الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة قاصدي مرباح – ورقلة
كلية الرياضيات وعلوم المادة
قسم الكيمياء

مذكرة لنيل شهادة ماسترأكاديمي

تخصص كيمياء مطبقة

من إعداد : بوقرين سفيان ، زاوي جيلالي

بعنوان :

المساهمة في التعرف على المواد الفعالة لنبتة من عائلة Thymelaeaceae

نوقشت في 2020/09/30 أمام لجنة المناقشة :

علاوي عبد الفتاح	أستاذ محاضر-ب-	جامعة قاصدي مرباح-ورقلة	رئيسا
دقموش مسعودة	أستاذ محاضر-أ-	جامعة قاصدي مرباح-ورقلة	مناقشا
سمارة ونيسة	أستاذ محاضر-أ-	جامعة قاصدي مرباح-ورقلة	مؤطر
دندوقي حسين	أستاذ تعليم عالي	جامعة قاصدي مرباح-ورقلة	مساعد مؤطر

السنة الجامعية : 2020/2019

إهداء

إلى أعز الناس و أقربهم إلى قلبي والدتي العزيزة ووالدي العزيز اللذان كانا عونا لي طوال مشواري الدراسي.

إلى إخوتي (إسماعيل ، عماد ، حمزة) وأخواتي الأعزاء

(جيهان ، بثينة ، نسيبة ، هبة الرحمان) .

إلى من عمل معي بكد لإتمام هذا العمل صديقي : زاوي جيلالي

إلى أساتذتي الكرام و كل زملاء الدراسة .

إلى كل من ساندني وإلى كل من تمنى لي الخير والنجاح.
داعياً المولى عز وجل أن يطيل في أعماركم ويرزقكم بالخيرات.

سفيان

إهداء :

أهدي هذا العمل الى أمي الغالية بلعربي ذهيبة التي كانت سندي طيلة مشواري الدارسي.

إلى أبي عزيز الذي كان قدوتي في المثابرة والاجتهاد .

إلى أخوتي وأحبتي (العربي ، زهية ، سليمان ، أحمد).

إلى أخي وصديقي بوقرين سفيان.

إلى أصدقائي خاصة بن علي الحاج ،عبد القادر بن ذهيبة ،دلة عبد المالك ،صلاح الدين لحرش.

إلى كل الأساتذة الذين ساهموا في تكويني خلال مساري الدراسي.

إلى زملائي الذين شاركوني مقاعد الدراسة

إلى كل من تمنى لي الخير

جيلالي

شكر وعرفان :

قـال رسول الله صلى الله عليه و سلم:

"من لم يشكر الناس لم يشكر الله"

صدق رسول الله صلى الله عليه و سلم

الحمد لله على كل نعمه الصغيرة منها قبل الكبيرة، الحمد لله الذي وفقنا لإنجاز هذا العمل.

نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة سمارة ونيسة على قبولها الإشراف على هذا العمل والتي كانت لنا المشرف و الموجه و ذلك من خلال نصائحها و إرشاداتها القيمة خلال إنجاز هذا العمل .

كما نتقدم بالشكر الخالص للأستاذ دندوقي حسين على كل ما قدمه من نصح و إرشاد لنا .

نتقدم بالشكر الجزيل للأستاذ علاوي عبد الفتاح على قبوله ترأس اللجنة كما نشكر الأستاذة دقموش مسعودة على قبولها مناقشة المذكرة فلهما كل الشكر و العرفان للمجهود المبذول في تصفح هذه المذكرة .

كما نتوجه بالشكر إلى كل عمال المخبر البيداغوجي ، و رئيس و أعضاء مخبر البحث العلمي VPRS بالأخص الأستاذ بلقيدوم مهدي .

نتقدم بالشكر الخاص إلى عمال الإقامة الجامعية بن التلي الشيخ وإلى كل زملاؤنا الذين تقاسموا معنا الأوقات الطيبة ونتمنى السداد و التوفيق إلى كل طلبة الكيمياء.

الفهرس

قائمة الجداول III
قائمة الأشكال IV
قائمة الإختصارات VI
مقـدمة 2
الجزء النظري 3

1.1 الفصل الأول : دراسات حول النبتة 5
1.1.1 العائلة المثنانية Thymelaeaceae 5
2.1.1 سمية العائلة 5
3.1.1 استعمالات العائلة 5
4.1.1 تصنيف عائلة الثيميلية Thymelaeaceae 6
6.1.1 الجنس thymelea 6
7.1.1 أنواع Thymelaea 6
8.1.1 النوع .Thymelaea hirsuta (L) 7
الأسماء الشائعة 7
التصنيف النظامي للنبتة .Thymelaea hirsuta (L) 7
9.1.1 الوصف المورفولوجي للنبتة Thymelaea hirsuta(L.) 8
10.1.1 التوزيع الجغرافي 8
11.1.1 التركيب الكيميائي 9
12.1.1 الإستعمالات 10

2.1 الفصل الثاني : المواد الفعالة (نواتج الأيض الثانوي) 13
1.2.1 تعريف 13
2.2.1 تصنيف نواتج الأيض الثانوي 13
3.2.1 المكونات النشطة في للنبتة الطبية و فعاليتها 14
4.2.1 المركبات الفينولية 15
5.2.1 الفلافونيدات Flavonoids 15
6.2.1 الليجنانات Lignanes 17
7.2.1 الكومارينات : 19
كومارينات بسيطة 20
كومارينات ثنائية 20
كومارينات ذات حلقة فيورينية Furanocoumarins 21
كومارينات ثلاثية 21
8.2.1 الأحماض الفينولية 22
9.2.1 التربينات 23
التربينات الأحادية Monoterpenes 23
التربينات الثنائية Diterpenes 24

التربينات الثلاثية triterpenes 25

3.1 الفصل الثالث :الدراسة البيولوجية والدراسات السابقة 28
1.3.1 الفعالية المضادة للأكسدة 28
1.1.3.1 الجذور الحرة 28
2.1.3.1 مضادات الأكسدة :..... 28
2.3.1 إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH 28
3.3.1 إختبار تثبيط الجذر الحر +ABTS 29
4.3.1 النشاط المضاد للكولينستريز anti-cholinesterase 29
5.3.1 النشاط المثبط لأكسيداز الزانثين..... 29
6.3.1 الدراسات السابقة لنبتة المثنان 30
7.3.1 الدراسة الأولى 30
8.3.1 الدراسة الثانية 30
9.3.1 الدراسة الثالثة 31
10.3.1 الدراسة الرابعة..... 33
11.3.1 الدراسة الخامسة 36
الجزء العملي 37

1.2 الدراسة التطبيقية..... 38
1.1.2 تحضير النبتة..... 38
2.1.2 الإختبارات الكيفية 40
3.1.2 الإستخلاص..... 42
4.1.2 الاستخلاص بالنقع البارد..... 42
5.1.2 استخلاص صلب – سائل 42
6.1.2 استخلاص سائل - سائل 42
7.1.2 مردود الإستخلاص..... 43

2.2 نتائج الدراسة التطبيقية 46
1.2.2 الإختبارات الكيفية 46
2.2.2 تفسير النتائج..... 47
3.2.2 نتيجة..... 48
4.2.2 مردود الإستخلاص 48
الخلاصة العامة 51
المراجع 52

قائمة الجداول

رقم الجدول العنوان الصفحة

جدول 1 : التركيب الكيميائي لنبات Thymelaea hirsuta 10

جدول 2 : مختلف المركبات المكتشفة في النبات. 14

جدول 4 : يمثل بنية المركبات المفصولة من قبل عماري 31

جدول 5 : يوضح بنية المركبات المفصولة من قبل يحياوي 33

جدول 6 : نتائج الكشف الكيميائي 46

جدول 7 : مردود المستخلصات المتحصل عليها 49

جدول 8 : نتائج النشاط مضاد الزهايمر، الزانثين أوكسيداز XOD ،الخلايا السامة 49

قائمة الأشكال

رقم الشكل العنوان الصفحة

الشكل 1: (أ، ب) يمثل صورة عن الجزء الهوائي للنبتة المثنان 8

الشكل 2 : خريطة توزيع العائلة Thymelaeaceae في العالم 9

الشكل 3 : الفلافونويدات الأكثر شيوعا في العائلة Thymelaeaceae 16

الشكل 4 : فلافونيدات ثنائية 16

الشكل 5 : فلافونيدات ثنائية من نوع furanobiflavonoides 17

الشكل 6 : ليجنان ذو حلقة فيورانية dihydrosésamine 18

الشكل 7 : ليجنان بأكثر من حلقة فيورانية 18

الشكل 8 : (1):ليجنان كوماريني،(2):ليجنان لاكتوني 19

الشكل 9 : كومارينات بسيطة 20

الشكل 10 : كومارينات ثنائية. 20

الشكل 11 : مركب eriocephalus Lasiosiphon 21

الشكل 12 : كومارينات ذات حلقة فيورينية. 21

الشكل 13 : كومارينات ثلاثية 21

الشكل 14 : احماض فينولية وجدت في نبتة المثنان 22

الشكل 15 : التربينات الأحادية 23

الشكل 16 : التربينات الثنائية 24

الشكل 17 : امثلة على التربينات الثنائية 24

الشكل 18 : التربينات الثلاثية 26

الشكل 19 : تفاعل الـ DPPH 28

الشكل 20 : مركبات Daphane Diterpenes 30

الشكل 21 : Herisine A 32

الشكل 22 : Herisine B 32

الشكل 23 : منطقة جني نبتة المثنان 39

الشكل 24 : مخطط تفصيلي لطريقة الإستخلاص 44

قائمة الإختصارات

الإختصار	المعنى
DPPH :	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
ABTS :	azinobis-(3 ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid-2,2)
Ach :	أسيتيل كولين
Ache :	أسيتيل كولين أستراز
XOD :	مثبط أكسيداز الزانثين
CCM :	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
HPLC :	الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء
IC_{50} :	تركيز المستخلص اللازم لتثبيط 50% من الجذر الحر
MCF-7 :	خلية سرطان الثدي البشري
OVCAR :	خلية سرطان القولون
MTT :	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
µl :	ميكرولتر
mM :	ميليمول
UV/VIS :	مطيافية الفوق البنفسجي و المرئي

مقدمة

مـقـدمة :

منذ القدم إستخدم الإنسان النبات كمصدر رئيسي للطعام ومع مرور الوقت تطورت إستخداماته للثروة النباتية فجعل منها أدوية وعلاجات للأمراض المختلفة،فوفقا لبعض التقديرات فإن حوالي 60-75% من سكان العالم و 80%إفريقيا يستخدمون الطب التقليدي الذي غطى احتياجتهم العلاجية [1], [2].هاته العلاجات التقليدية رغم نجاعتها لمدة طويلة الا أن المركبات النشطة فيها بقيت مجهولة حتى القرن التاسع عشر الذي إنطلقت فيه عزل المركبات الذي ساهم في معرفة بنيتها وجعل ممن الممكن الانتقال من علاج تقليدي غالبا مايكون تجريبيا غير موثوق الى علاج مقبول علميا . اعتمادا على بعض الاحصائيات الحديثة فإن ثلثي من الأدوية التي يتم تسويقها حاليا من أصل طبيعي وحوالي 60% بالنسبة الادوية المضادة للسرطان و 75% منها المعدة للأمراض المعدية[3], [4].

رغم الاكتشافات الجديدة في الانواع النباتية إلا أن الدراسات لها حول نشاطها البيولوجي وتركيبها لازال قليلا ن فمن بين 300000 نوع نباتي تم تسجيله 15% خضع للدراسة منها 6% تم فحص نشاطه البيولوجي . في الوقت الحاضر يشكل إكتشاف عقاقير جديدة من أصل طبيعي ذات تاثير مضاد للأكسدة ومضاد للسرطان محورا مهما على المستوى العالمي .في الجزائر تشكل الامراض المعدية ذات أصل فطري أحد الأمراض الاكثر إنتشارا وفقا لإحصائيات الأمراض [5].

التنوع الجغرافي جعل من الجزائر موقع غني بالانواع النباتية التي تتمتع بخصائص دوائية حقيقة من بين هاته الانواع نبات المثنان الذي يستخدم تقليديا في علاج الالتهابات الجلدية ،مضاد للسكر ، إرتفاع ضغط الدم وكمطهر ، فبرغم من الاستحدامات التقليدية المفيدة للمثنان الا أن طبيعة المحتوى المسؤول عن نشاطها العلاجي مزال مجهولا فكان الهدف من دراستنا تعميق المعرفة حول النبة من خلال فحص المحتوى الكيميائي وتحديد المركبات المسؤول عن ذلك وكذلك تقييم بعض الانشطة البيولوجية لها.

تتلخص الاجزاء الرئيسية لهذا العمل على النحو التالي : الباب الأول ينقسم الى أربع فصول الفصل الاول :خصص بشكل رئيسي لعرض معلومات ببيوغرافية عن النبة أما الفصل الثاني فكان توضيح للمركبات الكيميائية (نواتج الايض الثانوي) بينما الفصل الثالث مجموعة من التعريفات لبعض الأنشطة البيولوجية في الاخير الفصل الرابع فكان عرض لبعض نتائج الدراسات السابقة . الباب الثاني ينقسم الى ثلاث فصول : الفصل الأول يتمحور حول الجانب التطبيقي اما الفصل الثاني كان حول الأعمال التجربية السابقة بينما الفصل الأخير كان عرض للنتائج ومناقشتها. فالاخير تم الاختتام بخلاص تلخص أهم النتائج المتحصل عليها من خلال الدراسات وتقديم وجهة نظر حولها وتقديم بعض المقتراحات والتطلعات المستقبلية حول النبة .

الجزء النظري

الفصل الاول

دراسات حول النبتة

الجزء النظري

1.1 الفصل الأول : دراسات حول النبتة

1.1.1 العائلة المثنانية Thymelaeaceae

تعد هذه العائلة عائلة صغيرة تنتمي إلى ذوات الفلقتين وهي تتكون من 67 جنس مقسمة إلى 1200 نوع [6]، لدى هاته العائلة مجموعة متنوعة من الاستخدامات ، مما يمنحها أهمية اقتصادية كبيرة في المناطق التي تنمو فيها.

