب التوزيع التفاضلي لمكونات عينة ما بين طورين الطور الثابت phase stationnaire والطور المتحرك phase Mobile لينفذ من خلال سطوح الطور الثابت وتسبب حر كة الطور المتحرك هجرة تفاضلية لمكونات العينة بآليات مختلفة [28].

إن هدف الفيتو كيميائي هو الحصول على مركبات نقية لأجل ذلك يستعمل طرق فصل متتالية وهي :

- ✓ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).
- ✓ كروماتوغرافيا الورق(CP).
- ✓ كروماتوغرافيا العمود(CC).

II-10-1- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) :

تعتبر كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من أسهل وأسرع الطرق الكروماتوغرافية فهي تستعمل لفصل المواد الممتزجة بمعرفة ألوانها، وتعتمد طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على استخدام لوح زجاجي أو صفائح الألمنيوم مغطاة بطبقة رقيقة من متعدد الأميد أو السيليكاجال أو السليلوز، والتي تمثل الطور الثابت أما الطور المتحرك فيكون عبارة عن جملة من المذيبات متفاوتة القطبية، ويتم فصل مركبات وفق

ظاهرة الادمصاص والذوبانية كما يتم تحديد موضع المركبات المفصولة بالاستعانة بمصباح الأشعة فوق البنفسجية UV ورش كواشف خاصة لتوضيح المركبات غير الملونة [28].

II-10-2 :كروماتوغرافيا الورق (CP):

تعتبر كروماتوغرافيا الورق من أحسن الطرق استعمالا، حيث أن الماء الممتز على جزيئات السيليلوز في الورق يمثل الطور الساكن بينما يعمل الورق كدعامة صلبة، أما الطور المتحرك فيكون جملة من المذيبات عضوية [28].

II-10-3: كروماتوغرافيا العمود(CC):

تستخدم هذه الطريقة على نطاق واسع في تحليل المركبات العضوية والحيوية، تعد هذه التقنية الأكثر استعمالا لفصل الكميات الكبيرة والأكثر تعقيدا يتم استعمالها عن طريق طور ثابت ويعبأ بها العمود، منها السيليكاجال أو السيليلوز أو متعدد الأميد، وتستخدم هذه الطريقة لفصل كميات كبيرة بعد اختيار جملة من المذيبات المناسبة لعملية التملص، حيث يستخدم السيليكاجال لفصل المركبات الأقل قطبية [29، 30] .

II– 11: الخصائص اللونية للفلافونيدات :

عموما الدراسة الأولية للمستخلصات الفلافونيدية تتم غالبا بواسطة طريقة الفصل الكروماتوغرافي للطبقات الرقيقة CCM وكروماتوغرافيا الورقية CP وتتبع بدراسة بواسطة الكشف اللوني بجهاز الأشعة فوق البنفسجية لمختلف أنواع الفلافونيدية كما هو مبين في الجدول رقم (II-2) [32، 31] .

الجدول (II-2) : العلاقة بين طبيعة الفلافونيد و اللون الظاهر تحت UV

UV	UV + NH3	نوع الفلافونيد
بنفسجي داكن	أصفر، أخضر أو بني	دوما فلافون يحوي **OH** في الموضعين C_5وC'_4 ومستبدلة في الموضع$_3$
		فلافونول يحوي OHفي الموضعين C_5 و C'_4
		بعض الفلافافونات تحوي **OH** في الموضع C_5أو شالكونات تحوي OH في الوضع C_4 وتفتقد الى **OH** على الحلقة العطرية **B**
بنفسجي داكن	تغير خفيف أوعدم تغير اللون	فلافون أو فلافونول تحوي **OH** في الموضع C_5 و**OH** في الموضع C'_4 مستبدلة أو محذوفة
		إيزوفلافون، ثنائي هيدروفلافونول وبعض الفلافانونات تحوي **OH** في الموضع C_5 حرة
		شالكون يحوي **OH** في الموضع C'_2 أو في الموضع C'_6 مع عدم وجود **OH** حرة في C_2 و C_4

	أزرق مشع	بعض الفلافانونات تحوي **OH** في الموضع **C_5**
أزرق مشع	**أحمر أو برتقالي**	شالكون يحوي **OH** في الموضع **C_2** أو **OH** في الموضع **C_4**
	أصفر مخضر أو أزرق مخضر	فلافونول لا يحوي **OH** في الموضع **C_5** مع إستبدال **OH** في الموضع **C_3**
	تغير خفيف أو عدم تغير	إيزوفلافون لا يحوي **OH** حرة في الموضع **C_5**
	أزرق لامع	إيزوفلافون لا يحوي OHحرة في الموضع **C_5**
غير مرئي	**أزرق مشع**	إيزوفلافون لا يحوي OHحرة في الموضع **C_5**
أصفر خفيف أصفر أو برتقالي مشع	**تغير خفيف أوعدم تغير اللون**	فلافونول يحوي OH في الموضع C_3 مع أو عدم تواجد OH حرة في الموضع C_5
إشعاع أصفر	**برتقالي أو أحمر**	أوروف يحوي OHفي الموضع C'_4
		بعض الشالكونات تحوي OH في الموضع C_2 او C_4
أصفر مخضر أزرق مخضر أو أخضر	**تغير خفيف أوعدم تغير اللون**	أوروف يحوي OHفي الموضع C'_4أو فلافونول لا يحوي OHفي الموضع C_5
		فلافونول يحوي **OH** حرة في الموضع **C_3** مع تواجد أو عدم تواجد **OH** حرة في الموضع **C_5**
أصفر مبيض	**أصفر أرجواني**	ثنائي هيدروفلافونول لا يحوي **OH** حرة في الموضع **C_5**

المراجع

المراجع بالأجنبية :

[1] Z. MOHAMMDI ،2011- Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant

Essentielles et flavonoïdes de quelque plantes de la région de Tlemcen Mémoire de Magister ، Université de Tlemcen ،Algérie ،p:18-50.

[2] N.ZEGHEB ،2013 - L'effet antibactérien de l'extrait flavonoïdique de la plante (*Zygophyllum album* L). Mémoire de magister. Université Mohamed Khider Biskra. p 73.

[5] MARFAK ABDELGHAFOUR. ،2003 - Radioltse gamma des flavonoïdes

Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools formation de

De psides ،Thèse de doctorat.

[6] A.MADI (2010) ،Caratéristion et comparision du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales (thym et sange) et la mise en évidence de leurs

biologiques. Mémoire de magister. Université Mentouri constante. p 116.

[8] A. Crozier ،M. N.Clifford ،H. Ashihara (2006) ،plant secondary Métabolites

Blackwell publishing ،Oxford UK.

[9] H. El Hazemi ،(1995) ،Natural Product ،P149-190.

[10] B. J.Ribereau-gayon ،(1968) Les composés phénoliques des végétaux ، dundo ،Paris.

[11] H. Kaur Sandhar ،B. Kumar ،S .Prasher ،P .Tiwari ،M .Salhan ،P. Sharma.

Internationale Pharmaceutica Sciencia ،(2011) ،p25-41.

[12] S.M.Simmonds. J. Phytochemistry ،(2001) ،P 56 ،245-252.

[13] R.A .Dixon ،G .M .Pasinetti. *Plant Physiology* ،(2010) ،p154 ،453-457.

[14] G .Agatia ،E .Azzarellob ،S. M .Pollastrib ،Tattini. *Plant Science* ،(2012) ، P 196 ،67-76.

[16] J. B. Harborne. Flavonoids Pigments in Herbivores: Their Interaction with

Secondary Plant Metabolites ،Academic Press ،1979 ،645.

[17] J.B .Harborne ،C. A. Williams. Phytochemistry ،(2000) ،55 ،481-504.

المراجع :

[18] M. Wink. *Theo. Appl. Genet.* ،(1988) ،75 ،225-233.

[19] P .M .Dey ،J. B. Harborne. Phenolic Plants ،Volume 1 ،Academic Press ،

1989 ،194-320.

[20] Raj Narayana. K ،M. Sripal Reddy ،M. R. Chaluvadi ،D. R. Krishna.

Indian Journal of Pharmacology ،(2001) ،33 ،2-16.

[21] C. G. Fraga ،P. I. Oteiza. Biology & Medicine ،(2011) ،51 ،813-832.

[22] F. Dajas ،F. Rivera-Megret ،F. Blasina ،F. Arredondo ،J. A. Abin-Carriquiry ،G.Costa ،C. Echeverry ،L. Lafon ،H. Heizen ،M. Ferreira ،A. Morquio.Brazilian Jornal of Medical and Biological Research ،(2003) ،36 ، 1613-1620.

[23] S. Chirumbolo. Inflammation & Allergy - Drug Targets ،2010 ،9(3) ،1-23.

[25] H. El Hazimi ،(1995). Les produits Naturelles. Université du Roi Saoud ،

Djada.

[26] Ø. M. Andersen ،K. R. Markham. Flavonoids: Chemistry ،Biochemistry

and Applications ،Press Taylor & Francis Group ،2006 ،1197.

[27] A.Marfak (2003) ،Thèse de doctorat ،Université de Limoges. Spécialité Biophysique.

[30] P. Waridel. ،" Investigation photochimique des plantes aquatiques ، Potamogeton pectinatus ،L. P.lucens L. ،P.perfoliatus L.et P.crispus.

L " (Potamogetonceae)". Thèse de Doctora.Univerdité de Lausanne.

،p 161-167 (2003) .

المراجع :

المراجع بالعربية:

[3] أ، عاشوري، "فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونيدي (Pulicari acrispia (forsk". مذكرة ماجستير في العلوم كيمياء عضوية. جامعة منتوري قسنطينة. (2006) ص42.

[4] س.ايمان، (2017)، فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي لنبتة Euphorbia Guyoniana. مذكرةماستر في الكيمياء العضوية. جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي . ص 24.

[7] بن سلامة ع ر.، 2012- النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للانزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *L* Hertia Cheirifolial .مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء جامعة فرحات عباس، سطيف .

[15] ز .محمودالخفاجي،التقنيةالحيويةالميكروبية ، معهدالهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا،جامعة بغداد ، دارالكتب والوثائق ببغداد،2008،ص736.

[24] مخلوفي الهاني (2008)، فصل وتحديد فلافونيدات الأجزاء الهوائية لنبتة Hypericum tomentosum . مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة قسنطينة .

[28] م، محمد.، " مدخل إلى التحليل الكيميائي والكروماتوغرافي ".دار الكتاب الوطنية .الطبعة الأول. 2002 . ص -67 –98.

[29] ب ،ع، الوهاب الرفاعي.،" طريقة لفصل وتنقية المواد الكيميائية من مزائجها ". دمشق . ص5.

[31] م، علاوي . "، (2003) مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث "(Scoparium Haloxylon)" مذكرة ماجستير في الكيمياء .جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص 33-34.

[32] م، باز "، (2009) استخلاص فصل وتحديد بنيات من منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس : (C.Sphaerocephala L." Centaurea)مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري قسنطينة 2005 ص 31-32.

الفصل الثالث

الفعالية المضادة للأكسدة

مدخل:

مع ازدياد التلوث البيئي و الغذائي و العدوى المتكررة بالأمراض المزمنة، و المبالغة في تعاطي الأدوية ثم الضغوط النفسية و العصبية، ازدادت الامراض التي تؤدي لتدهور حالة الإنسان، وازدادت حالات الإصابة بالسرطان، نتيجة الإخلال بنظم الأكسدة الحيوية بخلايا الجسم، تحدث عمليات الأكسدة داخل خلايا الجسم لجزيئات الغذاء المهضوم بواسطة الأكسجين لإنتاج الطاقة، و الماء و ثاني اكسيد الكربون، اثناء التفاعل تخرج بعض الجذور الحرة التي تبحث عن مركب لتتحد معه، فإذا لم تجد هذا المركب تقوم بإتلاف الحمض النووي، وتدمير الخلايا و تظهر اغلب تلك التأثيرات على القلب و العين.

ويطلق مصطلح الجذور الحرة على جزيئات الأكسجين الغير مستقرة و الناتجة من عمليات الأكسدة الحيوية، اذ توجد ذرات الأكسجين في اعداد فردية في حين ان الأكسجين يميل للوجود في حالة زوجية لذلك فإن الذرات تميل الى التقاط الالكترونات من ذرات العناصر الموجودة بالخلية لتعادل نفسها، فتحولها الى جذور حرة و هكذا وفي سلسلة التفاعلات المتتالية و السريعة جدا تتكون آلاف الجذور الحرة خلال ثوان مما يؤدي الى تدمير بيولوجي، وتشمل تلك التفاعلات عدد من الاحماض الدهنية غير المشبعة و البروتينات في جدار الخلية و الانزيمات و الحمض النووي و هو ما يسمى بإجهاد الأكسدة

(Oxidative Stress OS) و ذلك في نقص او غياب مضادات الأكسدة [1] .

III-1- الجذور الحرة:

III-1-1- تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية متعادلة أو مشحونة بشحنة سالبة أو موجبة تحتوي في تركيبها الإلكتروني على إلكترون أو أكثر غير مزدوج، و يكون معظمها شديد الفعالية، تتولد أثناء التفاعلات الكيميائية كمركبات وسطية و تنتهي بنهايتها.

حين يفقد الجزئ أحد الإلكترونين فإنه يصبح غير مستقر و مؤذ للجزيئات الأخرى المجاورة، و عدم الاستقرار هذا يكون عن طريق استقبال إلكترون آخر أو عن طريق نقل الإلكترون الحر إلى جزيئة أخرى، تنتج هذه الأنواع الجذرية غير المستقرة و النشطة جدا بشكل مستمر في العضوية من خلال العديد من الظواهر البيولوجية [2] .

III-1-2- تصنيف الجذور الحرة:

III-1-2-1- التصنيف على أساس الاستقرار:

- **الجذور النشطة (غير مستقرة):**

تتميز هذه الجذور بأعمار قصيرة جدا تقدر ب (بيكوثانية) و هي غير مستقرة في الظروف العادية تكون هذه الجذور ذرات عناصر أوزانها الجزيئية صغيرة مثلا : $CL^{\bullet}$، $HO^{\bullet}$، $I^{\bullet}$، $CH_3^{\bullet}$ [3].

- **الجذور الصامدة (مستقرة):**

هي التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو بالساعات أو حتى بالأيام مثل جذر ثلاثي فينيل مثيل (Ph_3M) وجذور ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (DPPH) وجذور ثنائي فينيل أكسيد النيتريك (Ph_2NO) ومشتقاته [4-6] .

ونستطيع القول أن معظم الجذور الآروماتية التي تشتمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها تكون مستقرة في أغلب الأحيان، فكلما زاد ثبات الجذر الحر قلت فعاليته، ومن الناحية الديناميكية الحرارية فإن قلة فعاليته تعود إلى أنه يحتاج إلى طاقة تنشيط عالية نسبيا أثناء التفاعل [7] .

III-1-2-2-التصنيف على أساس النوع:

- **الجذور الحرة الاكسيجنية:**

أهمها شق الهيدروكسيل الحر قد يكون أخطرها غير ان الجذر الحر له لا يدوم فهو في مرحلة انتقالية عمرها قصير [8].

- **الجذور الحرة النتروجنية:**

تشمل على اكسيد النتريك وثنائي اكسيد النتروجين و بيروكسيد النتروجين الهيدروجيني و بيروكسيد النتريك و هو الاكثر خطورة[9] .

- **الجذور الحرة الدهنية:**

تتميز الدهون بأعلى درجة اختزال من عناصر الجسم وبالتالي فهي اكثر عرضة من غيرها للتأكسد بالجذور الحرة الاوكسيجنية و النتروجنية خاصة غير المشبعة منها وهي اطول عمر [10] [9] .

- **جذور السموم الحرة:**

وهي معظم المواد السامة و المواد الكيميائية المسرطنة التي تمثل مختلف الانواع الاوكسيجنية النشطة . [11]

III-1-3-مصادر الجذور الحرة:

III-1-3-1- مصادر داخلية:

يعتبر النشاط الأيضي داخل الخلايا مصدرا داخليا للجذور الحرة، بحيث تنتج الانواع الأوكسجينية النشطة داخل العضوية كآلية للحماية ضد الجزيئات الغريبة او كجزء من نواتج العملية الايضية عبر العديد من الاليات الموجودة داخل الجسم [12-14] .

III-1-3-2- مصادر خارجية:

- عوامل البيئة الخارجية (التلوث، المعادن الثقيلة.....).
- الاشعة فوق البنفسجية و الاشعة تحت الحمراء.
- المبيدات الحشرية والأدوية الزراعية.

- الكيماويات التي تلوث الماء والغذاء والهواء.
- التدخين و تعاطي المشروبات الكحولية و المخدرات.
- المركبات البترولية و المواد الملونة و الحافظة [15-17].

III-1-4- اضرار الجذور الحر على مختلف الجزيئات الداخلية:

- اتلاف الاحماض النووية مؤدية بذلك موت الخلايا او ضعف المناعة.
- تخريب البروتينات وتغيير وظائفها مسببة بذلك امراض المناعة الذاتية .
- اكسدة السكريات و اكسدة ADN
- اكسدة الدهون والتي يمكن ان ينتج عنها خلايا سرطانية [18] [19] .

III-2- مضادات الأكسدة:

III-2-1- تعريف مضادات للأكسدة:

مضادات الأكسدة هي مركبات قادرة على تأخير أو منع عمليات الأكسدة التي تحدث تحت تأثير الأكسجين المتواجد في الغلاف الجوي أو أنواع الاكسجين التفاعلية، فهي تستخدم لتحقيق الاستقرار في المنتجات البوليميرية، من البتروكيماويات والمواد الغذائية ومستحضرات التجميل والمواد الصيدلانية وتشارك المواد المضادة للأكسدة في آلية الدفاع عن الكائن الحي ضد الأمراض المرتبطة بالهجوم من طرف الجذور الحرة [20] .

وتعمل المضادات الاكسدة بالدرجة الاولى كمانحات للهيدروجين او مستقبلات للجذور الحرة وعليه فان الدور الاساسي لمضادات الاكسدة هو كسر تفاعل السلسلة للأكسدة الذاتية وذلك بالتفاعل مع جذور الهيدروبيروكسيدات [21] [22] .

