الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid جامعة أبي بكر بلقايد

Tlemcen Algérie تلمسان الجزائر

كلية العلوم

مذكرة

مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء

تخصص : كيمياء

الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا(Zygophyllaceae)FagoniaLongispina)) نبات من الجنوب الغربي للجزائر

مقدمة من طرف الطالب: حميدي نورالدين

لجنة المناقشة :

اللجنة	اللقب والاسم	الرتبة	الجامعة
الرئيس	حارك يحي	أستاذ التعليم العالي	تلمسان
الممتحن	مداح بومدين	أستاذ التعليم العالي	معسكر
الممتحن	بن مهدي حسين	أستاذ محاضر	بشار
الممتحن	بالمنصور عبد الحفيظ	أستاذ التعليم العالي	تلمسان
المؤطر	العزوني حمادي عبد الرحمان	أستاذ التعليم العالي	تلمسان
مساعد المؤطر	موساوي عبد الله	أستاذ التعليم العالي	بشار

2015/ 2014

الإهـــــــداء

*-إلـــى الوالدين الكريميـــن .
*-إلـــى الزوجة الكريمـــة.
*- إلـــى كل من قدم لـــــي يد العون لانجـاز هذا العمـــل.

كلمـــة شكر وامتنـــان

الحمد لله أولا وأخيرا الذي وفقني في إنجاز هذا العمل.

هذا البحث أنجز بالمخبر البيداغوجـــي بجامعة بشار في الفترة الممتدة من بداية سنة 2011 إلى غاية جوان 2014 تحت إشراف الأستاذ العزوني حمادي عبد الرحمان أستاذ التعليم العالي بجامعة تلمسان الذي تعلمت على يديه أبجديات البحث العلمي كما أتقدم بكل عبارات الشكر و الامتنان على كل ما قدمه من مجهودات وتسهيلات ومساعدات لإنجاز هذا العمل.

كما أتقدم بشكري الخالص للأستاذ المشرف المساعد الأستاذ موساوي عبد الله أستاذ التعليم العالي بجامعة بشار و انوه بالمجهودات والتسهيلات والمساعدات التي قدمها لـــي .

و أسعدني كثيرا قبول الأستاذ حارك يحي أستاذ التعليم العالي بجامعة تلمسان رئاسة لجنة المناقشة، أشكـــره جزيل الشكـــر.

و لقد شرفني أن يكون الأستاذ مداح بومدين أستاذ التعليم العالي بجامعة معسكر من بين أعضاء لجنة المناقشة، أشكره جزيل الشكر .

كما أتقدم كذلك بالشكر الجزيل إلى الأستاذ بالمنصور عبد الحفيظ أستاذ التعليم العالي بجامعة تلمسان على قبوله المشاركة في لجنة المناقشة.

وأتقدم كذلك بالشكر الجزيل إلى الأستاذ بن مهدي حسين أستاذ محاضر بجامعة بشارعلى قبوله المشاركـة في لجنة المناقشـة.

و لن أنسى رفقاء الدرب من أساتذة وطلبة وإداريين وأصدقاء ,أولئك الذين لم يبخلوا علي بنصائحهم , ومصادرهم ومراجعهم جازاهم الله عنـــي خيـــرا.

ملخص

باعتبار النباتات مصدرا أساسيا لصحة الإنسان، ازداد الاهتمام بدراستها في العصر الحالي, بل يمكن الجزم على حصول ثورة الطب البديل أو ما يصطلح عليه بالطب الموازي، لذا وجب مواكبة التطور.

الدراسة التحليلية بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلة GC-MS لمختلف المستخلصات (الهكسان والايثر اتيل والكلوروفورم) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا أنتجت وبوضوح وجود 13 مركبا كيميائيا وهي : بالميتات الاتيل (26.71%), 12,9-حمض الاوكتاديكاينؤويك اتيل استر (15,12,9 ,16.03 %)- حمض الاوكتاديكاترينؤ ويك اتيل استر (z ,z,z)(57.25%) , فينول 6,2-بيس(1,1-ثنائي مثيل)-4-مثيل (27.21%) , حمض ن-هكساديكانؤ ويك (12.24%), حمض تريديكانؤويك(9.25%)), 12,9- حمض الاوكتاديكاينؤيك مثيل استر (8.16 % (z.z)),17,14,11-حمض الكوسا ترينؤيك,مثيل استر (34.69%), حمض ديكانؤويك (12.24) ,9- حمض الكوزان(E)) (15.62%,حلقي تيتراكوزان (03.75%))1-هيتاديسين (23.12%), 1- نونانديسين(06.25%) .

كما أن المستخلصات العضوية(ايثر البترول, ثنائي كلوروالميتان ,الكلوروفورمّ, الآسيطون, الميتانول) أعطت فعالية بيولوجية مع غالبية البكتريات المستعملة,أما المستخلص العضوي الهيبتان فلم يبدي أية فعالية بيولوجية ضد كل أنواع البكتيريا المستخدمة .كما حددت قيمة IC_{50} للمستخلص الايتانولي 0.22mg/ml ولحمض الآسكوربيك 0.24mg/ml وهذا يعني أن أن مستخلص الايثانول وحمض الآسكوربيك يملكان فعالية بيولوجية مضادة للأكسدة متقاربـــة.

.

الكلمات المفتاحية : المستخلص الايثانولي ,الكروماتوغرافياالغازية,مطيافية الكتلة ,مضاد للاكسدة,فاقونيا لونجيسبينا.

Résumé

C*omme les plantes représentent une source essentielle pour la santé humaine, on s'intéresse de plus en plus à leurs études à notre époque, mais on peut dire à coup sûr d'obtenir une révolution médicinal alternative ou ce qu'on appelle la médecine parallèle et donc on doit se tenir au courant des développements.*

l'étude analytique on utilisant la(chromatographie gazeuse et mass spectrophotomètre)CG-MS pour les divers extraits (hexane, l'éther d'éthyl et le chloroforme)de la plante Fagonia Longispina donne clairement la présence de 13 composé chimique : Ethyl Palmitate (26,71%), 9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester(16,03%), 9,12,15-Octadecatrienoic acid,ethyl ester(z,z,z)) (57,25%), Phenol2,6-bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl (27,21%), N-hexadecanoic acid (12,24%), Tridecanoicacid (9,25%)), 9,12-Octadecadienoic acid, methyll ester (zz) 8,16%)), 11,14,17 –Elcosatrienoicacid,methyl ester(34,69%)), decanoic acid (12,24), 9-eicosene, (E) (15,62%), Cyclotetra Cosane (03,75%)) 1-Heptadecene(23,12%), 1-Nonadecen (06,25%).

Les extraits organiques (éther de pétrole, dichloro méthane , chloroforme, Acétone , méthanol) ont donné l'activité biologique avec la majorité des bactériennes utilisées, pour l'extrait organique heptane n'a montré aucune efficacité biologique contre toutes sortes des bactériennes utilisées. Le IC_{50} *également identifié de l'extrait d'éthanol est de l'ordre 0.22mg / ml et de 0.24mg / ml d'acide ascorbique . ce qui signifie que l'extrait d'éthanol et d'acide ascorbique possède efficacité biologique d'antioxydant à proximité.*

Mots clés : *Extrait Ethanol , Chromatographie gazeuse, Antioxydant ,Mass spectrophotomètre , Fagonia longispina.*

Abstract

As plants represent an essential source for human health, we are interested more and more in their studies, nowadays .One can certainly confirm the need for an alternative medical revolution or a complementary medicine. This necessitates keeping pace with the rate of development .Analytical study is using the (gas chromatography and mass spectrophotometer) GC-MS for the various extracts (hexane, ethyl ether and chloroform) from the plant Fagonia longispina gives the clear presence of chemical compound 13: Ethyl Palmitate (26.71%), 9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester (16.03%), 15,12,9 ctadecatrienoic acid, ethyl ester (z, z, z)) (57.25%), Phenol2, 6-bis (1,1-dimethylethyl) -4-methyl (27.21%), N-Hexadecanoic acid (12.24%), Tridecanoicacid (9.25%)), 9,12Octadecadienoic acid, ester methyll (zz) 8.16%)), 11,14,17 - Elcosatrienoicacid, methyl ester (34.69%)), Decanoic acid (12:24), 9-eicosene, (E) (15.62%), Cyclotetradimethylsiloxane Cosane (03.75%)) 1-Heptadecene (23.12%), 1-Nonadecen(06.25%).

The organic extracts (petroleum ether, dichloro methane, chloroform, acetone, methanol) provided the biological activity with the majority of bacteria used for heptane organic extract showed no biological effectiveness against all kinds of bacteria used. The IC_{50} also identified the ethanol extract is about 0.22mg/ml and 0.24mg/ml ascorbic acid. This means that the ethanol extract and ascorbic acid have biological effects of antioxidant nearby.

***Keywords**: Ethanol extract, Gas chromatography , Antioxidant, Fagonia longispina, Mass spectrophotometer .*

الفـــــهـــــرس

المقدمـــة...2-1

الجزء النظـــري

I- النباتات الطبية والمواد الفعالة في النبات المدروس

1)- لمحة تاريخية حول النباتات الطبية

1- نظرة الإنسان البدائي إلى الأعشاب الطبية... 3

2-التداوي بالأعشاب لدى المصريين والبابليين القدماء...3

3-التداوي في بلاد الهند والصين...4

4. التداوي عند الإغريق..5

5- التداوي بالأعشاب في العهد الإسلامي..5

6- التداوي بالأعشاب.في اروبا...6

2)-المكونات الفاعلة في النبات

1-المصنع النباتي...7-6

2-المكونـــــات الفاعلـــــة.. 8

1- العفصيات LesTannins..8

2- الفلافونو يدات Les Flavonoides..10

3 -التربينات والسترويدات(Les Terpénes et Les Stéroïdes)......................................14

4 -الصابونوزيداتLes Saponosides...18

5- القلويدات Les Alcaloides...20

6- المعادن...23

الخلاصة...25-24

II- طرق فصل واستخلاص وتشخيص مركبات النواتج الطبيعية

1)ـــالمستخلصات النباتية...26

1 - تعريف الاستخلاص..26

2- الاستخلاص الصلب- السائل...26

3- استخلاص سائل –سائل...28

2)-الطر ق الفيزيوكيميائية لفصل مركبات النواتج الطبيعية..................................28

1-استخلاص مركبات النواتج الطبيعية من مصادرها وتحليلها كروماتوغرافيا................... ..28

1-استخلاص مركبات النواتج الطبيعية 28

2-تصنيف الطرق الكروماتوغرافية...29

3)-كشف وتشخيص المركبات المفصولة

1.الطرق الفيزيائية……..………………………… ..…………………31

2. الطرق الكيميائية…………………..31

3 .الطرق المطيافية في تعيين التركيب الكيميائي...32

1-تعريف المطيافية.. ……..32

أ- أطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV.)..32

ب -مطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR). .... …..33

ج – مطيافية الرنين المغناطيسي (RMN)......................................33

د-مطيافية الكتلة (SM) ....…34

الخلاصة.. 35

III- الفصيلة الزيغوفيلاسيا " Zygophyllacea"

1-تعريف...36

2- تعريف ببعض أفراد هذه العائلة.. 36-45

IV- الفعالية البيولوجية والفعالية ضد الأكسدة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا

1)- الفعاليـــــــةالبيولوجيـــــــــــة..………………………………………………….........................…… 46....

1-مقدمــــة ………………………………………………………………………………46

2- تعريف البكتيريا ………………………………………………………………………48

3- خصائص البكتيريا …………………………………………………………………48

4- أشكــــال البكتيريـــا...48

5- أقسام البكتريا حسب التأثيــر على الإنســـان…………………………………………49

6- الأنواع البكتيرية المستعملة في هذه الدراســـة...52-50

7-الطرق الميكروبيولوجيـة **"** Méthodes Microbiogical **"** ……………………………………53

2)-الفعاليـــــــةالمضــــــادة للأكسدة…………………………………………………………………………………………54

1 - مقدمـــــة ………………………………………………………………………54

2 - تعريف الجدر
الحـــر 54مضادات
الأكســـــدة 54

3 - تقدير نشاط الآسر للجـــذور الحـــرة (*اختيار DPPH*).....55

1 -الاساس النظري للتفاعل.....55

الجـــزء العملـــــي

I-الطرق والوسائل

I -دراسة ايثنوصيدلانية لنـــــــــــبات الفاقونيا لونجيسبينا

مقدمة.....56
1-جنـــــي وتجفيف النبـــات 57-56
2- وصف نبـات الفاقونيالونجيسبينا " *Fagonia Longispina* ".....57
3-تسمية النبات.....58
4- التصنيف النظامي للنبات.....58
5-التوزيع الجغرافي للنبات.....60-59
1- التوزيع الجغرافي لنبات الفاقونيا لونجيسبينا.....60
6-استعمالات نبات الفاقونيا لونجيسبينا.....61

II-الدراسة الفيتوكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا

1)-.الاختبارات الكيميائية الأولية(التحليل الكيفي)
1-اختبار الألكالويدات Les Alcaloïdes.....62
2-اختبار الصابونوزيدات Les Saponosides.....63
3-اختبار الستيرويدات Stéroides.....63.

4-اختبار العفصيات (LesTanins).....63
5 -اختبار الستيرولات الغير مشبعة والتربينات.....64
(Les Stéroles Insatures et Les Terpénes)
6-اختبار الكاردينوليدات (Les Cardénolides).....64
7 - اختبار الفلافونيدات (Les Flavonoides).
1-الاختبار العام للفلافونيدات.....64.
2-اختبار الفلافونيدات الحرة 64
3-اختبار فلافونيدات جليكوزيدية.....64

2)- استخلاص وفصل مركبات النواتج الطبيعية.....65

1- الاستخلاص بواسطة الايتا نول"ETOH" لنبات الفاقونيا لوجيسبينا 60%) 65-66

2-الفصل الكروماتوغرافي بواسطة الطبقة الرقيقة CCM.....67

3- الفصل باستخدام الكروماتوعرافيا الغازية المرفقة بمطياف الكتلة(GC-MS).....68

1- تعريف.....68

2- التعريـــف بالجهـــاز.....69

4- عصابات امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) 69

7- عصابات مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) 70

II-الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للاكسدة.....71-73

II-النتائج والمناقشـــة

I –نتائج الدراسة الفيتوكيميائية لنيات الفاقونيا لونجيسبينا

1-نتائج الاختبارات الأولية الكيميائية.....74

2 -. مناقشة النتائج 73

3. نتائج عملية الفصل الكروماتوغرافي بواسطة الطبقة الرقيقة.....75

4-الفصل باستخدام الكروماتوعرافيا الغازية المرفقة بمطياف الكتلة(GC-MS).....75

1-كروماتوغرامات المستخلصات (الهكسان –الاتيل ايثر-الكلوروفورم)بواسطة الايتانول 60 % المحصل عليهم بواسطة الفصل الكروماتوغرافي(GC-MS).....76-78

2 -نتائج الفصل بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلة.....78-79

3 -مناقشة النتائج 82

5-نتائج ومناقشة أهم عصابات امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) 83

6-نتائج ومناقشة أهم عصابات مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*).....84

7-مناقشة النتائـــج 84

8-فعالية المكونات المفصولة باستخدام الكر وماتغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) 85

II -نتائج ومناقشة الفعالية البيولوجيةوالفعالية ضد الاكسدة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا

1)-الفعالية البيولوجية 86

1- نتائـــج الفعالية البيولوجية 86

2-مخططات أقطار منطقة الكبت لمختلف المستخلصات العضوية بدلالة مختلف البكتريات....87-89

3-علب بتري للاختبارات الفعالية البيولوجية لمختلف المستخلصات العضوية.....90-92

4-مناقشـــة النتائـــج 93

2)- الفعاليـــة المضـــادة للأكسـدة 94

1- نتائج الفعاليـــة المضـــادة للأكسـدة 94-95

2- مناقشة النتائج 96-97

خلاصة عامة.....98-99

فهرس المراجع.....100-108

الملحق.....109

قائمـــــــة الأشكـــال

الشكل رقم (1):المصنع النباتي	7
شكل رقم (2) : صورة لسنط كاشو	8
الشكل رقم (3): حمض القاليك (Acide gallique)	9
الشكل رقم (4) : (Procyanidol B-3 , Flavan-3-ol	9
الشكل رقم (5) : الليمون الحامض	10
الشكل رقم (6): الهيكل الأساسي للفلافونويدات	11
الشكل رقم (7) : عليق	11
الشكل رقم(8):جريئة الأنثوسيان	12
الشكل رقم (10) : فلافون	13
الشكل رقم (11) : جيرانيول (géraniol)	14
الشكل رقم (12) : فيتول "phytol "	15
الشكل رقم(13) :السكوالين (Squalene)	15
الشكل رقم(14) : β كاروتين	16
الشكل رقم(15) : فارنيسول	16
الشكل رقم (16) : المطـاط الطبيعي(Caoutchouc)	17
الشكل رقم (17): الكوليسترول (Cholestérol)	17
الشكل رقم (18) : سبيروستان(Spirostane)	18
رقم (19) : الياموجينين(Yamogénine)	19
الشكل رقم (20): لوبيول Lupeol	19
الشكل رقم (21): Atropa belladonna	20
الشكل رقم(22) : النيكوتين (Nicotine)	21
الشكل رقم (23) :أبوأتروبين (Apoatropine)	22
الشكل رقم (24) : β سكيتانتين(Skytanthine)	22
الشكل رقم (25) : (-) كاتينون(Cathinone (-))	23
الشكل رقم (26):صورة لجهاز (GC-MS)	31
شكل رقم (27) صورة للفاقونيا ميكروفيلا	37
شكل رقم (28) نبات للفاقونيا لونجيسبينا	37
شكل رقم (29) صورة للفاقونيا لاتيفوليا	38
شكل رقم (30) صورة للفاقونيا كاهيرينا	38
شكل رقم (31) صورة للفاقونيا غلوتينوزا	39
شكل رقم (32) صورة للفاقونيا بروغيري	39
شكل رقم (33) صورة للفاقونيا أرابيكا	40
شكل رقم (34) صورة للفاقونيا أوليفيري	40
شكل رقم (35) صورة للفاقونيا تنويفولي	41
شكل رقم (36) صورة زيقوفوليم ألبيم	42
شكل رقم (37) صورة زيقوفوليم غيتولوم	42

شكل رقم (38) صورة زيقوفوليم ساملیكس	43
شكل رقم (39) صورة تريبيلوز ألاتوز	44
شكل رقم (40) صورة تريبيلوز بيمووكروناتوز	44
شكل رقم (41) صورة تريبيلوزوكرولوكوز	45
شكل رقم (42) صورة تريبيلوز تيريستير	45
الشكل رقم (43) : صورة الإشيريشيا كولي	50
الشكل رقم (44) : صورة البكتيريا العنقودية	51
الشكل رقم (45) :صورة بكتيريا أونتروكوكوس فايسيوم	51
الشكل رقم (46) : صورة بكتيريا باسيلوس سبيزيجينيل	52
الشكل رقم (47) : صورة صالمونيلا هيندالبرغ	52
الشكل رقم (48) : صورة بكتيريا كليبزيلا نومونيـا	53
الشكل رقم (49) يمثل تفاعل الجدر الحر DPPH مع مركب مضاد للأكسدة	55
الشكل رقم(50)الشكل العام لنبات الفاقونيا لونجيسبينا	58
الشكل رقم(51) صورة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا	59
الشكل رقم (52) :منطقة تواجد نبات الفاقونيا لونجيسبينا	60
شكل(53) : ولايـــة بشار (الحـــدود الإداريـــة)	60
الشكل رقم(54):الاستعمالات التقليدية لنبات فاقونيا لونجيسبينا" *Fagonia Longispina*"	61
الشكل رقم(55): الاستخلاص بواسطة الايتا نول"ETOH"60%	66
الشكل رقم (56):صورة لجهاز الكروماتوغرافيا الغازية المرفق بمطيافية الكتلة (CG-MS)	68
الشكل رقم (57)الجهاز المستخدم في قياس طيف الأشعة فوق البنفسجية UV	70
الشكل رقم(58) :كروماتوغرام مستخلص الهكسان المحصل عليه بواسطة الفصل الكروماتوغرافي (GC-MS) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا.	76
الشكل رقم(59) :كروماتوغرام مستخلص الاتيل ايثر المحصل عليه بواسطة الفصل الكروماتوغرافي (GC-MS) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا .	77
الشكل رقم(60) :كروماتوغرام مستخلص الكلوروفورم المحصل عليه بواسطة الفصل الكروماتوغرافي (GC-MS) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا	78
الشكل رقم (61): مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص ايثر البترول بدلالة البكتريا	87
الشكل رقم (62): مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص ثنائي كلورو الميتان بدلالة البكتريا	
الشكل رقم (63) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الكلوروفورم بدلالة البكتريا	88
الشكل رقم (64) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الآسيطون بدلالة البكتريا	88
الشكل رقم (65) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الميتانول بدلالة البكتريا	89
الشكل رقم (66) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الهيبتان بدلالة البكتريا	89
الشكل رقم (67) صور لعلب بيتري للمستخلص العضوي الميتانول	90
الشكل رقم (68) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي الآسيطون	90
الشكل رقم (69) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي الكلوروفورم	91

تابع لقائمـــــــة الأشكـــال

الشكل رقم (70) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي الهيبتـان	91
الشكل رقم (71) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي ايثر البترول	92
الشكل رقم (72) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي ثنائي كلور الميتان	92
الشكل رقم (73) منحنى يبين النسبة المئوية لإرجاع المستخلص الايثانولي لجذر DPPH% بدلالة التراكيز	94
الشكل رقم (74) منحنى يبين النسبة المئوية لإرجاع حمض الآسكوربيك لجذر DPPH% بدلالة التراكيز.	94

قائمـــة الجـــداول

جدول رقم (1): يوضح علاقة اللون بمجموعة الهيدروكسيل	12
الجدول رقم (2) : نتائج الاختبارات الكيميائية الأولية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا	74
جدول رقم (3) : يوضح النتائج الأولية لعملية الفصل الكروماتوغرافي بواسطة CCM	75
الجدول رقم (4)يمثل نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة (GC-MS) لمستخلص الهكسان لطريقة الاستخلاص بواسطة الايثانول 60%	79
الجدول رقم (5)يمثل نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة (GC-MS) لمستخلص ايثراالاتيل لطريقة الاستخلاص بواسطة الايثانول 60%.	80
الجدول رقم (6) يمثل نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة (GC-MS) لمستخلص الكلوروفورم لطريقة الاستخلاص بواسطة الايثانول 60%.	81
جدول رقم (7)أهم عصابات امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا	83
الجدول رقم (8): يبين أهم عصابات مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR للمركبات المفصولة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا	84
الجدول رقم (9) :نتائج مناطق التثبيط لمستخلصات نبات الفاقونيا لونجيسبينا	86
الجدول رقم(10) : تحديد مقدار IC_{50} للمستخلص الايثانولي وحمض الآسكوربيك	96

قائمة المختصـــــرات

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
MH	Muller Hinton
Rf	Rapport frontal
UV	Ultraviolet
V/V	Volume/Volume
SM	Spectre de masse
nm	Nanométre
mg	Milligrame
mm	Millimétre
ml	Millilitre
IR	Infra rouge
EAR	Efficacité antiradicalaire
%	Pourcentage
GC-MS	Gas Chromatography and Mass Spectrophotometer .
ATCC	American type culture collection

المقــــدمـــة

تعتبر الطبيعة بما تحويه من أصناف لا تعد ولا تحصى من النباتات كنزا لا يفنى من المواد الأولية الغزيرة والمتنوعة، وقد عرف الإنسان كيف يستفيد من هذا الكنز منذ القدم ، ولكن استعمال النباتات في التداوي الذي كان يتم بطريقة تجريبية تغير في أيامنا هذه, فقد تطور تبعا للنهضة التي حصلت في السنوات الأخيرة في ميادين كثيرة منها الزراعة والكيمياء والصيدلة.

توصل علماء النبات اليوم إلى تصنيف النباتات وتبويبها نتيجة للتجارب التي أجروها في هذا المضمار, إننا نعرف حاليا ، النباتات الأكثر فائدة, في أي أوقات نجمعها, وأي قسم منها يجب أن نستعمل: الجذور أو الأوراق أو الأزهار أو الثمار. كما نعرف ظروف الإنبات الأكثر تلاؤما في الظل أو الشمس, في تربة كلسية أو صلصالية, في مناطق جافة أو رطبة.

إن الأرض تنتج الأدوية بأمر من الله عز وجل, و على البشرية ألا تكون جاهلة بها، ولهـذا اهتمت كل الحضارات من مختلف القارات بالبحث في الخصائص العلاجية للنباتات, كما عملت جاهدة في تدجين أنواع النبات وزراعتها لأهداف غذائية، وفي الوقت نفسه تعلم الإنسان كثيرا من محيطه, فلاحظ من ماشيته أن أكل بعض الأعشاب ينشطها وأكل بعضها يصيبها بالإسهال, فسجل هذه الملاحظات المتكررة، و استفاد منها في حياته اليومية, ومع مرور السنين تجمعت لديه معرفة جمة في استعمال النبات والتي تعد رصيدا مهما في الدراسة الإثنوصيدلاني [103,16,6].فالنبات أصبح مصدر العديد من المواد الفعالة التي تستعمل في مداواة مختلف الأمراض عبر العالم, على سبيل المثال لقد أستخدم "العرقسوس" في علاج قرحة المعدة وعسر الهضم وأمراض الكلى , واستخدم "الخروع" في علاج الأمراض الجلدية ,كما استعمل "الشيح" الذي يحتوي على مادة "السانتونين" في طرد الديدان من المعدة وفي معالجة الأورا م الخبيثة, ومن النبتة ما يجعلها صيدلية قائمة بنفسها , ولنأخذ مثالا لذلك "البصلة",البصلة تحتوي على مادة "الكلوكونين" التي لها ما للأنسولين المعروف من قدرة على تنظيم عملية خزن المواد السكرية في الجسم ، وعصير البصلة مطهر قوي المفعول يقتل جراثيم التقيـــح وجراثيـــم التيفوئيـــد والجمرة الخبيثـــة, و في البصلـــــة

أملاح تقوي الأعصاب و تريحها وتجلب النوم , ومواد أخرى تقي الشرايين من التصلب وتراكم الكلس عليها في سن الشيخوخة، فتحسن بذلك الدورة الدموية.و فيها أخيرا مادة تزيد في القوى الجنسية.وهذا لا يقتصر على البصلة فقط بل أن الكثير من الأعشاب لا يقل عنها فائدة فيما يحتويه من مختلف أنواع المواد العلاجية الفعالة .ووفقا لاستراتيجيه البحث عن مواد بيوفعالــة من النباتات الطبية المتبعة بمخبر الكيمياء قمنا بدراسة فيتوكيميائي ة وتقييم بيولوجي لإحد ى النباتات الصحراوية المتداولة في الأوسا ط الشعبية والمنتشرة في إطار واسع في صحرائنا والتي تعرف في منطقة الجنوب الغربي باسم "الطليحية أو الشويك" وتسمى علميا فاقونيا لونجيسبينا"Fagonia Longispina " .

لإنجاز هذه الدراسة قمنا بدراسة إثنوصيدلانية تلتها دراسة فيتوكيمايئية وتقييم بيولوجي، و نلخص هذا العمل في جزئين :

الجزء النظري :عالجنا فيه دراسة النباتات الطبية والمواد الفعالة مع ذكر استعمال النباتات الطبية عبر التاريخ و أهمية بعض الأعشا ب الطبية ومكوناتها الفاعلة فــي النبات المــدروس.

وتطرقنا بعد ذلك إلى طرق فصل واستخلاص وتشخيص مركبات النواتج الطبيعية و اعتمدت في ذلك على أهم الطرائق الفيزيوكيميائية لفصل النواتج الطبيعيـــة .كما تعرضت إلى تعريف الفصيلة الزيغوفيلاسيا وذكر أنواعها, كما تطرقت للفعالية البيولوجيــة والفعالية ضد الأكسدة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا.

الجزء العملي : تعرضت إلى الوسائل وذكرالطرق المستخدمة في الدراسة (الايثنوصيدلانية , الدراسة الفيتو كيميائية , الفعالية البيولوجية , الفعالية ضد الأكسدة),بعد ذلك تطرقت إلى ذكر النتائج المحصل عليها ومناقشتها .

وأخيرا أنهيت المذكرة بخلاصة عامة تم فيها تلخيص مجمل النتائج العملية المحصل عليها

الجزء النظري

Theoretical part

I- النباتات الطبية والمواد الفعالة في النبات المدروس

1)- لمحة تاريخية حول النباتات الطبية

1- نظرة الإنسان البدائي إلى الأعشاب الطبية

إن رغبة الإنسان في المحافظة على صحته وتدعيم قواه دفعت به منذ نشأته الأولى إلى التفكير في الأعشاب الطبية واستعمالاتها في المعالجة. وقد سلك في ذالك سبلا شتى منها ما ما كانت قائمة على الفطرة أو التجربة, ومنها ما كانت قائمة على التقاليد والمعتقدات الدينية والتخيلات, أو الشعوذة والسحر حيث أن هناك من كان يؤمن بـأن هذا المرض أو ذاك سببه الأرواح الشريرة أو عقاب إلهي يلحق بالعبد نتيجة أعماله الشائنة, أو أخطاء ارتكبها, لذلك بحثوا في الشفاء لدى الكهنوت والسحرة ظنا منهم أن هؤلاء أو من كان على شاكلتهم لهم دراية وتصرفات روحانية أوأنهم هم الوسطاء بين السبب والمسبب، أو بين الأرواح الخفية والمرض. وهؤلاء الوسطاء كانوا يسلكون أولا في معالجتهم أو عندما يحضر لديهم المريض الاتصال بهذه الأرواح الخفية لذلك كانو ا يستعملون الأعشاب في شكل بخور لاستحضار هذه الأرواح كما يزعمون, وأحيانا كانوا ينصحون مرضاهم باستعمال هذه العشبة أو تلك لطرد المرض أو إبعاد الأرواح الشريرة. فالتداوي في هذه الفترة العريقة في القدم كانت في معظمها مبنية على العالم الروحاني للشعوب البدائية التي استوحت معظم أفكارها مما وراء الطبيعة وتخيلات بسيطة للغاية، والقليل من الناس كان يستوحي منافع الأعشاب من تصرفات بعض الحيوانات إزاء هذه الأعشاب أو هذا الطعام, بل كان من يتخذ من الحيوانات دليلا ومحلا للتجربة في معرفة سموم الأطعمة [3,1].

2. التداوي بالأعشاب لدى المصريين والبابليين القدماء :

المتتبع للحضارات القديمة يجد أن أقدم الآثار للتداوي بالأعشاب تعود إلى بلاد النيل حيث هناك نباتات عديدة استعملها المصريون قبل ألفي سنة للميلاد لمداواة مختلف أعضاء الجسم, ومن هذه العقاقير "قشرالرمان" لقتل الديدان المعوية, "الأفيون" للتخذير, "عروق اليبروح" لتسكين الألم و تخذير الأعصاب أثناء العمليات الجراحية وجبر الكسور المؤلمة.

وذكر أن في مصر كان كل طبيب يداوي مرضا معينا , وأن له حديقة خاصة بالنباتات الطبيعية فيها يوجد "العرعر,الحنظل,الرمان,الكتان,الكمون,الثوم"، استخدموا العديد من هذه الأعشاب في علاج الكثير من الأمراض بالإضافة إلى استخدامها في التحنيط، وكذلك في أمور الزينة والتجميل، مثل نبات "البلادونا" أي "المرأة الجميلة" الذي استخدمته النساء بكثرة لتوسيع حدقة العين.

ولم تقل معرفة البابليين لفوائد الأعشاب عن معرفة المصريين, إذ يذكر التاريخ أن العشاب البابلي كان يعرف خواص أكثر من 250 عشبة طبية قد جربها واختبرها وعرف منافعها ,و 180 عقارا حيوانيا, و180 عقارا معدنيا . ويذكر التاريخ أن ملك بابل "مادوا كالدين الثاني " (772 - 710 ق م) أنشأ حديقة,فيها أكثرمن 64 نبتة من تفاح ورمان وخشخاش[1,2, 3].

3.التداوي في بلاد الهند والصين :

لقد اشتهر في بلاد الصين الأمبراطور العشاب "شين نونغ، Chen Nong" فيما قبل الميلاد بمعرفة لأكثر من 365 عشبة طبية, كما ينسب إليه إدخال طريقة التأبير أوالمعالجة باستعمال الوخز بالإبر في أماكن معينة, واستعمال زبتة "الشيح" المتوهجة على نقط الوخز ,كما قام بتصنيف الأدوية و العقاقير. و إلى التداوي الصيني يعود الفضل في اكتشاف خصائص عقاقير "الكافور,والشاي, والبديان والأفيون ،..." وقيل إن الصيدلة الصينية وصلت في تلك العصور الغابرة إلى أكثر من ثمانية ألاف صيغة في تركيب الأدوية, اعتمدت على ما يقرب من ثمانية عشر ألف عقار. ولا شك أن الحضارة الهندية قد ساهمت هي الأخرى بوضعها صيغا للمعالجة بالأعشاب خاصة وأن طبيعة المناخ قد ساعدت على ظهور نباتات التوابل و أعشاب طبيعية أخرى لا تنبت إلا في بلاد الهند مثل «القرفة, والفلفل الأسود, والونجبيل،..." والتداوي بالأعشاب لدى الهنود قديما لم يسلم هو الآخر من السحر, شأنه في ذالك شأن المداواة القديمة أو العتيقة بصفة عامة. لكن رغم ذلك فقد عرف اللقاح وجراحة التجميل, وأعطت فوائد كثيرة للتداوي اليوناني والعربي من بعده [1-4,2].

4. التداوي عند الإغريق :

اتجهت المداواة بالأعشاب نحو التجربة واستعمال العقل للبحث عن الحقائق واختبار النتائج, وذلك على يد رائدها "أبوقراط، Hippocrate" الذي أطلق عليه الأوروبيون أبا الطب, وقد تعرض في كتابه إلى كل المعارف الطبية لعصره, وكان يستعمل زيت "الخروع" للإسهـــال , و"الخربق" للقيء وكذلك الماء الساخن, وعشبة "البلادونا، Belladona " و "الأفيون" للتخذير. ومن أشهر العشابين الإغريق نذكر "ديوسقوريد، Dioscorides " الذي ترك في كتابه المعروف بالمادة الطبيعية أو المقالات الخمس في الأعشاب التي ذكر فيها أكثر من 500 عشبة وعقاقير طبية أخرى معدنية[2 ,3].

5. التداوي بالأعشاب في العهد الإسلامي :

أما المسلمون في عصر النهضة الإسلامية والذي ظهر بعد قرن من وفاة الرسول محمد صلى الله عليه وسلم ، فقد ترجموا و حققوا وأعدوا و أنشأوا المكتبات الكبيرة, ومن الذين عملوا في طب الأعشاب نذكر البيروني والإدريسي والغافقي والانطاكي والرازي وابن سينا, ولكن أهم العشابين قاطبة هو ابن البيطار , وليس هناك أشهر من كتابه " الجامع لمفردات الأدوية والأغذية " والذي وصف فيه أكثر من 1400 عشبة مع رسومها التي رسمها منها300 نوع تذكر لأول مرة. ويعود الفضل للعرب في فتح أول صيدلية في بغداد في أول القرن الثامن للميلاد كما أن لهم الفضل في تأسيس علم الصيدلة بعد أن كان عبارة عن تجارة للعقاقير ولهم الفضل في وضع دساتير الأدوية ككتاب "الحاوي" للرازي وكتاب "القانون" لابن سينا, و"التذكرة" للأنطاكي و"الجامع" لابن البيطار, وللعرب الفضل أيضا في فصل الطب عن الصيدلة وفي فصل الصيدلة عن العطارة. إن المسلمين هم الذين أدخلوا الإصلاح والترتيب والشرح على تراث القدماء الذي كثيرا ما اكتنفه الغموض والخطأ, كما ساهموا في تطوير العلوم وتقدمها باكتشافاتهم الجديدة واختراعاتهم العديدة فـي الميادين المختلفة نذكر منها على سبيل المثال :

1 - اختراعهم لإسفنجة التخدير التي كانت تبلل بعصير "الأفيون" أو «البلادونا" أثناء العملية الجراحية.

2 - استطاعوا أن يميزوا بين الحوامض والقلويات, وعرفوا التقطير والتصعيد والترشيح والتبلور والتسامي.

3- استخرجوا الكحول من المواد السكرية والنشوية واسترجعوا عقاقير جديدة بعملياتهم الكيميائية.

4- اكتشفوا نباتات طبية عديدة فأضافوها إلى قاموس الأعشاب الطبية كما اكتشفوا أدوية لم تعرف من قبلهم, وعرفوا أن أعشاب المناطق الحارة أكثر فعالية من نباتات المناطق الباردة.

5- حثوا على استعمال الوقاية قبل العلاج وتواصوا بالحكم [6-5,2] .

6. التداوي بالأعشاب في أروبا :

بدأ الأوربيون يدخلون علم الطب الواسع خاصة في مطلع القرن التاسع عشر حين توجه الباحثون من عشابين وعلماء النبات وكيمائيين نحو الكيمياء العضوية لاكتشاف أسرار النباتات وعناصرها الفعالة فبلغوا في هذا الميدان شوطا بعيدا مكنهم من معرفة أسرار تركيب الخلايا وفصل العناصر عن بعضها ثم تركيبها مرة أخرى ومحاكاة الطبيعة فنتج عن ذلك تفوق العقاقير الكيماوية الاصطناعية وطغت المعالجة بالأدوية الاصطناعية الكيماوية على المداواة بالعقاقير النباتية "Phytothérapie" حتى كاد أن يختفي التداوي بالأعشاب [6-5,2] .

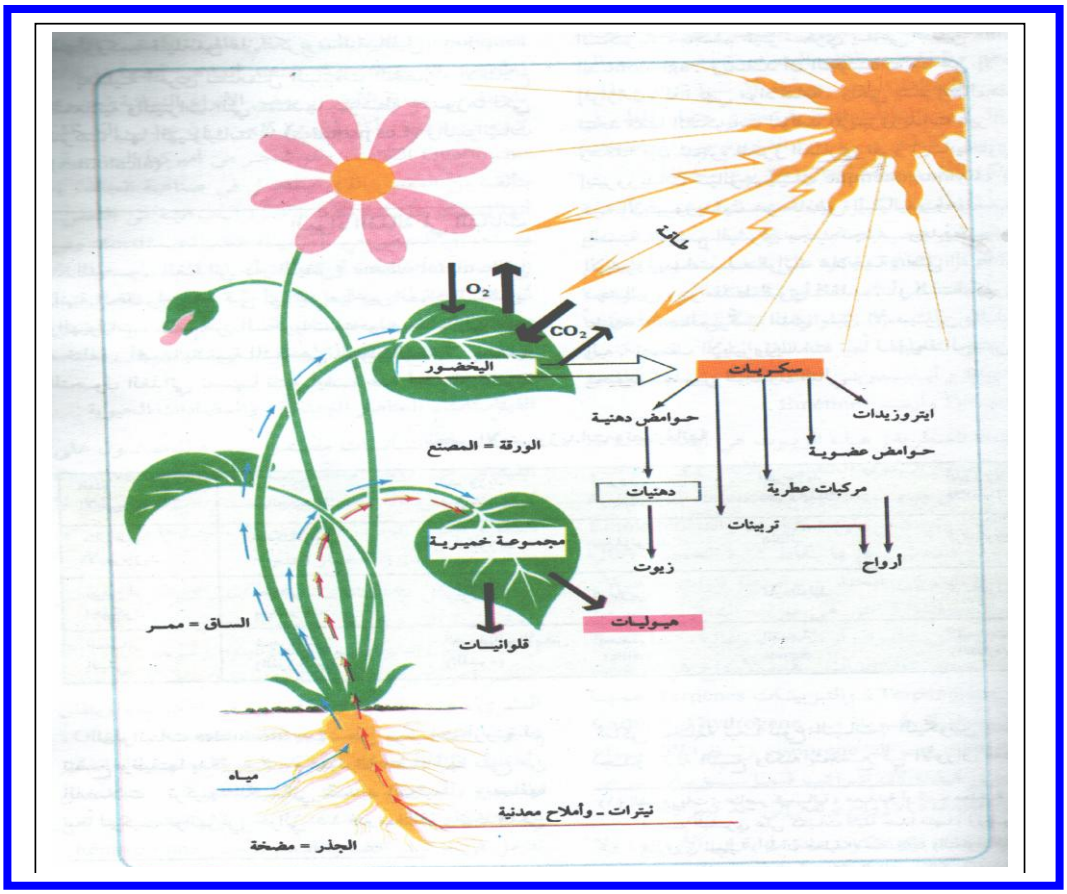
2)- المكونات الفاعلة في النبـــات :

1.المصنع النباتـــي :

تستعمل النباتات الخضراء مياه الأرض والطاقة الشمسية وغاز الكربون CO_2 الموجود في الهواء لصنع المواد السكرية " glucides « وتحويل هذه المواد المركبة بالاستفادة من الطاقة الشمسية (التركيب الضوئي"photosynthèse") , هذه العملية تتم في الأوراق , فـــي حبيبات اليخضور " Chloroplastes" التي تحتوي على اليخضور"الكلوروفيل Chlorophylle".

