الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMEN SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياءالحيوية و البيولوجيباالخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie végétale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et Physiologie Végétale

Intitulé :

دراسة النشاط البيولوجي لنبات العلندة EphendraAlata الناشئة في الشرق الجزائري (منطقة ششار)

من إعداد الطالبة :في : 2019/06/25

- شرفي شيماء

أعضاء لجنة المناقشة :

- حمودة بوصبيعة دنيا أستادة محاضرة (أ) جامعة قسنطينة 1 (رئيسة)
- زعمارمريم أستادة محاضرة (ب) جامعة قسنطينة 1 (مشرفة)
- شيباني صليح أستاد محاضرة (أ) جامعة قسنطينة 1 (ممتحن)

السنة الجامعية

2018 - 2019

Remerciement

Tout d'abord je remercie le bon Dieu tout puissant de la bonne santé, la volonté et la patience qu'il nous a donné tout le long de la période de nos études.

J'exprime mes sincères remerciements : A mon promoteur Pr Zoughmar.M, Co-promotrice Mr Bensouicichawki ,Ibtissem ,Mehdi ,Mr debi,pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, et sa disponibilité pour l'encadrement de ce travail. J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer un stage pratique au laboratoire «biochimie» dans leCentre de Recherche en Biotechnologies

JE tiens à exprimer mes profonds remerciements au Mr Chawki le biochimmiste Mr Chawki pour son chaleureux accueil au sein du laboratoire, pour sa confiance et sa permission de réaliser ce travail dans les meilleures conditions. Pour son aide et pour les discussions enrichissantes malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuses occupations. A tous les membres du CRBT sans exception surtout ma chére Rim, HoudaetHanane pour leur soutien et les facilités accordées pour la réalisation de ce travail. Aux membres du jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leur temps pour juger ce travail : Mm Hamouda. D et Mr Chibani.S pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ma Soutenance. A tous Les collègues de la promotion BPO 2018-2019 surtout Hala , Bouchra ,khawla et Imen pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble. Enfin un énorme Merci à tous ceux qui mon aide, conseillé, et ouvert leurs portes, parfois même avec un sourire, et qui se reconnaîtront certainement.

DÉDICACE

Tout d'abord, je remercie mon «Dieu» tout puissant qui m'a donné, la volonté, le courage, la patience et l'endurance et qui a guidé mes pas vers le droit chemin pour réaliser ce travail.

JEdedie ce mémoire :

A ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour

A ceux qui m'ont encouragée et soutenue durant toutes mes

annéés d'etudes: l'âme pure de mon pére et à ma mère, tout les mots sont insuffisants

pour exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mon

amour. Que le tout puissant la garde et le protége .

A mes chères sœurs : lidia ,Ines, Ma jumelle khawla.

A mon chèr beau frère : salah.

A mes chères tantes , cousins et cousines

Ameschéresamis ,kawter,hadjer, lamia, Badro ,Houda, khouloud ,

nejla ,neila,alya ,abir ,hiba ,

À tous ceux qui aiment la science.

Mouni

❤

الفهرس

مقدمة 1

الدراسة النظرية

I .1.1-لنباتات الطبية: 2

I.2.1- مصدرها النباتات الطبية:.. 2

I.3.1-تصنيف النباتات الطبية : 2

I.1.3.1- التصنيف المرفولوجي للنباتات الطبية: 3

I.2.3.1 - التصنيف الفيزيولوجي للنباتات الطبية:.. 4

I.3.3.1-التصنيف التجاري للنباتات الطبية: 5

I. 4.1- أهمية النباتات الطبية:.. 5

I. 5.1-النباتات الطبية في الجزائر:.. 6

I .1.2.- العلندة:*Ephédraalata*... 6

I .2.2-التصنيف النباتي: 7

I .3.2- الوصف النباتي:.. 7

I.4.2- الانتشار الجغرافي للعلندة: 8

I5.2 .-أهم أنواع العلندة انتشارا في الوطن العربي:... 9

I. .6.2 - التركيبة الكيميائية للعلندة:... 10

I..7.2-الاستعمالات الطبية للافيدرين:.. 11

I.8.2 -جرعات الافدرين الطبية المسموح بها:... 11

I. 9.2-الأعراض الجانبية لحقن الافدرين: 11

I.10.2تداخل الافيدرين مع الأدوية:... 12

I.11.2- استخدامات العلندة: 12

I.11.2.فوائد العلندة: 12

I-12.2الأعراض الجانبية لمركبات العلندة:.. 13

I-1.3 دراسة حول الميتابوليزم الثانوي س.. 13

I2.3-تعريف الميتابوليزم الثانوي... 13

أهم نواتج الأيض الثانوي 14

I.1.3.3-المركبات الفينولية Les composéesphénoliques 14

I.3.3.2-القلويدات les alcaloïdes 15
I.3.3.3-التربينات les terpènoïdes 15

الطرق و الوسائل

II .1- المادة النباتية 16
II.1.1--الجني.. 16
II.1.2- - التجفيف (من 24 فيفري حتى 22 مارس) 16
II.1.3-الطحن.. 16
II.1.4-الاستخلاص 17
II .2-النشاط المضاد للفطريات 20
II.2.1-مراحل العمل.. 20
II.2.1.1- تحضير وسط الزرع... 20
II.2.1.2- عملية زرع البكتيريا 20
II.2.1.3- الحضن.. 21
II.2.2--طريقة العمل 21
II.2.2.1-لمرحلة الأولى 21
II2.2.2-المرحلة الثانية 21
II.3-الكشف على الفلافونويدات Total flavonoides 21
II.3.1-الوسائل 21
II .3.2-طريقة العمل 21
II.4- الكشف على الفينولات Total phenolique 22
II.4.1- الوسائل 22
II.4.2- طريقة العمل 23
II.5-نشاط الجدور الحرة DPPH 23
II.5.1-الوسائل 23
II.5.2- طريقة العمـــــل 24
II.6-GOR.. 25
II.7.1- Cupric 25
II .8-l'α amylase 26
II .9-Teste phenanthroline. 26

II .10- Teste acetylcholinestérase (AChE) 27

النتائج و المناقشة

III .1- النشاط المضاد للفطريات Antifongique.. 31

III.2 -Total phenolique 32

III. 3-Total flavonoides 34

III. 5-Teste dpph 35

III. 6-Teste gor... 36

III. 7-Teste cuprik... 37

III.8-Teste phenolthroline... 37

III. 9-Teste alpha-amylase... 38

III. 10- Teste acetylcholinestérase (AChE).. 38

الإستنتاج 39

الملخص

الملحق

المراجع

قائمة المختصرات

BHT	Butylhydroxytoluéne
DPPH	Diphenylpicrylhydrazyl
FDA	Food and drugAdministrationإدارةالغذاءوالدواء
BPV	Biologie et physiologie végétale
Mg	ملي غرام
Ml	ملي لتر
C°	درجة الحرارة
AlCl3	تراي كلوريد الالومنيوم
Nm	نانو متر
µl	ميكروليتر
FCR	FOLIN-ciocalteurreactif
Abs	Absorbance
GOR	Galvinoxyl radical
MeOH	الميثانول
K3Fe(CN)6	Ferricyanure de potassium
HCl	L'acide chlorhydrique
ACİ	Acetylthiocholineiodide
GAE	Equivalent a l’acidegallique
QE	Quercetin
NaHCO3	Carbonate de sodium
BuOH	البوثانول
AcEt	أسيتاتالإثيل
BHA	Butylhydroxyanisole
$FeCl_3$	Ferricchloride

المقدمة

مقدمة

إن إستخدام النباتات من طرف الإنسان كعلاج للأمراض قديم جدا و تطور البشرية، فقدعرفت الحضارات القديمة إستعمالا واسعا للنباتات الطبية، حيث أن الصين صنفت كمركز للتداوي بالأعشاب, وكذلك الهندو الشرق الأوسط (خاصة في العصر الإسلامي)، اليونان والرومان إحتلت هذه النباتات مكانة رئيسية في إستعملاتهم اليومية (Anonyme,2007).

هناك العديد من الأسباب وراء الموجة الحالية من الإهتمام بالطب الشعبي، و يعد الخوف من العقاقير المصنعة أثارا واضحة في العلاج، و ذلك لما لها من تأثيرات جانبية.

خلال حقبة زمنية واحدة تمت مراجعة نصف الأدوية التي أجازتها إدارة الغذاء و الدواء الأمريكية (FDA) بشأن أعراضها الجانبية غير المتوقعة و لكن هناك سبب أخر للإهتمام المتزايد بالأدوية العشبية حيث تحتوي كل الأعشاب على الآلاف من المواد الكميائية فعند إختيار دواء عشبي، فإننا نتحصل على المواد الكميائية، أما عندما نتناول عقارا صيدليا يحتوي على مادة واحدة فعالة إصطناعية، فسوف تساعد فقط إذا كانت لهذه المادة فعالية مثبطة، ولكنها قلما تعالج مشاكل أخرى ثانوية، والتي قد يوجد لدينا الكثير منها (ديوك،203).

أصبحت صناعة الأدوية كذلك تعتمد و بشكل كبير على تنوع النباتات و مركباتها الثانويةللعثور على جزيئات جديدة ذات خصائص بيولوجية مفيدة , هذا المصدر يبدو غير ناضب لأنه و من بين 400.00 نوع من النباتات المعروفة قسم صغير فقط تمت دراسته .(Hostettmann*et al*,1998)

تعتبرالجزائرمن بين الدول الأكثر تنوعا لهذه النباتات(3100 نوع نباتي) و هذا بسبب موقعها الجغرافي و مساحتها الشائعة و تنوع مناخها.هذا التنوع البيولوجي هذا التنوع يشكل ثروة

حقيقية تحتاج إلى الحفاظ عليها و إدارتها على نحو مستدام و عقلاني من أجل الحفاظ على التوازن البيئي و على التنوع البيولوجي (Pereira *et al*., 2003).

وتعتبر عشبة الافيدراEphedra واحدة من النباتات الطبية النامية بالمنطقة الشبه جافة بالشرق الجزائري(منطقة ششار بولاية خنشلة) وهذه العشبة تتبع جنس واحد للعائلة الإيفيدراسية وهي معروفة باستخداماتها الكثيرة حول العالم في الطب التقليدي.كذلك استخدامها في الجانب الزراعي كمبيد طبيعي لمكافحة بعض الأمراض الفطرية التي تأثر سلبا على مردود بعض المحاصيل الزراعية. و تشتهر كذلك بتسامحها العالي لنقص المياه و بغناها بمركبات الأيض الثانوي. و نظرا لما لهذه العشبة من خصائص بيولوجية جد فعالة خاصة في المجال الطبي و الزراعي. ارتأينا دراسةهذه العشبة بهدف تثمينها.