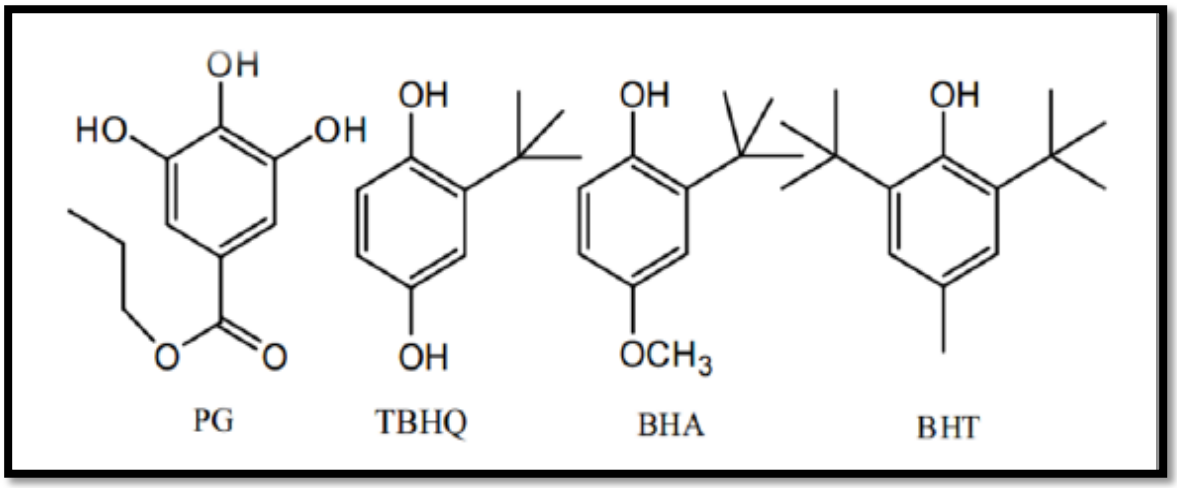
III-2-2- تصنيف مضادات الأكسدة:

III-2-2-1- مضادات الأكسدة الطبيعية:

ونقصد بذلك ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالإنزيمات، الجلوتاثيون، الكتلاز والبيروكسيداز والفيتامينات مثل : فيتامين C والفيتامين E و تتعداها إلى المعادن الطبيعية كالزنك والسيلنيوم وغيرها [10] .

III-2-2-2- مضادات الأكسدة المصنعة:

تعتبر مضادات الاكسدة المصنعة كعنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إتلافها إلى أقصى حد وذلك لسرعة تأكسدها منها PG، TBHQ، BHT و BHA، هذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية، لأنها فعالة وقليلة التكلفة مقارنة مع مضادات الاكسدة الطبيعية كما لأنها غير سامة [23] [24] .



الشكل (III-1):مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية

Propyl Gallate **: PG**

tertiobutylhydroxyquinone **: TBHQ**

3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole **: BHA**

6 ،2-ditertiobutyle-4-hydroxytoluéne **: BHT**

III-3- طرق تقدير الفعالية مضادة للأكسدة:

هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر او توقيف عملية الاكسدة، تقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق منها : [25]

III-3-1- الطرق الطيفية:

التقنيات الطيفية تعتمد على التفاعلات الجذرية، تفاعل الجذر مع الكاتيون، أو المعقدات مع جزيء مضادات الأكسدة، التي لها القدرة على منح ذرة هيدروجين ومن اهمها : طريقة (DPPH)، طريقة (FRAP)، طريقة(ABTS)، طريقة (LMWA) [25-27].

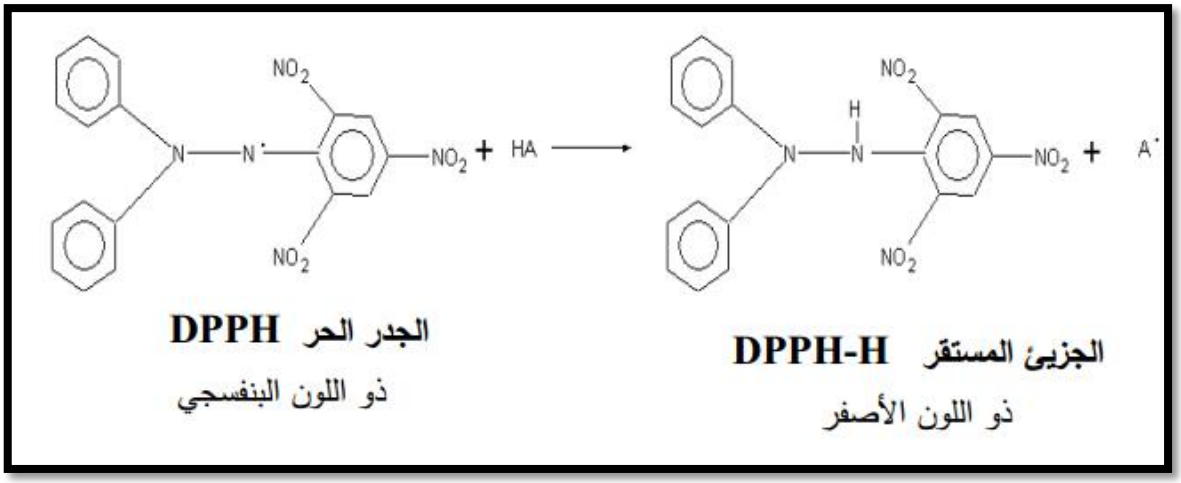
وفي هذه المذكرة تمت دراسة طريقتين هما:

طريقة (DPPH).
طريقة (ABTS).

III-3-1-1- طريقة DPPH:

هو اختبار مضاد للجذور الحرة و قد سبق تعريفه من 50سنة ماضية من طرف العالم "بولواز" سنة 1958 وقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات اكسدة .

(DPPH) ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل(diphényle picrylhydrazyl) هي مادة صلبة لونها بنفسجي مسود، يشتق هذا الجذر الحر من جزيئة (DPPH-H) ثنائي بكريل هايدرازين (diphenyl picrylhydrazine) وهي مادة صلبة غير جذرية لونها اصفر [28] [29].



الشكل(III--2): معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة

III-3-1-2- طريقة ABTS:

يتم تشكيل الكاتيون الجذري (ABTS•+) الذي يمتص عند 743nm (إعطاء لون أخضر مزرق) لفقدان الإلكترون من ذرة النيتروجين لـ:

(2,2 -azino-bis (3- ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) ABTS) في وجود Trolox (أو مضادات أخرى للأكسدة قادرة على منح الهيدروجين)، ذرة النيتروجين تخمد ذرة الهيدروجين، مما يعمل على اختفاء اللون في المحلول.

يمكن أكسدة ABTS بواسطة فوق سولفات البوتاسيوم (potassium persulphate)، أو ثاني أكسيد المنغنيز، لتشكل الكاتيون الجذري (ABTS•+) الذي يمتص عند 743nm التي تم رصدها في وجود Trolox، الذي تم اختياره كمرجع قياسي.[31].

III-3-2- الطريقة الكهرو الكيميائية:

الطريقة الكهروكيميائية هي انسب الطرق التحليلية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة لما تتمتع به من ايجابيات و المتمثلة في :حساسيتها، قلة التكلفة، سرعتها و الكم الهائل من المعلومات المفيدة التي توفره، حيث كانت الخصائص الكهروكيميائية هي العوامل الاساسية التي تم توظيفها لتقدير الارجاعية او الفعالية المضادة للأكسدة، لكون كمون الاكسدة الكهربائي له علاقة بمفهوم القدرة الارجاعية [32].

و الطرق الكهرو كيميائية تعتبر من احسن الطرق لما تميزت به من مصداقية ودقة في العمل وتم استخدام تقنية الفولتا متري الحلقي في التحليل المنجز وهي الأكثر استخداما على نطاق واسع [31].

III-3-2-1- طريقة الفولتا متري الحلقي:

هي تقنية مختصة لدراسة المادة المحللة كيفيا ولدراسة عكسية التفاعل الحاصل عند قطب العمل، حيث يتغير الجهد بشكل دوري، عندما يصل الجهد إلى قيمة ثابتة، يتم قلب جهد قطب العمل في الاتجاه العكسي، وهذا الانعكاس يمكن أن يحدث عدة مرات خلال تجربة واحدة و يتم رسم كثافة التيار مقابل الجهد المطبق لإعطاء فولتاموغرام حلقي .

هذه الطريقة تتيح الفرصة لإرجاع الايونات على سطح قطب العمل ثم أكسدة النواتج قبل أن تتمكن من الانتشار بعيدا عن سطح القطب [33] [34].

المراجع

المراجع الاجنبية:

[8] KOHEN R. NYSKA. A. ،2002. Oxydation redox réaction stress hénomène ، antioxydants ،redox réaction and méthode for hein quantification toxicologique pathologie ،Vol(30): PP 620-650.

[11]GOD'SWILL .N.A ،KAYODE O.O. ،2010- Comparative Antioxidant Phytochemical and oximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of Vernonia amygdaline and Talinum triangulare ،Pakistan Journal of Nutrition 9 (3) p; 259-2648.

[12] A.M.G .GMEZ-CARAVACA ،M .MEZ-ROMERO ،D. ARR-ÉEZ-ROM-ÉN A .SEGURA-CARRETERO and A .FERN-ÉNDEZ-GUTIÑRREZ ،2006-

Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived From bees. Journal Pharm ،Biomed ،Anal ،41: 1220-1234.

[13] M.VALKO ،D.LEIBFRITZ ،J.MONCOL ،M .T.CRONIN ،M.MAZUR And TELSER J. ،2007- Free radicals and antioxidants in normal Physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 39 P: 44-84.

[14] Q.YINGKUM ،C.YINGJIE ،P.YUPIN ،M.HISASHI ET Y.MASAYUKI ، (2002)-Constituents with radical scavenging effect from OpuntiaDillenii: Structures of new co-pyrones and Flavonol glycoside. Chem. Pharm. Bull. ،50 (11) PP: 1507-1510.

[16] PORTUGAL-COHEN M. ،NUMA R. ،YAKA R. ،KOHEN R. ،2010- Cocaine induces oxidative damage toskin via xanthine oxidase and nitric Oxide synthase. *J Dermatol Sci*. 58. P: 105-112.

[17] W.DROG ،(2002). Free radicals in the physiologic control of cell function ، Cell physiology P 82-42.

[18] M.YOUNES ،(1999) -Free Radicals and Reactive Oxygen Species. Chap 5.
In toxicology Academic Press. Geneva .p 111-125.

[19]G.ANVASOR ،O.KAYODE ،(2010). Comparative antioxidant phytochemical antproximat analyse is of aqueous and methanolic extracts of veronicas amy gdalina and thallium triangular. Pakistan Journal of Nutrition 9(3). P 259-264.

[20] C Litescu ،A.V Sandra ،S.A.V Eremia ،M. Diaconu ،A. Tache ،et al. (2011) Biosensors Applications on Assessment of Reactive Oxygen Species and Antioxidants. Environmental Biosensors. In Tech Rijeka Croatia.

المراجع :

[23] CHAMIA. Contribution à la composition et à l'étude chimique de l'huile du Fruit de l'Arganier « *Argania spinosa* ». Mémoire de Magister. Ouargla : Université Kasdi merbah ،2007 ،80-82 p..

[25] L.m. maglhaesn ،M.A. segunalo ،S.Reis ،j.L.F.C.Lima ،amal ،chim ،acta ، 613(2008) 1- 19.

[26] M.T. Giardi ،G .Rea ،B. Berra ،(2010) Bio Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors. Landes Bioscience and Springer Science Business Media.

[27] Chong PL ،Olsher M (2007) Fluor metric assay for detection of sterol oxidation in Liposomal membranes. Methods Mol Biol 400: 145-158.

[28] V.bondet ،W.brand-willians ،C.Berst lebensm.wiss.technol ،30(1997)609-615.

[29] P.molyneux ،sony.klana Karin J.sci technol ،26(2004)211-219.

[32] M.Magalkaes ،M.A.Segundo ،S.Reis ،J.L.F.C.Lima anal. Chim .Acta.613 (2008) 1-19.

[33] J.Barek ،A. G. Fogg ،A. Muck and J. Zima ،Crit. Rev. Anal. Chem ،31 ، 291(2001).

[34] S.Chevion ،M.A.Roberts ،M.Chevion ،(2000) the use of cyclic voltammetry For the evaluation of antioxidant capacity. Free Radic Biol Med 28: 860-870.

المراجع بالعربية :

[1] ا.د محمد عمر محمد عمر، ك .م.عبد الله بقشان " استخدام منتجات نحل العسل " العدد الثاني عام (2011).

[2] خ. بلقط، ن.سباع، دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الكحولي والمائي عند نبات "L Plant ago albicans" مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي (2015).

[3] ب. مصطفى، (2008) دراسة فيتو كيميائية لليبيدات والفينولات في بعض انواع التمر المحلي، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص 59 .

[4] ر. بوقافلة، 2013 – دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء "Lawsonia Inermis" لمنطقة بسكرة. مذكرة ماستر .جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص78.

[5] الصديق، 2011 –دراسة كهر وكيميائية لفينولات نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر في الكيمياء التطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة .الجزائر ص78.

المراجع :

[6] أ. العابد، (2009) دراسة الفعالية المضادة للبكتريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران "nudatum Traganum" .مذكرة ماجستير كيمياء عضوية تطبيقية. جامعة قاصدي مرباح ورقلة .

[7] ص. بن عشورة (2007)." الفعالية المضادة للأكسدة – الزيوت الطيارة و المركبات الفينولية ل "Deverra scoparia" رسالة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[9] ريدة، (1999) - الجذور الحرة، جملة مضادات المؤكسدة وداء التهاب المفاصل الرثياني. مجلة جامعة دمشق،المجلد(5) العدد (2).

[10] حواء. (2013)، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية و فيزيو كيمياء الجزيئات، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، ص 109.

[15] م. جرموني، (2009)-النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة "*polium Teucrium*" مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير-جامعة فرحات عباس –سطيف ص95.

[21] الدبليو. اوراند. اي، إيوودز، ترجمة د.عادل جورج ساجدى، د.علاء يحى محمد، كيمياء الاغذية، جامعة البصرة، الطبعة الاولى 1983.

[22] د.باسل كامل دلالي، د.كامل الركابي، كيمياء الاغذية، دار الكتب للطباعة و النشر جامعة الموصل 1981.

[24] ز.غيابة، (2015) دراسة تحليلية للبيدات و فينولات و مكونات اخرى لبعض اصناف نخيل التمر المحلية، رسالة دكتوراه.جامعة قاصدي مرباح .ورقلة.

[30] ع الكريم. ربيعي.، 2010 المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للاكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية .مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء – جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[31] خ. تواتي حمد، (2012) تقدير الاجمالي الفعالية المضاد للأكسدة لحبوب اللقاح والبروبوليس لمناطق مختلفة في الجزائر "استعمال السلم الجديد".مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر أكاديمي .جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي.

الجزء العملي

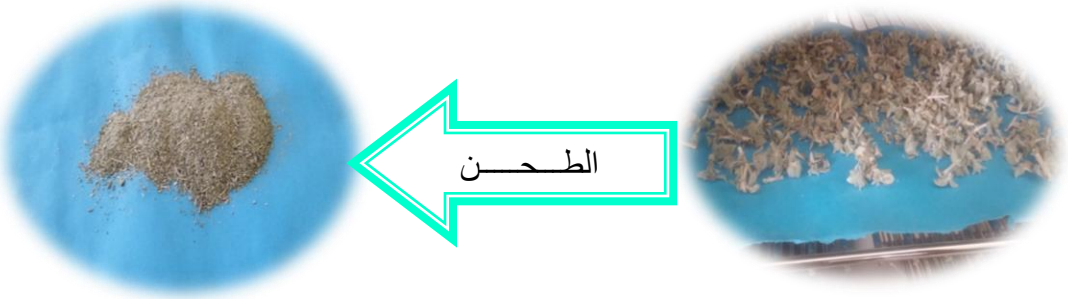
الفصل الرابع

الطرق و الوسائل

تم انجاز هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة ومخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمة لخضر بالوادي .

IV -1- تحضير العينة النباتية:

تم جنى القسم الهوائي لنبات الحلمة (*Moltakia ciliata*) من منطقة اميه ونسه (24فيفري2019) بولاية الوادي وذلك وقت إزهارها، بعد ذلك تمت تنقيتها من الشوائب والأعضاء الميتة، ثم فرشها على الورق لتجف وتتم هذه العملية بعيدا عن أشعة الشمس مع التقليب من حين لأخر وبعد التأكد من جفافها تم طحنها، دامت مدة التجفيف 15يوما .



الشكل (IV -1) : عملية الطحن

IV-2: الأجهزة والمواد المستعملة :

الجدول (IV -1) : الاجهزة والمواد

الاجهزة	المواد
جهاز المبخر الدوار(Rotavapeur)	أستون (C_3H_6O)
جهاز مطيافية الأشعة الفوق البنفسجية – المرئية(Spectroscopie UV-visible)	الغاليك ($C_7H_6O_5$، H_2O).
جهازفولتالاب (PGZ301)، VOLTALAB40	الروتين ($C_{27}H_{30}O_{16}$).
أنابيب اختبار (tubes essai).	الكرستين ($C_{15}H_{10}O_7$)
بيشر (Bécher)	الأسكوربيك ($C_6H_8O_6$).
ملعقة (Spatule)	كاشف الفولين Réactif (de Folin-ciocalteai).
قمع (Entonnoir)	محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3;%7.5)
حاضنة (Etuves).	حمض الكبريتيك (H_2SO_4).
ورق الترشيح (Papier à filtre)	محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم($AlCl_3$، 2%).

Ballons و Erlenmeyer	حمض الهيدروليك المركز (HCl).
Micropipetteوpipette	DPPH ذو النقاوة (99%).
ميزان الكتروني حساس	ميثانول (CH_3OH).
	BHT
	ABTS
	ملح TNBHFP ذو نقاوة (98%)
	DMF ذو نقاوة (99.5 %)
	Potassiom Persulfate (k_2so_5)

IV -3 -الاستخلاص:

IV-3 -1- تعريف الاستخلاص:

هو عزل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية، إن كانت المادة الخام سائلة فيطلق عليه استخلاص سائل – سائل و أما إذا كانت صلبة فيطلق عليه استخلاص سائل - صلب، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة، الضغط وكيفية استعمال المذيب [1].