2.1.1 سمية العائلة

سمية العائلة المثنانية معروفة منذ القدم لدى الإنسان و حتى على بعض الأنواع الحيوانية نظرا لإحتوائها على مطهرات قوية مثل diterpènes ، tigliane و daphnaneالتي تسبب التهابات شديدة عند ملامستها الجلد والاغشية المخاطية .

أعراض السمية الناتجة ثابتة نسبيا عند تناول المواد النباتية المثنانية وقد تم توثيقها في وصف

(Von Oettingen 1958) من بين الأعراض التي لوحظت عند الإنسان بعد تناول لحاء و توت Daphne mezereum إلتهاب الشفتين واللسان والبلعوم و جفاف الفم والصداع ، وآلام البطن ، والتقيؤ ، والإسهال مع البراز الدموي والمائي ، والبول الدموي ، وبطء التنفس ، والنبض السريع، لشحوب ، البرد والرطب ، خفقان العضلات ، الهذيان والنعاس التي قد تستمر لعدة أيام.[7]

3.1.1 استعمالات العائلة

رغم السمية المعروفة لدى هذه العائلة إلا أنها تستخدم في مجالات واسعة في الطب مثل استخدماها كمطهرات،علاج للأمراض الجلدية ، للدغات الثعابين والعقارب ، ضد الملاريا حيث تستخدم بجرعات ضعيفة .

كما أن لها استعمالات غير طبية كالصيد ، مواد البناء والزينة ،الورق ،الحبال و البخور .

4.1.1 تصنيف عائلة الثيميلية Thymelaeaceae : [6]

المملكة	Plants	Kingdom
تحت التقسيم	Angiospermae	Subdivision
تحت القسم	Archichlamydee	Subclass
الرتبة	Myrtiflorae	Order
تحت الرتبة	Thymelaeineae	Suborder
العائلة	Thymelaeaceae	Family

5.1.1 الجنس thymelea

يحتوي هذا الجنس على حوالي 30 نوع، هونبات تابع للعائلة المثنانية Thymeleaceae "المعروف باسم "المثنان". تم استخدام بعض أنواع هذا الجنس في الطب التقليدي.

6.1.1 أنواع Thymelaea [8]

- Thymelaea antiatlantica Maire
- Thymelaea aucheri
- Thymelaea broteriana Cout.
- Thymelaea calycina (Lapeyr.) Meisn.
- Thymelaea cilicica
- Thymelaea coridifolia (Lam.).
- Thymelaea dioica (Gouan) All.
- Thymelaea granatensis Pau exLacaita
- Thymelaea gussonei
- Thymelaea hirsuta (L.).
- Thymelaea lanuginosa (Lam.)
- Ceballos & C.Vicioso
- Thymelaea lythroides
- Thymelaea mesopotamica
- Thymelaea microphylla Coss et Dur
- Thymelaea myrtifolia
- Thymelaea nitida (Vahl).
- Thymelaea passerina (L.) Coss. &Germ.
- Thymelaea procumbens A.Fern. &
- R.Fern.
- Thymelaea pubescens (L.) Meisn.
- Thymelaea putorioides
- ThymelaearuiziiLoscos ex Casav.
- Thymelaea salsa
- Thymelaea sanamunda All.
- Thymelaea sempervirens
- Thymelaea subrepens
- Thymelaea tartonraira (L.) All.
- Thymelaea tinctoria (Pourr.)
- Thymelaea velutina Meiss.
- Thymelaeavirescens
- Thymelaeavillosa(L.)

أما في الجزائر فتتواجد 8 أنواع:[9]

T . velutina, T . virgata, T . nitida, T . virescens, T. microphylla, T. Meisn, T. hirsuta, T.passerine.

7.1.1 النوع .Thymelaea hirsuta (L.)

الأسماء الشائعة :[9] [10]

- الإسم بالعربية :المثنان "Methnane "
- الاسم بالفرنسية :Passerine hérissée, Passerine hirsute, Thymélée hirsute
- الاسم بالإنجليزية :Hairy Thymelaea

التصنيف النظامي للنبتة .Thymelaea hirsuta (L.):[6]

شعبة	Spermatophyta	Phylum
تحت شعبة	Angiospermes	Sub- Phylum
الصف	Dicotyledonae	Classe
تحت الصف	Rosidae	Sub-Classe
الرتبة	Malvales	Ordre
العائلة	Thymelaeaceae	Family
تحت العائلة	Thymelaeoideae	Sub-family
الفصيلة	Gnidieae	Tribe
الجنس	*Thymelaeae*	Genus
النوع	*T. hirsuta* (L.).	Especie

8.1.1 الوصف المورفولوجي للنبتة Thymelaea hirsuta(L.) : [7] [9]

نبات معمر لا يزيد ارتفاعه عن المتر الواحد ، يتميز بجدع خشبي قوي يحمل العديد من الفروع المتدلية بها اوراق صغيرة عديدة طولها يصل الى 5 مم متداخلة نوعا ما فيما بينها، لامعة وسميكة ذات وجهين :

الوجه العلوي مزجج ، لامع أما الوجه السفلي : قطني .

مع أزهار صغيرة مع 4 بتلات صفراء، مزهرة على مدى فترة كبيرة من السنة ،في الظروف المناخية المواتية يبدأ الإزهار من أكتوبر إلى غاية أفريل .

الشكل 1: (أ، ب) يمثل صورة عن الجزء الهوائي للنبتة المثنان .

9.1.1 التوزيع الجغرافي [9]

تتوزع هذه العائلة في المناطق الاستوائية و المعتدلة حراريا.

عالميا : البحر المتوسط: من أسبانيا إلى اليونان، جنوب تركيا و كذلك من المغرب إلى مصر، لبنان وفلسطين.

الشكل 2 : خريطة توزيع العائلة Thymelaeaceae في العالم .

10.1.1 التركيب الكيميائي [6] [8] [6]

التركيب الكيميائي كان موضوع العديد من الدراسات و الأبحاث العلمية التي أظهرت مدى احتواء النبتة على العديد من المركبات الكيميائية : كالتربينات ،الفلافونويدات ،الكومارينات ،الليجنانات و الأحماض الفينولية .

كما تم استخلاص العديد من المكونات الأساسية أي المواد الفعالة من المستخلصات فعلى سبيل المثال التربينات من نوع Tigilane; Daphane . كما تم عزل العديد من المركبات الفينولية مثل :genkwanin ، kaempferol.

والجدول1 يلخص كل المركبات التي تم عزلها من نوع Thymelaea hirsuta L التي هي محل دراستنا.

جدول 1 : التركيب الكيميائي لنبات *Thymelaea hirsuta* .

الجزء المدروس	المركب المستخلص	المرجع
الأوراق	Thymélol ((C3H2O)n)	[10]
	Stigmasterol, ß-Sitosterol, Alcoolaliphatique $C_{12}H_{22}O$, Lactone $C_{19}H_{18}O_6$	[10]
	Alcanes en $C_{27\ à\ 31}$, alcanols en $C_{22, 24, 26\ et\ 28}$, ß-Sitostérol et Campestérol	[14]
	Daphnorine, Daphnorétine, Daphnine,Daphnétine, Daphnétine-glucoside, Ombelliférone, Scopolétine et Esculétine (coumarines)	[14]
	2-vicénine (C-flavone)	[6]
	Tiliroside (3-p-coumaroyl glucosyl kaempférol) (flavanol)	[15]
	Lupéol, ß-Sitostérol, Phytol, ß-amyrine, Bétuline, Erythrodiol, Cholestérol et Lanostérol	[10]
	Tanins	
أوراق و أغصان	5,12-dihydroxy-6,7-époxy-résiniféronol	[14]
	Gnidicine, Gniditrine, Genkwadaphnine, 12-O heptadécenoyl-5-hydroxy-6,7 époxyrésiniféronol-9,13,14-orthobenzoate et 12-Obutényl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol-9,13,14-orthobenzoate (diterpènesdaphnane)	[12]
جذور	Daphnorétine (éther dedicoumaryl)	[10]

11.1.1 الإستعمالات

في الطب التقليدي استعملت النبتة المدروسة Thymelaea hirsuta (L.) كمضاد للتعفن ومضاد للإلتهاب، كعلاج للسكري ومضاد للأكسدة[13] ،يستخدم كمسهل و لتقليل تورم الخراج. كما انها تستخدم في الطب البيطري كعلاج لنزلات البرد عند الحيوانات [9]. و له خصائص مطهرة ، ارتفاع ضغط الدم ، ضد الأمراض الجلدية ،مضاد للسرطان [16] . كما للنبتة استعمال مهم في

علاج الامراض المعوية مثل داء الاسكارس (roundworms) و كذلك الأقصورة او ما يعرف بالدودة الدبوسية (oxyures).كما تم استخدام النبتة كمضادة للأورام [16]، و لها استعمالات اخرى في الطب الشعبي فهي تستخدم ضد لدغات الثعابين و هي ايضا مصدر للالياف الورقية [6].

الفصل الثاني

نواتج الأيض الثانوي

2.1 الفصل الثاني : المواد الفعالة (نواتج الأيض الثانوي)

1.2.1 تعريف [17]

تنتج النباتات تشكيلة واسعة ومتنوعة من المركبات العضوية ، لا يبدو أن الغالبية العظمى منها تشارك مباشرة في نمو و تطور النبات . وغالبًا ما يتم توزيع هذه المواد - التي يشار إليها باسم نواتج الأيض الثانوي - بين المجموعات التصنيفية المحدودة داخل المملكة النباتية. حيث يتم توضيح وظائفهم ، التي لا يزال الكثير منها غير معروف ، على النقيض من ذلك ، توجد نواتج الأيض الأولي ، مثل الفيتوستيرول ، دهون الأسيل ، النيوكليوتيدات ، الأحماض الأمينية ، والأحماض العضوية ، في جميع النباتات وتؤدي أدوارًا أيضية ضرورية .

2.2.1 تصنيف نواتج الأيض الثانوي [18]

يمكن تصنيف نواتج الأيض الثانوية إلى ثلاث مجموعات رئيسية: المركبات الفينولية ، قلويدات وتربينات . كل فئة من هذه الفئات تحتوي على مجموعة واسعة جدا من المركبات التي لديها مجموعة واسعة جدا من الأنشطة في علم الأحياء البشرية.

لقد أجريت العديد من الدراسات على هذه العائلة تم خلالها عزل العديد من المركبات تتمثل في : الزيوت الأساسية ، التربينات ، الكومارينات ، الليجنينات ، الفلافونيدات .

و سنتطرق إلى مختلف المركبات التي تم الكشف عنها و دراستها سواء في العائلة أو في الجنس .

3.2.1 المكونات النشطة في للنبتة الطبية و فعاليتها : [19]

جدول 2 : مختلف المركبات المكتشفة في النبات.

المركبة	فعاليتها	أمثلة
• فينولات Phenols • الزيوتالطيارة volatiles Huilles • فلافونويدات flavonoides • كومارينات Coumarine • تانينك Tanins • صابونين Saponines • جليكوسيدات القلب Glycosides cardiques • القلويدات Alcaloides	• مضاد للالتهابات ، خصائص مطهرة و مضادة للأكسدة. • مهدئ ومضاد للالتهابات ،مبيدات الحشرات. • لصباغ ، مضادات الأكسدة ، تساعد في الدورة الدموية . • مضادة للتخثر ومضادة للتشنج . • مضاد للأكسدة و مضاد للالتهابات . • لها تأثير هرموني ومضادة للالتهابات. • مهدئ و الاسترخاء بجرعات منخفضة . • مجموعة مكونات متنوعة بعضها لها تأثير طبي .	• حمض السليسيلك ، الموجود في لحاء الصفصاف. • زيت شجرة البلقاء أو الشاي (Melaleuca altemfolia) . • موجود في جلد والحاء الأبيض للبون . • مركب esculine موجود في الكستناء الهندي. • مركب Catéchine موجودفي بندق الساحرة . • مركب Dioscine موجود في اليام البري . • مركب Sambunigrine موجود في التوت الأسود . • المورفين ، الكافين ، مركب موجود في الخشخاش .

4.2.1 المركبات الفينولية [16]

تشكل مركبات الفينول أو متعدد الفينول عائلة من المركبات المكتشفة و المنتشرة على نطاق واسع في المملكة النباتية.تشكل هذه المركبات المكونات النشطة الموجودة في النباتات الطبية ، بالإضافة إلى صعوبة إنتاجها. تقوم هاته المركبات بدور هام في الغذاء كللفواكه والخضروات وتأثيرها على صحة المستهلك (تأثير مضادات الأكسدة وتأثير وقائي ضد ظهور أنواع معينة من أنواع السرطان).

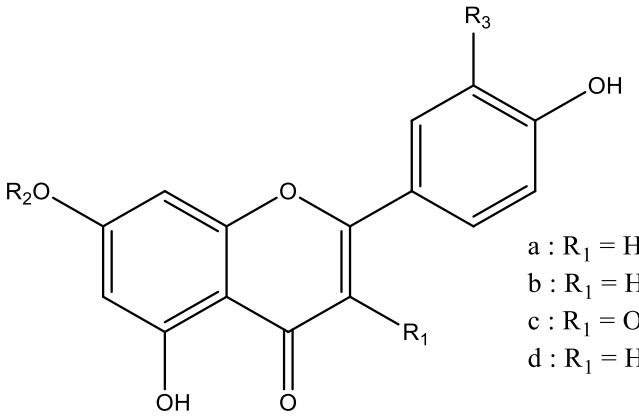
يمكن تقسيم المركبات الفينولية في مجموعتين رئيسيتين: الأحماض الفينولية (الفينولات البسيطة) ، الفلافونويدات ، اللجنان ، ستيلبن ، الكومارين والتانينات.

