الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة -

كلية علوم الطبيعة والحياة   قسم الميكروبيولوجيا

رقم الترتيب: ....

رقم التسلسل:.........

رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم

تخصص بيوتكنولوجيا ميكروبية

تحت عنوان:

استخلاص وتنقية المركبات الفعالة بيولوجيا من بعض الأنواع النباتية: *Ormenis africana*

Chrysanthemum fuscatum* , *Chrysanthemum macrocarpum* et *Chrysanthemum

***reboudianum* مع دراسة مقارنة لنشاطيتها ضد ميكروبية.**

تقديم الطالب: **دويش كمال**

لجنة المناقشة:

الأستاذ بن سفيان عبد الرحمان	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة	رئيسا
الأستاذ غواطي صالح	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة	مقررا
الأستاذ ديهيمات العيد	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة	مساعد مقرر
الأستاذ غراف نور الدين	أستاذ التعليم العالي	جامعة العربي بن مهيدي – أم البواقي	ممتحنا
الأستاذ لعروسي العربي	أستاذ التعليم العالي	جامعة فرحات عباس – سطيف	ممتحنا
الأستاذ زلاقي عمار	أستاذ التعليم العالي	جامعة العربي بن مهيدي – أم البواقي	ممتحنا

السنة الجامعية : 5102 -5102

الإهداء

أهدي ثمرة عملي و جهدي المتواضع إلى روح أمي الغالية مسعودة رحمها الله وأسكنها فسيح جنانه

و والدي الكريم حفظه الله.

إلى رفيقة دربي الطيبة زوجتي العزيزة منيرة

إلى كل إخوتي الأعزاء و أسرهم

إلى فلذات كبدي: منال، سارة ، محمد الأمين و أصغرهم ياسر عبد الجليل

وإلى كل الأصدقاء و الزملاء العاملين والمعلمين و الموظفين بجامعة أم البواقي و جامعة قسنطينة.

كلمة شكر

الحمد لله، إلهي لا تطيب الدنيا إلا بشكرك وبطاعتك وبذكرك، منحتني الصبروالتقوى وأنرت طريقي بنورالعلم والإيمان، شكرا مولاي القدير، رب العزة، جل جلالك، رب العالمين.

أتقدم بجزيل الشكر والإمتنان والتقدير إلى أستاذنا الفاضل غواطي صالح أستاذ التعليم العالي و عميد كلية العلوم الدقيقة بجامعة قسنطينة -1- على توجيهاته ومساعداته و توفيره كل الإمكانيات لإنجاز بحثنا هذا رغم مسؤولياته العديدة، كما أتوجه بخالص الشكر و العرفان ألى أستاذنا الطيّب دهيمات العيد أستاذ التعليم العالي وعميد كلية علوم الطبيعة والحياة بجامعة قسنطينة -1-على قبوله المساعدة في الإشراف و توفيره المساندات والمساعدات لإتمام البحث رغم مسؤولياته العديدة، كما أتوجه أيضا بالشكر الخالص الجزيل والامتنان لأستاذ التعليم العالي بجامعة أم البواقي زلاقي عمارعلى نصائحه القيمة والثمينة و سخاء خدماته التي ساهمت في تذليل ما واجهته من صعوبات.

شكر جزيل وعرفان إلى الأستاذ الدكتور بن سقني عبد الرحمان أستاذ التعليم العالي بجامعة قسنطينة -1- لقبوله ترأس لجنة المناقشة وإلى كل أعضائها أساتذة التعليم العالي: لعروس العربي بجامعة سطيف، غرّاف نور الدين و زلاقي عمار بجامعة أم البواقي على موافقتهم مناقشة و تقييم و إثراء رسالة الدكتوراة علوم هذه.

يجب أن لا يفوتني ولا أنسى أبدا أن أقدّم تشكراتي الخالصة مصحوبة بالإمتنان والإحترام إلى إدارة جامعة العربي بن مهيدي بأم البواقي ممثلة برئيسها أستاذ التعليم العالي: بوراس أحمد نيابة عن جميع الأساتذة الّذين شجعهم بهدف رفع راية العلم ودفعهم لإتمام رسائلهم بجامعتنا الموقرة »جزاه الله خيرا وأكثرمن أمثاله «حظي فشكر جزيل خاص للأستاذ التعليم العالي: نائب رئيس الجامعة غراف نور الدين على تشجيعه الدائم، عميد كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة عزيزي شريفة، رئيس ميدان التكوين زلاقي عمار، رئيس اللجنة العلمية مرزوق جموعي وإلى رئيس القسم أخونا الأستاذ بسام قاعود الّذين ساهموا جميعهم في دفعي لإتمام هذا العمل المتواضع.

كما أوجه خالص شكري وعرفاني إلى الأساتذة الأجانب الّذين أستضافوني بمخابرهم و/أو ساعدوني على إنجاز التحاليل اللازمة للبحث خلال فترات تربصاتي وهم الأساتذة الدكاترة: مرسي عبد القادر بجامعة القاهرة، عبد المحسن صابر إسماعيل (منسق إتفاقية التعاون العلمي بقسم كيمياء- المنتجات الطبيعية الميكروبية) ونبيل حسين السيد خميس بالمعهد القومي للبحوث، مصر. ابراهيم ديميرطاس بجامعة كانكري، تركيا. عدنان أحمد علي نظام بكلية العلوم بجامعة دمشق، سوريا. موسى أبو زرقة بجامعة عمان، بالأردن.

أنوه بدورجميع الأساتذة الباحثين بمخبرنا، مخبر المنتجات ذات الأصل الطبيعي والإصطناع العضوي *(PHYSYNOR)* بجامعة قسنطينة -1- وهم: بوسطلة أحلام، بوعروج عبد الحميد، بن كينوار رشيد، أحمد الطويل، مصباح خالد، آيت كاكي فريد، سقني نريمان، تيجاني سكينة، موساوي فيروز، سيراوي روفية وحشلاف أحلام.

أخيرا شكري الجزيل إلى عائلتي خصوصا رفيقة دربي و فلذات كبدي سارة ومنال و أخي علي و بناته وداد، آمال و منى على مساعدتهم لي وإلى كل من ساعدني من قريب أو من بعيد أساتذة وعمالا وإلى كل الأصدقاء والزملاء بجامعات سكيكدة، جيجل، باتنة، أم البواقي وجامعات قسنطينة، الّذين دائما يساعدونني و يشجعونني على الصبر والمواضبة في هاته الحياة الدنيوية.

قائـمة الأشـكال

رقم الشكل	عنـوان الشـكل	صفحة رقم
10:	تصنيـف العــائلة النجميــة	50
10:	تصنيـف العــائلة النجميــة حسـب APG III	50
10:	مقطع طولي لزهرة *Matricaria recuta*	50
10:	أشكال أزهار المجموعات الرئيسية الثلاثة للنجميات	50
10:	تحت عـائلات النجميـات	50
10:	أمثلة لبنى التربينات الأحادية غير حلقية والحلقية المتواجدة في الزيوت الأساسية	80-80
10:	أمثلة لبنى التربينات نصف ثلاثية المتواجدة في الزيوت الأساسية	82
10:	أمثلة لبنى المركبات العطرية المتواجدة في الزيوت الأساسية	35
10:	الوحدة الأساسية للفلافونويدات 2-phénylchromane	30
10:	الاصطناع الحيوي لنواة الشالكون	45
11:	الاصطناع الحيوي لمختلف أنواع الفلافونويدات انطلاقا من نواة الشالكون	41
12:	تفاعل مثيلة هيدروكسيل أصلي بعد غلق النواة **C** لمركب Lutéoline	92
13:	سلسلة الأكسدة الخلوية	49
14:	البنية الكيميائية للفيتامين ***A***	40
15:	البنية الكيميائية لـ β- carotène	40
16:	البنية الكيميائية: للفيتامين **C** وللحمضين: ascorbique و Déhydroascorbique	40
17:	البنية الكيميائية لـ α- tocopherol	40
18:	البنية الكيميائية لبعض مشتقات الـ Vit E	40
19:	البنية الكيميائية لمجموعة أحماض البنزويك و مجموعة أحماض السيناميك	42
20:	الأجزاء المهمّة في بنية الفلافونويد المؤثرة على فاعليته كمضاد للأكسدة	05
21:	البنية الكيميائية للمركبين BHA و BHT	01
02:	عمل الفلافونويدات كمصيدة للجدر الحر	01
23:	المواقع المقترحة لتمخلب الفلافونويدات مع الأيونات المعدنية	08
20:	البنية الكيميائية لجذر DPPH و شكله المختزل	09
00:	البنية الكيميائية/لجذر $ABTS^{°+}$ و *شكله* المختزل	09
20:	تفاعل DPPH مع الفينول	04