IV-3 -1-1- استخلاص سائل – سائل :

وهو طريقة تسمح بعزل مادة ما من مزيج يحوي على عدة مواد أخرى، ويعتمد مبدأ الاستخلاص على عامل توزع المواد بين سائلين غير قابلين للامتزاج كالطور المائي والطور العضوي، فإذا كانت المادة موجودة في طور مائي غير منحلة فيه و أضيف إلى هذا المحلول مذيب عضوي فهو لا يمتزج معه ويستطيع أن يذيب المادة، فإن المادة ستنتقل إلى المذيب العضوي مشكلا طبقتين من سائلين غير ممتزجين [2] .

وتعتمد نسبة الانحلال للمادة في المذيب العضوي على :

- قابلية انحلال المادة في المذيب العضوي .
- حجم المذيب المستخدم.

IV-3 -1-2- استخلاص صلب – سائل :

ويسمى أيضا استخلاص على البارد (النقع) وتعتمد هذه الطريقة على وضع المادة الخام داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (المذاب 1/ المذيب 3) في الظروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لآخر تترك مدة زمنية معينة، خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب، تتبعها عملية الترشيح . نستعمل طريقة النقع للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة[3].

IV-3 -2- طريقة الاستخلاص المتبعة:

IV-3-2-1- الاستخلاص بواسطة الميثانول /ماء (20/80) :

نزن 100 g من العينة النباتية الجافة ثم تنقع في خليط من ميثانول /ماء (20/80) لمدة 24 ساعة تكرر العملية 3مرات متتالية مع تجديد المذيب في كل مرة، بعدها تجمع الرشاحات ويبخر الميثانول بواسطة جهاز التبخير الدوراني، عاملنا هذا الاخير بـ200ml بالماء المقطر الدافئ حتى يصل حجم المحلول50ml يترك ليلة كاملة تحت الرج ثم يرشح لنحصل على الطبقة المائية، نقوم بالاستخلاص سائل – سائل 3مرات بواسطة150ml من ايثرالبترول، نفس العملية تكررت باستعمال الكلوروفورم ومرة واحدة بواسطة اسيتات الايثيل وبعدها البنتانول من 4الى 5مـــــرات، تجمع الأطوار العضوية و نضيف كبريتات الصوديوم اللامائية Na_2SO_4 للتخلص من أثار الماء وترشح، ثم تبخر كل الأطوار وفي النهاية نحصل على أربع مستخلصات وهذا بعد عملية التركيز وهم على التوالي :

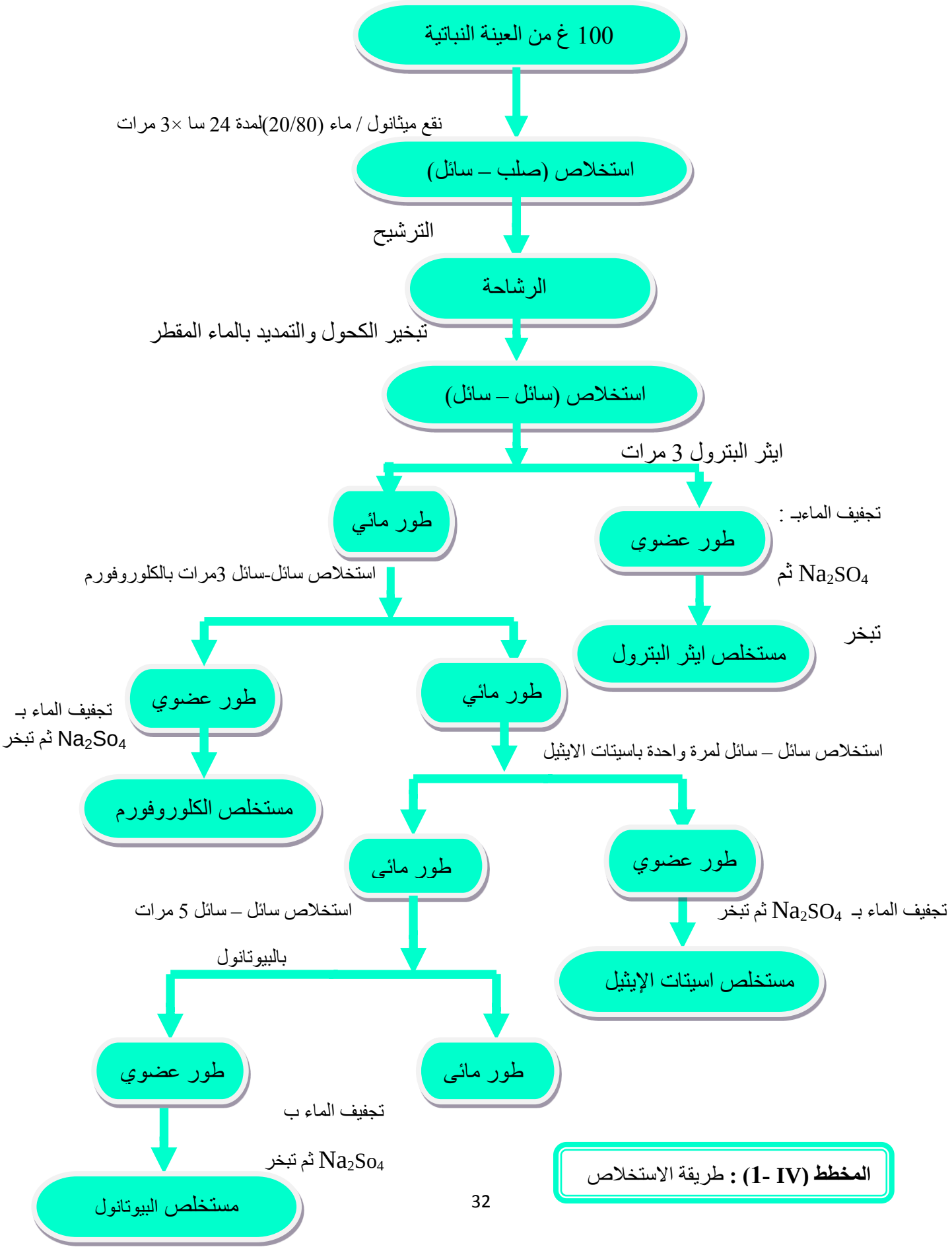
- مستخلص ايثر البترول .
- مستخلص الكلوروفورم .
- مستخلص اسيتات الايثيل .
- مستخلص البنتانول .

IV-3-2-2- الاستخلاص بواسطة أسيتون /ماء (20/80) :

نزن 100 g من العينة النباتية الجافة ثم تنقع في خليط من أسيتون /ماء (20/80) لمدة 24 ساعة تكرر العملية 3مرات متتالية مع تجديد المذيب في كل مرة، بعدها تجمع الرشاحات ويبخر الميثانول بواسطة جهاز التبخير الدوراني، عاملنا هذا الاخير بـ200ml بالماء المقطر الدافئ حتى يصل حجم المحلول 50mlيترك ليلة كاملة تحت الرج ثم يرشح لنحصل على الطبقة المائية، نقوم بالاستخلاص سائل – سائل 3مرات بواسطة150ml من ايثرالبترول، نفس العملية تكررت باستعمال الكلوروفورم ومرة واحدة بواسطة اسيتات الايثيل وبعدها البنتانول من 4الى 5مـــــرات، تجمع الأطوار العضوية و نضيف كبريتات الصوديوم اللامائية Na_2SO_4 للتخلص من أثار الماء وترشح، ثم تبخر كل الأطوار وفي النهاية نحصل على أربع مستخلصات وهذا بعد عملية التركيز وهم على التوالي :

- مستخلص ايثر البترول .
- مستخلص الكلوروفورم .
- مستخلص اسيتات الايثيل .
- مستخلص البنتانول .

المخطط التالي يلخص كل الخطوات السابقة .



المخطط (IV -1) : طريقة الاستخلاص

IV-4- اختبارات الكشف عن المواد الفعالة في العينة النباتية الجافة: (انظر للملحق2)

تم تحضير 4 بيشرات ذات سعة100 ml، تحوي كل منها 3 g من مسحوق النبتة وتنقع في 50 ml من مذيب ونغطيها ونتركها لمدة ساعتين، ثم نرشح .

بيشر 1	ايثر البترول
بيشر 2	الكلوروفورم
بيشر 3	ماء مقطر
بيشر 4	ايثانول

الشكل(IV-2): الرشاحات المتحصلة عليها

IV-4-1- الكشف عن القلويدات Les Alcaloïdes:

أ/ اختبار Wagner:

يأخذ 1ml من كل رشاحة و نضيف له نفس الحجم من كاشف Wagner (2g من KIو 1.27g من I_2تذاب في 100ml من الماء المقطر) .تشكل الراسب البني المحمر دليل على تواجد القلويدات [4].

ب/ اختبار FeCl3:

يأخذ 1ml من كل رشاحة ويضاف له قطرات من محلول كلوريد الحديد، ظهور راسب أصفر يدل على وجود القلويدات.

IV -4-2- الكشف عن الفلافونيدات:

أ/ اختبار schinoda:

يأخذ 1ml من كل رشاحة ويوضع فيه قليل من المغنزيوم ثم يضاف له قطرات من حمض الكلوروهيدريك المركز بحذر على جدار الأنبوب، ظهور اللون الأحمر يدل على وجود الفلافونيدات[4].

ب/ اختبار الكاشف القاعدي NaOH:

يأخذ 1ml من كل رشاحة تضع في أنابيب اختبار ثم يضاف إليها محلول هيدروكسيد الصوديوم، يدل تغير لون المستخلص إلى الأصفر على وجود الفلافونيدات [4].

IV -4-3- الكشف عن التانينات Les Tanins:

يأخذ 0.5ml من كل رشاحة ويضاف له 1ml من الماء المقطر، ثم نضيف له من 1-2قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي FeCl3.ظهور اللون المخضر يدل على تواجد التانينات[5] .

IV -4-4- الكشف عن الكومارينات:

يأخذ 2ml من كل رشاحة ثم يضاف له 3ml من محلول هيدروكسيد الصوديوم (10%) NaOH ظهور اللون الأصفر يدل على وجود الكومارينات(المركبات الفينولية)[5].

IV -4-5- الكشف عن الستيرولات و التربينات الثلاثية:

أ/ اختبارSalkowski:

يوضع ml 1 من كل رشاحة ويضاف له 5ml من الكلوروفورم، ثم يضاف له 1ml من حمض الكبريت المركز H_2SO_4 بحذر ويرج جيدا. تشكل اللون الأحمر القرمزي في الطبقة السفلى يدل على وجود الستيرولات [4].

ب / اختبارLiebermann- Burchared:

يأخذ 1ml من كل رشاحة ويضاف له القليل من قطرات محلول لاماءات الاسيتيك، ثم نضيف بضع قطرات من حمض الكبريت المركز H_2SO_4.ظهور حلقة حمراء دليل على وجود التربينات الثلاثية و ظهور اللون الأخضر دليل على وجود الستيرولات [4-6] .

IV -4-6- اختبار الصابونوزيدات les Saponosides:

تحضر 4 أنابيب اختبار ونضع فيها 5ml من كل رشاحة ترج جيدًا، عند تشكل رغوة ثابتة نضيف لها من 5إلى 6 قطرات من الزيت، تشكل المستحلب يدل على تواجد الصابونوزيدات [5].

IV-5- اختبارات الكشف عن الفلافونيدات في المستخلصات:

أ/ اختبار الكاشف القاعدي NaOH:

يأخذ 1 ml من كل مستخلص(مستخلص 1،مستخلص 2،مستخلص3،مستخلص4) توضع في أنابيب اختبار ثم يضاف إليها محلول هيدروكسيد الصوديوم، يدل تغير لون المستخلص إلى الأصفر على وجود الفلافونيدات [5].

IV-6- الفصل الكروماتوغرافي:

يعتمد الفصل الكروماتوغرافي على توزيع المادة المراد دراستها بين طورين أحدهما ثابت و الأخر متحرك وفي حدود الظروف العملية تم اجراء فصل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM بالنسبة للمستخلصات (م1 : n-Butanol (ميثانول/ ماء)، م2: أسيتات (ميثانول/ ماء)، م3: n-Butanol (اسيتون/ ماء)، م4 : أسيتات (اسيتون/ماء)) قصد التعرف على محتواها من الفلافونيدات والمقارنة بينها، حيث يعتبر الفصل بـCCM من أبسط واسرع الطرق الكروماتوغرافية فهي تستعمل خاصة في

فصل المركبات الطبيعية، وبغرض إجراء الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة تم استخدام السيليكاجال المثبت على صفائح الألمنيوم كطور ثابت واستعملت عدة جمل من المذيبات كأطوار متحركة وأحسن الأطوار التي اعطت فصل جيد هي كالتالي :

Méthanol/chloroforme/eau (5/20/0.5)
Méthanol/chloroforme/n-butanol (1/1/1)
Méthanol/chloroforme (1/3)

IV -7 - التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية:

IV - 7-1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية UV-Visible:

هي تقنية تحليل نوعية وكمية في ان واحد، حيث انه يؤدي امتصاص الجزيئات للأشعة الكهرومغناطيسية في منطقة فوق بنفسجية و المنطقة المرئية من الطيف الى انتقال واحد اواكثر من الإلكترونات الموجودة في مدرات ذات طاقة منخفضة الى مدرات ذات طاقة اعلى وبما ان هذا النوع من التحليل يعتمد على اثارة الكترونية فيطلق عليه احيانا التحليل الطيفي الالكتروني، ومن اهم الطرق التقدير الكمي طريقة قياس الامتصاصية للمحاليل، حيث يكون مجالها الكهرومغناطيسي (طول الموجي) ما بين 400-800 nm[7].

IV - 7- 2-التقدير الكمي للفينولات الكلية:

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية لRossi Singleton (1965) باستعمال كاشف الفولين Folin ciocalteu، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) و حمض فوسفوموليبيدات ($H_3PMo_{12}O_4$) والذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنغستين (W8O23) والموليبدين (Mo_8O_3) ذات اللون الازرق.

ويتم تقديرها كميا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية وباستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي λ = 765nm [7].

- **المنحنى القياسي للغاليك:**

يتم تحضير محاليل مخففة من مركب الغاليك تراكيزها تتراوح ما بين (0.03 - 0.3 mg/ml)في أنابيب اختبار، يأخذ 0.2ml من المحلول المخفف ويضاف له 1mlمن كاشف (Folin ciocalteu) المخفف 10مرات، ثم نضيف للمزيج 0.8ml من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3، 7.5%)، و يرج المزيج جيدا ويحضن في درجة حرارة المخبر بعيدا عن الضوء لمدة 30 دقيقة .
تتم بعد ذلك قراءة الامتصاصية الضوئية لكل تركيز بجهاز UV-Visible عند طول موجي λ=765nm.

- **طريقة العمل:**

يتم تحضير من كل مستخلص عضوي تراكيز مختلفة وتعامل بنفس الطريقة التي عومل بها مركب الغاليك.

IV -7 -3 - التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية:

يتم تحديد كمية الفلافونيدات الكلية وفق الطريقة اللونية لكلوريد الألمنيوم التي وصفها Chang et al واعتمدنا على طريقة Woisky and Salationمع بعض التعديلات الطفيفة، ويمكن تقديرها كميا عن طريق التفاعل مع كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ وتكوين معقد ذو لون الاصفر مع الفلافونيدات .
تقدر المركبات الفلافونيدية كميا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجي λ=420nm حيث نستعمل الروتين كفلافونويد مرجعي، ولأجل التقدير الكمي للمركبات الفلافونيدية نستعمل المنحنى القياسي للروتين[8] .

- **المنحنى القياسي لمحلول الروتين:**

يتم تحضير عدة تراكيز من محلول الروتين محصورة بين (0.1 mg/ml - 0.02) حيث نأخذ من كل تركيز1.5ml ونضيف له1.5ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ ذو تركيز % 2 ثم يرج المزيج جيدا ونتركه في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة في الظلام، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول موجي λ=420 nm .

- **طريقة العمل:**

تم تحضير عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات العضوية المخففة وتعامل بنفس الطريقة التي عومل بها الروتين.

IV -7- 4- التقدير الكمي للفلافانول:

يتم تقدير كمية الفلافانول بطريقة Kumaran et Karunakaran بواسطة جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجي λ= 440 nm وقد اختير الكرستين كفلافانول مرجعي[9] .

- **المنحنى القياسي للكرستين :**

تم تحضير عدة تراكيز مخففة من الكرستين، ويأخذ من كل تركيز2ml في أنابيب ويضاف له 2ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم (2%) و 3ml من خلات الصوديوم(50mg/ml) ثم تحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعتين ونصف، بعدها تتم قراءة الامتصاصية عند طول موجي λ=440nm.

- **طريقة العمل:**

تم تحضير عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات العضوية المخففة وتعامل بنفس الطريقة التي عومل بها الكرستين .

IV-8- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية :

هي قياس لقدرة المركب أو المستخلص العضوي في تثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة، حيث تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها : اختبار(ABTS)، اختبار(DPPH)، اختبار (FRAP) و اختبار القدرة الارجاعية، هذه الطرق تعتمد على التلوين ونزع التلوين وتقدير الامتصاصية عند طول موجي معين [10].
وفي دراستنا هذه قمنا باختبار: DPPH و ABTS.

IV-8 -1- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

يتم قياس النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص بتقدير النشاط الكابح لتشكل الجذور الحرة، حيث يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذور الحرة DPPH وذلك اعتماد على قابلية إعطاء المستخلصات النباتية لذرة الهيدروجين حيثُ يمّكن تتبع عملية الارجاع مركب DPPH لونيا باستعمال جهاز الطيف اللوني وهذا بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية، هذا الانخفاض يمكننا من معرفة قدرة المستخلصات النباتية من تثبيط الجذور[11] .

•تحضير محلول DPPH:

يتم تحضير محلول DPPH بإذابة2mg من ثنائي فينيل هايدرازيل في 50 ml من الميثانول فتتحصل على محلول بنفسجي داكن ذو التركيز µM 100 .

ملاحظة:

لتحديد نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH نستعمل حمض الاسكوربيك لغرض المقارنة بالمستخلصات النباتية المدروسة .

•المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك (AA):

يتم تحضير عدة تراكيز مخففة من (AA) محصورة بين (0.1 -0.01mg/ml) ويأخذ من كل تركيز 1.5ml ويضاف له1.5ml من محلولDPPH، نجانس المزيج ويترك 30 دقيقة في الظلام وبعدها تتم القراءة الامتصاصية عند طول موجي λ = 517nm.