5.2.1 الفلافونيدات Flavonoids [19]

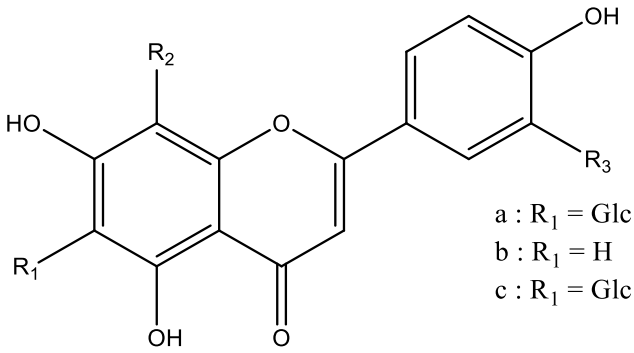
يشير مصطلح الفلافونويد إلى مجموعة واسعة جدًا من المركبات الطبيعية التي تنتمي إلى عائلة البوليفينول، فهي تعتبر أصباغ عالمية تقريبًا للنباتات ، وغالبًا ما تكون مسؤولة عن تلوين الأزهار والفواكه وفي معظم الاوقات تتواجد الفلافونويدات في حالتها الطبيعية في شكل heterosides. ومما يميز العائلة المثنانية thymelaeacea احتوائها على: flavonols ، flavones،flavanones ، C-biflavonoides و glycosylflavones .

الفلافونويد الأكثر شيوعًا في Thymelaeaceae هي مشتقات الـ méthylés ،

O-glycosylated مثل apigenin ، genkwanin ، kaempferolو lutéoline.كما تتواجد مركبات *C*-glycosy lflavones مثل orientine ، vitexineو isovitexine.[5] الموضحة في الشكل 3 :



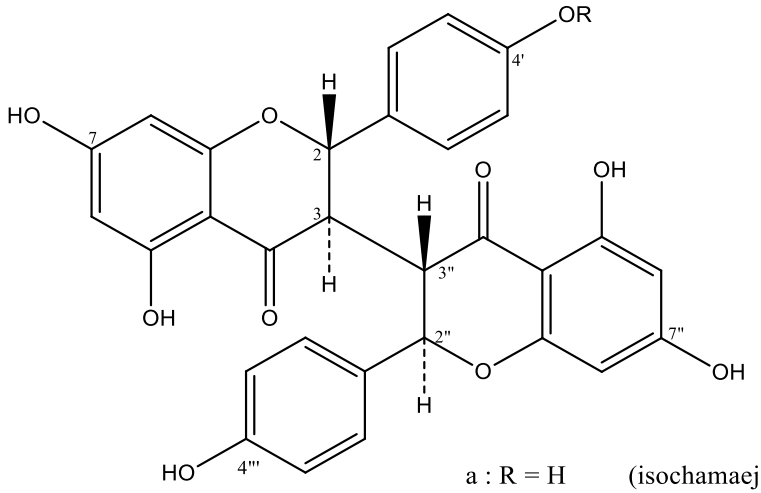
a : $R_1 = H$ $R_2 = H$ $R_3 = H$ (apigénine)
b : $R_1 = H$ $R_2 = CH_3$ $R_3 = H$ (genkwanine)
c : $R_1 = OH$ $R_2 = H$ $R_3 = H$ (kaempférol)
d : $R_1 = H$ $R_2 = H$ $R_3 = OH$ (lutéoline)



a : R_1 = Glc R_2 = H R_3 =OH (orientine)
b : R_1 = H R_2 =Glc R_3 = H (vitexine)
c : R_1 = Glc R_2 = H R_3 = H (isovitexine)

الشكل 3 : الفلافونويدات الأكثر شيوعا في العائلة Thymelaeaceae .

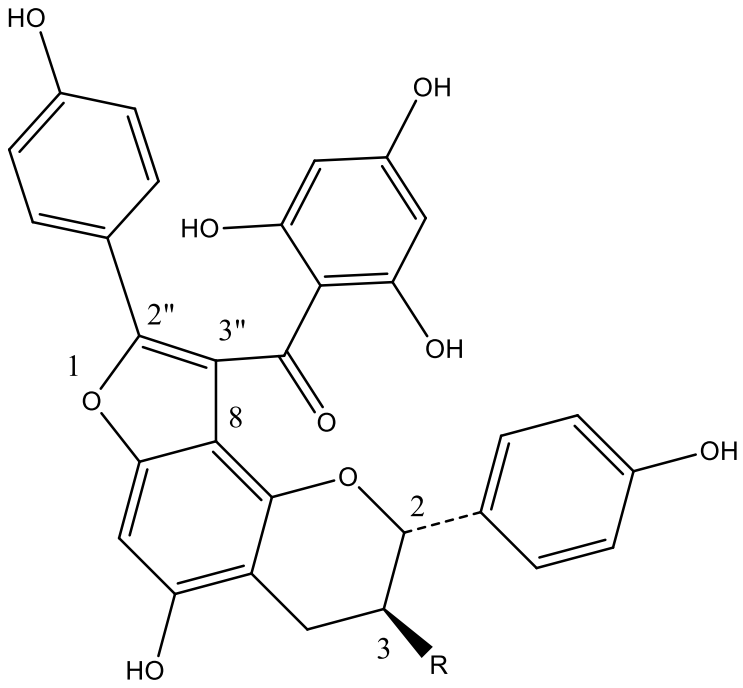
وفي دراسة أجريت في الصين تم عزل فلافونيدات ثنائية من جذور نبتةStellera chamaejasme. [6] المبينة في الشكل -4- :



a : R = H (isochamaejasmine)
b : R = CH_3 (sikokianine C)

الشكل 4 : فلافونيدات ثنائية .

كما تم عزل فلافونيدات ثنائية من نوع furanobiflavonoides من نبتة Daphne odora Thunb وتركيبها موضح في الشكل -5- : [20], [21]



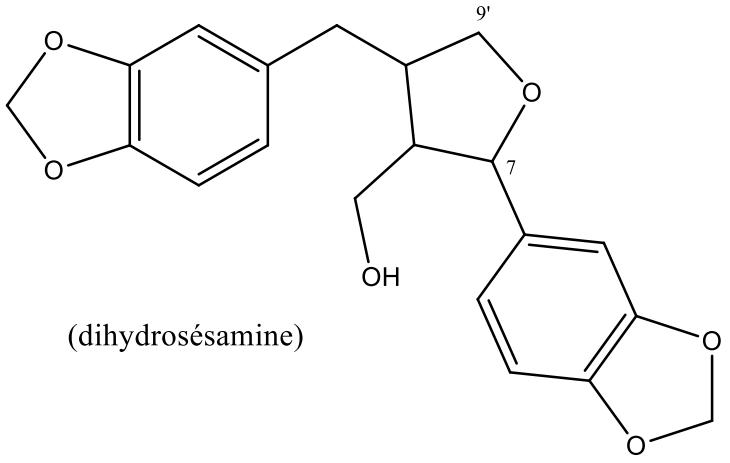
a : R = H (daphnodorine A)
b : R = OH (daphnodorine B)

الشكل 5 : فلافونيدات ثنائية من نوع furanobiflavonoides .

6.2.1 الليجنانات Lignanes :[17] [5]

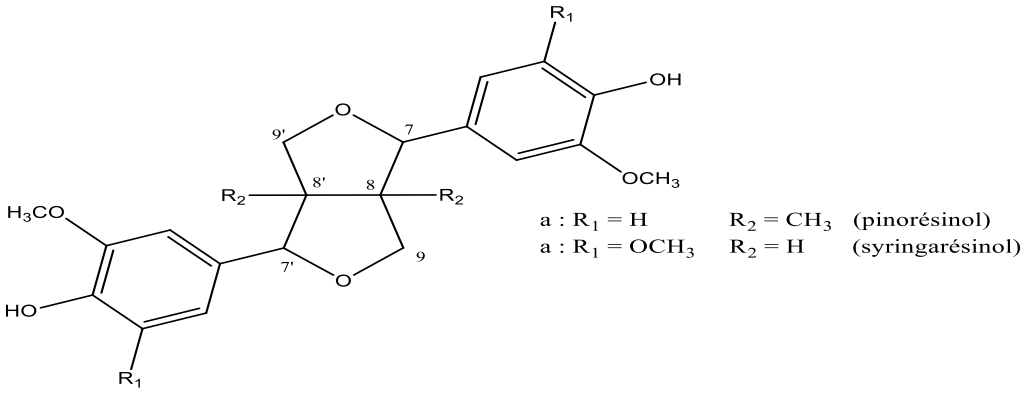
هي مركبات عبارة عن ديمر وحدته فينيل بروبان phenylpropane ، تلعب دورا مهما في الدفاع عن النبتة لما لديها من خصائص مضادة للبكتيريا و مضادة للفطريات .

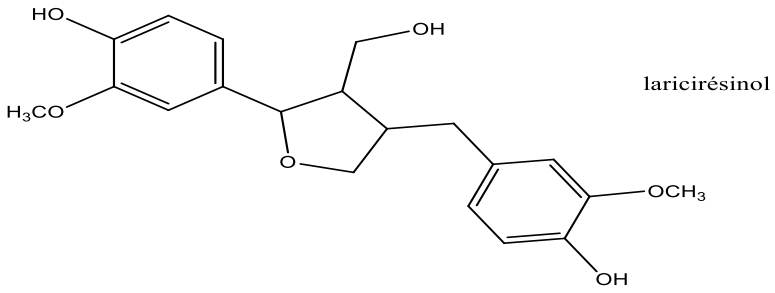
الليجنانات المتواجدة في هاته العائلة عبارة ليجنان ذو حلقة فيورانية monofuraniques أو أكثر furanofuraniques lignanes المبين في الشكل التالي :



(dihydrosésamine)

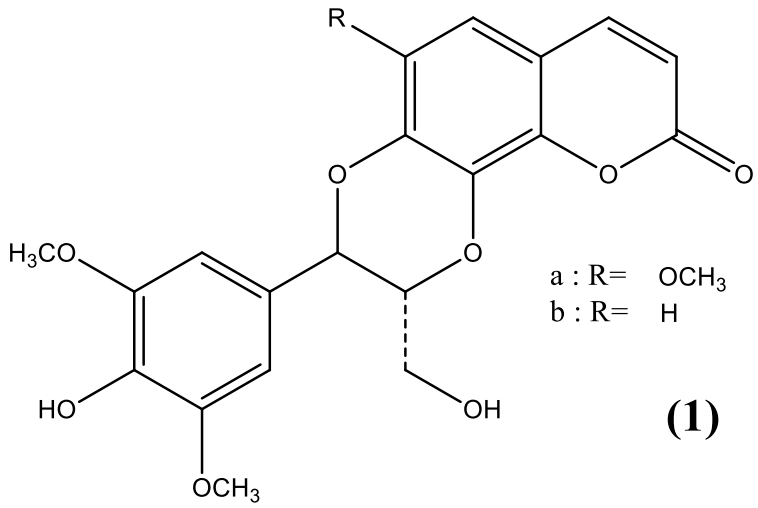
الشكل 6 : ليجنان ذو حلقة فيورانية dihydrosésamine .





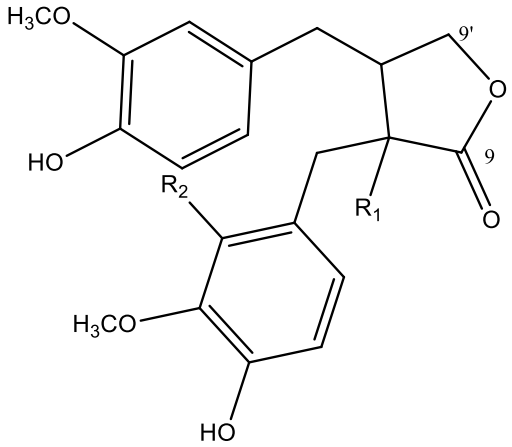
الشكل 7 : ليجنان بأكثر من حلقة فيورانية .

كما تتواجد على شكل ليجنانات مرتبطة مع كومارينات أو على شكل لاكتونات (الشكل 8):



a : R= OCH_3 (aquillochine)
b : R= H (daphnéticine)

(1)



a : R_1= H R_2 = OH (gnidifoline)
b : R_1= OH R_2 = H (wikstromol)
c : R_1= H R_2 = H (matairésinol)

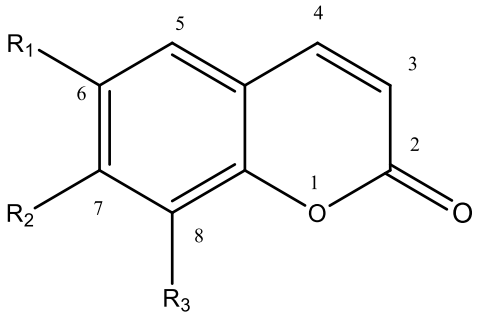
(2)

الشكل 8 : (1):ليجنان كوماريني،(2):ليجنان لاكتوني .

7.2.1 الكومارينات :

تتواجد الكومارينات في هذه العائلة وتوجد على هيئة كومارينات بسيطة (الشكل 9) كما أنها توجد على شكل كومارينات ثنائية "dimer" (الشكل 10 و 11)وثلاثية "trimer"

(أ) كومارينات بسيطة :[18] [5]

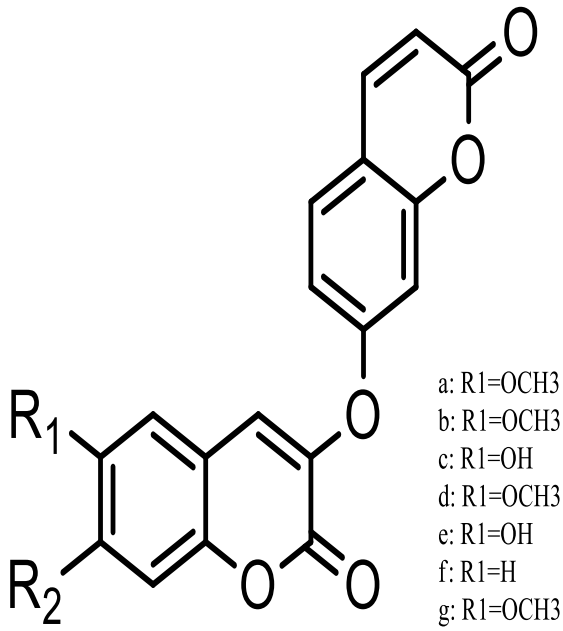


a: R_1=H	R_2=OH	R_3= OH	(daphnétine)
b: R_1=OH	R_2=O-Glc	R_3= OH	(érioside)
c: R_1=OH	R_2=OH	R_3= H	(esculétine)
d: R_1=OCH_3	R_2=OH	R_3= H	(scopolétol)
e: R_1=H	R_2=OH	R_3= H	(Umbelliferone)

الشكل 9 : كومارينات بسيطة .