ارتكزت دراستنا على أربع مستخلصات لعشبة العلندة وذلك لتقييم النشاط :

- المضاد للأكسدة(الجانب الطبي).
- الأنزيمي(الجانب الطبي).
- المضاد للفطريات (الجانب الزراعي).

تشمل المذكرة جزأين :

جزء نظري و جزء عملي، الجزء النظري يشمل فصل يشمل تعريفا لنبتات الطبية و تصنيفها بالإضافة وصف، تعريف و تصنيف النبتة المختارة أما الجزء العملي فقد خصص لدراسة النشاط البيولوجي للنبتة المدروسة النشاطية ضد تأكسدية وضد الفطرية، الدراسة الأنزيمية يتضمن هذا الجزء فصلين، فصل يوضح المواد والطرق المستعملة، وفصل ثاني يوضح النتائج و مناقشتها.

الفصل الاول : الدراسة النظرية

الدراسة النظرية

I.1.1- النباتات الطبية

هو كل شيء ذو أصل نباتي يحتوي على مادة فعالة في أحد أعضائه، أو أكثر تكون لها القدرة على معالجة مرض معين أو التقليل من أعراض الإصابة به، إذا ما أعطيت للمصاب في صورتها النقية بعد استخلاصها أو في صورتها الطبيعية (هيكل وعمر،1993).

I.1.2- مصدرها النباتات الطبية

للحصول على النباتات الطبية يوجد مصدرين:

الأول من النباتات البرية حيث تنمو أنواع عديدة في الوديان والسهول والغابات.

أما المصدر الثاني عن طريق الزراعة حيث تقوم شركات الأدوية أو المؤسسات الاستثمارية بإنشاء مزارع خاصة لإنتاج أصناف وأنواع محددة يحتاجها السوق المحلي أو الدولي (علي والحسن، 2002)

I.1.3-تصنيف النباتات الطبية

تصنيف النباتات الطبية إلى مجموعات ذات خصائص مشتركة أو مميزات أو مواصفات متشابهة و ذلك بقصد سهولة التعرف على هذه المجموعات و دراسة جميع الخصائص التي تجمع هذه النباتات ويمكن تلخيصها في ثلاث طرق.

I.1.3.1- التصنيف المرفولوجي للنباتات الطبية

تصنف النباتات الطبية من الناحية المرفولوجية إلى مجموعات وذلك حسب المميزات والخصائص المشتركة حسب الجدول التالي(إبراهيم ,2016)

جدول 01 : التصنيف المرفولوجي للنباتات الطبية.

التصنيف المرفولوجي للنبات حسب الجزء المستعمل	مكان تواجد المادة الفعالة	مثال
1- نباتات تستعمل بأكملها	نباتات تتواجد مادتها الفعالة بأجزائها المختلفة	الصنوبر الأسود
2- نباتات تستعمل أوراقها	نباتات تتواجد مادتها الفعالة على مستوى الأوراق	الريحان، النعناع، الصبار
3- نباتات تستعمل أزهارها	نباتات تتواجد مادتها الفعالة على مستوى الأزهار	البابونج و الأقحوان
4- نباتات تستعمل ثمارها	نباتات تتواجد مادتها الفعالة على مستوى ثمارها	الخلة و الكروية
5- نباتات تستعمل بذورها	نباتات تتواجد مادتها الفعالة على مستوى بذورها	حية البركة، الخروع و عباد الشمس
6- نباتات تستعمل أجزائها الأرضية	نباتات تكون على شكل سيقان أرضية متحورة أو جذور متدرنة حيث توجد على مستوها المادة الفعالة	عرق السوس و السحلب
7- نباتات تستعمل قلفها	نباتات تتواجد مادتها الفعالة على مستوى القلف	القرفة

2.3.1.I - التصنيف الفيزيولوجي للنباتات الطبية

تصنف النباتات فيزيولوجيا تبعا لطبيعة العلاج أو الفائدة التي يمكن أن تجنى من استخدامها إلى(إبراهيم، 2016).

جدول02 :التصنيف الفزيولوجي للنباتات الطبية.

التصنيف الفيزيولوجي للنبات	مثال
1- نباتات مسهلة أو ملينة	السنامكي
2- نباتات مسكنة أو مخدرة	الصفصاف
3- نباتات مانعة لتهتك الأوعية الدموية	الحنطةالسوداء
4- نباتات مثبطة للقلب	الدفلة
5- نبتات مسببة للإحمرارات الموضوعية	الخردل الأبيض والأسود

I.3.3.1-التصنيف التجاري للنباتات الطبية

تصنف النبتات الطبية تجاريا حسب إستعملاتها إلى(إبراهيم 2016,)

جدول 03 :التصنيف التجاري للنباتات الطبية.

التصنيف التجاري للنباتات الطبية	مثال
1- **نباتات طبية:**وهي النباتات التي تتداول تجاريا تستعمل في تصنيع الأدوية	النعناع ، البردقوش، الخلة
2- **نباتات التوابل والبهار او مكسبات الطعم و النكهة** : و هي النباتات التي تستخدم لأغراض غذائية	حبة البركة، جوز الطيب، الكمون
3- **نباتات عطرية** :وهي مجموعة النباتات التي تحتوي في جزء كبير من أعضائها النباتية على زيوت عطرية طيارة يمكن استخدامها في صناعة الروائح ومستحضرات التجميل	الياسمين،الورود، الريحان
4- **نباتات مقاومة للحشرات**:وهي نباتات تستخدم في حالتها الطبيعية أو مستخلصاتها في مقاومة وإبادة الحشرات	البيثرم

I. 4.1- أهمية النباتات الطبية

لا تقتصر أهمية النباتات الطبية على كونها غذاء أو مصدر الحصول على الأكسجين والأخشاب بل تتعدى هذا بكثير فهي تعد من أحد أقدم أنواع العلاجات التي قد عرفها العالم عبر تاريخه إذ قد لعبت تلك النوعية من المنباتات دورا كبيرا وعاليا في علاج العديد من الأمراض.

علاوة على ذلك فإنها تلعب دورا رئيسيا وحيويا في توفير عامل الوقاية القوي للجسم من الإصابة بالعديد من المشاكل الصحية (المرسال، 2017).

I. 5.1-النباتات الطبية في الجزائر

بلادنا الجزائر غنية جدا بأعشابها الطبيعية المتنوعة لما لها من مساحات واسعة ومناخات عديدة بحرية، قارية وصحراوية لما تتمتع به من دفء وسطوع شمسي وطقس جميل وتربة متنوعة وخصبة للغاية في معظمها.

ولا شك أن لهذه المناخات والتربة من أثر بالغ ليس على شدة التنوع النباتي فقط ولكن لها أثر على تركيب النباتات واعطائها مميزات خاصة، وقد دلت التجارب أن لنباتات المناطق المعتدلة أكثر فعالية وأغنى بالعناصر المفيدة من نباتات المناطق الباردة.

كما أثبتت الدراسات العديدة أن بالجزائر حوالي 3500 نوع من النباتات منها ما تعود إلى المناخات الحارة ومنها ما تعود إلى المناخات المعتدلة.

إن من بين هذا العدد حوالي 1900 نوع يمكن العثور عليها في اسبانيا وما يقارب 1500 نوع في إيطاليا والبعض لا نعثر عليها إلا في البلدان الصحراوية وأخرى أصلية لا نجدها إلا في بلدان شمال افريقيا، بل هناك أشكال نباتية لا تظهر إلا في أماكن محددة بالجزائر.

إن هناك أنواع لا زالت مدسوسة في الطبيعة لم تكتشف بعد رغم كثرة ما ألف عن الأعشاب الجزائرية(حليمي،1997).

1.2.1- العلندة *Ephédra alata*

العلندة، الغدر، العليق أو العقود وهو نوع نباتي ينتمي إلى العائلة العلندية (الإفيدراسية) وهذه العائلة لا تضم إلا نوعا واحدا وهو "العلندة" « éphédra » حيث يضم هذا النوع النباتي حوالي 50 صنفا (الموسوعة العربية، 2012).

I .2.2-التصنيف النباتي

جدول04 : يوضح التصنيف النباتي لنبات العلندة(Ozenda, 2009) .

Classe	Gnetopsida
Ordre	Ephedrales
Famille	Ephedraceae
Genre	*Ephedra*
Espèce	*Ephedraalata*
Sous espèce	***Ephedraalataalenda***

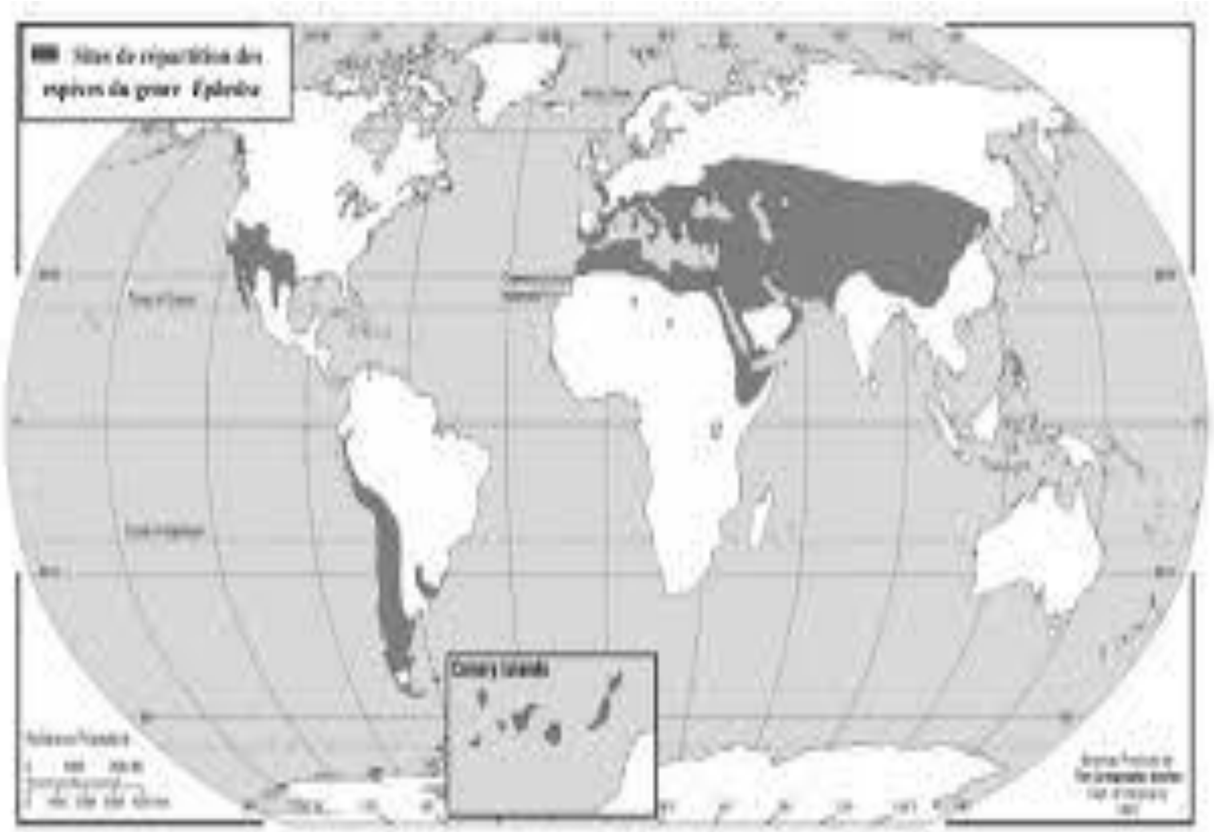
I .3.2- الوصف النباتي

شجيرة ذات سيقان قصيرة وهي نبات يبدو على شكل الحشائش والنباتات الزاحفة أو المتسلقة التي تنمو قرب أشجار الصبار والزيتون، وقد يصل طولها إلى المتر والعلندة ذات لون أخضر يميل إلى الأصفر وهي كثيرة الأغصان والفروع حيث تعد الأغصان أكثر أجزاء النبات استخداما في صنع الدواء كما يمكن استخدام الجذور أو النبات بأكمله أوراقها أنبوبية سميكة وثمارها شبه مخروطية الشكل، مستخلصها مر مقبول المذاق. (حكيم، 2018).