•طريقة العمل:

يتم تحضير عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات العضوية المخففة ويعاملها بنفس الطريقة التي عامل بها حمض الاسكوربيك.

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

وتحسب نسبة التثبيط المئوية وفق العلاقة التالية:

$$I\% = [(A_0 - A_i) / A_{0]} \times 100$$

حيث:

A_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الخالي من العينة.

A_i: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر+ العينة).

I%: نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر.

- **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[12] .

IV-8 -2- اختبار تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS:

يعتمد اختبار ABTS على قياس قدرة المركبات المضادة للأكسدة على إزاحة جذر $ABTS^{\bullet+}$ الكاتيوني بعد تفاعل كل من ABTS (7mM) و potassium persulfate (2.45mM) (K_2SO_5) في الماء المقطر وتقاس الامتصاصية عند طول الموجي 734nm، ويستعمل BHT كشاهد للمقارنة [13].

- **تحضير محلول الجذر الكاتيوني $ABTS^{\bullet+}$:**

تم اخذ ABTS (7mM) و potassium persulfate (2.45mM) من ويتم اذابتهما في الماء المقطر، يترك المزيج في الظلام و درجة حرارة الغرفة مدة 12-16 h . يتم تخفيف محلول $ABTS^{\bullet+}$ في الميثانول إلى غاية الوصول إلى امتصاصية (0.01 ± 0. 76) عند طول موجي 734 nm [14].

- **تحضير محلول BHT**:

تم تحضير عدة تراكيز مخففة من محلول BHT محصورة بين (0.1mg/ml -1) واخذ من كل تركيز 10µl ويضاف اليه 1ml من محلول $ABTS^{\bullet+}$ ويمزج المحلول و يترك في الظلام، تقرا الامتصاصية بعد 10 دقائق عند طول الموجي 734 nm.

- **طريقة العمل:**

تحضر عدة تراكيز مخففة من المستخلصات العضوية و تعامل بنفس طريقة محلول BHT.

وتقاس نسبة التثبيط (I%) للمستخلصات كالتالي:

$$I\% = (A_C - A_E) / Ac) / 100$$

A_C : الامتصاصية في غياب المثبط (الشاهد)

A_E :الامتصاصية في وجود المثبط (العينة)

IV -9- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكهروكيميائية:

التقنيات الكهروكيميائية ايضا طبقت في تحديد الفعالية المضادة للأكسدة حيث استخدمت التقنية الامبيرومترية و البيامبيرومترية و التقنيات الفولتامترية الحلقية وهي تعتبر من احسن الطرق لما تميزت به من مصداقية ودقة في العمل . وفي هذه المذكرة تمت دراسة تقنية الفولتامتري الحلقي في التحليل المنجز وهي الأكثر استعمالا على نطاق واسع [15].

IV -9-1- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالفولتامتري الحلقي:

تم التطرق إلى دراسة السلوك الكهروكيميائي للمركبات المدروسة بواسطة الفولتاأمبيرومتري الحلقي في وسط عضوي *DMF* ، و في وجود الملح (TNBHFP) بتركيز 0.1M و ذلك فوق مسرى من الكربون الزجاجي (*CV*) ذا قطر *(0.1cm* مسرى العمل) أما المسرى المرجعي فهو عبارة عن مسرى الكالومال (*ECS)* المشبع ب KCL .

قمنا بتحديد مجال الكهروفعالية لأكسدة و ارجاع الأكسجين على قطب الكربون الزجاجي، حيث حدد المجال [0-1600-]، سرعة المسح *100 mV/s* [15] .

- **جهاز التحاليل الكهروكيميائية (PGZ 301 POTENTIOSTAT TYPE) (VOLTALAB40):**

صنع الجهاز من طرف (*Radiometer Analytical SAS*) و تتم معالجة المعطيات بواسطة برنامج تشغيل (Volta Master 4) مبرمج في جهاز كمبيوتر متصل بالجهاز و يكون الجهاز متصل بخلية كهروكيميائية مصنوعة من الزجاج وبها غطاء يحتوي على خمس ثقوب، ثلاثة تسمح بدخول الاقطاب (العمل، المرجع، المساعد) والرابع يتيح دخول و تزويد الوسط داخل الخلية بالأوكسجين، وثقب خامس خاص بإضافة المواد.

- **أقطاب جهاز التحاليل الكهروكيميائية :** [16][17]

الاقطاب	تعريفه	صورة توضيحية
قطب العمل (CV)	وهو عبارة عن اسطوانة من الكربون الزجاجي قطرها *3mm* ، يتم تنظيف هذا الأخير بعد كل عملية باستعمال ورق خاص*ECSCILG*» ، «*P54*يحتوي على مادة كاشطة بعدها ينظّف بالماء المقطر ثم بالأسيتون ويجفف، صنع (*Radiometer Analytical SAS*) وهوالقطب الذي تتم عليه تفاعلات الأكسدة والإرجاع.	

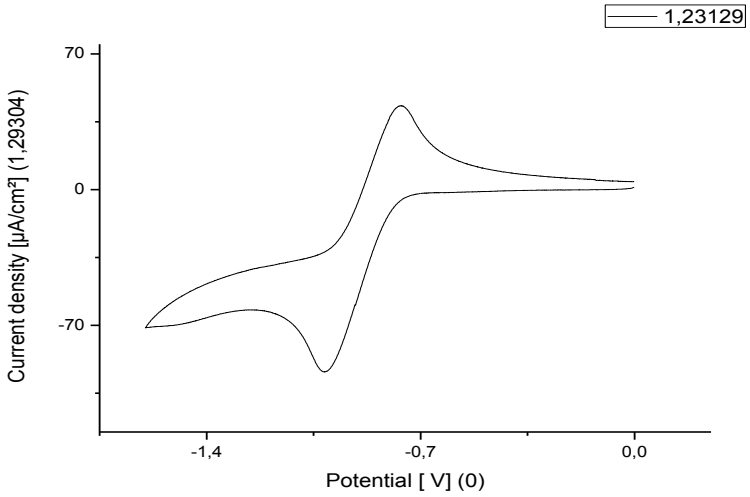
القطب المساعد	وهو عبارة عن سلك من البلاتين قطره0.5cm، وظيفته إغلاق الدارة، صنع *(Radiometer Analytical SAS)* .	
قطب مرجعي (ECS)	هو قطب الكالومال المشبع بكلوريد البوتاسيوم صنع *(Radiometer*	

الشكل(IV -3) المكونات الاساسية لجهاز *(VOLTALAB 40، PGZ 301)* وخلية العمل

- **تحضير المحاليل وطريقة العمل:**

تم تحضير تركيز 0.1 M من ملح (TNBHFP)، يمزج مع المذيب العضويDMF ويوضع في خلية العمل، لتزويد الوسط بالاوكسجين وتدوم عملية الرج لمدة 10 دقائق و ذلك للعمل في محلول متجانس.

تبدأ التجربة حيث الشروط المحددة سابقا، فيتم الحصول على منحنى الاكسجين في الوسط العضويDMF في وجود الالكتروليت المساعد(TNBHFP).



منحنى(IV -1) فولتموغرام الأكسجين في الوسط العضوي (DMF) في وجود (TNBHFP) 0.1 M،بقطب كربوني (*CV*)، 100mV/s،*mV* (0 à -1600) =E.

IV -9-2- رسم منحنيات الفولتاأمبيرومترية الحلقية للكرستين:

تم تحضير تركيز 2 mg/ml من الكرستين (مركب قياسي) في المذيب العضوي*DMF* ، وباستخدام حقنة بحجم 1ml تتم إضافة محلول الكرستين المحضر تدريجيا بحجوم مختلفة من 0.1 إلى 1ml بحيث يتغير التركيز في الخلية عند كل إضافة ونرسم المنحنيات الفولتاأمبيرومترية الحلقية الخاصة بكل اضافة عند نفس الشروط :

- الكمون (E) من [0-1600]
- سرعة المسح 100 mV/s.
- درجة الحرارة 25 °C.

IV-9-3-رسم منحنيات الفولتاأمبيرومترية الحلقية للعينات:

بنفس التقنية وتحت نفس الشروط السابقة التي تعاملنا بها مع حمض الكرستين نعامل بها المستخلصات المدروسة لنبتة الحلمة، و نرسم المنحنيات الفولتاامبيرومترية الحلقية حيث نضع كمية محددة من مستخلص الذي قدره تركيزه في الخلية بـ20 mg/ml من كل عينة.

IV-9-4- تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة اعتمادا على الميل:

عند رسم المنحنيات الفولتاأمبيرومترية الحلقية للحجوم المضافة للمركب القياسي ومستخلصات (من 0.1*ml* إلى 1 *ml*) نقوم بتحديد كثافة التيار المصعدية لكل فولتاموغرام لرسم منحنى قياسي للكرستين بدلالة التركيز.

$$ip_a = f(c)$$

حيث :

C: تركيز الكرستين او المستخلص (mg/ml).

ip_a: كثافة التيار المصعدية [$\mu A/cm^2$].

من معادلة المنحنى الخطي نحدد قيمة الميل لكل من المركب القياسي والمستخلصات نحدد الفعالية بحيث المركبات الأقل ميل اكثر فعالية [15].

IV-9-5- تقدير اجمالي الفعالية المضادة للأكسدة(TAC) :

يتم تحديد اجمالي الفاعلية المضادة للأكسدة من خلال حساب المقدار TAC .

- **تعريف المقدار TAC:**

يعرف المقدار TAC على أنه نسبة القدرة (مضاد أكسدة) اللازمة لتثبيط الجذور الحرة($O_2^{\bullet-}$)

والذي يحسب من خلال تحديد قيم كثافة التيار من القمة المصعدية للفولتاموغرام الحلقي المتغيرة بدلالة

تركيز العينات المحدد عند ($0.1mg/ml$)لكل عينة[18] .

حيث تحسب نسبة التثبيط وفق العلاقة التالية:

$$TAC = \frac{ip_{aO_2^{\bullet}} - ip_a}{ip_{aO_2^{\bullet}}} \times 100$$

حيث:

TAC: اجمالي الفعالية المضادة للأكسدة لتثبيط الجذر الحر $O_2^{\bullet-}$.

ip_a: كثافة تيار الاكسدة للجذر الحر $O_2^{\bullet-}$ في وجود العينة .

$ip_aO_2^{\bullet}$: كثافة تيار الأكسدة للجذر الحر $O_2^{\bullet-}$ في غياب العينة.

المراجع

المراجع بالأجنبية :

[1] E.Shohami ،I .Gati ،E .Biet-Yannai ،V .Trombovler ،R .Kohen ،Neuratrauma J ،(1999)

[2] S. Chevion ،M.A. Roberts ،M.Chevion ،*Frre Radical Biology and Medicine* ،(2000).

[3] S. Chevion ،M .Chevion ،P.B .Chock ،G.R. Beecher ،Jornale of Medicinal Food ،(1999).

[4] P.ARCHANA ،T.SAMATHA ،B.MAHITHA ،N.RAMASWAMY.PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL screening from leaf and seed exaracts of Senna alata L.Roxb- an Ethnomedicinal plant. Journal of pharmaceutical and biological research (2012) ،vol.3 ،p82-85.

[5] K.obaweya ،G.ayoola ،H.coker ،S.adesegun ،A.adepoju-bello ، E.ezennia ، T.atangbayila. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria . Journal of pharmaceutical Research ،2008 ،Vol.7 ،P 1021.

[6] N.savithramma ،M.limga rao and D.suhrulatha. Screening of medicinal plants for Secondary metabolites. Journal of Scientific Research ،2011 ،Vol.8 ، P 580-581.

[7] L.Bellebcir ;(2008) ،" Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales " ،Thèse de magister ، Université Mentouri de Constantine ،p35.

[8] J .Zhishen ،T .Mengcheng ،W .Jianming ،the determination of flavonoid Contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals ،Food chemistry(1999).

[9] Mbaebie .BO ،Edeoga. HO ،Afolayan. AJ ،"Phytochemical analysis and Antioxidants activities of aqueous stem bark extract of Schotia latifolia Jacq." Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine ،2012.

[11] S.DJEDDI ،A.KARIOTI ،E.P.K. YANNAKOPOULOU ،R.CHATTER And H.SKALTSA ،2013- Analgesic and Antioxidant Activities of Algerian Retama (Forssk.) Webb & Berthe l Extracts. Rec ،Nat ،Prod ،(7):3 ،Academy of Chemistry of Globe Publications ،p: 169-176.

المراجع :

[12] RAMESH D ،RAMESH D ،PRASHITH ،T.R. Kekuda ،Onkarappa R ،

K.S. Vinayaka ،Raghavendra L . ،2015 - Journal of Chemical Pharmaceutical Research ،7(1) ،105-110p.

[13] Re ،R. ،N.Pellegrini ،A.Proteggente ،A.Annala ،M.Yang ،C.Rice- Evans ، (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourisation assay. Free Radical Biology and Medicine 26 ،1231- 1237.

[14] Igbinosa, Isoken H. Igbinosa, Vincent N. Chigor, Olohirere E. Uzunuigbe ,Sunday O. Oyedemi, Emmanuel E. Odjadjare, Anthony I. Okoh 2 and Etinosa O. Igbinosa ,Polyphenolic Contents and Antioxidant Potential of Stem Bark Extracts from Jatropha curcas (Linn) Osamuyimen O.,International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12, 2958-2971.

المراجع بالعربية :

[10] ب. مصطفى .، (2008)، دراسة فيتو كيميائية للبيبيدات والفينولات في بعض انواع التمر المحلي، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص تحضير العضوي و الفيتو كيميائي، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

[15] خ. تواتي حمد.، 2012 تقدير الاجمالي الفعالية المضاد للأكسدة لحبوب اللقاح والبروبوليس لمناطق مختلفة في الجزائر "استعمال السلم الجديد".مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر أكاديمي جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي.

[16] س. شيحي.، دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلص الفلافوني لنبات (Euphiria Guyoniana) على تآكل الفولاذ في وسط حامضي، مذكرة ماجستير، جامعة ورقلة 2009.

[17] ر.شاربي.، دراسة مقارنة للفعل التطبيقي لبعض المركبات ثنائي ثيول الحلقي وثلاثي مثيل فيروسينيل امونيوم، مذكرة ماجستير، جامعة ورقلة ص 50 .

[18] ا.د.العانز التهامي، ا.ربيعي عبد الكريم "براعات اختراع "مودعة بتاريخ افريل 2012.

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

V - 1: نتائج الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية:

- **في العينة النباتية الجافة:**

الجدول(V-1): نتائج الاختبارات

		مستخلص ايثرالبترول 1	مستخلص الكلوروفورم2	مستخلص الماء المقطر3	مستخلص الايثانول 4
التانينات	اختبار Wagner	+	+	-	+
	اختبار FeCl3	++	+	-	+++
الفلافونيدات	اختبار shinoda	-	-	++	-
	اختبار NaOH	-	-	+++	-
اختبار التاتينات		-	+++	+	++
اختبار الكومارينات		-	-	-	-
اختبار الستيرويدات والتربينات	اختبار Salkowski	-	-	-	-
	اختبار Libermann-Burchard	-	+++	+	++
اختبار الصابونوزيدات		-	-	+++	-

حيث:

(-) : غياب المادة الفعالة (+) : وجود المادة الفعالة

(++) : وجود المادة الفعالة بكمية مقبولة (+++) وجود المادة الفعالة بكمية مقبولة جدا

و نعتمد على الترميز التالي:

مستخلص1 : مستخلص البيتانول(ميثانول/ماء)

مستخلص2:مستخلص اسيتات الايثيل(ميثانول/ماء)

مستخلص3: مستخلص البيتانول (اسيتون /ماء)

مستخلص4 :مستخلص اسيتات الايثيل(اسيتون/ماء)

- **نتائج اختبار الفلافونيدات لمستخلص النبتة :**

الجدول(V-2): نتائج اختبارالفلافونيدات لمستخلصات النبتة

		مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4
اختبار NaOH	في الميثانول	+	+	+	+
	في الماء المقطر	+	+	+	+

من خلال نتائج المسح الفيتو كيميائي الأولي تبين أن نبتة *Moltkia ciliata* غنية بمعظم منتجات الأيض الثانوي وبالأخص الفلافونيدات وهذا ما أكدته نتائج المسح التي أجريت على المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق الفصل الانتقائي سائل- سائل.

وعند مقارنة نتائج هذه الاختبارات بنبات آخرمن نفس النوع (***Acalypha ciliata***) ، إتضح التشابه بينهما ويعود ذلك لكونهما من نفس النوع ،المناخ و التربة .

- تعتبر الفلافونويدات من المركبات التي تلعب دورا دفاعيًا فوجودها في النبات يمكن أن يفسر أنها نوع من أنواع مضادات الأكسدة [1]،وهي مواد تقي النباتات من البكتيريا[2]،وتملك أيضا خاصية مضادة للفيروسات والميكروبات.[3]
- يزيد انتاج فلافونويدات من طرف النبات لمقاومة الإجهاد الحراري والمائي المعرض له. [1]
- لتانينات دور هام في النبات فهي تتواجد عادة بشكل مركز في أجزاء النبات مثل الأوراق و السيقان [4]،وتعتبر كمضادات للأكسدة في النبات لأنها ضمن مجموعة عديدات الفينول وتحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة وتحافظ على حياته،لها خاصية جذب الأكسجين لإحتوائها على الفينول وبالتالي لها وظيفة تنفسية لزيادة قدرة النبات للحصول على الأكسجين .[5]
- التربينات والسترويلات يفسر أنّ النبات ينتج هذه المادة لتوفر الأنسجة الخاصة كالخلايا الغدية و القنوات الزيتية [6] .
- ربما يعود وجود الصابونيات في النبات للمرحلة العمرية لنبات لكونها مواد مرة الطعم تعمل على طرد الحيوانات آكلات الأعشاب لإستمرار مراحل النمو [7] .

V -2: مردود الاستخلاص:

يحسب بالعلاقة التالية :

$$R\% = (m_f / m_i) \times 100$$

حيث :

m_f: كتلة المستخلص العضوي المتحصل عليه .

m_i : كتلة العينة النباتية.