وتؤلف المواد السكرية خزانا للطاقة يساعد في توليد خلايا جديدة و مركبات كالدهنيات "Lipides" والأرواح "essences" والايتيروزيدات «Hétérosides». الخلية النباتية ككل الخلايا الحية تتنفس وهي تمتص الأوكسجين O_2 وتطرح غاز الكربون CO_2 أثناء النهار هذا التبادل الغازي تخفيه عملية التركيب الضوئي, الأمر الذي ينتج عنه إطلاق كميـــة كبيرة من الأوكسجيـــن ناء النهار وكمية قليلة من غاز الكربون أثناء الليل بعملية التنفس.

تستعمل النباتات الخضراء الأملاح المعدنية والنيترات التي تمتصها بواسطة جذورها لكي تركب منها البروتيدات" Les protides " والألكالويدات " Alcaloides".ونلخص العملية كاملة وفق الشكل رقم (1) [1,7-8] .

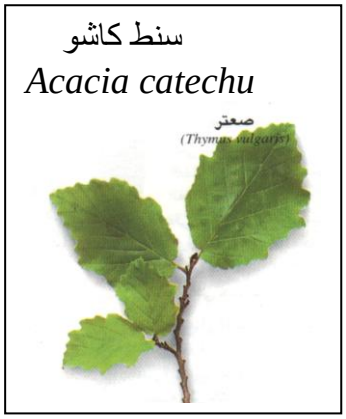


الشكل رقم (1): المصنع النباتـــــــي[1]

2.المكونـــات الفاعلـــة في نبات الفاقونيالونجيسبينا *(Fagonia Longispina)*:

1. العــفصيا ت

تنتج النباتات العفصيات " tannins " بدرجات متفاوتة، و إن المـذاق اللاذع للحـــاء الأشجار وأوراقها المحملة بحموض "التنيك" تجعلها غير مستساغة عند الحشرات والحيوانات التي ترعى. كما أنها تقلص أنسجة الجسم، ومن ثم تستخدم لدبغ الجلود، وتكثر في لحاء " سنط كاشو، *Acacia catechu*" شكل رقم (2).



شكل رقم (2) : صورة لسنط كاشو[1]

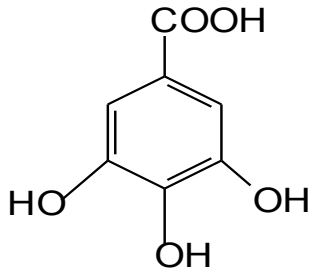
العفصيات مركبات فينولية لها أوزان جزيئية محصورة بين 500 و 3000 غ/مول, ولها خاصية ترسيب الألكالويدات، الهلاميات والبـروتينات. والعفصيات تذوب في الماء مشكلة محاليل غروية تذوب في المركبات العضوية مثل الكحولات والسيتونات. تترسب بالمعادن الثقيلة مثل الرصاص والحديد وتتفاعل كالفينولات مع كلوريد الحديد الـثلاثي[57,12,3].

1.1.أنواع العــفصيا ت :

يمكن أن نميز نوعان من العفصيات.

أ -العــفصيا ت القابلة للذوبان

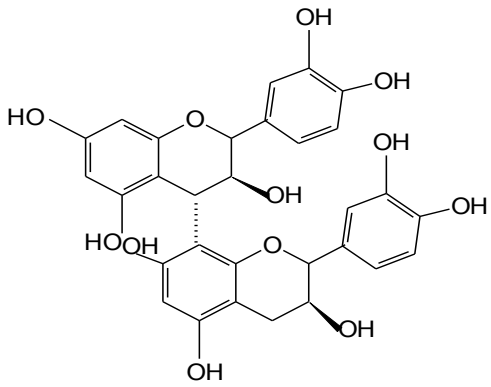
العفصيات القابلة للذوبان "Tanins hydrosolubles" هي مركبات متعددة الأستر ناتجة من تفاعل سكر مع حمض فينولي [9-12]. كمثال على هذه الأحماض الفينولية حمض القاليك الموضح في الشكل رقم (3) :



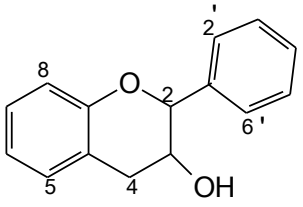
الشكل رقم (3): حمض القاليك (Acide gallique) .

ب- العــفصيا ت المتكثفة أو البروانثوسيانيدول :

هذه العفصيات" LesTaninsCondensés" لا يمكن إماهتها, وعند تعريضها لعوامل إماهة فإنها تتبلور مكونة مواد غير ذوابة حمراء اللون في الغالب تسمى "بالفالوبافين، phalobaphene " حيث العنصر الأساسي لهذا البوليمر هو " Flavan-3-ol " المتصل ببعضه البعض بواسطة روابط كربونية أغلبها في المواقع 4-8 أو 4-6 كما هو موضح في الشكل (4)[3, 12] .



Procyanidol B-3



Flavan-3-ol

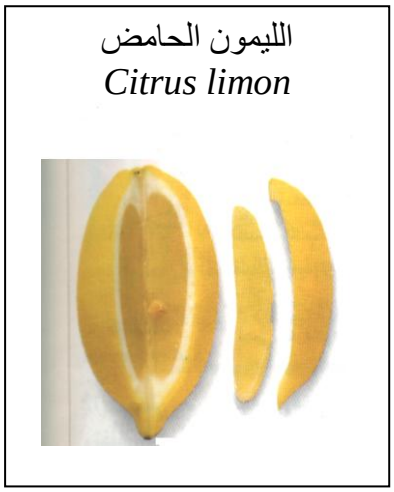
الشكل رقم (4) : (Procyanidol B-3 , Flavan-3-ol [3, 12,57] .

2.1. الخــواص البيولوجيــة :

العفصيات قابضة للعروق على مستوى الأوردة السطحية الصغيرة ولهذا تستخدم كمضادة للإسهال, كما تستعمل في معالجة الحروق وتوقيف النزيف, مضادة للتسمم بالألكالويدات والمعادن الثقيلة, مضادة للالتهابات وقاتلة للمكروبات, تستعمل للوقاية وعلاج الأمراض الإشعاعية,واقية للأغشية المخاطية والجلد التالف من المؤثرات الخارجية [13,12,3 , 57] .

2.الفلافونو يدات:

الفلافونويدات " Les Flavonoides " عموما هي مواد ملونة أكثر انتشار لدى النباتات, مثل الليمون الحامض" *Citrus limon*" شكل رقم (5), توجد كمواد منحلة على شكل سكريات غير متجانسة " Hétérosides " كما تشكل الجزء الأكبر من المركبات الطبيعيــة التي تنتمي إلى عائلة متعددة الفينولات.

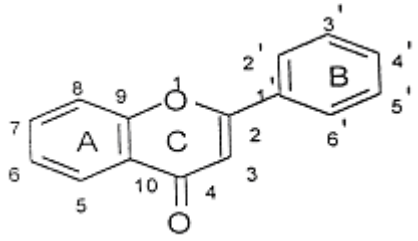


الشكل رقم (5) : الليمون الحامض[1]

الفلافونويدات لها بنية من الشكل 6C-3C-6C. كما نجدها في الأعضاء العلوية النباتية مثل الأنثوسيان الذي يتمركز في الجزء الخارجي للثمار, الأزهار والأوراق, فهي إذن تدخل في الصبغات النباتيـــــــة.

1.2.أنواع الفلافويندات :

تنقسم الفلافويندات إلى عدة أنواع بدلالة عدة عوامل أكثـرها شيوعا هو التقسيم الذي يتم وفق درجة الأكسدة للنواة البيرونية المركزية.الشكل رقم (6) [12] .



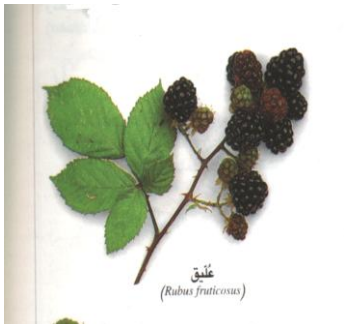
الشكل رقم (6): الهيكل الأساسي للفلافونويدات [3, 12]

ومن أهم هذه الفلافونويدات :

أ-الأنثـــو سيانيـــنات :

الأنثوسيانينات "**Anthocyane** " وهي التي تعطي للأزهار والفاكهة لونا أزرقا أو أرجوانيا أو أحمر تبعا لتشردها وباختلاف درجة الحموضة " PH " احمرار الأعضاء في وسط حامضي, وأزرق في الوسط القاعدي ", أما في الوسط المتعادل فتكون بنفسجية اللون. كما أنها تساعد في الحفاظ على صحة الأوعية الدموية مثل العليق " *Rubus fruticosus* " شكل رقم (7), فهو يحتوي على كميات كبيرة من الأنثوسيانينات[1-12,3] .

Rubus fruticosus
عليق

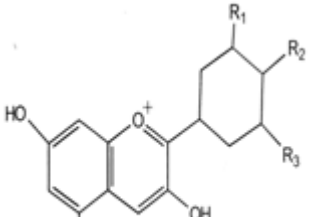


الشكل رقم (7) : عليق [1]

وجد الأنثوسيانينات متحدة مع السكر بشكل قليكوزيد(glycosides), وهذه الأصباغ تذوب في الماء وينتـج عنها الألوان الزاهية الموجودة في النباتات,كما أنها مركبات أمفوتيرية " amphoterique"كما نجد الألوان متعلقة بعدد مجموعات الهيدروكسيل OH جدول رقم (3).

جدول رقم (1): يوضح علاقة اللون بمجموعة الهيدروكسيل

اللون	R_1	R_2	R_3
أحمر	H	OH	H
أحمرشديد	OH	OH	H
أزرق	OH	OH	H



الشكل رقم(8):جريئة الأنثوسيان [3, 57,12]

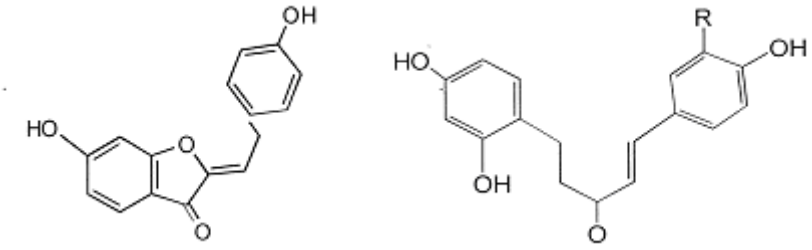
ب- البرونثوسيانويـــد:

البرونثوسيانويد " Pronthocyanoide " مركبات عديمة اللون, تتواجد بكثرة في السيقان والأوراق. وهذا اللون في أغلب الأزهار هـو من "الجزرين" من اليخضور .

ج- فلافونول:

فلافونول " Flavonols " مركبات تلون الأزهار بالأصفر، وهذا اللون في أغلب الأزهار هو من "الجزرين" من اليخضـور .

ومن أهم أنواعها : " chalcone , aurone ". الشكل رقم(9).

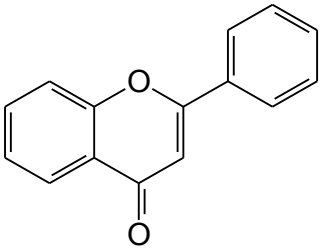


aurone chalcone

الشكل رقم(9) : (aurone,chalcone)[3, 57,12]

د- **فلافون :**

فلافون " Flavones " أصباغ نباتية صفراء اللون تشابه الأنثوسيانين في تركيب الجزيئة الأساس. الشكل رقم (10).



الشكل رقم (10) : فلافون[3, 12]

2.2.الخصائص الفيزيوكيميائية والفيزيولوجية :

السكريات غير المتاجنسة الفلافونويدية قابلة للذوبان في الماء والكحولات , وعلى العكس فهي شديدة الذوبان في المذيبات العضوية اللاقطبية. العديد من الفلافونينات نظرا لاحتوائها مجموعة معتبرة من الفينول فهي قابلة للتثبث على بعض البروتينات أو الأنزيمات وبذلك تغير التوازن الأنزيمي الذي يدخل في مختلف مراحل التطور لسيما عند عملية الإنتا ش. الفلافونويدات تمتص الأشعة فوق البنفسجية بدرجة كبيرة, مما يجعلها تحمي النبتة إزاء الأشعة الضارة[15, 57].

3.2. الخصـــائص البيولوجية :

تستعمل الفلافونيات كمضادات للحساسيةوللتشنج مثل فلافونيات الزعتر" T*hymus vulgaris*" وهي مدرة للبول, ومضادة أيضا للبكتيريا والفيروسات. لها مجال واسع من الأفعال وهي مضادة للالتهابات ومفيدة خاصة في الحفاظ على الدوران الصحي. كما لها القدرة على خفض نفادية الشعيرات الدموية وتقوية مقاومتها, وتلعب دور مثبطات الإنزيمات مثل مثبط ايلاستاز"elastase " [11,3-57,14] .

3.التربينات والسترويدات "Les Terpénes et Les Stéroïdes" **:**

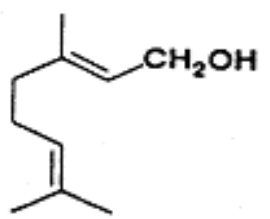
لقد لوحظ مند القدم بأن, الثمار, الأوراق و الجذور لبعض النباتات تحتوي على مواد طيارة و ذات رائحة عطرية أطلق على هذه المواد اسم الزيوت العطرية أو الزيوت الأساسية" Les huiles essentielles". واستخلصت هذه الزيوت بطرق عديدة واستعملت في مجالات واسعة كتحضير العطور وبعض العقاقير الطبية....الخ، وبدراسة المكونات الكيميائية لهذه الزيوت وجد أنها مزيج معقد من مركبات غير حلقية، حلقية، عطرية وحلقات غير متاجنسة. إن مادة التربين هي إحدى المواد المفصولة من الزيت العطري وبالتالي يطلق اسم التربينات على الهيدروكربونات الطبيعية المسؤولة على الرائحة الزكية للنباتات وهي مواد تتخرب تحت أشعة الضوء المركزة ولا تذوب في الماء كما أنه قد عزل منها حوالي 2000 مركب. أما الستيرويدات فهي مركبات توجد في العالم النباتي والعالم الحيواني, وأقدم "ستيرول" معروف هو"الكوليسترول " $C_{27}H_{45}OH$ (الذي يوجد على شكل أستر في كافة أعضاء الجسم وبكمية كبيرة في المخ وفي الأعصاب)[3, 12, 57,15] .

1.3. تصنيف التربينات " Classifications des terpènes " **:**

إن تصنيف التربينات يعتمد على عدد وحدات الايزوبرين في الجزيئة. إن وحدة التربين الواحد تعادل وحدتي ايزوبرين, لذلك فالقانون العام للتربينات هو $(C_5H_8)_n$ حيث n هو عدد وحدات الايزوبرين, وقد صنفت على النحو التالـــي:

أ. أحـــــاديةالتربن :

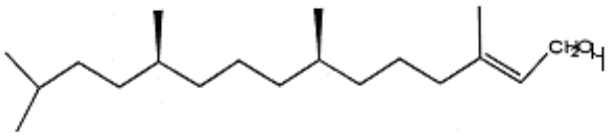
إن هذا النوع من التربينات " Les Mono Terpène " تتكون من وحدتي ايزوبين مرتبطة مع بعضهما, لها روائح قوية مما يعطيها فعالية بـيولوجية مهمة, كما يوضحه المركب في الشكل رقم (11).



الشكل رقم (11) : جيرانيول (géraniol) [3, 12]

ب. ثنائية التربـــــن :

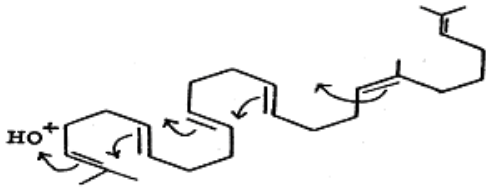
إن هذا النوع من التربينات " Les Diterpènes " يحتوي على أربع وحدات ايزوبرين ومن أهم مركباته الفيتول " Phytol " الشكل رقم (12) الذي تم استخلاصه من التحليل المائي للكلوروفيل, ويدخل في تركيب الفيتامين E و C.



الشكل رقم (12) : فيتول "phytol" [12 ,3] "

ج. ثلاثيـــة التربيـــن :

إن التربينات الثلاثية " Les triterpènes " تحتوي على ست وحدات ايزوبرين متصلة مع بعضها لتكون سلسلة مفتوحة أو حلقات سداسية مندمجة مع بعضها. إن مكونات هذا النوع من التربينات تكون المواد الأساسية للتكوين الحيوي لمركبات الستيرويد والكلولسترول.
ومن أهم هذه المكونات السكوالين " Squalene " الشكل رقم(13).

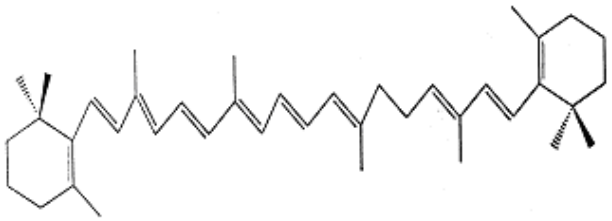


الشكل رقم(13) :السكوالين (Squalene)[57,12 ,3]

د. التربينـــات الرباعيـــــة:

التربينات الرباعية " Les Tetraterpénes"تحتوي على ثمان وحدات ايزوبرين في تركيبها,ومثال على ذلك الكاروتينات االشكل رقم(14)الموجودة في زيوت كثيرة من النباتات

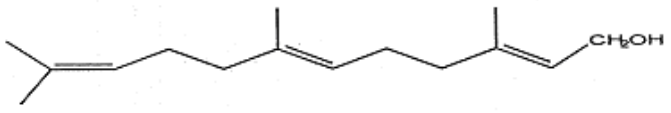
والحيوانات وتتميز باللون الأصفر أو البرتقالي أو الأحمر وغالبا ما تكون ممزوجة مع كلوروفيل وتتمبز بفعالية بيولوجية مهمـــة .



الشكل رقم(14) : β كاروتين [3, 57,12]

هـــ. السيسكيتربن :

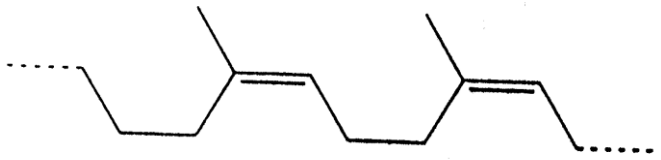
السيسكيتربن " Les Sesquiterpènes " نوع من التربينات يحتوي على ثلاث وحدات ايزوبرين موجودة في الطبيعة جزء من مكونات الزيوت الأساسية لكثير من النباتات مثل الفارنيسول " Farnesol " الشكل رقم(15) المستخلص مـن شيشة الدينا "الجنجل", إن هذا المركب موجود أيضا في زيت أزهار الشوك وأزهار بخور مريم وفي زيت حبوب المسك بنسبة0.1٪ ويستعمل في تحضير نـوع خاص من العطـور.



الشكل رقم(15) : فارنيسول [3, 12]

و. متعدد التربـــن :

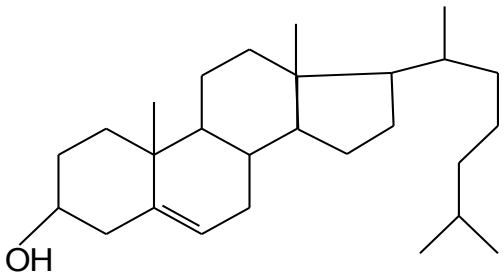
متعدد التربن " PolyTerpéne " ينتـج من اتحاد عدد من جزيئات الازوبرين تصـل إلـى 1000 وحـدة مثل المطـاط الطبيعي " Caoutchouc " الشكل رقم (16).



الشكل رقم (16) : المطـاط الطبيعي(Caoutchouc) [3, 12]

2.3. ستــرويـــــــدات :

ستـرويدات " Les Steroides " وتشمل مركبات عديدة تشترك في تركيبها الكيميائي وحدة أساسية مكونة من أربع حلقات مندمجة، ثلاث منها سداسية والرابعة خماسية, بشكل يشابـه المركب العطري المعروف حلقي بنتان فينانثرينيبك" Cyclo pentanphénanthrenique " وهي منتشرة بكثرة في الطبيعة وفي الأنسجة الحيوانية و النباتية .من أهمها الكوليسترول "Cholesterol" التي توجد في حصو المرارة أو بشكل أستر في كافة الخلايا الحيوانية. خاصة في المخ والنخاع الشوكي والكبد والزيوت والشحوم, ويعتبر المخ والنخاع الشوكي للأغنام وزيت كبد الأسماك من المصادر الرئيسية لاستخلا ص الكولسترول الشكل رقم (17).



الشكل رقم (17): الكوليسترول (Cholestérol) [3, 12,57]

3.3. الخصائص البيولوجية للتربينات والستيرويدات :

للتربينات أهمية بيولوجية كبيرة في الحياة العملية فهي تستعمل كمضادة للفيروسات وللالتهابات وللتشنج وللحساسية وله ا خصائص مضادة للبكتريا, مسكنة للألم, مبيدات للجراثيم. أما الستيرويدات فلها دور هرموني حيث تعمل على زيادة قدرة الخلايا في الانقسام للحماية. كما تستعمل في معالجة أمراض الربو و الروماتيزم[3, 12, 15].

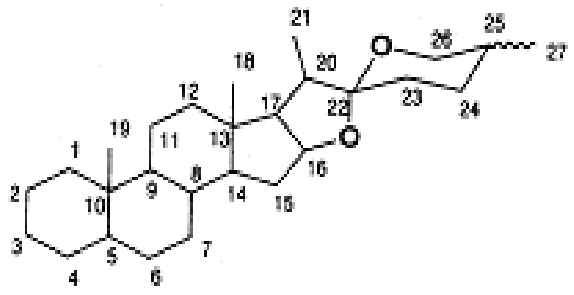
4.الصابونوزيـــدات:

ثمة نوعان من الصابونوزيدات " **Les Saponosides** " الصابونينات ثلاثية التربينويد و الصابونوزيدات الستيرويدية. و قد حصلت الأخيرة على اسمها لشبهها بالهرمونات الستيرويدية الموجودة في جسم الإنسان بشكل طبيعي ولكثير من النباتات التي تحتوي على الصابونوزيدات الستيرويدية نشاط هرموني مميز, وأشهرها السوس المخزني " *glabra Glycyrrhiza* ".الصابونوزيدات مركبات ستيرويدية موجودة في الطبيعة في بعض النباتات بشكل قلوكوزيد, عند إذابتها في الماء تكون رغوة كالصابون ذلك لأنها تؤثر على شدة التوترالسطحي للماء لذا سميت بالصابونوزيدات.

1.4. أنواع الصابونوزيدات

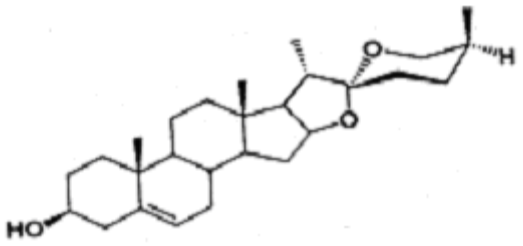
أ.الصابونزيدات الستيرويدية :

الصابونزيدات الستيرويدية" Les Saponosides Stéroidiques " مركبات تتميز ببنية تتكون من 27 ذرة كربون تتوزع على ستة حلقات وهو شبيه بالكولسترول الشكل رقم (18) :



الشكل رقم (18) : سبيروستان(Spirostane) [3, 12]

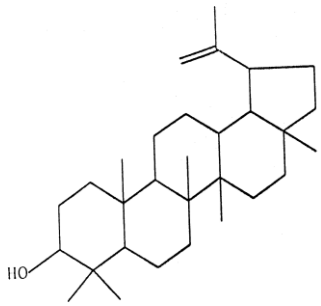
كمثال على هذا الياموجينين" Yamogénine" المحصل عليه من تميه صابونزيدات مستخلص نبات الحلبة"*Trigonella. Foenum.Graecum (L)*" .



الشكل رقم (19) : الياموجينين(Yamogénine) [3, 57,12]

ب. صابونزيدات ثلاثية التربنيك:

صابونزيدات ثلاثية التربنيك : "Les Saponosides Triterpénique " وهي مركبات ذات بنية خماسية الحلقة نادرا ما تكون رباعية الحلقة ومن أمثلة ذلك لوبيول " Lupeol" الشكل رقم (20).



الشكل رقم (20): لوبيول Lupeol

2.4. الخصائص الفيزيوكيميائية :

تتحلل في الماء مشكلة محاليل غروية, تذوب في مذيبات مثل الكحولات الميثيلية والاثيلية المخففة والماء, لا تذوب في ايثر البترول والكلوروفورم والبنزين وثنائي ايثيل ايثر. لها درجة انصهار مرتفعة تتراوح مابين 200 م° و300 م°. تتميز بعدة تفاعلات لونية مع حمض الكبريت حيث تذوب الصابونزيدات معطية اللون الأصفر, الأزرق المخضر,

الأزرق البنفسجي. يظهر إشعاع أزرق بالنسبة للصابونزيدات الثلاثية وأصفر مع الصابونزيدات الستيرويدية وهذا في حالة الاختبار بالأشعة فوق البنفسجية[3, 12, 15] .

3.4. الخصائص البيولوجيـــة :

الصابونزيدات مواد منشطة تتميز بعدة خصائص نذكر منها أنها مضادة للالتهابات والفطريات ولمرض السكر وللقرحة المعدية, تستعمل كمضادات حيوية وكمادة سامة لصيد السمك ومدرة للبول. أغلب الصابونزيدات تعطى عن طريق الفم حيث إذا حقنت في الأوعية الدموية تسبب انحلال كريات الدم الحمراء[3, 12, 15] .

5. الألكلويـــــدات :

الألكلويدات " Les Alcaloïdes " مجموعة شديدة الاختلاط تحتوي في الغالب على جزيء حامل للنتروجين (N) يجعلها فاعلة من الناحية الدوائية. بعضها عقاقير مشهورة ذات استخدام طبي مميز مثل الأتروبين في نبات المرأة الجميلة" *Atropa belladonna*" الشكل رقم (21), التي لها تأثير مباشر على الجسم حيث يقلل التشنجات ويفرج الألم و يخفض افرازات الجسم والذي استخدمته النساء بكثرة لتوسيع حدقة العين.

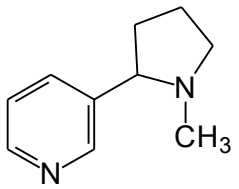
Atropa belladonna

الشكل رقم (21): Atropa belladonna [1]

اقترح " kenigs " في عام 1880 م تعريف الألكلويدات (القلويات) على أنها المركبـات العضوية القاعدية الموجودة في الطبيعة والتي في تركيبها تحتوي حلقة البيريدين "Pyridine", إلا إن هـذا التعريف قد تغير أيضا فأصبحت تشمل جميع المركبات القاعدية العضوية الموجودة في الطبيعة والتي تحتوي على ذرة الأزوت ضمن حلقة غير متجانسة. وحسب هذا التعريف فإن الألكلويدات لا تشمل المركبات العضوية التي من أصل حيواني , ولذا فهو غير شامل رغم أن الكثير مـن المؤلفين يعتبرون الألكلويدات من أصل نباتي "Plante Alkaloides " وبصورة عامة فالألكلويدات مركبات عضوية سامة إذا استعملت بكميات كبيرة, ولها فائدة جيدة من خلال نأثيراتها الفسيولوجية إذا استعملت بكميات صغيرة. وبالرغم من أن بعض المركبات العضوية التي لها نفس التأثير السابق إلا أنها غير نباتية, ولذلك فإنها لا تعتبر من الألكالويدات[3, 12, 15] .

1. الخواص العامـــة :

الألكاويدات مواد صلبة متبلورة عديمة اللون غير متبخرة لا تذوب في الماء ولكنها تذوب في المذيبات العضوية (الايثر ,الكلوروفورم ,الكحول). كما توجد بعض الألكلويدات بشكل سائل تذوب في الماء مثل النيكوتين " Nicotine " الشكل رقم (22), وقد تكون ملونة باللون الأصفر وأغلب هذه الألكلويدات لها طعم مر وفعالة بصريا وتحتوي على ذرة أزوت أو أكثر ضمن تركيب حلقي. تملك أوزان جزيئية تصل إلى 900غ /مول [11, 12]



الشكل رقم(22) : النيكوتين (Nicotine)

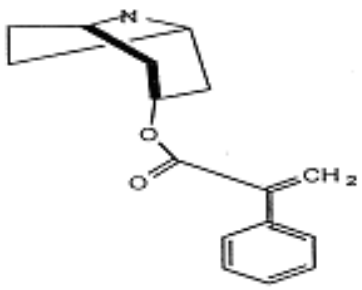
الأسس المتبلورة تحرف الضوء المستقطب, لديـها درجة انصهار مرتفعة, لا تتفكك في أقل من 200م°. الميزة الأساسية للألكالويدات وهي تشكيل الأملاح مع الأحماض المعدنية والعضوية .

2.5.تصنيف الألكلويـــــــدات :

يمكن تصنيف الألكلويدات إلى ثلاث أقسام رئيسية هــي :

أ. الألكلويدات الحقيقية :

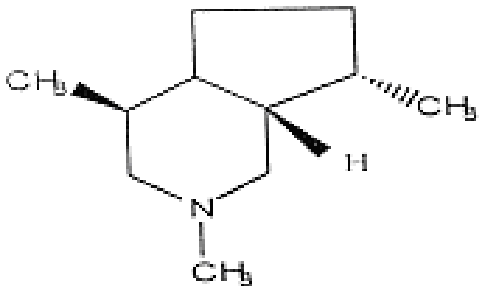
الألكلويدات الحقيقية " " Les Alcaloïdes Vrais " هي مشتقات الأحماض الأمينية ذات بنية حلقية تحتوي على ذرة أزوت, ومثال على ذلك أبوتروبين الشكل رقم (23) .



الشكل رقم (23) :أبوأتروبين (Apoatropine) [3, 12]

ب. شبيهة الألكلويد :

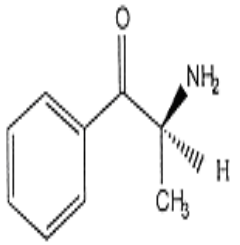
شبيهة الألكلويد " Les Pseudo-alcaloïdes " مركبات لا تشتق من الأحماض الأمينية ولها نفس خصائص الألكلويدات الحقيقية. مثال على ذلك β-سكيتانتين الشكل رقم (24).



الشكل رقم (24) : β سكيتانتين(Skytanthine)

ج. البروتوألكلويد :

البروتوألكلويد" Proto- alcaloïdes" وهي مركبات تحتوي على مجموعة أمينية جانبية لا تنتمي إلى النظام الحلقي, كما أنـها تشتق من الأحماض الأمينية , مثل(-) كاتينون الشكل رقم (25).



الشكل رقم (25) : (-) كاتينون(Cathinone (-))

3.5. الخصائص البيولوجيـــة :

تعتبر مواد مسكنة أوخافضة للنشاط على مستوى المراكز العصبية مثل المورفين "morphine" موسعة لحدقة العين مثل أتروبين "atropine" ,مضادة للسرطان مثل ألكالويدات فيركا " virca", منبهة مثل الكافيين " caffeine", مـدرة للبول مثل كزنتين "xanthine", ومضادة للبكتريا والفطريات[3, 12, 57,15].

6.المعـــــادن :

بعض الأعشاب غنية بالمعادن مثل نبات الطرخشقون " *Taraxacum officinal*" الذي يحتوي على كميات كبـيرة من البوتاسيوم, كما يسـاعد فى الحفاظ على مستويات عاليـة من البوتاسيوم.

المواد المعدنية لا تولد القدرة للجسم, ولكنها تقوم بأدوار هام ة, وإذا نقص أحدها أو فقد من الوارد الغذائي, فيؤدي إلى أعراض خطيرة قد تنتهي بالموت, فهي تؤمن اتزان الخلائط والسوائل, ولها دور في احتراق المواد العضوية[3, 12, 15- 16].

خلاصـــــــــــة :

لقد توجهت الدراسات في السنوات الأخيرة نحو الأعشاب الطبية لما لها من مميزات وفوائد لا يمكن الاستهانة بها. وخاصة خلال القرن المنصرم، فإن الحقبة الماضية شهدت عودة إلى استخدام الأعشاب الطبية في علاج الأمراض كواحدة من أهم أفرع الطب البديل، ولا يقتصرا الاهتمام بالتداوي بالأعشاب على الدول المتقدمة بل تعداها إلى الكثير من بلدان العالم النامي. فالمجتمعات الأفريقية والآسيوية بقيت محافظة على هذا الرصيد الثقافي ولم تتخل عنه رغم تأثرها بما تفرزه الحضارة المعاصرة من تكنولوجية وأدوية ،وهذا خلافا للمجتمعات الغربية التي تأثرت تأثرا كبيرا بهذا التقدم التكنولوجي مما جعلها تبتعد نوعا ما عن التداوي المباشر بالأعشاب " phytothérapie" ولكنه بقي في ذاكرتها ، وبعد الستينات عادت إليه ولكن بتطبيق أسس علمية ثابتة أين تلعب الكيمياء النباتية "phytochimie" دورا حيويا في استخلاص المواد الفعالة أو العناصر الفعالة من النبتة " principe actif" وهذا باستعمال طرق كيميائية تحليلية وفيزيائية مختلفة ثم يأتي دور البيولوجي والصيدلي لإجراء التجارب البيولوجية [3, 15] .

وتتنوع طرق استخدام الأعشاب الطبية من استخدام منقوع أو مغلي النبات الكامل إلى استخلاص المواد الفعالة ,واستخدامها في صور تراكيب صيدلية مختلفة، وتعد العودة لاستخدام النباتات الطبية في العلاج , هي عودة للطبيعة، خاصة وأن العقاقير التصنيعية لها أعراض جانبية متعددة مقارنة بهذه الأعشاب.

ويبقى أن نشير هنا إلى ضرورة تقنين استخدام هذه الأعشاب الطبية، خاصة وأن ـها تحتوي على العديد من المواد الفعالة؛ لذا فمن الأفضل استخلاص المادة الفعالة وتحضير التراكيب الصيدلية المختلفة منها، مما سوف يؤدي إلى تقليل ظهور أي أعراض جانبي ـة بسبب استخدام جميع أجزاء النبات.

و من خلال ما ذكر من قبل نجد أن هناك علاقة وطيدة بين الوصفات الشعبية والأدوية الحديثة وهذا ما نراه من المواد الفعالة في الطب الحديث المستخلصة من النبات و التي تستخدم لنفس الغرض, حيث لكل نبتة خصائصها البيولوجية و الطبية، و

تأثيرات جانبية ومضاعفات وتنافرات نباتية ودوائية التي يجب أخذها بعين الاعتبار عند استعمالها وفقا للضرورة وأن تتم المعالجة بها على أيدي خبيرة للوصول إلى نتائج أفضل و إنفاق مثمر. ولربط الحديث بالقديم والتعمق في الأبحاث والاكتشافا ت, لازالت نباتات كثيرة في العالم الحديث بل وحتى القديم لم تعرف خواصها ومنافعها وتنتظر من الطبابة الخضراء اكتشاف أسرارها وفضائلها [3, 17-57,19] .

Π- طرق فصل واستخلاص وتشخيص مركبات النواتج الطبيعية

1)-المستخلصات النباتيـــة

1- تعريف الاستخلاص :

الاستخلاص هو عزل المواد الطبيعية أو المواد المركبة من المادة الخام(النبات) بالمذيبـات, يمكن تعريفه أيضا بأنه طريقة تسمح بفصل مادة عن أخرى باستعمال المذيبـات. إن المادة المراد فصلها قد تكون سائلة فنطبق عليها طريقة الاستخلاص(سائل-سائل) ,وقد تكون صلبة فنطبق عليها طريقة الاستخلاص(صلب–سائل)[20,3-21].

2. **الاستخلاص الصلب– السائل** له عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة, الضغط , كيفية استعمال المذيب و أشهر هذه الأشكـــال :

أ. التربيب "Macération **":**

هو التثجير أو التخمير الذي يكون بوضع العقار أو العشبة الطبية في مادة مذيبة دون تسخينها بل تترك داخل هذا المحلل لمدة معينة تحت درجة حرارة عادية مع تحريكها من حيـن لأخر لتنشيط عملية الإذابة للعقار وإطلاق عناصره المنحلة ثم يفصل العقار(العشبة الطبية) عن السائل بوضعه في خرقة (قطعة قماش منفذة ذات عيون دقيقة) لعصره وما تبقى في هـذه الخرقة هو المعروف بالحثالة، وأما خلاصة هذا السائل فتسمى بالرب.

ب. التنقيع" Infusion**":**

يكون عادة بتغلية الماء في إناء لمدة معينة ثم يصب هذا الماء المغلي فوق العقار(العشبة الطبية) الذي يكون قد وضع في إبريق ثم يترك الخليط لمدة 10 إلى 15 دقيقة وهي المـدة الكافية لإذابـة العقار في الماء الساخن. وقد يكون الاستخلاص على البارد (التنقيع) حيث توضع المادة (العقار) داخل إناء يحتوي كمية محددة من المذيب بحيث يكون مستوى السائل فوق المادة الصلبة بعد عملية المزج ,ثم يترك لمدة زمنية معينة يتم خلالها تحريك المزيج من حين إلى آخر حتى يحدث التماس بين المادة الصلبة والمذيب ,عندها يتم انتقال المادة المراد فصلها من العقار إلى المذيب ,ثم بعد ذلك نطبق عملية الترشيح للفصل بينهمـا.

ج. الطبخ" Décoction" **:**

ويسمى بالسلق وهو عملية تتم بوضع العقار في سائل مذيب كالماء في أغلب الأحيان وهو في حالة الغليان وذلك لمدة معينة ولتكن 20 د مثلا أو بوضع العقار في سائل مذيب بارد ثم تسلط على هذا المذيب نار حتى يغلي لمدة 10الى 20 د . وقد تستعمل الأواني المحكمة الغلق لطبخ العقار تحت الضغط دون تبخر في درجة حرارة تزيد عن درجة الغليان, وهذه الطريقة تكون للمواد الصلبة التي لا تطلق عناصرها الفعالة إلا تحت تأثير درجة الحرارة العالية مثل الأصول والأخشاب والقشور أما الثمار والأوراق وخاصة الأزهار فلا تعرض للطبخ بل أكثر ما تستحضر بطريقة التنقيع أو التربيب .والتغلية كثيرا ما أدت إلى إتلاف العناصر الفعالة اللينة خاصة الفيتامينات والزيوت العطرية لهذا يجب عدم المبالغة فيها.

د. التزحيل" Lixiviation" **:**

هو الترشيح الذي يتم أولا بطحن العقار طحنا دقيقا ثم يستفرغ من عناصره الفعالة بالصب عليه سائلا باردا أو ساخنا مذيبا ببطء : ماء أو كحول , فهذا السائل المتحرك يسحب معه العناصر الفعالة للنبات الطبي (العقار) بعد تمليصها من اصولها نتيجة اختلاف الجاذبية والحركة للسائل وتقنية التزحيل بسيطة للغاية إذ يكفي لذلك أن تضع العقار المسحوق في إناء مثقوب من أسفل يسمى المرشح وعلى هذا الثقب قطعة قطن لإمساك المواد الخشنة وترك المواد الدقيقة تسيل مع الماء الذي يصب فوق العقار المسحوق .

و. التبخير " Evaporation ":

يلجأ إلى التبخير للتقليل من نسبة حجم السائل إلى العقار المنحل فيه قصد الحصول على ما يعرف بالخلاصة ,ذلك أن الخلاصة هي نتيجة التبخر للسائل سواء أكان عصارة أو محلول حتى الوصول به إلى حالة الميوعة" Fluide " أوالرخاوة " Molle " واليبوسة "Sèche " فالخلاصة المائية هي المحتوية على أكثر من 20٪ ماء والرخوة هي المحتوية على حوالي20٪ ماء أما الجافة فهي التي تحوي ما دون 15٪ ماء .إن الهدف من تحضير الخلاصـات هو الحصول على العناصر الفعالة للمواد الطبية واختصارها في حجـم

صغير. وحاليا تستحضر الخلاصات من سوائل ناتجة باستخدام العمليات السابقة والتي تؤدي إلى إذابة العناصر الفعالة للعقار بالماء أو الكحول أو الإيثر وأبسط طرق الحصول على الخلاصات من هذه المذيبات هي تعريضها للتبخير في الهواء الطلق أو النار أو في حرارة معينة أو في الفراغ أو في الأفران أو مجففات خاصة بذلك.

ك. التقطير" Distillation **" :**

هي عملية تبخير للماء أو غيره من الأجسام الرطبة للفصل بين الأجسام أو تمييزها عن بعضها حسب كثافتها وقد تستهدف فصل العناصر الطيارة التي يحويها المركب من عناصر أخرى غير طيارة, فالتقطير يعتمد على شيئين أساسيين هما الماء والنبات .فالماء يجب أن يكون نقيا وأما النبتة فيجب اختيارها بعناية وتنظيفها قبل استعمالها وانتقاء فصول جنيها حتى تكون مشبعة بالعناصر المطلوبة فالعروق مثلا تجمع عادة في فترة توقف نمو النبتة والأوراق في بداية الإبراق والزهور عند اكتمالها.