20:	مواقع عمل مثبطات بناء الجذر البكتيرية	60
20:	تأثير مضاد حيوي معين على نمو اللقاح البكتيري	75
20:	خطوات استخلاص الفلافونويدات	82
01:	التمييه الحمضي للمركبات الجليكوزيدية	83
31:	منحنى قياسي لحمض الغاليك لمعايرة الفينولات الكلية	87
32:	منحنى قياسي لمركب Quercetin لمعايرة الفلافونويدات الكلية	87
33:	شريط bio Mérieux S A API 20E)	92
34:	التأثير التثبيطي والتأثير القاتل للمستخلصات - أ - : تحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI) - ب - : تحديد التركيز الأدنى القاتل (CMB)	96
35:	كروماتوغرام غازي للزيت الأساسي لأزهار نبتة *O. africana*	103
36:	المكونات الرّئيسية للزيت الأساسي لأزهار نبتة *O. africana*	105
37:	هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي لأزهار نبتة *O. africana*	156
38:	كروماتوغرام غازي للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*	158
39:	المكونات الرّئيسية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*	111
40:	هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*	113
41:	كروماتوغرام غازي للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. reboudianum*	114
42:	المكونات الرّئيسية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. reboudianum*	116
43:	هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*	117
44:	طيف البروتون RMN -^{1}H المسجّل في $CDCl_3$ للمركب B	119
	تكبير طيف البروتون RMN -^{1}H المسجّل في $CDCl_3$ للمركب B	120
45:	طيف الكربون RMN -^{13}C المسجّل في $CDCl_3$ للمركب B	181
46:	البنية الكيميائية للمركب β - Sitostérol	182
47:	السّلسلة الطيفية فوق بنفسجية UV للمركب L	184
48:	طيف البروتون NMR-^{1}H للمركب L	180
49:	البنية الكيميائية لمركب Luteolin-7-O-glucoside	180
50:	السلسلة الطيفية فوق بنفسجية UV للمركب Q	180
51:	البنية الكيميائية لمركب Q-sucre	122
52:	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للجزء السكري للحلمهة الحمضية للمركب Q-sucre	195
53:	البنية الكيميائية لمركب Quercetine-3-0- Glucoside	131
00:	شكل (أ، ب و ج) : حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للزيوت الخام و تخفيفاتها للأنواع قيد الدّراسة	145-192

:00	الأشكال)رقم: 00: أ، ب، ج و د): حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلصات الخام (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) و تخفيفاتها للأنواع قيد الدّراسة	148-141
:00	مقارنة نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للزيوت الخام و تخفيفاتها مع الفيتامين C	144
:00	مقارنة نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلصين (Hexane و $CHCl_3$) و تخفيفاتهما مع الفيتامين C	140
:00	مقارنة نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلصين (AcOEt و BuOH) و تخفيفاتهما مع الفيتامين C	140
:00	شكلين (رقم 02:أ، ب): صورة فوتوغرافية لنتائج اختبارات شريط API 20E للسّلالتين S_1 و S_2	142
:00-00-01-00	هستوغرامات أقطار تثبيط المستخلصات)،Hexane t، AcOEt و BuOH(للكائنات الدقيقة قيد الدّراسة	108
00	هستوغرام أقطار تثبيط الزيوت للكائنات الدّقيقة الممرضة قيد الدّراسة	109
00	هستوغرام أقطار تثبيط مستخلصات الكلوروفورم للكائنات الدّقيقة الممرضة قيد الدّراسة	109

رقم الملحق	عنــوان الملحق
:10	أنواع أزهار نباتات تحت عائلات النجميات
:10	الأشكال المرفولوجية المجهرية (ضوئية و إلكترونية) لبعض السلالات قيد الدّراسة
:10	أنواع مختلف بيئات الزرع الميكروبي ***(Washington, 1966)***
:10	جدول تفصيلي لتحديد السلالات البكتيرية (Catalogue API 20E)
:10	شريط نتائج (Bio Mérieux API 20E)

رقم الجدول	عنوان الجدول	صفحة رقم
:10	تصنيف العائلة النجمية حسب APG III	50
:02	أهم أجناس العائلة النجمية	15-52
:03	توزيع اثنتي عشرة تحت عائلة نجمية جغرافيا و عدد)أجناسها وأنواعها) و نسبتها المئوية	11

:04	استعمالات أهم أنواع النجميات	14-15
:10	مناطق توزيع أهم أنواع جنس *Ormenis*	16
:10	تصنيف جنس *Ormenis* حسب APG III	17
:10	أهم استعمالات بعض أنواع جنس *Chrysanthemum*	19
:10	الفلافونويدات المفصولة من بعض أنواع الـ *Chrysanthemum*	22-21
:10	أقسام الفلافونويدات حسب نوع التحلق الحلقة C ودرجة تأكسدها	38
:01	الأمراض المعدية الناتجة عن الفطريات: *C. albicans*، *Asp. niger* و *Asp. Flavus*	57
:00	أهم الأمراض الناتجة عن السلالات البكتيرية قيد الدّراسة	58
:00	تصنيف السلالات المنتمية للـ *Proteobacteria* حسب تقسيم ***(Bergey's, 2000)***	59
:00	تصنيف السلالات المنتمية للـ *Firmicuts* حسب تقسيم ***(Bergey's, 2009)***	60
:00	تصنيف السلالات المنتمية للـ *Fungi*	60
:00	أهم الخصائص البيوكيميائية للأنواع البكتيرية قيد الدّراسة	65
:00	طيف نشاط أهم أنواع مضادات البكتيريا سريريا للكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة	67
:00	طيف نشاط مضادات الفطرين *(albicans* و *Aspergillus)* سريريا	68
:00	دراسات النشاطية ضد ميكروبية للعائلة النجمية في مختلف المناطق	72
:00	أ-) تحضير تخفيفات حمض الغاليك بطريقة ***n/10ième***	85
	ب-): معايرة لرسم منحنى قياسي للفينولات	86
:01	أ-) تحضير تخفيفات الكرستين بطريقة ***n/10ième***	08
	ب-): معايرة لرسم منحنى قياسي للفلافونويدات	89
:00	أنواع السلالات الميكروبية المستعملة	93
:00	تخفيفات المستخلصات بطريقة 1/2 ième	94
:00	نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي	
	- أ - نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي لمستخلص الإيثير البترولي	99
	– ب- نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي لمستخلص الميثانول	155
	– ج - نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي لمستخلص الماء الدافىء	151
:24	المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لأزهار نبتة *O. africana*	154
:25	التقسيم الكيميائي لمكوّنات الزيت الأساسي لأزهار نبتة *O. africana*	150
:26	المركبات الكيميائية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*	115 - 150
:27	التقسيم الكيميائي لمكوّنات الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*	118
:28	المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لنبتة *C. reboudiaum*	110
:29	التقسيم الكيميائي لمكوّنات الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. reboudianum*	110