الجدول(V-3): مردود الاستخلاص

المستخلصات العضوية	مستخلص 1	مستخلص2	مستخلص3	مستخلص4
مردود الاستخلاص %	1.08	1.02	0.24	0.26

من خلال النتائج الموضحة في الجدول (V-3) تمت ملاحظة اختلاف في مردود الاستخلاص بين المستخلصات العضوية، ترتبط قيم المردود بخصائص وطبيعة المذيب من حيث القطبية و الطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في النبات مما يدل على أنها غنية بالمركبات النشطة حيث أنه كلما زادت أنواع وكميات المركبات النشطة في النبات زاد معها المردود. [8]، حيث مردود الاستخلاص للمستخلص 1و المستخلص 2أخذا أعلى قيمة ويعود ذلك لغنى النبتة بالمواد القطبية بينما المستخلصات الباقية مردودهما أقل، ومقارنة بين طريقتي النقع النتائج كانت متقاربة حيث :م3 < م1 و م4 < م2 واقتصرت هذه المذكرة على دراسة مستخلص n-Butanol ومستخلص أسيتات وذلك باستعمال مذيبين مختلفين.

V - 3 : نتائج الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM : (أنظر للملحق 3)

✓ **الطور المتحرك الأول:** Méthanol/chloroform/n-butanol(1/1/1) :

الجدول(V-4): نتائج الفصل بـ CCM للطور المتحرك (كلوروفورم/ميثانول/بنتانول)

المستخلص	الطور المتحرك	عدد البقع	التظهير بـ UV(254nm)
مستخلص أسيتات (ميثانول/ ماء) n-Butanol	Methanol/chloroforme/n-butanol 1/1/1	1 2 3	بني أزرق بني
مستخلص أسيتات (ميثانول/ ماء)		1 2 3 4 5	بنفسجي أزرق مشع أصفر أزرق مشع أصفر
مستخلص n-Butanol (اسيتون/ ماء		1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	بني بنفسجي أزرق بنفسجي أخضر أزرق مشع بني مصفر بني فاتح بني فاتح بني فاتح
مستخلص أسيتات (اسيتون/ماء)		1 2 3 4 5	بني مصفر بني فاتح بنفسجي أصفر أزرق مشع

✓ **الطور المتحرك الثاني : Méthanol/chloroform/eau(5/20/0.5):**

الجدول(V-5): نتائج الفصل بـ CCM للطور المتحرك ميثانول/كلوروفورم/ماء

المستخلص	الطور المتحرك	عدد البقع	التظهير بـ UV(254nm)
مستخلص n-Butanol (ميثانول/ ماء)	Méthanol/chloroforme/eau 5/20/0.5	1 2 3 4 5 6 7	أخضر أزرق مشع بنفسجي بني بنفسجي أزرق مشع بني
مستخلص أسيتات (ميثانول/ ماء)		1 2	أزرق مشع بني
مستخلص n-Butanol (أسيتون/ ماء		1 2 3 4 5 6 7 8 9	أصفر مشع أصفر أصفر بنفسجي بني أزرق مشع أصفر أزرق بني
مستخلص أسيتات (أسيتون/ماء)		1 2	بني بني فاتح

✓ **الطور المتحرك الثالث:** Méthanol/chloroform(1/3)

الجدول(V-6): نتائج الفصل بـ CCM للطور المتحرك ميثانول/كلوروفوررم

المستخلص	الطور المتحرك	عدد البقع	التظهير بـ UV(254nm)
مستخلص n-Butanol (ميثانول/ ماء)	Méthanol/chloroforme 1/3	1 2 3 4 5 6 7 8	بني بنفسجي أزرق مشع بني بني بني بني بني مصفر
مستخلص أسيتات (ميثانول/ ماء)		1 2 3 4 5 6 7	بني بنفسجي أزرق بني بني بني مصفر بني
مستخلص n-Butanol (اسيتون/ ماء		1 2 3 4 5 6 7	بني بني بنفسحي أزرق مشع بني بني مصفر أصفر
مستخلص أسيتات (اسيتون/ماء)		1 2 3 4 5 6	بني فاتح بني فاتح بني فاتح أزرق مشع بني بني

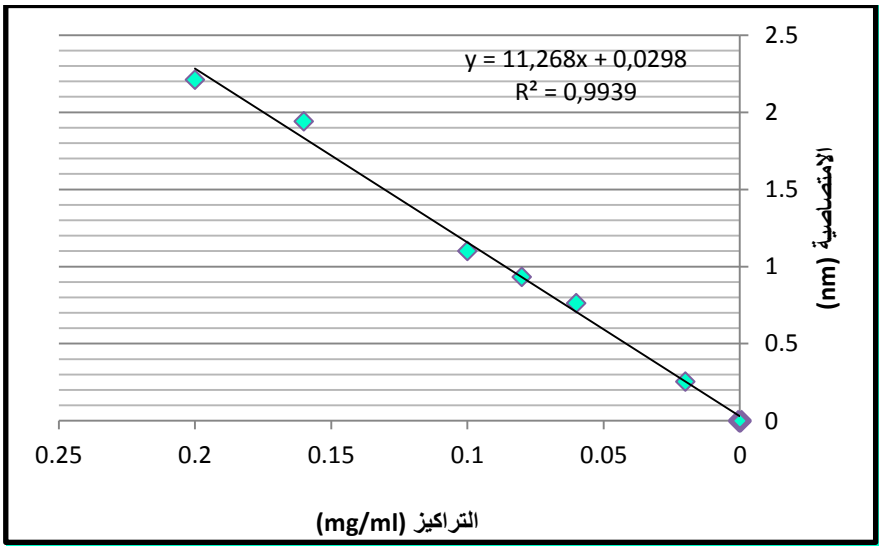
عموما من خلال النتائج الموضحة في الجدول اعلاه يتبين أنه تم فصل 5 مركبات من مستخلص n-Butanol(ميثانول/ ماء)، 5 مركبات من مستخلص أسيتات (ميثانول/ ماء)، 11 مركبات من مستخلص n-Butanol (اسيتون/ ماء)، 7 مركبات من مستخلص أسيتات (اسيتون/ماء)، ومن خلال الألوان التي لوحظت بواسطة UV ومقارنتها مع النتائج الموجودة في الجدول (2-II) تم التوصل إلى احتمال وجود أنواع الفلافونيدات التالية :

- **بنفسجي :** فلافون أو فلافونول تحوي OH في الموضع C5و OH في الموضع C4 مستبدلة أومحذوفة.
- **بني :** بعض الفلافافونات تحوي **OH** في الموضع C_5أو شالكونات تحوي OH في الوضع C_4 وتفتقد الى **OH** على الحلقة العطرية **B** .
- **أزرق مشع :** إيزوفلافون لا يحوي OHفي الموضع C5حر.
- **أصفر :** فلافونول يحوي OH في الموضع C_3 مع أو عدم تواجد OH حرة في الموضع C_5.

V -4-التقدير الكمي باستخدام جهاز الاشعة فوق البنفسجية و المرئية :

V-4-1- التقدير الكمي للفينولات الكلية:

قدرت الفينولات الكلية بالاعتماد على طريقة كاشف Folin-Ciocalteu و استعمل الغاليك كمركب قياسي ، أظهر هذا التحليل ان الكثافة الضوئية تتناسب طردا مع تركيز الغاليك ورسم المنحنى بشكل خطي(R^2=0.9939) وهو يعبر عن المحتوى الفينولي في كل مستخلص بـ *mg* لكل 1*g* من الوزن الجاف للعينة و قمنا بقياس الكثافة الضوئية في طول موجي λ max = 765nm

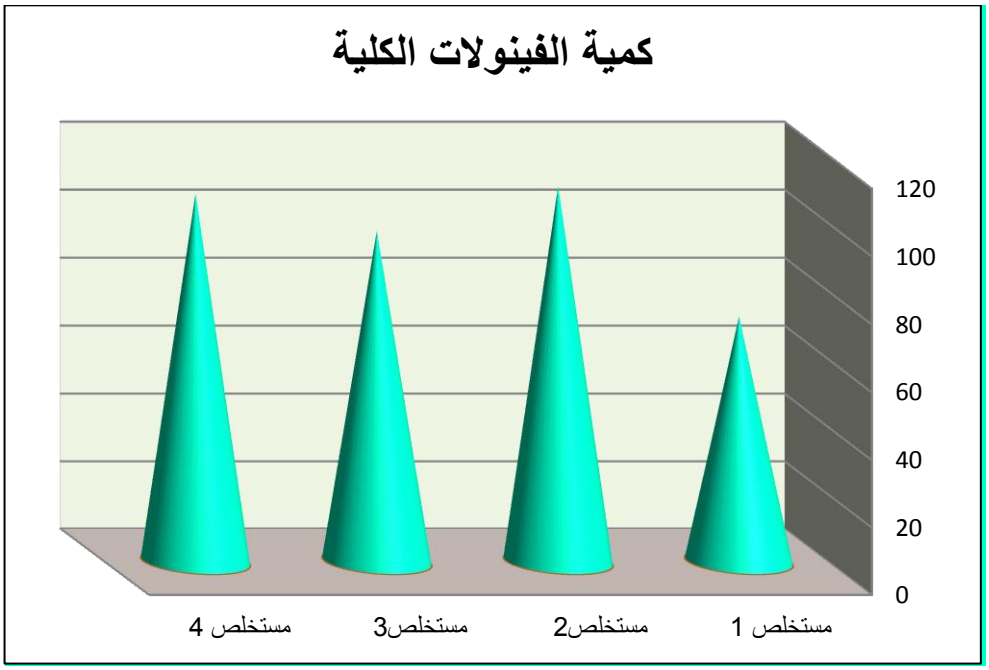


منحنى (V- 1): المنحنى العيارى للغاليك

من خلال نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية وبالاستعانة بمعادلة المنحنى العياري الغاليك تم تقدير كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة بـ (mg EG/g) كما هو موضح في الجدول:

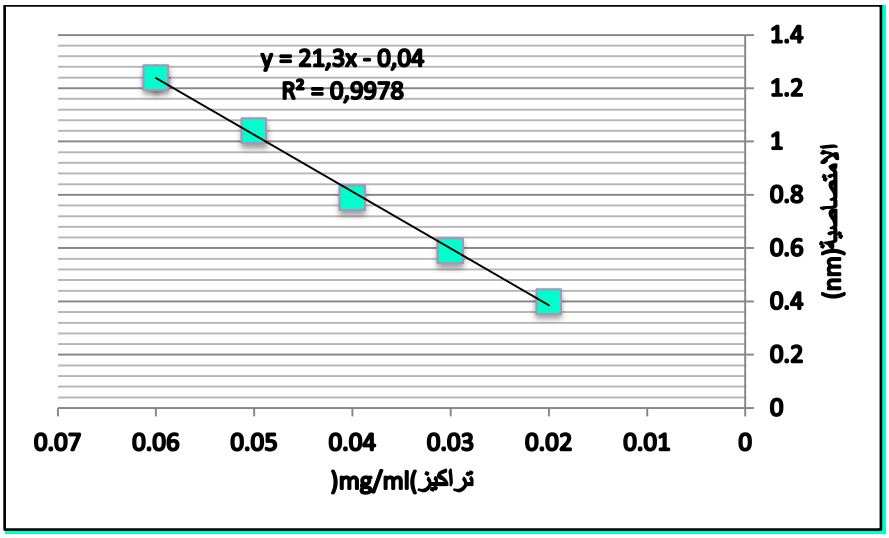
الجدول (V-7):نتائج التقدير الكمي للفينولات

العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص3	مستخلص 4
التراكيز (mg/ml)	0.8	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية (nm)	0.72	1.03	0.91	1.01
الكمية mgEG /g	76.56	110.95	97.64	108.73



الشكل (V- 1): التمثيل البياني للتقدير الكمي للفينولات الكلية

V-4-2- التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية:

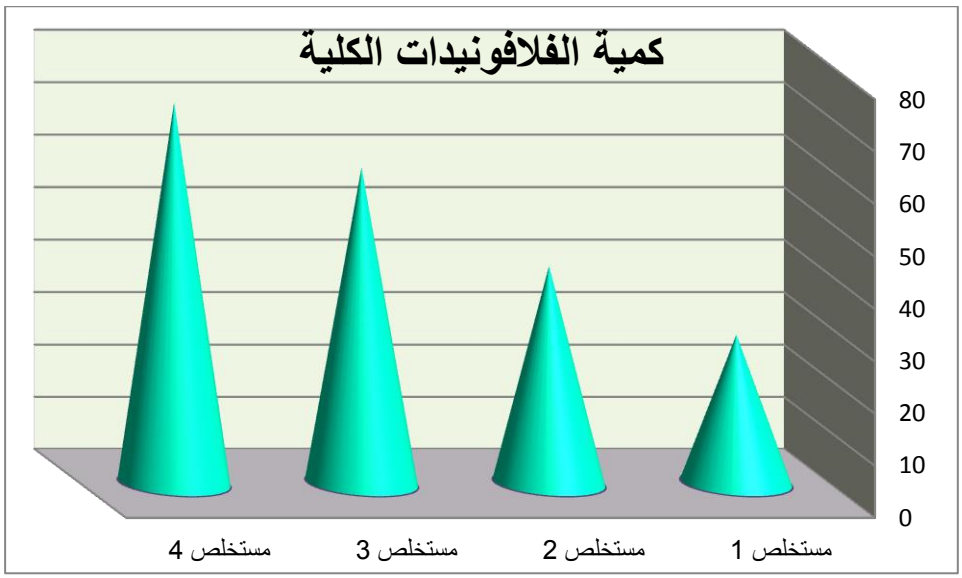


منحنى (V-2) : المنحنى العيارى للروتين

من خلال نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة للمستخلصات وبحسابات رياضية وبالاستعانة بمعادلة المنحنى القياسي الروتين تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير كمية الفلافونيدات بـ mg ER/g كما هو موضح في الجدول :

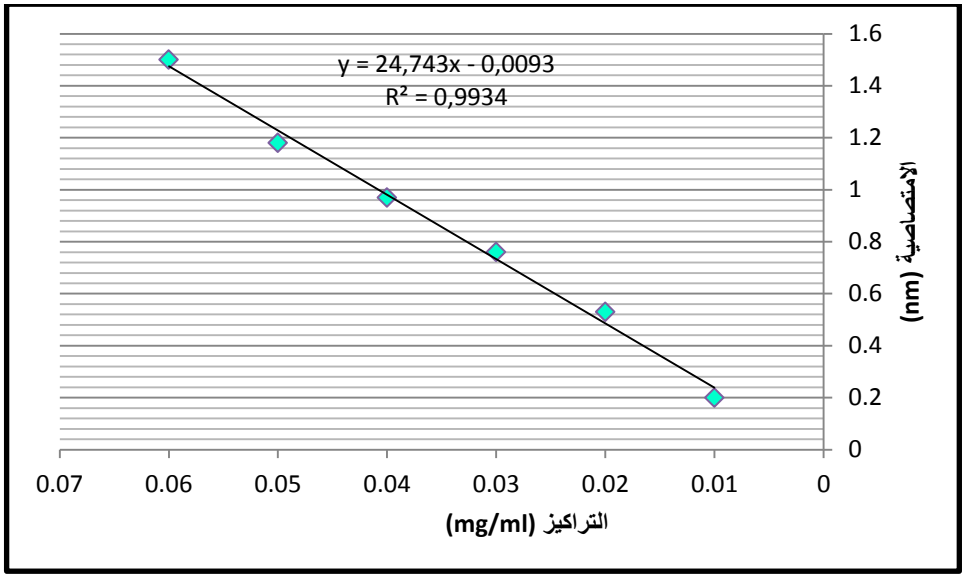
الجدول (V- 8):نتائج التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية

العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص3	مستخلص 4
التراكيز (mg/ml)	2	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية (nm)	0.44	0.67	0.99	1.20
الكمية mg ER/g	28.56	41.66	60.44	72.76



الشكل (V-2): التمثيل البياني للتقدير الكمي للفلافونيدات

V-4-3-التقدير الكمي للفلافانول الكلي :

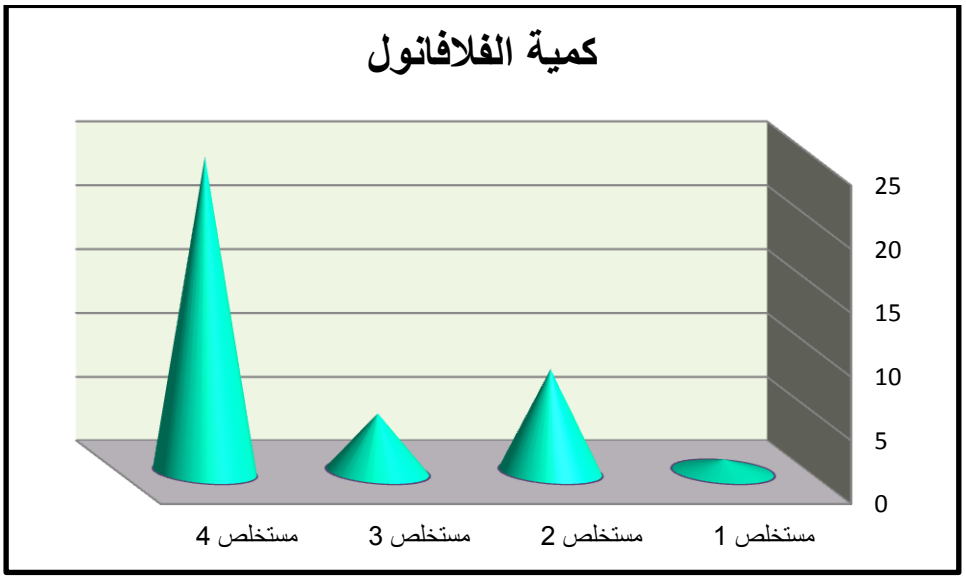


منحنى (V-3) المنحني العياري للكرستين

من خلال نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة للمستخلصات وبحسابات رياضية وبالاستعانة بمعادلة المنحنى العياري الكرستين تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير كمية الفلافونيدات بـ **mg EQ/g** كما هو موضح في الجدول :

الجدول (V-9):نتائج التقدير الكمي للفلافانول

العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4
التراكيز (mg/ml)	2	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية (nm)	0.06	0.17	0.10	0.50
الكمية mg EQ/g	1.02	8.11	4.64	24.78



الشكل (V- 3): التمثيل البياني للتقدير الكمي للفلافانول الكلي

بالمقارنة بين المستخلصات نجد ان تلك المحصل عليها من النقع (استون /ماء) تحوي على اكبر كميات من الفينولات، الفلافونيدات، الفلافانول.