3. الاستخلاص سائل – سائل حيث تتم عملية الفصل في بعض الحالات في بضع دقائق باستخدام قمع فصل ويحدث في هذه التقنية انتقال المادة المراد فصلها من المذيب إلى مذيب آخر لا يمتزج بالأول وتتوزع المادة المستخلصة بين المذيبين [3 , 22-24] .

2)- الطرق الفيزيوكيميائية لفصل مركبات النواتج الطبيعية

إن المركبات العضوية المختلفة الموجودة في الطبيعة سواء في النباتات أو الحيوانات لها أهمية كبرى في علوم الكيمياء والصيدلة والطب والزراعة والصناعة فهي المكون الأساسي للمواد الغذائية كالسكريات والنشويات والبروتينات والفيتامينات ,وكذلك لها تأثيرات فسيولوجية كالهرمونات وأشباه القلويدات وقد استعملت الكثير من النباتات التي تحتوي على هذه المركبات كعقاقير طبية ومواد صيدلانية, لذا اهتم العلماء بدراسة كيمياء مكونات هذه المواد الطبيعية ,وذلك بعد استخلاصها من الأنسجة الحيوانية أو النباتية وباستعمال مذيبات عضوية مختلفة وتحليلها كروماتوغرافيا وتعيين عناصرها الأساسية ودراسة خواصها الفيزيائية والكيميائية لمعرفة تراكيبها الكيميائية و تصنيفها بطرق مختلفة للتأكد من صيغها الكيميائية[3,9,25-26].

1-استخلاص مركبات النواتج الطبيعية من مصادرها وتحليلها كروماتوغرافيا.

1-استخلاص مركبات النواتج الطبيعية

يتم استخلاص مركبات النواتج الطبيعية من النباتات أو الحيوانات باستعمال المذيبات العضوية القطبية منها أو غير القطبية وذلك باستعمال الطرق المذكورة سابقا وتحلل كروماتوغرافيا المكونات الأساسيـــة للمزيــج , وذلك بتوزيعهـــ ا بين طوريــن أحدهمــا ثابت "phase Stationnaire" و الآخر طور متحرك "Phase Mobile " بين صلب – سائل أوغاز- سائل أو غاز- صلب ...الخ , و يتم ذلك بالطرق التاليـــة :

2. تصنيف الطرق الكروماتوغرافية

1.**الكروماتوغرافيا التوزيعية أو التجزيئية**

يقصد بالكروماتوغرافيا التوزيعية أو التجزيئية " Chromatographie de partage " الفصل على حامل ما عن طريق اختلاف توزيع المركبات بين طورين لا يمتزجان أحدهم ا ساكن(ثابت) والآخر عضوي متحرك, وتنقسم الكروماتوغرافيا التوزيعية إلى أربعة أقسام :

أ. الكروماتوغرافيا التوزيعية الورقية

الكروماتوغرافيا التوزيعية الورقية" Chromatographie sur papier "يكون الطور الساكن فيها ممتز على ورق سليلوزي غالبا ,تتحرك عليه مكونات الخليط الذائبة في الطور السائل المتحرك بفعل الخاصية الشعرية بسرع مختلفة حسب درجة انجذابها إلى أحد الطورين.

ب. الكروماتوغرافيا التوزيعية على الطبقة الرقيقة

الكروماتوغرافيا التوزيعية على الطبقة الرقيقة " Chromatographie sur couche mince " يكون فيها الطور الساكن(الثابث) على هيئة طبقة من دقائق صلبة فـي الغالب هلام السيليس أو أكسيد الألمنيوم وكذلك مسحوق السيللوز مفروشة على صفيحة زجاجية ومبللة بطور سائل ساكن.

ج. كروماتوغرافيا الاستبعـاد" Chromatographie ’exclusion **"**يتم الفصل في هذه الحالة على أساس الحجم الجزيئي بواسطة عمود معبأ بحبيبات مسامية البنية تعمل كمنخل جزيئي ويمرر خلالها الطور المتحرك.وتسمى هذه الطريقة أيضا كروماتوغرافيا النـفوذ.

د-الكروماتوغرافيا التوزيعية الغازية" Chromatographie en phase gazeuse "

وتتم التجزئة فيها بين طور ساكن سائل ممتز على مادة ساندة صلبة وآخر متحرك غازي.

2. التحليل الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء(الكفاءة)

"Chromatographie liquide de haute performance"(HPLC)"

يتميز التحليل الكروماتوغرافي السائل عالي الكفاءة بأهمية خاصة من بين الطرق التحليلية العصرية نظرا لنجا عته العالية. إن نوعية الأطوار المستعملة في الأعمدة وكذا اكتشاف جملة من المواد الخاصة بهذه التقنية مكن من تطوير قدرتها على عملية الفصل وتقليص مدة التحليل وكذا إكسابها حساسية كشف عالية للمواد المفصولة.في هذا النظام يتم استعمال طور ساكن متكون من دقائق رفيعة جدا لاتتجاوز أبعادها 3-10µ.على سبيل المقارنة فإن قطر الدقائق المستعملة في الكروماتوغرافيا الغاز السائل يتراوح مابين 100و125 µ .وبسبب هذه الدقة تتضاعف مساحة التبادل ويتناقص الحجم الفارغ للعمود ونتيجة لذلك تزداد المقاومة لمرور الطورالمتحرك الأمرالذي يتطلب استخدام ضغوط عالية عند مدخل العمود.

3. الكروماتوغرافيا بالتبادل الأيوني **"** Chromatographie ionique " **:**

يتم الفصل فيها عن طريق تبادل الأيونات بين حامل صلب يشكل الطور الساكن وبين المواد المراد فصلها والتي تكون في طور سائل متحرك[3, 9] .

4. كروماتوغرافيا الألفة" Chromatographie d'affinité "

يقصد بها عزل جزيء بواسطة آخر يوجد بينهما خاصية بيولوجية عالية وبالتالي ألفة .

5-الكروماتوعرافيا الغازية مع طيف الكتلـــة

" Gas Chromatography/Mass Spectrometry(GC/MS) "

إنها التقنية المستخدمة في هذا البحث لمعرفة بنية المركبات الكيميائية المتواجدة في نبتة الفاقونيا لوجيسبينا *"Fagonia Longispina"* حيث تجمع هذه التقنية بين ميزة الكروماتوغرفيا الغازية (GC) في فصل المكونات المختلفة للمركبات العضوية التي لاتتفكك حراريا في شروط التحليل وميزة الحساسية الانتقائية لمطياف الكتلة (MS) مما يجعله قادرا علي تحليل كمي وكيفي للمركبات العضوية المفصولة. تتم مقارنة الشظايا لكل

مركب مع أطياف مرجعية موجودة ضمن مكتبة الكترونية ملحقة بالجهاز وبناء عليه تحديد صيغة هذه المركبات حيث أن الجهاز مزود بحاسب يتضمن برنامج تشغيل الجهاز وأربعة مكاتب الكترونية(NBS-NIST-Drugs-Pesticides-Weily) تضم أكثر من 150000مركـب مرجعي.حيث يتم التحليل الكيفي دون الحاجة لمحاليل عيارية أما التحليل الكمي فيحتاج إلى محاليل عيارية خاصة لكل مركب مستهدف.

الشكل رقم (26):**صورة لجهاز الكروماتوغرافيا الغازية المرفق بمطيافية الكتلة (CG-MS)**

3)-كشف وتشخيص المركبات المفصولــة :

نادرا ما تكو ن البقع في الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة بعد عملية الفصل ملونة, لذا وجب إظهارها بطرق يمكن تقسيمها إلى طرق فيزيائية وطرق كيميائية :

1. الطرق الفيزيائية :

إذا كانت المواد المفصولة متفلورة (flurescent) أو قابلة للتفلور بعد معالجتها بمواد خاصة , فإن تعيين البقع يمكن أن يتم بوضع الورقة تحت مصباح فوق بنفسجي.

2. الطرق الكيميائيـــة:

إن تعدد الطرق وتخصصها يحول دون دراستها دراسة شاملة, ولهذا الطرق الكيميائية تتضمن وبصورة عامة رش الورقة بكاشف مناسب يتفاعل مع المواد المفصولة معطيا بذلك تلوين معين ويتم الرش بمدرة خاصة لهذا الغرض , ويعتمد التشخي ص في كل حالة على المقارنة باستعمال محاليل قياسية معروفة [3,27-28] .

3.الطرق المطيافية في تعيين التركيب الكيميائي

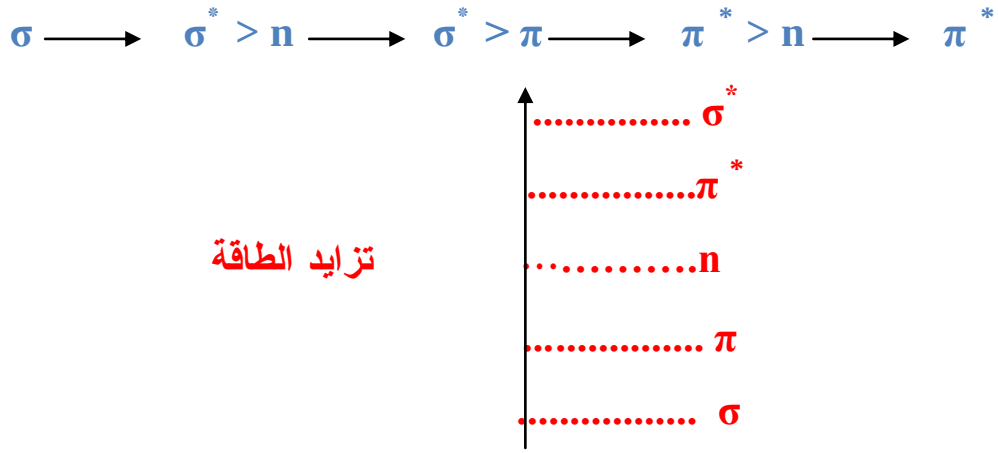
بعد فصل مكونات النواتج الطبيعية كروماتوغرافيا, تدرس الخواص الفيزيائية بالطرائق الطيفية لتعيين التركيب الكيميائي لكل هذه المكـونات.

1-تعريف المطيافية

تعرف المطيافية بأنها الفعل المتبادل بين المادة والأشعة الضوئية وحيث يتم امتصاص الأشعة والتي تعرف بالأشعة الكهرومغناطيسية من طرف بعض المركبات العضوية. يرتبط طول الموجة بالبنية الجزيئية وبالتالي المطيافية هي وسيلة مهمة من أجل تحديد بنية بعض المركبات المجهولة التركيبة الكيميائيةِ والبنية الفراغية , عندما تمتص مادة ما الأشعة فإنها تنتقل من الحالة المستقرة إلى الحالة المثارة,وأطياف الأشعة المستعملة هي :

أ- أطياف الأشعة فوق البنفسجية(UV)

تستعمل الأشعة فوق البنفسجية لتعيين المجاميع الأساس (الوظيفة الأساسية) في المركب العضوي وتقارن بأطياف مجاميع مركبات عضوية معروفة ومنها يمكن التأكد من وجود المجموعة الأساس في المركب المجهول [3,29] . إن لكل من الوحدات الأساس طيف امتصاص ثابت فالمجاميع الأسا س التي تحتوي على روابط σ او π أو تحتوي على عناصر عليها زوج الكترونات حر n عندما تمتص ضوء في طول موجي λ معين (400—800nm) أي في منطقة الأشعة فوق البنفسجية يحدث انتقال الكتروني من المدارات الجزيئية المرتبطة إلى المدارات الجزيئية غير المرتبطة بدرجات متفاوتة من الطاقة ويتم الانتقال حسب الترتيب التالـــي :



خلال الانتقال الإلكتروني يتم امتصاص فوتونات تعطي إشارات كهر بائي ة تترجم إلى عصابات امتصاص تشكل طيف ما فوق البنفسجـــــي.

ب. مطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR)

يقدم طيف الأشعة تحت الحمراء على العكس من قمم الامتصاص القليلة نسبيا و والملاحظة في منطقة فوق البنفسجية لأغلب المركبات العضوية صفا غنيا بعصابات الامتصاص.يمتص

المركب الكيميائي العضوي الأشعة تحت الحمراء في منطقة الموجة الضوئية (4000- 600 cm^{-1}) وحيث كل رابطة كيميائية تمتص أشعة في منطقة معينة معتمدة على نوع الذرات التي ترتبط بهذه الروابط. فعند تعرض المركب العضوي لمثل هذه الأشعة تدرس المناطق التي يقع فيها الامتصاص, وتقارن مع جداول خاصة تبين مناطق الامتصاص للمجاميع والروابط المختلفة وبذلك يمكن تعيين المجاميع الموجودة في المركب المجهول [30-31] .

ج . مطيافية الرنين النووي المغناطيسي(RMN) :

يستعمل طيف الرنين المغناطيسي لتعيين موقع نواة ذرة الهيدروجين (بروتون) في المركبات العضوية. ونعتمد شدة تذبذب الهيدروجين على ما يحيطها من تأثير الحجب فإذا كانت الكثافة الالكترونية حول الهيدروجين قليلة أو معدومة يكون تذبذبها في مجال مغناطيسي واطئ أما إذا ازدادت الكثافة الالكترونية حول الهيدروجين فإنه يحتاج إلى مجال مغناطيسي أعلى لحدوث التذبذب. لذا يكون تذبذب الهيدروجين معتمدا على ما

يحيطها من مجاميع ساحبة أو دافعة للالكترونات فتصبح نواة الهيدروجين محاطة بكثافة الكترونية أقل مما لو كانت متصلة بمجاميع دافعة للإلكترونات, ومن هذا التغير يتم تعيين مواقع نواة الهيدروجين في كثير من المركبات العضوية.بالإضافة للرنين المغناطيسي البروتوني الذي يعتبر بحق أداة تحليل ذات أهمية عظيمة للمحللين الأحيائيين والكيميائيين ,تم تطوير أنواع أخرى من الرنين من بينها الرنين النووي المغناطيسي لذرات الكربون في المركبات العضوية. وأصبح الآن بالإمكان قياس طيف الرنين النووي المغناظيسي البروتوني للعينة ثم قياس طيف الرنين النووي المغناطيسي لذرة الكربون في نفس العينة وذلك بتغييرالترددات المستعملة فقط وهكذا تكون دراسة العينة أشمل وأكثرفائدة [32-33] .

د. مطيافية الكتلة (SM) :

إن طرق التحليل الطيفي السابقة ,يؤدي امتصاص الأشعة الكهرومغناطيسية إلى انتقال الذرات أوالجزيئات إلى مستويات طاقة مرتفعة , وتعود الذرات أو الجزيئات إلى حالتها الأصلية بفقد هذه الطاقة في فترة زمنية صغيرة جدا.فالامتصاص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية من الطيف ,يؤدي الى انتقال الذرات أوالجزيئات إلى مستويات ذات الطاقة الالكترونية المرتفعة (انتقال الكتروني).وامتصاص الأشعة تحت الحمراء يؤدي إلى انتقال الجزيئات إلى مستويات الطاقة الاهتزازي الأعلى في الطاقة (انتقال اهتزازي). أما بين مستويات الطاقة الخاصة بالحركة المغزلية في وجود مجال مغناطيسي خارجي ,فيتم بامتصاص أشعة الراديو في حالة الرنين النووي المغناطيسي . وفي هذه الطرق جميعا يلاحظ أنه لكي يتم الانتقال (الامتصاص) يجب أن تكون طاقة الأشعة الكهرومغناطيسية مساوية للفرق في الطاقة بين المستويات التي يحدث بينها الانتقال. في طيف الكتلة " Spectrometre de masse" تعرض الجزيئات إلى مصدر عالي للطاقة, بحيث تكون طاقة هذا المصدر أكبر بكثير من الطاقة المناسبة لعملية الانتقالات السابقة ذكرها. ويستخدم لذلك عادة حزمة من الكترونات السريعة الحركة وتحت هذه الظروف يؤدي امتصاص الطاقة إلى انفصال إلكترون أو أكثر من الجزيء أي تحدث عملية تأين

"ionisation" للجزيء وتتكون أيونات موجبة للجزيء الأصلي, بالإضافة إلى ذلك فان امتصاص الطاقة يؤدي إلى تكسير رابطة ضعيفة أو أكثر في الجزيء مما يؤدي إلى تكوين أيونات صغيرة, وبذلك يحتوي الخليط الناتج من معاملة المركب بهذه الطريقة على مجموعة من الأيونات الموجبة التي تختلف في الكتلة والشحنة ويتم فصل هذه الايونا ت بناء على اختلافها في نسبة الكتلة إلى الشحنة m/e باستخدام مجال مغناطيسي ومجال كهربائي , ويتم تسجيل نتائج التحليل في صورة طيف كتلة يوضح كتلة هذه الأيونات وتركيزها[33-34] .

خلاصـــة :

إن المركبات العضوية المختلفة الموجودة في الطبيعــة و خاصة في النباتات لها أهميــة كبرى في علوم الكيمياء والصيدلة و الطب والزراعة والصناعة فهي المكون الأساسي للمواد الغذائية كالسكريات والنشويـات والبروتينـات والفيتامينـات وقد استعملت الكثير من النباتـات التــي تحتوي على هذه المركبات كعقاقير طبية ومواد صيدلانية, لهذا كان الاهتمام كبيرا بدراســة كيمياء مكونات هذه المواد الطبيعية,و ذلك بعد استخلاصها من الأنسجة النبـاتيـــــة.

إن تتبع إستراتيجيـة ما في فصل نوع مـن المكونات الطبيعيـة يعتمد على مجموعـة من الأسس في اختيار المذيب الأولي و في عملية الاستخلاص ومن هذه الأسس : الدراسة الإثنوصيدلانية، الفحوص البيولوجية، خصائص المكونات الطبيعيـــــة.

و يمكـن تحديد إستراتيجيــة البـحث عن مواد فاعلة في النباتات الطبية انطلاقا مـن الدراسـات الفيتوكيميائيــة التــي أجريت علـى كل نوع من النواتج الطبيعيـــــة .

III- الفصيلة ا "*Zygophyllacea*" :

1. تعريف

يحتوي هذا النوع على 25 جنسا تقريبا متفرقة في كل القارات و خاصة في المناطق القاحلة.يضم هذا النوع من النباتات أكثر من 500 نـوع منتشرة في جميع أنحـاء العالم خاصة في المناطق المهجورة الدافئة وفي أغلب المناطق الجافة والملحية وفي المنـاطـق البادية, كما يتواجد أيضا في الأحواض المتوسطية, الصحراء الشرق أوسطية , صحراء آسيـا الوسطى, إفريقيا, أستراليا, وفي أمريكا وأروبا. كما نلاحظ في الصحراء وجود 7 أجناس و27 نوع وهذا يعني أن عائلة الزيغوفيلاسيا تمثل أكثر من 3% من نباتات الصحراء و ثلث من أجناسها موجودة بصفة دائمة في:في المنطقة الصحراوية وبشكل مجاورة لبعضها البعض. واهم أنواعها ثلاثة وهي:الفاقونيا(*Fagonia*) والتريبولوز (*Tribulus*) والزيغوفيلوم(*Zygophyllum*). تمتاز هذه العائلة النباتية بصغر حجم أوراقهـا وهشاشة فروعها, بعض أنواعهـا نصل أوراقها مسطح متطور "*Beta Atriplex*,"عادة تختزل هذه الأوراق بهيئة غمـض " gaine " يحيط بالساق " Tige " وينتهي بنصل مختزل بهيئة أشواك. معرفة خصائص هذه العائلة من خلال دراسة خصائص بعض أفرادها[35-36 ,43].

2. تعريف ببعض أفراد هذه العائلـــة :

1-)النوع الآول (*Fagonia*)

يحتوي الفاقونيا على 40 نوع تقريبا متفرقة في مركز البحر الأبيض المتوسط و الشرق الأوسط و إفريقيا و المناطق الحارة الجافة و تعيين هذا النوع شيء صعب إذ أن أغلبية أجناسها متغيرة وقسم منها مربوط بأشكال متوسطة .ومن أفرادهـــا :

1- (*Fagonia microphylla*)

جنس صحراوي دائم الإنتشارفي المغرب و جنوب تونس حيث طول هذه النبتة 20سم إلي 40 سم ذو ساق واقف لازج لاصق علي الرمل وأغصان عديدة ومتفرعة عمودية لها دنيبات في نهاية كل دنب 3أوراق منتهية برأس و أوراقه علي شكل صليب شكل(27).

شكل رقم (27) صورة *للفاقونيا* **[36,1] .**

2- (*Fagonia Longispina*)

نوع دائم الانتشار موجود في صحراء شمال إفريقيا وخاصة في المناطق الحدودية بين المغرب والجزائركما أن طول هذه النبتة 10سم إلي 20سم .

شكل رقم (28) نبات *الفاقونيا*

نبتة قصيرة ذات أغصان ممتدة على الأرض متألقة من الوسط مغطاة بشعيرات منتشرة تلتصق بالرمل لها قاعدة رقيقة و أوراق ذات 3 دنيبات سميكة نوعا ما و الدنيب المحوري عريض على الآخرين الدنيب جد طويل خاصة على الأوراق الأولى ولون ورده بنفسجي ذو لون ساطع[46,37,35].

3-فا (*Fagonia Latifolia*)

نبتة صحراوية دائمة الإنتشار ذات أوراق سميكة و جد مميزة الوريقة الوسيطة

عريضة جدا و ورود صغيرة لا تتعدى 8 مم إلى 10مم وساق نائم على الأرض كما أن النبتة زاحفة ولها شعيرات علي الساق[35].

شكل رقم (29) *صورة للفاقونيا لاتيفوليا* **[**36,1**]**

4- (Fagonia Kahirina)

نبتة منتشرة كثيرا في الصحراء الشمالية و ناذرة في الصحراء الوسطى و هو جنس صحراوي عربي وهي نبتة قصيرة ذات فروع متشعبة إبتداء من القاعدة قليلة الشعيرات غير لاصقة على الرمل وأوراق متكونة من وريقات لاحمة قليلا.وريقات لها شكل هندسـي والوريقة الوسطى أكبر من الجانبية [35].

شكل رقم (30) *صورة للفاقونيا كاهيرينا* **[**36,1**]**

4- *(Fagonia Glutinosa)*

نبتة صحراوية أكثر انتشار في العالم زاحفة كثيرة الفروع سيقانها تزحف على الأرض في الغالب مغطاة بالرمال لها أوراق متفرعة ووردها ذو لون بنفسجي[35 , 38].

شكل رقم (31) *صورة للفاقونيا* **[36,1]**

5- ***(FagoniaBruguiri)***

نبتة كثيرة الإنتشار في الصحراء الشمالية و الصحراء الوسطى كما أنه جنس صحراوي عربي طولها من 15سم إلى 20سم ذات فروع نحيفة كثيرة الاوراق لها وريقات بيضوية الشكل طولها1سم ذات ورود صغيرة بنفسجية مشوكة كما تعد هذه النبتة مرعى محبب للحيوانات العشبية.تستعمل هذه النبتة في علاج مرض الكبد حيث تطحن وهي جافة في ماء بارد وتشرب عدة مرات في اليوم [35 , 38].

شكل رقم (32) صورة *للفاقونيا بروغيري* **[36,1]**

6- *(Fagonia Arabica)*

نبتة كثيرة الانتشار في الصحراء الشمالية و الصحراء الإستوائية و متوفرة في الصحراء الوسطى على أراضي رملية كما تعد نوع صحراوي عربي طولها من 20سم إل 30سم.
نبتة طويلة الأمد عل شكل باقات ذات سيقان واقفة تلتصق بالرمل متفرعة ذات اوراق تحمل ثلاث وريقات دات طول أكثر من 5مم منتهية بوردة متفتحة عريضة أكثر من 8مم ذات أشواك قوية من 3سم إل 4سم .
[39 , 35]

شكل رقم (33) *صورة للفاقونيا* **[36,1]**

7-فاقونيا أوليفيري (*Fagonia Olivieri*)

نبتة تنتشر في الصحراء الوسطى تمتد حتى الشمال عبارة عن شجيرات واطئة ذات أوراق طويلة مطروحة تصل إلى 2سم موحدة ومنطوية كما آن وردها بنفسجي اللون .
النبتة لاصقة عل الرمل قليلا ذات كبسولة مشعرة صغيرة أقل من 5سم[35 , 40] .

شكل رقم (34) صورة *للفاقونيا أوليفيري* **[36,1]**

-8 *(FagoniaTenuifolia)*

جنس صحراوي موجود في الصحراء الوسطى في الطاسيلي طولها 50سم تقريبا كما أنها نبتة تحتية لاصقة نوعا ما على الرمل متمثلة في باقات كبيرة قديمة الفروع ذات لون أبيض فيما أن الأقسام الجديدة خضراء جدا , أما الأوراق ذات 3 وريقات ممتدة قواعدها الورود عطرية بنفسجية اللون[35 , 41] قصيرة .

شكل رقم (35) صورة *للفاقونيا تنويفولي***[36,1]**

2)− النوع الثاني *(ZYGOPHYLLUM)*

يعتبر الأكثر من حيث العدد في العائلة حيث يحتوي عل مئات الأجناس الصحراوية وأهم أنواعها ما يلـــــي :

−1 (*Zygophyllum Album*)

جنس صحراوي متوسطي منتشر بين المنطقة المشتركة بين جنوب تونس و الصحراء المصرية و ناذرة في الجنوب الجزائري و في الهقار.طول النبتة 20 سم إلى 50 سم لها جنيبات صغيرة متفرعة الأوراق ذات وريقتان لحمية و العنق أطول أكثر ,الأوراق تصبح برتقالية عندما تجف كما لها ورود صغيرة بيضاء ممزوجة بالأصفر.النبتة سامة عندما . خضراء و تؤكل جافة من طرف الحمير[35 , 41]

شكل رقم (36) *صورة زيقوفوليم ألبيم* **[36,1]**

2− (*Zygophyllum Gaetulum*)

نبتة منتشرة في المنطقة المشتركة بين الحدود الجزائرية و الحدود المغربية من ناحية الجنوب طولها 20 سم إلى 40 سم, تعيش بحيوية تشكل جنيبات صغيرة متفرعة و خضراء جدا ذات أوراق لاحمة مخروطية متكونة من ورقتين وورود صغيرة وردية اللون تعطي ثمرة على شكل أنبوب ممتدة و ممددة إلى القمة[35 , 42] .

شكل رقم (37) صورة *زيقوفوليم غيتولوم* **[36,1]**

3- (*Zygophyllum Simplex)

جنس سوداني منتشر في الصحراء الوسطى و الإستوائية و الشرقية قليل إلى ناذر في الصحراء الشمالية كما انها نبتة قصيرة منتشرة ذات لون أخضر جميل و ذات سيقان نحيفة ممتدة عل الأرض مشكلة باقات متماسكة حسب وضعيتها بعد تساقط الأمطار تغطي الأرض أوراق بسيطة متقابلة مخروطية ممتدة و لاحمة ورودها صغيرة صفراء تعطي . كما تعتبر عشب للحيوانـــات [35 , 42]ثمار كروية. .

شكل رقم (38) صورة *زيقوفوليم ساملیکس* **[36,1]**

3)- النوع الثالث ز (*Tribulus*)

هذا النوع يحتوي على أجناس عديدة متجاورة بعضها البعض يظهر أنها سحقت بصفة مكدسة من طرف علماء النبات وتعد4 أنواع فقط منتشرة في الصحراء وهي متشابهة . وتختلف عن بعضها بطبع الثمرة. واهم أنواعها ما يلي [35 , 42] .

1-تريبيلوز ألاتوز (Tribulus Alatus)

نبتة كثيرة الانتشار في الصحراء الغربية و الاستوائية والوسطى و ناذر في الصحراء الشمالية وهو نوع صحراوي عربي طولها 50سم , كما تعتبر نبتة زاحفة ذات ساق ممدود على الأرض و سيقان ذات لون احمر بني م تعطي ثمرة على غطاة بزغب سميك,

أوراقها خضراء حاملة وريقات صغيرة كل وريقة مغطاة بشعيرات طويلة لاصقة على العرق تعطي ثمرة على الوسيط

وأكثر أو أقل على محيط الورقة ,وردها صفراء قاتمة اللون تعطي ثمرة تحمل الثمرة شعيرات ملساءوخشنة [42,35] .

شكل رقم (39) صورة *تريبيلوز ألاتوز* [36,1]

2-تريبيل (*Tribulus Bimucronatus)*

نبتة منتشرة في الصحراء الوسطى زاحفة تصل حتى 500 سم ذات سيقان ممدودة على الأرض و سيقان وأوراق مغطاة بشعيرات طويلة ذات لون أخضر فضي تحمل وريقات صغيرة وورود صفراء فاتحة تعطي ثمرة تحمل شوكتان.

شكل رقم (40) صورة *تريبيلوز بيمووكروناتوز* [36,1]

3- (*Tribulus Ochroleucus)*

نبتة منتشرة كثيرا في الصحراء وزاحفة وممتدة على الأرض على شكل باقات ذات سيقان متفرعة مستقيمة في نهايتها أوراق متقابلة ذات وريقات صغيرة مغطات كليا بشعيرات طويلة تعطيها اللون الفضي ووردها اصفر كبريتي وثمرتها بدون رأس مشفرة سميكة طولها من 10 إلى 13 مم [35-42] .

شكل رقم (41) صورة *تريبيلوزوكرولوكوز* **[36,1]**

4- (*Tribulus Terrester)*

نبتة منتشرة في جميع أنحاء الصحراء زاحفة قليلة الشعيرات , سيقانها منتشرة على الأرض , أوراقها متقابلة ذات وريقات صغيرة تعطي شعيرات بيضاء لاصقة على الوجه العالي الخارجي للورقة و الوجه الداخلي مغطى بشعيرات بيضاء , وردها أصفر تحمل اثنان أو أربعة [35-42]ذهبي,ثمارها .
شوكـات قصيرة

شكل رقم (42) صورة *تريبيلوز* **[36,1]**

IV -الفعالية البيولوجية والفعالية ضد الأكسدة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا

1) -الفعاليـــــــــة البيولوجيـــــــــة

1-مقدمـــــــــــة :

البكتيريا كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية منها المكورات والعصيات وهي تتجمع مع بعضها وتأخذ أشكالا متعددة مثل عقد أو سبحة فتسمى مكورات عقدية أو على شكل عنقود فتسمى مكورات عنقودية. تتراوح أبعاد البكتريا بين 5-0.5 ميكرومتر مع أن التنوع الواسع للبكتريا يمكن أن يظهر تعدد أشكال كبير ج ـــدا. بيئات البكتريا متنوعة جدا فهي قادرة على العيش في أي مسكن أو بيئة مناسبة على وجه الأرض حتى التربة والمياه العميقة وقشرة الأرض حتى ضمن بيئات ذات نسب عالية بالفضلات النووية والكبريتية الحمضية. عادة يوجد حوالي عشرة مليار خلية بكتيرية في الغرام الواحد من التربة ومئات الآلاف من الخلايا في المليمتر المكعب من ماء البحر. ضمن دورات البيئة تلعب البكتيريا دورا أساسيا وحيويا في تدوير المغذيات البيئية، فالعديد من الخطوات المهمة في دورة التغذية تتم بوساطة البكتيريا، أهم هذه الخطوات تثبيت النتروجين من الغلاف الجوي.تعتبر البكتريا أيضا مكونا طبيعيا من مكونات الجسم البشري فهناك من الخلايا البكترية على الجسم البشري ما يفوق عدد خلاياه نفسها، فعليا مجمل الجلد عند الإنسان والفم والجهاز الهضمي مليء بالبكتيريا وهي بمقدار ما يشاع عن ضررها وتسببها بالأمراض، مفيدة أيضا للصحة حيث تساعد على الهضم، لكنها أيضا تسبب أمراضا خطيرة مثل السُّل.تاريخيا تسببت البكتيريا بأمراض خطيرة مثل الطاعون والجذام لكن اكتشاف المضادات الحيوية خفف كثيرا من هذا الأخطار وقلّص أعداد الوفيات الناتجة عنها.للبكتريا أهمية صناعية حيث يستفاد من عملياتها البيولوجية لإجراء ما يصعب إجراءه صناعيا مثل معالجة المياه القذرة ومؤخرا إنتاج المضادات الحيوية وغيرها من الكيمياويات. للمجهر الأثر الكبير في اكتشاف الميكروب والذي هو وصف للكائنات المجهرية الدقيقة و التي لا يمكن ملاحظةبنيتها إلا بالمجهر، و هي تشمل بعض الطحالب و كذا الفطريات و البكتيريا و الفيروسات و تقسم المكروبات حسب ما هو غالب اليوم إلى أقســـام [46-47] :

1-الطحالب :

الطحلب نبات وحيد الخلية نذكر منه السينيديزموس و الكوريللا و كلاميدوموناس و هذا الأخير شائع جدا في المياه الخضراء له القدرة على الحركة بواسطة هدبيه، والطحالب لا تستخدم الغذاء العضوي قط بل كل ما تحتاجه هو ثاني أكسيد الكربون و الضوء و بعض المعادن ، فهي إذا ذاتية التغذية، من بينها كذلك الطحالب الخضراء المز رقة و التي لها علاقة وطيدة بالبكتيريا و تمثل حلقة الوصل بينهما.

2- بروتوزاو(Protozao) :

و هي حيوانات وحيدة الخلية متباينة التغذية و من أمثلتها الباراميسيوم وهو مغزلي الشكل.

3- الفطريات(Champignons) :

عموما تتكون من خلية واحدة و هي بصفة عامة شبيه النبات غير أنها تخلو من اليخضور و توجد في جميع الأغذية و المواد العضوية .

4- البكتريا(Bactérie) :

كائنات وحيدة الخلية تنتمي إلى مجموعة من البدائيات، و لا تحتوي على الكلوروفيل.

5- الفيروسات(Viruses) :

في أصغر حجماً من البكتيريا، لا تنمو الفيروسات أو تتكاثر إلا داخل الخلايا الحية، يختلف العلماء في تحديد ماهية الفيروسات فبعضهم يصنفها مع الكائنات الحية لأنها تتكاثر داخل الخلايا الحية، و البعض الآخر يصنفها من الجماد على اعتبار أنها يمكن أن تتبلور عندما تكون خارج جسم الكائن الحي، و لذلك لا نستطيع اعتبار الفيروسات كائنات حية بشكل مطلق، كما لا نستطيع اعتبارها جماداً، فهي تمتلك صفات الكائنات الحية و الجماد معـاً.

2-تعريف البكتيريا:

البكتريا(Bactérie) كائنات حية دقيقة مجهرية بدائية النوى بسيطة تحتوي على خلية واحدة، وتُعتبر من أصغر الكائنات الحية .يترا وح قطر معظمها ما بين 0,3 و 2,0ميكرون.

3-خصائص البكتيريا:

تحيط بجميع أنواع البكتيريا طبقة وا قية تسمى جدار الخلية، ويعطى جدار الخلية البكتيريا شكلها ويساعدها على العيش في بيئات متعددة، يحيط ببعض أنواع البكتيريا إضافة إلى ذلك حافظة، وهي طبقة لزجة خارج جدار الخلية ويكون للخلية البكتيرية كحد أقصى ثلاث طبقات وتمتد أسواطا تشبه الشعر من خلال الطبقات وتساعد البكتيريا على الحركة وتجعل هذه الحافظة الخلية مقاومة للمواد الكيميائية الفتاكة, كما يوجد داخل الغشاء السيتوبلازم(مادة رخوة تشبه الهلام)، مواد كيميائية كثيرة تسمى الإنزيمات تساعد على تحلل الطعام وبناء أجزاء الخلية، كما تحتوي خلايا البكتيريا مثل جميع الكائنات الحية ADN(حمض النووي الريبي منقوص الأكسجين)) الذي يتحكم في نمو الخلية وتكاثرها وجميع النشاطات الأخرى.

4-أشكـــــال البكتيريـــــا:

بعض البكتيريا مكورة الشكل وتسمى المكورات وبعضها يأخذ شكل العصا وتسمى العصويات، والبعض يأخذ شكل الفاصلة أو الضمة وتسمى بالضميات والبعض يأخذ الشكل اللولبي وتسمى اللولبيات . ومن أنواعها حسب الوسط الذي تعيش فيـه**[47-48] :**

1-**بيكتيريا هوائية(Aerobie) :** يعيش هذا النوع من البكتيريا فقط في الهواء المحيط بنا أي الجو،وهي تعتبر مصد ا ر رئيسيا لتسمم الأغذية و من أمثلتها Neisseria.

2-**بيكتيريا لا هوائية (Anerobie) :**

يعيش و ينمو هذا النوع من البكتيريا فقط في غياب الهواء، و من أمثلتها Clostridium.

3-بكتيريا لاهوائية اختيارية (Facultative Anaero) :

يعيش ينمو هذا النوع من البكتيريا في غياب الهواء، و من أمثلتهاE.Coli.

5- أقسام البكتريا حسب التأثيـــــر على الإنســـــان:

1-البكتيريا النافعـــــة "Bactéries bénéfiques " :

تعيش بعض أنواع البكتيريا في أمعاء الإنسان والحيوانات الأخرى .وتساعد هذه البكتيريا في الهضم والقضاء على الكائنات الحية الضارة .كما تفرز البكتيريا الموجودة في الأمعاء بعض الفيتامينات الضرورية للجسم. تؤدي البكتيريا التي تعيش في التربة والماء دو ا رً مهمًا في دورات الكربون والنيتروجين والكبريت،وعناصر كيميائية أخرى تستخدمها الكائنات الحية . ويساعد كثير من البكتيريا في تحلل الكائنات الميتة وفضلات الحيوان إلى عناصر كيميائية، وبدون التحلل البكتيري تبقى العناصر في الكائنات الميتة وفضلات الحيوان كما هي، وسرعان ما تتوقف الحياة بأكملها [47, 49] .وتساعد أنواع أخرى من البكتيريا على تحل العناصر الكيميائية إلى أشكال يمكن أن يستخدمها النبات والحيوان، فمثلاً تُحول أنواع معينة من البكتيريا النيتروجين في الهواء والتربة إلى مركبات نيتروجين يمكن أن يستخدمها النبـات.

2-**البكتيريا الا نتهازيـــــة" Bactéries opportunistes " :**

هي البكتيريا المتعايشة في جسم الإنسان ويمكن أن تسبب المرض عندما تقل مقاومة الإنسان للمرض .فمثلاً، إذا كان تكاثر البكتيريا في الحلق أسرع من قدرة الجسم على التخلص منها، فمن المحتمل أن يصاب الشخص بالتهاب في الحلق . وكذلك الحال بالنسبة لمرض التهاب اللوزتين.

3-البكتيريا الضـــــارة "Bactéries nocives " :

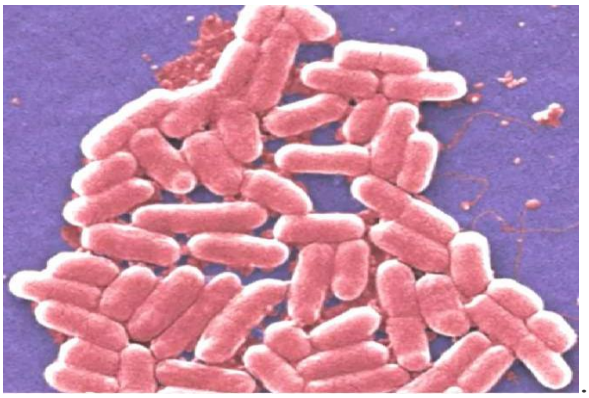
تسبب بعض أنواع البكتيريا كثيرا من الأمراض للبشر منها مرض الكوليراوالسيلان والجذام والالتهاب الرئوي والزُهري والالتهاب الرئوي وحُمى التيفوئيد والسعال الديكي . وتدخل البكتيريا إلى الجسم عن طريق الفتحات الطبيعية، مثل فتحة الأنف أو الفم، أو عبر شقوق في الجلد .وإضافة لذلك يحمل الهواء والطعام والماء، البكتيريا من شخص إلى آخر . وتمنع البكتيريا الضارة الجسم من أداء وظيفته.

6-الأنواع البكتيرية المستعملة في هذه الدراســــــــة :

عندما تدخل البكتيريا الضارة الجسم، تُطوقها كُرَيات الدم البيضاء وتهاجمها، كما يُكَون الدم أجساماً مضادة، وهي مواد تقتل أو تُضعف البكتيريا. غير أنه ما يجلب الانتباه أن البكتيريا تبدي مقاومة للأجسام المضادة حيث هذه المقاومة إما طبيعية أو مكتسبة كما نوضحه من خلال البيكتيريات المستعملة وهي :

1-بكتيريا الإشيريشيا كولي" Escherichia coli" :

هي بكتيريا عصوية على شكل قضيب(، سالبة الجرام القولونية اختيارية الهواء، تندرج ضمن عائلة الأمعائيان، ذات أبعاد من 1 إلى 3 ميكرومتر، توجد عادة في أمعاء الثدييات بما في ذلك البشر معظمها ليس مسببا للأم ا رض تلعب دورا هاماً في الأمعاء [46-50,47] ، ولكن بعض السلالات أكثر ضر اوة فمما تسببه الالتهابات المعوية، والتهابات الأعضاء التناسلية أو البولية و كذا الإسهال الحاد القاتل. تتكاثر بسرعة كبيرة للغاية عند درجة حرارة 37°c، تشكل سلاسل و تتحرك بواسطة أسواط .