30:	نتائج طيف البروتون ^{1}H- RMN للمركب ***B***	181
31:	نتائج مطيافية الأشعة فوق بنفسجية (UV) للمركب *L*	189
32:	نتائج مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (^{1}H -RMN) للمركب *L*	180
33:	نتائج مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (^{1}H -RMN) للمركب *Q*	182
34:	نتائج مردود المستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و n-BuOH)	198
35:	نتائج المحتوى الفينولي الكلي للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و n-BuOH) للأنواع النباتية قيد الدراسة	194-199
36:	نتائج المحتوى الفلافونويدي للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للأنواع النباتية قيد الدراسة	190
37:	نتائج قياس حركية الفعل الآسر لعيّنات الزيوت الخام و تخفيفاتها	138
38:	نتائج الاختبار البكتيريولوجي المجهري وتحديد الصفات المزرعية للسّلالات النقية المعزولة (S_1، S_2، S_3 و S_4)	140
39:	نتائج هالات تثبيط زيوت نباتات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	101-105
40:	تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات الزيوت الأساسية للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، و *Cr*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	109
41:	نتائج أقطار هالات تثبيط مستخلص (Hexane) للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	156
00:	نتائج أقطار هالات تثبيط مستخلص ($CHCl_3$) للنباتات (*a* ، *f*، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	102-100
00:	نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصين (AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	108-101
00:	تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات (Hexane) للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	104
00:	تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات ($CHCl_3$) للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	100
00:	تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات (AcOEt) للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	100
00:	تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات (BuOH) للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة	102

Liste des abréviations

Solvants et réactifs

AcOEt	acétate d'éthyle
AcOH	acide acétique
$AlCl_3$	chlorure d'aluminium
BuOH	butanol
$CDCl_3$	deutériochloroforme
CH_2Cl_2	dichlorométhane
$CHCl_3$	chloroform
DMSO	dimethylsulfoxid
Ep	Petroleum ether
Et_2O	éther diéthylique
EtOH	éthanol
H_2SO_4	acide sulfurique
H_3BO_3	acide borique
HCl	acide chlorhydrique
MeOH	méthanol
NaOAc	sodium anhydre en poudre acétate
NaOH	hydroxyde de sodium

Unités

AGE/mg	acide gallique équivalent par milligramme
eV	electron volt
Hz	hertz
Kpa	kilo pascal
ppm	parties par million
QE/mg	quercétine équivalent par milligramme
δ	delta déplacement chimique (ppm)
λ	Lambda longueur d'onde

Techniques phytochimiques et biochimiques

13C-RMN	résonance magnétique nucléaire du 13Carbon
1H-RMN	résonance magnétique nucléaire du proton
A°	radical produit
AH	donneur d’hydrogène

ATBS $^{+}$	2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) de cation radicalaire
ATBS $^{+\circ}$	ATBS $^{+}$ - radicalaire
Ax	axial
BHA	butyle hydroxyle anisole
BHT	butyle hydroxyle toluene
CC	chromatographie sur colonne
CCM	chromatographie sur couche mince
CG	chromatographie gazeuse
d	doublet
dd	doublet de doublet
DO	densité optique
DPPH °	radical- DPPH
DPPH	1,1-diphenyl -2- radical picrylhydrazyl
dt	doublet du triplet
EI	émission électronique
GC-MS	chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
H_{ES}	huile essentielle
HF	huile fixe
HPLC	chromatographie liquide à haute performance
I %	pourcentage d'inhibition
J	constante de couplage (Hz)
Rd	rendement
RF	rapport frontal
RI	indice de rétention
RPE	résonance para électronique
SA	Spin adduit
SM	solution mère
SP	piégeur de spin
t	triplet
q	quartet
S	singulet
TR	temps de maintien
UICPA	union internationale de chimie pure et appliquée
UV / Vis	Ultraviolet – Visible
UV	ultra-violet

Biologie et activités microbiologiques

APG III	angiosperme groupe phylogénie
ATTC	american Type Culture Collection (type de culture de la collection americaine)
BN	bouillon nutritive

Cf	Chrysanthemum fuscatum
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute, (Institut de standard clinique et de laboratoire)
Cm	Chrysanthemum macrocarpum
CMB	concentration Minimale bactéricide
CMD	concentration minimale destructive
CMF	concentration minimale fongicide
CMI	concentration Minimale Inhibitrice
Cr	Chrysanthemum reboudianum
D	diamètre d'inhibition
GN	gélose nutritif
Gram (-)	coloration de Gram négative
Gram (+)	coloration de Gram positive
IC_{50}	50% concentration inhibitrice
INDO	indol
MH	agar Muller – Hinton
NCBI	Centre national d'information de la biotechnologie
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards (Comité national pour les Normes de Laboratoire Cliniques)
NIST	National Institute of standards and technology
Oa	Ormenis africana
OMS	organisation mondial de la santé
PN	profil numérique
PNNR	profil numérique non référencé
RM	test rouge de méthyle
ROS	reactives oxygens species (Espèces réactives de l'oxygène)
S I T I	Le système d'information taxonomique integer
UFC	unité formant colonnie
VP	test de Voges – Proskauer

Statistique

b	coefficient de régression des y sur des x
n	nombre de répétitions
r	coefficient de régression
R^2	coefficient de détermination
SD	standart déviation
$\overline{X}$	moyenne arithmétique
X	moyenne statistique

الفهرس

المقدمة 01

الجـزء النظري

الفصل الأوّل: العـائلة النجمية

1 – عموميـات: 00
2 – التصنيـف: 00
3 – تواجدها و توزيعها: 08
4 – صفاتهـا البيولوجيـة: 11
5 – استعمالاتها و أهميتها الإقتصادية: 13
6 - الأجناس قيد الدراسة: 16
6 – 1 - جنـس *Ormenis*: 16
6 – 2 - جنـس *Chrysanthemum*: 11
7 – مسح فيتوكيميائي للأجناس قيد الدراسة: 20
7 – 1 – دراسات سابقة لجنـس *Ormenis*: 20
7 – 2 – دراسات سابقة لجنـس *Chrysanthemum*: 20

الفصل الثـاني: المنتجات الطبيعية

1 – الزيـوت الأسـاسيـة: 20
1 – 1 – عموميـات: 20
1 – 2– الاستعمالات والسّمية: 20
1 – 3 – الخصائص الفيزيائية والكيميائية: 26

1- 3 – 1 - الخصائص الفيزيائية: 26
1- 3 – 2 - التركيب الكيميائي: 26
1- 3 – 3 - النوع الكيميائي Chemotype: 30
1- 3 – 4 - الحفظ: 30
1 – 4 – طرق الاستخلاص: 30
1 – 5 – حساب المردود وتحليل المكونات: 31
1 – 6 – الاصطناع الحيوي للزيوت الأساسية: 32
2 – الفلافونويدات: 35
2 – 1 - عموميات: 36
2 – 2 - دورها واستعمالاتها: 35
2 – 3 – التركيب الكيميائي: 36
2 – 4 – الإصطناع الحيوي للفلافونويدات: 33

الفصل الثالث: النشاطية ضد مؤكسدة

1 - الجذور الحرّة: 03
2 - زيادة الجذور الحرّة و ضررها بالجسم: 04
3 - مضادات الأكسدة: 05
4 – أنواع مضادات الأكسدة: 45
4 – 1 - مضادات الأكسدة الطبيعية: 45
4 – 2 - مضادات الأكسدة المصنّعة: 51
5 – آليات عمل مضادات الأكسدة: 51
6 – تحديد النشاطية ضد مؤكسدة: 52
6 – 1 – الاختبارات المخبرية: 52
6 – 2 – تقنية الرنين بارا المغناطيسي الإلكتروني: 54