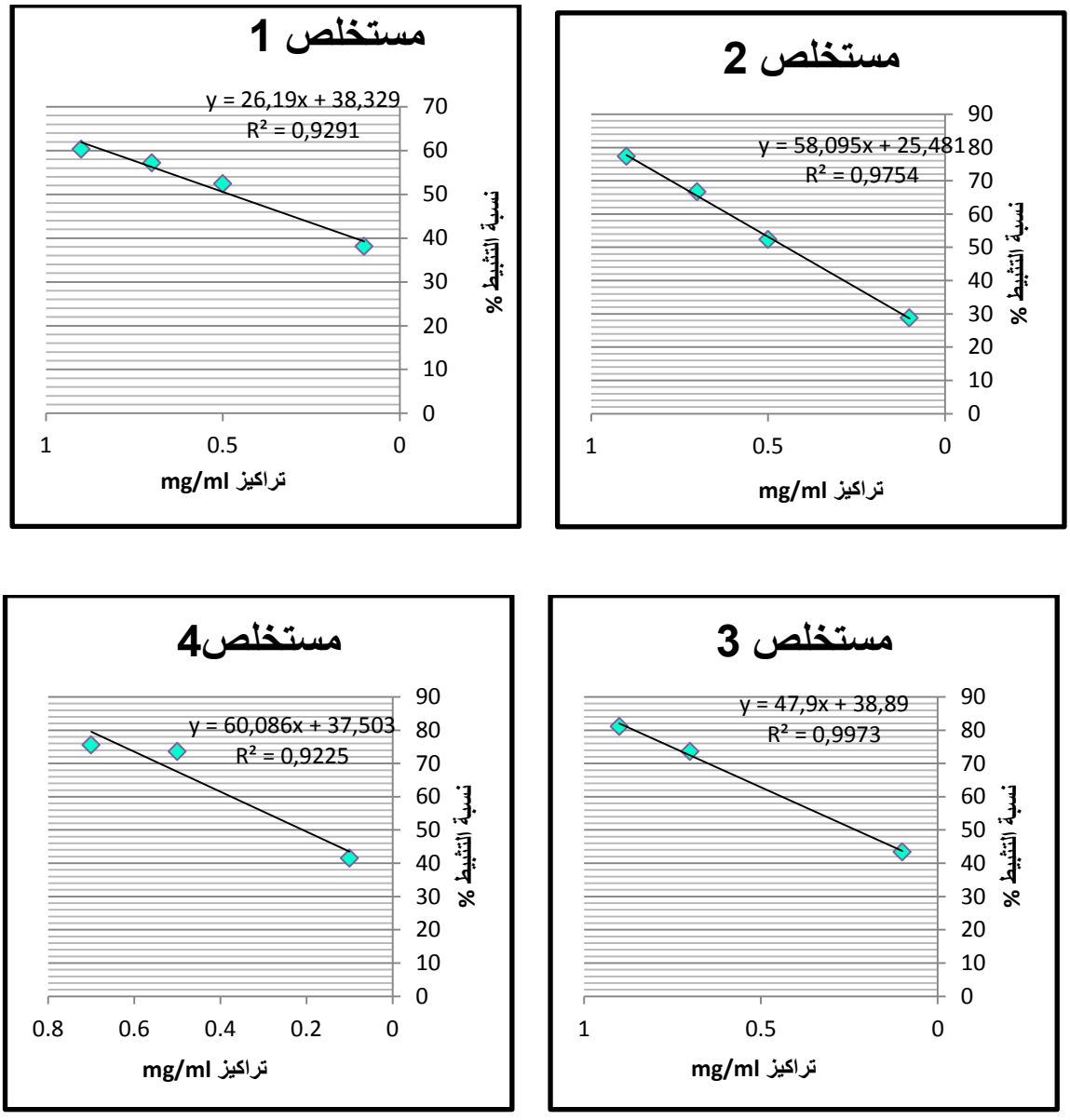
ويمكن تفسير هذا الإختلاف لتغير تركيز المركبات الحيوية بين المستخلصات ويرجع ذلك الإختلاف نوع المذيب المستعمل في الإستخلاص .

كما أن نوع المذيب وطريقة وشروط الإستخلاص تلعب دوراً هاما في تقدير كمية الفينول والفلافونيدات داخل النبتة [9] .

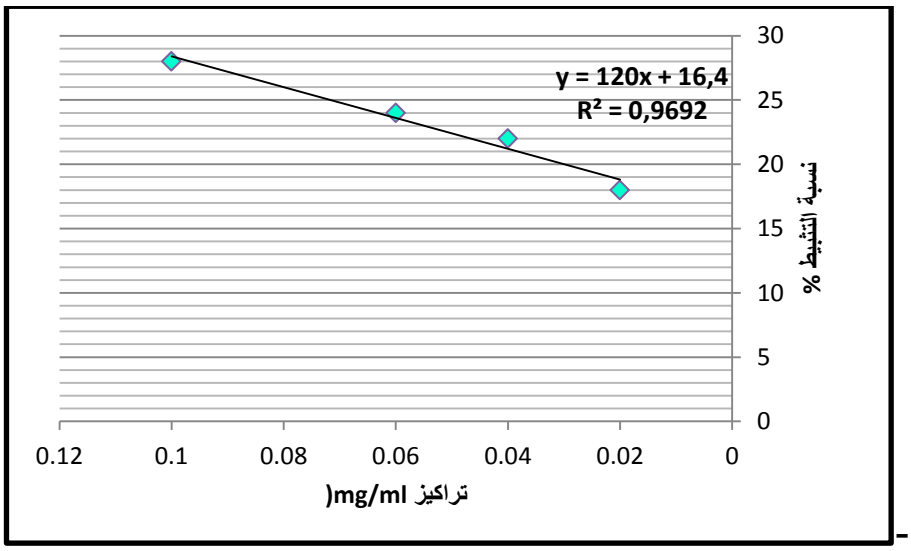
V--5 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية :

V-5-1- اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة (*Moltkia Ciliata*)، تم الاعتماد على اختبار DPPH باعتباره الاختبار الأكثر تداولا لهذا الغرض، تم استعمال حمض الاسكوربيك كمركب عياري الذي يستعمل كمادة حافظة في الصناعة الغذائية و تمت قراءة الامتصاصية و حساب النشاطية المضادة للأكسدة لمختلف التراكيز بالنسبة للمستخلصات المدروسة .



الشكل (V-4) منحنيات تثبيط جذر الحر DPPH للمستخلصات



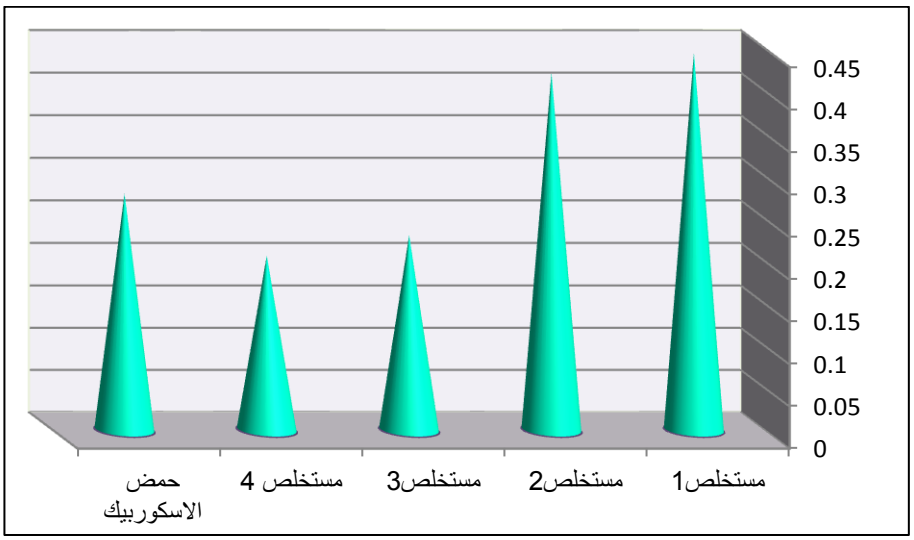
منحنى (V-4) المنحنى العياري لحمض الاسكوربيك

تحديد مقدار IC_{50}:

نستطيع حساب IC_{50} التركيز الموافق لنسبة تثبيط 50% من معادلة الخطية لكل من منحنيات التثبيط للمستخلصات النباتية و حمض الاسكوربيك .

الجدول (V-10) :قيم IC50 للمستخلصات و الاسكوربيك

العينة	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص3	مستخلص4	حمض الاسكوربيك
IC50	0.445	0.422	0.231	0.207	0.28



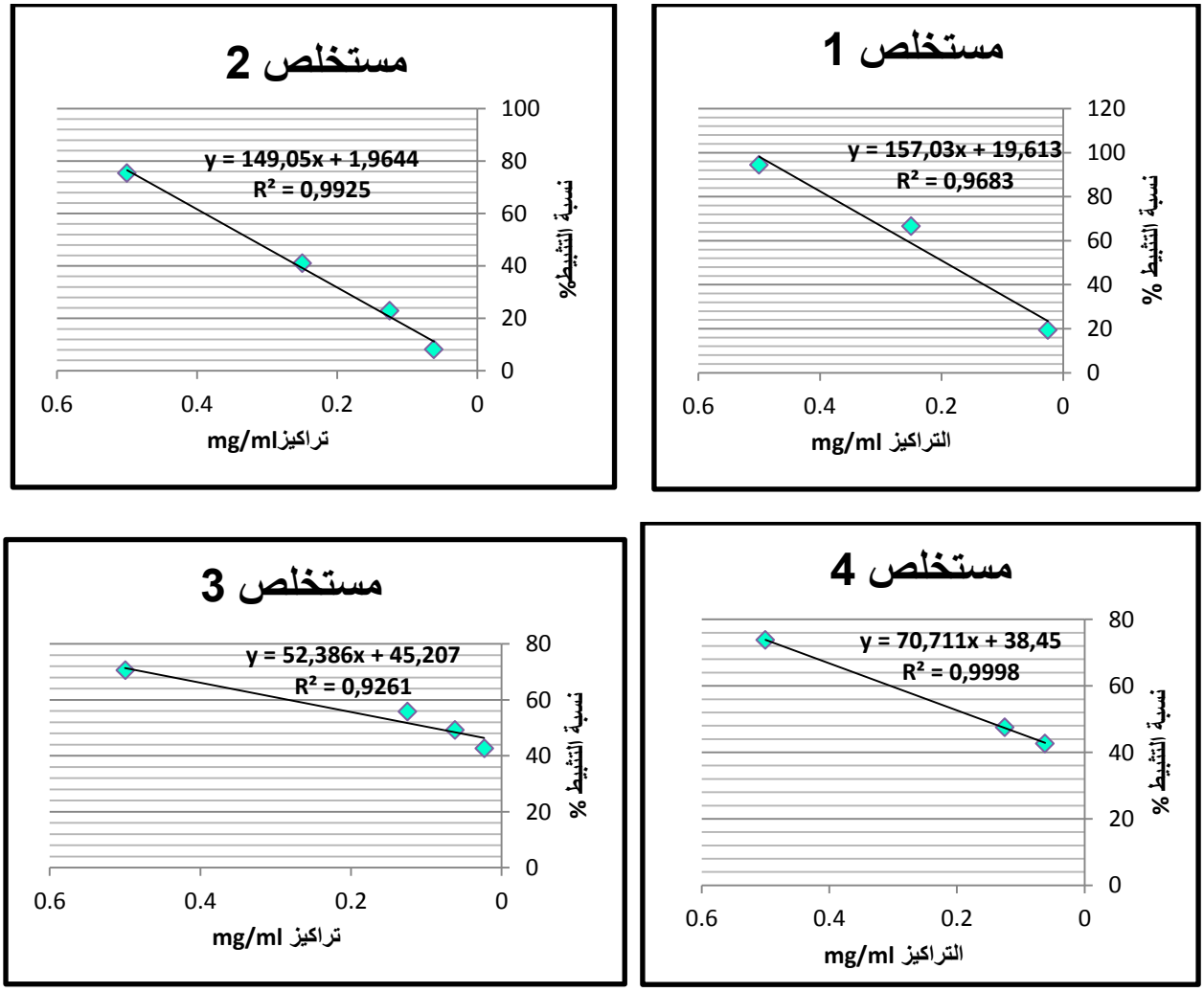
الشكل (V- 5): التمثيل البياني لقيم IC_{50} للمستخلصات و حمض الاسكوربيك

إعتمادا على دراسات سابقة كلما كانت قيمية IC_{50} صغيرة كانت الفعالية المضادة للأكسدة كبير للمستخلص.[10]، فكلما كانت قيم IC_{50} اقل كانت النشاطية الكابحة للجذور الحرة افضل، اظهرت النتائج الموضحة في جدول (V-10)لقيم IC50 ان مستخلص (4)و مستخلص (3) لديهما فعالية اكبر في تثبيط الجذر الحر DPPH مقارنة بالمستخلصات الاخرى وحمض الاسكوربيك حيث قدرت قيمة IC_{50} للمستخلص 4بـ (0.207mg/ml) و المتسخلص3 بـ (0.231mg/ml) بينما قدرت قيمة IC_{50} للمستخلص 1 بـ (0.445mg/ml) والمستخلص 2بـ (0.422mg/ml) حيث ان هذه القيم غير فعالة وذلك مقارنة بحمض الاسكوربيك والتي قدرت قيمةIC_{50} بـ (0.28mg/ml).

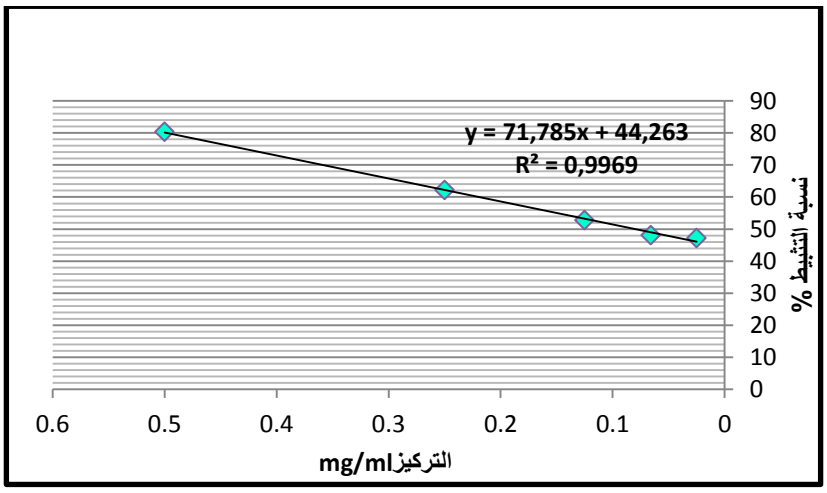
ويرجع هذا الإختلاف في النشاطية بين المستخلصات و إختلاف محتواها للمواد الفعالة.

V-2-5- اختبار تثبيط الجذر الكاتيوني ABTS:

يعتبر جذر ABTS فعالا اتجاه معظم المركبات المضادة للأكسدة، كما أنه يذوب في كل من المذيبات العضوية والمائية، لذلك يمكن استعماله لتقدير نشاطية كل من مضادات الأكسدة التي تذوب في الماء والدهون في أطوار مختلفة



الشكل (V-6) منحنيات تثبيط للجذر الكاتيوني ABTS للمستخلصات



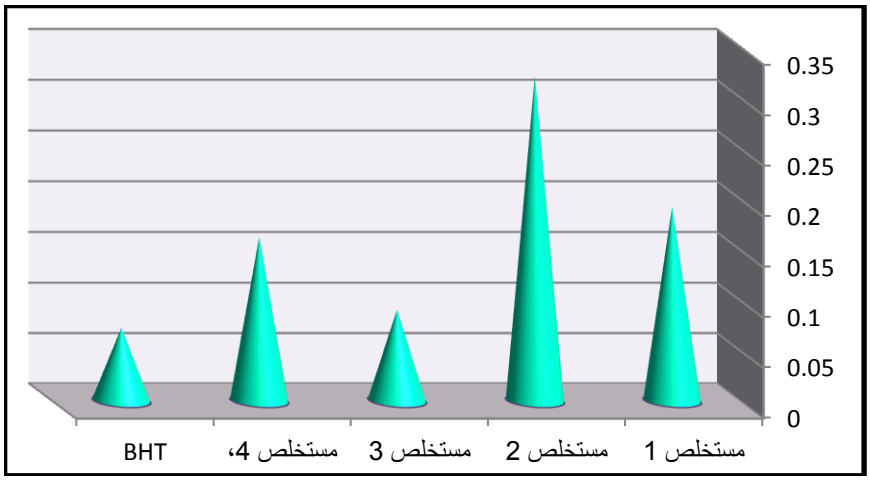
منحنى (5-V) يمثل المنحنى العياري لـ BHT

تتضح نشاطية المستخلصات في تثبيط الجذر الكاتيونيABTS من خلال ارجاع لونه من الازرق الى عديم اللون عند طول الموجي λ=734nm من خلال النتائج المتحصلة عليها في الشكل (6-V) ان قدرت المستخلصات المدروسة على ازاحة الجذر الكاتيونيABTS تتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز .

تم حساب قيم IC_{50} من المعادلات الخطية لمنحنيات التثبيط (%) للمستخلصات وحمض الاسكوربيك كما هو موضح في الجدول(**11-V**) حيثُ ان هذه القيم تمثل التركيز الموافق لتثبيط 50% من جذر كاتيوني ABTS والقيمة الاقل له تعني التاثير التثبيطي الافضل للعينة .