(ب) كومارينات ثنائية [10]

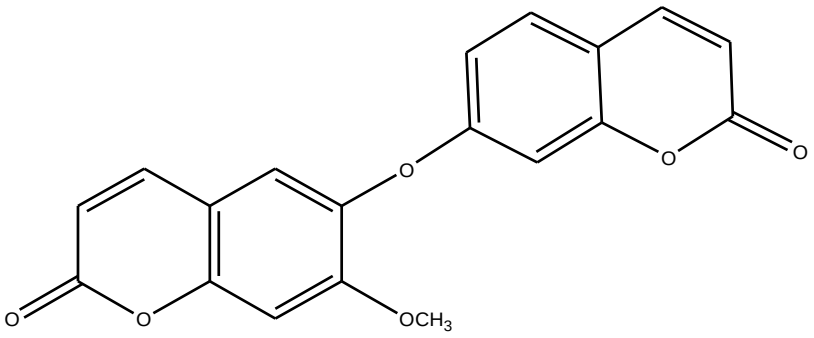
تاريخيا أول كومارين ثنائي فصله من هذه العائلة في عام 1936 هو مركب daphnorétine وذلك من النبتة Daphne mezereumوالشكل التالي يبين بعض الكومارينات الثنائية.



a: R1=OCH3	R2= OH	(daphnorétine)
b: R1=OCH3	R2= O-Glc	(daphnorine)
c: R1=OH	R2= OH	(edgeworthine)
d: R1=OCH3	R2= OCOCH3	(acétyldaphnorétine)
e: R1=OH	R2= OH	(déméthyldaphnorétine)
f: R1=H	R2= OH	(edgeworine)
g: R1=OCH3	R2= O-Glc-(3-OH-3-CH_3-glutaryl)	(rutarensine)

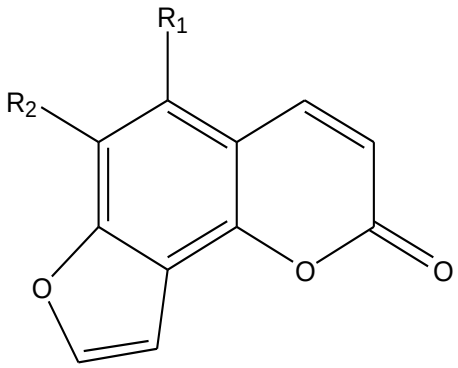
الشكل 10 : كومارينات ثنائية.

في بداية السبعينات تم عزل مركب lasiocéphaline من نبتة Lasiosiphon eriocephalus.[7]



الشكل 11 : مركب Lasiosiphon eriocephalus .

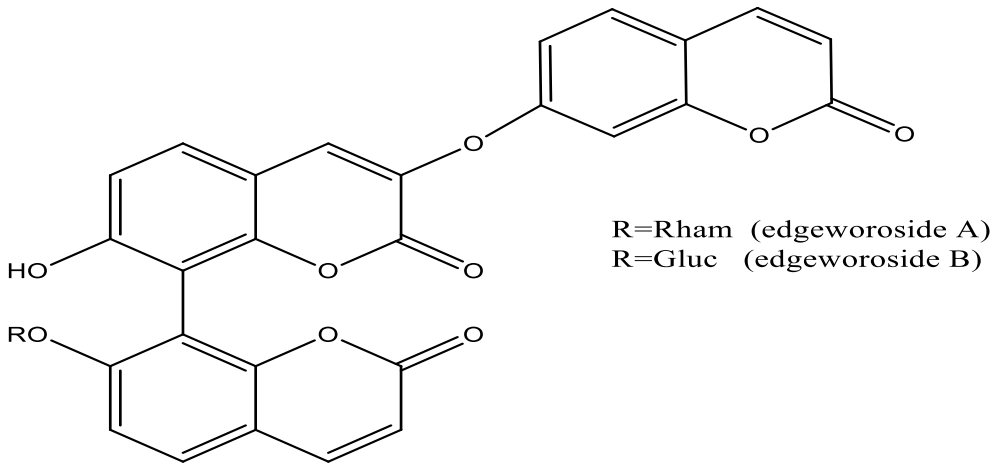
(ج) كومارينات ذات حلقة فيورينية Furanocoumarins [10]



a : $R_1 = OCH_3$ $R_2 = H$ (isobergapténe)
b : $R_1 = OCH_3$ $R_2 = OCH_3$ (pimpinelline)
c : $R_1 = H$ $R_2 = OCH_3$ (sphondine)

الشكل 12 : كومارينات ذات حلقة فيورينية.

(د) كومارينات ثلاثية [1]

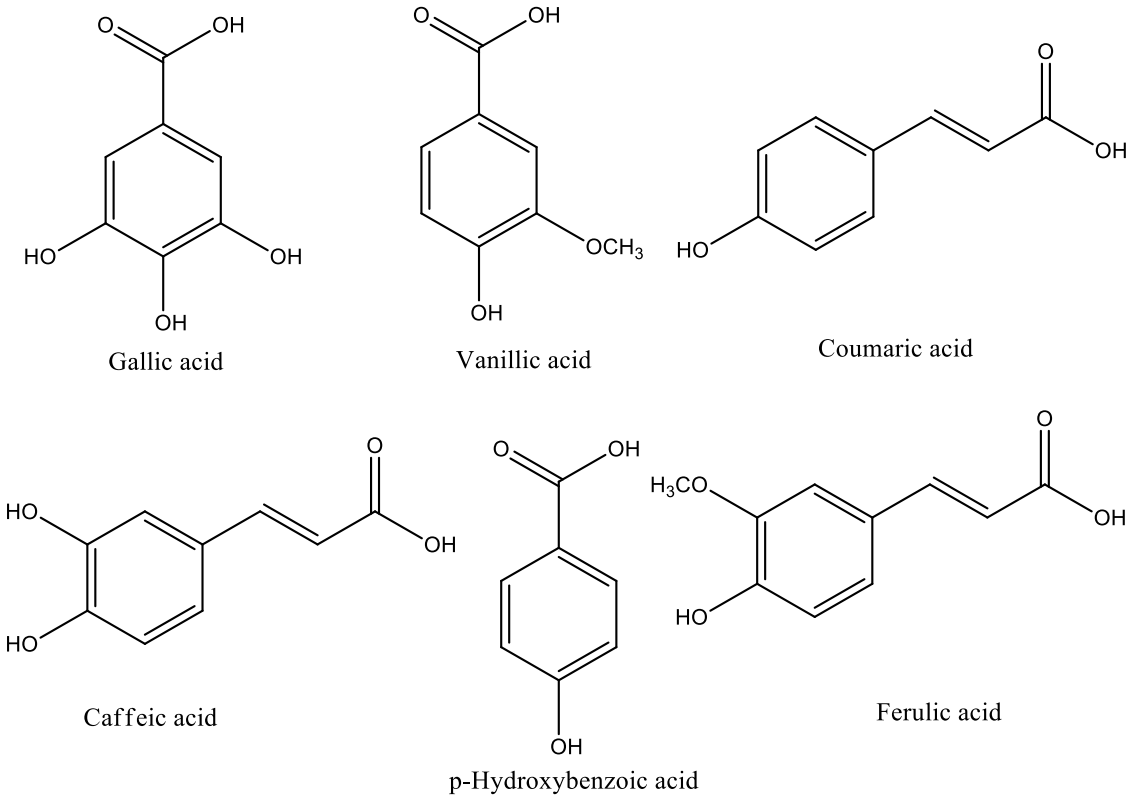


الشكل 13 : كومارينات ثلاثية .

8.2.1 الأحماض الفينولية [2]

تم عزل العديد من الأحماض الفينولية من العائلة المثنانية مثل :

m-Hydroxybenzoic acid ،p-Hydroxybenzoic acid ، Vanillic acid ، p-Coumaric acid ، Caffeic acid و Gallic acid .

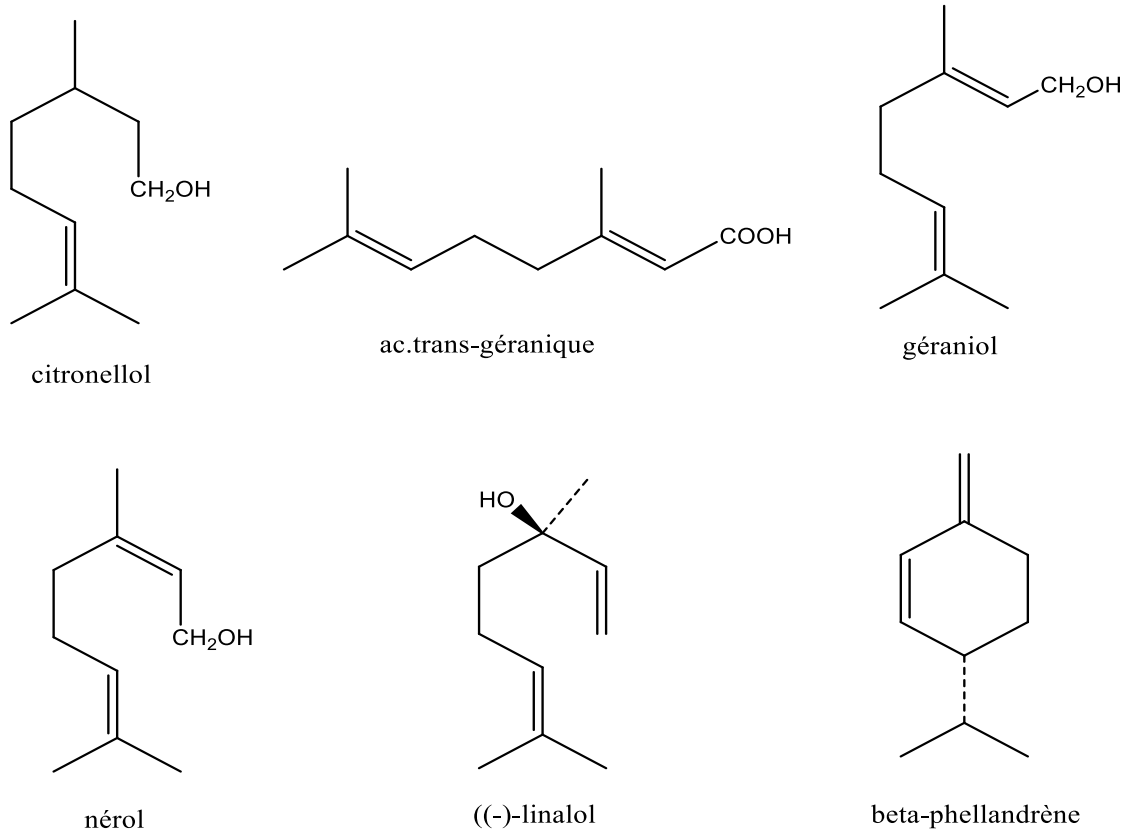


الشكل 14 : احماض فينولية وجدت في نبتة المثنان .

9.2.1 التربينات :

(أ) التربينات الأحادية Monoterpenes : [7]

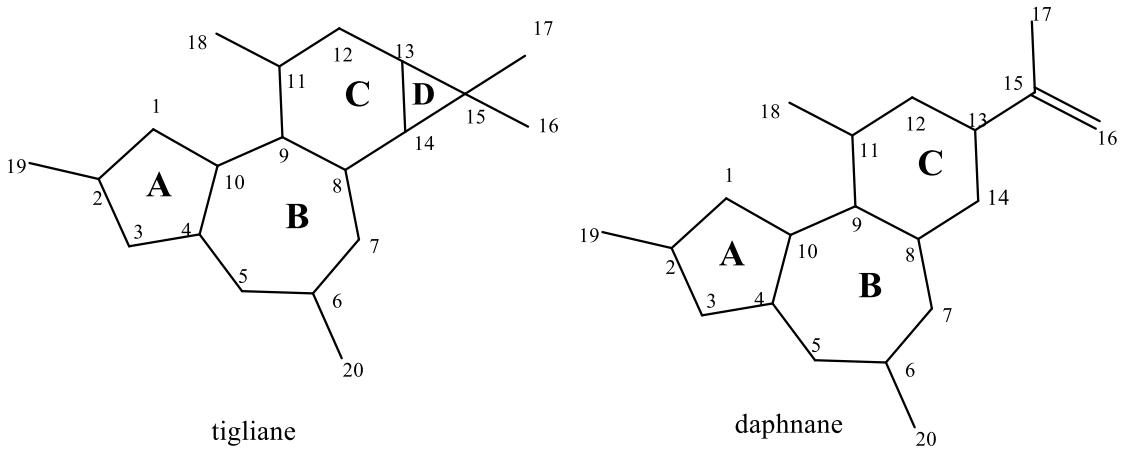
الشكل التالي يوضح بعض التربينات التي تم الكشف عنها في العائلة المثنانية و نبتة Daphne odora (شكل 15):



الشكل 15 : التربينات الأحادية .

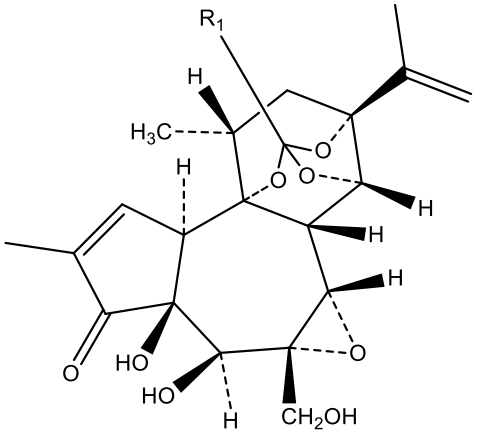
(ب) التربينات الثنائية Diterpenes :[7]

التربينات الثنائية هي أكثر مايميز هاته العائلة ورغم تنوعها و اختلافها الا أن معظمها مشتقة من الهيكل الأساسي للمركبين tigliane و daphnan الموضحين في الشكل 16.



الشكل 16 : التربينات الثنائية .