الفصل الرابع: الدّراسة الميكروبيولوجية

1 - الكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة: 56

1 – 1 – قدرتها المرضية: 56

1 – 2 – تصنيفها: 53

1 – 3 – خصائصها المرفولوجية والفيزيولوجية: 61

1 – 0 – خصائصها البيوكيميائية: 60

2 - حساسية الكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة: 66

2 – 1 – مضادات السلالات البكتيرية قيد الدّراسة: 66

2 – 2 – مضادات السلالات الفطرية قيد الدّراسة: 67

3 - النشاطية ضد ميكروبية: 61

3 – 1 – تقنيات دراسة النشاطية ضد ميكروبية: 61

3 – 2 – تقييم النشاطية ضد ميكروبية: 63

3 – 2 – 1 – التأثير التثبيطي والتأثير القاتل: 63

3 – 2 – 2 – التركيز الأدنى المثبط (CMI): 70

3 – 2 – 3 – التركيز الأدنى القاتل (CMB): 71

0 - النشاطية ضد ميكروبية للنجميات: 72

0 – 1 – النشاطية ضد ميكروبية للمستخلصات: 72

0 – 2 – النشاطية ضد ميكروبية للزيوت الأساسية: 73

الجزء العملـي

I - الطرق و الوسائل

1 - النباتات المستعملة: 77
2 - الكشف عن نواتج الأيض الثانوي: 77
3 - تحليل GC/MS للزيوت الأساسية: 73
3 – 1 - استخلاص الزيوت الأساسية بطريقة (Hydrodistillation): 73
3 – 2 – حساب المردود: 10
3 – 3 – *تحليل مكوّنات الزيوت المستخلصة:*.. 10
3 – 4 - *تحديد مكوّنات الزيوت* : 10
4 - الاستخلاص والتنقية: 11
4 - 1 - عمليات الاستخلاص: 11
4 - 2 - الفصل و التنقية: 11
4 - 3 – الإماهة الحمضية: 13
5 – معايرة المحتوى الفينولي و الفلا فونويدي: 15
5 - 1 – تقدير الفينولات الكلية: 15
5 – 2 - تقدير الفلافونويدات الكلية: 16
6 - تقييم النشاطية المضادة للأكسدة: 13
7 – دراسة ميكروبيولوجية: 30
7 – 1 - السلالات الميكروبية قيد الدّراسة: 30
7 – 2 – الاختبار الخلوي البكتيري (Examen cytobacteriologique): 31
7 – 3 - السلالات الميكروبية المستعملة: 33
7 – 4 - اختبار الـ Antibiogramme: 30
7 – 5 - تحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI): 35
7 – 6 - تحديد التركيز الأدنى القاتل (CMB): 36
8 – التحليل إحصائي: 37

II - النتائج والمناقشة

1 - نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي: 33

2 – تحليل GC/MS للزيوت الأساسية:... 103

2 – 1 – تحليل الزيت الأساسي لأزهار نبتة *O.africana*: 103

2 – 2 - تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*: 107

2 – 3 - تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. reboudianum*: 113

3 – التحليل البنيوي للمركبات المفصولة: 119

3 – 1 – التحليل البنيوي للمركب *B* :.. 119

3 – 2 - التحليل البنيوي للمركب *L* :... 123

3 – 3 - التحليل البنيوي للمركب *Q* : 127

4 – دراسة المحتويين الفينولي و الفلا فونويدي: 132

0 – 1 – مردود المستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) : 132

0 – 2 – نتائج تقدير الفينولات الكلية:... 133

0 – 3 – نتائج تقدير الفلافونويدات الكلية:... 135

5 - تقييم النشاطية ضد مؤكسدة:... 138

5 – 1 – نتائج النشاطية ضد مؤكسدة للزيوت الأساسية: 138

5 – 2 – نتائج النشاطية ضد مؤكسدة للمستخلصات: 140

5 – 3 - دراسة مقارنة للنشاطيات المضادة للأكسدة: 143

6 – دراسة ميكروبيولوجية: 101

6 – 1 – تنقية و تحديد السّلالات السريرية المستعملة: 101

6 – 2 – النشاطية ضد بكتيرية و ضد فطرية للزيوت الأساسية:.. 150

6 – 2 – 1 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية للزيوت الأساسية:... 150

6 – 2 – 2 – نتائج تحديد CMI و CMD للزّيوت الأساسية: 153

6 – 3 – النشاطية ضد بكتيرية و ضد فطرية للمستخلصات: 155

6 – 3 – 1 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية لمستخلص الهكسان: 156

6 – 3 – 2 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية لمستخلص الكلوروفورم: 158

6 – 3 – 3 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية للمستخلص الآسيتات و البيثانول: 161

6 – 4 – تحديد CMI و CMD للمستخلصات النباتية: 160

6 – 4 – 1 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات الهكسان: 160

6 – 4 – 2 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات الكلوروفورم: 165

6 – 4 – 3 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات آسيتات الإيثيل: 167

6 – 4 – 4 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات البيثانول: 161

6 – 5 – دراسة مقارنة لتقييم النشاطيات ضد ميكروبية: 171

7 - الخـاتمة: 176

8 - آفـاق: 180

9 - قائمة المراجع: 181

- الملخص بالعربية: 206

- الملخص بالإنجليزية: 207

- الملخص بالفرنسية: 201

10 - الملحق: 203

المقدّمة

أهتم الإنسان منذ القديم بالنباتات الطبية واستعملها في الطب التقليدي منذ فجر التاريخ في مختلف مناطق العالم مثل: الصين ومصر القديمة، وظلّت مستعملة للعلاج عبر أزمنة متعاقبة، لحين ثورة القرن العشرين لمختلف العلوم والاكتشافات الهائلة في مجال التقنيات الدوائية والصيدلانية، التي أدّت إلى ضيق استعمالها المؤقت لكون معظم الأدوية المصنّعة لا تخلو من الأعراض الجانبية أو المضاعفات المضرة بالصّحة أثناء العلاج. حاليا بدأ الاهتمام بالنباتات الطبية من جديد أكثر ممّا كانت عليه سابقا ونتيجة للتقدم العلمي والبيوتكنولوجي السريع في مختلف المجالات الحيوية خصوصا الصناعات الدوائية، استبدل الشكل البدائي لاستعمال النباتات الطبية بمنتجات بيولوجية تمكننا من إنجاز أدوية وعقاقير صيدلانية ذات أصل نباتي نتيجة توفر تقنيات بيو- حيوية لدراسات نوعية وكمية لمختلف: النشاطيات البيولوجية، التحليل البيوكيميائي و طرق الاستخلاص والتنقية للحصول على مواد نقية فعّالة بيولوجيا تعمل سويًا وفي توافق ضد مرض معين وتعتبر مسؤولة عن التأثير العلاجي الناجح التي أدت إلى تزايد الاهتمام باستغلال بيوتكنولوجي لمختلف الموارد الطبيعية، حيث تعتبر النباتات المصدر الرئيسي للمواد الفعّالة بيولوجيا اللازمة لتحضير العقاقير الصيدلانية و بذلك احتلت مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي وتلقى عناية بالغة الأهمية لدى الكثير من دول العالم **(ماهر، 7002).**

تعتبر الجزائر شديدة التنوع بالنباتات الطبية والعطرية بسبب قطرها الشاسع و تنوع بيئتها، و بذلك تحتوي على الكثير من النباتات الأصيلة *(Endémiques)* و النادرة *(Rares)* لم تتم دراستها و استغلالها لحد الآن، حيث أثبتت الدّراسات أنّها تحتوي على ما لا يقل عن 0033 نوع نباتي طبي و يوجد ما لا يقل عن 033 عشبه متداولة بين الأهالي و معروفة في الطب التقليدي تنتمي إلى 931 جنس من العائلة النجمية التي تتميز بمركباتها الكيميائية المتعددة: *(Monoterpènes, Sesquiterpènes, lactones, Sesquiterpènes Diterpènes, Triterpènes, Flavomoïdes, Acides phenoliques...إلخ)* ذات فعاليات بيولوجية متنوعة ممّا أهلها لاستعمالات طبية عديدة، الجنسين *Ormenis* و *Chrysanthemum* ممثلين على الترتيب في الجزائر بثلاثة أنواع و خمسة عشرة نوع :