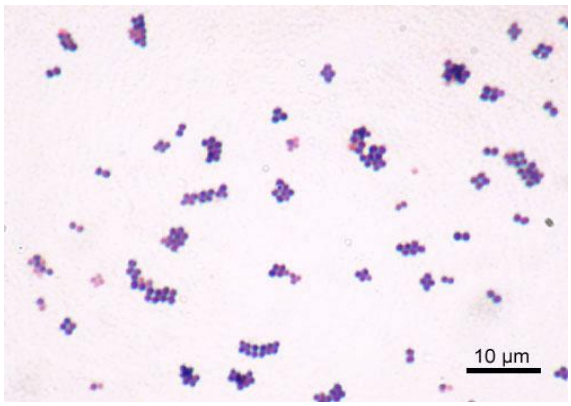
الشكل رقم (43) : صورة الإشيريشيا كولي " Escherichia coli " [62]

2-البكتيريا العنقودية" Staphylococcus eureus " [53,52,47]:

المكور ات العنقودية الذهبية هي نوع من البكتيريا إيجابية الجر ام تنتمي إلى جنس المكور ات العنقودية، سميت بذلك أمها تبدو وكأنها قذيفة، ترتبط في مجموعات على شكل عنقود العنب قطرها حوالي1 ميكر ومتر، غير متحركة، لا هوائية اختياريا، تنمو بالتنفس الهوائي أو بالتخمر إذ تخمر العديد من الكاربوهيد ا رت يبطئ منتجة حمض اللاكتيك تم اكتشاف المكورات من طرف باستور وكوخ في 1877 -1878.

على الرغم من أن كثيرا ما وجدت في البشر إلا أنها تعد من البكتيريا المسببة للأمراض الإنسان.إذ يمكن أن تسبب التهابات الجلد أو التهاب الأذن الوسطى، كما يمكن أن تؤدي إلى تسمم الدم . وهي أيضا مسئولة عن عدوى المستشفيات، والتسمم الغذائي ومقاومته للمضادات الحيوية في بعض الأحيان تعد مشكلة كبيرة لعلاج المرضى.

دلت الإحصائيات أن من1 إلى5 ٪ من حالات العدوى في العالم، و تصل العدوى المكتسبة في المستشفيات إلـــى 30% .



الشكل رقم (44) : صورة البكتيريا العنقودية" Staphylococcus eureus " [62]

3- بكتيريا أونتروكوكوس فايسيوم " Enterococcus faecium" :

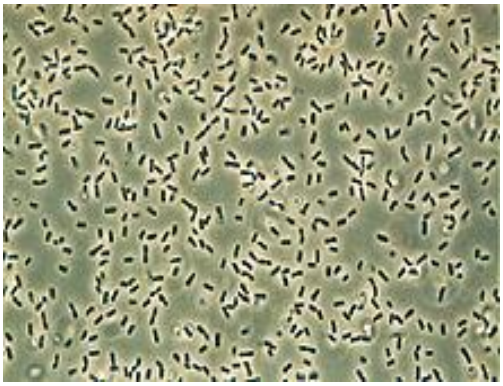
البكتريا تنتمي إلى عائلة البكتيريا المعوية. بعض من هذه البكتيريا التي تعيش في الجسم

البشري و غير ضارة تماما .

الشكل رقم (45) :صورة بكتيريا أونتروكوكوس فايسيوم [62]

4- بكتيريا باسيلوس سبيزيجينيل" *Bacillus spizigenil* " :

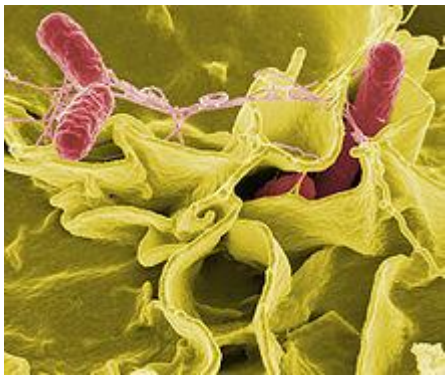
بكتيريا عصوية على شكل قضيب مقاومة للظروف الفيزيائية والكيميائية ، كما لديها مجموعة واسعة من التكيفات الفسيولوجية التي تمكنها من البقاء على قيد الحياة أو تزدهر في البيئات القاسية، التي تتراوح بين رمال الصحراء والينابيع الساخنة إلى التربة في القطب الشمالي ومن المياه العذبة إلي الرواسب البحرية. لأن الجراثيم لكثير من الأنواع عصيات مقاومة للحرارة والإشعاع والمطهرات، والجفاف، وهي من الأسباب المشكلة للتلوث. كما انها جيدة في صناعة الأغذية والكائنات التلف[46-54,47] .



الشكل رقم (46) : صورة بكتيريا باسيلوس سبيزيجينيل[62]

5-بكتيريا صالمونيلا هيندالبرغ "Salmonella heindelberg " :

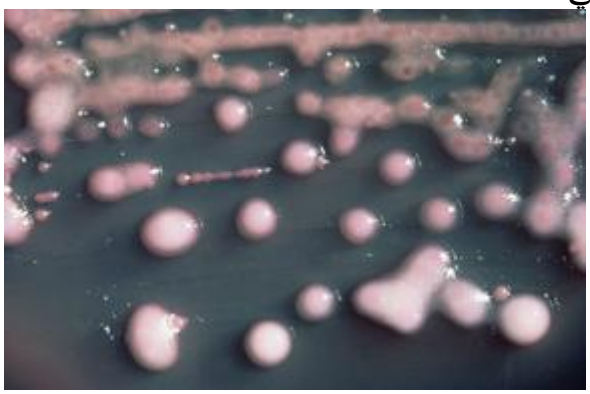
اكتشفت هذه البيكتيريا عام 1885م من طرف (ثيوبالد سميث) حيث تسبب أمراض معدية وهي سبب مهم في الأمراض التي تصيب الإنسان منها الكولير والتهاب المعدة والامعاء وحمى التيفؤويد والتسمم الغدائي.



الشكل رقم (47) : صورة صالمونيلا هيندالبرغ[62]

6- بكتيريا كليبزيلا نومونيا "Klebsiella neumoniae " :

هي ببكتيريا سلبية الغرام حيث تتسبب في كثير من الأمراض منها الالتهابات الرئوية والتهابات المسالك البوليـــة .



الشكل رقم (48) : صورة بكتيريا كليبزيلا نومونيـــا [62]

7- الطرق الميكروبيولوجيـــة " Méthodes Microbiogical " [46-47,55]:

هي الطرق التي تعتمد على زرع البكتيريا في البيئات الصناعية لتحديد نشاط المضاد الحيوي ومنها:

1-اختبار الحساسية " test de sensibilité " :

ويتم باختبار الانتشار في أطباق الآجار Méthode de diffusion ويتم بطريقتين هما اختبارا لتخطيط ألشعاعي و اختبـــار الأقراص وهي الأكثر استعمـــالا.

2-اختبار الأقراص" test de disc " :

يتم بفرد كمية ثابتة من البكتيريا على سطح الأجار ومن ثم وضع أقراص المضادات ذات تركيز معلوم وتحضن مقلوبة لمدة 24سا وبدرجة 37م^0 .

هي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية ، و يكون الوسط المستعمل صلبا من أهم الأوساط و أكثرها تداولا الوسط الجيلوزي مثل وسط ميلار هينتون "Muller Hinton " , كما يحضر الوسط الجيلوزي بصبه في علب بيتري ،و من تم تزرع البكتيريا على الوسط بطبقة متجانسة و تترك لتجف و بعد ذلك توضع أقراص الاختبار المشبعة بالتراكيز المختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته ، تؤخذ العينة بعد ذلك للحاضنة و تحضن العينة مقلوبة لمدة 24سا وبدرجة 37م^0 .إن معرفة حساسية المكروب تتم بقياس قطر طبقة الكبت .

2)– الفعاليـــــــــة المضـــــــادة للأكسـهـــــدة :

1–مقدمــــــــــــــة:

للجذور الحرة دور كبير في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الإنسان ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجية، وبموازاة ذلك يتركز الاهتمام على دراسة مضادات المؤكسدات antioxydants داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضوية من أضـــرار الجذور الحـــرة"[65,55, 46]:.

2-تعريف الجدر الحــــــــــر :

الجذور الحرة عبارة عن ذرة أو مجموعة من الذرات تحتوي على إلكترون غير مزدوج على الأقل، وعندما يتحول الإلكترون من مزدوج إلى غير مزدوج فإن خطره يزيد ويصبح غير مستقر، وعموما فإن الجذور الحرة تنتج طبيعيا من خلال التفاعلات الحيوية داخل الجسم والذي يحاول أن ينظم تركيزها، ولذلك فإن تواجدها في الدم بتركيز منخفض يعتبر أمرا طبيعيا ولكن المشكلة تكمن عندما يزيد تركيزه داخل الجسم البشري.

3-مضادات الأكســــــــــــدة:

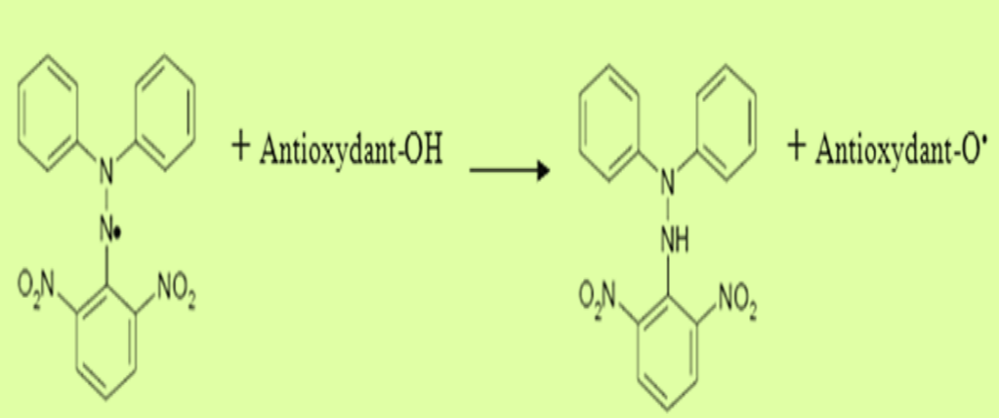
للحفاظ على التوازن الإرجاعي الداخلي يسخر الجسم على مجموعة معقدة من أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة تعمل على الحد من التأثيرات السلبية للجذور الحرة و التي تكون في غالبيتها غير عكسية .مضادات الأكسدة هي مجموعة من الجزيئات تتواجد بتراكيز قليلة مقارنة ببادئات التأكسدولكن لها القدرة على خفض أو تثبيط أكسدتها وتشمل المركبات داخلية المصدر ذاتطبيعة إنزيمية مثل ، CAT، GPx،SOD وبعض الجزيئات غير الإنزيمية Thioedoxinوأخرى ذات مصدر خارجي من بينها الفيتامينات المضادة للجذور الحرة ومركبات طبيعية مثل متعددات الفينول كالفلافونيدات وبعض المعادن مثل الزنك والنحاس.

4-تقــدير نشاط الآسر للجـــــــذور الحـــــــرة (*DPPH*)

يسمح هذا الاختبار بتقييم قدرة المستخلص الايتانولي على أسر والتقاط الجذورالحرة بالطريقة اللونية وذلك باستخدام الجذر الحر(PPH=2,2Diphenyl1,1- picrydrazyl) الذي يعتبر من أهم الاختبارات المعتمدة في تقييم الدور المانع للأكســـدة.

1-الأساس النظري للتفاعل :

يعتمد هدا التفاعل على أساس إرجاع جذر(DPPH) للجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين للمستخلص الايتانولي (الجزيئات المضادة للأكسدة)حيث يتم إرجاع جذر DPPH باقتناصه لذرة هيدروجين إلى مركب DPPH-H ويصاحب ذلك تغير اللون من البنفسجي إلى الأصفر يترجم هذا التغيير بنقص في الامتصاص بدلالة الزمن عند طول موجة517 nmنم وهذا حسب التفاعل التالي الشكل رقم (66):



الشكل رقم (49) يمثل تفاعل الجدر الحر DPPH مع مركب مضاد للأكسدة[104]

ويعتمد مبدأ دراسة الفعالية ضد الأكسدة على تحديد المقدار IC_{50} (النسبة المئوية لإرجاع الجدر الحر الثابت DPPH) وفــق المعادلـــة التاليـــة :

% of DPPH radical scavenging= (Y-X)x100/Y

(النسبة المئوية لإرجاع الجدر الحر الثابت DPPH %) =% of DPPH radical scavenging

Y= الكثافة الضوئية لـ DPPH في المحلول الميتانولـي.

X =الكثافة الضوئية لـ DPPH بوجود المستخلص الايثـانولـــــي.

الجزء التطبيقي

Experimental Part

الطرق والوسائل

Materials and Methods

I -دراسة ايثنوصيدلانية لنـــــبات الفاقونيا لونجيسبينا

مقدمـــــة :

إن فعالية النبتة تعود إلى ما تحويه من عناصر فعالة هذه العناصر تختلف في النباتات, بل تختلف حتى لنفس النبتة . كما قد تتواجد في أحد أجزاء النبتة أو في جميعها فتنوع هذه العناصر يتطلب طرق كشف مختلفة حسب نوع كل نبتة , تواجد هذا النبات في كل القارات تقريبا و خاصـة فـي المنـاطق القاحلة والدافئـة والصحـراوية أعطاها أهميـة كبيرة في الدراسة الفيتو كيميائية .

1-جني وتجفيف النبـــات:

إن معرفة جمع وجني الأعشاب الطبية لها أهمية كبيرة في الحصول والإبقاء والمحـافظة علـى فوائدها وعناصرها الفعالة, إذ أنه كثيرا ما كان الجني في غير وقته ,أو التجفيف أو الخزن سببـا في ضياع منافع النبتة وخواصها الطبية وبصفة عامة فان فصل جني النباتات يختلف مـن إقليم إلى آخر, كما أن المميزات الطبيعية للنباتات الطبية تعود لعوامل كثيرة من أهمهـا المناخ والتربة والارتفاع , وهناك فكرة شائعة من أن النباتات الجبلية أفيد من السهلية والنبـات البري أنفـع مـن النبات الحقلي[2-47,3].

ولقد أثبتت التجارب أن كمية ما تحتوي ه النبتة من مواد نافعة للمعالجة تختلف باختلاف مراحل النمو للنبتة , لهذا يراع ى في جمع وجني الأعشاب الفترة التي يشتد فيها الاكتناز وتبلغ فيها ما تحويه النبتة من عناصر فعالة حدودها القصوى, ولا شك أن هذه الفترة من النمو, مختلفة جدا من نبتة لأخرى ومن إقليم لآخر بل هي مختلفة في أجزاء النبتة الواحـدة.

أ. جني النبتة :

جنيت هذه النبتة في شهر مـارس سنة 2010 م بجوار منطقة بوكايس التي تبعد عن ولاية بشار بحوالي50 كلم, هذه المنطقة تقـع في الشمال الغربي لولاية بشار .

ب. التنقية :

بعد عملية الجني تأتي عملية التنظيف أو التنقية ويتم ذلك بإزالة ما علق بها من أتربة وأوساخ وشوائب, و الملاحظ أن فروع هذه النبتة زاحفة على الرمل .

ج. تجزئتها :

تقطع الفروع بالمقص ويجب أن يترك موضع القطع أملســـا.

د. التجفيف :

بعد فرش الأجزاء المحصل عليها فوق غطاء نظيف وعدم تكديس الأعشاب فوق بعضها, وأن توضع بطريقة تسمح بأن تساعد على تحرك الهواء بسهولة بين أجزائها, تجفف بعد مدة وجيزة من قطفها أي قبل تخمرها وفقدانها لعناصرها الفعالة , توضع في الظل حيث تنشر تحت سقف أو مكان ظليل معرض للهواء. أما درجة الحرارة المفضلة للتجفيف في الظل فهي ما بين15 و 45 م° .

هــ. طحن وتخزين النبتة :

بعد إتمام عملية التجفيف تسحق أوراقها بواسطة آلة سحق في الغالب **"**المهراس**"** ,وتمرر بعد ذلك على غربال مسامتها لا تتعدى 1مم , ثم تخزن وتحفظ في أوعية زجاجية عاتمة محكمة الإغلاق تستخدم لوقت الحاجة .

2− وصف نبـــات الفاقونيا لونجيسبينا " "Fagonia Longispina :

وهو عشب خضري معروف, متكيف للجفاف و نوع دائم الانتشار موجود في صحراء شمال إفريقيا وخاصة في صحراء المناطق الحدودية بين المغرب والجزائر. طول هذه النبتة 10سم إلي 20سم ,النبتة قصيرة ذات أغصان ممتدة على الأرض مغطاة بشعيرات منتشرة تلتصق بالرمل لها قاعدة رقيقة و أوراق ذات 3 دنيبات سميكة نوعا ما و الدنيب المحوري عريض على الآخرين, الذنيب جد طويل خاصة على الأوراق الأولى ولون ورده بنفسجي ذو لون ساطع . كما أن طعم هذه الأوراق مستساغ ,تنتهي كل ورقة بشوكة كما هوموضح في الشكل رقم(43)**[**46,41,35].

الشكل رقم(50)الشكل العام لنبات الفاقونيا لونجيسبينا" *Fagonia Longispina*" [35]

3-تسميـــــــة النبـــــات :

يطلق على هذا النبات الاسم العلمي التالي :

فاقونيا لونجيسبينا " *Fagonia Longispina* "

كما له أسماء شائعــة من أهمـها : الطليحية والشويك

4-التصنيف النظـــــامي للنبـــــــات:

المملكــة : نبـاتيـــة

الفـرع : " *Magnoliophyta* "

تحت الفرع : " *Rosidae* "

الصـنف : " *Sapindales* "

الفصيلة : الزيغوفيلاسيا" *Zygophyllaceae*".

الجنس : الفاقونيا " *Fagonia*".

النـوع: **لونجيسبينا** " *Longispina* " .

الشكل رقم(51) صورة لنبات *الفاقونيا لونجيسبينا* " *Fagonia Longispina*"

5-التوزيع الجغرافي للنبـــــــات :

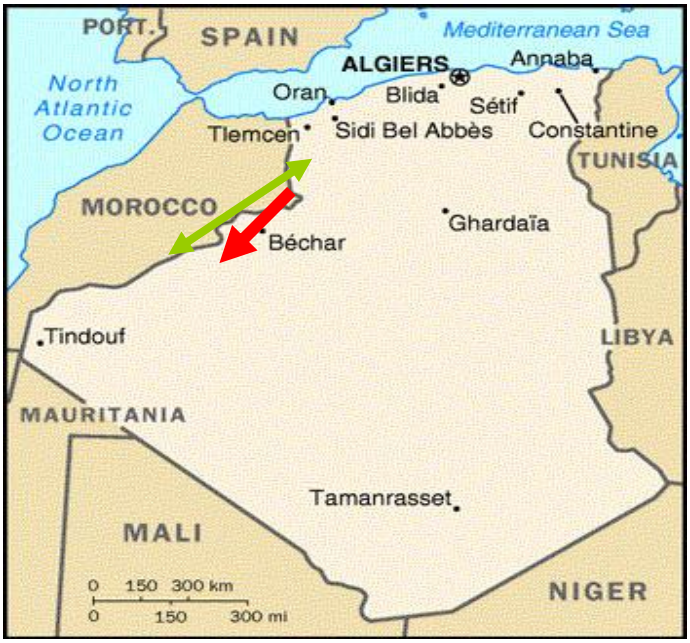
1. التوزيع الجغرافي لنبات الفاقونيا لونجيسبينا" *Fagonia Longispina* "

إن نبات االفاقونيا " *Fagonia Longispina* " يتوزع على مساحة شاسعة من الصحراء وخاصة في الجنوب الغربي وبالتحديد في مناطق جنوب غرب الجزائر المقابلـــة لحـــدود المغرب أو في المناطق جنوب شرق المغرب .

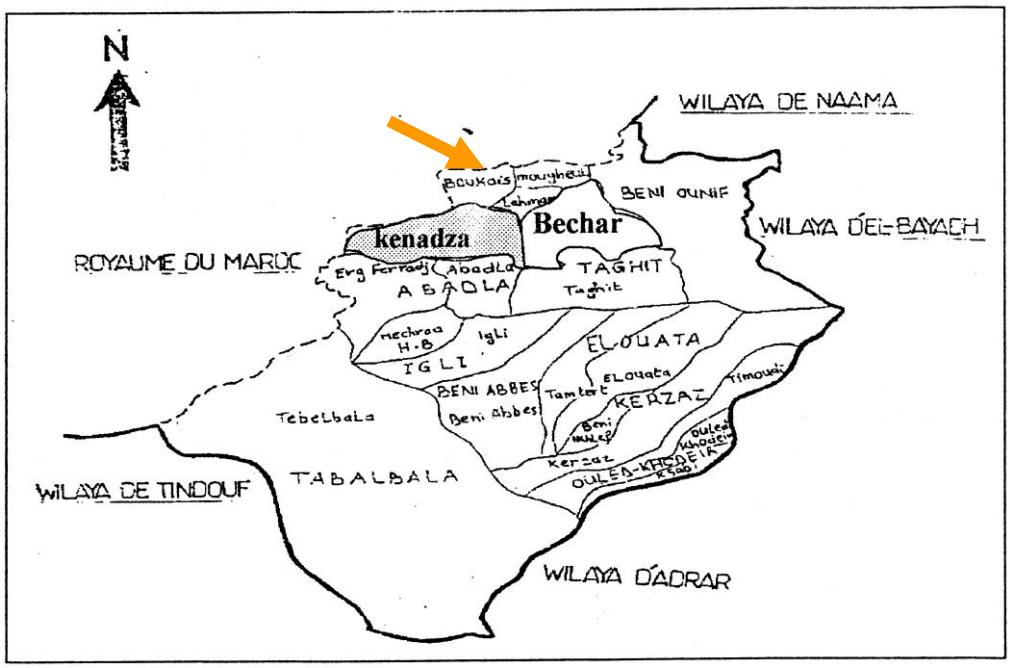
وإذا درسنا بعمق تواجد النبات المدروس فانــه يتوزع ويتمركز بالخصوص في منطقة بشار وما جاوره ا مثل بوكايس , موغل , لحـمر , بنـــي ونـيف وواد النامو س وهي مناطق أغلبها حـدودية مـع المغرب (المـحور التناظري)وصحراوية . كما يتواجد في مناطق تبعد أكثر من 80 كلم عن ولاية بشار جنوبا مثل تاغيت, إقلي, بني عباس وتمتد إلى حدود ولاية أدرار كما توضـح ذلك الخريطـة التاليـــة :

بشار ومجاوره ا

(الحدود الجزائرية المغربية)



الشكل رقم (52) :منطقة تواجد نبات "*Fagonia Longispina*" [44]



شكل(53) : ولايـــــة بشار (الحـــدود الإداريـــــة)[45]

المساحة : 162400 كم^2.

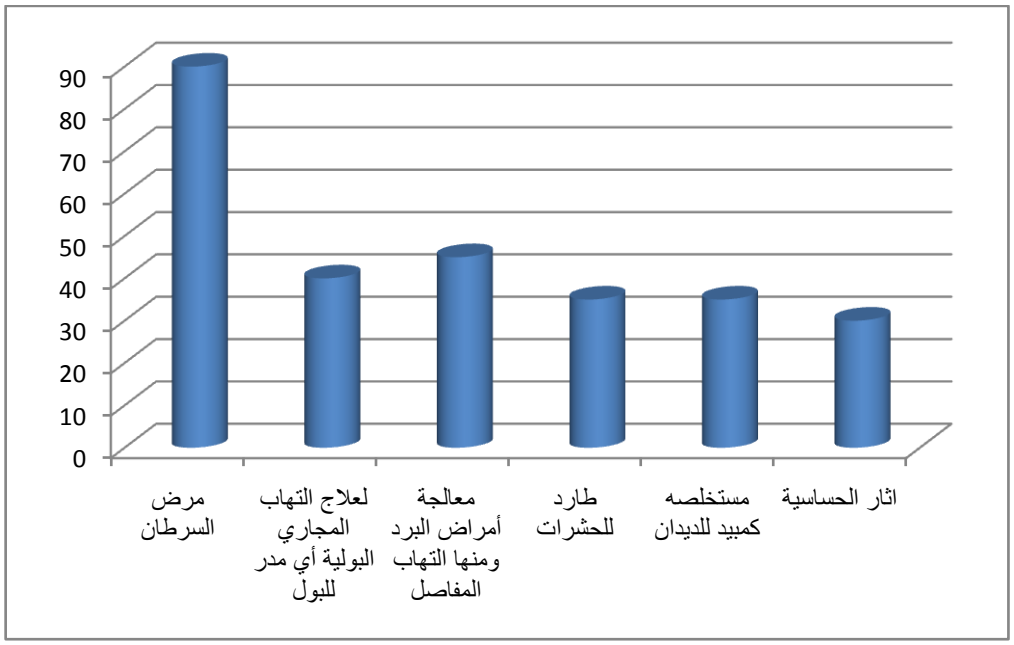
المناخ : حار جاف في الصيف وبارد في الشتاء.

السكان :178721نسمة (مارس2012).

6-الاستعمالات التقليـــدية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا "*Fagonia Longispina*" :

نبات الفاقونيا لونجيسبينا "*Fagonia Longispina*" يعتبر نبات صحراوي بري ,استخدمه البدو كغذاء لماشيتهم وخاصة عندما يكون أخضرا[46,35].

لنبات الفاقونيا رواج في الطب الشعبي لمعالجة الأمراض الداخلية والخارجية . و في اطار البحث حول النباتات الطبية بالجنوب الجزائري والنتائج المحصل عليها قمنا بتحقيق ايثنوصيدلاني فتبينا أن أهل المنطقة لا يعرفون هذا النبات من خلال اسمه العلمي ولكن من خلال الأسماء الشائعة عنه والتي لا يعرفها الا القليل منها الطليحية أو الشويكة ومن خلال الدراسة و التحقيقات الميدانية وبحثي في كثير من المنشورات العلمية تبينا بأن هذه النبتة تستخدم كمضادة للالتهابات وخاصة التهاب المفاصل ,التهاب المجاري البولية ,طاردة للحشرات ,مبيد للديدان ,مادة وقائية لمرض السرطان وخاصة في المراحل الأولى من المرض وأخيرا التخلص من أثار الحساسية و أهمية هذا النبات تكمن في خلطـــه مع أعشـــاب أخـرى[47,46].



الشكل رقم(54):الاستعمالات التقليدية لنبات فاقونيا لونجيسبينا"*Fagonia Longispina*"[46] .

II –الدراسة الفيتوكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا :

1)–الاختبارات الكيميائية الأولية "التحليل الكيفي" :

إن فعالية النبتة تعود إلى ما تحويه من عناصر فعالة ,وهذه العناصر تختلف في النباتات بل تختلف حتى لنفس النبتة, فهذه العناصر قد تتواجد في أحد أجزاء النبتة أو في جميعها.
فتنوع هذه العناصر يتطلب طرق كشف مختلفة حسب نوع كل نبتة, ولهذا لمعرفة أنواع العنـاصر الفعالة لابد مـن إجراء الفحص الكيميائي للنبتـة[2-5].

1. اختبار الألكالويدات "Les Alcaloïdes " :

نزن3غ من المسحوق النباتي الجاف ونضعها في بيشر سعته 200 ملل ونضيف إليه 30 ملل من HCl مخفف 5٪ ونسخنها لمدة 15دقيقة على لوحة التسخين و بعـدها نرشح المحلـول, نأخـذ الرشاحة ونضيف إليها محلول الأمونياك حتى الحصول على PH= 9 , بعدها نقوم بعملية استخلاص (سائل—سائل) ثلاث مرات بواسطة 20 ملل الكلوروفورم" Chloroforme" الطور العضوي يجمع ويبخر, المتبقي نضيف إليه 2 ملل من حمض الهيدروكلوريك HCl مخفف ثم ثلاث قطرات من كاشف ماير فنلاحظ تشكل راسب أبيض مما يدل على تواجد الألكالويـدات .

2. اختبار الصابونوزيدات "Les Saponosides " :

نزن 3غ من المسحوق النباتي الجاف ونضعها في بيشرسعته 200 ملل ونضيف إليه 30 ملل ماء مقطر ونسخن لمدة 30دقيقة ,نرشح المحلول ونبرد الرشاحة ثم توضع في أنبوب اختبار ونرج لمدة دقيقة ثم نتركها 20 ثانية, نلاحظ رغوة بيضاء تدل على وجود الصابونوزيدات , طول الرغوة كان حوالي 7 سم.

3. اختبار الستيرويدات" Stéroides " :

نزن 3غ من المسحوق النباتي, وينقع في 20 ملل من الكحول الإيتيلي 70٪ لمدة 30 دقيقة ثم يرشح, تبخر الرشاحة والمتبقي يذوب في 20 ملل مـن الكلوروفورم ثم يرشح مرة ثانية للتخلص من الشوائب , نأخد الرشاحــة ونقسمها إلى قسميــن :

القسم الأول :

يوضع في أنبوب اختبار يضاف له 1ملل من حمض الخليك " CH_3COOH " ثم 1ملل من حمض الكبريت على جدار الأنبوب بحذر , عدم ظهور اللـون الأخضر يدل علـى تواجـد الستيـرويدات غيرالمشبعة " Stéroides Insaturés ".

القسم الثاني :

نضع الجزء الثاني في أنبوب اختبار ويضاف له حجم متساوي مـن حمض الكبريت علـى جـدار الأنبوب, ظهور اللون الأخضر المصفر الذي يتحول إلى اللون الأحمر(بني محمر) علـى شكل حلقة دليل علـى وجـود الستيرويد "Stéroides ".

4. اختبار العفصيات " Tanins" :

نزن 3غ من المسحوق النباتي ,ونضعه في بيشر سعته 200 ملل ونضيف إليه 20 ملل من الايتانول 50٪, و نسخن لمدة 30 دقيقة تسخينا لطيفا و بعد ذلك نرشح المحلول, نأخذ الرشاحة في أنبوب اختبار ونضيف إليها قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي " $FeCl_3$ " نلاحـظ ظهور اللون الأخضر دليل على تواجـد العفصيات .

5. اختبارالستيرولات غيرالمشبعةوالتربينات:" Stéroles Insatures et Terpénes "

نزن 3غ من المسحوق النباتي الجاف, ونضعه في بيشر سعته 200ملل ونضيف إليه 20ملل مـن الكلوروفورم " Chloroforme" ونسخن لمدة 30 دقيقة تسخينا لطيفا ثم نرشح , نأخذ الرشاحة ونضعها في أنبوب اختبار ونضيف له 1ملل من حمض الكبريت " H_2SO_4 " بحذرعلـى جدار الأنبو ب ,نلاحظ ظهور اللون الأخضر الذي يتحول بعد مدة إلى اللون الأحمر في الطبقة الفاصلة بين الطورين دليل على تواجـد السترولات غيرالمشبعة والتربيـنات.

6. اختبار الكاردينوليدات" Cardénolides " :

نزن 3غ من المسحوق النباتي الجاف, ينقع في الماء المقطر لمدة 24 ساعة ثم يرشح , نقوم عملية استخلاص(سائل– سائل)للمحلول المحصل عليه بواسطة 10ملل مـن الكلوروفورم

والطور العضوي يبخر والمتبقي يذوب في 3 ملل من حمض الأستيك ثم نضيف له قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي" $FeCl_3$ ", يليها 1ملل من حمض الكبريت " H_2SO_4 " نلاحظ تلون الطورالحمضي بلون أخضرمزرق مما يدل على تواجد الكاردينوليدات.

7. اختبار الفلافونيدات "Flavonoides ":

نزن 10غ من المسحوق النباتي الجاف, ينقع في 100 ملل من حمض كلورهيدريك المخفف (1٪) لمدة 48 ساعة ثم يرشح.

1-الاختبار العام للفلافونيدات :

نأخذ 10ملل من الرشاحة ونضيف إليها كمية من محلول هيدروكسيدالأمونيوم" NH_4OH" N 2 للحصول على الوسط القاعدي ويلاحظ ظهور اللون الأصفر الباهت دليل على وجود الفلافونويدات.

2-اختبار الفلافونيدات الحرة " Flavonoides Libres " **:**

ناخذ 10ملل من الرشاحة ونضعها في أنبوب اختبار ونضيف لها5 ملل من الكحول الأميلي " Alcool Amilique " فنلاحظ بعد الرج والتوازن تلوين الطور الكحولي العلوي باللون الأصفر مما يدل على تواجد الفلافونيدات الحرة.

3-اختبار فلافونيدات الجليكوزيدية " Flavonoides Glycosides " **:**

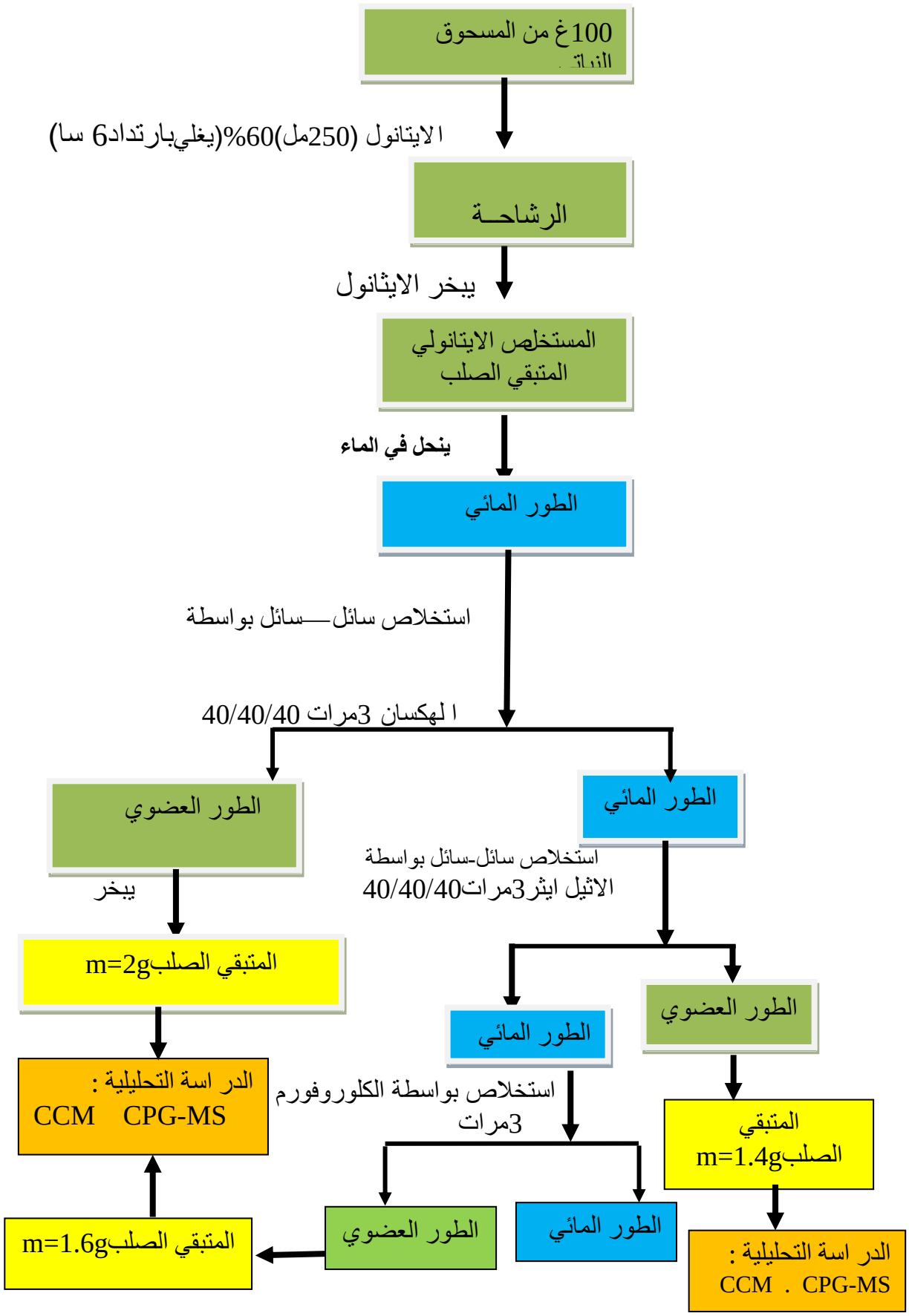
1- نبخر الطور الكحولي المحصل عليه في الاختبا ر السابق تحت الضغط والراسب المحصل عليه يذوب في 3ملل من حمض الكلوروهيدريك المخفف (1٪) ثم يسخن المحلول في حمام مائي لمدة دقيقتين, وبعد التبريد نضيف له 2.5 ملل من الكحول الأميليكي بعد الرج والتوازن , نلاحظ تلوين الطور الكحولي أي الطور العلوي باللون الأصفر مما يدل على تواجد الفلافونيدات الجليكوزيد ية .

2- نأخذ 5 ملل من الرشاحة المحصل عليها ونضعها في أنبوب اختبار ونضيف لها كمية قليلة من المغنيزيوم (Mg) ثم نرجها جيدا, بعد مدة نلاحظ ظهور اللون الأحمر مما يدل على تواجد الفلافونيدات الجليكوزيد ية [3-5, 46-47] .

2)- استخلاص وفصل مركبات النواتج الطبيعية :

1-الاستخلاص بواسطة الايتا نول"ETOH" لنبات الفاقونيا لوجيسبينا 60% :

نقوم بعملية الاستخلاص لـ 100غ من المسحوق النباتي الذي يستخلص على الساخن بواسطـة الايتانول60% (250 ملل) (يغلي بارتداد لمدة 6 ساعات) ثم يرشح , نأخذ الرشاحة ونبخر الايتانول, المستخلص الايتانولي المتبقي الصلب ينحل في الماء في فنحصـل على فنحصل على طور مائي يخضع للاستخلاص سائل-سائل بواسطة مذيبات عضوية مختلفة في القطبية حيث نبدأ في البداية بالهكسان ثم الاتيل ايثر وأخيرا الكلوروفورم,يمكن تلخيص عملية الاستخلاص في الشكل رقم (55) [46] التالـــــي :



الشكل رقم(55): الاستخلاص بواسطة الايتا نول"ETOH"60%

2. الفصل الكروماتوغرافي بواسطة الطبقة الرقيقة CCM :

تتميز تقنية الطبقة الرقيقة بكونها وسيلة فعالة لفصل كميات ضئيلة من المركبات بالإضافة إلى سرعتها و إمكانية استرجاع المركبات المفصولة بسهولة على الطبقة الرقيقة وقياسها كميا وسهولة رؤية المركبات المفصولة بالأشعة فوق البنفسجية. الكسور المحصل عليها بواسطة عملية الفصل تخضع لعملية التحليل بواسطة الفصل الكروماتوغرافي بالطبقة الرقيقة CCM نستعمل الطور الساكن " سليكاجل" والطور المتحرك (اسيتات الاتيل / الهكسان (6/3)[88,9] , عملية الفصل هذه تتحكم فيها عوامل متعددة نذكر منها عامل القطبية وثابت الاحتجاز R_f الذي يعطى بالعلاقة التاليـة :

$$R_f = (a / b)$$

a : المسافة التي يقطعها المركب من نقطة البداية.

b: المسافة التي يقطعها الطورالمتحرك.

3-الفصل باستخدام الكروماتوعرافيا الغازية المرفقة بمطياف الكتلة(GC-MS):

تستعمل تقنية مطيافية الكتلة في التعرف على البنية الكيميائية لمركب ما وذلك بالتعرف على الوزن الجزيئي ومختلف الروابط الكيميائية في المركب من خلال دراسة الشظايا (الآيونات).كما تستعمل تقنية الكروماتوغرافيا الغازية للدراسة التحليلية للمركبات العضوية وخاصة تلك التي تتبخر أو قابلة للتطاير , إن مقدار العينة المدروسة يتراوح مابين مليغرام وميكروغرام ,كما أن إرفاق هذه التقنية بمطيافية الكتلة أدى إلى التسريع والتدقيق في تحديد الصيغ المختلفة للمركبات الكيميائية المفصولة.

بعد عملية الفصل الكروماتوغرافي بواسطة الطبقة الرقيقة CCM للمستخلصات (أ- الهكسان ب- الاتيل ايثرجـ- الكلوروفورم) قمنا بتطبيق الفصل بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلـــــة (GC-MS)[90-89] .