ومن امثلة التربينات الثنائية المشتقة من المركبين السالف ذكرهما Daphnetoxin ، huratoxine (شكل 17) . [7]

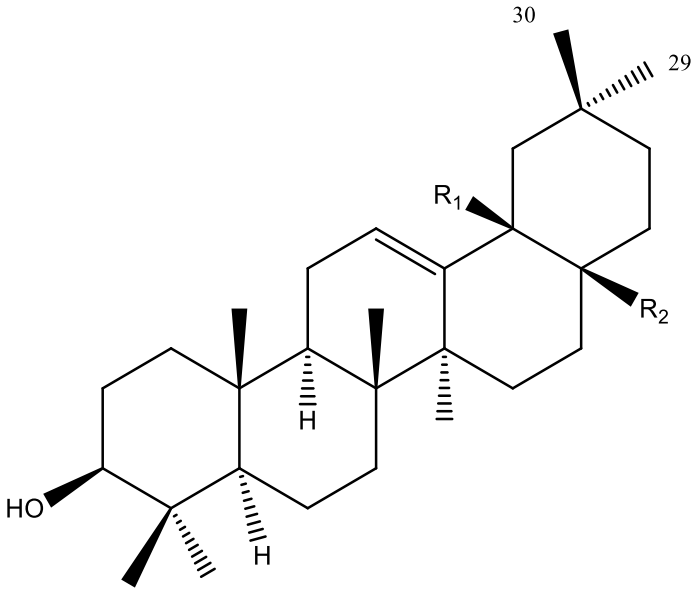


a : $R_1 = C_6H_5$ (daphnétoxine)
b : $R_1 = (CH_2)_8CH_3$ (simplexin, facteur P1)
c : $R_1 = (CH_2)_{12}CH_3$ (facteur P_4)
d : $R_1 = (CH{=}CH)_2(CH_2)_8CH_3$ (huratoxine)
e : $R_1 = (CH{=}CH)_2(CH_2)_4CH_3$ (excoecariatoxine)

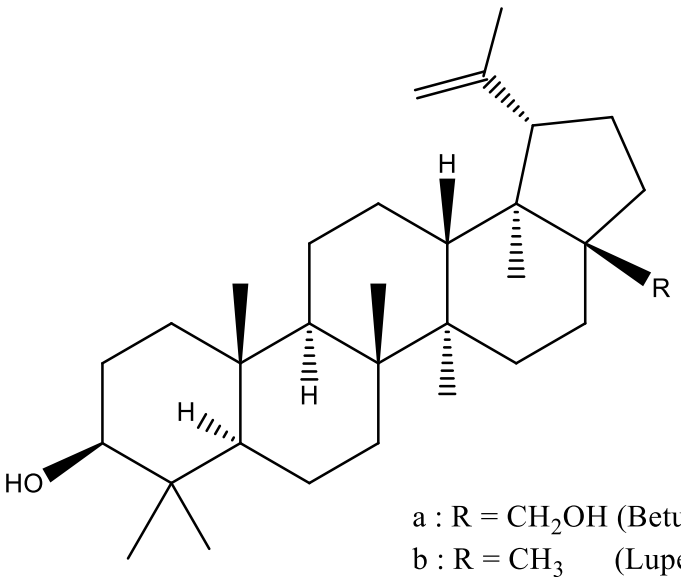
الشكل 17 : امثلة على التربينات الثنائية .

(ج) التربينات الثلاثية triterpenes :[7]

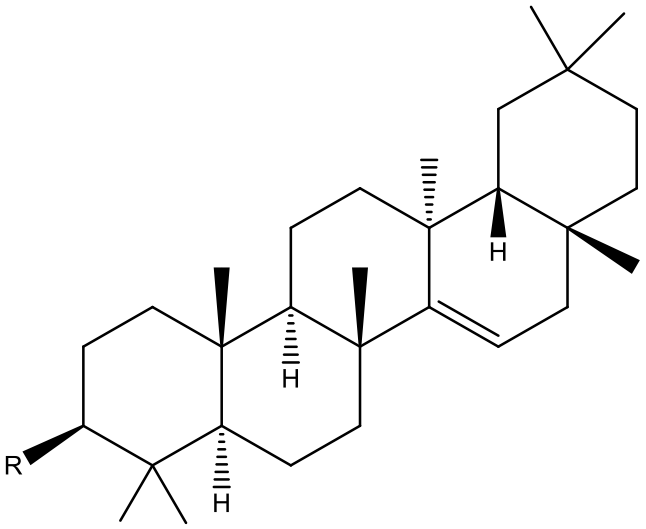
من خلال الدراسات السابقة تم عزل العديد من التربينات الثلاثية و خصوصا من جنس thmyelaea (شكل 18) .



a : R_1= OH R_2= CH_3 (beta- Amyrin)
b : R_1= H R_2= CH_2OH (Erythrodiol)



a : R = CH_2OH (Betulin)
b : R = CH_3 (Lupeol)



a : R = OH (Taraxerol)
a : R = =O (Taraxerone)

الشكل 18 : التربينات الثلاثية .

الفصل الثالث

الدراسة البيولوجية والدراسات السابقة

3.1 الدراسة البيولوجية :

1.3.1 الفعالية المضادة للأكسدة :

1.1.3.1 الجذور الحرة :

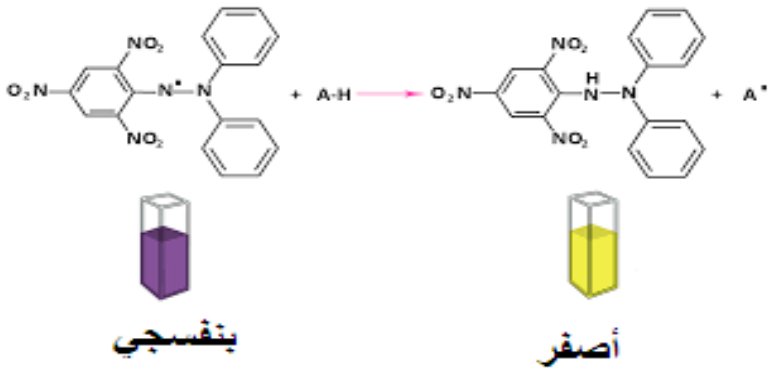
هي عبارة عن ذرات أو جزيئات تمتلك إلكترون حر أو أكثر في المدار الخارجي .مما يجعلها نشطة وغير مستقرة لذا تسعى لإكمال هذا النقص بهجومها على مركبات أخرى مما يسبب سلسة من التفاعلات . [24]

2.1.3.1 مضادات الأكسدة :

يمكن تعر يفها بأنها أي مادة قادرة، بتركيز منخفض نسبيا على تثبيط مادة قابلة للأكسدة أو هي مادة أو مركب له فعالية ضد الجذور الحرة . [24]

2.3.1 إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH :

اختبار DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) هو اختبار مضاد للجذور الحرة حسب BLOIS [25]،هذا الإختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر DPPH ، وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات (مضادات ألكسدة) لذرة هيدروجين، و يظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر الحر DPPH ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلى H-DPPH ذو اللون الاصفر كما هو موضح في الشكل :



الشكل 19 : تفاعل الـ DPPH .

3.3.1 إختبار تثبيط الجذر الحر +ABTS

يعتبر اختبار +ABTS أحد أكثر التقنيات حساسية لتحديد نشاط مضادات الأكسدة ، تستند هاته الطريقة إلى قدرة مضادات الأكسدة على تثبيت جذور الكاتيونات الملونة +ABTS (أزرق مخضر) ، والتي يمكن تشكيلها مسبقًا عن طريق أكسدة ABTS (2,2- azinobis-(3 ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))

4.3.1 النشاط المضاد للكولينستريز *anti-cholinesterase* [26]

يتمثل الدور الرئيسي لأسيتيل كولينستريز (AChE) في إنهاء انتقال النبضات العصبية في المشابك الكولينية عن طريق التحلل المائي السريع لأسيتيل كولين (ACh). يعمل تثبيط AChE كإستراتيجية لعلاج مرض الزهايمر ، والخرف ، والوهن العضلي الشديد ومرض باركنسون .

تشمل الأدوية المتوفرة حاليًا لعلاج مرض الزهايمر tacrine, donepezil . تم الإبلاغ عن أن هذه المركبات لها آثار ضارة بما في ذلك الاضطرابات المعدية و المعوية مما يستلزم الاهتمام بإيجاد مثبطات أفضل لـ AChE من الموارد الطبيعية .

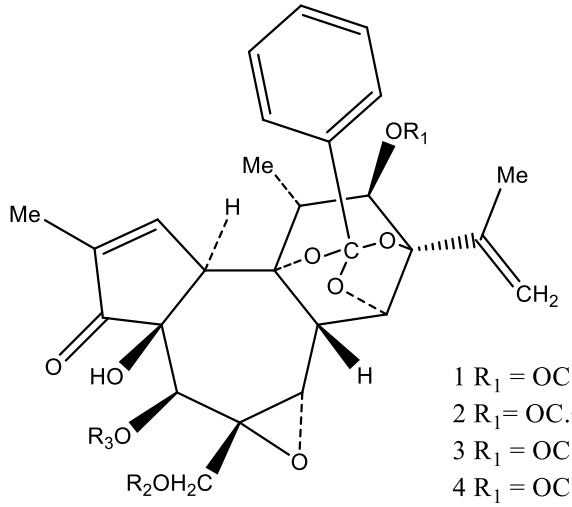
5.3.1 النشاط المثبط لأكسيداز الزانثين

مثبط أوكسيديز الزانثين (XOD) ألوبيورينول (allopurinol) ، كان حجر الزاوية في الإدارة السريرية للنقرس والحالات المرتبطة بفرط حمض يوريك الدم لعدة عقود. تشير البيانات الأكثر حداثة إلى أن أوكسيديز الزانثين يلعب أيضًا دورًا مهمًا في أشكال مختلفة من نقص التروية وأنواع أخرى من إصابات الأنسجة والأوعية الدموية والأمراض الالتهابية وفشل القلب المزمن. أظهر الوبيورينول أثرا كبيرًا في علاج هذه الحالات في كل من حيوانات التجارب وفي التجارب السريرية البشرية على نطاق صغير. على الرغم من أن بعض الآثار المفيدة لهذه المركبات قد لا تكون ذات صلة بتثبيط XO ، إلا أن النتائج المشجعة أثارت اهتمامًا كبيرًا في تطوير سلسلة إضافية جديدة من مثبطات XO لمختلف المؤشرات العلاجية.

6.3.1 الدراسات السابقة لنبتة المثنان :

7.3.1 الدراسة الأولى [12]

تهدف إلى تحديد مركبات Daphane Diterpenes . تمت الدراسة على بتلات وأوراق المثنان من غرب الصحراء المصرية حيث تم عزل خمس مركبات (الشكل 19) .



1 R_1 = OC.CH:CH.C_6H_5 $R_2 = R_3 = H$ (gnidicin)
2 R_1= OC.CH:CH.$(CH2)_{13}$.Me $R_2 = R_3 = H$
3 R_1 = OC.$(CH:CH)_3$.$(CH2)_2$.Me $R_2 = R_3 = H$ (gniditrin)
4 R_1 = OC.C6H_5 $R_2 = R_3 = H$ (genkwadaphnin)
5 R_1 = OC.CH:CH.CH2.Me $R_2 = R_3 = H$

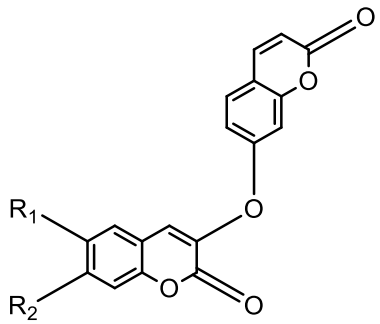
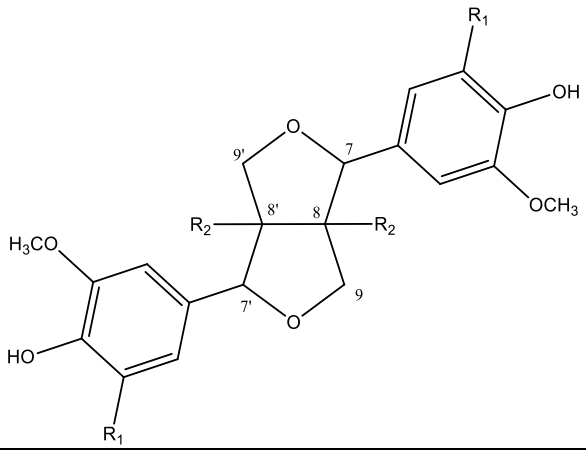
الشكل 20 : مركبات Daphane Diterpenes .

8.3.1 الدراسة الثانية [1]

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد البنية الكيميائية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والفطريات الجلدية. تمت الدراسة على الجزء العلوي لعينة من المثنان جمعت من شمال ولاية غيليزان

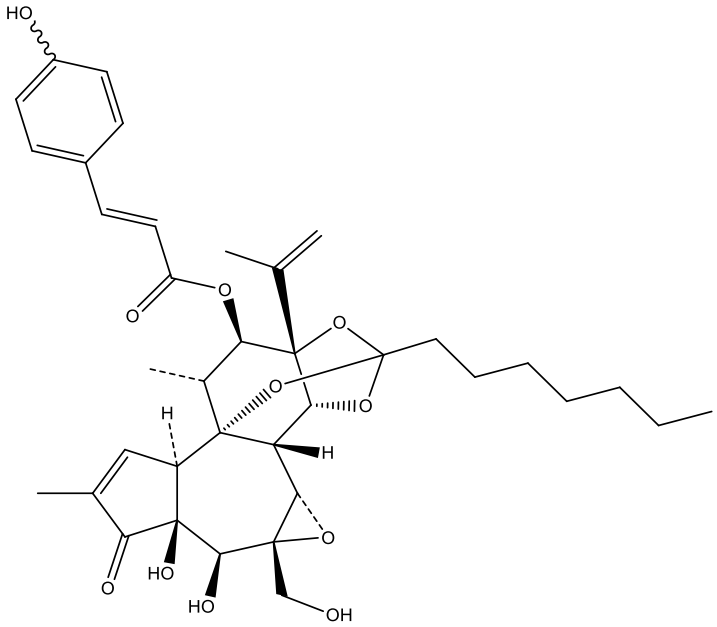
حيث تم تحديد مجموعة من المركبات من بينها genkwadaphnin الذي تم التطرق إلى بنيته في الدراسة الأولى ، ومركبين من الكومارينات الثنائية edgeworine و rutarensine ، وأحد الليجنان syringarésinol .(الجدول 4) يوضح بنيتها .