الجدول (11-V) قيم IC_{50} للمستخلصات وBHT

العينات	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4	BHT
IC_{50}	0.193	0.322	0.091	0.163	0.073



الشكل (7-V):التمثيل البياني قيم IC_{50} للمستخلصات وBHT

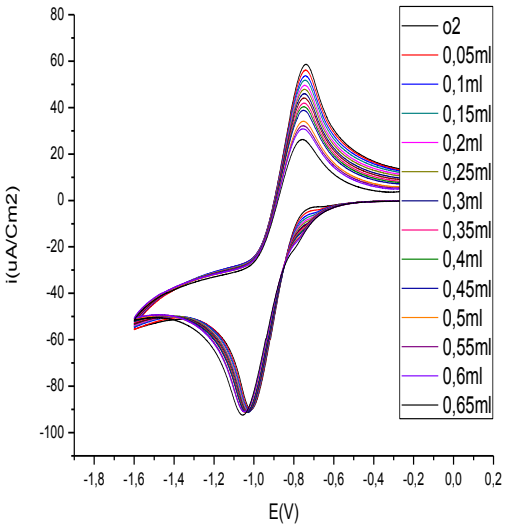
اظهرت النتائج لقيم IC_{50} المدونة في الجدول (**V-11**) ان لحمض الاسكوربيك نشاطية مضادة للأكسدة ABTS تفوق باقي المستخلصات بقيمة (0.073 mg/ml)، بينما ابدت المستخلصات نشاطية معتبرة .
كما ان المستخلص 3 اعطى نشاطية افضل من المستخلصات الاخري حيث قدرت قيمة IC_{50}بـ (0.091 mg/ml)، و المستخلص 2 سجل اقل نشاطية حيث قدرت قيمة IC_{50}بـ (0.322 mg/ml)
وعند المقارنة بين فعالية المستخلصات يتضح لنا ان هناك علاقة طردية بين محتواها للمركبات الفينولية وقدرتها التثبيطية.
هذه الإختلافات تتعلق بآلية التفاعل بين جذر DPPH$^{\bullet}$ و الجذر الكاتيوني $ABTS^{\bullet+}$ والبنية الكيميائية (للفينولات وللفلافونيدات) ونوعيتها،تركيز وكمية هذه المركبات داخل اللأنسجة النباتية [11] .

بالإضافة إلى أن قدرة هذه المركبات على إزاحة الجذور ترتبط بعدد المجاميع الهيدروكسيلية التي تمتلكها الفينولات والفلافونيدات حيث كلما زادت مجموعة الهيدوكسيل في بنية الفلافونويدات زادت القدرة على أسر الجذور الحرة وهذا يؤكد أن النشاط المضاد للأكسدة له علاقة ببنية ونوعية المركبات التى يحويها المستخلص ،حيث أثبت الأبحاث التى إهتمت بالعلاقة بين البنية الكيميائية للفلافونيدات ونشاطه المضاد للأكسدة الى التعرف على عدد وموقع المجاميع النشطة فعلى سبيل المثال بين أن وجود المجموعة dihydroxylated في الحلقة B والرابطة المزدوجة 2-3 مع وجود الوظيفة 4-oxo في الحلقة C ووجود مجاميع OH إضافية على كربون C_3 و C_5 يرفع من النشاطية المزيحة للجذور الحرة مثل fisetin و myricetin و querceti[12].

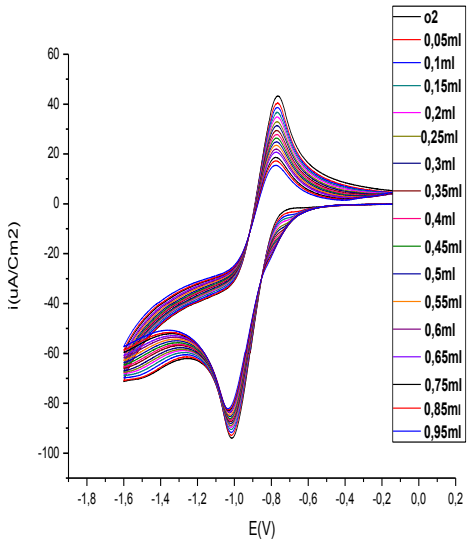
إن الإختلاف في سلوك إعطاء البروتون والإلكترون يفسرالفرق في النشاطية المضاد للأكسدة [13] .

V-6- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية :

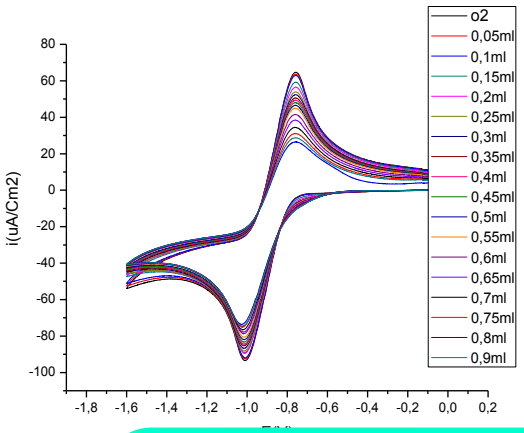
تمت التجربة وفق الشروط المحددة سابقا، فنتحصل على الفولتاموغرام لكل من المركب القياسي(حمض الكرستين) والمستخلصات وتم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة اعتمادا على طريقة المقارنة بالميل و حساب مقدار TAC .



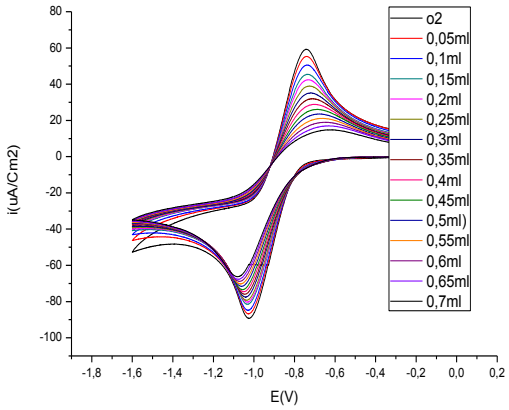
الشكل (V-8):منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (من 0.1ml الى 1 ml)من مستخلص (2) عند سرعة المسح υ=100mV/s



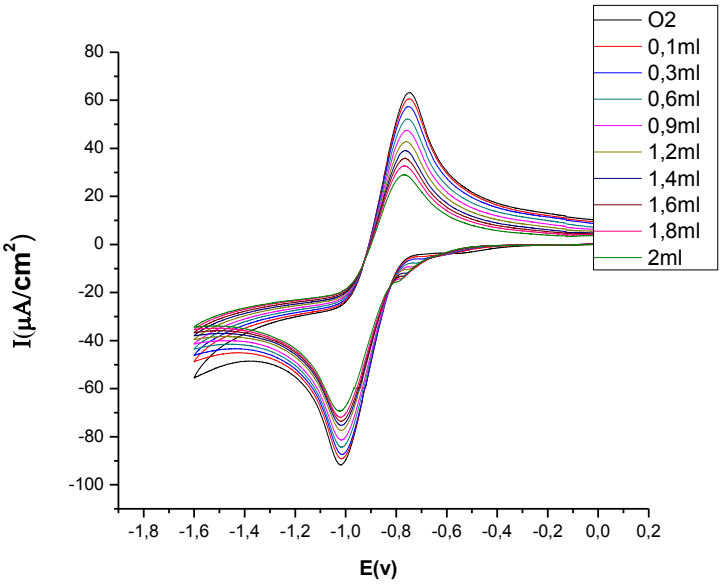
الشكل (V-9):منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (من 0.1ml الى 1 ml)من مستخلص (1) عند سرعة المسح υ=100mV/s



الشكل (V-10):منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (من 0.1ml الى 1 ml)من مستخلص (3) عند سرعة المسح



الشكل (V-11):منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (من 0.1ml الى 1 ml)من مستخلص (4) عند سرعة المسح



الشكل (V-12):منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية لتغيرات كمية الاوكسجين على قطب الكربون في DMF بإضافة (من 0.1ml الى 1 ml)من حمض الكرستين عند سرعة المسح υ=100mV/s

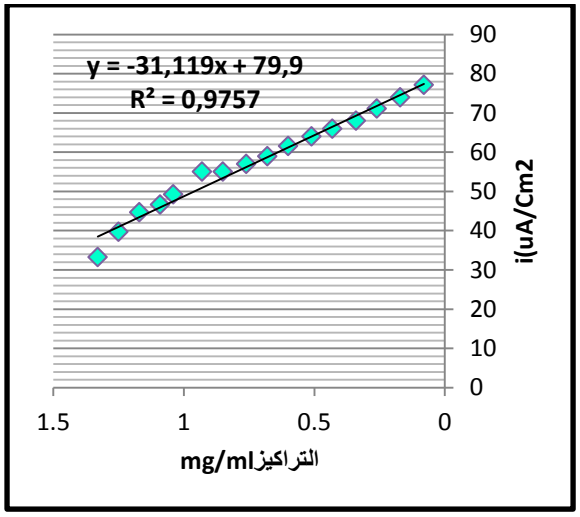
نلاحظ تناقص في المنحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية الخاصة بالمركب القياسي (الكرستين) و التناسب العكسي بين تركيز الكرستين و كمية ايون جذر سبيروكسيد $O_2^{\bullet-}$ ونلاحظ ايضا ان إظافة 2ml من الكرستين امتص كمية كبيرة من الجذر مما يدل على فعاليته التثبيطية .

نلاحظ من الاشكال (V-8)و(V-9) و(V-10)و(V-11)و(V-12)ان منحنيات الفولطاامبيرومترية الحلقية المتحصل عليها تتناقص تدريجيا بزيادة التراكيز المضافة من المستخلصات وهذا خاص في مجال اكسدة اي تناقص لشدة التيار المصعدي ipa .

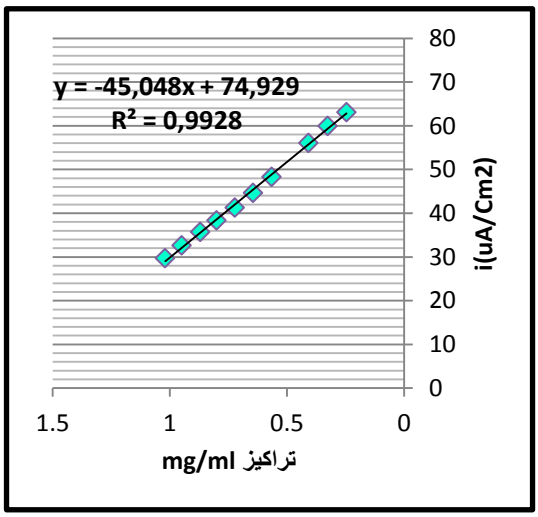
V-6- 1- تحديد الفعالية المضادة للأكسدة اعتمادا على قيمة الميل:

بعد رسم المنحنيات الفولتا أمبيرومترية الحلقية لتراكيز المستخلصات العضوية وحمض الكرستين نقوم بتحديد كثافة التيار المصعدية لكل فولتاموغرام لرسم منحنى قياسي و مستخلصات و بدلالة التركيز .

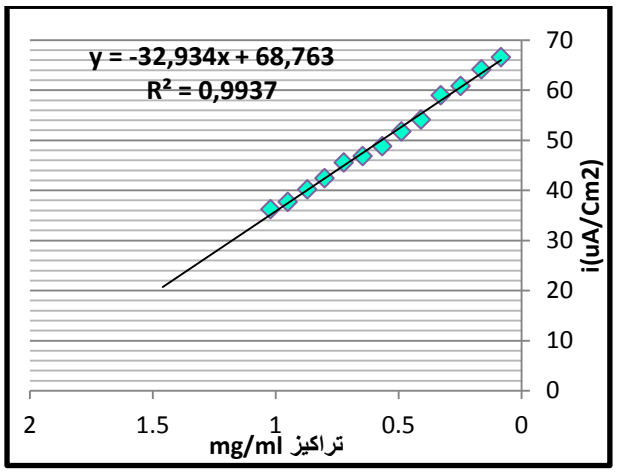
$$ipa=f(c).$$



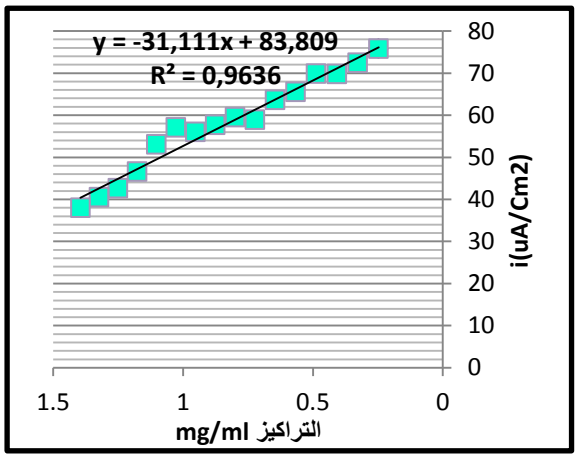
منحنى (V-6): تغير كثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 1



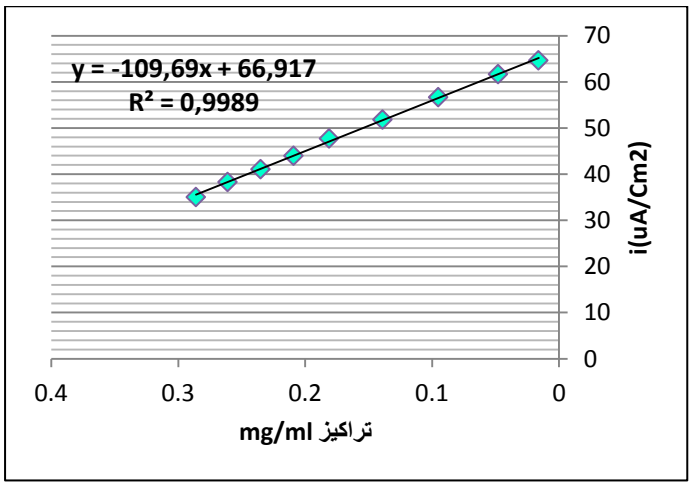
منحنى (V-7) : تغير كثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 2



منحنى (V-8) : تغير كثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 3



منحنى (V-9): تغير كثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للمستخلص 4



منحنى (V-10) تغيركثافة التيار (i) بدلالة التركيز (C) للكرستين

نلاحظ ان منحنى المركب القياسي جاء دقيق وقدر معامل الارتباط R^2=0.99 وهذا ما يجعل هذه التقنية دقيقة من حيث التنائج المستخرجة منها،و الجدول التالي يلخص القيم المتحصل عليها من المنحنيات

الجدول(V-12):قيم الميل للمستخلصات و الكرستين

العينة	مستخلص1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4	حمض الكرستين
الميل	-31.119	-31.111	-32.934	-45.048	-109.69

من خلال النتائج الموضحة في الجدول(V-12) و مقارنة قيم الميل للعينات، نحدد الاكثر فعالية منها حيث تتناسب الفعالية المضادة للأكسدة عكسا مع قيمة الميل ونستنتج ان الكرستين هو الأكثر فعالية ثم يليه المستخلص4 واقل فعالية سجلت عند المستخلص 2.

V-6-2- تحديد اجمالي الفعالية المضادة للأكسدة بحساب المقدار TAC:

الجدول(V-13): قيم نسبة تثبيط $O_2^{\bullet-}$ % المئوية الموافقة لكلإضافة من المستخلصات

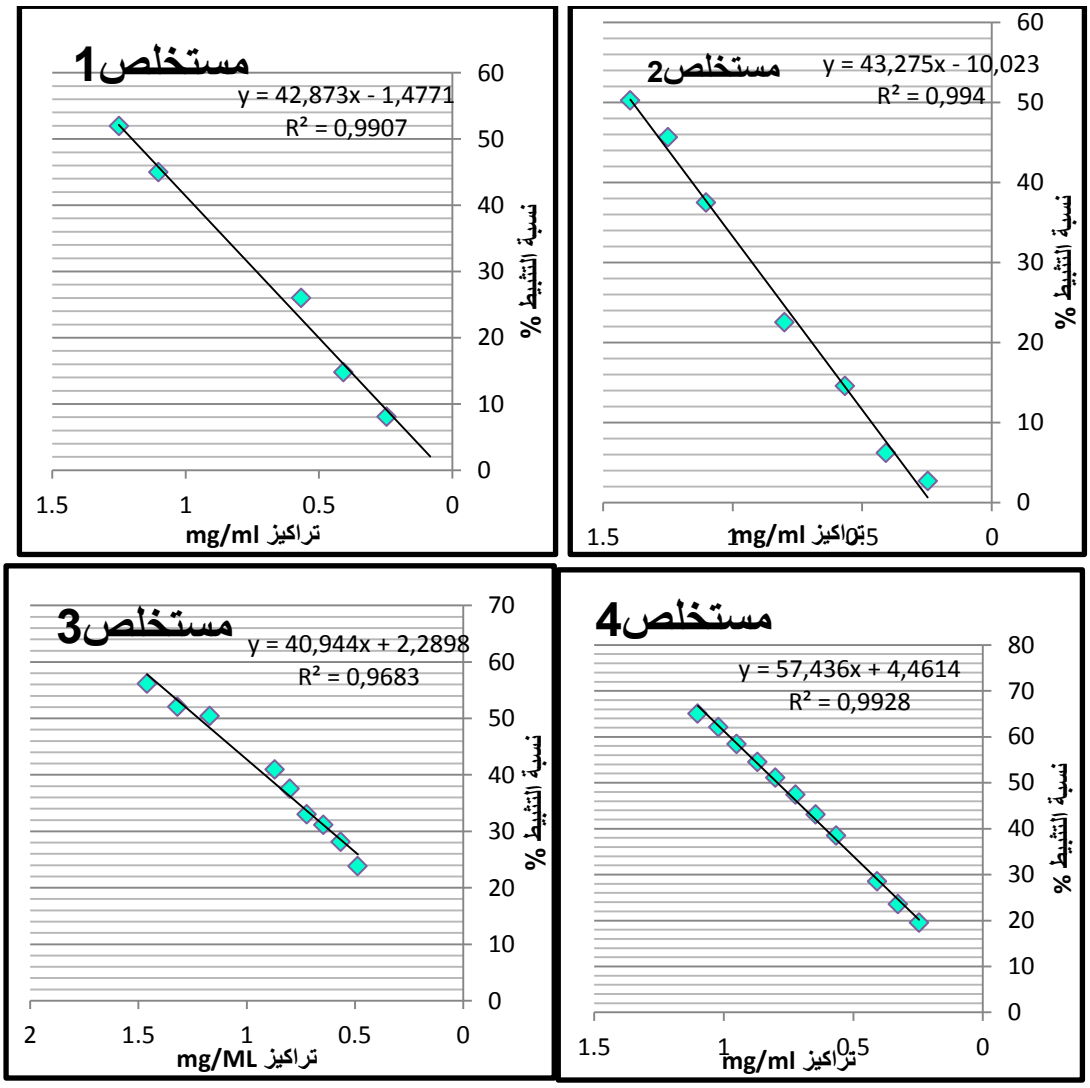
العينة	الحجم المضاف	التراكيز	ip_a	TAC
مستخلص1	0.15	0.24	63.57	8.08
	0.25	0.40	58.92	14.80
	0.35	0.56	51.18	25.99
	0.7	1.10	44.63	45
	0.8	1.25	33.22	51.96
مستخلص 2	0.15	0.24	72.47	2.72
	0.25	0.40	69.86	6.22
	0.35	0.56	63.64	14.57
	0.5	0.8	57.7	22.55
	0.7	1.10	64.55	37.51