4-الكروماتوعرافيا الغازية مع طيف الكتلـــة

" Gas Chromatography/Mass Spectrometry(GC/MS) "

إنها التقنية المستخدمة في هذا البحث لمعرفة بنية المركبات الكيميائية المتواجدة في نبتة الفاقونيا لوجيسبينا *"Fagonia Longispina"* حيث تجمع هذه التقنية بين ميزة الكروماتوغرفيا الغازية (GC) في فصل المكونات المختلفة للمركبات العضوية التي لاتتفكك حراريا في شروط التحليل وميزة الحساسية الانتقائية لمطياف الكتلة (MS) مما يجعله قادرا علي تحليل كمي وكيفي للمركبات العضوية المفصولة. تتم مقارنة الشظايا لكل مركب مع أطياف مرجعية موجودة ضمن مكتبة الكترونية ملحقة بالجهاز وبناء عليه تحديد صيغة هذه المركبات حيث أن الجهاز مزود بحاسب يتضمن برنامج تشغيل الجهاز وأربعة مكاتب الكترونية(NBS-NIST-Drugs-Pesticides-Weily) تضم أكثر من 150000مركـب مرجعي.حيث يتم التحليل الكيفي دون الحاجة لمحاليل عيارية أما التحليل الكمي فيحتاج إلى محاليل عيارية خاصة لكل مركب مستهدف.

الشكل رقم (56):**صورة لجهاز الكروماتوغرافيا الغازية المرفق بمطيافية الكتلة (CG-MS)**

1-التعريـــــــــف بالجهـــــــــــاز ;

*- نوع جهاز الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلـــــة

(GC-MS Clarus 500 Perkin Elmer)

*-نوع العمود الكروماتوغرافي : (100% Dimethylpolysiloxane).

*-الغاز الناقل : الهيليوم

*-تقنية الحقن : سبلاي

*-درجة الحرارة عند الحقن : 260م^0

*-برنامج الحرارة :من 100 م^0 220 م^0 لمدة 1دقيقة و 10 م^0 في كل دقيقة .

*- الكمية المحقونة : 2µl.

*- نوع الكاشف : مطيافية الكتلـــــة

*- كمون التأين : 70 الكتروفولط

5- عصابات امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) :

إن امتصاص الجزيئات في مجال الأشعة الفوق بنفسجية(UV) للمطياف يتميز بفائدة كبيرة للكيميائي لأن هذا الامتصاص مرتبط بالبنية الإلكترونية لهذه الجزيئة, نتيجة انتقال الكترونات التكافؤ وليس الالكترونا ت الداخلية. ومطياف الأشعة فوق البنفسجية هو عبارة عن منحنى يوضح تغير الامتصاص الطاقوي للمادة عند تعرضها إلى الأشعة فوق البنفسجية ويمثل هذا المنحنى تغير شدة الكثافة الضوئية أو الامتصاصي ة بدلالة طول الموجة .وعليه وبناءا من معرفتنا للصيغ الجزيئية للمكونات الكيميائية المفصولة باستخدا م الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلـــــة " GC-MS" حصلنا على النتائج المدونة في الجدل رقم (7) **[95-96]**.

الشكل رقم (57)الجهاز المستخدم في قياس طيف الأشعة فوق البنفسجية UV

التعريـــــــــف بالجهـــــــــــاز :

النوع : Uv-1700 pharmaspec
UV-VS SPECTROPHOTOMETRE

6-عصابات مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) :

من خلال دراسة تحليلية سبيكتروسكوبية للمركبات الكيميائية المفصولة وبملاحظة الصيغ الجزيئية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) المحصل عليها بطريقة الفصل الكروماتغرافي المرفق بمطيافية الكتلة لاحظنا تواجد العصابات المطيافية للأشعة تحت الحمراء IR المبينة في الجدول رقم(8) [94] .

III-الفعالية البيولوجيةوالفعالية ضد الاكسدة لنبات *Fagonia " Longispina" :*

1)-الفعاليـــــة البيولوجيـــــة :

1- المرحلـــــــةالأولـــــــى :

لتطبيق اختبارات الفعالية البيولوجية قمنا أولا بتحضير المستخلصات النباتية وذلك بتنقيـع 15غ من المسحوق النباتي في 100ملل من كل مذيب من المذيبات التالية (الهبتان وايثر البترول وثنايي كلورو الميتان والكلوروفورم والآسيطون والميتانول)لمدة زمنية قدرها 48سا ,ثم بعد ذلك قمنا بعملية الترشيح فتحصلنا على مستخلصات عضوية تم حفظها في قارورات محكمة الإغلاق في ثلاجـــة . أما في حالة الوسط الزراعي المستخدم هناك عدة أوساط خاصة اختيارية لاختبار الفعالية البيولوجية [57 ,56,46,]ومن أهمها نذكر وسط ميلار هينتون "Muller Hinton " الذي تم التطبيق فيـــه.

2- المرحـــــلة الثانية:

1-تحضير الأقراص :

نقوم بقص أوراق الترشيح (N^0 3)على شكل أقراص ذات أقطار 5مم , ثم نضعها في أنبوب اختبار للتعقيم داخل الفرن في درجة حرارة 135م^0 لمدة زمنية قدرها 40دقيقة.

2- تحضير الوسط :

بعد إذابة معقمة لل وسط ميلار هينتون "Muller Hinton " يسكب بكميات محددة في علب بيتري بمقدار 15ملل/علبة حتى التصلب وأخيرا يجفف في فرن لمدة 30 دقيقة من أجل إزالة الرطوبة.

3-تحضير المعلق الميكروبي[60-57,46] **:**

نضع عينة الميكروبات داخل أنبوب اختبار يحوي كمية محدودة من الماء المقطر(10ملل) ثم نرج الأنبوب جيدا حتى يتجانس المحلول ونسكب كمية معينة من المعلق الميكروبي

المحصل عليه في علب بتري التي تحوي الوسط الزراعي وتترك لمدة 10 دقائق ثم تفرغ العلب من المعلق وتحفف داخل الفرن في درجة حرارة 37م^0 لمدة 10دقائق.

4-الزرع والحضن:

في هذه الحالة تبلل أقراص مختلف المستخلصات العضوية ونتركها لمدة زمنية وجيزة ثم نضعها داخل علب بتري ثم توضع في فرن درجة حرارته 37م^0 بشكل مقلوب لمدة 24سا.

2)-الفعالية المضادة للأكسـدة للمستخلص الايثانولي:

المستخلص الايتانولي لنبات الفاقونيا لونجيسبينا الذي حضرناه سابقا أخدنا منه 2مغ وذوبناها في 2ملغ من الميتانول 95% فتحصلنا على محلول ميتانولي للمستخلص الايتانولي ذو التركيو 2مغ/2ملل, وانطلاقا من هذا الأخير حضرت المحاليل المخففة التالية ذات التراكيز التالية :

0.5مغ/ملل,0.27مغ/ملل,0.125مغ/ملل,0.0625مغ/ملل,0.0312مغ/ملل,0.0150مغ/ملل وفي أنابيب أخد حجم 30µl لكل تركيز من تراكيز المحلول الميتانولي للمستخلص الايتانولي (كل على حدا) وأضيف له 2ملل من المحلول الميتانولي لجذر DPPH 100ميكرومول/ل وبعد الخلط والمزج جيدا يوضع المزيج التفاعلي في الظلام لمدة 30دقيقة وفي درجة حرارة المخبر ثم نبدأ بقراءة الكثافة الضوئية عند طول موجة 517 nm مقابل

المحلول الشاهد المحضر في نفس الشروط التجريبية وذلك باستعمال الميتانول 95% في محل المستخلص.وبنفس الطريقة يتم تحضير محلول 4مغ من حمض الآسكوربيك Acid Ascorbic مذاب في 4ملل من الميتانول 95% وانطلاقا من هذا الأخير حضرت المحاليل المخففة التالية ذات التراكيز التالية :

0.5مغ/ملل,0.27مغ/ملل,0.125مغ/ملل,0.0625مغ/ملل,0.0312مغ/ملل,0.0150مغ/ملل وفي أنابيب أخد حجم 30µl لكل تركيز من تراكيز المحلول الميتانولي لحمض الآسكوربيك (كل تركيزعلى حدا) وأضيف له 2ملل من الميتانول 95 % وأضيف له 2ملل من المحلول الميتانولي لجذر DPPH 100ميكرومول/ل وبعد الخلط والمزج جيدا يوضع المزيج التفاعلي في الظلام لمدة 30دقيقة وفي درجة حرارة المخبر ثم نبدأ بقراءة الكثافة الضوئية عند طول موجة 517 nm مقابل المحلول الشاهد المحضر في نفس الشروط التجريبية وذلك باستعمال الميتانول95% في محل المحلول الميتانولـــتي لحمض الآسكوربيـــك.

بعد ذلك قمنا بتحديد القيمة IC_{50} (النسبة المئوية لإرجاع الجدر الحر الثابت DPPH) وفــق المعادلـــة التاليـــة :

% of DPPH radical scavenging= (Y-X)x100/Y

(النسبة المئوية لإرجاع الجدر الحر الثابت DPPH %) =% of DPPH radical scavenging

Y= الكثافة الضوئية لـ DPPH في المحلول الميتانولــي

X =الكثافة الضوئية لـ DPPH بوجود المستخلص الايثـــانولي

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

I –نتائج الدراسة الفيتوكيميائية لنيات الفاقونيا لونجيسبينا :

1-نتائج الاختبارات الأولية الكيميائية :

يمكن تلخيص مجمل النتائج المحصل عليها من الاختبارات الأولية الكيميائية لمختلف المواد الفعالة في الجدول رقم (2) :

الجدول رقم (2) : نتائج الاختبارات الكيميائية الأولية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا

المواد الفعالة في النبتة	نبات الفاقونيا لونجيسبينا (الجزء العلوي)
الألكالويدات	+
العفصيات	+
الصابونوزيدات	+
الستيرولات غيرالمشبعة التربينات	+
الكاردينوليدات	+
الستيرويدات الستيرويدات الغير مشبعة	 +
الفلافونيدات *-الفلافونيدات الحرة *- الفلافونيدات الجليكوزيدات	+ + +
الأنتوسيانوزيدت	-

(+) تواجد (-) عدم التواجد

2. مناقشة النتائج :

من خلال نتائج الاختبارات الأولية المحصل عليها نسجل تواجد أغلب المواد الفعالة , احتواء هذا النبات على جميع المواد الفعالة أعطته ميزة كبيرة جعلت منه هدفا للدراسة الفيتوكيميائيـــــة[87] .

3. نتائج عملية الفصل الكروماتوغرافي بواسطة الطبقة الرقيقـــة:

من خلال النتائج الأولية المحصل عليها بواسطة الفصل الكروماتوغرافي بالطبقة الرقيقة الأولية تبينا أن المستخلصات(الهكسان والاتيل ايثر والكلوروفورم) يحتوون علـى أكثر مـن بقعة كما يوضح الجدول رقم (3).

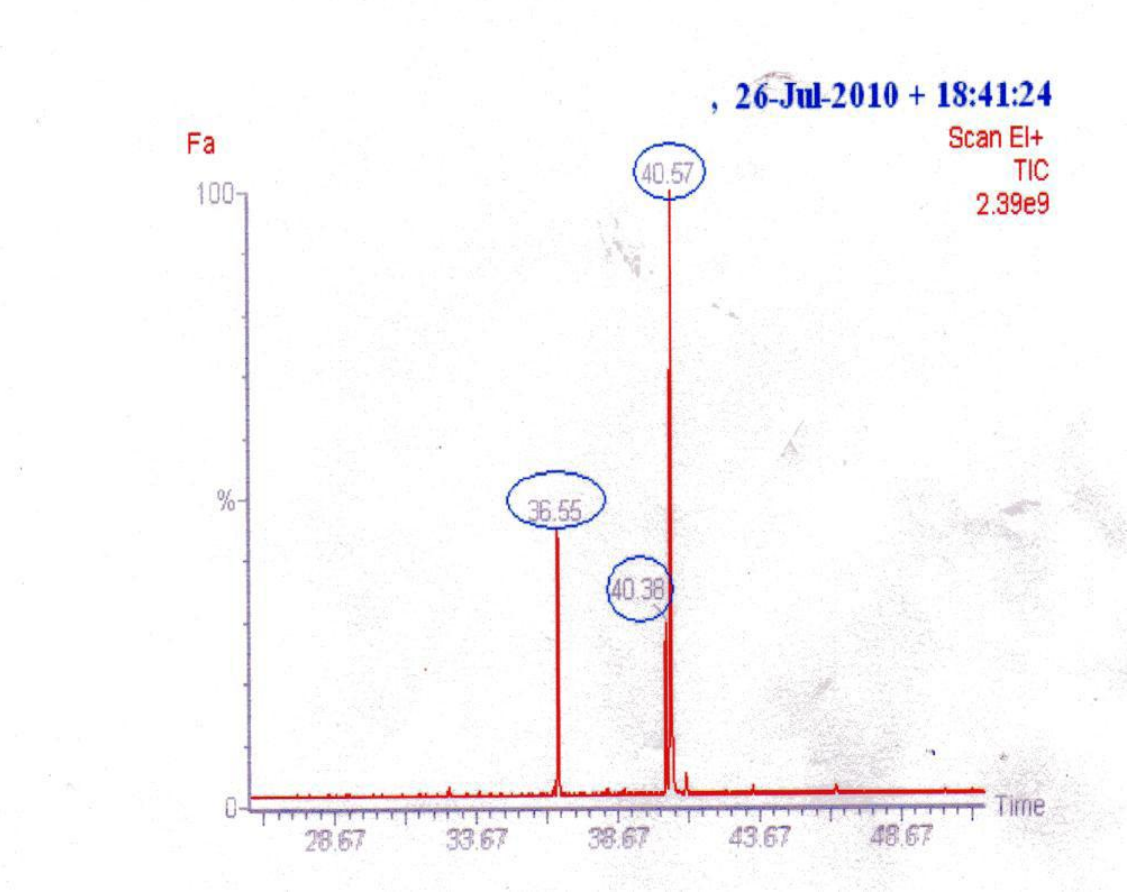
جدول رقم (3) : يوضح النتائج الأولية لعملية الفصل الكروما توغرافي بواسطة CCM

الطور المتحرك (اسيتات الاتيل / الهكسان ((6/3))	عدد البقع الملاحظة CCM
1- حالة الهكسان 2- حالة الايتيل ايثر 3-في حالة الكلوروفورم	أكثر من بقعة (4 بقع) أكثر من بقعة(أكثرمن5) أكثر من بقعة(أكثرمن5)

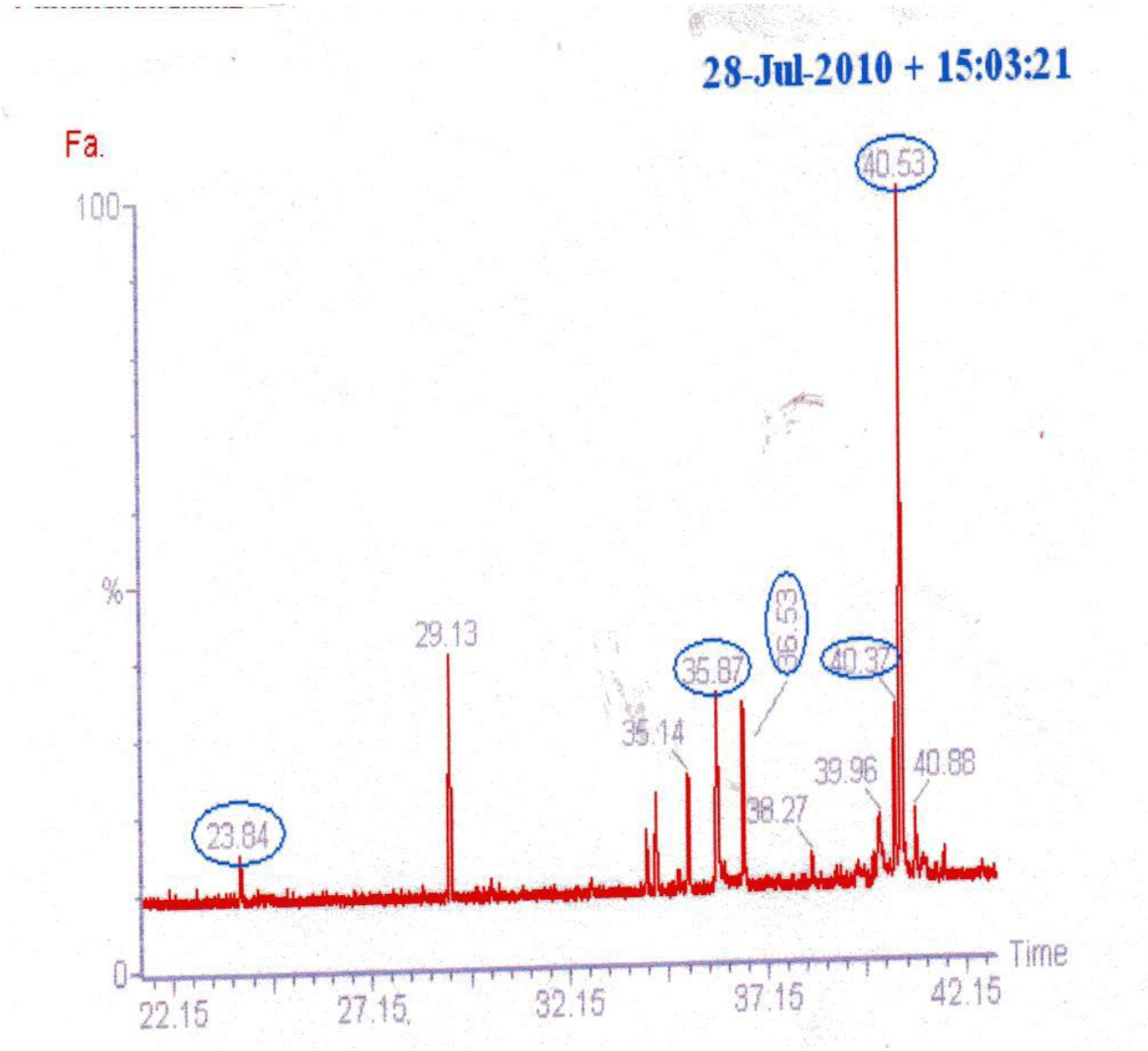
4-الفصل باستخدام الكروماتوعرافيا الغازية المرفقة بمطياف الكتلة(GC-MS):

بعد عملية الفصل الكروماتوغرافي بواسطة الطبقة الرقيقة CCM للمستخلصات (أ- الهكسان ب- الاتيل ايثرجـ- الكلوروفورم) قمنا بتطبيق الفصل بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلـــــة (GC-MS)[90-89] حصلنا على النتائج التالية المدونة في الأشكال ر قم (58)(59)(60) والجداول رقم (4)(5)(6) التاليـــة :

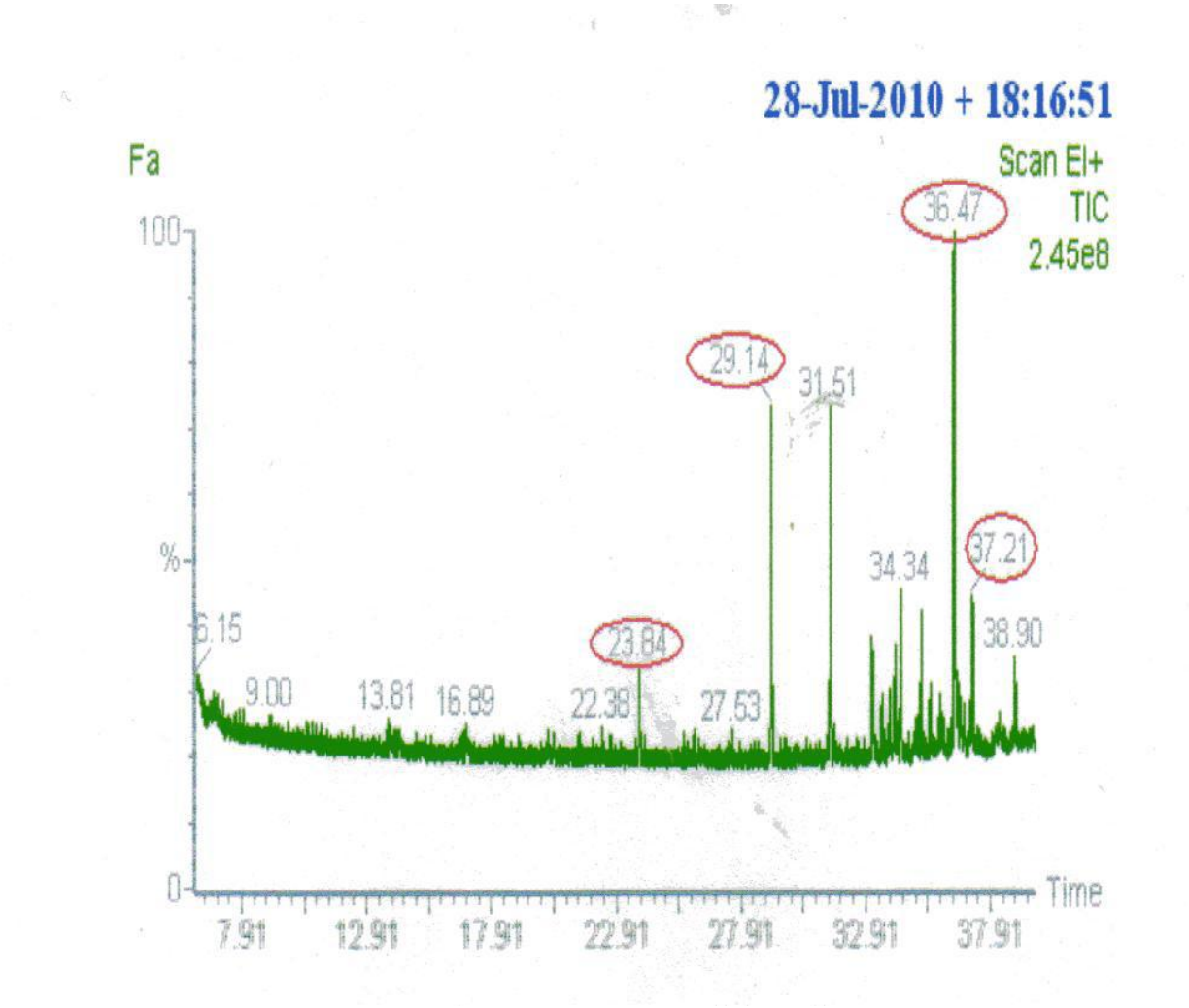
1-كروماتوغرامات المستخلصات (الهكسان –الاتيل ايثر-الكلوروفورم)بواسطة الايتانول60 % المحصل عليهم بواسطة الفصل الكروماتوغرافي(GC-MS) :



الشكل رقم(58) :كروماتوغرام مستخلص الهكسان المحصل عليه بواسطة الفصل الكروماتوغرافي (GC-MS) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*)[91]



الشكل رقم(59) :كروماتوغرام مستخلص الاتيل ايثر المحصل عليه بواسطة الفصل الكروماتوغرافي (GC-MS) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*)[91]

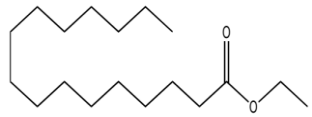
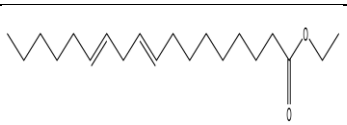
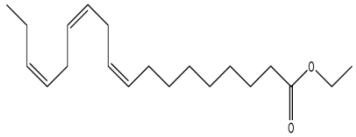


الشكل رقم(60) :كروماتوغرام مستخلص الكلوروفورم المحصل عليه بواسطة الفصل الكروماتوغرافي (GC-MS) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*)[91]

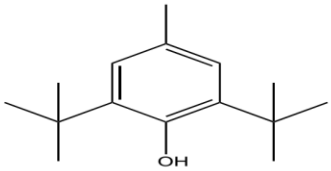
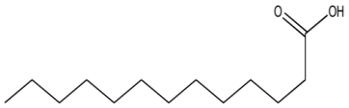
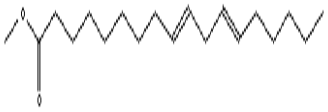
2-نتائج الفصل بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلة :

من خلال تفسير أطياف الكتلة المحصل عليها ومقارنتها بأطياف الكتلة للمواد المرجعية تمكنا من تحديد صيغة المركبات التي يحتويها المستخلص المدروس و زمن احتجازها(RT) وأوزانها الجزيئية ونسبها المئوية الممثلة في الجداول(6)(7)(8) التاليـــــة :

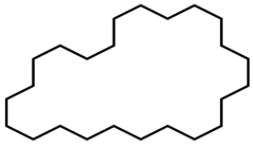
الجدول رقم (4)يمثل نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة (GC-MS) لمستخلص الهكسان لطريقة الاستخلاص بواسطة الايثانول 60% [60,,91-92].

الرقم	زمن الاحتجاز RT(ثا)	اسم المركب العضوي	الصيغة الكيميائية المجملة	الوزن الجزيئي M	النسبة المئوية %	الصيغة الكيميائية المفصلة
1	36.5	Ethyl palmitate	C18H36O2	284	26.71	
2	38.40	9,12-Octadecadienoicacid, ethyl ester	C20H36O2	308	16.03	
3	40.57	9.12.15 Octadecatrienoic acid,ethyl ester(z,z,z)	C20H34O2	306	57.25	

الجدول رقم (5)يمثل نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة (GC-MS) لمستخلص ايثرالاتيل لطريقة الاستخلاص بواسطة الايثانول 60% [60,91].

الرقم	زمن الاحتجاز RT(ثا)	اسم المركب العضوي	الصيغة الكيميائية المجملة	الوزن الجزيئي M	النسبة المئوية %	الصيغة الكيميائية المفصلة
4	23.84	Phenol2,6-1,1-dimethylethyl)-4-methyl-(Butylated Hydroxytoluene)	C15H24O	220	27.21	
5	35.87	N-Hexadecanoic acid	C16H32O2	256	12.24	
6	36.53	tridecanoicacid	C13H26O2	214	9.25	
7	40.37	9,12-octadecadienoic acid(z,z) ,methylester	C19H34O2	294	8.16	
8	40.53	11,14,17– Eicosatrienoic acid,methyl ester	C18H36O2	320	34.69	
9	29.13	decanoic acid	C10H20O2	172	12.24	

الجدول **رقم (6) يمثل نتائج الفصل الكروماتوغرافي بواسطة (GC-MS) لمستخلص الكلوروفورم لطريقة الاستخلاص بواسطة الايثانول 60% [60,91]..**

الرقم	زمن الاحتجاز RT(ثا)	اسم المركب العضوي	الصيغة الكيميائية المجملة	الوزن الجزيئي M	النسبة المئوية %	الصيغة الكيميائية المفصلة
10	29.14	9-eicosene , (e)	C20H40	280	15.62	
11	23.84	Cyclotetra Cosane	C24H48	332	03.75	
12	36.47	1-heptadecene	C17H34	238	23.12	
13	37.21	1-Nonadecene	C19H38	266	6.25	

3- مناقشـــــــــــــة النتائـــــــــــج :

الدراسة التحليلية بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلة GC-MS لمختلف المستخلصات (الهكسان والايثر اتيل والكلوروفورم) لنبات الفاقونيا لونجيسبينا أنتجت وبوضوح وجود 13 مركبا كيميائيـــــاوهـــــي :

بالميتات الاتيل (*Ethyl Palmitate)* *(* **26.71%)**, *12,9*-حمض الاوكتاديكاينوئ ويك اتيل استر(*9,12Octadecadienoic acid, ethyl ester*)(**% 16.03)** ***15,12,9,*** حمض الاوكتاديكاترينوئ ويك اتيل است ر (z ,z,z) *9.12.15 Octadecatrienoic acid,ethyl ester(z,z,z))* ***(57.25%)***, فينول 6,2-بيس(1,1-ثنائي مثيل)-4-مثيل (*Phenol2,6-bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl)* **(27.21%)** , حمض ن-هكساديكانوئ ويك (acid N-hexadecanoic) **(12.24%)**, حمض تريديكانوْويك(*Tridecanoicacid*)(**9.25%**) , *12,9-* حمض الاوكتاديكاينوئيك مثيل استر (z.z)((z.z) *9,12Octadecadienoic acid, methyll ester*)(**% 8.16**),**17,14,11**–حمض الكوسا ترينوئيك,مثيل استر(*11,14,17 –Elcosatrienoicacid,methyl ester*) **(34.69%)**, حمض ديكانوْويك **(12.24)** , **9**– حمض الكوزان(E) **(15.62%)**,حلقي تيتراكوزان **(03.75%)**) 1-هيبتاديسين (*1-Heptadecene*)) **(23.12%**, **1**– نوناديسين (*1-Nonadecene*) ***(06.25%)*** .

ثلاثة مركبات كيميائية تم الحصول عليها من مستخلص الهكسان كما هي موضحة في الجدول رقم (1) حيث المركب ***15,12,9,*** حمض الاوكتاديكاترينوْويك اتيل استر (z ,z,z)*9.12.15* *) يتواجد بوفرة بنسبة مؤوية* ***(57.25%)*** ويليه المركب الكيميائي بالميتات الاتيل (*Ethyl Palmitate)* *بنسبة مؤوية* **(26.71%)**,أما مستخلص الايثر اتيل فقد تم التعرف على ستة مركبات كيميائية كما هي موضحة في الجدول رقم (2) حيث المركب **17,14,11,**–حمض الكوسا ترينوئيك,مثيل استر يتواجد بكية كبيرة بنسبة مئوية **(34.69%** *)* ويليه المركب الكيميائي فينول 6,2-بيس(1,1-ثنائي مثيل)-4-مثيل *) بنسبة مؤوية* **(27.21%**)).وأخيرا أربعة مركبات كيميائية تم التعرف عليها من مستخلص الكلوروفورم كما هي موضحة في الجدول رقم (3) حيث المركب 1-هيبتاديسين هو الآكثر وفرة **(23.12%**) ويليه المركب الكيميائي 9– حمض الكوزان(E) **(15.62%**)[94-91,46] ,

5-نتائج ومناقشة أهم عصابات امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) :

من معرفتنا للصيغ الجزيئية للمكونات الكيميائية المفصولة باستخدا م الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلـــة "GC-MS" ندون النتائج والمناقشة في الجدول رقم(7) .

جدول رقم (7)أهم عصابات امتصاص الأشعة فوق البنفسجية UV المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*)

المركبات الكيميائية المفصولة بواسطة" GC-MS "	1 - المركبات التي التي تحتوي على الرابطة المزدوجة **-C=C-**المنفردة يحدث امتصاص لهذه للرابطة في طول موجي أقل من 200 نانوميتر نتيجة الانتقال الالكتروني $\Pi^* \rightarrow \Pi$. 2 - إذا زاد عدد الروابط المزدوجة – **-C=C- C=C -C=C-** فإن الامتصاص يحدث على طول موجي قد يصل(nm220)و طاقة أقل. 3 - وفي وجود المركبات التي تحتوي على مجموعة كربونيل (C=O) فان هذه المركبات تحتوي على الكترون Π والإلكترون n وبالتالي يحدث امتصاص لهذه الرابطة في طول موجي أقل من 200 نانوميتر نتيجة الانتقال الالكتروني $\Pi^* \rightarrow \Pi$. أما الامتصاص الثاني يحدث عند طول موجة أكبر من 270 نانوميتر نتيجة الانتقال $n \rightarrow \Pi^*$. **[96-95]** 4 - وفي وجود المركبات التي تحتوي على مجموعة **O-H** يحدث الامتصاص عند طول موجة أكبر من 300 نانوميتر.

6-نتائج ومناقشة أهم عصابات مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR المتواجدة في مختلف المكونات الكيميائية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) :

من خلال دراسة تحليلية سبيكتروسكوبية للمركبات الكيميائية المفصولة وبملاحظة الصيغ الجزيئية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) المذكورة سابقا نلاحظ تواجد العصابات المطيافية للأشعة تحت الحمراء IR المبينة في الجدول رقم(8) التالي[94] :

الجدول رقم (8): يبين أهم عصابات مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR للمركبات المفصولة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*)

$\bar{\nu}$ O-H	**$\bar{\nu}$- -CH3 -CH2**	**νC=O** مشبعة	**$\bar{\nu}$ C=O** غير مشبعة	**$\bar{\nu}$ C=C éthylé-nique**		**$\bar{\nu}$C=C arom**
3552.05 3473.57 3420.94 3235.2	2918.36 2852.81 2918.36	1732.93	1634.6	1618.21		1514.42 1448.86
$\bar{\nu}$ C-O C-OH	**$\bar{\nu}$ C-O**	**δOH arom**	**δ-C-H -CH3 -CH2**	**δ C-H arom**	**δ C=C H**	**δ -CH2**
1077.39 1170.26 1274.01	1170.26 1274.01	1383.31	1383.31 1448.86	722.32	722.31	722.31

7-مناقشة النتائـــــــــــج :

من خلال طيف الأشعة تحت الحمراء IR للمركات المفصولة نلاحظ ظهور امتصاص في مجال تردد3552-3235 cm^{-1} يتعلق بامتطاط الروابط OH .

إن الامتصاص الذي يظهر عند 1634 يرجع إلى امتطاط الكربونيل غير المشبع ، و على العكس عند قيمة أكبر أي في حدود 1732تعبر عن امتطاط الكربونيل في الحمض أو الأستر.و يؤكد ما سبق تبيانه، ظهور عصابات امتصاص متعلقة بامتطاط C-O مشبعة و غير مشبعة عند مجال تردد من 1000-1250.

كما نلاحظ ظهور امتصاص في مجال تردد عند 1618 الذي يؤكد و جود رابطة مزدوجة و هي التي عنينا بها سابقا الرابطة المزدوجة الإيثيلينية.

و في المقابل هناك امتصاصات عديدة في المجال من 1500 إلى 1600 توضح عدد من الروابط المزدوجة متناوبة تتعلق بمجموعة الفينيل.و في مجال تردد 2852 إلى 1918 وجود امتصاص لمجموعة الميتيل و الميتيلين**[98-97,3]**.

8-فعالية المكونات المفصولة باستخدام الكروماتغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا (*Fagonia Longispina*) :

إن فعالية النبتة تعود إلى ما تحويه من مكونات فعالة هذه المكونات تختلف من نبتة إلى أخرى ,كما أن عملية الفصل باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلـــــة" GC-MS" أنتجت مكونات كيميائية لها فعالية كبيرة مثل المركب 15,12,9-حمض الاوكتاديكاترينؤويك اتيل استر(z.z ;z) الذي يستخدم كمضادة للالتهابات وخاصة التهاب المفاصل و التهاب المجاري البولية أي مدر للبول وطاردة للحشرات ومستخلصه كمبيد للديدان ,كما يستخدم كمادة وقائية لمرض السرطان وخاصة في المراحل الأولى من المرض ,أما المركبات الكيميائية مثل حمض ن-هكساديكانؤويك , حمض تريديكانؤويك , *12,9*- حمض الاوكتاديكاينؤيك مثيل استر ((z.z) , 17,14,11-حمض الكوسا ترينؤيك,مثيل استر فبالإضافة إلي عملها البيولوجي فتستخدم كمضادات للأكسدة وأخيرا المركب الفينولي مثل فينول 6,2-بيس(1,1-ثنائي مثيل)- 4-مثيل يستعمل كمضادة للأكسدة وللإسهال وتوقيف النزيف ومضاد للتسمم بالالكالويدات ومضادة للالتهابات وقاتلة للمكروبات[102--99,91].

II -نتائج ومناقشة الفعالية البيولوجيةوالفعالية ضد الاكسدة لنبات الفاقونيا لونجيسبينا :

1)-الفعاليـــة البيولوجيـــــة :

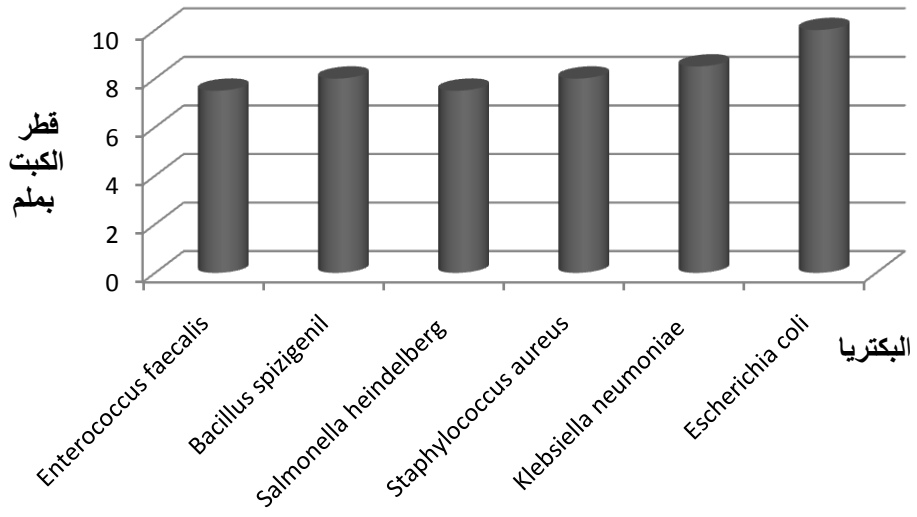
1- نتائـــــــــج ومناقشة الفعالية البيولوجيـــــة :

القراءة تتم بملاحظة مناطق دوائر التثبيط (الكبت) حول هذه الأقراص كما هي مدونة في الجدول رقم (9) التالـــي :

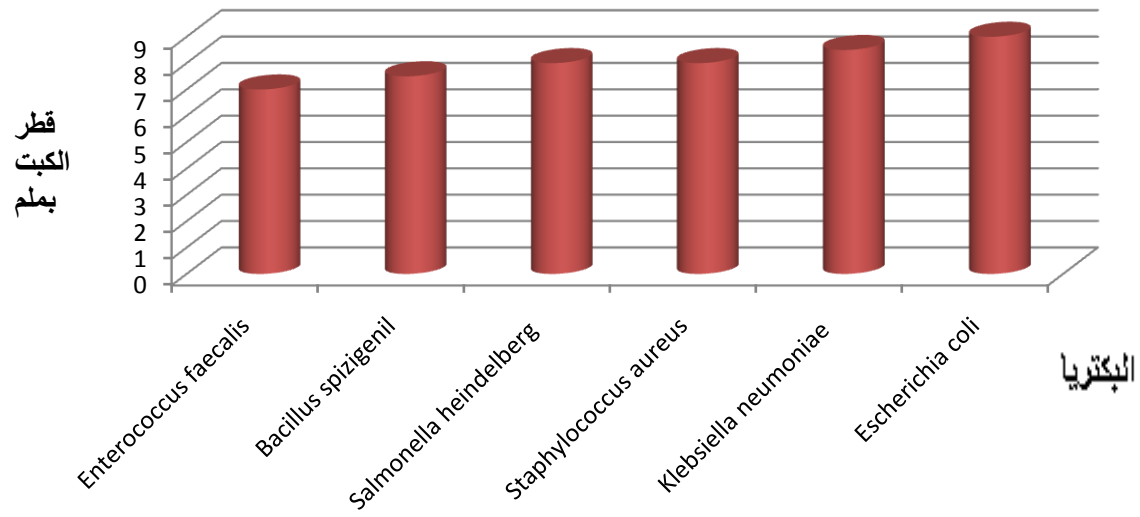
الجدول رقم (9) :نتائج مناطق التثبيط لمستخلصات نبات الفاقونيا لونجيسبينا

المستخلصات / البكتريا	الهبتان	ايثر البترول	CH_2Cl_2	$CHCl_3$	أسيطون	الميتانول
Enterococcus faecalis	-	7.5	7	11	11	9
Bacillus spizigenil ATCC6633		8	7.5	10	23	-
Salmonella heindelberg	-	7.5	8	13.5	11	8
Staphylococcus aureus ATCC6538	-	8	8	9	12	16
Klebsiella neumoniae	-	8.5	8.5	20	9	8
Escherichia coli ATCC25922	-	10	9	20	12	7.5

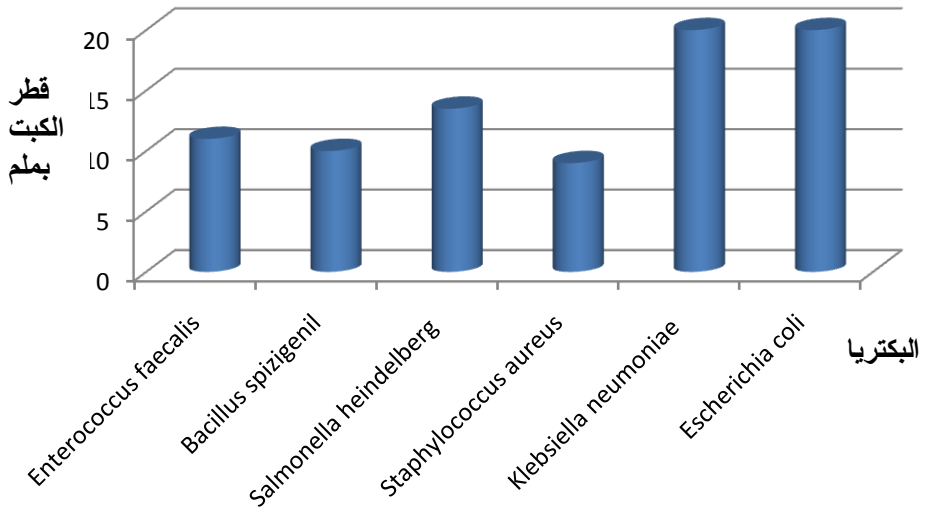
2-مخططات أقطار منطقة الكبت لمختلف المستخلصات العضوية بدلالة مختلف البكتريات :