جدول 3 : يمثل بنية المركبات المفصولة من قبل عماري .

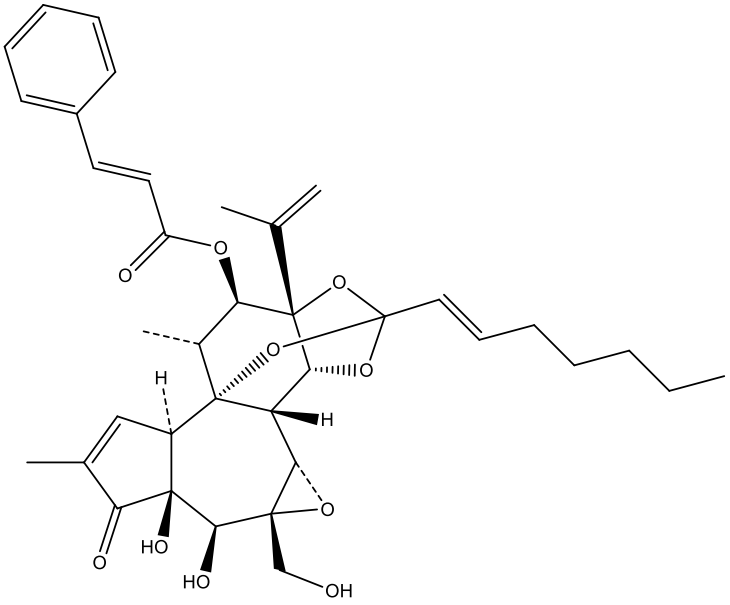
اسم المركب	بنية المركب	المستبدلات
Edgeworine		R1=H R2= OH
Rutarensine		R1=OCH3 R2= O-Glc-(3-OH-3-CH3-)glutaryl
Syringarésinol		R1 = OCH3 R2 = H

9.3.1 الدراسة الثالثة [27]

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد بنية تربينات الدفنان و تقييم نشاطها التثبيطي لتكون الميلانين في خلايا سرطان الجلد .حيث تم جمع الجزء الجوي من النبات من منطقة القصرين بتونس في مارس 2006 . من خلال الدراسة تم عزل مركبين من تربينات الدفنان Herisine A وHerisine B (الشكل 20 و 21) .



الشكل 21 : Herisine A .



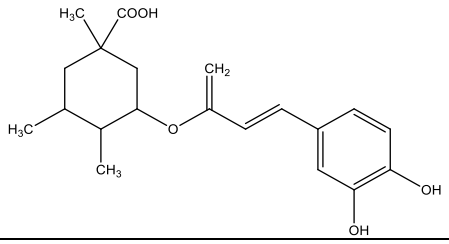
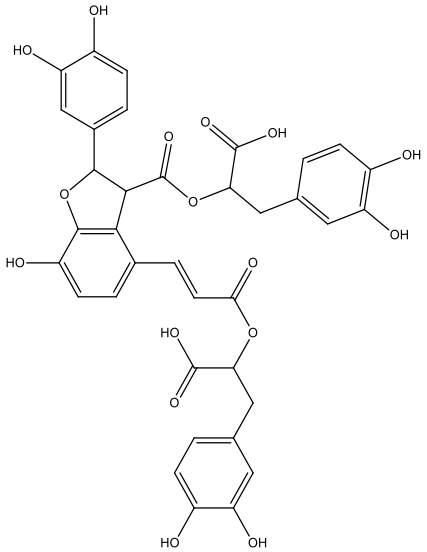
الشكل 22 : Herisine B .

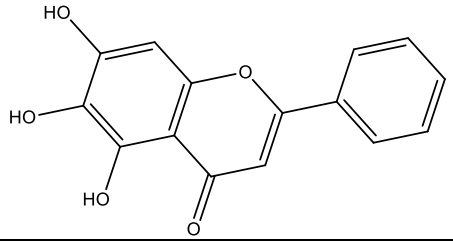
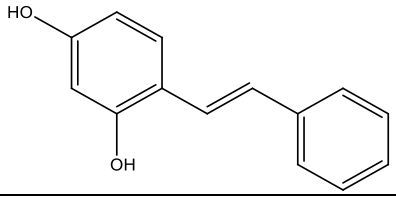
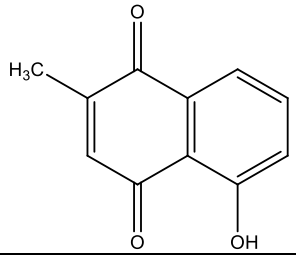
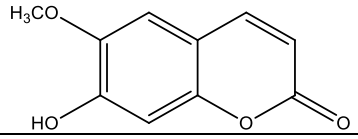
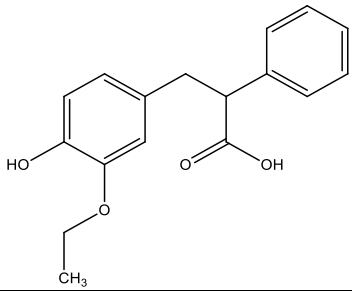
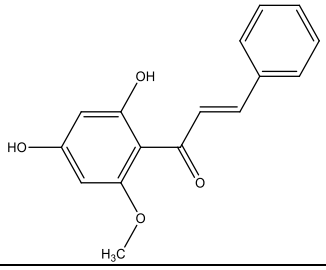
وجد أن مستخلص المثنان يقلل الميلانين المركب في خلايا سرطان الجلد B16 للفئران دون تسمم الخلايا .

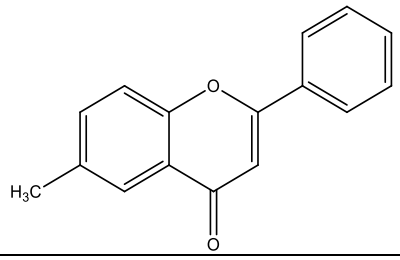
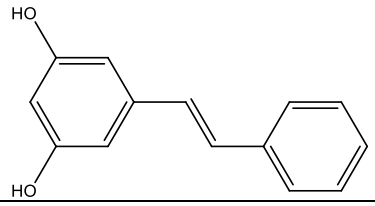
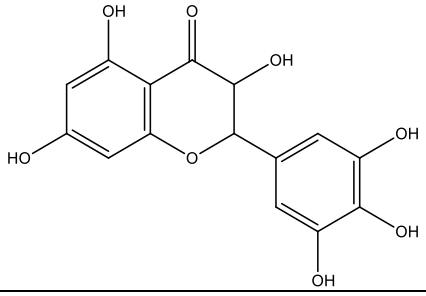
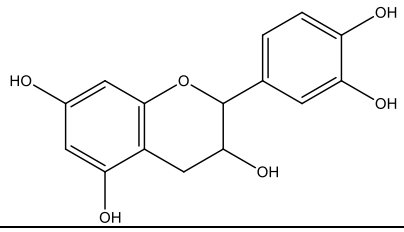
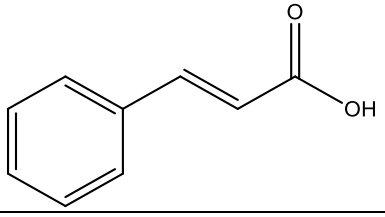
10.3.1 الدراسة الرابعة [28]

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد المركبات الكيميائية المتواجدة في النبتة و تحديد نشاطها البيولوجي (مضاد للأكسدة ، النشاط المثبط لأكسيداز الزانتين، التسمم الخلوي) تمت الدراسة على الجزء الهوائي للمثنان لمناطق مختلفة من تونس (تونس- قصرين –شابة –فرنانة). من خلال الدراسة تم التعرف على مجموعة من المركبات عن طريق الكروماتوغارفيا السائلة عالية الأداء HPLC المدعمة بكاشف مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية UV/VIS كما هو موضح (الجدول 4).

جدول 4 : يوضح بنية المركبات المفصولة من قبل يحياوي .

المذيب	اسم المركب	البنية الكيميائية	المنطقة
الهكسان	Chlorogenic acid		تونس
	Salvianolic acid B		

	Baicalein		
	Pinosylvin		شابة ،قصرين
	Plumbagin		شابة .
أسيتات الإيثيل	7-Hydroxy-6-methoxycoumarin		شابة
	(z)-3-(3-ethoxy-4-hydroxyphenyl)-2-phenyl-acrylic acid		قصرين
	Cardamonin		شابة ، قصرين

	6-Hydroxyflavone		تونس
	Pinosylvin		
الإيثاول	Dihydromyricetin		فرنانة
الميثانول	(-)- Epicatechin		شابة
	Trans-Cinnamic acid		تونس ، فرنانة

كما أظهرت الدراسة أن المستخلصات غنية بالفينولات و التانين. كما أن نتائج أن الأنشطة البيولوجية تختلف اختلافًا كبيرًا بين المناطق. كما أجريت اختبارات DPPH و $ABTS^{+}$ على المستخلص الميثانولي . اما المستخلصات المختلفة اجري لها اختبار مضاد للكولين استراز، و النشاط المثبط لأكسيداز الزانثين لمستخلص أسيتات الإيثيل.

11.3.1 الدراسة الخامسة [29]

اختبار تأثير المستخلص المائي لثلاثة نباتات طبية تستخدم كأدوية مضادة لمرض السكر على الفئران عن طريق الفم و عن طريق الوريد. أخذت ثلاث نبانتات (Arbutus unedo ; Au, Ammoides pusilla; Ap Thymelaea hirsuta) من المغرب.

الجزء العملي

2 الجزء العملي

1.2 الدراسة التطبيقية

أنجز هذا العمل في المخبر البيداغوجي بكلية الرياضيات وعلوم المادة بجامعة قاصدي مرباح ورقلة.

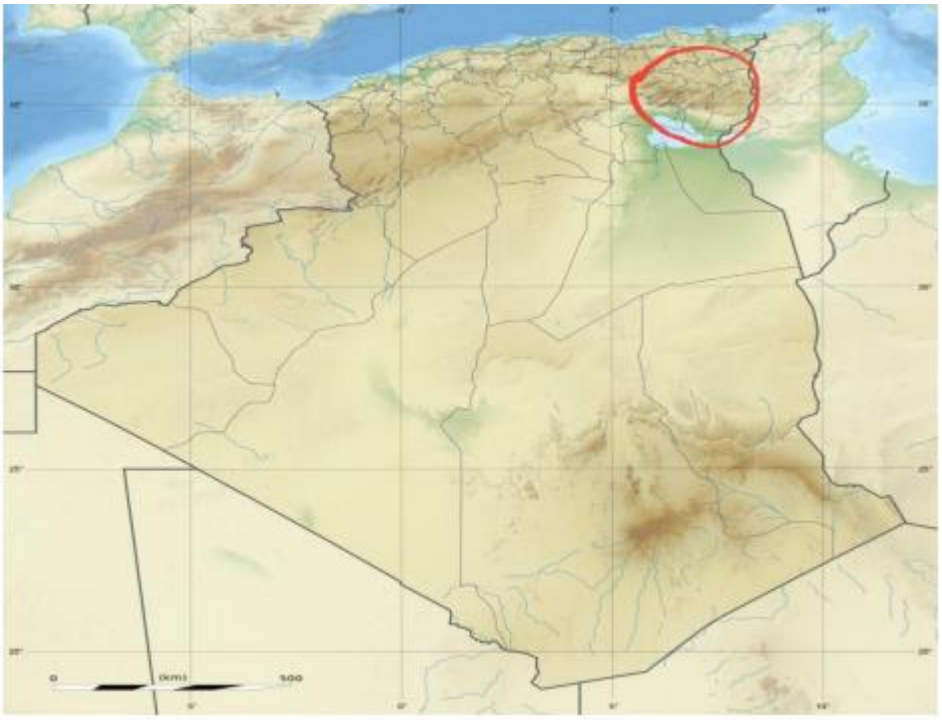
الأدوات و المواد المستعملة :

الأدوات		المواد	
الأجهزة	الوسائل	المحاليل	المساحيق
✓ ميزان الإلكتروني حساس akern بدقة 10^{-4} ✓ جهاز تسخين . ✓ جهاز تبخير الدوران	✓ دورق (250-500 مل) ✓ أنبوب مدرج ✓ بيشر ✓ ملعقة	كلوروفورم - أسيتات الإيثيل- ايثانول - ماء مقطر- أسيتون - هكسان -1- بيتانول ايثر بترولي- ميثانول كواش	مسحوق نبتة المثنان

1.1.2 تحضير النبتة

أ- الجني :

قطف الجزء الهوائي للنبتة في شهر فيفري 2019 من الشمال الشرقي للجزائر و جففت تحت الظل و بعيدا عن الضوء. تم التعرف على النبتة من المعهد الوطني للنباتات توقرت.



الشكل 23 : منطقة جني نبتة المثنان .

ب- التنقية:

تنظف النبتة جيدا للحصول على عينات خالية من عالمات التلوث كالفطريات والبكتيريا لأنها قد تغير من مواد الأيض الموجودة فيها، إضافة إلى عزلها عن الأتربة والشوائب النباتية الأخرى .

ج- التجفيف :

أستعملت طريقة التجفيف في الهواء الطلق، وذلك بتوزيع أجزاء النبتة على سطح ورقي في غرفة ذات تهوية ودرجة حرارة مناسبتين.

يهدف التجفيف إلى إزالة المحتوى المائي من النبتة لإيقاف التحلل المائي والأكسدة الإنزيمية وبالتالي منع التخمر الميكروبي والتدهور اللاحق للمواد الأيضية إضافة إلى إمكانية تخزينها لفترات أطول .

د- الطحن:

تطحن المادة النباتية يدويا ثم بإستعمال آلة الطحن الكهربائي على شكل مسحوق خشن. الفائدة من هذه الخطوة هو الزيادة من مساحة سطح التلامس مع المذيبات، وبالتالي زيادة معدل الإستخلاص.