الصورة 01: صورة توضح نبات العلندة.

I.4.2- الانتشار الجغرافي للعلندة

العلندة من أسيا بما في ذلك المملكة العربية السعودية (القروي و أخرون، 2011) . و هي شائعة في الصحراء من المغرب إلى الجزائر إلى ليبيا، مصر و الجزيرة العربية (Ozenda ,1991).



صورة 02:الانتشار الجغرافي لنبات العلندة.

I-5.2.-أهم أنواع العلندة انتشارا في الوطن العربي

جدول يوضح أهم أنواع العلندةانتشارا في العالم العربي(الموسوعة العربية ,2012).

الصنف النباتي	الاسم العلمي	أماكن تواجدها	صــــــور
1- العلندةالإنتقالية	Ephedra transitoria	بلاد الشام	
2- العلندة الأنثوية	Ephedra foemineas	المغرب العربي بلاد الشام سيناء	
3- العلندة العالية	Ephedra altissima	المغرب العربي	
4- العلندة عديمة الأوراق	Ephedra aphylla	المغرب العربي بلاد الشام العراق مصر الجزيرة العربية	
5- العلندة الكبيرة	Ephedra major	المغرب العربي بلاد الشام	

	المغرب العربي مصر الجزيرة العربية	Ephedra alata	6- **العلندة المجنحة**
	المغرب العربي إيطاليا اسبانيا البرتغال	Ephedra fragilis	7- **العلندة الهشة**
	المغرب العربي بلاد الشام مصر	Ephedra foliata	8- **العلندة الورقية**

I .6.2- التركيبة الكيميائية للعلندة

تحتوي أغصان العلندة على فلافونيدات من مركبات الفينول وهي من أهم المواد في العشبة نظرا لخصائصها المضادة الأكسدة وللسرطانات، كما تحتوي على الافيدرين$C_{10}H_{15}NO$ألكالويد ومعادن ومواد أخرى مضادة للجراثيم تساعد على حماية العشبة نفسها من الأمراض (الوسطى،2014).

تتراوح نسبة ما تحتويه شجرة العلندة على مركبات القلوية ما بين 1 و5% من وزنها الجاف (شرقية، 2006).

المادة الفعالة الموجودة في النبتة تسمى الافيدرين Éphédrine وهي تنشط الجهاز العصبي المركزي ولها خصائص أخرى كتضييق الأوعية الدموية وتوسيع القصبات الهوائية وهي مشابهة في تركيبها وخصائصها مادة الإفيدرين التي تفرز في جسم الإنسان عند الشعور بالخوف (حكيم، 2016).

I.2.7-الاستعمالات الطبية للافيدرين

- تستعمل لرفع ضغط الدم المنخفض.
- الانسداد والاحتقان الرئوي.
- مشاكل الجهاز التنفسي بصفة عامة.
- تنبيه وتحفيز الجهاز العصبي.
- لانقاص المواد الدهنية في الدم.
- مضاد للقساح (مرض رجالي) (موسوعة الأدوية ,2008).

I.2.8- جرعات الافدرين الطبية المسموح بها

يتضح الأطباء باستهلاك من 25 ملغ إلى 50 ملغ مرتين في اليوم من الافيدرين وبإشراف طبي، وأما صبغة الافيدرين فتستهلك بمقدار 1 إلى 4 ملل 3 مرات في اليوم إن الافراط في جرعة الافدرين يؤدي إلى سمية أكيدة (طبي، 2012).

I.2.9- الأعراض الجانبية لحقن الافدرين

- ارتفاع معدل ضربات القلب.
- الرعشة.
- الشعور بالقلق والتوتر.
- التهاب جلدي.
- هلوسة ونوبات صرع(فكرة، 2019).

I.10.2-تداخل الافيدرين مع الأدوية

لا يستعمل الافيدرين مع مضادات الكآبة اطلاقا.

لا يتماشى مع المنشطات والمنبهات(طبي، 2012).

I.11.2-استخدامات العلندة

استخدمت العلندة قديما في الطب الصيني لتخفيف احتقان الأنف وتوسيع القصبات الهوائية ولعلاج نزلات البرد والربو بسبب احتوائها الافيدرين (حكيم، 2016).تم إستخلاص مركب الافيدرين لأول مرة عام 1881 بكميات تجارية .

زادت استخدام العشبة بين مرض السرطان وذلك بعد انتشار قصة أحد الرعاة الفلسطينين الذي شفي بعد استخدامه العشبة ومن ثم ازداد بيع العشبة من قبل المزارعين.

أظهرت نتائج لدراسة نشرت عام 2016 أن نسبة مرضى السرطان في فلسطين الذين يستخدمون عشبة العلندة ازداد من 0% عام 2011 إلى 52% عام 2014 وذلك بسبب انتشار الترويج لهذه العشبة عبر الاعلام المحلي (حكيمة، 2018).

I .12.2-فوائد العلندة

تتعدد فوائد واستعمالات عشبة العلندة ومنها أنها تخفض بشكل فعال معدلات ضغط الدم، وفي علاج بعض أمراض الجهاز التنفسي كالربو والالتهابات الصدرية إلى جانب أنها تعالج بعض حالات السرطان وخاصة إذا كان في بدايته، فقد أثبتت الكثير من التجارب هو قدرتها الفعالة في مقاومة الخلايا السرطانية والحد من انتشارها (سليمان، 2016).

I .13.2-الأعراض الجانبية لمركبات العلندة

قد يسبب مستخلص العلندة أعراض جانبية في حال الاستعمال المفرط لها أو إذا ما تجاوزنا الجرعة المسموحة منها.

- الإصابة بنوبات الصرع.
- تسارع نبضات القلب وتزيد من فرص النوبات القلبية والجلطات.
- الغثيان وفقدان الشهية.
- اتساع حدقة العين (حالات نادرة).
- الأرق.
- الهلوسة (رام الله،2018).

I-1.3.دراسة حول الميتابوليزم الثانوي

بعض النباتات تركب العديد من المعقدات غير المعروفة و التي لها دولر مهم على مستوى النبتة و, هذه المعقدات غير موجودة في جميع الأنواع النباتية , فهي تساعد في تحديد خواص ينفرد و يتميز بها كل نبات عن الأخر. و هدا يدل على أنها تدخل في الميتابوليزم الأولي الذي يعتبر هدم للمركبات العضوية (المعقدةالبروتينات , السكريات , الليبدات) بهدف إنتاج الطاقة و نواتج هذه الأخيرة تعد سبب تأقلم النبات مع البيئية

هذه المعقدات تدخل في الميتابوليزم الثانوي لكن ليس لها وظائف مباشرة على مستوى النشاطات الأساسية في العضوية النباتية (النمو, التطور, التكاثر) (J.L Guignard , 1985).

I2.3.تعريف الميتابوليزم الثانوي

هي تلك التحولات التي تنفرد بها النباتات عن غيرها من الكائنات وذلك من نواتج الميتابوليزم الأولي إلى نواتج أكثر تعقيدا مثل المركبات الأروماتية , و مواد أخرى تكون مصدرا للسموم و أخرى مصدر للعناصر

النباتية التي يستفيد منها الإنسان و الحيوان على السواء, خاصة في ميدان الطب و الصيدلة (مجلة العلوم ,1988).

I-3.3-أهم نواتج الأيض الثانوي

تنقسم نواتج الأيض الثانوي إلى ثلاثة أقسام :

- المركبات الفينولية(العطرية).
- المركبات القلويدات (الأزوتية).
- المركبات التربينية و هي أهم مشتقات الأيض الثانوي (محاضرات السنة الثالثة BPV).

I.3.3.1-المركبات الفينولية Les composéesphénoliques

عبارة عن مركبات ملونة متعددة الفينول كثيرة الانتشار في النباتات نجدها ذائبة على شكل مركبات ذات أساس سكري أي على شكل Hétérosides داخل الفجوات نجدها أيضا كمكون للكلوروبلاست أو البلاستيدات الملونة. تنتج الفلافونويدات بإضافة ثلاث وحدات منC2 إلى حمض acide Cinnamique.

الدور الفيسيولوجي للفلافونويدات مازال نوعا ما مجهولا حيث أن لها دورفي التنفس و النمو (محاضرات السنة الثالثة BPV).

I.3.3.2-القلويدات les alcaloïdes

مجموعة من المركبات العضوية القاعدية الذي يحتوي كل جزء منها على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر وهي عادة مرتبطة في حلقات غير متجانسة , تركيبتها الكميائية شديدة التعقيد نجدها في أماكن مختلفة تبعا لنوع النبات فمثلا في النبات التبغ يتكون القلويد في الجذور و منها ينتقل إلى الأوراق حيث يتجمع فيها و لا تحتوي البذور على أي قلويدات , أما في نبات الخشخاش فالثمرة هي التي تحتوي على القلويدات و في شجرة البن الحبوب.

و هي قواعد أزوتية معقدة التركيب من أصل نباتي , معظم القلويدات تحتوي على حلقة أو أكثر وغالبا ما يكون النتروجين فيها على هيئة أمين ثانوي أو ثالثي وهي من أقدم المركبات العضوية التي تم فصلها بصورة نقية لأهميتها في المجال الطبي(القبيسي ,1995).