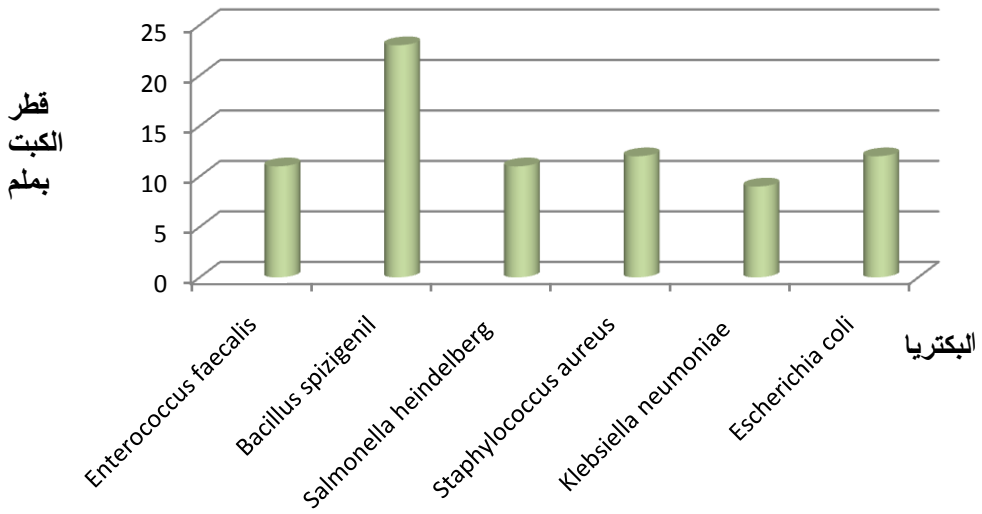
الشكل رقم (61): مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص ايثر البترول بدلالة البكتريا



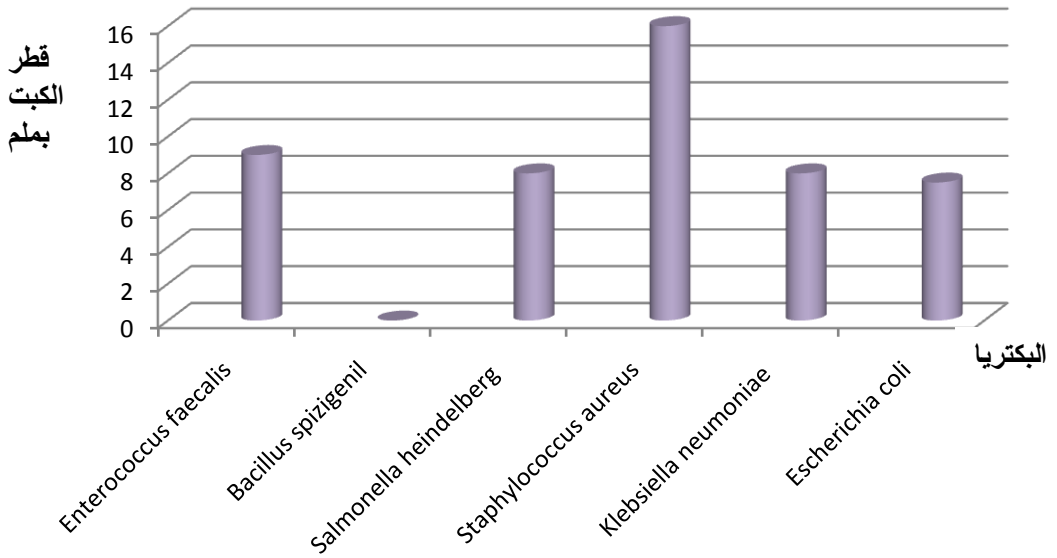
الشكل رقم (62) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص ثنائي كلورو الميتان بدلالة البكتريا



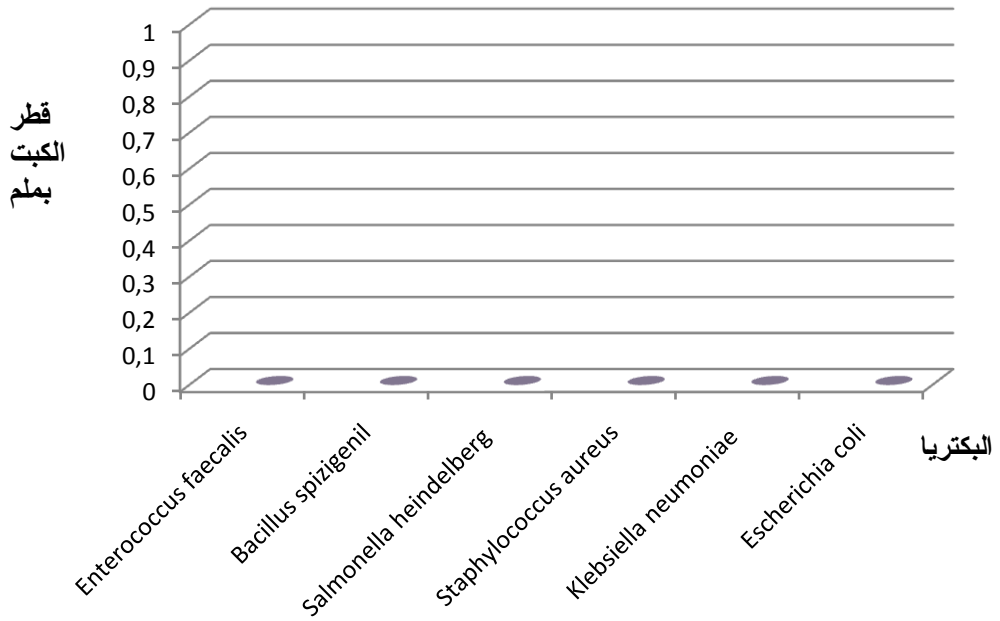
الشكل رقم (63) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الكلوروفورم بدلالة البكتريا



الشكل رقم (64) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الآسيطون بدلالة البكتريا

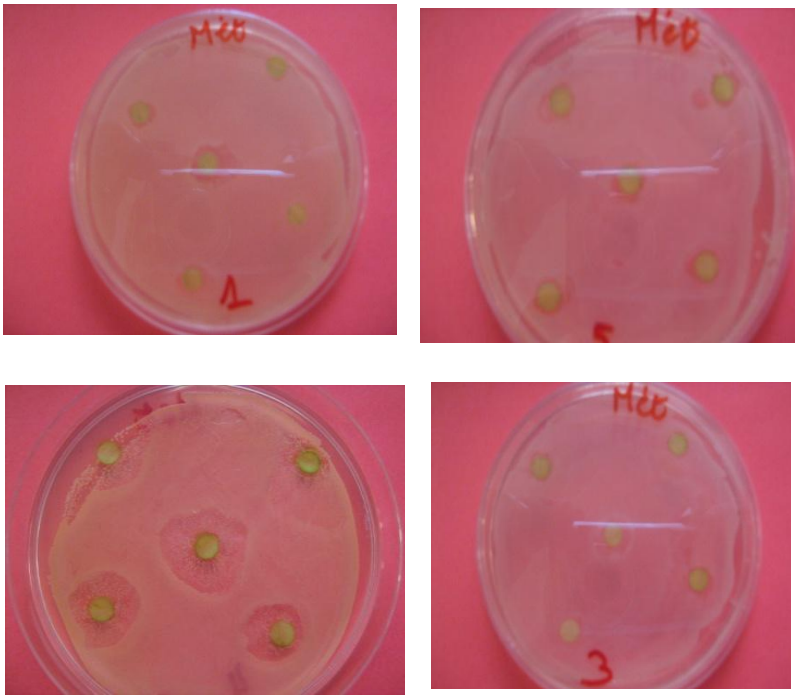


الشكل رقم (65) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الميتانول بدلالة البكتريا

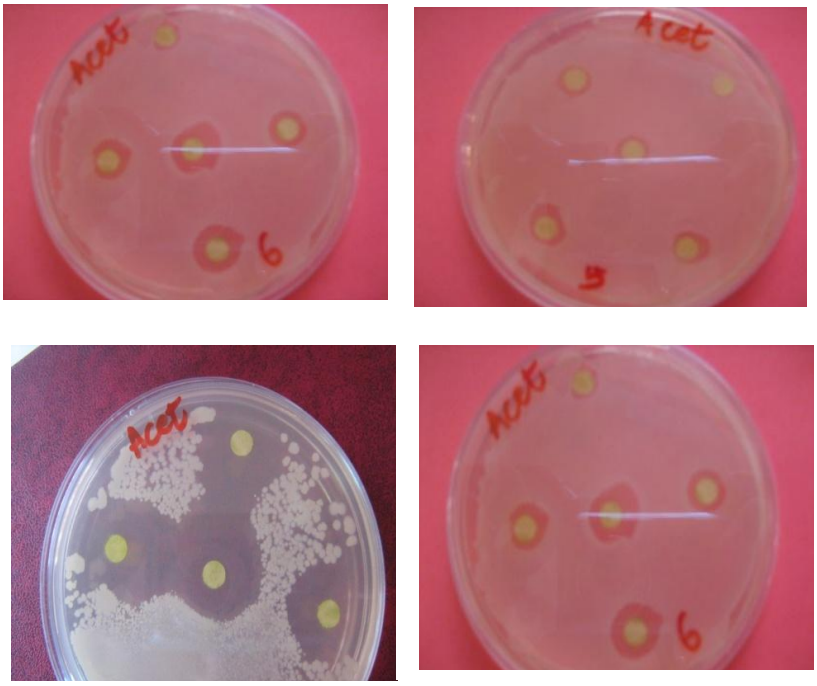


الشكل رقم (66) : مخطط قطر منطقة الكبت لمستخلص الهيبتان بدلالة البكتريا

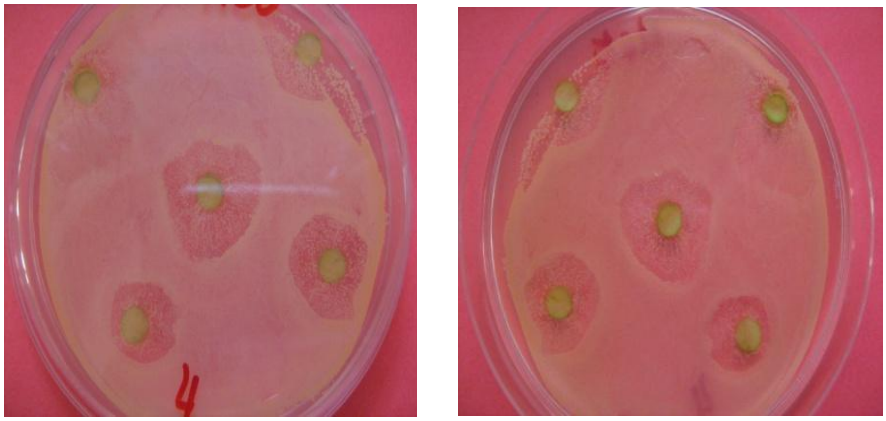
3- علب بتري للاختبارات الفعالية البيولوجية **لمختلف المستخلصات العضوية**



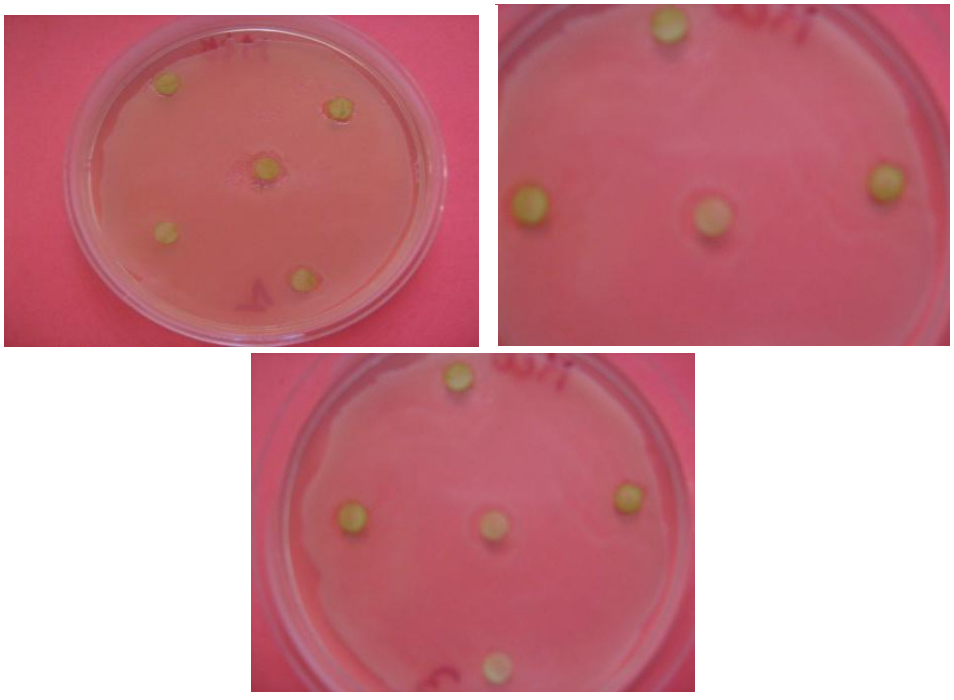
الشكل رقم (67) صور لعلب بيتري للمستخلص العضوي الميتانول



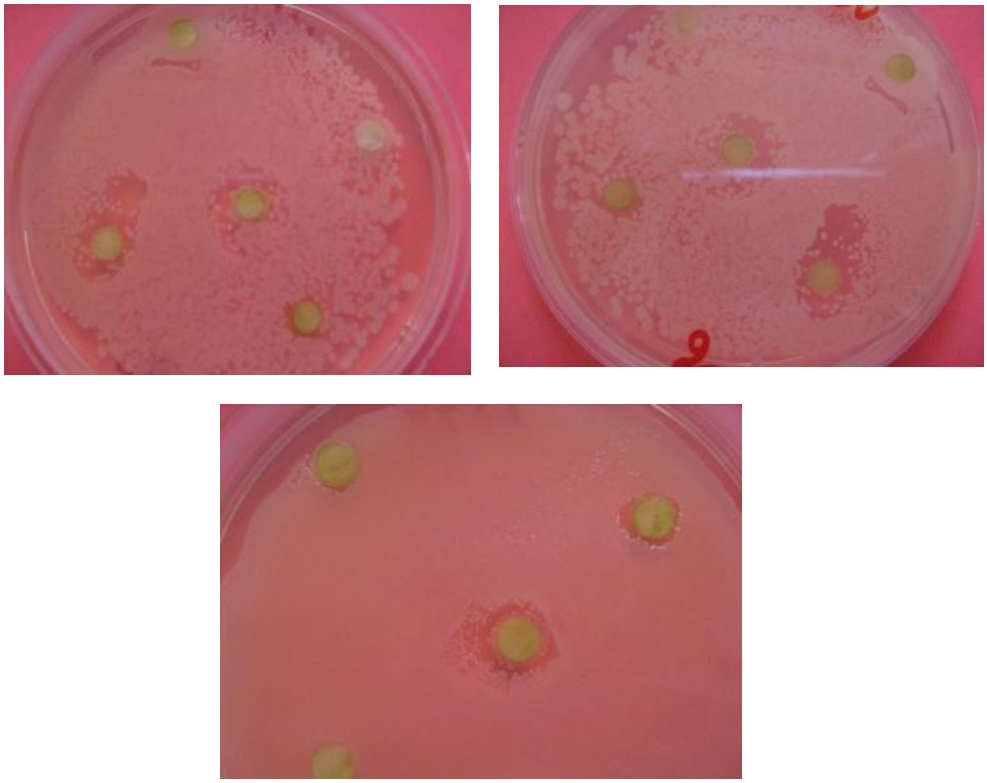
الشكل رقم (68) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي الآسيطون



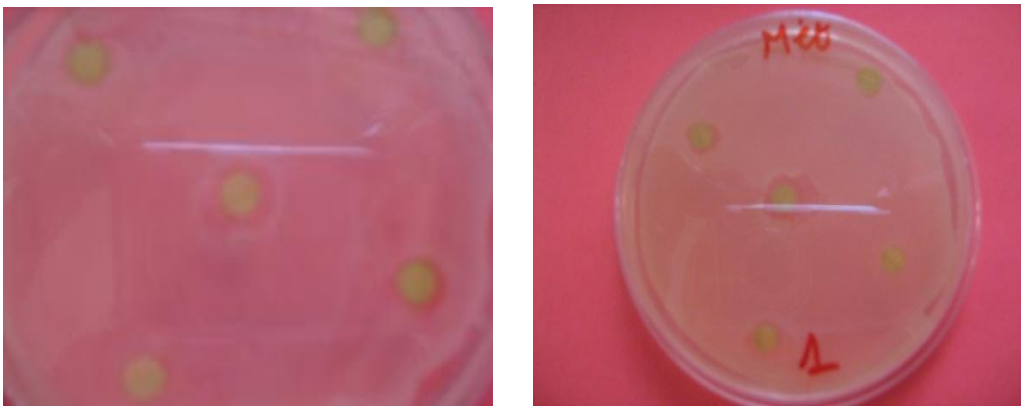
الشكل رقم (69) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي الكلوروفورم



الشكل رقم (70) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي الهيبتـــان



الشكل رقم (71) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي ايثر البترول



الشكل رقم (72) صورلعلب بيتري للمستخلص العضوي ثنائي كلور الميتان

4-مناقشـــــــــــة النتائـــــــــج :

من خلال مناطق التثبيط نستنبط النقاط التاليـــة [63-61,46] :

*-مستخلص الهبتان لم يبد أي فعالية بيولوجية ضد كل أنواع البكتيريا المستخدمة في الاختبار كما هو موضح في المخطط في الشكل رقم(59).

*-المستخلص العضوي ايثر البترول أعطى فعالية بيولوجية اتجـاه كل أنواع البكتريا كما هو موضح في المخطط في الشكل رقم(54).

*-المستخلص العضوي ثنائي كلورو الميتان أعطى فعالية بيولوجية اتجاه كل أنواع البكتريا كما هو موضح في المخطط في الشكل رقم(55) .

*-المستخلص العضوي الكلوروفورم أعطى فعالية بيولوجية اتجاه كل أنواع البكتريا وخاصة اتجاه ثلاثة أنواع من البكتريا وهي صالمونيلا هيندالبرغ , الإشيريشيا كولي, كليبزيلا نومونيـا كما هو موضح في المخطط في الشكل رقم(56).

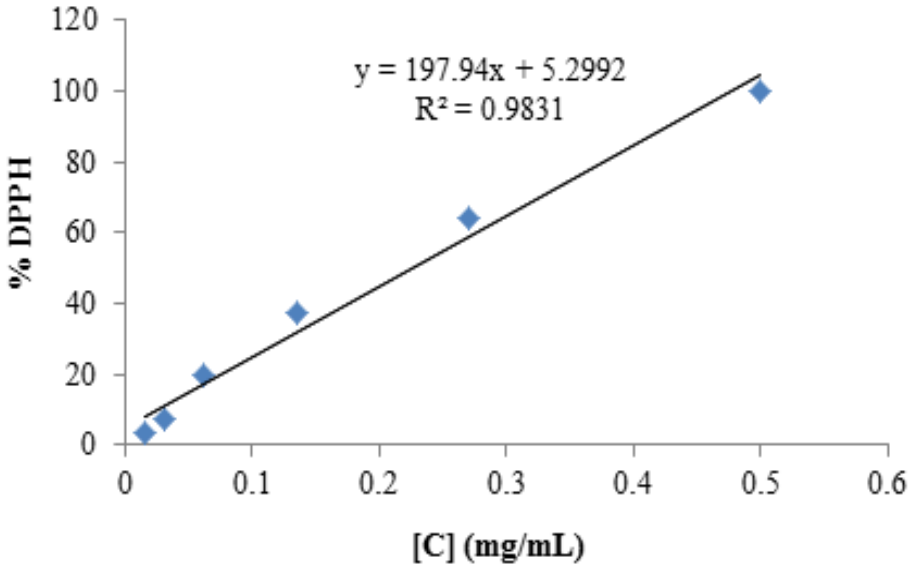
*-المستخلص العضوي الآسيطون أعطى فعالية بيولوجية اتجاه كل أنواع البكتريا وخاصة اتجاه البكتريا باسيلوس سبيزيجينيل كما هو موضح في المخطط في الشكل رقم(57).

**- المستخلص العضوي الميتانول أعطى فعالية بيولوجية اتجاه كل أغلب أنواع البكتريا باستثناء البكتريا باسيلوس سبيزيجينيل كما هو موضح في المخطط في الشكل رقم(58).

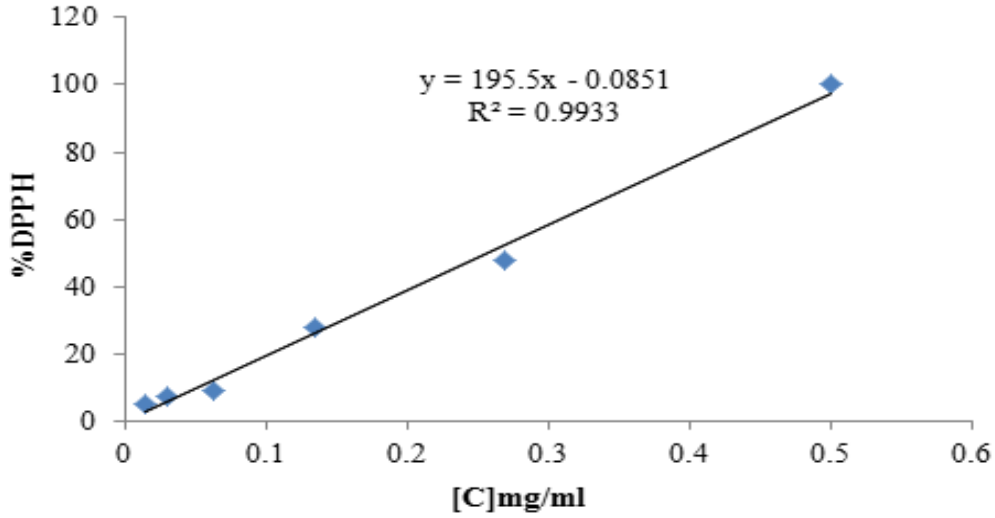
2)– الفعاليـــــــة المضـــــــادة للأكســـــــدة :

1- نتائج الفعاليـــــــة المضـــــــادة للأكســـــــدة :

بعد قياس وحساب النسبة المئوية لإرجاع الجدر الحر الثابت DPPH% سواء للمحلول الميتانولي للمستخلص الايثانولي والمحلول الميتانولي لحمض الآسكوربيك حصلنا على النتائج التالية المدونة في الشكلين رقم(67) ورقم (68) على التوالـــي :



الشكل رقم (73) منحنى يبين النسبة المئوية لإرجاع المستخلص الايثانولي **لجذر DPPH% بدلالة التراكيز**



الشكل رقم (74) منحنى يبين النسبة المئوية لإرجاع حمض الآسكوربيك **لجذر DPPH% بدلالة التراكيز.**

تحديد قيمـــــة المـــــقدار IC_{50} :

تحدد قيمة IC_{50} للمستخلص الايثانولي من خلال المنحنى البياني حيث يتم حساب قيمة التركيز الموافق لـ 50 % اعتمادا على معادلة المنحنى التاليـــة :

$$Y=197.94x+5.2992$$

فإذا كانت Y تمثل نسبة الإرجاع بـ 50 % تكون قيمة IC_{50} كما يلي :

$$X= (50-5.2992)/197.94=0.22$$

عند النسبة 50% قدر تركيز المستخلص الايثانولي لنبات Fagonia Longispina بـ

$$IC_{50}=0.22mg/ml$$

أما في حالة حمض الآسكوربيك تحدد قيمة IC_{50} من خلال المنحنى البياني حيث يتم حساب قيمة التركيز الموافق لـ 50 % اعتمادا على معادلة المنحنى التاليـــة :

$$Y=195.5X-0.0851$$

فإذا كانت Y تمثل نسبة الإرجاع بـ 50 % تكـــون قيمة IC_{50} كما يلـي :

$$X= (50+0.0851)/195.5=0.24$$

عند النسبة 50% قدر تركيز لحمض الآسكوربيك بـ

$$IC_{50}=0.24mg/ml$$

قيمة IC_{50} للمستخلص الايثانولي وحمض الآسكوربيك ن في الجدول رقم(10) التالـــي :

الجدول رقم(10) : تحديد مقدار IC_{50} للمستخلص الايثانولي وحمض الآسكوربيك (mg/ml)		
النبات	المستخلص	قيمة IC_{50}
الفاقونيا لونجيسبينا *Fagonia Longispina*	الايثانولي	0.22±0.0075
	حمض الآسكوربيك	0.24±0.0085

2-مناقشـــــة النتائـــج:

أثبتت النتائج المحصل عليها على فعالية المستخلص الايثانول لنبتة الفاقونيا لونجيسبينا في اسر والتقاط الجذور الحرة حيث قدر تأثير الآسر لجذور DPPH بـ أكثر من 80.5% وهذا عند التركيز 0.45مغ/مل وبقي تأثير هذا المستخلص ذو فعالية حتى التراكيز الجد منخفضة المستعملة حيث قدر التركيز الآسر لـ 50% بـ 0.22مغ/مل.

وعند مقارنة الفعالية للأكسدة للمستخلص بتلك الخاصة لحمض الآسكوربيك والذي يعرف عنه من أكفأ البولي فينولات المضادة للأكسدة حيث قدر تركيز الآسر لـ 50% بـ 0.24مغ/مل وهذا يعني أن مستخلص الايثانول وحمض الآسكوربيك لهما بالتقريب فعالية بيولوجية مضادة للأكسدة متقاربـــة.

إن هذه النتيجة المحصل عليها من تقارب الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الايثانولي وحمض الاسكوربيك ماهي إلا نتيجة وجود مركبات كيميائية [91] تملك فعالية مثل المركب 15,12,9-حمض الاوكتاديكاترينؤويك اتيل استر(z.z ;z) الذي يستخدم كمضادة للالتهابات وخاصة التهاب المفاصل و التهاب المجاري البولية أي مدر للبول وطاردة للحشرات ومستخلصه كمبيد للديدان ,كما يستخدم كمادة وقائية لمرض السرطان وخاصة في المراحل الأولى من المرض ,أما المركبات الكيميائية مثل حمض ن-هكساديكانؤويك , حمض تريديكانؤويك, *12,9-* حمض الاوكتاديكاينؤيك مثيل استر ((z.z) , 17,14,11- حمض الكوسا ترينؤيك,مثيل استر فبالإضافة إلي عملها البيولوجي فتستخدم كمضادات

للأكسدة وأخيرا المركب الفينولي مثل فينول 6,2-بيس(1,1-ثنائي مثيل)-4-مثيل يستعمل كمضـــادة للأكسـدة.

وتقارب الفعالية البيولوجية المضادة للأكسدة بين مستخلص الايتانول وحمض الاسكوربيك الذي يعتبر من أكفأ المركبات الفينولية جعلت منه مصدرا ومنبعا لمضادات الأكسدة الطبيعيـــة , حيث يمكن استخدام المستخلص الايتانولي في حماية الآغذية من عملية الأكسدة وذلك بتمديد عمر تخزينهـــا .

الخلاصة العامة

الخلاصـــــــة العامـــــــة :

نبات الفاقونيا لونجيسبينا عشب خضري معروف متكيف للجفاف . كما أنه نبات صحراوي بري, استخدمه البدو كغذاء لماشيتهم, له رواج في الطب ألشعبيي, يتواجد في المناطق الصحراويـــة ومنها الجنوب الغربـــي الجزائري.

من خلال دراسة العائلة الزيغوفيلاسيا تبين أن لها فوائد طبية منها معالجة الأمراض السرطانية في بدايتها و وأمراض الجهاز البولي وغيرها وقد ذكرناها سابقا .

إن فعالية النبتة تعود إلى ما تحويه من عناصر فعالة ولهذا يتطلب طرق كشف مختلفة فكان إجراء الفحص الكيميائي لهذا النبات ضروري لمعرفة هذه العناصر حيث من خلال نتائج الاختبارات الأولية المحصل عليها نسجل تواجد غالبية المركبات الفعالة . احتواء هذا النبات على هذه المواد الفعالة أعطته ميزة كبيرة في الدراسات الفيتو كيميائية والتقييم البيولوجي.

وبناءا على هذه الاختبارات الأولية ,تم التطرق إلى فصل المركبات الكيميائية وعددها13 مركبا بواسطة الفصل بالكروماتوغرافيا الغازية المرفقة بمطيافية الكتلة GC –MS .

ومن معرفة خصائص واستعمالات هذه المكونات الكيمائية تبين أن لها فعالية كبيرة مثـل : المركب 15,12,9-حمض الاوكتاديكاترينؤويك اتيل استر(z.z ;z) الذي يستخدم كمضادة للالتهابات وخاصة التهاب المفاصل و التهاب المجاري البولية أي مدر للبول وطاردة للحشرات ومستخلصه كمبيد للديدان ,كما يستخدم كمادة وقائية لمرض السرطان وخاصة في المراحل الأولى من المرض ,أما المركبات الكيميائية مثل حمض ن-هكساديكانؤويك , حمض تريديكانؤويك , *12,9-* حمض الاوكتاديكاينؤيك مثيل استر ((z.z) , 17,14,11-حمض الكوسا ترينؤيك,مثيل استر فبالإضافة إلي عملها البيولوجي فتستخدم كمضادات للأكسدة وأخيرا المركب الفينولي مثل فينول 6,2-بيس(1,1-ثنائي مثيل)-4-مثيل يستعمل كمضادة للأكسدة وللإسهال وتوقيف النزيف ومضاد للتسمم بالالكالويدات ومضادة للالتهابات وقاتلة للمكروبات[102-99,91].

الخلاصـــــــة

دراسة الفعالية البيولوجية لنبات الفاقونيا لونجيسبينا تبين أن أغلب المستخلصات المستعملة في هذه الدراسة أبدت فعالية بيولوجية ضد غالبية أنواع البكتريا الستة المستعملة. تقارب الفعالية البيولوجية المضادة للأكسدة بين مستخلص الايتانول وحمض الاسكوربيك الذي يعتبر من أكفأ المركبات الفينولية جعلت منه مصدرا ومنبعا لمضادات الأكسدة الطبيعيـــــة , حيث يمكن استخدام المستخلص الايتانولي في حماية الآغذية من عملية الأكسدة وذلك بتمديد عمر تخزينهـــا .

في الأخير إن هذا العمل لا يتوقف عند هذا الحد بل يستمر في تحديد البنيات الجزيئية للمركبات التي لم يتم فصلها والتي منها ما يحتاج إلى بعض من الطرق الطيفية المرتبطة بالطرق الفيزيائية التي لها دور كبير في التوجيه والتثبيت من أجل الحصول على مركبات نقيـــة . المركبات المفصولة وأهميتها الطبية والتي عددها 13 مركب مفصول واحتواء هذا النبات علي غالبية المواد الفعالة والفعالية البيولوجية والفعالية *ضد الأكسدة الجبيدة جعل هذا النبات* له أهمية كبيرة في الطب البديل *وهدفا مهما في الدراسات الفيتو كيميائية المتقدمـــة* .

المراجع

المراجع العربيــة

[1] حسان قبيسى ."معجم الأعشاب والنباتات الطبية " دار الكتب العلمية بيروت-لبنان الطبعة الخامسة 2002م.

[2] حليمي عبد القادر (الفضائل المروية في الأعشاب الطبية) الجزء الأول,موفم للنشر 1996 .

[3] حميدي نورالدين "الدراســة الفيتوكيميائية لنبــات الدقع"مذكر ة لنيل شهـــادة ماجيستير2007.

[4]. حليمي عبد القادر (الفضائل المروية في الأعشاب الطبية) الجزء الثاني ,موفم للنشر 1996 .

[5] حليمي عبد القادر (الفضائل المروية في الأعشاب الطبية) الجزء الثالث,موفم للنشر 1996 .

[6] أنذور شوفالييه ترجمة عمر الأيوبي (الطب البديل,التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية) 1997.

[7] غسان حجاوي ,حياة حسيني المسيمي , رولا محمد جميل قاسم " علم العقاقير والنباتات الطبية" مكتبة دار الثقافة 1997.

[8] توفيق الحاج يحيى "النبات والطب البديل" الطبعة الأولى 2003م.الدار العربية للعلوم بـيروت.

[9].جانيت توفيق قصير –د.عدل سعيد وصفي " كيمياء النواتج الطبيعية" مطبعة كلية العلوم بـغداد 1982م.

[10] ع.ع. محنش " الدليل في التداوي بالأعشاب " 2001م ,دار الهدى للنشر..

[11].محمد رياض رستم "طرق عملية في الفيزيولوجية النباتية " ديوان المطبوعات الجامعية الجزائر04-87..

[13] ع.ابن أحمد محنش " العلاج بالآعشاب الطبية" دار الهدى عين مليلة الجزائر 1998م.

[14] ابن البيطار" الجامع لمفردات الأدوية والأغذية " 1992م ,طبعة الكتب العلمية بيروت.

[16] هاني عرموش " الأمراض الشائعة والتداوي بالأعشاب " دار النفائس للطباعة والنشر والتوزيع الطبعة الأولى 1992م-الطبعة الثانية 1998م.ص8-13, ص269.

[17] يحي محمودي (الأعشاب الطبية من الحديقة النبوية) قصر الكتاب البليدة –الجزائر 1990م.

[18] عبد العزيز زلماطي " التداوي بالإعشاب والنباتات الطبية " دار الهدى عين مليلة.الجزائر 2008.

[19] ش. ابراهيم سعد (النباتات الزهرية 1975م الطبعة الثالثة الهيئة الإسكندرية العامة للكتاب.

[20] أ.الخطيب (الفصائل النباتية) 1987م , مطبعة خالد بن الوليد .

[21] سمير عبد الرحيم سعيد غبواص –د.فتحي أحمدج عبيد (الاستخلاص بالمذيبات في الكيمياء التحليلية) دار الكتب للطباعة والنشر –الموصل 1991م.

[24] موتق شخاشيرو-د. عبد المجيد شيخ عسين-د.يحي قدسي "التحليل الألي" ديوان المطبوعات الجامعية الجزائر 12-1991م.

[25] الطاهر بن عيسى الطرق "الطرق المطيافية" ديوان المطبوعات الجامعية 2001م.

[27] أحمد الصفار"الطرق الألية في التحليل الكيميائي"ديوان المطبوعات الجامعية 1991م.

[28] وفائي حقي –د.يحي قدسي "الكيمياء العضوية 4- المطيافية العضوية والاصطناع الكيميائي" ديوان المطبوعات الجامعية 1992م.

[29] عبد الرزاق معروف" التحليل الألي" دار الغرب للنشر والتوزيع وهران – الجزائر2000م.

[30] عبد المنعم ,محمد السيد الأعسر "التحليل الطيفي للأنظمة الكيميائية والبيوكيميائية", الدار العربية للنشر والتوزيع 1999م.

[31] عبد المنعم محمد السيد الأعسر(التحليل الطيفي للأنظمة الكيميائية والبيوكيميائية) دار البحر الأبيض المتوسط للنشر ت : 625672..

[32] صلاح يحياوي" نطبيقات مطيافية الامتصاص على المركبات العضوية"دمشق 1973م.

[33] عادل أحمد جرار/د.عدنان محمود سليم/د.طرب جميل الأحمد. مبادئ الكيمياء العضوية العملية دارالضياء للنشروالتوزيع عمان الأردن الطبعة الثالثة 1999م.

[34] أحمد مدحت اسلام,د.السيد علي حسن,د.اسماعيل بسيوني حنوت,د.أحمد محمود النجار" مبادئ الكيمياء العملية "الطبعة السابعة 1982 دار المعارف.

[47] حوة ابراهيم. دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات عائلة الشفوية والفعالية ضد الاكسدة. مذكرة لنيل شهادةماجيستير 2013.

[57] علاوي مسعودة " مساهمة في الدراسة الفيتوكميائيةلنبات الرمت" مذكرة لنيل شهادة ماجيستير2003 .

[64] هنية جبالي . التقدير المخبري للنشاطية المضادة للاكسدة والجدور الحرة لبعض المركبات الكبريتية ماستر أكاديمي 2012.

[65] عباس بن مرعاش .دراسة نواتج الايد الثانوي الفلافونودي والفعاليو المضادة للاكسدة للنبتة مذكرة لنيل شهادة الماجيستير 2012.

[103] مين رويحة (التداوي بالأعشاب) دار القلم بيروت-لبنان-الطبعة السابعة 1983 .

المراجع الآجنبيـــة

[12] J.Jean Bruneton « PharmacognoSY phytochimistry medicinal plants » 2em édition , Tec. etDoc .paris 1999 .

[15] R.Heller « Abrégé de physiologie Végétae » : tome1,3eme édition, Masson Paris 1984.

[22] F.Rouessac. A. Rousessac « Analyse chimique » 5éd Denod Paris .2000

[23] R. Rosset « Chromatographie en phase liquide et supercritique » 1991.

[26] H. Gunther" (La Spectroscopie de RMN)" MASSON ,paris 1993.

[35] Ozenda, p.(1983). Flore du Shara ,2eme ed. Paris : CNRS.

[36]http://angio.bergianska.se/Bilder/rosids/Zygophyllales/Zygophyllaceae/Zygophyllum/ 14h(2013).

[37] P.Quezel .et S. Sant. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .tome1 Editions du Centre national de la recherche Scientifique, paris7.1962.

[38] Maire, R, 1953, flora of North Africa: Morocco, Algeria, Tunisia, Tripolitaine, Cyrenaique and Sahara Vol 5, Paul Lechevaller, Paris.

[39] C.Killian .Anabasis aretioides Coss,et Moq, endémique du Sud Oranai. Travail du laboratoite de biologie saharienne de la Faculté des Sciences d'Alger à Beni Ounif 1986.

[40] B. Salima et S. noria" (Contribution a l'étude de la Flore de la région de beni-abbés) , mémoire d'études supérieures en biologie végétale. 1986. p76-88"

[41]. Quezel, H., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques, eds du centre national de la recherche scientifique. Paris. 756-757.

[42] Chopra, R. N., Nayar, S. L., Chopra, I. C. (1956). *Glossary of Indian MedicinalPlants*. New Delhi: CSIR.

[43] P.Ozenda" *(Flore du Sahara Septentrional et Central) 1958*..

[44] http://www. Tlfa .ulaval.ca/Axl/afrique/ algerie carte-htm.14h (2012).

[45] B.Mohamed " Extention du réseau d'alimentation en eau potable de la wilaya de béchar (zone bleu 272 ha)" 2000, mémoire d'ingéniure UST ORAN.

[46] N. Hamidi 1, H. A. Lazouni2, A. Moussaoui3, L. Ziane4, M. Djellouli, A. Belabbesse. Ethnopharmacology, Antibacterial and AntioxidantActivities, Phytochemical Screening of Bioactive ExtractsFrom the Aerial Parts of Fagonia *Longispina. Asian Journal of Natural& Applied Sciences Vol.3(3) September 2014.*

[48] Kiarostami, Kh., Mohseni, R., Saboora, A, Biochemical changes of Rosmarinusofficinalis under salt stress, Journal of Stress Physiology & Biochemistry, Vol. 6 No.3 2010, pp. 114-122 ISSN 1997-0838.

[49]Deans S.G. et Ritchie G.Antimicrobial proprieties of plants essential oils.Journal of food microbiology vol 5 2008.

[50] Ana Carolina de Mello Santos, Ana Carolina Matos Zidko, A virulência de scherichiacoli patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro,M u n do d a S a ú d e, São Paulo: 2009.

[51] Silvia Michanie, Escherichia coli O157:H7 La bacteria que disparó el HACCP en laind ustria de la carne, Énfasis Alimentos Año IX, Nº3 Julio-Agosto, 2003.

[52] Methicillin Resistan Staphylococcus aureus, Last Updated: January 2011.

[53] The Food Safety File: Staphylococcus aureus Edition 2008.

[54] Xiao-Lian Zhang, Victor Tunje Jeza and Qin Pan, Salmonella Typhi: from a HumanPathogen to a Vaccine Vector 2008.

[55] Riti Sha ran Sanjay Chhibber, Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi,salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper water storage vessels, Sharan etal . BMC Infectious Diseases 2011.

[56] Cristina Popovici , Ilonka Saykova, Evaluation de l'activité antioxydant des composésphénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel2009.

[58]El-ShazlyA.Met et Hussein K.T.Chemical analysis and biological activities of essentielle oil of teucrium leucocladum boiss.Biochemical Systematics and ecology 2004.

[59]Dorman H.J.D. et Deans S.G.Antimicrobial agents from plantts. :antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Aplplied microbiology.2000.

[60]N. Hamidi, H.A. Lazouni, A.Moussaoui,and L.Ziane(2012) Chemical Constituents of Fagonia longispina family zygophillaceae extracts international congress on aromatic and medicinal plants Cipam. Sidi Bel-Abbes, Algeria ..

[61] N. Hamidi, L. Ziane, A. Belabbesse (2011) Chemical Constituents of Anabasis Aretioides. Troisieme Colloque International de Chimie, Batna, Algeria

[62]https://www.google.fr/search?q=photo+bact%C3 14h .2013.