2.1.2 الإختبارات الكيفية: [30 , 31]

تهدف هذه الإختبارات إلى الكشف أو تسليط الضوء عن المجموعات الكيميائية للمواد الأيضية في نبتة T.H بإستخدام كواشف محددة.

يقوم مبدؤها على التحليل النوعي، إما عن طريق تكوين معقدات غير قابلة للذوبان بإستخدام تفاعلات الترسيب، أو عن طريق تشكيل معقدات ملونة بإستخدام تفاعلات التلوين

تحضر المستخلصات الخام لـ 1 غ من نبتة مسحوقة كالتالي :

-**المستخلص الكحولي**: ينقع 1 غ من مسحوق النبتة في 20 مل من محلول MeOH لمدة 24 ساعة .بعدها يرشح للحصول على المستخلص الخام.

-**مستخلص المائي:** ينقع 1 غ من مسحوق النبتة في 20 مل من الماء المغلي لمدة 15 د ثم يرشح .يضاف القليل من الماء الساخن للحصول على 20 مل من الرشاحة .

في أنابيب إختبار، تجرى هذه اإلختبارات لكل من المستخلصين الكحولي و المائي للمواد أليضية التالية:

أ- القلويدات :

الإختبار تم بواسطة كاشف فاغنر . ينتج عن تفاعله مع القلويدات ويعطي راسب أرجواني قاتم . نضع 2ml من المستخلص (المائي و الميثانولي) ثم نضيف قطرات من كاشف فاغنر

ب- الفلافونويدات :

يُؤخذ 1 مل من المستخلص ويُضاف له عدة قطرات من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH 20%) ظهور اللون الأصفر دلالة على في وجود الفلافونويد .

ج- العفصيات :

يؤخذ 1 مل من المستخلص و يضاف إليه قطرة واحدة من كلور الحديد $FeCl_3$.

- ظهور اللون الأخضر يدل على وجود التانين
- ظهور اللون الأخضر الداكن يدل على وجود تانين كاتشيك tanins catéchiques

- ظهور اللون أزرق مخضر يدل على وجود تانين جاليك tanins galliques .

د- الكومارينات :

يُؤخذ 1 مل من المستخلص ويُضاف له 3ml من هيدروكسيد الصوديوم NaOH فينتج لون أصفر في وجود الكومارينات .

ك- التربينات :

نضع 1ml من المستخلص و نضيف إليه 0.5ml من الكلوروفورم $CHCl_3$ مع قطرات من حمض الكبريت H_2SO_4 ، تشكل راسب بني محمر دليل على وجود التربينات .

ل- الصابونين :

طريقة العمل: يؤخذ 1g من المستخلص ويوضع في أنبوب اختبار, يضاف له 10 مل من الماء المقطر ثم يرج بشدة ثم يترك . في حال وجود الصابونينات نلاحظ تشكل عمود من الرغوة ويظل هذا العمود ثابتا .

ه- الستيرولات / التربينات الثلاثية :

يتم الكشف عن الستيرولات و التربينات الثلاثية عن طريق تفاعل ليبرمان liebrmann .

طريقة العمل : نأخذ 1ml من المستخلص و نمزجه مع 1ml من حمض الكبريت H_2SO_4 ونضيف قطرات من بلا ماءات حمض الخل anhydride acide acétique .

و- السكريات مرجعة :

تم الكشف عنها بواسطة محلول فهلنج حيث أضيف المحلول إلى 1ml من المستخلص و يسخن في حمام مائي . تشكل راسب أحمر أجوري دلالة على وجود سكريات المرجعة .

ي- غلوكوزيدات القلب :

نضيف 2ml من الكلوروفورم إلى 1ml من المستخلص ، ظهور اللون البني محمر بعد إضافة H_2SO_4 يشير إلى وجود جليكوسيدات القلب.

3.1.2 الإستخلاص:

حصلنا على المستخلصات لنبتة المثنان ابتداءا من الجزء الهوائي للنبتة حيث سحق و أجري عليه الاستخلاص بالنقع.

4.1.2 الاستخلاص بالنقع البارد:

يقوم مبدأ النقع على أن المذيب الذي يكون على إتصال مع العينة يسمح بإختراق البنية الخلوية من أجل إذابة المركبات ذات القطبية المماثلة له كما يعمل الرج الميكانيكي المستعمل على تجانس المحلول وإشباع المذيب عن طريق زيادة قابلية ذوبان المركبات ومعدل نقل الكتلة وبالتالي زيادة كفاءة الإستخلاص .

طريقة العمل :

أجريت عملية النقع لـ 50 غ من وزن النبتة الجافة بناء على الإختيار الصحيح للمذيبات .

5.1.2 استخلاص صلب – سائل :

- تم نقع مسحوق النبتة في الايثر البترولي (3 مرات لمدة 12 سا)
- -في كل مرة يتم الترشيح بإستعمال الترشيح تحت الفراغ، ويتم تجميع الرشاحة.
- تبخر الرشاحة من المذيب بإستعمال جهاز التبخير الدوار.
- تنقع المسحوق من جديد في الايثانول / ماء (20/80: v/v، 3مرات 12 سا)
- بعد الترشيح قمنا بتبخير الكحول و أضيف الماء الساخن و تركت ليلة كاملة ثم رشحت دون ورق ترشيح .

6.1.2 استخلاص سائل - سائل :

الطور المائي أجريت له عملية استخلاص سائل – سائل بواسطة مذيبات متفاوتة القطبية كلوروفورم (3مرات)، استات الايثيل (مرة واحدة) و البتانول (3مرات)

بعد عملية الاستخلاص حصلنا على ثلاثة مستخلصات مستخلص الكلوروفور و مستخلص اسيتات الايثيل و مستخلص البيتانول .

الشكل 24 يوضح مخطط الاستخلاص .

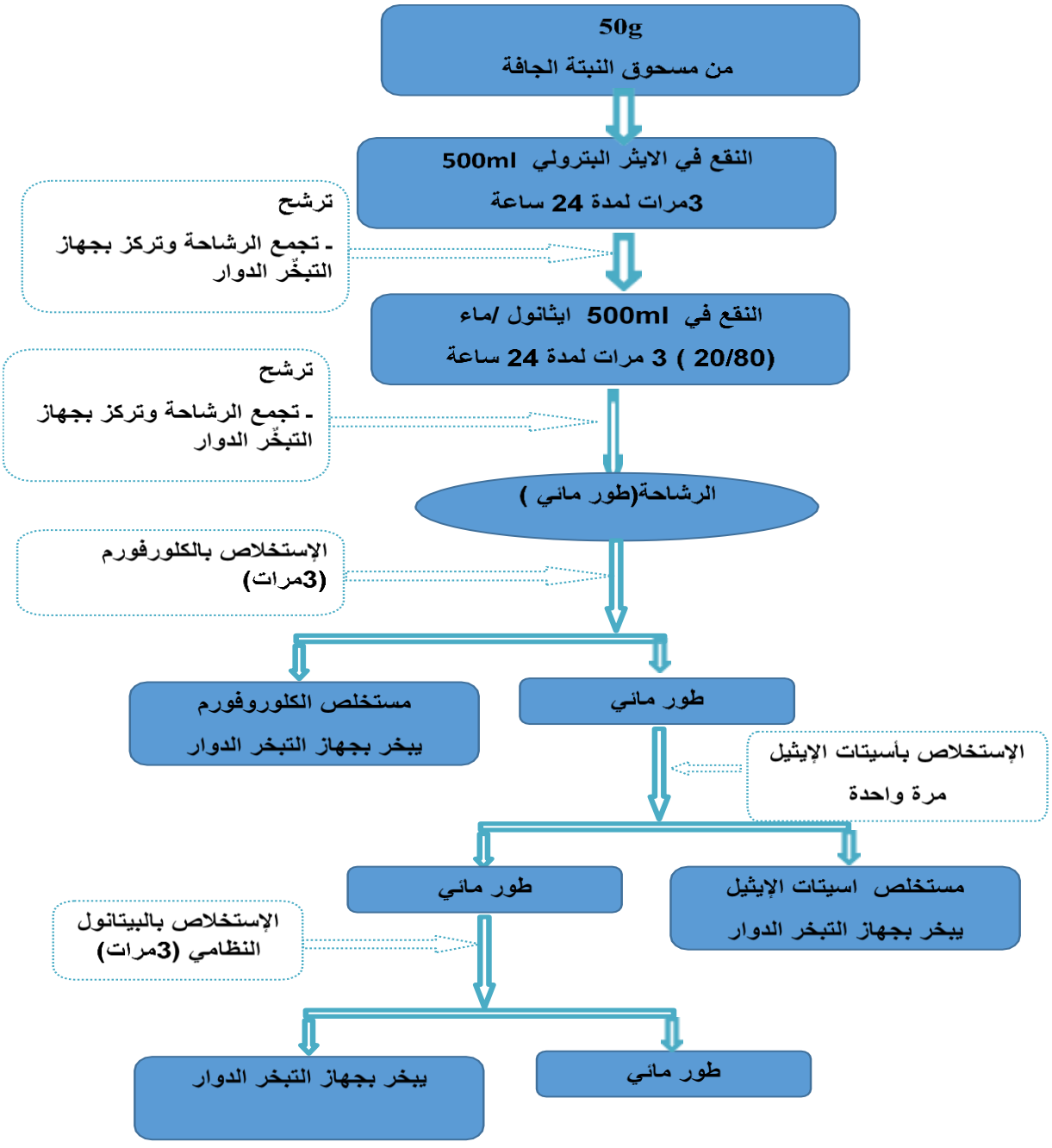
7.1.2 مردود الإستخلاص:

يحدد مردود الإستخلاص وفق العلاقة التالية

$$R\ (\%) = \frac{m_{ext}}{m_{ech}} \times 100$$

حيث :

- R : مردود المستخلص .
- m_{ext} : وزن الخلاصة بالغرام .
- m_{ech}: وزن النبتة بالغرام .



الشكل 24 : مخطط تفصيلي لطريقة الإستخلاص .

النتائج

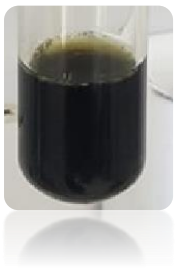
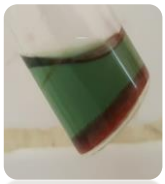
2.2 نتائج الدراسة التطبيقية .

1.2.2 الإختبارات الكيفية :

أظهرت الإختبارات الكيفية التي أجريت على الجزء الهوائي النبتة النتائج التجريبية التالية و الموضحة في الجدول 6 .

جدول 06 : نتائج الكشف الكيميائي .

الأيض الثانوي	المستخلص المائي		المستخلص الميثانولي	
الفلافونويدات	+++		+++	
القلويدات	+		+	
الكومارينات	++		++	
التربينات	++		++	
الصابونين	++	تشكل رغوة	++	تشكل رغوة

العفصيات	+++		+++	
التانين كاتشيك tanins catéchiques	+++		+++	
التانين غاليك tanins galliques	-		-	
سكريات مرجعة	++		++	راسب أحمر آجوري
ستيرولات / تربينات ثلاثية	+		-	
غلوكوزيدات القلب	-		-	

- رد فعل إيجابي كبير: + + +
- رد فعل إيجابي متوسط: +
- ردود فعل إيجابية: + +
- رد فعل سلبي: -

2.2.2 تفسير النتائج:

كما ذكر سابقا فإن هذه الإختبارات تقوم على تفاعلات الترسيب أو التفاعلات اللونية في المجال المرئي وبناء على ذلك تفسر بعض من النتائج المتحصل عليها في الجدول بـ :

❖ ظهور اللون الأصفر في إختبار الفلافونيدات ناتج عن تفاعل المركبات الفلافونيدية مع NaOH ويكون مصدره الأسيتوفينون.

- الراسب المتشكل في إختبار الكشف عن القلويدات بإستعمال كاشف Dragendroff وهو محلول من أملاح المعادن الثقيلة (يوديد البوتاسيوم-نترات البيزموث) ناتج عن تفاعل بين الحجيرة الفارغة لذرة المعدن الثقيل(BiI^{-4}) في الكاشف والأزواج الألكترونية لذرة النيتروجين الموجودة في القلويد لتشكل أزواج أيونية غير قابلة للذوبان فتترسب، ويختلف لون هذه الرواسب حسب نوع القلويد. [32]
- تشكل المركبات الفينولية عموما مع $FeCl_3$ معقدات يختلف لونها حسب عدد وتموضع مجموعات الهيدروكسيل OHالموجودة في هذه المركبات، فمثال يدل اللون الأزرق المخضر المتحصل عليه في التجربة على وجود العفصيات الذوابة tannins Gallic . [33]
- أما بالنسبة للشدة اللونية الظاهرة فهي تعبر عن وفرة كمية هذه المركبات الأيضية في المادة النباتية بالزيادة أو النقصان لوجود عالقة طردية بينهما حسب قانون Beer-Lambert وكذلك تعبر المواد المترسبة عن وفرة هذه المواد الأيضية

علاقة Beer-Lambert :

$$A = C.l.\varepsilon$$

3.2.2 نتيجة:

من خلال هذه النتائج التجريبية وتفسيرها يتبين أن نبتة T.H تحتوي على الفلافونيدات، العفصيات بنسبة كبيرة ، وبالنسبة للصابونينات،التربينات ـالسكريات المرجعة و الكومارينات فهي موجودة بنسبة متوسطة، أما فيما يخص ستيرولات وتربينات الثلاثية فتتواجد بكميات قليلة وهذا تأكيدا للنتائج المتحصل عليها من دراسة النبتة المأخوذة في دراسة (AMARI Nesrine Ouda , 2015) .

4.2.2 مردود الإستخلاص :

من خلال دراستنا لـ *L. Thymelaea hirsuta* حصلنا على المستخلصات المدونة في الجدول 7.

جدول 07 : مردود المستخلصات المتحصل عليها .

المستخلص	الكتلة	المردود%
كلوفورم	0.635	1.27
أسيتات الإيثيل	0.643	1.287
بتانول	/////	/////

من خلال النتائج المبينة في الجدول يظهر تقارب في كتل مستخلصي الكلوفورم وأستيات الإيثيل وكدا مردود كلا المستخلصين .