I.3.3.3-التربينات les terpènoïdes

هي مركبات طبيعية هيدروكربونية ذات بنية حلقية سواءا مفتوحة أو مغلقة و الوحدة البنائية لها هي الإيزوبرين(Isoprene(C_5H_8),التي أكتشفت من طرف Ruzicka وذلك في أوائل القرن العشرين , و تتكون من خمس ذرات كربون و التربينات ناتجة عن تجمع وحدات Isoprènes وحسب هذه القاعدة تنقسم التربينات إلى 7 أصناف (Catrine Guette).هي جميع الهيدروكربونات ($C_5H_8)_n$ ($n>2$)بها رائحة طيبة تستعمل في صناعة العطور و في محسنات الطعم وفي الصيدلة.

الطرق و الوسائل

II .1-المادة النباتية

II.1.1-الجني

تم جنيها في 22 فيفيري 2019 من منطقة ششار بمدينة خنشلة التي تتواجد على ارتفاع 1200 متر عن مستوى سطح البحر, تتميز بأراضيها الخصبة و هذا يعود لموقعها الجغرافي الذي يعتبر سببا قويا في كونها منطقة زراعية في المقام الأول (عبد العالي تومي, 2018).

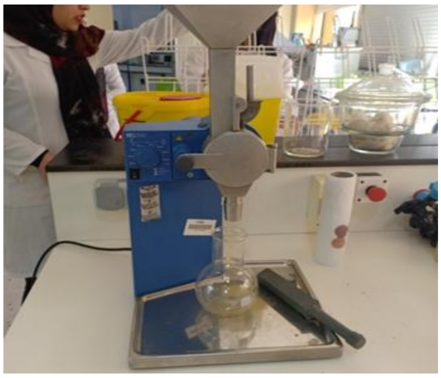
II.1.2- التجفيف (من 24 فيفري حتى 22 مارس)

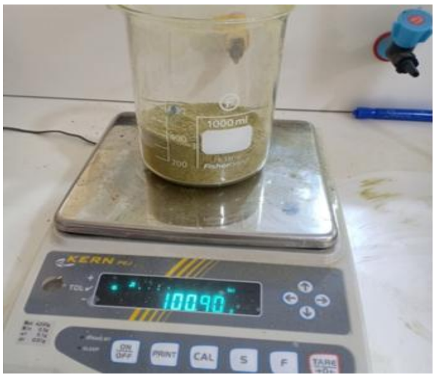
يعتمد التجفيف على بسط النبات بشكل طبقة رقيقة و دلك يكون في الظل بغرض الحفاظ على نسبة الزيوت الطيارة في النبات , و يتم تقليب النبات من حين لآخر لضمان التجفيف الجيد و منع تخمر النبات في حالة الرطوبة العالية.

صورة 03:يوضح العلندة بعد التجفيف.

II.1.3-الطحن

بعد التجفيف يتم طحن العينة النباتية جيدا في جهاز الطحن لضمان الاستخلاص الجيد.





صورة 04: يوضح العلندة بعد الطحن.

II.4.1-الاستخلاص

يتم استخلاص مستخلص النبتة بواسطة4مذيبات :

المذيب الأول: الميثانول Méthanol.

المذيب الثاني : الكلوروفورم Chloroforme .

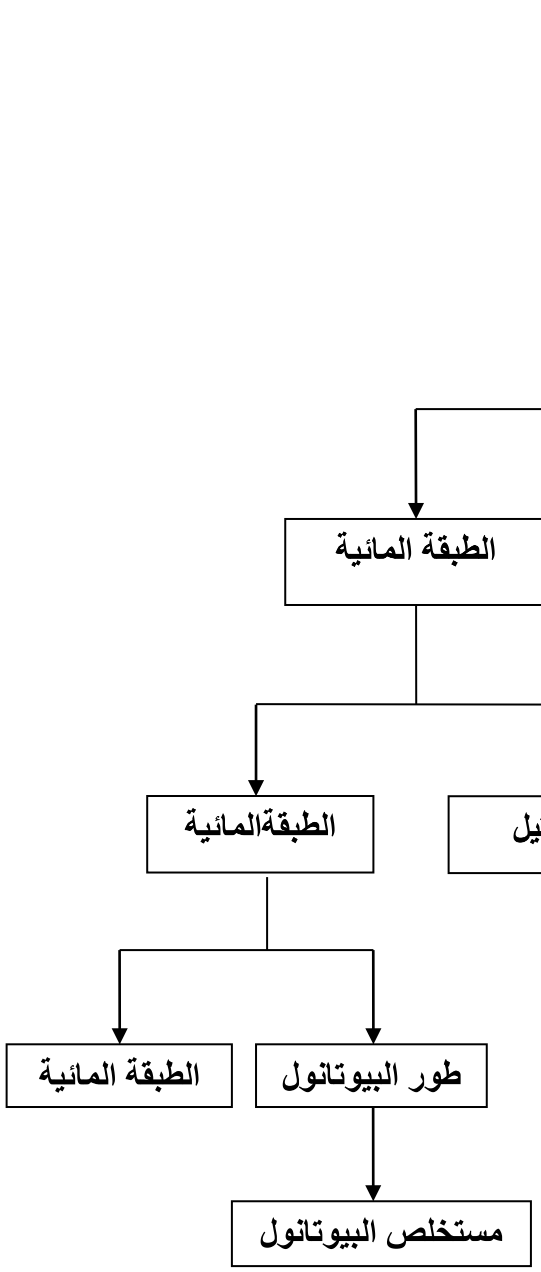
المذيب الثالث : اسيتات Acétate

المذيب الرابع : البيثانولButhanol.

صورة 05: المذيبات المستعملة في الاستخلاص.

الطرق و الوسائل

مخطط يوضح الخطوات المتبعة لمختلف المستخلصات النباتية :



صورة 06:مراحل الاستخلاص.

II.2-النشاط المضاد للفطريات

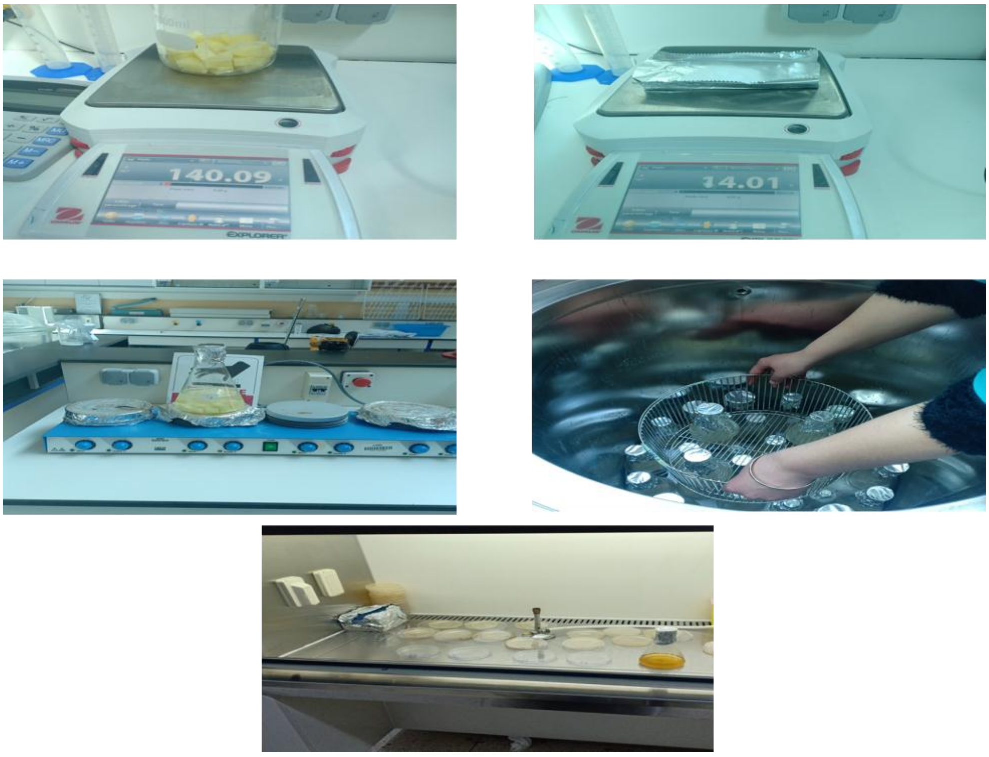
II.2.1-مراحل العمل

II.2.1.1-تحضير وسط الزرع.

II.2.1.2- عملية زرع البكتيريا: يتم بطريقة خاصة في وجود لب موقد البنزين لتفادي انتشار البكتيريا في الجو كما توضح الصور.

II.2.1.3- الحضن

في هذه الخطوة نحضن علب بيتري مقلوبة داخل الحاضنة لمدة 6 ايام في درجة حرارة 37°C



صورة07:مراحل تحظير وسط الزرع.

2.2.II-طريقة العمل

1.2.2.II-المرحلة الأولى

تراكيز منخفضة للمستخلص الميثانولي : نزن, 4mg , 16mg 1mg , 2mgمن مستخلص النبتة مع الشاهد ونذيب و نذيب كل منها في 1ml من الميثانول. بعدها نضع المحلول المتحصل عليه في فيوسط الزرع (boite de petri) .

- تحت la hotte وأمام موقد البنزين نحضر فطر**Fusariumoxysporumf.sp.lycopersici**نقوم بتقسيمه إلى دوائربواسطةPipette pasteur. نضع في مركز كل علبة بيتري قرص من الفطرو نغلق العلبة بإحكام, ثم نحضن العلب مقلوبة داخل الحاضنة l'étuve في درجة حرارة 37C° لمدة 6 أيام .

2.2.2II-المرحلة الثانية

نفس مراحل المرحلة الأولى نرفع تراكيز المستخلص فقط إلى , 128 mg , 256 mg 32mg ,64mg.

حساب نسبة التثبيط pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition =[T (Témoin positif)-(Traitement)/ T^{+}] ×100

3.II-الكشف على الفلافونويدات Total flavonoides

1.3.II-الوسائل

مستخلص النبتة

الماء المقطر

اسيتات الصوديوم

الميثانول

(Alcl3) تراي كلوريد الالومنيوم

Une micropipette

Microplaque

Lecteur de microplaque

Tube eppendorf

II.2.3-طريقة العمل

- نحضر 1 mg من مستخلص النبات(الميثانولي.الايثانولي.الاسيتات.الكلوروفورميك) ونديبه من الميثانول 1 ml.

- نأخذ 50µL من مستخلص النبتة (الميتانولي, الأسيتات, الكلوروفورم, البوتانولي) نضيف له 50µl من $AlCl_3$,150µl أسيتات الصوديوم نترك الخليط في الظلام لمدة ساعتين , ثم نقرأ النتائج فيجهاز Lecteur de microplaque على طول الموجة 440 nm .

(Kumar et ***JoelKarunakaran***;2007).