[63]N.Hamidi,et al. (2009) Flavonoids from the aerial parts of Anabasis aretioides .3rd Moroccan –Spanish Symposium on Organic Chemistry. In Tetouane Morocco.

[66] Praveen Kumar1 et al., (2010). Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of Vitex negundo. African Journal of Biochemistry Research.

[67] Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin IntervAging.*

[68] Anitha et al. (2011). Evaluation of the Antimycotic Activity of Aqueous andEthanolic Extracts of Aesculus hippocastanum–An In Vitro Study. *Int. J. Drug Dev.& Res. 2011,*

[69] Bielanski, T. E., Piotrowski, Z. H. (1999). Horse-chestnut seed extract for chronicvenous insufficiency. *J.Fam. Pract.,*.

[70] Sharma. U. S., and Kumar, A. (2011). In vitroantioxidant activity of Rubus ellipticusfruits. *J Adv Pharm Technol Res.*

[71] Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol., 26*(2), 211-219.

[72]. Moubasher, M. H. (2000). Antifungal activity of 5 Convolvulaceae plant extracts against Fusarium oxysporum, F. sp lycopersici, and some saprobic, phytopathogenicand dermatophytic fungi. *Microbiology*. 49, 128-137.

[73] Hilal, S. H., Haggag, M. Y., Soliman, F. M, Sayeda, A. E. E. (1983). Phytochemical and biological screening of convolvulus lanatus .pharm. *Sci*. 24,

[74]Atta,A.H.,Kenawy,S.A,A.andEl-Melegy,R.(2011).Anti-Inflammatory,Antipyretic and Antioxidant Effect of Some Medicinal Plant Extracts*pl. Integr.Med*. 8 (1). 122-125.

[75]. Parihar, M. S., Hemnanit, T. (2003). Phenolic antioxidants attenuate hippocampal neuronal cell damage against kainic acid induced excitotoxicity. *Biosci.*28, 121-128.

[76]. Tawaha. K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. (2008).Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species.*Food Chem.* 104, 1372-1378.

[77]. Dini, I., Tenore, J. C., Dini, A. (2006). New Polyphenol Derivative in *Ipomoeabatatas* tubers and its antioxidant activity. *Agric. Food Chem.* 54 (23), 8733-8737.

[78]. Hilal, S. H., Haggag, M. Y., Soliman, F. M., El-Kashoury, El-Sayeda A. (1985).Phytochemical and biological screening of *Convolvulus lanatus*. *Pharm. Sci*. 24, 139-

[79]. Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M and El-Elimat, T. (2008). Antioxidant activity and total. phenolic content of selected Jordanian plantspecies. *Food Chem*.

[80]. Suntres, Z. E., Omri, A. (2006). The role of liposomal antioxidants in oxidativestress. *Frontiers Nanother*. 191-205.

[81]. Scandalis, J. G. (2005). Oxidative stress : molecular perception and transductionof singals triggering antioxidant gene defence. *Braz. J. Med. Biol. Res*. 38 (7), 995-1014.

[82]. Comhair, S. A. A., Erzurum, S. C. (2002). Antioxidant responses to oxidantmediatedlung diseases. *Physiol. Lung. Cell .Mol. Physiol*. 283, 246-255.

[83] Reşat Apak et al (2013) Methods of measurement and evaluation ofnatural antioxidant capacity/activity(IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem,

[84] Abdellaoui Dris et al (2012)Antibacterial and antioxidant activity of Rhodophyceae extracts: Grateloupia doryphora and Gymnogongrus patens. ScienceLib Editions Mersenne .

[85] Alain dit Philippe BIDIE et al (2011)Activités antioxydantes de dix plantes medicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature .*

[86] R. Preethi et al (2012)Antimicrobial and Antioxidant Efficacy of Some Medicinal Plants Against Food Borne PathogensAdvances in Biological Research .

[87] M. Djellouli, A. Moussaoui, H. Benmehdi, L. Ziane, A. Belabbes, M. Badraoui, N. Slimani, N. Hamidi. (2013) Ethnopharmacological and phytochemical screening of tree plantsfrom the region of south west Algeria , Asian Journal of Natural & Applied Sciences,.

[88] L. Ziane, N. Hamidi , H.A. Lazouni, A. Moussaoui. (2013) Ethnopharmacology and phytochemical screening of bioactive extracts of limoniastrum feei (plombagenaceae), Asian Journal of Natural & Applied Sciences.

[89]R.Rosset «*Chromatographie en phase liquide et supercritique*»*1991p14-22*.

[90] R.Ramasubramaniaraja.Pharmacognostical Phytochemical Including GC-MS Identification Components of Ethanolic Leaf Extract of Abutilon *indicum (Linn).*

IJPI's Journal of Pharmacognosy and Herbal Formulations v6-2011

[91] N. Hamidi, H.A. Lazouni, A.Moussaoui, L.Ziane and A.Saad (2012) MS analysis of ethanol extracts from the aerial parts of Fagonia Longispina (family Zygophyllaceae), Asian Journal of Natural & Applied Sciences, 1(2), 136-142.

[92] Praveen et al. (2010). Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of Vitex negundo. *African journal of Biochemistry, 4*(7), 191-195.

[93] H. Gunther*" (La Spectroscopie de RMN)" MASSON ,paris 1993.*

[94] J. Michael Hollas *"(Spectroscopie) Dunod , paris 1998."*

[95] M.Hesse, H. Meler,B. zeeH *"(Méthodes spectroscopiques pour la chimie*

[96] Praveen Kumar1 et al., (2010). Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of Vitex negundo. *African Journal of Biochemistry Research, 4*(7),191-195.

[97] Anitha et al. (2011). Evaluation of the Antimycotic Activity of Aqueous andEthanolic Extracts of Aesculus hippocastanum–An In Vitro Study. *Int. J. Drug Dev& Res. July-Sep2011, 3*(3), 335-338.

[98] Belmekki, N., Bendimerad, N., Seladji, M. (2012). Phytochemical constituents of some Algerian medicinal plants. *J. Nat. Prod. Plant Resour., 2*(5), 558-562.

[99] Daniela Antonovaet al(2007). GC-MS studies of the chemical composition of two inedible mushrooms of the genus *Agaricu.s*Chemistry Central Journal.6967–6976.

[100].M.Asif Saeed, A.Wahid Sabir. Effects of *Fagonia cretica* L.constituents on varioushaematologicalparameters in rabbits. Journal of Ethnopharmacology85(2003)195–200.

[101]. M. Asif Saeed, A. Wahid Sabir. Effects of *Fagonia cretica* L. constituents on various haematological parameters in rabbits. Journal of Ethnopharmacology (2003) .

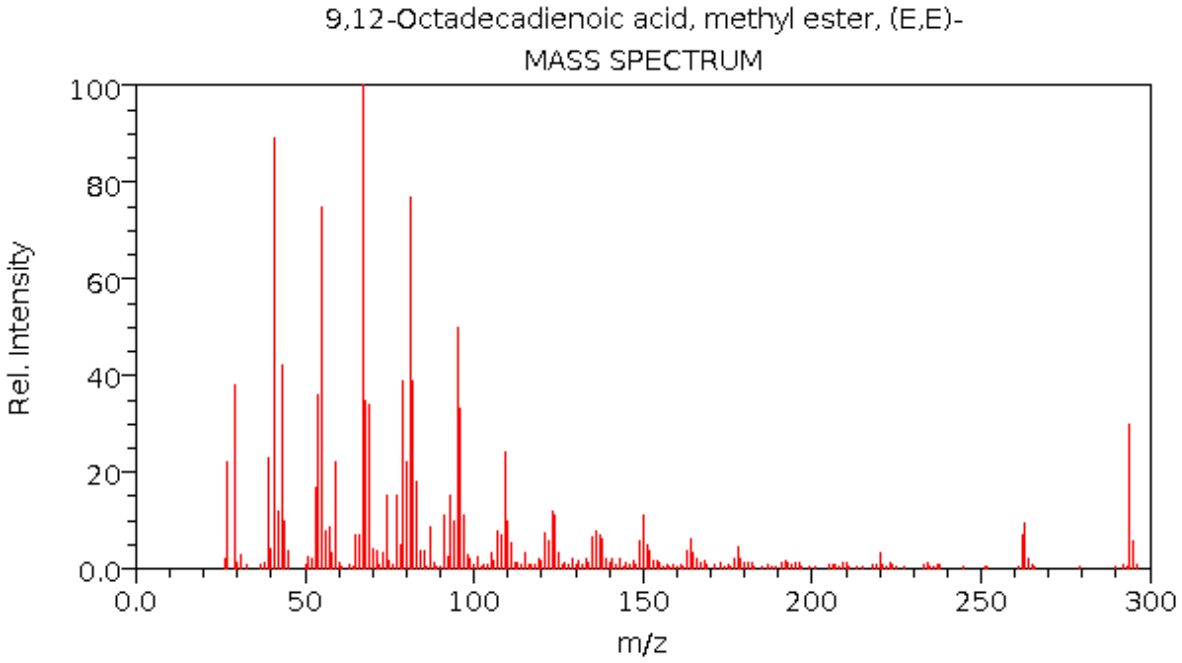
[102]Angela Perrone et al (2007)Sulfated Triterpene Derivatives from *Fagonia arabica. J. Nat. Prod.*

[103]http://www.sahara-nature.com/plantes.14h.29/11/2011.

الملحق

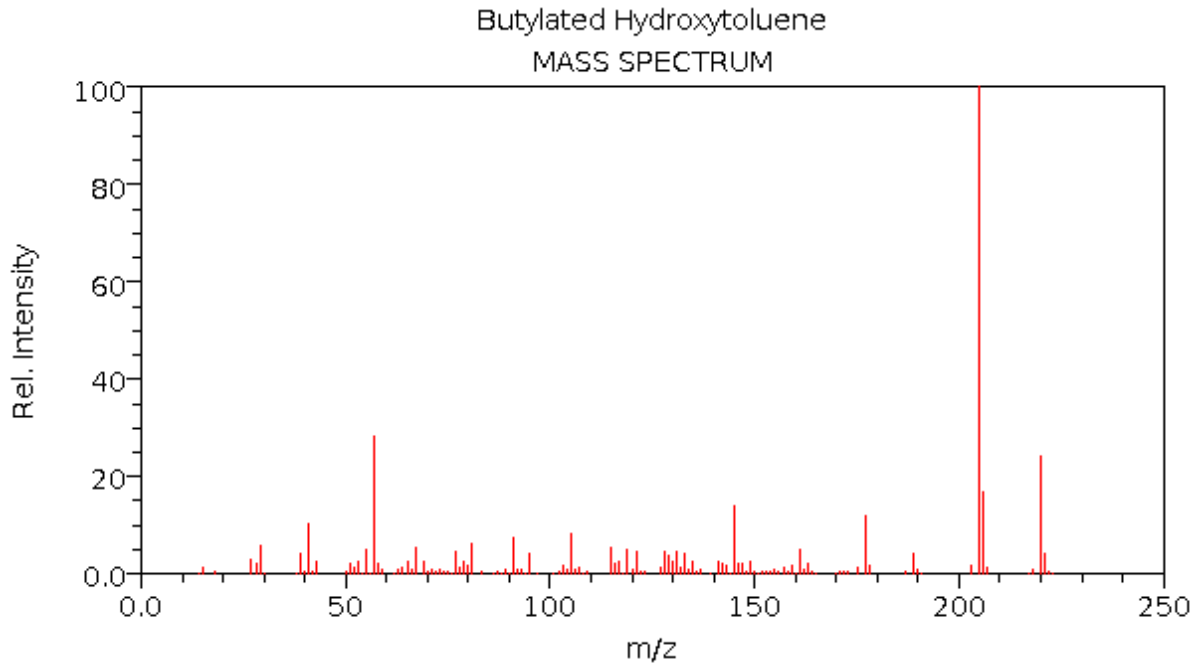
الطيف الكتلي لبعض المركبات المفصولة بطريقةCG-MS:

-1



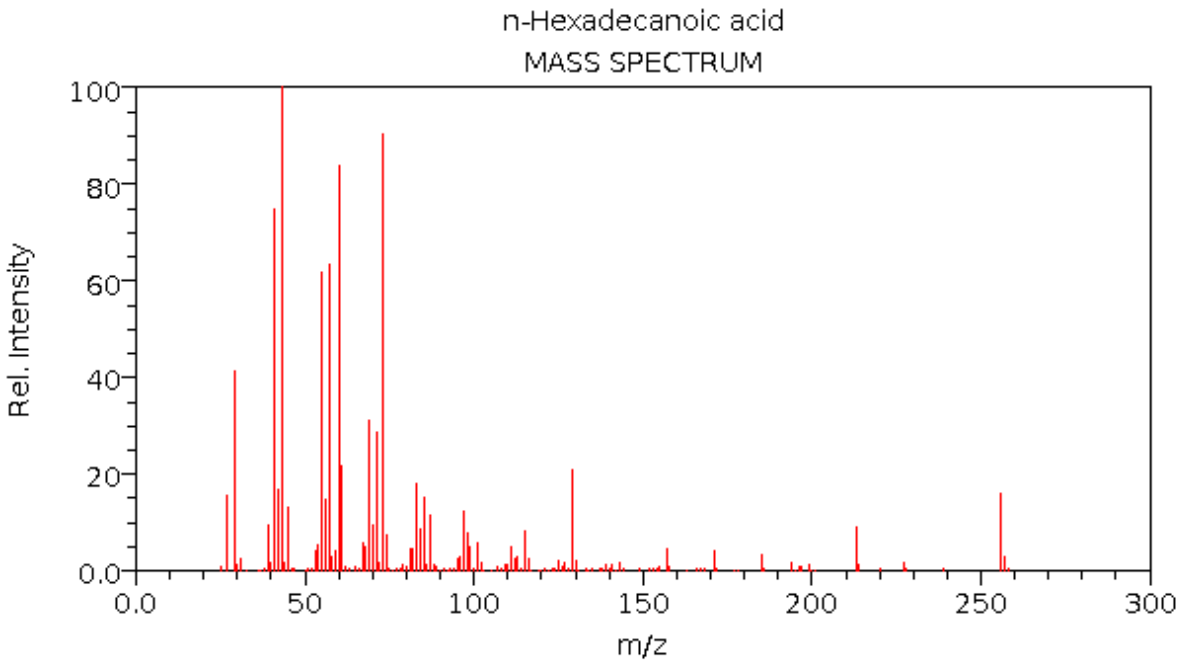
الطيف الكتلي للمركب الكيميائي (9,12-octadecadienoicacid(z,z) ,methylester)

-2



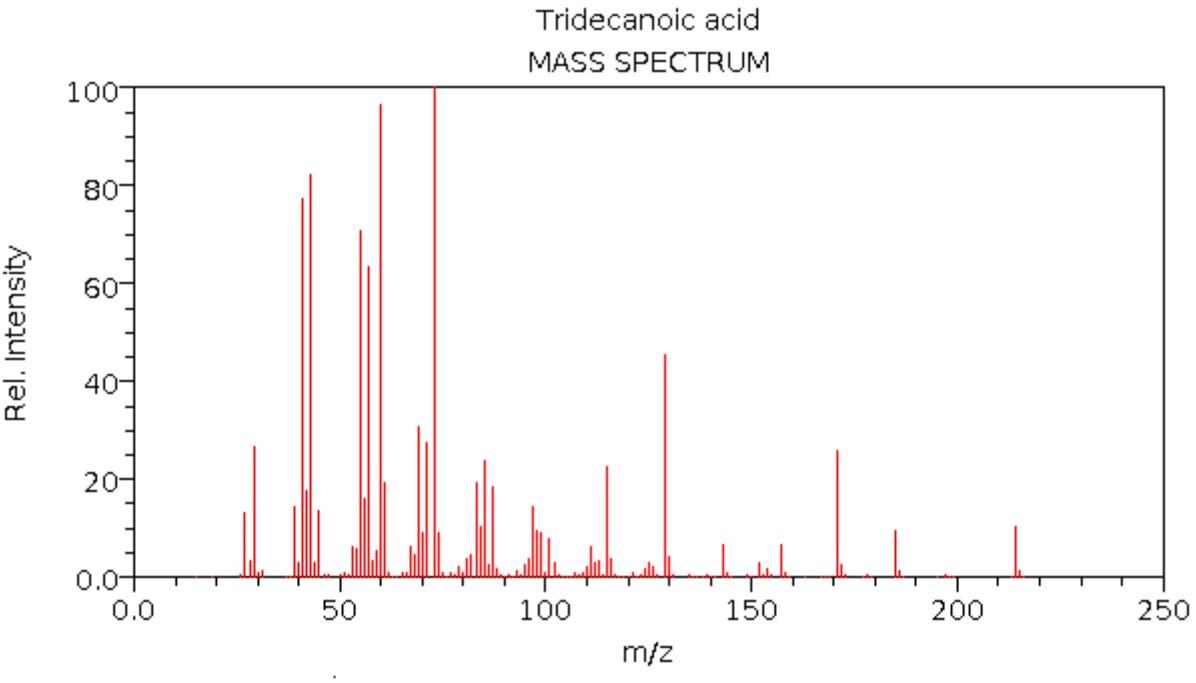
الطيف الكتلي للمركب الكيميائي (Butylated Hydroxytoluene)

-3



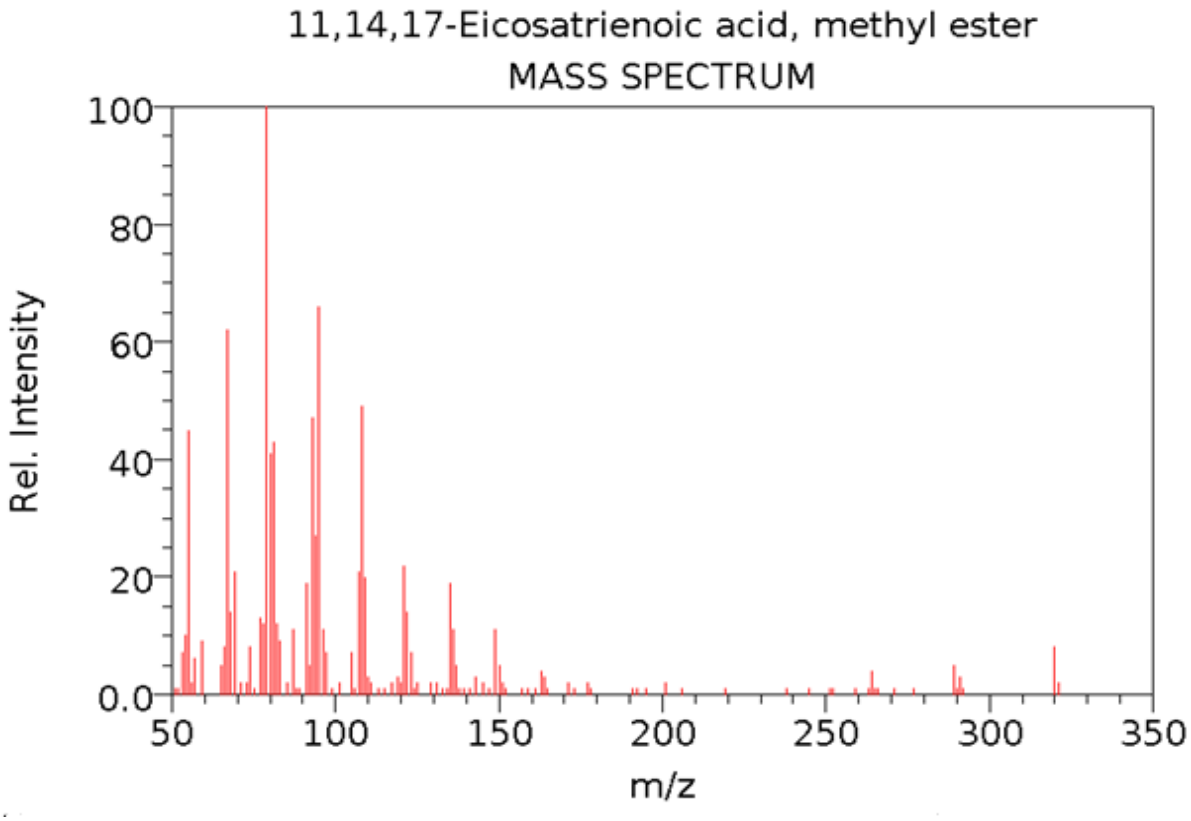
الطيف الكتلي للمركب الكيميائي (N-Hexadecanoic acid)

-4



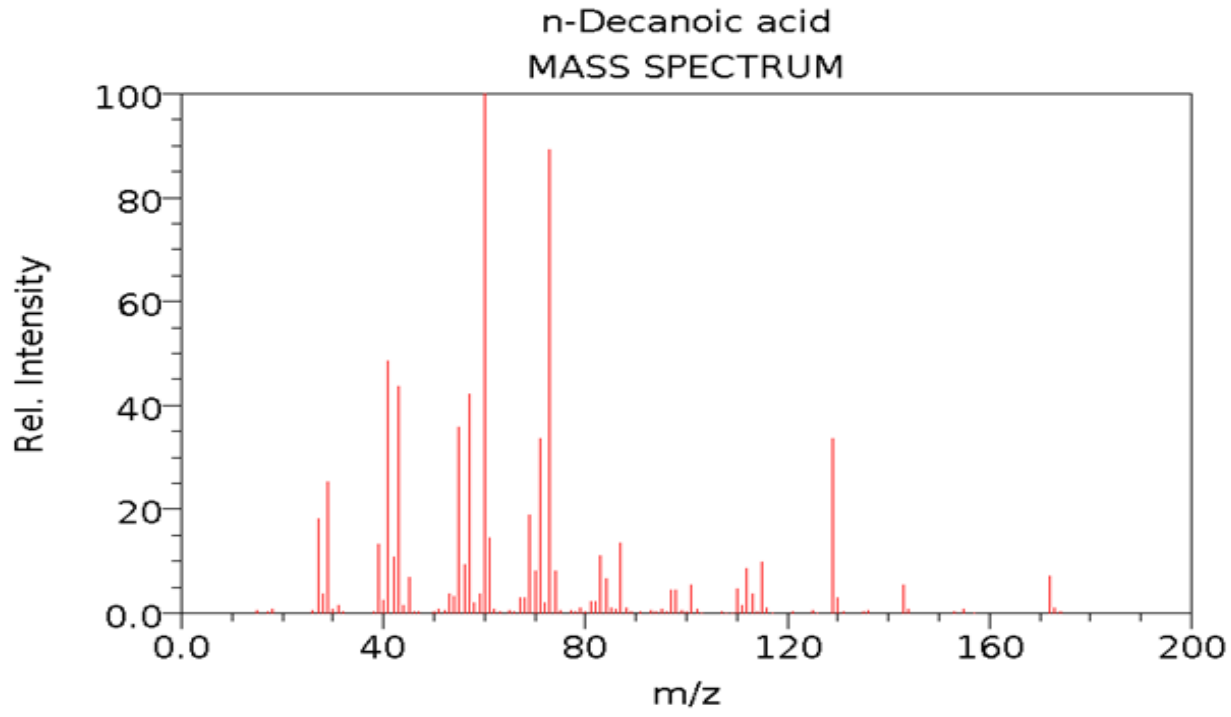
الطيف الكتلي للمركب الكيميائي ((tridecanoicacid (cas)

-5



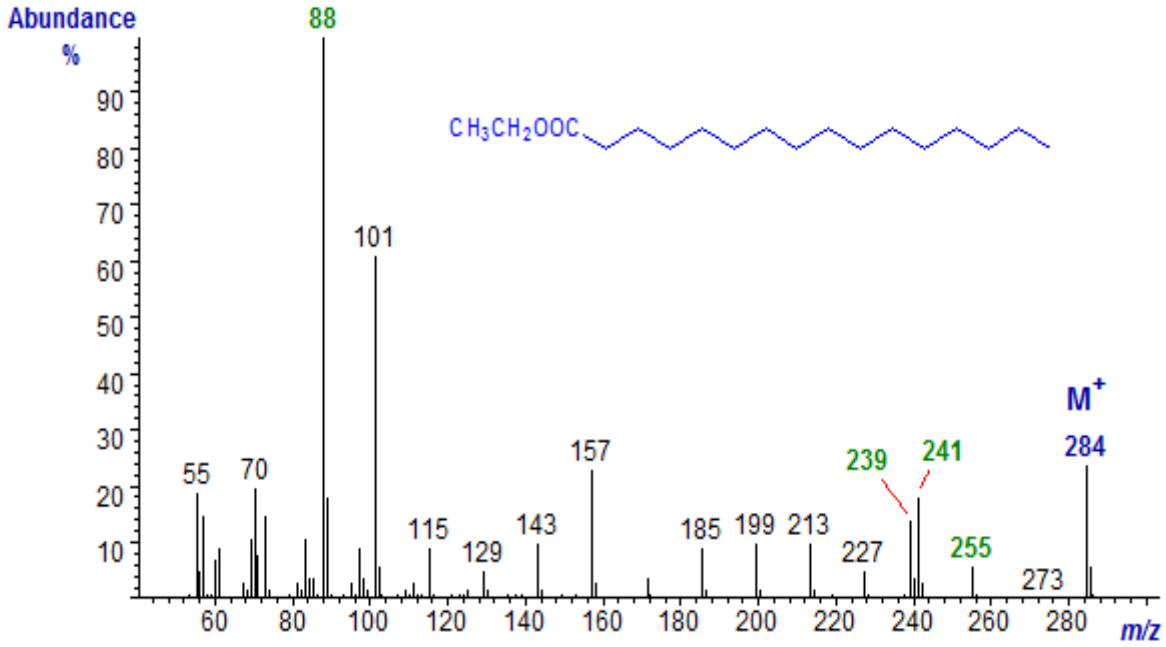
الطيف الكتلي للمركب الكيميائي **(11, 14,17 –Eicosatrienoic acid,methyl ester**

-6



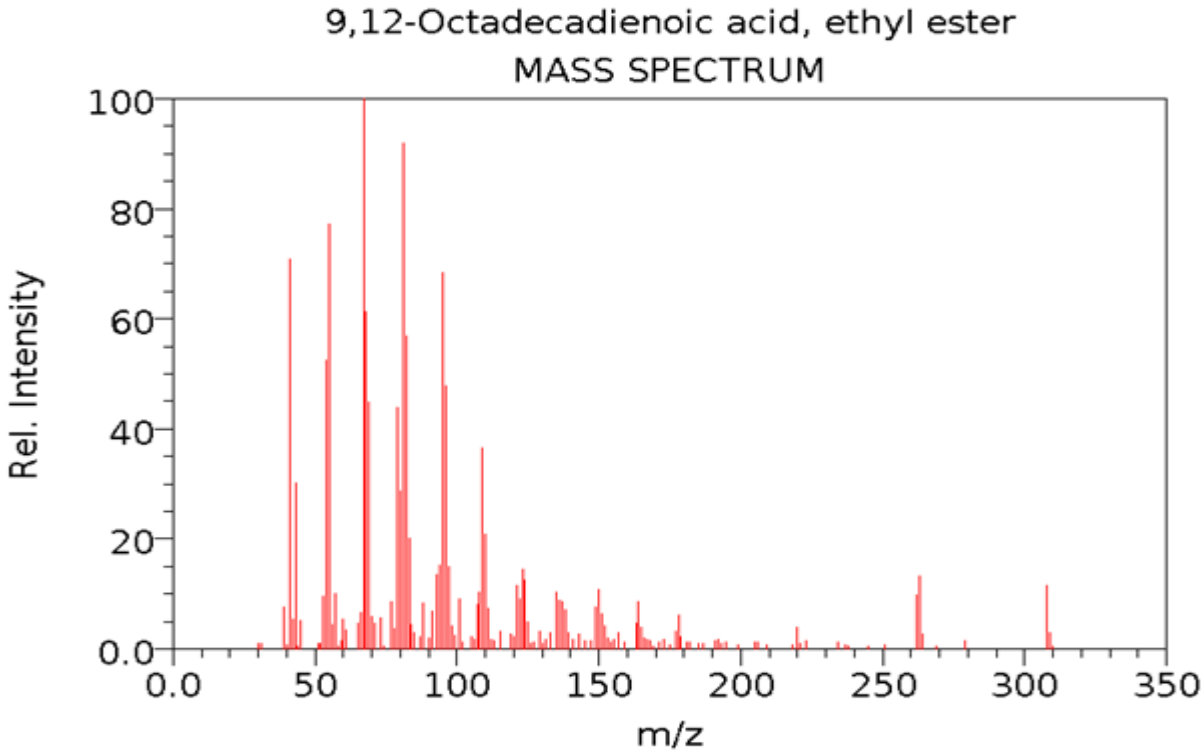
الطيف الكتلي للمركب (N-Decanoic acid

-7



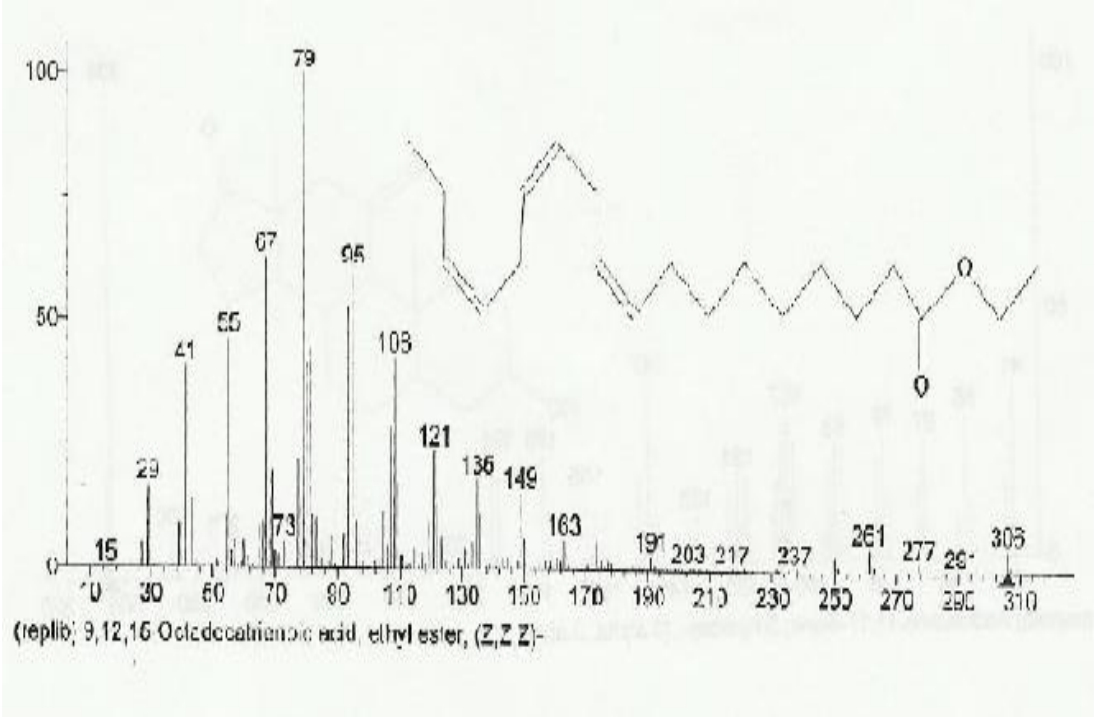
الطيف الكتلي للمركب الكيميائي (ethyl palmitate)

-8



الطيف الكتلي للمركب الكيميائي (9,12-Octadecadienoicacid, ethyl ester)

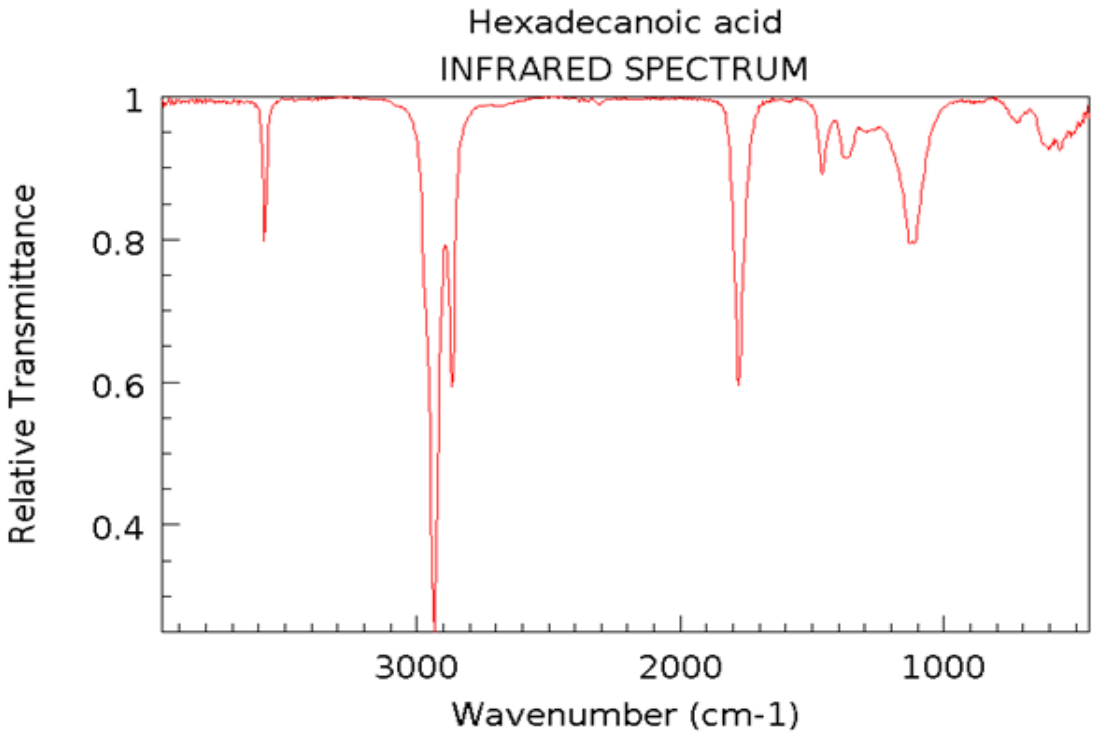
-9



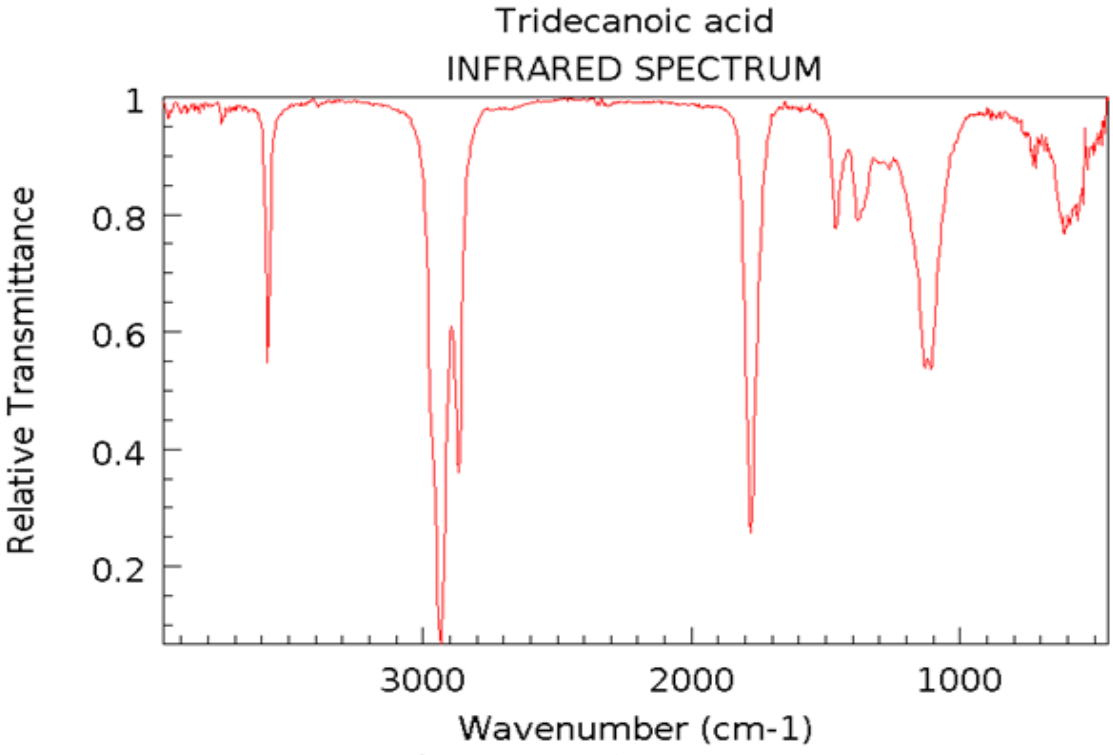
الطيف الكتلي للمركب الكيميائي (9,12,15-Octadecatrienoic acid,ethyl ester(z,z,z)

طيف الآشعة تحت الحمراء لبعض المركبات :

1 -



-2



Ethnopharmacology, Antibacterial and Antioxidant Activities, Phytochemical Screening of Bioactive Extracts From the Aerial Parts of Fagonia *Longispina*

N. Hamidi [1], H. A. Lazouni[2], A. Moussaoui[3], L. Ziane[4], M. Djellouli[5], A. Belabbesse[6]

[1, 4-6] Chemistry Laboratory, University of Bechar,
[2] Natural Product Laboratory, University Abou Bakr Belkaid, Imma Tlemcen,
[3] Laboratory of Valorization of Vegetal Resource and Food Security in Semi-Arid Areas, South West of Algeria, University of Bechar. ALGERIA.

[1] hamidi_64@yahoo.fr

ABSTRACT

Fagonia Longispina (Zygophyllaceae) is a plant traditionally used in folk medicine, mainly as a popular remedy for the treatment of various skin lesions. Additionally, the aerial plant is claimed to be a remedy for cancer in its early stages [1, 2] and for the treatment of various other digestive diseases in the southeast of Algeria (saoura region of Bechar) Northern Africa. [3-4]. Aerial parts of this plant were screened for the principal classes of secondary metabolites, such as anthraquinones, terpenes, saponins, alkaloids, coumarins, flavonoids and tannins.

The tested extracts of aerial part of Fagonia longispina extracts exhibited antimicrobial activity, which may support some uses of the plant in traditional medicine. In this study, we demonstrate that the antioxidant activity of the aerial parts of fagonia longispina have the most efficient free radical scavenger by the lowest IC_{50} value.

Keywords: Fagonia longispina, bioactive extract, antioxidant activity, phytochemical screening

INTRODUCTION

South Algeria with its rich floral resources and ethnobotanical history is an ideal place to screen plants for biological activity and as a source of new pharmacological compounds. *Fagonia longispina* (family *Zygophyllaceae*) is a small spiny shrub widely distributed in the south west of Algeria and south east of morocco[1-5]. Plants belonging to the genus Fagonia are often used in folk medicine, mainly as a popular remedy for the treatment of various skin lesions. Additionally, the aerial plant is claimed to be a remedy for cancer in its early stages and for the treatment of various other diseases of digestive and blood vascular system. The medicinal properties of the plant were attributed due to its variety of active phytochemical constituents. Although the plant have received a great interest for the phytochemical investigation since many years. The entire plants of various *Fagonia* species were investigated mainly for the presence of major types of phytochemical compounds. Chemical constituents in the extracts of *fagonia Longispina.* foliage were identified by gas chromatography-mass spectrometry and their relative concentrations are determined[1].

PLANT MATERIALS AND EXTRACTION

Aerial parts of Fagonia longispina were collected in March 2010 from boukais (region of Bechar) Algeria and identified by the National Agency of Nature Protection (ANN), Bechar, Algeria.

Copyright © 2014

Leena and Luna International, Oyama, Japan.
(株) リナアンドルナインターナショナル, 小山市、日本.
ISSN: 2186-8476, ISSN: 2186-8468 Print
www.ajsc. leena-luna.co.jp

The aerial parts of Fagonia lonjispina were individually ground to a fine powder. Extraction using soxhlet apparatus; reflux for 6 hours was performed. The residue was evaporated in vacuo apparatus, and a phytochemical screening for the detection of the main phytoconstituents was carried out [6, 7].

BOTANICAL DESCRIPTION

Fagonia longispina is a tree which belongs to Zygophyllaceae family; it reaches between 10 to 20 cm in height. It is a Low plant whose branches lying on the ground radiate starting from the center. All the plant furnished with sparse hairs which bind sand. Plant provided long stipulate fine, the leaves with three leaflets are not very thick, the median leaflet being broader than the two side ones. The petiole is rather long, especially on the first leaves. Purplished flowers of sharp color. fagonia longispina is common plant known under the vernacular name "Atlihia" and used as a common herbal drug in the south-western Algeria[4].

Figure 1. General morphology of fagonia longispina

STUDY AREA

The district of Bechar (Saoura region of Bechar) is an area of 162400 km^2, it's situated between the high trays and the big Sahara, in the South East of Algeria Northern Africa. It's 1100 km far from the capital Algiers.

Climate is of Sahara continental, its whole dry, cold season starts from December to February and lasts May, June, July and August constitute a hot season it can reach the 45 ºC [8, 9].

POPULATION

The majority of the population consists of four important origins: dewimenâ, ouled djerir, cheraga and ksouri. A total population is 178721(March 2012). The language of the inhabitants is Arabic. The people's main source of living in this region is farming [1, 8, 9].