(Li et al.,.2012 & Belury, 2011 ،Quezel et Santa, 1962-63(

بيّنت دراسات فوائد ذات قيمة طبية ممتازة وذلك بفصل فئات مختلفة من المنتجات الطبيعية ذات نشاطيات بيولوجية عديدة من الجنسين *Ormenis* و *Chrysanthemum* ***(Ferrari, 2005 & Wang et al., 2012)*** كما أكدت دراسات أخرى تنوع تركيب زيوتهما الأساسية المحتوية على وظائف كيميائية متنوعة و بعض التربينات الأحادية ممّا أهلهما للفعالية ضد مؤكسدة ***(Trillini, 2007 & Teps et al., 2005)*** بالإضافة لفاعليتهما المؤثرة على البكتيريا بمنع تكاثرها، تجرثمها و تركيب سمومها كما تعمل على تثبيط نمو الكتلة الخلوية و إنتاج *Pseudo-mycelium* للخمائر وكذلك تثبيط استطالة ميسيليوم الفطريات وإنتاج سمومها ***(Lahlou, 2004 & Carson, 2002).***

عملنا المتواضع يهدف إلى دراسة الزيوت الأساسية، المحتوى الفينولي و المحتوى الفلافونويدي للمستخلصات الخاصة بالأنواع النباتية: *Ormenis africana*، *Chrysanthemum macrocarpum*، *Chrysanthemum reboudianum*، *Chrysanthemum fuscatum* التابعة للعائلة النجمية التي تعتبر أهم الفصائل النباتية في الجزائر، بالإضافة إلى دراسة النشاطية ضد مؤكسدة لهذه المنتجات، متبوعة بدراسة حساسية كائنات دقيقة مرجعية و إكلينيكية (80 سلالات بكتيرية و 80 سلالات فطرية) تجاه تركيزات مختلفة من منتجات الفصيلة سابقة الذكر، بطريقة الانتشار

على وسط صلب بتقنية الـ *Antibiogramme (NCCLS)* و تحديد الفعل المثبط *(Bacteriostatique)* والفعل القاتل *(Bactéricide)* لنمو هذه لكائنات الدقيقة قيد الدّراسة، لتكون أساسا كقاعدة لربط البيوتكنولوجيا و النشاط الميكروبي.
دراستنا هذه شملت جزئين رئيسيين هما:

الجزء النظري: يتمثل في مسح مكتبي مرجعي للعائلة النجمية والأنواع النباتية قيد الدّراسة المنتمية للجنسين *Ormenis* و *Chrysanthemum*، كذلك الزيوت الأساسية و الفلافونويدات للمستخلصات مع دراسة الفعل المضاد للأكسدة الذي تبديه هذه المنتجات النباتية بالإضافة إلى دراسة ميكروبيولوجية توضح القدرة المرضية، التصنيف، الخصائص المورفولوجية والفيزيولوجية والبيوكيميائية للكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة (الفطريات والبكتيريا) الممرضة للإنسان مع توضيح آلية وحساسية هذه الأخيرة للمضادات البكتيرية والمضادات الفطرية مع استعراض لمختلف تقنيات دراسة النشاطية ضد ميكروبية ثم تبيين التأثير التثبيطي والتأثير القاتل مصحوبة بدراسة مقارنة للنشاطية ضد ميكروبية للعديد من التقنيات لاستخلاص الزيوت الأساسية ومستخلصاتها النباتية، تهدف هذه البيبليوغرافيا خدمة الجزء العملي وتحليل النتائج.

الجزء العملي: يتضمن أعمال تجريبية مخبرية تهدف بشكل رئيسي إلى:

- تحديد المجموعات الكيميائية *Screening chimique* للنباتات قيد االدّراسة.

- استخلاص ودراسة الزيوت الأساسية بتحليل GC/MS من أزهار نبتة *Ormenis africana* و من الجزئين الهوائيين لكل من النبتتين: *Chrysanthemum fuscatum* و *Chrysanthemum reboudianum*.

- فصل وتنقية وتحديد بنية بعض المركبات المعزولة من نبتة *Ormenis africana* المحلية.

- دراسة المحتوى الفينولي و الفلافونويدي للنباتات قيد االدّراسة.

- دراسة النشاطية ضد مؤكسدة للزيوت الأساسية و لمختلف المستخلصات.

- دراسة النشاطية ضد ميكروبية للزيوت الأساسية ولمختلف المستخلصات بقياس مناطق التثبيط، تحديد التأثير المثبط وتحديد التأثير القاتل ثم تقييم النشاطية ضد بكتيرية والنشاطية ضد عفنية.

- دراسة إحصائية للمحتوى الفينولي و الفلافونويدي و تحليل بتمثيل نتائج النشاطية ضد مؤكسدة و النشاطية ضد ميكروبية كمتوسطات إحصائية و دراسة العلاقة بين هذه المتغيّرات بتحليل ارتباطها، مع دراسة مقارنة لمختلف النشاطيات.

الجزء النظري

لفصل ألول:

لعائلاقنجمية

1 – عموميـات:

تشمل المملكة النباتية أكثر من 300 ألف نوع نباتي تضم أساسا الأشنات (Lichens) و الزمرة اليخضورية (Chlorophyliens) التي تحتوي الطحالب (Algues) و نباتات ذات أوراق (Plantes à feuilles) التي تضم تحت مملكتين الأولى هي النباتات اللاوعائية (Brophytes) التي تحتوي زمرة الكبديات (Hépatiques) و الحزازيات (Mousses) و الثانية هي النباتات الوعائية (Vasculaires): تضم لا زهريات (Ptéridophytes) و ذوات البذور (Spermatophytes) التي تنقسم إلى عاريات البذور (Gymnospermes) و كاسيات البذور مزهرة (Angiospermes). تعتبر نباتات العائلة النجمية (Famille des Astéraceae) من أوسع النباتات الزهرية انتشارا، أعلى النباتات رقيا في ذوات الفلقتين (Dictyledones) وأكبر إحدى عشرة عائلة مكونة لرتبة (Astérales) حيث تحتوي ما بين (1600 إلى 1700) جنس يضم من (24 إلى 30)) ألف نوع ***(Funk et al., 2005 ; Slu et al., 2002 et Mc Govern et al., 1998).***

الجزائر غنية بتنوع نباتات هذه العائلة حيث ينمو على تربتها 408 نوع تنتمي إلى 109 جنس وهي غالبا نباتات عشبية إمّا حولية أو معمرة، ونادرا ما تكون أشجارا أو شجيرات و تكون في هذه الحالة إستوائية من حيث الموقع المناسب لنموها، الأوراق متبادلة الوضع على السيقان ونادرا جدا ما تكون متقابلة قد تكون كاملة الحواف أو مفصصة أو مسنّنة أو مقسَمة ***(Quezel et Santa, 1962-1963).*** تتميز نباتات هذه العائلة بأنها تتواجد في مجموعات تسمى بالنورات الرأسية (Heads Capitula) حيث يحتوي كل (Capitulum) على نوعين من الأزهار أو الزهيرات (florets)، النوع الأول وهو الأزهار القرصية أو الأنبوبية حيث تحتوي على تاج أنبوبي الشكل وهي خنثى ومنتظمة، أما النوع الثاني فهي الأزهار الشعاعية شريطية الشكل غالبا ما تكون وحيدة الجنس مؤنثة ونادرا ما تكون خنثى أو عقيمة **(هيكل و عبد الرازق، 2002).**

2 – التصنيف:

سميت العائلة النجمية سنة 1820 ***(Asteraceae Bercht. et J. Presl)*** و كانت تسمى (1792) ***Compositae Giseke***، يعتمد تصنيفها حاليا أساسا على الخصائص الشكلية، التشريحية، الكيميائية و الوراثية و الشكل (رقم:01) يوضح تصنيف النباتات المنتمية للعائلة المركبة ضمن رتبة ملتحمات المآبر، تحت صف ملتحمات البتلات، صف ثنائيات الفلقة، تحت قسم مغلفات البذور قسم النباتات الزهرية تحت المملكة الوعائية للمملكة النباتية **(سلامة، 1994).** يعتبر حاليا تصنيف **APG III** ***(Angiosperms Phylogeny Group, 2009)*** المدقق والمكمل لتصنيف **(APG II, 2003)** أهم تصنيف نباتي يجمع النباتات المزهرة و تصنيف العائلة النجمية موضح في الجدول (رقم:01) و الشكل (رقم:02). قسمت نباتاتها إلى أربع تحت عائلات هي:

- تحت العائلة الأنبوبية: Tubuliflores ou carduacées
- تحت العائلة ا لسينية (الهندبيات): Liguliflores ou chicoracéés
- تحت العائلة الشعاعية (الأقحوانيات): Radiées ou corymbifére
- تحت العائلة الشفوية: Labiactiflores

Règne: Palantae

⇩

Sous-règne Tracheobionta (Plantes vasculaires)

⇩

Embranchement Phanerogamae (Phanérogames)

⇩

S/embranchement Magnoliophytina (Angiospermes)

⇩

Classe Magnoliopsida (Dicotyledones)

⇩

Sous-classe Asteridae

⇩

Ordre Asterales

⇩

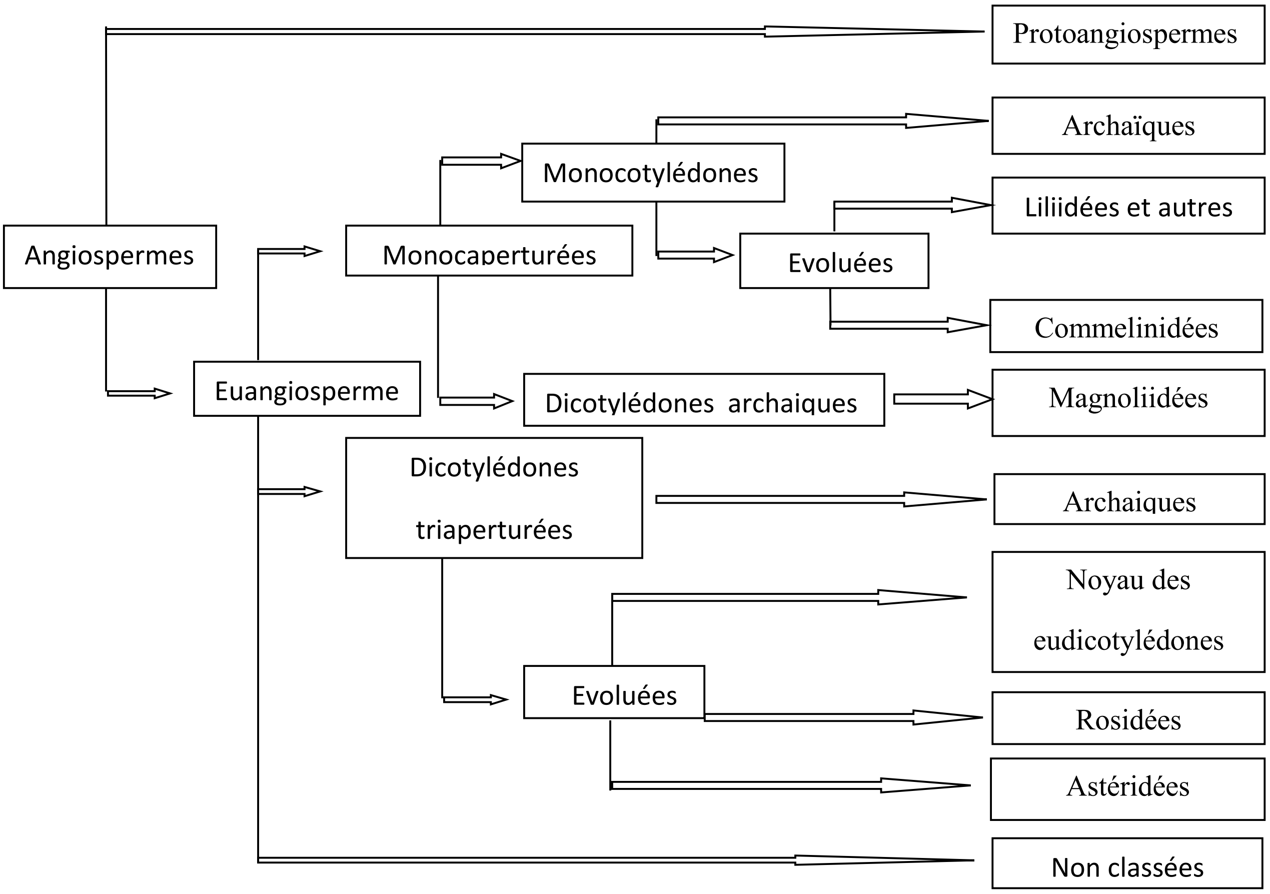
Famille Asteraceae

شكل (رقم:01): تصنيف العائلة النجميـة

جدول (رقم:01): تصنيف العائلة النجميـة حسب ***APG III***

*(Angiosperms Phylogeny Group, 2009***)***

Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Astéridées
Clade	Campanulidées
Ordre	Asterales
Famille	**Asteraceae**



شكل (رقم:02): تصنيف العائلة النجميـة حسب *APG III*

(Angiosperms Phylogeny Group, 2009)

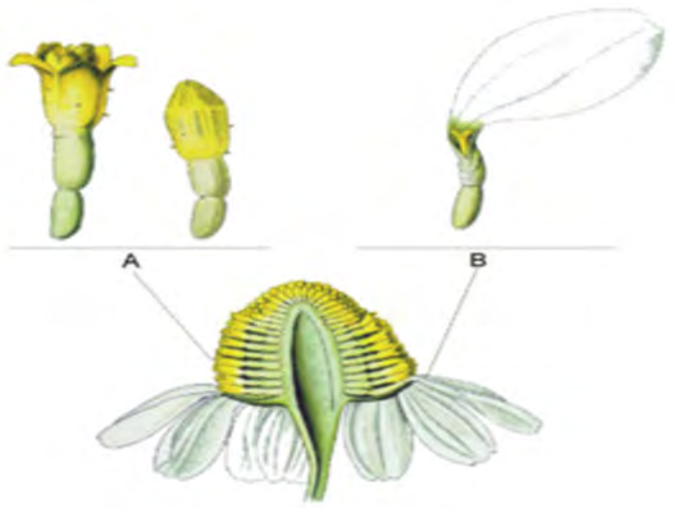
يلاحظ بأن المجموعتين الرئيسيتين من الوجهة التصنيفية هما **(سلامة، 1994)** و **(هيكل و عبد الرازق، 2002)**:

أ- أنبوبية الأزهار (Tubiliflorae): هي خالية من الأوعية اللبنية وتعوضها الأنابيب أو الممرات الزيتية و النورات الرأسية بكلى زهريتيها أنبوبيتان وتحتوي هذه المجموعة على العديد من النباتات الطبية العطرية مثلا: الشيح، البابونج الروماني ولألماني، البيرثرم، عباد الشمس، البعثران، الأقحوان و الإيشيليا بنوعيها المصري والمجري.

ب- شعاعية أو لسانية الأزهار (Liguliflorae): حيث تتواجد بها الأوعية اللَبنية، أما الممرات الزيتية الإفرازية فهي نادرة الوجود، التيجان غالبا ما تكون شريطية أو لسانية الشكل وتحتوي هذه المجموعة على القليل من النباتات ذات الاستخدامات الطبية والعلاجية.

ج – أقحوانية الأزهار: تكون أشكال أزهارها مركبة من أزهار محيطية شعاعيه محيطة بقرص مركزي يتكوّن من أزهار أنبوبية.

يمكن توضيح مرفولوجية أنواع الأزهار الثلاثة بالمقطع الطولي لزهرة أقحوانية لنوع نباتي نجمي *Matricaria recuta* زهرته مركبة من النوعين الأنبوبية و الشعاعية باالشكل (رقم:03).