II.4-الكشف على الفينولات Total phenolique

II.1.4-الوسائل

مستخلص النبتة .

كربونات الصوديوم Na2Co3 .

(folin-ciocalteurreactif) FCR .

. Une micropipette

. Microplaque

. Lecteur de microplaque

.Tube eppendorf

II.2.4-طريقة العمل

نحضر 1 mg مستخلص النبات (الميثانولي . الاسيتات.الكلوروفورميك .البوثانولي) و نذيبه في 1ml من الميثانول .بعد ذلك نضع في كل بئر من الميكرو بلاك Chaque puits de microplaque 20µlمن مستخلص النبات و نضيف له 100 µl من FCR .

نضع 75 µl من كربونات الصوديوم و نترك الخليط في الظلام مدة ساعتين .

نحضر الشاهدبنفسالطريقة ونعوض مستخلص النبات بالميثانول .

ثم نقرأ النتائج فيجهاز Lecteur de microplaque على طول الموجة 715nm (Müller , 2010).

II.5-نشاط الجدور الحرةDPPH

و هي قياس قدرة المستخلص أو المركب على تثبيط الجدر الحر أو توقيف عملية الأكسدة, هذه الطريقة تعتمد على التلوين و نزع التلوين في طول موجة معين .

II.1.5-الوسائل

مستخلص النبتة .

الميثانول .

. DPPH

. Une micropipette

. Microplaque

. Lecteur de microplaque

. Tube eppendorf.

2.5.II-طريقة العمــــل

نأخذ0.5mgمن مستخلص النبتة(الميثانولي, الاسيتات, الكلوروفورميك,البوثانولي) و نديبه في 1 ml من الميثانول.

نأخذالميكروبالك microplaque و نضع في كل بئر من الميكروبلاك chaque puit de microplaque160ميكرولتر من DPPH، نضيف له40 ميكرولتر من مستخلص النبتة نتركه في الظلام مدة نصف ساعة في درجة حرارة المخبر .

نحضر الشاهد بنفس الطريقة و نعوض مستخلص النبات بالميثانولMeOH.

نقوم بقراءة النتائج في جهاز Lecteur de microplaque على طول موجة 517 نانومتر .

تحسب النسبة المئوية لتثبيط جذر وفقا للمعادلة التالية :

$$\frac{\text{Abs de contrôle} - \text{Abs de extrait}}{\text{Abs de extrai}} \times 100$$

تلون المستخلص بالون الأصفر يشير الى أن النبات مضاد للاكسدة. (Blois M.S., 1958)

.

6.II-إختبارGor

طريقة العمــــــل

نأخذ 5mg. 0 من مستخلص النبتة (الميثانولي ,الاسيتات, الكلوروفورميك , البوثانولي) ونخففه في 1 ml من الميثانول، نذيب4 mg من Galvinoxyl في 100 ml منMeOH.

نضع في الميكروبلاك (microplaque) :

40 ميكروليتر من مستخلص النبتة نضيف له 160 ميكروليتر من (Galvinoxyl, free radical) .

نحضر الشاهد بنفس الطريقة و نعوض مستخلص النبات بالميثانول.

نقرأ النتائج في جهاز Lecteur de microplaque على طول موجة 428 nm.

تحسب النسبة المؤوية لتثبيط بنفس طريقة بنفس طريقة حساب النسبة المؤية لتثبيط DPPH .

7.I1-إختبارCupric

طريقة العمل.

نحضر 3 محاليل S1 ,S2,S3 كالتالي :

S1:نذيب g 1,927من أسيتاتالأمونيومACNH4 في 25 ml منالماء المقطر .

S2:نذيب0,04262g من (Cu Cl2, 2H2O) في 25 mlمنالماء المقطر .

S3:نذيب g 0,039من النيوكبرين في 25 ml من الإيثانول .

نضع في كل بئر من الميكروبلاك chaque puit de microplaque 40 ميكروليترمن مستخلص النبتة (الميثانولي ,الاسيتات, الكلوروفورميك , البوثانولي) نضيف له 60 ميكروليتر منS1 ,50 ميكروليتر من S3 ,50 ميكروليتر من S2 .

نحضر الشاهد بنفس الطريقة و نعوض مستخلص النبات بالميثانول,ننتظرمدة ساعة ثم نقرأ النتائج في جهاز Lecteur de microplaque على طول موجة450 nm(Apak, R, 2004) .

II.8- إختبار Alpha-amylase

طريقة العمل

نضع في كل بئرالميكروبلاك 25 ميكرليتر من مستخلص النبتة (الميثانولي , الاسيتات , الكلوروفورميك , البوثانولي) نضيف له50 ميكروليتر من الأنزيم.

نضع الميكروبلاك في الحاضنة étuve مدة 10 دقائق في درجة حرارة 37°C .

بعد الحضن نضيف 50 ميكروليتر من 0.1% d'amidon و نحضنها مرة أخرى مدة 10 دقائق في درجة حرارة 37 °C، بعدها نضيف 25 ميكروليتر منHCl100ميكروليتر من IKI .

نحضر الشاهد بنفس الطريقة و نعوض مستخلص النبات بالميثانول .

نقرأ النتائج في جهاز lecteure microplaque على طول موجة 630 nm.(Zengin et al;2014).

حساب نسبة التثبيط :

$$\%INH=1-[(A_c-A_e)-(A_s-A_b)/(A_c-A_e)]$$

II.9- إختبار Phenolthroline

طريقة العمل

نحضر 0.5 mg من Phenanthroline في10 ml الماء المقطر .

نذيب 0.2 mgمن $FeCl_3$ في 10ml من الماء المقطر, نضع في chaquepuit de microplaque

10ميكروليتر من مستخلص النبتة (الميثانولي, الاسيتات, الكلوروفورميك , البوثانولي) , 50 $FeCl_3$

ميكروليتر من 10$FeCl_3$, 30 ميكروليتر من الفينولثرولين, 110 ميكروليتر من الميثانول .

نضع الميكروبلاك microplaque في الحاضنة étuve في الظلام مدة 20 دقيقة في درجة حرارة 30°C.نحضر الشاهد بنفس الطريقة و نعوض مستخلص النبات بالميثانول .

بعد الحضن نقرأ النتائج في جهاز Lecteur de microplaqueعلى طول موجة 510 nm . (Szydlowska-Czerniaka. A; 2008)

II.10-إختبار Acetylcholinesterase

طريقة العمل

نضع في الميكروبلاك 150ميكروليتر من pH 8.0 نضيف له 10 ميكروليتر من مستخلص النبتة (الميثانولي, الاسيتات , الكلوروفورميك , البوثانولي) , 20 ميكروليتر من الأنزيم نحضن الميكروبلاك في الحاضنة étuve مدة 15 دقيقة في درجة حرارة 25^0C .

بعد الحضن نضع 10 ميكروليتر منDTNB, نحضر الشاهد بنفس الطريقة و نعوض مستخلص النبات بالميثانول .

نقرأ النتائج في جهاز Lecteur de microplaqueعلى طول موجة 15 mn (Ellman, G.L .(1961

النتائج و المناقشة

III.1-النشاط المضاد للفطريات Antifongique

المرحلة الأول

جدول يوضح نتائج المرحلة الأولى

التركيز	النتيجة
1 mg / ml	✗
2mg /ml	✗
4mg/ml	✗
8mg/ml	✗
16 mg /ml	✗
الشاهد	✗

لا توجد نتيجة مرضية ضد فطر Fusarium في التراكيز المنخفضة للمستخلص الميثانولي.

المرحة الثانية

جدول يوضح نتائج المرحلة الثانية

التركيز	نسبة التثبيط
16mg/ml	5.66 %
32mg/ml	6.03%
64mg/ml	8.55%
128mg/ml	14.21%
256mg/ ml	22.64%

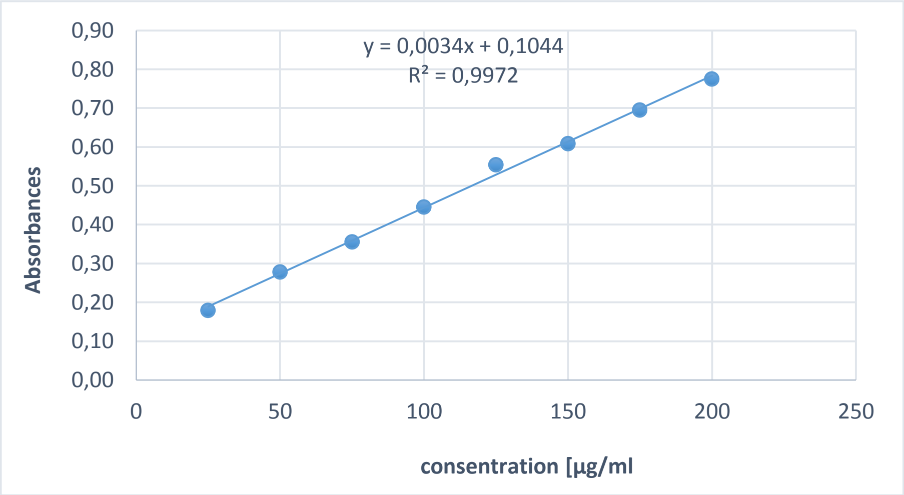
عند رفع التراكيز نلاحظ وجود نسبة تثبيط متوسطة و التي تصل إلى%22.64 في تركيز 256mg/ml.

نستنتج أن نبات العلندة له نشاط مضاد لفطر SP Fsarium متوسط.

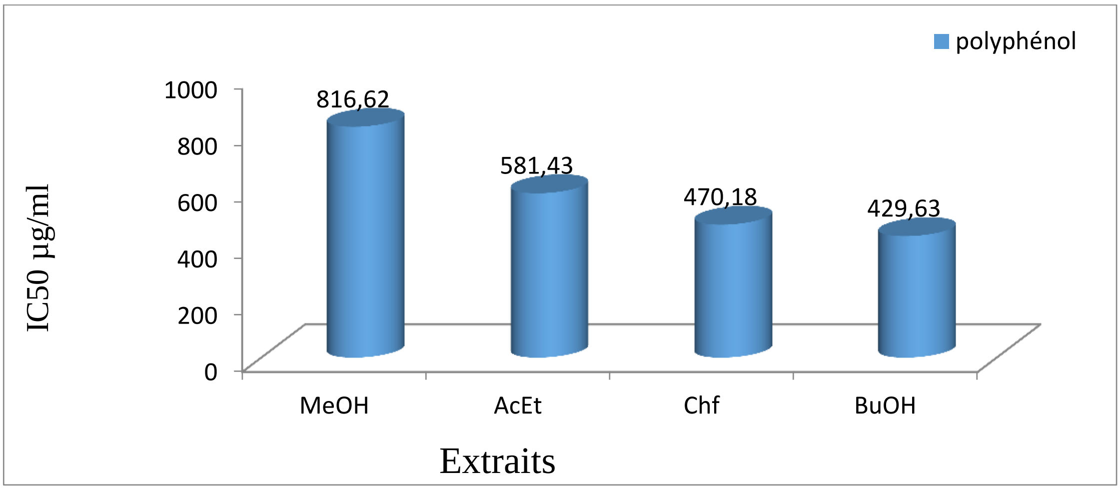
Total polyphénol-2.III

يتم تحديد محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشفFCRوفقًا لطريقة فحص الصفيحة الموصوفة بواسطة Muller et al. تم الحصول على اللون الأزرق الداكن كنتيجة .