Copyright © 2014

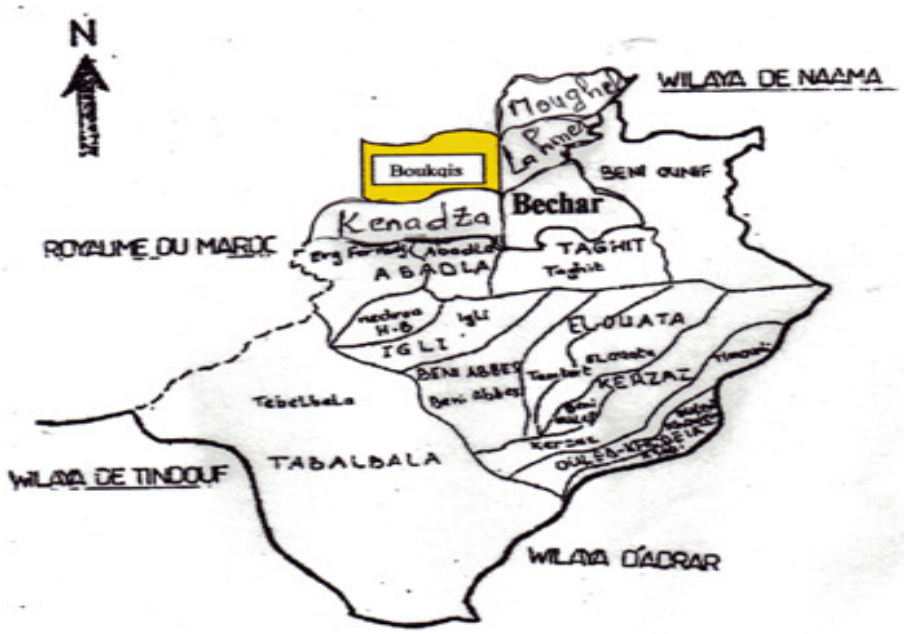


Figure 2. The location of Bechar district, Algeria

ETHNOPHARMACOLOGY SCREENING AND METHODOLOGY

The Fagonia longispina is a bare desert plant .The nomads have used it as a food for their livestock especially when it is green[1, 8, 9]. The fagonia has popularity in folk medicine for the treatment of internal and external disease. In the framework of research on medicinal plants in the South of Algeria and through the results obtained, we achieved an ethnopharmacological survey which showed that this plant is not known by its scientific names but by its vernacular ones, which are "chouika" or "Atlihia". From the study and the investigations conducted for three months in Bechar region, which included many people especially the older ones, as well as people working in the field of forestry and sellers of medicinal herbs. Through this research, we noticed that this plant is used as anti-inflammatory especially for the treatment of arthritis and urinary tract inflammation (as diuretic).

The plant is also used by nomads as an insect repellent and its extract as anthelmintic. We noted also that the plant is largely used for cancer prevention, especially in its early stages of the disease, added to other plants.

These observations were proved by another scientific research in which we confirmed the existence of bioactive chemicals with antimicrobial, antioxidant, anticancer activities in this species[1, 21].

RESULTS AND DISCUSSION

The fagonia is used as a preventive syrup for cancer (90%) and for the treatment of inflammation of the urinary tract(40%)and it is useful in the treatment of the diseases of the cold, including rheumatoid and arthritis (45%) and as insect repellents (35%) and its extract is used as an anthelmintic (35%) . The plant is used to get rid of the effects of sensitivity (30%) The ways of preparing medicines may differ from one disease to another. We can also have multiple popular recipes for the same disease, especially the quantity needed by treatment. Often in traditional medicine the water is used as solvent .

Copyright © 2014

Leena and Luna International, Oyama, Japan.
(株) リナアンドルナインターナショナル, 小山市、日本.
ISSN: 2186-8476, ISSN: 2186-8468 Print
www.ajsc. leena-luna.co.jp

The patient may take two glasses a day, morning and night. Statistical information on the plant medicinal value authenticity used by the patients and elderly People are shown in the following histogram (figure 3).

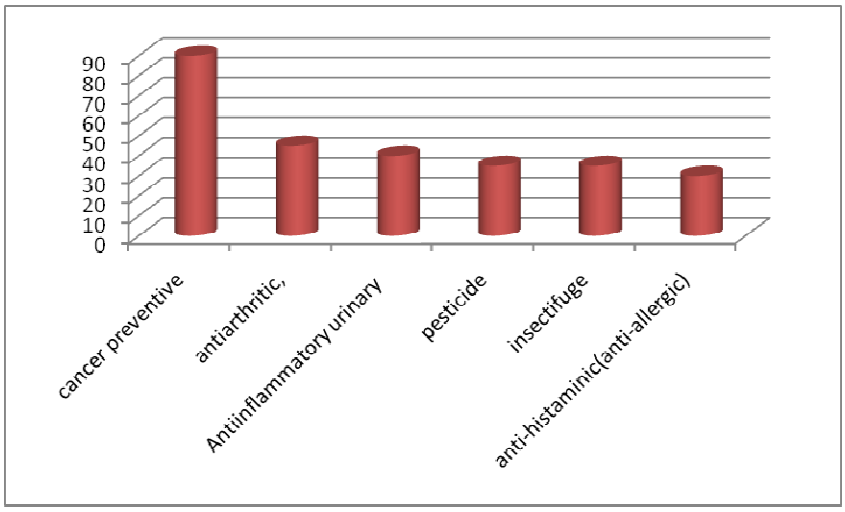


Figure 3. Statistical information of plant ethnopharmacology uses

BIOLOGICAL SCREENING

Plant Materials and Extraction

The aerial parts were separated and oven dried (overnight), the plants were grounded into powder from using the grinder. Extraction using soxhlet apparatus, reflux with H2O, MeOH, Acetone, chloform, Petroleum ether and distillation for 6 h were performed and gave12 % extraction yield[10,11] .

Microorganisms and Medium

The microorganisms used in this present study were: bacteria (Enterococcus faecalis, Bacillus spizigenil, Salmonella heindelberg, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli).

Antimicrobial Sensitivity Tests

Sterile 6.0 mm diameter blank disc were used to impregnate of two dilutions of the extracts (Heptane, MeOH, Acetone, Chloroform, Petroleum ether and Dichloromethane). Discs were stored at –5°C prior to use. Tests were performed by the disc diffusion method. Extract impregnated discs were placed on agar and incubated either at 37°C for 24 - 48 h for bacteria or 25°C for 24 h. the antibacterial effect is then measured by the clear zones of inhibition.[12-14]

RESULTS AND DISCUSSION

With the only exception of the heptan extract, the tested extracts of aerial part of Fagonia longispina extracts exhibited antimicrobial activity, which may support some uses of the plant in traditional medicine. The results for the antimicrobial activity test of the extracts (heptan, MeOH, Acetone, Chloform, Petroleum ether and Dichloromethan) of Fagonia longispina are shown in table 1.

Table1. Antibacterial Activity of the aerial parts of Fagonia Longispina

Microorganism	*Heptan*	*Petroleum ether*	*CH_2Cl_2*	*$CHCl_3$*	*Acetone*	*MeOH*
Enterococcus faecalis ATCC 29212	n.d	7.5	7	11	11	9
Bacillus spizigenil ATCC6633	n.d	8	7.5	10	23	n.d
Salmonella heindelberg	n.d	7.5	8	13.5	11	8
Staphylococcus aureus ATCC6538	n.d	8	8	9	12	16
Klebsiella neumoniae	n.d	8.5	8.5	20	9	8
Escherichia coli ATCC25922	n.d	10	9	20	12	7.5

Phytochemical Screening

Chemical compounds that occur naturally in plants, are responsible for color and organoleptic properties. The term is generally used to refer to those chemicals that may have biological significance but are not established as essential nutrients. Scientists estimate that there may be as many different phytochemicals having the potential to affect diseases such as cancer, stroke or metabolic syndrome. Phytochemical tests are performed on different extracts prepared from the aerial parts of fagonia longispina using solvents of different polarities [8, 15-20].

Test of Flavonoids

Treat 5 ml of alcoholic extract with a few drops of concentrated HCl and 0.5 g of magnesium turnings.

Test of Tannins

In a test tube, 1ml of ethanolic solution was added to 2 ml of water and 2-3 drops of diluted solution of FeCl3and observed for a green, a blue black or a blue - green coloration, which shows the presence of tannins.

Test for Steroids

After evaporation of 10ml of the ethanolic solution, the residue was taken in 10ml of $CHCl_3$, filtrates and added to 5ml of acetic anhydride and some drops of H_2SO_4.

The mixture was agitated. The color changed from violet to green indicating the presence of steroids.

Test for Terpenoids

Amixture of 0.5ml of acetic anhydride and 0.5ml of $CHCl_3$ was added to the residue obtained after evaporation of ethanolic solution (10 ml). The filtrate was treated with Liebermann's reagent Burchardt. If a solution is violet- green appears, it indicates the presence of terpenoids.

Test of Coumarins

15ml of HCl (10%) was added to 25ml of ethanolic solution, and heated under reflux for 30 min and strain the mixture. The residue was extracted with 15 ml of etherin triplicate. Divide the filtrate into three equal parts, evaporate the first in a rotary evaporator, dissolve the residue in 1ml of water and divide the volume into two parts, treat the first with 0.5ml

Copyright © 2014

Leena and Luna International, Oyama, Japan.
(株) リナアンドルナインターナショナル, 小山市、日本.
ISSN: 2186-8476, ISSN: 2186-8468 Print
www.ajsc. leena-luna.co.jp

NH4OH (10%), examined under ultra-violet light, fluorescence intensity indicates the presence of coumarins. The second one was used as control.

Test of Anthracenosides

8 ml of the ethereal solution was treated by extractive reagent Bornträger. A positive test is revealed by the appearance of a color ranging from bright orange - red to purple.

Test of Anthocyanosides

The acidic aqueous solution was treated with NaOH. The presence of anthocyanins was confirmed by a red color at pH under 3 and blue color at a pH between 4 and 6.

Test of Alkaloids

The resulting residue obtained was dissolved after evaporation of 10 ml of the ethereal solution in 1.5 ml of HCl 2 % and add 1-2 drops of Mayer or Wagner reagent. The appearance of yellowish white precipitate indicates the presence of alkaloid.

Test of Saponins

2 ml of the aqueous solution was added to a little of water and then stir in a strong way. Persistent foam confirmed the presence of saponins.

Abandon the mixture for 20 minutes and classify content saponins:

1- No foam = Negative test.2- Foam less than 1 cm = weakly positive test.3- Moss 1-2 cm = positive test.4- Foam over 2 cm = very positive test.

Table 2. Results of phytochemical screening of aerial part of Fagonia Longispina

Natural Products	*Aerial part of Fagonia Longispina*
Alcaloïds	+
Saponins	+
Terpenoids	+
Tanins	+
Flavonoïds	+
Coumarins	+
Anthocyanosides	-
Steroids	+
Anthracenosides	-

'+' = Present; '-' = Absent

Qualitative phytochemical screening of plant aerial parts revealed the presence of steriods, coumarins, flavonoids, Saponins and Tanins. However, anthocyanosides and anthracenosides were absent.

Preliminary Phytochemical Screening of Various Extracts of the Aerial Part of Fagonia Longispina

Phytochemical screening was carried out by using procedure by Kokate. All the extracts were concentrated by distilling the solvent and the extracts were dried under reduced pressure. The extracts obtained from successive solvent extraction were then subjected to

various qualitative chemical tests to determine the presence of various phytoconstituents like Alkaloids, Saponins, Steroids, Coumarins, Flavonoids, Terpenoids and Tanins (Table 3).

Table 3. Results of phytochemical screening of various extracts of the aerial part of Fagonia longispina

Natural Products	*Extracts From Aerial Part of Fagonia Longispina*						
	AQ	*Petroleum ether*	*CH2CL2*	*CHCL3*	*Acetone*	*heptan*	*MeOH*
Alcaloids	+	+	+	+	+	-	+
Saponins	+	-	-	+	+	-	+
Seteroids	+	+	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+	-	+
terpenoids	-	+	+	+	+	+	+
Cardenolids	-	-	-	+	+	-	+
Flavonoids	+	+	+	+	+	+	+

+ : existence; - : not detected

Antioxidant Activity

Preparation of the Extract

The dried powder (100g) of the aerial parts of *Fagonia lonjispina* was extracted exhaustively for 6 hours with 60% EtOH that became (6.5g) after being evaporated[1].

DPPH Radical Scavenging Test

The free radical scavenging activity of the ethanolic extract of *fagonia longispina* was determined by using 2, 2 Diphenyl-1-picryl hydrazyl radical (DPPH) using UV-Spectrometry at 517nm.

The DPPH solution was prepared in 95% methanol. The stock solution of the extract was also prepared in 95% methanol (2mg/2ml), which can be prepared by dissolving 2 mg of plant residue in 2 ml of methanol. Preparation of the crude extract concentrations: From the stock solution, different concentrations of the extract were prepared (0.5, 0.27, 0.125, 0.0625, 0.0312, and 0.0150). 2ml of DPPH was added to each dilution. The reading of absorbance was done after 30 min at 517nm using methanol as white. To prepare the positive control; 4 mg of ascorbic acid is dissolved in 4 ml of methanol. From the stock solution, different concentrations of the extract were prepared (0.5, 0.27, 0.135, 0.0625, 0.0312, and 0.0150). Ascorbic acid was used as standard, 95% methanol was used as blank. All the tests were performed in triplicate to avoid test error. % scavenging of the DPPH free radical was measured using following equation[22-26].

% of DPPH radical scavenging =(Absorbance of control – Absorbance of test Sample) x 100(Absorbance of control)

After the measurement and calculation of %DPPH the results are recorded in the following charts (figure 3, figure 4).

Copyright © 2014

Leena and Luna International, Oyama, Japan.
(株) リナアンドルナインターナショナル, 小山市、日本.
ISSN: 2186-8476, ISSN: 2186-8468 Print
www.ajsc. leena-luna.co.jp

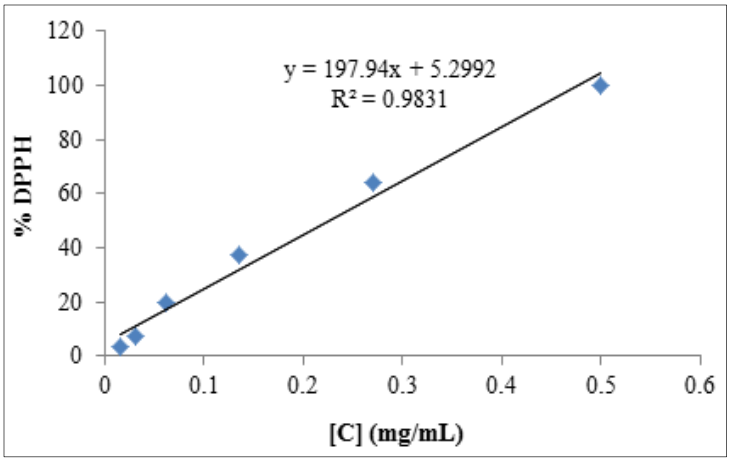


Figure 4. DPPH radicals scavenging activity of Ethanolic extracts of the aerial parts of Fagonia longispina

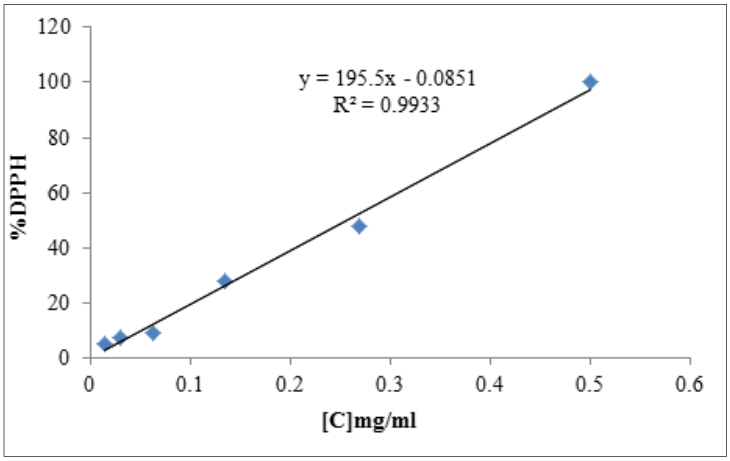


Figure 5. DPPH radicals scavenging activity of Ascorbic acid extracts of the aerial parsts of *Fagonia longispina*

The IC50 values determined in mg / ml expressing effective concentration of the antioxidant extract necessary for trapping and the 50 mole% of DPPH dissolved in methanol (Table 4).

Table 4. Antioxidant test result of expressing the 50% effective concentration in mg / ml

EEEextract /Standart	*% of DPPH radical scavenging (IC50)*
Ethanolic	0.22±0.0075
Ascorbic acid	024±0.0085

RESULT AND DISCUSSION

The DPPH test showed the ability of the test compound to act as a free radical scavenger. DPPH assay method is based on the ability of 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), a stable free radical, to decolorize in the presence of antioxidants. DPPH, a protonated radical, has characteristic absorbance maximal at 517 nm, which decreases with the scavenging of the proton radical. This property has been widely used to evaluate the free radical scavenging

effect of natural antioxidants. When DPPH radical is scavenged, the color of the reaction mixture changes from purple to yellow with decreasing of absorbance at wavelength 517nm. In this analysis, the scavenging activity of ethanolic extract was similar to that of Ascorbic acid. The DPPH radical scavenging activity of ascorbic acid and Ethanolic extract, increased in a dose-dependent manner. At a concentration of ethanolic extract from the aerial parts of fagonia *longispina* and standard Ascorbic acid showed 0.22mg/ml and 0.24 mg/ml antioxidant activity respectively by DPPH radicals scavenging assay.

In this study, we demonstrate that the antioxidant activity of the aerial parts of *fagonia longispina* have the most efficient free radical scavenger by the lowest Ic50 value.

The DPPH scavenging capacity of the ethanolic extract (IC50= 0.22±0.0075 mg/ml) is compared with the known antioxidant substances such as ascorbic acid (IC50= 0.24±0.0.0081 mg/ml) that has been shown to possess DPPH radical scavenging convergent activity.

The observation of the convergent activity was proved by our former scientific research[1] through which we confirmed the existence of bioactive chemicals: Ethyl Palmitate, Phenol2,6-bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl, n-Hexadecaonoic acid and 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z). In another research[21] it was discovered that these compounds had antimicrobial, antioxidant, anticancer activities. Consequently, our present study concludes that ethanolic extract of the aerial parts of *fagonia longispina* is good source for natural antioxidants.

CONCLUSION

Fagonia longipina is a plant traditionally used as a preventive for cancer and for the treatment of inflammation, prepared by decoction in water. .Qualitative phytochemical screening of plant aerial parts revealed the presence of steriods, terpenoids, coumarins, flavonoids, Saponins and Tanins. The plant under investigation can be a potential source of useful drugs. In addition the antimicrobial antioxidant activities study of the aerial part of the plant showed that it has a biological efficiency for different extracts.

Copyright © 2014

Leena and Luna International, Oyama, Japan.
(株) リナアンドルナインターナショナル, 小山市、日本.
ISSN: 2186-8476, ISSN: 2186-8468 Print
www.ajsc. leena-luna.co.jp

REFERENCES

[1] Hamidi et al. (2012). MS analysis of ethanol extract from the aerial parts of Fagonia Longispina (family Zygophyllaceae). *Asian Journal of Natural & Applied Sciences, 1*(2), 136-142.

[2] Chopra et al. (1956). *Glossary of Indian Medicinal Plants.* New Delhi: CSIR

[3] Quezel, P., & Sant, S. (1962). New flora of Algeria and southern desert regions tome. 2nd Edition @ Volumes, Paris: National Centre for Scientific Research.

[4] Ozenda, P. (1983). *Flore du Shara* (2nd ed.). Paris: CNRS.

[5] Chopra, R. N., Nayar, S. L., Chopra, I. C. (1956). *Glossary of Indian Medicinal Plants*. New Delhi: CSIR.

[6] Maire, R. (1960). Flora of North Africa: Morocco, Algeria, Tunisia, Tripolitaine, *Cyrenaique and Sahara. The Knight, Paris, 6*, p. 394

[7] Killian, C. (). *Anabasis aretioides Coss,et Moq, endémique du Sud Oranai.* Travail du laboratoite de biologie saharienne de la Faculté des Sciences d'Alger à Beni Ounif n°11. p 423-436.

[8] Praveen et al. (2010). Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of Vitex negundo. *African journal of Biochemistry, 4*(7), 191-195.

[9] Ziane et al. (2013). Ethnopharmacology and phytochemical screening of bioactive extracts of limoniastrum feei (plombagenaceae). *Asian Journal of Natural & Applied Sciences, 2*(1), 5-9.

[10] Djellouli et al. (2013). Ethnopharmacological and phytoPhytochemical screening of three plants (Asteraceae family) from the region of south west Algeria. *Asian Journal of Natural & Applied Sciences, 2*(2), 59-65.

[11] Cruickshank, R. (1968). *Medical microbiology: a guide to diagnostic and control of infection* (11th ed.). Edinburgh and London: E. & S. Livingston Ltd.

[12] Bauer AW, Kirby WMM, Sherries JC, Truck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol., 45*(4), 493-496.

[13] Ashraf, M., Rachid, S., Bibi, S., and Anjum, R. (2000). *Pakistan Journal of Biological Sciences.*

[14] Rahman et al. (1999). *Mannual of Bioassay Tecniues for Natural Product Research.* Amsterdam: Harward Academic Press.

[15] Reichelt, J. L., & Borowitzka, M. A. (1984). Antimicrobial activity from marine algae: Result of a large screening programme. *Hydrobiol., 1*(116/117), 158-168.

[16] Ziane et al. (2012). Phytochemical screening of bioactive extracts of limoniastrum feei, International Congress on Aromatic and Medicinal Plants CIPAMSidi Bel-Abbes, Algeria.

[17] Harborne, J. B. (1984). *Phytochemical methods* (2nd ed.). London; New York: Chapman and Hall.

[18] Belmekki, N., Bendimerad, N., Seladji, M. (2012). Phytochemical constituents of some Algerian medicinal plants. *J. Nat. Prod. Plant Resour., 2*(5), 558-562.

Copyright © 2014

[19] Cavé, 1. A. (1993*). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.* 2ème Ed. Tec. et Doc. Ed. Lavoisier, Paris.

[20] Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.*3èmeEd. Tec. & Doc. Eds. Lavoisier. Paris.

[21] Peter, Y. M., Georgi, Y. P. (1983). Furanoid diterpenes from Teucrium polium. *Phytochemistry, 22*(12), 2791-2793.

[22] Praveen Kumar1 et al., (2010). Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of Vitex negundo. *African Journal of Biochemistry Research, 4*(7), 191-195.

[23] Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging. June; 2*(2), 219–236.

[24] Anitha et al. (2011). Evaluation of the Antimycotic Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Aesculus hippocastanum–An In Vitro Study. *Int. J. Drug Dev. & Res. July-Sep2011, 3*(3), 335-338.

[25] Bielanski, T. E., Piotrowski, Z. H. (1999). Horse-chestnut seed extract for chronic venous insufficiency. *J.Fam. Pract., 48,* 171-172.

[26] Sharma. U. S., and Kumar, A. (2011). In vitroantioxidant activity of Rubus ellipticus fruits. *J Adv Pharm Technol Res., 2*(1), 47–50.

[27] Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol., 26*(2), 211-219.

Copyright © 2014

Leena and Luna International, Oyama, Japan.
(株) リナアンドルナインターナショナル, 小山市、日本.
ISSN: 2186-8476, ISSN: 2186-8468 Print
www.ajsc. leena-luna.co.jp

ISSN: 2186-8476, ISSN: 2186-8468 Print
Vol. 1. No. 2. June 2012

GC-MS ANALYSIS OF ETHANOL EXTRACT FROM THE AERIAL PARTS OF FAGONIA LONGISPINA (FAMILY ZYGOPHYLLACEAE)

N.Hamidi [1], H.A. Lazouni [2], A.Moussaoui[3], Ziane Laid [1] and S.Amal[1]

[1]Chemistry Laboratory, University of Bechar,
[2] Natural Product Laboratory, University Abou Bakr Belkaid, , Imma Tlemcen.
[3]Laboratory of valorization of vegetal Resource and Food Security in Semi-Arid Areas,
South West of Algeria, University of Bechar.
ALGERIA
hamidi_64@yahoo.fr

ABSTRACT

Chemical constituents of different extracts of Fagonia Longispina Family (Zygophylaceae) were identified by gas chromatography-mass spectrometry and their relative concentrations were determined. Fagonia Longispina extract contained 13 compounds: : Ethyl Palmitate (26.71%), 9,12Octadecadienoic acid, ethyl ester(16.03 %), 9.12.15 Octadecatrienoic acid,ethyl ester(z,z,z) (57.25%) , Phenol2,6-bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl- (27.21%) , N-hexadecanoic acid(12.24%), Tridecanoicacid (9.25%), 9,12-Octadecadienoicacid(z,z) ,methylester (8.16%), 11,14,17 – Elcosatrienoicacid,methyl ester (34.69%) , Decanoic acid (12.24) , 9-Elcosene,(E) (15.62%) , Cyclotetracosane (03.75%), 1-Heptadecene (23.12%), 1-Nonadecene (06.25%).

Keywords: Ethanol extract, GC-MS, antioxidant, Fagonia longispina.

INTRODUCTION

South Algeria with its rich floral resources and ethnobotanical history is an ideal place to screen plants for biological activity and as a source of new pharmacological compounds .*Fagonia longispina* . (family Zygophyllaceae) is a small spiny shrub widely distributed in the south west of Algeria and South east of Morocco[1,2],. Plants belonging to the genus Fagonia are often used in folk medicine, mainly as a popular remedy for the treatment of various skin lesions. Additionally, the aerial part of the plant is claimed to be a remedy for cancer in its early stages[3, 4] and for the treatment of various other diseases of digestive and blood vascular system. The medicinal properties of the plant were attributed due to its variety of active phytochemical constituents[5, 6]. Although the plant had received a great interest for the phytochemical investigation since many years, various *Fagonia* species were investigated mainly for the presence of major types of phytochemical compounds. Hence the objective of the present study is to identify the Phytochemical constituents of the ethanolic extracts of *Fagonia Longispina* with the aid of GC-MS technique.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material

Aerial parts of *Fagonia longispina* were collected in march 2010 from boukais (South Western Algeria) Algeria, and identified by the National Agency of Nature Protection (ANN), Bechar, Algeria .

Preparation of the Extracts

The dried powder (100g) of the aerial parts of *Fagonia lonjispina* was extracted exhaustively with 60% EtOH. The extract was concentrated, diluted with water and partitioned with hexane, ethyl ether and Chloroform . The residue of the hexane extract(2g) , of the ethyl ether extract(1.4g) and of the $CHCl_3$ extract(1.6g) were performed using a gas chromatograph-mass spectrograph (GC-MS).

Gas Chromatography Mass Spectrometry Analysis

GC-MS analysis was performed with GC Clarus 500 Perkin Elmer equipment. Compounds were separated on Elite-1 capillary column (100% Dimethylpolysiloxane). Oven temperature was programmed as follows: isothermal temperature at 100ºC for 1 min, then increased to 220ºC at the rate of 10ºC/min, then increased up to 260ºC at the rate of 5ºC/min held for 9 min. Ionization of the sample components was performed in the EI mode (70 eV). The carrier gas was helium (1ml/min) and the sample injected was 2 µl. The detector was Mass detector turbo mass gold-Perkin Elmer. The total running time for GC was 28 min and software used was Turbo mass 5.2. The individual constituents were identified by comparing their mass spectra with the spectra of known compounds stored in the spectral database,NBS,WILEYand NIST attached to the GC-MS instrument and reported.

RESULTS AND DISCUSSION

GC-MS analysis of the phytochemicals present in different extracts ((hexane, ethyl ether and *Chloroform*) of *Fagonia lonjispina* clearly showed the presence of thirty three compounds.

The active principles with their retention time (RT), molecular formula, molecular weight (MW), and relative percentages (peak areas %) are presented in tables 1, 2, and3.

The GC-MS chromatograms of hexane, ethyl ether and chloroform extracts are shown in Figure-1, 2 and 3 respectively.

Three compounds were identified in the hexane fraction, representing approximately 99% of the total mass of the extract (table 1). 9.12.15 octadecatrienoic acid, ethyl ester (z,z,z) (57.25%) and ethyl palmitate (26.71%) were found to be the most abundant in the hexane extract.

A total of 13 compounds were found in the ethyl ether extract, and six were identified (table2) representing 77.53% of the total mass. The major chemical constituents in the ethyl ether fraction were the 11, 14, 17 –Eicosatrienoic acid, methyl ester (34.69%) and Phenol2, 6-bis (1, 1-dimethylethyl)-4-methyl (27.21%).

GC-MS chromatogram of the chloroform extract showed seventeen distinct peaks, while the compounds identified are listed in (table3).

Four compounds were identified in the chloroform fraction, representing 48.74% of the total mass of extract and the major compound was 1-heptadecene (23.12%).

It has been reported that secondary metabolites exert a wide range of biological activities on physiological systems. Praveen Kumarm.P et al.(2010)[7] reported the activities of 9.12.15 octadecatrienoic acid, ethyl ester (z,z,z), ethyl palmitate and N-hexadecanoic acid as Anti-inflammatory, hypocholesterolemic cancer preventive, hepatoprotective, Antioxidant and hypocholesterolemic. It is therefore not unlikely that these phytochemicals found in *F. longispina* are responsible of the traditional applications of this medicinal plant.

Leena and Luna International, **Oyama, Japan.**
Copyright © 2012

CONCLUSION

The analysis of the phytochemicals in the hexane, ethyl ether and chloroform extracts of *Fagonia lonjispina* aerial parts revealed 13 compounds namely: Ethyl Palmitate (26.71%), 9,12Octadecadienoic acid, ethyl ester(16.03 %), 9.12.15 Octadecatrienoic acid,ethyl ester(z,z,z) (57.25%) , Phenol2,6-bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl- (27.21%) , N-hexadecanoic acid(12.24%), Tridecanoicacid (9.25%), 9,12-Octadecadienoicacid(z,z) ,methylester (8.16%), 11,14,17 –Elcosatrienoicacid,methyl ester (34.69%) , Decanoic acid (12.24) , 9-Elcosene,(E) (15.62%) , Cyclotetracosane (03.75%), 1-Heptadecene (23.12%), 1-Nonadecene (06.25%) .

These compounds are probably the major players in the antioxidant responses evoked by the plant. Further studies are needed to be conducted to understand the structural features of the compounds predicted from the phytochemical analysis.

Table 1: Components detected in the hexane extract of *Fagonia lonjispina*

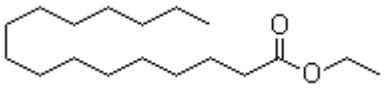
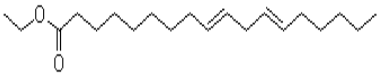
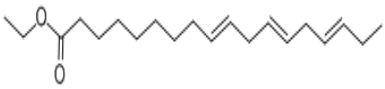
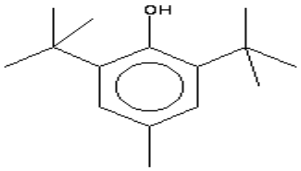
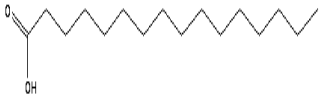
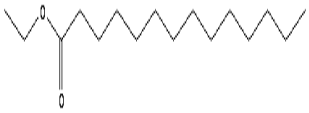
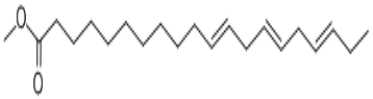
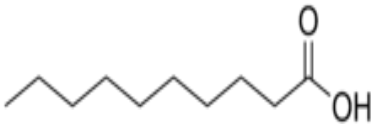
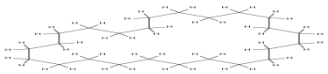
SI .No	RT	Name of Compound	Molecular Formula	Molecular weight	Peak Area %	Structures
1	36.55	Ethyl palmitate	$C_{18}H_{36}O_2$	284	26.71	
2	40.38	9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	C20H36O2	308	16.03	
3	40.57	9.12.15 Octadecatrienoic acid,ethyl ester(z,z,z)	C20H34O2	306	57.25	

Table 2: Components detected in the ethyl ether extract of *Fagonia lonjispina*

Sl .No	RT	Name of Compound	Molecular Formula	Molecular weight	Peak Area %	Structures
4	23.84	Phenol2,6-bis (1,1-dimethylethyl)-4-methyl-(cas) (Butylated Hydroxytoluene)	C15H24O	220	27.21	
5	35.87	N-hexadecanoic acid	C16H32O2	256	12.24	
6	36.53	tridecanoicacid (cas)	C13H26O2	214	09.25	
7	40.37	9,12-octadecadienoicacid (z, z) ,methylester	C19H34O2	294	08.16	
8	40.53	11, 14,17 – Eicosatrienoic acid, methyl ester (cas)	$C_{18}H_{36}O_2$	320	34.69	
9	29.13	decanoic acid (cas)	$C_{10}H_{20}O_2$	172	12.24	

Leena and Luna International, **Oyama, Japan.**
Copyright © 2012

Table 3: Components detected in the chloroform extract of *Fagonia lonjispina*

Sl .No	RT	Name of Compound	Molecular Formula	Molecular weight	Peak Area %	Structures
10	29.14	9-eicosene , (e) -(cas)	$C_{20}H_{40}$	280	15.62	
11	23.84	Cyclotetra Cosane -(cas)	$C_{24}H_{48}$	336	03.75	
12	36.47	1-heptadecene	$C_{17}H_{34}$	238	23.12	
13	37.21	1-nonadecene(cas)	$C_{19}H_{38}$	266	06.25	

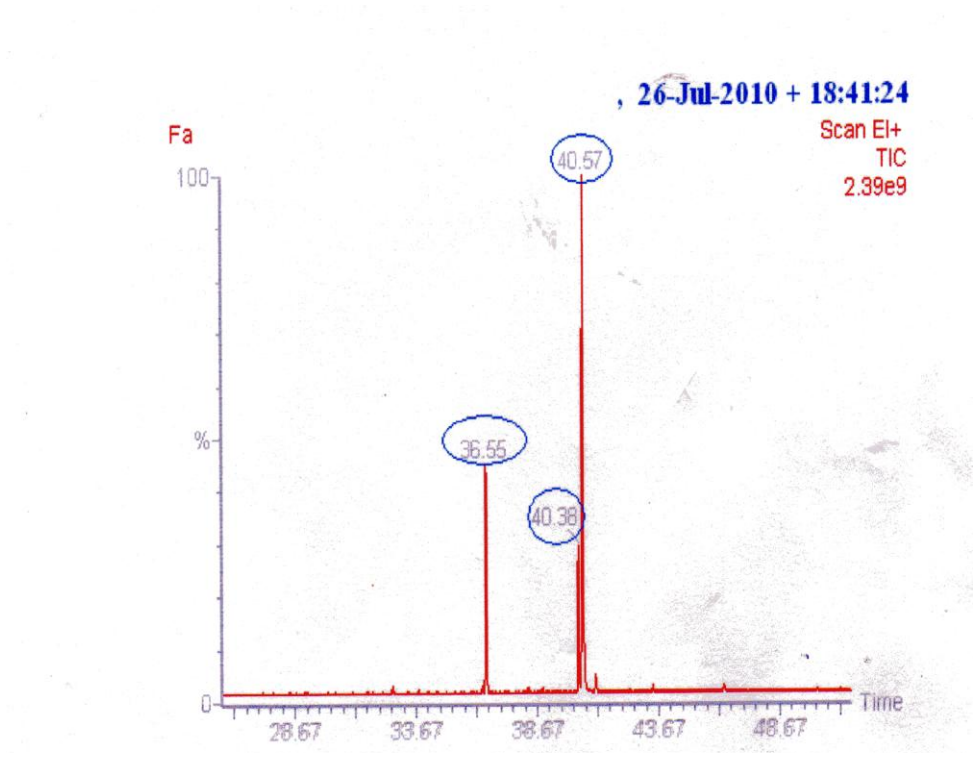


Figure 1: GC-MS Chromatogram of the hexane extract of the aerial parts of *Fagonia lonjispina*

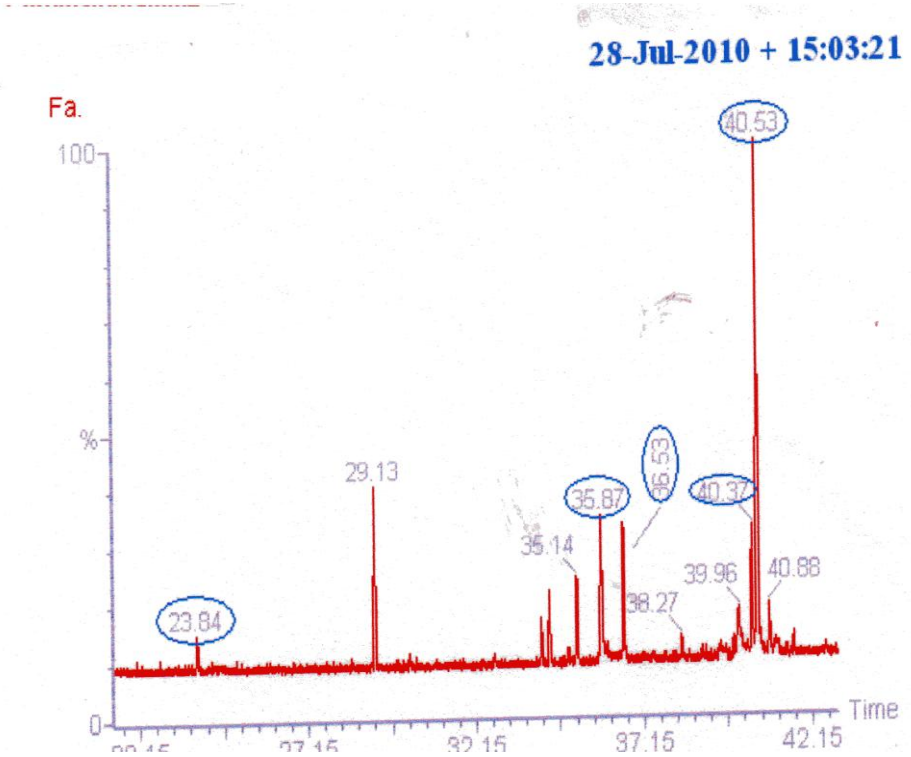


Figure 2: GC-MS Chromatogram of the ethyl ether extract of the aerial parts of *Fagonia lonjispina*

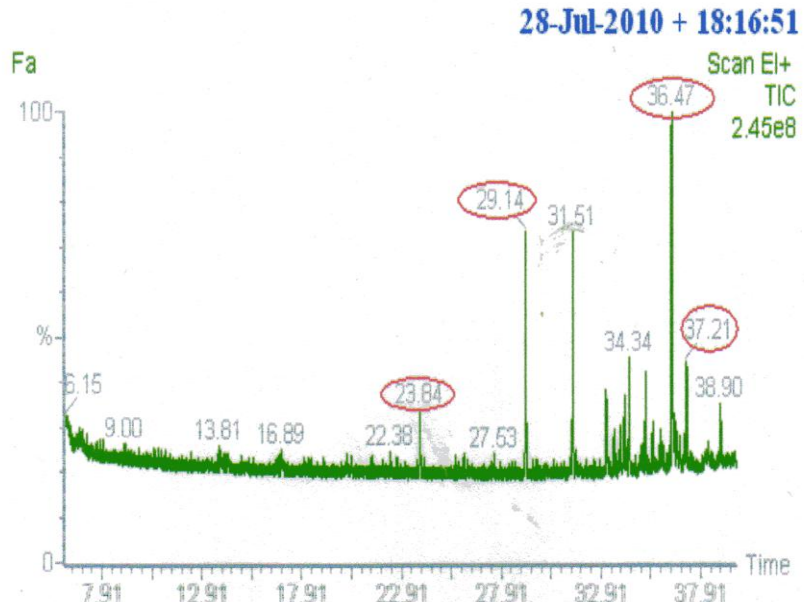


Figure 3: GC-MS Chromatogram of the Chloroform extract of the aerial parts of *Fagonia lonjispina*

Copyright © 2012

REFERENCES

[1.] Ozenda, p.(1983). Flore du Shara ,2eme ed. Paris : CNRS

[2] P.Quezel .et S. Sant. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .tome1 Editions du Centre national de la recherche Scientifique, paris7.1962.

[3] Chopra, R.N., Nayar, S.L., Chopra, I.C. (1956). *Glossary of Indian Medicinal Plants*.

New Delhi: CSIR

[4] Chopra, R.M., Handa, K.L., Kapur, L.D., Chopra, I.C. 1982. Indigenous Drugs of India, second ed. Academic Press, New Delhi, India.

[5] Maire, R, 1953, flora of North Africa: Morocco, Algeria, Tunisia, Tripolitaine, Cyrenaique and Sahara Vol 5, Paul Lechevaller, Paris.

[6] - C.Killian .Anabasis aretioides Coss,et Moq, endémique du Sud Oranai. Travail du laboratoite de biologie saharienne de la Faculté des Sciences d'Alger à Beni Ounif n°11. p 423-436.

[7]P.Praveen Kumarm, S.Kumaravel,and C.Lalitha . Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of Vitex negundo. *African journal of Biochemistry*. Vol.4 (7). 191-195, July 2010.