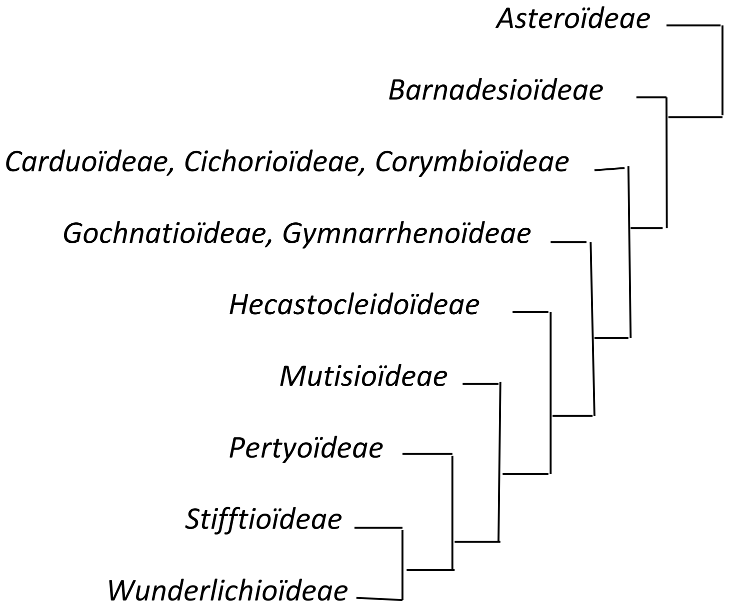
شكل (رقم:03): مقطع طولي لزهرة *Matricaria recuta*

توجد ثلاثة مجموعات أزهار رئيسية من الوجهة التصنيفية (أنبوبية الأزهار، شعاعية الأزهار و أقحوانية الأزهار) و الشكل (رقم:04) يوضح أشكال أزهار المجموعات الرّئيسية الثلاثة.

أ - أنبوبية الأزهار **ب** – شعاعية ألأزهار **ج** – أقحوانية الأزهار

شكل (رقم:04): أشكال أزهار المجموعات الرّئيسية الثلاثة للنجميات.

حاليا قسّمت النجميات إلى إثنى عشرة تحت عائلة مرتبة في الشكل (رقم:05) تضم إثنى عشرة نوعا، صور أزهارها مبيّنة في الملحق (رقم:01). هذه تحت وحدات تضم العديد من الأجناس تصل حوالي 16 ألف جنس نسجل أهمها بالترتيب الأبجدي اللاتيني في الجدول (رقم:02).



شكل (رقم: 05): تحت عـائلات النجميـات

3 – تواجدها و توزيعها:

تتواجد نباتات العائلة النجمية في كل بقاع العالم ما عدا في القارتين الجنوبية و الشمالية والأنواع العديدة المنتمية لتحت العائلات Carduoideae، Cichoroideae و Asteroideae المتواجدة بنسبة 96 % من مجموع الأنواع عالمية الإنتشار، تليها تحت العائلة Mutisioideae التي تضم 3 % من الأنواع بالإضافة إلى تحت العائلات Barnadesioideae، Sttiftioideae، Wunderlichioideae و Hecastocleidoideae تنتشر في أمريكا الجنوبية مع ملاحظة أنّ تحت العائلة Barnadesioideae تتموقع خصوصا في جبال الأنديز العابرة بسبعة دول في أمريكا الجنوبية و تحت العائلة Sttiftioideae تنتشر أيضا في آسيا خصوصا في الجنوب الغربي للصـين و تحت العـائلة Wunderlichioideae يوجد معظمها في فنزويلا وغوايانا ولوحظ نوع وحيد *Hecastocleis shokley* جنوب غرب الولايـات المتحدة، ونوع وحيد آخر *Gymnarrhena micrantha* بشمال إفريقيـا ***(Stevens, 2008)*** و الجدول (رقم:03) يوضح توزيع اثنتي عشرة تحت عائلة نجمية جغرافيا، عدد أجناسها، عدد أنواعها ونسبتها المئوية.

جدول (رقم:02): أهم أجنــاس العائـلة النجميـة

الترتيب الأبجدي	أهم الأجنــاس
A	*Achillea, Acroptilon, Ambroisie, Anacyclus, Anaphalis, Andryala, Antennaria, Anthemis, Aposeris, Arctium, Arctotheca,Arctotis Argyranthemun, Arnica, Arnoseris, Artemisia, Aster, Asteriscus, Atractylis.*
B	*Baccharis, Balsamita, Bellis, Bellium, Berardia, Bidens, Blumea, Bombycilaena, Brachyscome, Buphthalmum.*
C	*Cacalia, Calendula, Callistephus, Calotis, Carduncellus, Carduus, Carlina, Carpesium, Carthamus, Catananche, Cenia, Centaurea, Centipeda, Cheirolophus, Chiliadenus, Chondrilla, Chrysanthemoides, Chrysanthemum, Cicerbita, Cichorium, Cineraria, Cirsium, Cnicus, Coleostephus, Conyza, Coreopsis, Cosmos, Cotula, Crepis, Crupina, Cyclachaena, Cynara.*
D	*Dahlia, Delairea, Dendrosenecio, Dimorphotheca, Dittrichia.*
E	*Echinacea, Echinops, Eclipta, Encelia, Epaltes, Erigeron, Eriophyllum, Eupatorium, Euryops, Evax.*
F	*Felicia, Filago, Flaveria.*
G	*Gaillardia, Galactites, Galatella, Galinsoga, Ggamochaeta, Gazania, Gerbera, Geropogon, Glebionis, Glossocardia, Gnaphalium, Grindelia, Guizotia.*
H	*Hedypnois, Helenium, Helianthus, Helichrysum, Hemizonia, Heteranthemis, Hieracium, Homogyne, Hyoseris, Hypochaeris.*
I	*Inula, Ismelia.*
J	*Jasonia, Jurinea.*
L	*Lactuca, Lagenophora, Lapsana, Leontodon, Leontopodium, Leucanthemopsis, Leucanthemum, Leuzea, Liatris, Ligularia, Lipochaeta, Logfia, Lonas.*

تابع للجدول (رقم:02): أهم أجنــاس العائلـة النجميـة

الترتيب الأبجدي	أهم الأجنــاس
L	*Lactuca, Lagenophora, Lapsana, Leontodon, Leontopodium, Leucanthemopsis, Leucanthemum, Leuzea, Liatris, Ligularia, Lipochaeta, Logfia, Lonas.*
M	*Madia, Mantisalca, Matricaria, Mycelis.*
N	*Nananthea, Notobasis.*
O	*Olearia, Omalotheca, Onobroma, Onopordum, Orminis, Osteospermum, Otanthus, Ozothamnus.*
P	*Pallenis, Parasenecio, Petasites, Phagnalon, Picnomon, Picris, Plagius, Podachaemium, Prenanthes, Pseudelephantopus, Pseudognaphalium, Pterocaulon, Ptilostemon, Pulicaria.*
R	*Reichardia, Rhagadiolus, Rudbeckia.*
S	*Sanvitalia, Santolina, Saussurea, Scolymus, Scorzonera, Senecio, Serratula, Sigesbeckia, Silphium, Silybum, Solidago, Soliva, Sonchus, Staehelina, Stevia, Synedrella.*
T	*Tagetes, Tanacetum, Taraxacum, Telekia, Tephroseris, Tolpis, Tragopogon,Tridax, Tussilago, Tyrimnus.*
U	*Urospermum, Ursinia.*
V	*Verbesina, Vernonia, Vittadinia.*
W	*Wedelia, Willemetia, Wollastonia.*
X	*Xanthium, Xeranthemum.*
Z	*Zinnia.*

جدول (رقم:03): توزيع اثنتي عشرة تحت عائلة نجمية جغرافيا

(عدد أجناسها،عدد أنواعها ونسبتها المئوية)

تحت العائلة	عدد الأجناس	عدد الأنواع	(%) للأنواع	مناطق إنتشارها
Barnadesioideae	09	93	0,4	أمريكا الجنوبية خاصة بجبال الأنديز
Stifftioideae	-	-	-	أمريكا الجنوبية و آسيا
Mutisioideae	58	750	03	أمريكا الجنوبية
Wunderlichioideae	08	24	0,1	معظمها في فنزويلا وغوايانا
Gochnatioideae	4 أو 5	90	0,4	-
Hecastocleidoideae	01	01	-	Hecastocleis shokleyi جنوب غرب الولايات المتحدة
Carduoideae	83	2500	11	عالمية الإنتشار
Pertyoideae	5 أو 6	70	0,3	-
Gymnarrhenoideae	01	01	-	Gymnarrhena micrantha شمال أفريقيا
Cichorioideae	224	3200	14	عالمية الإنتشار
Corymbioideae	01	09	-	Corymbium
Asteroideae	1130	16200	70	عالمية الإنتشار

4 – صفاتها البيولوجية:

تتميَز نباتات العائلة النجمية ***Asteraceae Bercht. & J.Presl*** بصفات بيولوجية **(شكري إبراهيم، 1994)** و **(مشال، 2003)** هي:

الجذور: وتدية الشكل وقد تتحور بعض جذور نباتات هذه العائلة وتقوم بوظيفة التخزين.