يتم التعبير عن محتوى البوليفينول بـµg GAE/g، ويتم حسابها من منحنى معايرة حمض الغاليك أو كيرسيتين في نطاق تركيز من 200 إلى 3.125 ميكروغرام / مل. النتائج التي تم الحصول عليها لتحديد البوليفينول هي متوسط ثلاثة تكرارات زائد أو ناقص نسبة الخطأ . وفقا المعادلة y = a x + b.



شكل رقم 08: منحنى معايرة الكرستين.



شكل رقم 08: منحنى أعمدة يوضح نسبة البوليفينول في كل مستخلص من مستخلصات النبتة.

وفقا لمنحنى الأعمدة رقم (2) نلاحظ المستخلص الخامMeOHيحتوي على نسبة عالية من البوليفينول بنسبة 816.62µg GAE/g. انها كمية عالية ، لذلك فالميثانول تمثل اختيارًا جيدًا لاستخراج المستقلبات الثانوية. وقد أظهرت الدراسات أن المذيبات القطبية مثل الميثانول والإيثانول لديها استخلاص أفضل للمركبات الفينولية من المواد النباتية من المذيبات القطبية الأقل مثل الأسيتون والهكسان.

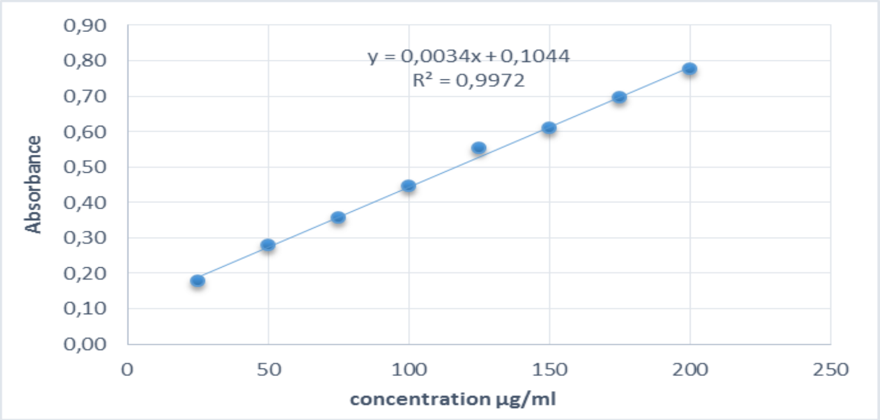
بمقارنة المستخلصات الأخرى مع بعضها البعض نلاحظ أن مستخلص AcEtيحتوي على النسبة الأكبر من التي تقدرب 581.43µg GAE/g أكثر من المستخلصات ChfوBuOH, التي تحتوي على نسبة 470.18 µg GAE /g 429.63 µg GAE/g على التوالي.

قد يكون هذا الاختلاف الكبير في محتويات الفينول بين المستخلصات ناتجًا عن حقيقة أن اختبار كاشف FCR ليس خاصًا بالبوليفينول ، ولكن يمكن أن تتفاعل العديد من المركبات مع هذا الكاشف مثل البروتينات ، السكريات ، التي تعطي نسبة عالية وواضحة من الفينول.

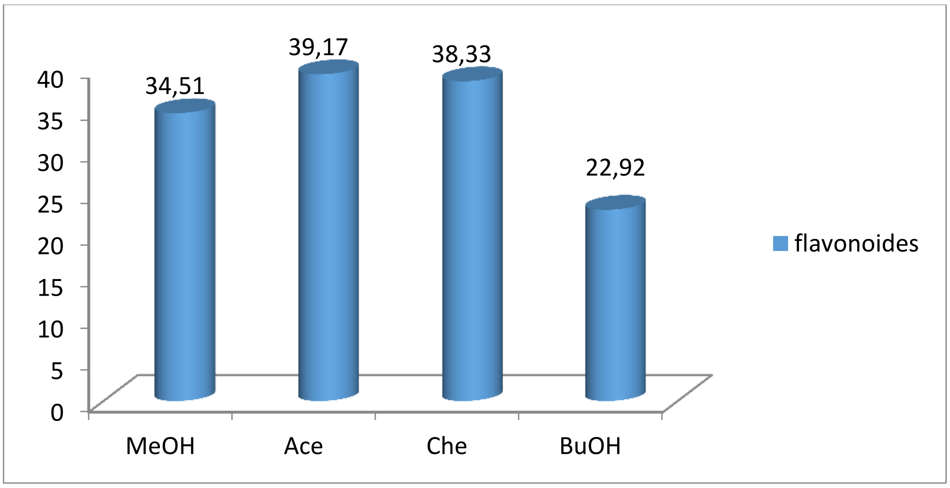
Total flavonoides -3.III

تم تقدير كمية الفلافونويدات وفقًا لطريقة (Topçu et al) ، بناءً على تكوين مركب بين Al^{+3} و flavonoids ، ويتم الحصول على النتيجة من خلال ظهور اللون الأصفر ، (انظر الشكل) [76] .

يتم التعبير عن محتوى الفلافونويداتب µg QE/g، ويتم حسابها من منحنى معايرة كيرسيتين في نطاق تركيز من 200 إلى 3.125 ميكروغرام / مل. النتائج التي تم الحصول عليها هي متوسط ثلاثة تكرارات زائد أو ناقص نسبة الخطأ .وفقا المعادلة y = a x + b.



شكل رقم10: منحنى معايرة الكرستين.



شكل رقم11: منحنى أعمدة يوضح نسبة الفلافونويدات في كل مستخلص من مستخلصات النبتة.

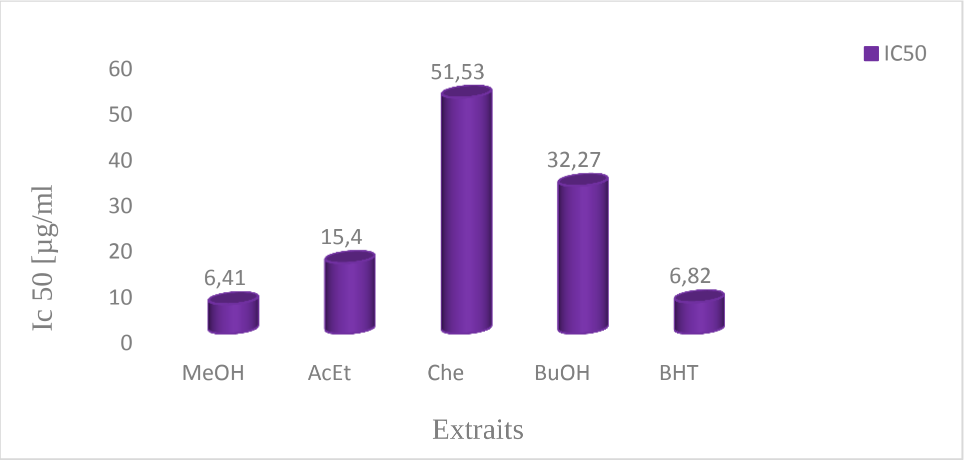
وفقا لمنحنى الأعمدة رقم (4) نلاحظ المستخلص الخام MeOH يحتوي على نسبة ضعيفة من الفلافونويدات34.51µg QE/g. تحتوي الكسور على نسبة أقل الفلافونويدات مقارنة مع المستخلص الخام ، وقد يكون هذا بسبب وجود تداخل بين المركبات المجودة في المستخلص الخام.

بمقارنة المستخلصات الأخرى مع بعضها البعض نلاحظ أن مستخلصAcEt وCheيحتويان على من الفلافونويدات التي تقدرب 39.17µg QE و/g 38.33µg QE/g على التوالي وهي النسبة الأكبر مقارنة بمستخلص BuOH(22.92 µg QE /g.

أو يمكن القول أن قابلية الذوبان العالية للفينولات في المذيبات القطبية تعطي تركيز عالٍ من هذه المركبات في المستخلصات التي تم الحصول عليها باستخدام المذيبات القطبية لاستخراجها

طبقًا لعمل(Yahaioui Amel et Silat Lamia,2018)البوليفينول ومحتوى الفلافونيدات كان منخفضًا جدًا ، إلا أنهم حصلوا على هذه النتائج عن طريق إجراء طريقة استخلاص مختلفة بحيث يصعب مقارنتها مع أعمال أخرى لأن محتوى المركبات الفينولية والمركبات الفلافونويديةتختلفوفقا لطرق الاستخراج .

III.5-إختبار Dpph



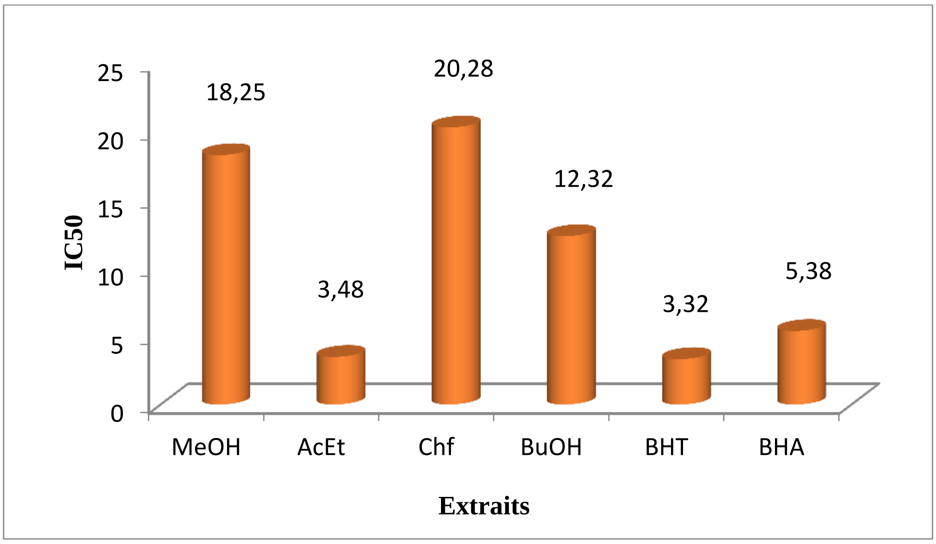
شكل رقم12: منحنى أعمدة يوضح نسبة IC50 لـdpphفي كل مستخلص من مستخلصات النبتة مقارنة مع الشاهد.