كما أظهرت الدراسات السابقة التي قام بها العديد من الباحثين والتي أدت إلى الكشف عن الجانب البيولوجي المهم لهذه النبتة مثل الدراسات التي قام بها (Yahyaoui et al.,2017) لإظهار الجانب الفارماكولوجي للنبتة من خلال الفعاليات التي قام بها وهي كالتالي (النشاط المضاد للأكسدة ،النشاط مضاد الزهايمر، الزانثين أوكسيداز XOD ،الخلايا السامة).

تم وضع جميع النتائج التي تم الحصول عليها كنسبة مئوية تثبيطية في الجدول

جدول 08 : نتائج النشاط مضاد الزهايمر، الزانثين أوكسيداز XOD ،الخلايا السامة .

المنطقة	المستخلصات	مضاد الزهايمر	مضاد XOD	مضاد سمية الخلايا	
				MCF-7	OVCAR
تونس	الهكسان			51.00 ± 6.70	63.30 ± 3.60
	سيتات الإيثيل		43.51 ± 1.76	31.10 ± 5.90	61.70 ± 12.50
	الإيثانول	21.89 ± 3.05	1.75 ± 1.02	50.20 ± 2.30	44.80 ± 8.70
	الميثانول	35.78 ± 1.76	11.57 ± 2.89	34.20 ± 6.90	62.10 ± 3.70
الشابة	الهكسان		4.18 ± 1.27	18.50 ± 4.60	18.50 ± 4.60
	سيتات الإيثيل		40.49 ± 0.55	53.30 ± 9.20	53.30 ± 9.20

	الإيثانول		20.74 ± 1.14	37.30 ± 3.80	37.30 ± 3.80
	الميثانول	38.39 ± 1.49	17.70 ± 1.24	62.70 ± 6.00	62.70 ± 6.00
قصرين	الهكسان		10.70 ± 1.71	50.40 ± 5.00	72.60 ± 4.10
	سيتات الإيثيل		56.37 ± 0.59	53.00 ± 7.40	36.00 ± 2.20
	الإيثانول	45.36 ± 2.95	10.39 ± 2.52	49.40 ± 8.60	61.10 ± 2.40
	الميثانول	7.52 ± 1.31	10.29 ± 0.89		50.90 ± 1.60
فرنانة	الهكسان		6.75 ± 0.48	49.50 ± 5.20	64.80 ± 3.80
	سيتات الإيثيل		53.31 ± 2.73	70.10 ± 2.80	70.80 ± 5.20
	الإيثانول	35.25 ± 2.15	14.53 ± 3.72	46.60 ± 5.60	54.70 ± 9.80
	الميثانول	12.20 ± 1.56	13.76 ± 2.02		43.00 ± 2.90
غالانتامين		95.8 ± 0.56			
ألوبيورينول			92.51 ± 1.86		
تاموكسيفين				47.17 ± 4.31	61.76 ± 4.21

الخلاصة العامة :

تعتبر العقاقير الطبيعية العلاج الأفضل للبشر لكن لاتزال مصادرغير موثوقة لذا وجب الحصول منها على أقصى فائدة . كشفت الإختبارات الكيميائية التي أجريت على الاجزاء الهوائية عن وجود القلويدات ،الفينولات ،الفلافونويدات ، الكومارينات ،التربينات ،الصابونين، العفص، العفص كاتشنيك ، سكريات مرجعة والستيرولات ،في الوقت نفسه أظهر التقديرالكمي لنواتج الأيض الثانوي الفينولات الكلية ،الفلافونويد والعفص الكلي في الأعضاء التي تم تحليلها أن مستخلصات الأزهار الأغنى نسبيا و من خلال الإطلاع على التحليل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في دراسة عماري نسرين إلى وجود مركبات تنتمي الى مجموعة متعدد الفينول :الفلافونول ،الفلافانون ، والاحماض الفينولية .أما التحليل بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء المقترنة بمقياس الطيف المرئي والفوق بنفسجي في دراسة يحياوي مروى تم تحديد 13 مركب لأول مرة في الجزء الهوائي للمثنان بينما التحليل بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة المقترنة بمقياس طيف الكتلة للأجزاء المدروسة أظهر أن المركبات الرئيسية تنتمي الى عائلة متعدد الفينول التي فيها العائلات الفرعية لأحماض الهيدروكسيسناميك وتواجد الفلافونويد . من خلال المستخلصات المختلفة يظهر أن الموقع الاقليمي يؤثر فيالتركيب الكيميائي والأنشطة البيولوجية علاوة على ذلك أشارت الدراسات إلى أنشطة مهمة مضادة للأكسدة ، مضاد للكولينستراز ومضاد للسمية الخلوية .

في الأخير لا تشكل هاته النتائج إلا خطوة أولى للبحث عن المواد الطبيعية النشطة بيولوجيا ، فسيكون من الضروري إجراء تحاليل أكثر دقة للتاكد من النتائج المتحصل عليها و لتحديد العلاقة بين النشاط البيولوجي و المركبات المسؤولة عنه .

المراجع :

[1] A. Nesrine Ouda, « Etude Phytochimique, Potentiel Antioxydant et Activité antifongique de Thymelaea hirsuta (Cas des dermatophytes) ». 2015.

[2] D. J. Newman et G. M. Cragg, « Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years », *J. Nat. Prod.*, 2007,vol. 70, nº 3, p. 461‑477.

[3] R. Verpoorte, A. Contin, et J. Memelink, « Biotechnology for the production of plant secondary metabolites », *Phytochem.* 2002,. vol. 1, nº 1, p. 13‑25.

[4] M. Yangthong, N. Hutadilok-Towatana, et W. Phromkunthong, « Antioxidant Activities of Four Edible Seaweeds from the Southern Coast of Thailand », *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2009,vol. 64, nº 3, p. 218‑223.

[5] S. O. Oyedemi et A. J. Afolayan, « Antibacterial and antioxidant activities of hydroalcoholic stem bark extract of Schotia latifolia Jacq », *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 2011,vol. 4, nº 12, p. 952‑958.

[6] R. P. Borris, G. Blaskó, et G. A. Cordell, « Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the Thymelaeaceae », *J. Ethnopharmacol.*, 1988,vol. 24, nº 1, p. 41‑91,..

[7] J. Ferrari, « Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: "Gnidia involucrata" Steud. ex A. Rich »,2015 .

[8] P. Quézel et S. Santa, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Éditions du Centre national de la Recherche scientifique, 1962.

[9] K. Batanouny, *A guide to medicinal plants in North Africa*. IUCN, 2005.

[10] A. S. N. Labib, A. Zellagui, et S. Rhouati, « Secondary metabolic components and biological effectiveness study on two species Thymelaea microphyllaand Gnidia somalensis ».2017 .

[11] K. Baba, K. Takeuchi, F. Hamasaki, et M. Kozawa, « Three New Flavans from the Root of Daphne Odora Thunb. », *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1985 ,vol. 33, nº 1, p. 416‑419,.

[12] G. Brooks, A. T. Evans, A. Aitken, M. M. El-Missiry, et S. E. Ismailii, « DAPHNANE DITERPENES OF THYMELAEA HIRSUTA »,.1989,.p. 3.

[13] M. Kawano et al., « Antimelanogenesis effect of Tunisian herb Thymelaea hirsuta extract on B16 murine melanoma cells », Exp. Dermatol.,. 2007,. vol. 16, nº 12, p. 977‑984.

[14] A. M. Rizk, « PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF THYMELEA HlRSUTA »,. 1974,.vol. 26, p. 13,.

[15] I.Ismail,« Tiliroside (kaempferol-3-p-coumaroylglucoside) from Thymelea birsuta.IV »,1978.

[16] R. Croteau, T. M. Kutchan, et N. G. Lewis, « Natural Products (Secondary Metabolites) », *Nat. Prod.*, p. 69.

[17] S. Krief, « Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées »,.2004,. p. 348.

[18] A. Chevallier, « The Encyclopedia of Medicinal Plants », 1996. .

[19] A. GHESTEM, É. SEGUIN, M. PARIS, et A.-M. ORECCHIONI, Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique, Pharmacologie, Phytothérapie, Homéopathie-Elisabeth Seguin,Axel Ghestem,Michel Paris. 2008.

[20] S.-G. Liao, B.-L. Zhang, Y. Wu, et J.-M. Yue, « New Phenolic Components fromDaphne giraldii », Helv. Chim. Acta,. 2005,. vol. 88, nº 11, p. 2873‑2878.

[21] M. Taniguchi, A. Fujiwara, K. Baba, et N.-H. Wang, « Two biflavonoids from Daphne acutiloba », Phytochemistry,. 1998,. vol. 49, nº 3, p. 863‑867.

[22] Z. Lin-gen, O. Seligmann, K. Jurcic, et H. Wagner, « [Constituents of Daphne tangutica (author's transl)] », Planta Med., 1982,. vol. 45, nº 3, p. 172‑176.

[23] A. RIZK, R. AM, H. FM, et I. SI, « PHYTOCHEMICAL IN A.RIZK,R.AM,H. FM, et I. SI, « PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF THYMELEA HIRSUTA. III. COUMARINS », Phytochem. Investig. THYMELEA HIRSUTA III COUMARINS, 1975.

[24]ز. غيابة et م. يوســــــــفي, دراسة تحليلية للبيدات وفينولات ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية.2015 ,

[25] M. S. Blois, « Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical », Nature,.1958,. vol. 181,

[26] K. Muhammad, E. Salah, K. M. Mumtaz, et K. Nawsher, « Anti-Acetylcholinesterase Activity of Piper sarmentosum by a Continuous Immobilized-enzymeAssay »,. 2020.

[27] Y. Miyamae, M. O. Villareal, M. B. Abdrabbah, H. Isoda, et H. Shigemori, « Hirseins A and B, Daphnane Diterpenoids from *Thymelaea hirsuta* That Inhibit Melanogenesis in B16 Melanoma Cells », J. Nat. Prod., 2009,.vol. 72, nº 5, p. 938‑941.

[28] M. Yahyaoui, N. Ghazouani, I. Sifaoui, et M. Abderrabba, « Comparison of the Effect of Various Extraction Methods on the Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of Thymelaea hirsuta L. aerial parts in Tunisia », Biosci. Biotechnol. Res. Asia,. 2017,. vol. 14, nº 3, p. 997‑1007.

[29] M. Bnouham, F. Z. Merhfour, A. Legssyer, H. Mekhfi, S. Maâllem, et A. Ziyyat, « Antihyperglycemic activity of Arbutus unedo, Ammoides pusilla and Thymelaea hirsuta », Pharm. - Int. J. Pharm. Sci., 2007,. vol. 62, nº 8, p. 630 ‑632.

[30] El-haoud Hamid, et al. Screening Phytochimique D'une Plant Medicinal: Mentha Spicata L. American Jornal of Innovative Research and Applied Sciences.1101. P: 277-278.

[31] Prabhavathi R. , et al. Studies on Qualitative and Quantitative Phytochemical Analysis of Cissus quadrangularis.Jornal of Advances in Applied Science Research.2016.P: 11-17.

[32] Felix G. Coe, et al. Anderson. Screening of medicinal plants used by the Garifuna of Eastern Nicaragua for bioactive compounds. Journal of Ethnopharmacology 53 (1996).P:29-506

[33] Massinissa Yahia, et al. Evaluationof thediuretic activity forthefirsttime of Hyscyamus Albusand Umbilicus repestris inrats. Brj pharm medres. 1101. Vol 02. 02. P: 449-453.

الملخص

الهدف من هذا العمل :

- الدراسة الفيتو كيميائية للأجزاء الهوائية للنبتة Thymelaea hirsuta المعروفة باسم " المثنان " ، وهو نبات متواجد بشكل كبير في الجزائر خاصة في الشمال الشرقي للبلاد .
- الاستخلاص الصلب -سائل و السائل-سائل للنبتة .
- تلخيص الدراسات السابقة للنبتة و نتائجها .
- الدراسة التجريبية :

في الدراسة الأولى دراسة فيتو كيميائية لنواتج مستخلصات الأزهار والأغصان و الأوراق
أما في الدراسة الثانية تم مقارنة طرق الإستخلاص (النقع على البارد وسوكسلي) لنبتة المثنان و تقدير الفعالية المضادة للأكسدة ، النشاط المثبط لأكسيداز الزانثين ، النشاط المضاد لإنزيم كولين أستراز ، النشاط السام للخلايا .

كلمات مفتاحية : المثنان – النشاط المضاد للأكسدة – XOD - النشاط المضاد لإنزيم كولين أستراز - النشاط السام للخلايا .

RESUME :

L'objectif de ce travail :

- l'étude phytochimique de la plante Thymelaea hirsute " mathnan " . C'est une
- plante qui se retrouve au nord-est algérien.
- Extraction solide-liquide et liquide-liquide de la plante.
- les études précédentes de la plante et ses résultats.
- Étude Expérimental :

Dans la première étude, une étude phytochimique des produits d'extraits de fleurs, de brindilles et de feuilles .
Dans la deuxième étude , Comparaison des méthodes d'extraction (macération à froid et Soxlet) de la plante Thymelaea hirsute , e l'activité antioxydante, de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase, et estimation de l'activité antioxydante, l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase, l'activité anticholinestérase, l'activité cytotoxique.

Mots clés: Thymelaea hirsute - activité antioxydante - XOD - activité anticholinestérase - activité cytotoxique.

Abstract :

The aim of this work is :

- To study the chemical viability of the Thymelaea hirsute " mathnan " . This plant is found in the north-east of Algeria.
- Solid-liquid and liquid-liquid extraction of Thymelaea hirsute .
- Previous studies of the plant and the results obtained.
- Experimental Study:

In the first study, a phytochemical study of the products of extracts from flowers, twigs and leaves.
In the second study, Comparison of the extraction methods (cold maceration and Soxlet) of the hirsute Thymelaea plant , and estimation of antioxidant activity, the xanthine oxidase inhibitory activity, anticholinesterase activity, cytotoxic activity.

Keywords: Thymelaea hirsute - antioxidant activity - XOD - anticholinesterase activity - cytotoxic activity.