	0.8	1.25	40.48	45.66
	0.9	1.39	37.06	50.25
مستخلص 3	0.45	0.722	45.54	33.00
	0.5	0. 8	42.43	37.58
	0.55	0.87	40.15	40.93
	0.6	0.95	37.65	44.61
	0.65	1.02	36.18	46.77
	0.75	1.17	33. 71	50.41
	0.85	1.32	32.57	52.08
مستخلص 4	0.95	1.46	29.79	56.17
	0.35	0.56	48.28	38.44
	0.45	0.72	41.25	47.4
	0.5	0.8	38.38	51.06
	0.6	0.95	32.61	58.42
	0.65	1.02	29.78	62.11
	0.7	1.1	27.44	65.01

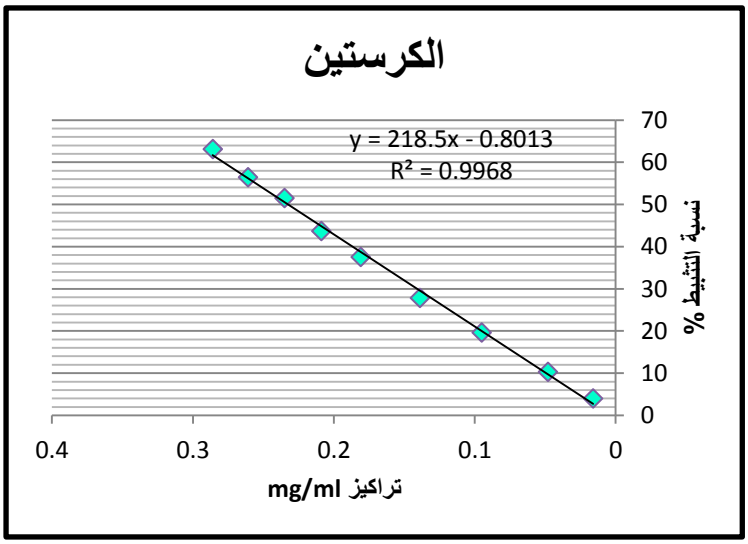
الجدول(V-14): قيم نسبة تثبيط $O_2^{\bullet-}$ % المئوية الموافقة لكل إضافة من الكرستين

العينة	حجم المضاف	تراكيز	ip_a	TAC
الكرستين	0.1	0.016	64.67	3.99
	0.3	0.048	61.71	10.29
	0.6	0.095	56.66	19.58
	0.9	0.139	51.83	27.8
	1.2	0.181	47.71	37.54
	1.4	0.209	43.99	43.71
	1.6	0.235	41.09	51.51
	1.8	0.261	38.29	56.43
	2	0.286	35.07	63.13

من خلال الجداول السابقة يمكن رسم منحنيات تغير النسبة المئوية للمتثبيط $O_2^{\bullet-}$ بدلالة التركيز الكتلي للمستخلصات ومركب القياسي الكرستين .



الشكل (V-13):منحنيات تغير نسبة تثبيط $O_2^{\bullet-}$ بدلالة التركيز الكتلي لكل المستخلصات

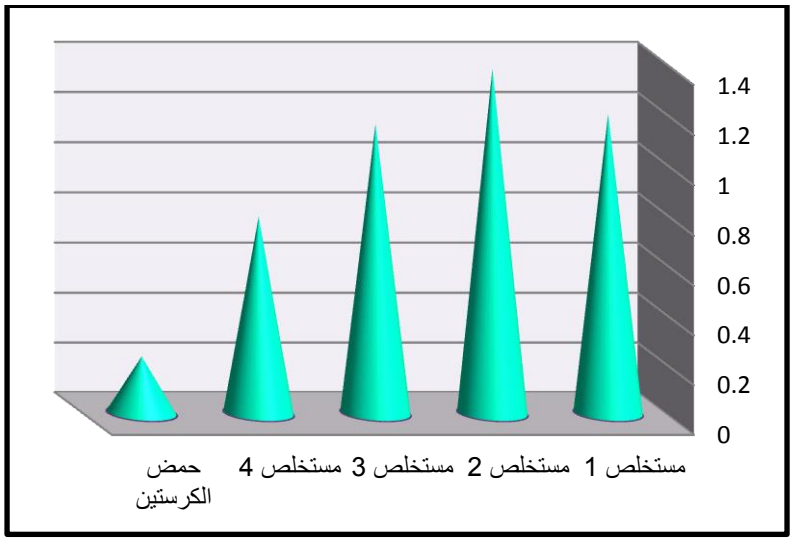


منحنى (V-11): تغير نسبة تثبيط $O_2^{\bullet-}$ بدلالة التركيز الكتلي للكرستين

يمكن حساب قيم IC_{50} للمستخلصات للكرستين من الشكل(V-13)

الجدول(V-15):قيم IC_{50} للمستخلصات الكرستين

العينة	مستخلص 1	مستخلص 2	مستخلص 3	مستخلص 4	الكرستين
IC_{50}	1.20	1.38	1.16	0.79	0.23



الشكل (V-14): تمثيل بياني لقيمIC50 للمستخلصات وحمض الكرستين

من خلال القيم المدونة في الجدول (**V-15**) و الشكل (**V-14**) اعلاه و اعتمادا على أنه كلما قلت قيمة IC50 زادت الفعالية المضادة للأكسدة للمركب و تبين ان : الفعالية المضادة للأكسدة للمركب القياسي (حمض الكرستين) اقوى فعالية من المستخلصات حيث قدرت قيمة IC50 بـ(0.23 mg/ml)، كما ان المستخلص4 اعطى فعالية مضادة للأكسدة افضل من المستخلصات الاخرى حيث قدرت قيمة IC50بـ (0.79mg/ml) وان الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص1و 3 كانتا متقاربتان حيث قدرت قيمIC50 على التوالي (1.16 mg/ml) و (1.20mg/ml) اما فعالية المستخلص2فكانت هي الاضعف وقدرت قيمةIC50 بـ (1.39mg/ml)

المراجع

المراجع :

المراجع بالعربية :

[4] منصورح.،2006-النباتات الطبية العلمية وصفها مكوناتها طرق استعمالها وزراعته.جامعة الزقازيق،القاهرة ،مصر،ص:355-367،365-370.

[7] علاوي م.،2003-مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث Halaxyonscoparium . مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية،جامعة ورقلة،الجزائر،ص:6-11.

المراجع بالأجنبية :

[1]PINCEMAIL J., DEBBY C., LION Y., BRAQUET P., HANS P., DRIEU K and GOUTIER R., 1986- Stud. Org. Chem 23, p: 423.

[2]GRYGLEWSKI R.J., KORBUT R and SWIES J.,1987- Biochemie. Pharmcol. 36-317.

[3]JEFFREY B H. and CHRISTINE A W., 1992- Advances in flavonoid research since1992 .Elsevies science LTD. Japon, Vol 55: 481-504 p.

[5]FULLER M.F., 2004-The encyclopedia of form animal nutrition .CABI publishing, London, UK, 581p.

[6]BABA AMER Z., 2013- Chemical constituents of flora of Algeria chemical constituentes of Pergularia tomentosa L. Memoire doctorat science in chemistry, University Kasdi Merbah, Ouargla, Agerie, 131 p.

[8]DJEMAI S., 2009- etude de l'activité biologique des extrait du fruit de zizyplus lotus L. Mémoire de magister. Université -El hadj lakhater-Batna. 91p

[9] 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.

[10] Spingo G ., Tramelli L., de faveri D. M. Effects of extaction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics, Journal of Food Engineering, 81: 200-208,(2007).

[11] Tsimogiannis, D.I., Oreopoulou, V. (2006). The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach

for the 3',4'-hydroxy substituted members. Innovative Food Science and Emerging Technologies 7, 140-146.

[12]RICE-EVANS C.A, SAMPSON J., BRAMELEY P.M., HOLLOWAY D.E., 1997- Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vitro?. Free Radical Res. 26 (4): 381-398.

[13] MILIAUSKAS G.V., ENSKUTONIS P.R., VAN BEEK T.A., 2004- Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry. 85 (2): 231-237.

الخاتمة

الخاتمة:

هذا العمل عبارة عن دراسة فيتو كيميائية للمستخلصات العضوية لنبات ***Moltkia ciliata*** وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق ومحاولة فصل هذه المستخلصات بالاستعانة بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM، تم الحصول على هذه المستخلصات بطريقتين : النقع (أسيتون/ماء) و (ميثانول/ماء)، وعلى ضوء النتائج المحصل عليها يمكننا استنباط النقاط التالية :

- نتائج الفحص الفيتو كيميائي للقسم الهوائي الجاف للنبات بينت تواجد أغلبة المركبات الفعالة الأساسية خاصة الفلافونيدات لخصائصها وأهميتها ارتأينا ان نقوم بدراسة المستخلصات الغنية بها (مستخلص اسيتات الايثيل و البنتانول).
- أكبر كمية للمركبات الفينولية والفلافونيدات والفلافانول سجلت في مستخلص اسيتات الايثيل والبنتانول المحصل عليها من النقع (اسيتون/ماء) و دعمت هذه الملاحظة نتائج الفصل الكروماتوغرافي .
- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة بمختلف الطرق للمستخلصات العضوية أظهرت ان لها فاعلية معتبرة وعند المقارنة فيما بينها نجد ان هناك علاقة طردية بين كمية المواد الفعالة التي تحتويها وفعاليتها ومن هذا المنطلق نجد أن المستخلصات العضوية المحصل عليها في النقع اسيتون/ماء فعالية أكبر من غيراها

ونأمل في المواصلة في هذا البحث والتعرف أكثر بفصل مركبات نقية من هذه المستخلصات العضوية ودراسة فعاليتها .

الملاحق

الملاحق :

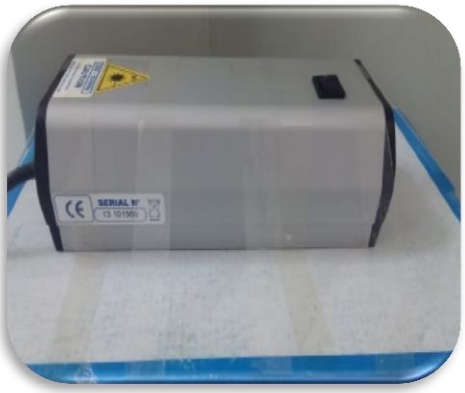
الملحق 1: الأجهزة المستعملة:

جهاز التبخير الدوراني

ميزان حساس

حاضنة

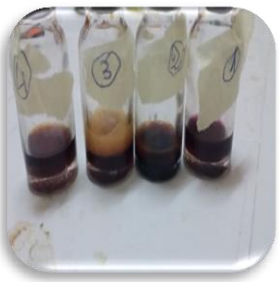
جهاز UV-visible



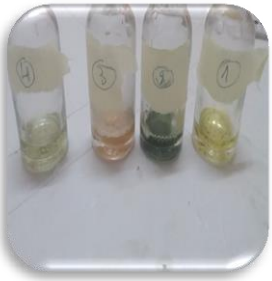
جهاز UV-ultra violet

الملاحق :

الملحق 2 : نتائج الاختبارات الاولية :



الكشف عن القلويدات

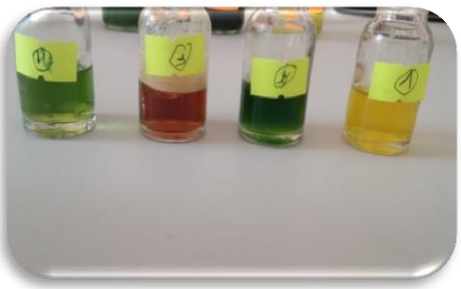


الكشف عن الفلافونيدات

الكشف عن التاتينات

الكشف عن الستيرولات

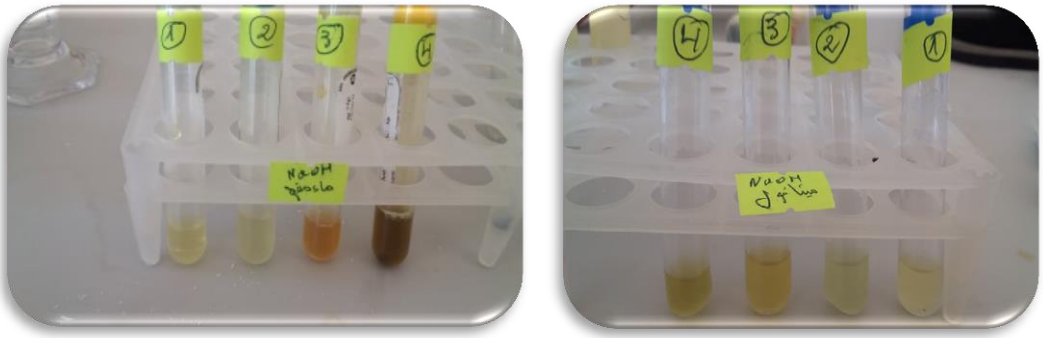
الكشف عن التربينات



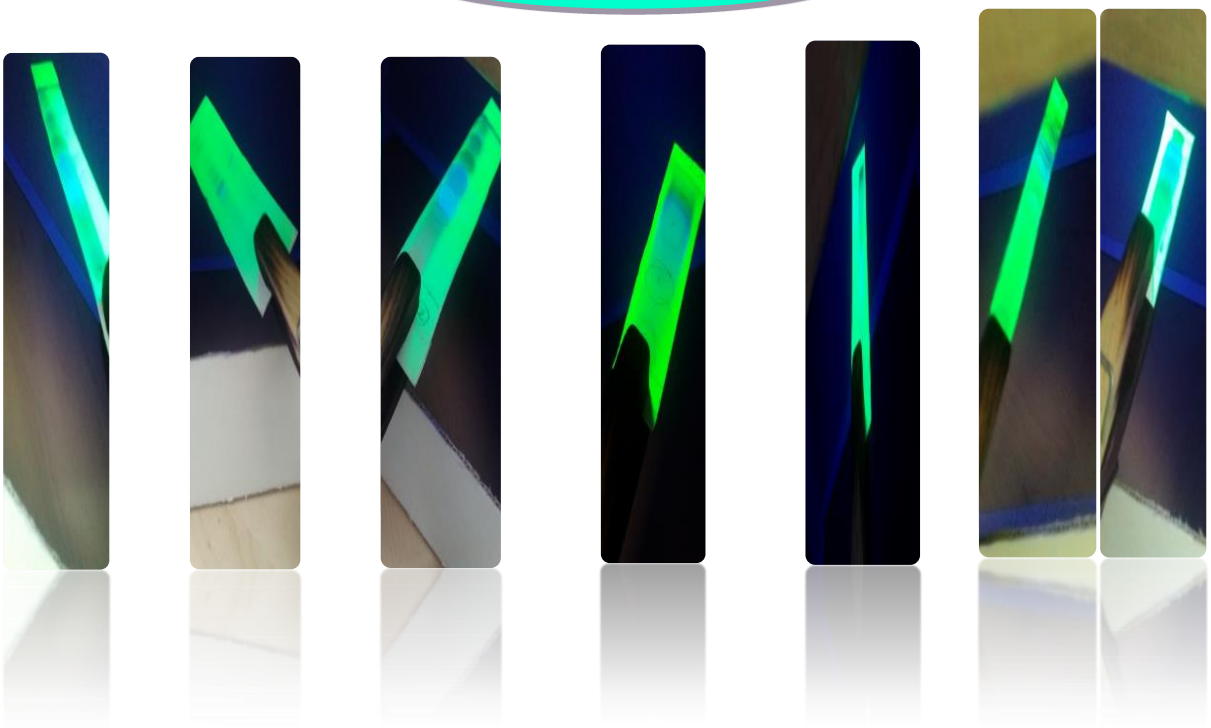
الكشف عن الصابونوزيدات

الملاحق :

الملحق 3 : نتائج الكشف عن الفلافونيدات في المستخلصات والفصل الكروماتوغرافي :



الكشف عن الفلافونيدات



الفصل الكروماتوغرافي ب CCM

الملاحق :

تقدير الفعالية المضادة للاكسدة للجذر الكاتيوني ABTS

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للجذر DPPH

الملخص:

تم التطرق في هذا البحث إلى دراسة فيتو كيميائية وتقييم للفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات العضوية (مستخلص أسيتات الأيثيل ، البنتانول) لنبات *Moltkia Ciliata* المحصل عليها باستخدام المزيج ميثانول / ماء (20/80) ، أستون / ماء (20/80).

تم الكشف عن المواد الفعالة في الجزء الهوائي الجاف للنبات وأظهرت النتائج غناها بمعظمها.

ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية ، الفلافونيدات ، الفلافانول ،باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية (UV-visible)والفصل الكروماتوغرافي بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) حيث تمكنا من التنبؤ ببعض الانواع الفلافونيدية .

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بإتباع الاختبارات الكيميائية DPPH،ABTS و بالطريقة الكهروكيميائية ،و عند المقارنة بين المستخلصات العضوية المدروسة نجد أن المحصل عليها من مزيج أستون / ماء كانت أفضلها من حيث الطرق المتبعة في الدراسة .

الكلمات المفتاحية: *Moltkia Ciliata*، المستخلصات العضوية ، الفعالية المضادة للأكسدة، الاستخلاص .

Résumé :

Ce travail a été consacré à l'étude chimique et l’évaluation du pouvoir antioxydant des extraits organiques de *Moltkia Ciliata*, ces dermiers ont ètè produit par les mélange méthanol /eau (80/20), Acétone / eau (80/20). Après l'épreuve ,dans la partie de l'air sec de la plante qui est riche par les produit sefficaces .

Nous avons fait l’estimation quantitative des composées phénoliques flavanoles, flavonoïdes par utilisation de la spectroscopie UV-visible et sèparation chromatographique par chromatographie sur couche mince (CCM) , ce qui nous a permis de prédire de certaines classes de flavonoïdes. L'efficacité antioxydants a été évaluée par des tests chimiques (DPPH, ABTS) et methode électrochimique.

Nous avons fait la comparaison entre les extraits ètudies nous avons trouvè les extraits obtenus par (Acetone / eau) étaient les meilleurs en termes des méthodes utilisées dans l'étude .

Mots clés: *Moltkia Ciliata* , activité antioxydants , extraits organiques ,extraction .