من خلال منحنى الأعمدة رقم (5) نلاحظ أن المستخلص الخام MeOHأظهر قيمة منخفضة جدا ل IC50تقدرب 6.41µg/ml مقارنة بالمستخلصات الأخرى و مقارنة مع الشاهد bhtو بالتالي نستنتج أن الميثانول أظهر قدرة قوية مضادة للأكسدة في إختبارdpph.

يحتوي مستخلصات الإيثانول على نشاط جيد مضاد للأكسدة في اختبار DPPH ، وقد يكون هذا بسبب المحتوى العالي من البوليفينوللأنه وفقًا لبعض الأعمال ، يرتبط نشاط مضادات الأكسدة في المستخلص بثرائه بمركب الفينول (Edeas, 2007) .

أظهرت أعمال(Yahaioui Amel et Silat Lamia,2018) لنفس النبات نشاطًا مضادًا الجدور تجاه الـ DPPH فيما يتعلق بمستخلص الميثانول كانت ضعيفة جدًا مقارنةً بنتائجنا ، ان المقارنة صعبة لأن العديد من العوامل تؤثر على نشاط مضادات الأكسدة .

6.III-إختبار Gor

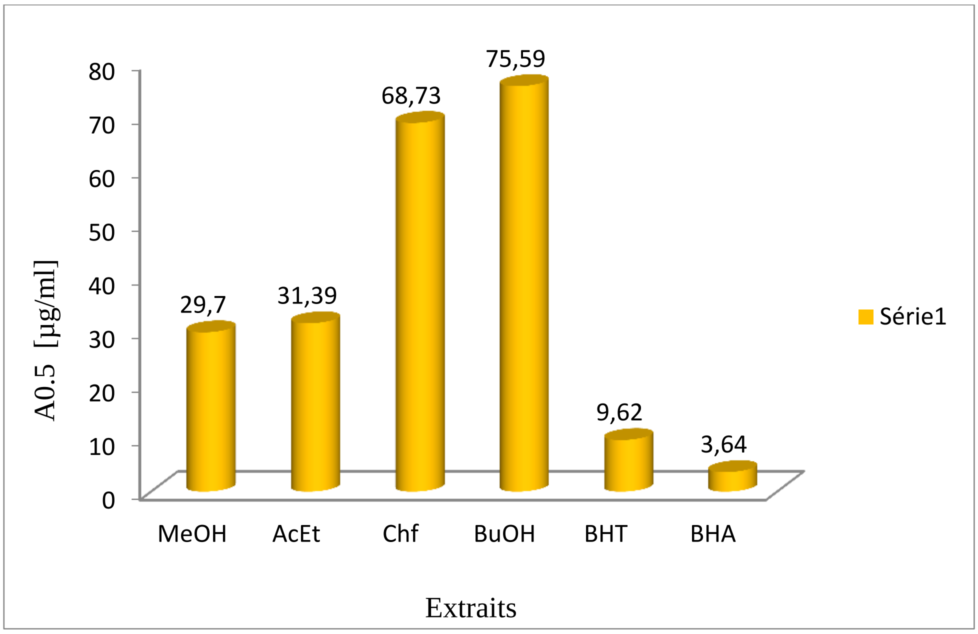


شكل رقم13: منحنى أعمدة يوضح نسبة IC50لـ gorكل مستخلص من مستخلصات النبتة مقارنة مع الشاهد.

من الشكل (6)، نلاحظ أنه من بين المستخلصات ، إن AcEt فقط هو الذي له قيمة IC50 منخفضة للغاية تبلغ 3.48 ميكروغرام / مل ، وبالتالي فإن هذا المستخلص له نشاط جذري جيد جدًا بالمقارنة مع المستخلصات الاخرى. إذا ما قورنت هذه القيمة نفسها بالقيمة المذكورة في المعايير ، فنجد انها منخفضة قليلاً مقارنةً بـ (bha 5.38 ميكروغرام / مل) وتتماثل تقريبًا معbht (3.32ميكروغرام / مل) ، يمكننا القول إن مستخلصأسيتاتالإيثيل لديه نشاط مضاد للأكسدة أعلى قليلاً مقارنةً بـ BHAو متماثل مع نشاط bht.

في هذا الاختبار ، كان المستخلصات أسيتاتالإيثيل ذو نشاط مضادات الأكسدة جيدًا جدًا مقارنة مع المستخلصات الخام ،الغني بالبوليفينول ، لكن لهقيمة منخفضة للفلافونويداتبالمقارنة مع مستخلص الاسيتات الاثيل ، اذن يمكن القول أن الفلافونويدات تلعب دور أكثر أهمية في الحد من مركب غوراكثر من الأنواع الأخرى من البوليفينول.

7.III-إختبار Cuprac



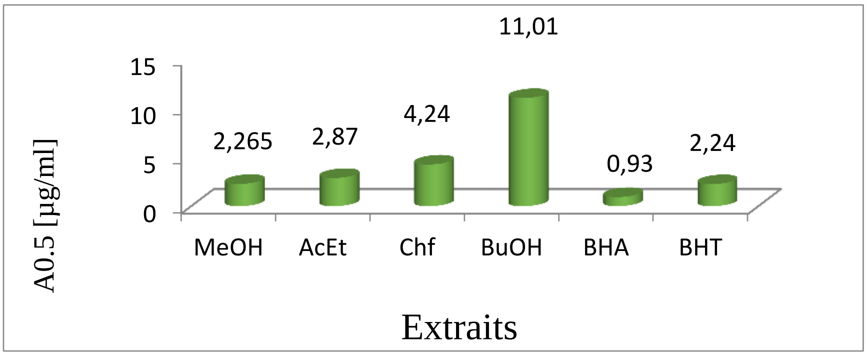
شكل رقم14: منحنى أعمدة يوضح نسبة IC50 لـcuprikفي كل مستخلص من مستخلصات النبتة مقارنة مع الشاهد.

من الرسم البياني الموضح في الشكل 7 ، وجد أن (29.7 ميكروغرام / مل)مستخلصMeOH و 31.39 ميكروغرام / مل)مستخلص AcEt لهما قيم IC50 متطابقة تقريبًا ومنخفضة جدًا مقارنة بقيم المستخلصات الأخرى. هذا يعني أن نشاط مضادات الأكسدة لهذين المستخلصين أكبر من نشاط مستخلصات الكلوروفورم والبيوتانول. بالمقارنة مع الشاهدان نلاحظ ان مستخلص الميثانول ومستخلص الاسيتاتالإيثيل لديهم قيمًا عالية جدًا حيث ان BHA تقدر قيمتها ب3.64ميكروغرام / مل و 3.64BHT ميكروغرام / مل) ، وبالتالي فإن الطاقة مضادات الأكسدة من جميع المستخلصات لا تضاهي أي من الشاهدان.

في هذا الاختبار ، كل المستخلصات لها نشاط ضعيف جدًا مقارنةً بالشاهد بالرغم من ثرائهم بالمركبات الفلافونويد و البوليفينول و هذه الظاهرة يمكن تفسيرها من خلال حقيقة أن المستخلصات فقيرة من الجزيئاتالقادرة على ارجاع مركب النيوكوبرين أو بسبب التداخل الناجم عن الجزيات الموجود في مختلف المستخلصات.

بالمقارنة مع عمل (Chili Mona Ryan et Razar Hager, 2018) فيما يتعلق اختبار CUPRAC ، فقد كشفوا عن نفس النتائج الذي هو نشاط معتدل مقارنة مع الشاهدان.

III.8- إختبار phenolthroline



شكل رقم15: منحنى أعمدة يوضح نسبة $A_{0.5}$ لـ phenanthroline في كل مستخلص من مستخلصات النبتة مقارنة مع الشاهد.

من الشكل الموضح اعلاه وجد أن المستخلصات الخام ومستخلص اسيتات الإيثيل قدمت قيمة 2.26 و2.87 µg/ml على التواليقريبان جدًامن بعضهما ومنخفضة جدًا مقارنة بالمستخلصات الأخرى .اذا تم مقارنة نفس المستخلصات مع الشاهدان ، وجد أن لها قيمة عالية مقارنةً بـ BHA وقريبة مع BHT ومن هذا نستنتج أن مستخلصات إيثيل الأسيتات والميثانول في نشاط مضاد للأكسدة جيد وقريب من النشاط الخاص ب الشاهد BHT.و هذا يعود الى ثراء المستخلصين من البوليفنول و الفلافونويد.

من خلال الإستعلام عن مختلف البيانات البيليوغرافية ، لم نجد أي عمل مماثل لاختبار phenanthroline.

III.9- إختبار Alpha-amylase

كشفت جميع المستخلصات نسبة تثبيط أقل من 50 % ، مما يعني أن أياً من المستخلصات غير قادر على تثبيط الإنزيم بطريقة فعالة.

تدعي بعض الدراسات أن المركبات الفينولية الموجودة في النباتات تمنع نشاط إنزيمات الكربوهيدرات-تحلل المياه مثل ألفا الأميليز و هذا مخالف مع نتائجنا و من هنا نستطيع القول انه ليس بالضرورة مركبات البوليفنول هي المسؤلة عن تثبيص هذا الانزيم و ان مركبات اخرى لم تكن موجودة بكثرة في مستخلصاتنا هي المسؤلة ربما.

من خلال الاستعلام عن مختلف البيانات البيليوغرافية ، لم نجد أي عمل لإختبار **alpha-amylase**.

III.10-إختبار Acetylcholinestérase

كشفت جميع المستخلصات نسبة تثبيط أقل من 50 % ، مما يعني أن أياً من المستخلصات غير قادر على تثبيط الإنزيم بطريقة فعالة وقد أثبتت العدد من الدراسات تثبيط AChE إلى الوجود les composée terpenique في المستخلصات و من هدا نستنتج ان مستخلصاتنا ليست غنية ب les composée terpenique

من خلال الاستعلام عن مختلف البيانات البيليوغرافية ، لم نجد أي عمل لاختبار **acetylcholinestérase** .

الخاتمة

الخاتمة

تهدف هذه الرسالة إلى دراسة الأنشطة البيولوجية: الأنزيمية (ألفا الأميليزوالأسيتيلكولينأستراز) ومضادات الأكسدة (DPPH، CUPRAC، GOR، Penanthroline) والنشاط المضاد للفطريات للنبات الإيفيدرا ألاتا وكذلك جرعة البوليفينولو الفلافونويدات.

لقد إستعملنا أربع مذيبات للحصول على أربعة مستخلصات هي المستخلصاتالخامالميثانولي,إيثيلالأسيتات ، ومستخلصات الكلوروفورميكوالبوتانول، والتي تم اختبارها و الجرعات.

كشفت النتائج عن مستويات عالية من البوليفينولو الفلافونويدات بقيمة 816.62 ميكروغرام GAE / جم و 39.17 ميكروغرام أسيتاتإيثيل على التوالي ، فيما يتعلق بالنشاط البيولوجي ، أظهر المصنع أي تثبيط تجاه الإنزيمات ألفا الأميليز و أستيل كولينأستريز من ناحية أخرى، فقد كشف عن نشاط جيد للغاية مضاد للأكسدة مقارنةً بالمعايير ولكن فقط للاختبارات DPPH GOR و phenanthroline ، بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات ، كشف النبات عن تثبيط متوسط ضد فطر Rusarim.

كانت النتائج مرضية لأن العلندة أثبتت نشاطًا جيدًا مضادًا للأكسدة و نشاط متوسط ضد الفطريات حتى لو لم يكن له أي تأثير مثبط للإنزيمات ، وذلك بمنظور يقترح التحقق من نشاطه من خلال دراسة في الجسم الحي ، اختبار النشاط على البكتيريا و فطريات أخرى.

الملخص

الملخص

هذا العمل يندرج في تثمين نبات العلندة Ephedraalata الذي ينتمي إلى العائلة العلندية Ephedraceae.الهدف من إجراء هذا البحث هو التحديد النوعي و الكمي للمركبات الفعالة الموجودة في نبات العلندة و دراسة نشاطها ضد الفطري , ضد التأكسدي و النشاط الأنزيمي .أثبت من خلال الدراسة النشاط ضد التأكسدي و ضد الفطري قدرة مستخلص Ephedraalata على تثبيط الجذور الحرة,وكذا فعالية تثبيطية متوسطة لفطر *Fusarium* .

أظهرت النتائج أن مستخلص الميثانول لعشبة العلندة له فعالية جد مرتفعة تفوق حتى المعيار في إختبار dpph بقيمة 6.41µg /ml مقارنة ب bht بقيمة 6.82µg/ml. أكدت النتائج أن مستخلص الاسيتاتالإثيل لعشبة العلندة له فعالية جد مرتفعة تفوق حتى المعيار في إختبار gor بقيمة 3.48µg/ml مقارنة ب bha بقيمة 5.38µg/ml.

الكلمات المفتاحية: *Ephedraalata* النشاط ضطالتاكسدي gor,Cuprik,dpph النشاط ضد الفطري , النشاط الأنزيمي phenoltroline,ACHE, alpha amylase.

Résumé

Ce travail entre dans la valorisation de plante Ephedraalata qui appartient à la famille Ephedraceae.

L'objectif de cette recherche est de quantifier et quantifier les activités antifongiques , les activités antioxydantes, et les activités enzymatiques. L'étude a montré que l'activité antioxydante et l'activité antifongique la capacité de l'extrait de Ephedraalata à inhiber les radicaux libres, ainsi qu'un effet inhibiteur moyen du champignon Fusarium.

Les résultats ont montré que l'extrait au méthanolique de Ephdraalata avait une efficacité très élevée, supérieure au standard, dans le test de dpph avec une valeur de 6.41µg /mlpar rapport au bht 6.82µg/ml. Les résultats ont confirmé que l’extrait d’acétate d’éthyle de L'herbe a une très haute efficacité qui dépassele standard dans le test de gor avec une valeur de 3.48µg/ml par rapport au bha 5.38 µg/ml

Les mots clées : Ephedraalata, dpph, cuprik,gor, alpha amylase,Ache,phenoltroline.

الملحق

الإختبار	وسائل العمل
إختبارGOR	مستخلص النبتة. الميثانول . . Galvinoxyl, free radical . Une micropipette . Microplaque . Lecteur de microplaque Tube eppendorf
إختبارCupric	مستخلص النبتة. الماء المقطر. الميثانول. . Acetate d’ammonium . Cu Cl2, 2H2O) . Neocupronin . Une micropipette . Microplaque . Lecteur de microplaque Tube eppendorf
إختبارl’α amylase	مستخلص النبتة . الميثانول . . Enzyme α-amylase . Amidon0.1% . HCl . Solution IKI . Tampon phosphate (PH 6.9) . Une micropipette . Microplaque . Lecteur de microplaque

الملحق

	Tube eppendorf
إختبار Acetylcholinesterase	**II.1.10- الوسائل** مستخلص النبتة . الميثانول . الماء المقطر. . NaHCO3, NaOH . DTNB . ACİ (Acetylcholine) .Galantamine .Une micropipette .Microplaque .Lecteur de microplaque Tube eppendorf
إختبار Phenolthroline	مستخلص النبتة . الماء المقطر . الميثانول. .Phenanthroline . Ferricchloride$FeCl_3$. Unemicropipette . Microplaque . Lecteur de microplaque Tube eppendorf

المراجع

المراجع العربية

موسوعة الأدوية(2008https ://www.altibbi.com). .

د. جيمسإيه .ديوك(2004). الصيدلية الخضراء، الطبعةالأولى، مكتبة جرير.

سعد والي (2016). النباتات الطبية و العطرية كلية الزراعة, قسم البستنة و هندسة الحدائق علوان.

عمران محمد إبراهيم(2016). النباتات الطبية و العطرية و إستخدماتها.

مجلة العلوم 1988.

محاضرات السنة الثالثة BPVمرغم رشيد 1995.

محمد السيد هيكل وعبد الرزاق عمر(1993). النباتات الطبية و العطرية, كييمياؤها, إنتاجها, فوائدها, منشأة المعارف باالأسكندرية .

محمود صالح سراج علي, يونس محمد الحسن (2002).تأثير إستتزراع النباتات الطبية البرية على خواصها الكميائية و الحيوية, التقرير النهائي المقدم إلى عمادة البحث العلمي, جامعة الملك فيصل (2002).

حسان قبيسي (1995).معجم الأعشاب والنبتات الطبية.

الموسوعة العربية .نباتات بادية الشام .تاريخ الولوج 18 أيار 2012.

موقع المرسال 2017 www.mersel..com.

موقع الوسطى 2014.www.el.com. wosta

موقع فكرة (2019..). www.fekra.com

موقع من كنوز الجزائر خنشلة المآثر و المعالم و صناعة الغد 2008/10/06.

المراجع

المراجع الأجنبية

Anonyme(2007). Diagnostic et recommandations sur l'avenir de l'agriculture et de l'agroalimentaire.

A. Owokotomo, O. Ekundayo, T. G. Abayomi, and A. V. Chukwuka(2015) .In-vitro anti-cholinesterase activity of essential oil from four tropical medicinal plants," *Toxicol. Reports*, vol. 2, pp. 850–857,

A.Kumaran and R. JoelKarunakaran, (2007). In vitro antioxidantactivities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India, LWT **40** ,344-352.

Apak, R., Guclu¨ , K.,Ozyurek, M., &Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence ofneocuproine: CUPRAC Method. Journal of Agricultural and FoodChemistry, **52**, 7970-7981.

BehvarAsghari, GokhanZengin, Mir BabakBahadori, Mahdi Abbas-Mohammadi,LeilaDinparast(2018). Amylase, glucosidase, tyrosinase, and cholinesterasesinhibitory,antioxidant effects, and GC-MS analysis of wild mint (Menthalongifoliavar.calliantha) essential oil: A natural remedy.European Journal of Integrative Medicine 22 (2018) 44-49

Blois M.S., 1958.Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.

CathrineGuette.Laboratoire d'oncologie.Centre lutte le cancer paulpapain 2 rue moll.

Ecologicalroles of naturalproducts of the Brazilian redseaweedLaurenciaobtuse, Braz. J. Bio. (2003), 63, (4), 667-672

المراجع

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherston, R.M., (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesteraseactivity.Biochem.Pharmacol.**7**, 88-95.

G.Zengin*etal*. ,(2014). A comprehensive study on phytochemical characterization ofHaplophyllummyrtifoliumBoiss.endemic to Turkey and its inhibitorypotential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseasesand type II diabetes.*Industrial Crops and Products* 53, 244-251.

GuirnarrdJ.L,henery.M.Cossonl.(1985)

H. Belal *et al*.,(2017). “in vitro comprehensive analysis of phytochemical screening, antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic activities of three different plants of bangladesh,” *wjpls*, vol. 3, no. 7, pp. 39–48,.

Hostettmann, O. Potterat, J. L. Wolfender., (1998), The potential ofhigher plants asa source of new drugs, Chimia, 52, 10-17. https://www.hakeemteam.com.

Lebrun JP, (1982).introduction à la flore d'Afrique. Faits et chiffres, IEMVT.89p

Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations.LWT - Food Science and Technology, **43**: 992–999

Pereira R. C., P. Da Gama B. A., Teixeira V. L., Yoneshigue-valentin Y. Singleton V.L and Rossi J.A.J. (1965).Colorimetry of total phenolicswithphosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.Amer. J. Enol. Viticult.**16**:144-58.

المراجع

Szydlowska-Czerniaka A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, SzlykE.(2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils byferric-ion spectrophotometric methods.Talanta 76, 899-905.

Année universitaire : 2018/2019	Présentée par : CHEURFI CHAIMA

دراسة النشاط البيولوجي لنبات العلندة EphendraAlata الناشئة في الشرق الجزائري (منطقة ششار)

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master
Immunologie Moléculaire et Cellulaire

Résumé

Ce travail entre dans la valorisation deplante Ephedraalataqui appartient à la famille Ephedraceae.

L'objectif de cette recherche est de quantifier et quantifier les -activité antifongique , les activités antioxydantes, et les activités enzymatiques. L'étude a montré que l'activité antioxydante et l'activité antifongique la capacité de l'extrait de Ephedraalata à inhiber les radicaux libres,ainsi qu'un effet inhibiteur moyen du champignon Fusarium.

Les résultats ont montré que l'extrait au méthanolique de Ephdraalata avait une efficacité très élevée, supérieure au standard, dans le test de dpph avec une valeur de 6.41µg /mlpar rapport au bht 6.82µg/ml.

Les résultats ont confirmé que l'extrait d'acétate d'éthyle de

L'herbe a une très haute efficacité qui dépassele standard dans le test de gor avec une valeur de 3.48µg/ml par rapport au bha 5.38 µg/ml.

Mots clés : Ephedraalata, dpph, cuprik,gor, alpha amylase,Ache, phenoltroline.

Laboratoire de recherche : Centre De Rechrche De Biotechnologie

Date de soutenance le : 25/06/2018

Membres du jury :

Présidente :	HAMOUDA BOUSBIA DOUNIA	**MCA**	**UFMC**
Rapporteur :	ZAAMAR MERIEM	**MCB**	**UFM**
Examinateur :	CHIBANI SALIH	**MCA**	**UFMC**