السيقان: تكون على شكل ريزومي أو درني.

الأوراق: متبادلة وقد تكون متقابلة وهي بسيطة عديمة الأذينات، وقد تتحور إلى أشواك في النباتات الجفافية، والتعرق ريشي قد يكون متوازيا.

النـورة: مغلفة بعدة قنابات تعرف بالقلافة وقد يوجد بالنورة نوعان من الأزهار، أزهار شعاعية خارجية وأزهار قرصية داخلية، تخرج كل زهرة من إبط قنابة شفافة و قد لا توجد قنابات في بعض النورات كما في الأقحوان والقطيفة، في بعض الأنواع تتركب النورة من نوع واحد من الأزهار إما أزهار شعاعية كما في الجعضيض Sonchus، أو أنبوبية كما في الشيح.

يختلف عدد الأزهار في النورة قد يصل إلى المئات كما في عباد الشمس، وقد توجد زهرة واحدة محاطة بعدة قنابات كما في زهرة شوك الجمل. ومجموع الهامات البسيطة تكوّن نورة مركبة، توجد زهرة واحدة أيضا في نـورة الأمبروزيا أما نورة الشبيط المؤنثة فتوجد فيها زهرتان، قد يكون الحامل الزهري مسطحا أو محدبا أو مستطيلا أو مقعرا و يمتد ليحيط بالزهرتين المؤنثتين تمام الإحاطة ويكوّن شكل غطاء أو جراب مقفل ولا يظهر إلا القلمان الخارجان من ثقب بالقمة، يوجد على سطح الشمراخ نتوءات شوكيه خطالية (يعتقد البعض أن هذا الغطاء ناتج من التحام القنابات وليس من نمو الشمراخ). تتكون القلافة التي تحيط بالنورة من الخارج من قنابات عديدة أو قليلة العدد قد تتحول إلى أشواك تعمل على انتثار الثمار كما في السنتوريا.

الزهرة: إما مذكرة أو مؤنثة أو خنثى، وفي نبات الشبيط توجد الأزهار المذكرة في نورة والمؤنثة في نورة أخري وكلاهما على نبات واحد أي أن النبات وحيد المسكن، وفي الأقحوان نجد الأزهار المذكرة وسط النورة وهي الأزهار القرصية، أما الشعاعية فمؤنثة.

أ – الزهـرة الشعاعيـة: إما مؤنثة أو عقيمة، لا يوجد لها مبيض أو قد يتكون المبيض ولكنه ضامر، وبذلك تقوم الأزهار الشعاعية بجلب الحشرات إلى النورة، والزهرة الشعاعية غير منتظمة الكأس يمثله نتوءان صغيران، ويتركب التويج من خمس بتلات ملتحمة على هيأة شريط ينتهي بثلاثة أسنان تمثل ثلاث بتلات، أما البتلتان الباقيتان فقد أختفيتا.

ب – الزهـرة القرصيـة: منتظمة ويتركب التويج فيها من خمس بتلات ملتحمة، وقد يكون التويج مفصصا تفصيصا عميقا كما في الخرشوف، وفي بعض الأنواع يكون التويج شفويا، تتركب الشفة العليا منه من بتلتين والشفة السفلى من ثلاث بتلات، أما الكأس فإما غائب أو يتركب من زغب أو عدد محدود من الشعيرات أو الأشواك التي تساعد على إنتثار الثمار.

الطلـع: خمس أسدية ملتحمة المتوك تكون متوضعة حول الميسم، أما الخيوط فمنفصلة وهي فوق بتلية، وتتفتح المتوك إلى الداخل، وقد تكون الخيوط حساسة فتقصر بمجرد لمسها كما في العنبر Centaurea.

المتـاع: كربلتان ملتحمتان ذو مسكن واحد وبويضة واحدة على مشيمة قاعدية والقلم طويل ينتهي بميسمين، على سطحهما الداخلي يوجد الجزء الحساس الذي تنبت عليه حبوب اللقاح ويوجد أسفلهما أوبار خاصة تقوم بجمع حبوب اللقاح.

الثمرة: يختلف شكل الثمرة كثيرا باختلاف الأجناس وتكون مهيأة للإنثار بواسطة الحشرات والرياح بوسائل مختلفة مثل الزغب أو الأشواك أو الخطاطيف. يرجح التلقيح الخلطي على الذاتي حيث أن الأزهار مبكرة الطلع، يفرز الرحيق من القرص الغدي عند قاعدة القلم و يحفظ في الأنبوبة المتكية التي تحميه من ماء المطر. تفتح المتوك على الداخل وتمتلئ الأنبوبة المتكية بحبوب اللقاح وتكون المياسم منطبقة على بعضها البعض في أسفل الأنبوبة المتكية، وعندما يستطيل القلم تخرج المياسم مكتسحة معها حبوب اللقاح إلى أعلى بمساعدة الأوبار الموجودة على سطحها الخارجي و يمكن نقل حبوب اللقاح من زهرة إلى أخري على نورة أخري بواسطة الحشرات و يمكن تلقيحهما ذاتيا، حيث تنحني المياسم حتى تقابل الأوبار الموجودة على سطح الميسم الخارجي أو الموجودة على القلم، بعض الأزهار كالشبيط يلقح تلقيحا هوائيا كما تتكاثر بعض نباتات الفصيلة المركبة تكاثرا خضريا بواسطة الريزومات أو الدرنات أو السيقان الجارية **(شكري إبراهيم، 1994)** و **(مشال، 2003)**.

5 – استعمالاتها و أهميتها الإقتصادية:

نباتات العائلة النجمية ذات أهمية إقتصادية كبرى، نجد منها الأنواع *(Helianthus annuus, Helianthus, Cynara scolymus tuberosus, Lactica saliva, Artemisia dracunculus, Cichorium (intybus* مصادر لغذاء الإنسان تستعمل كبذور أو خضر أو توابل، بالإضافة إلى العديد من النباتات نذكر منها: *(Chrysanthemum, Gerbera, Calendula, Dentranthema, Argyranthemum Dehlia, Tagete, Zinnia, Cosmos* و*Marguerite)* مستعملة للتزيين الداخلي والخارجي نظرا لروعة جمال أزهارها ***(Gaussen et leroy,1982)*** و ***(Amsol, 2002).***

يستعمل كذلك زيت الحلو المستخرج من بذور نبات القرطم *(Cartamus tinctorius)* في صناعة الصابون ومواد الطلاء، كما يستخرج من بتلات أزهاره مادة العصفر (Carthamine) المستعملة في صناعة الصباغة، ويستخرج من نورة *Chrysanthemum coccineum* أو *Tanacetum pathenium* مسحوق (Pyrethrum) *وهو مبيد حشري* ***(Pavelaa et al., 2010 ; Casida, 1973).***

تتميز النجميات بمركباتها الكيميائية المتعددة: (Monterpènes, Sesquiterpènes, Sesquiterpènes lactones, Diterpènes, Triterpènes, Flavomoïde, Acides pheonliques..... *إلخ)* ذات فعاليات بيولوجية متنوعة ممّا أهلها لاستعمالات طبية عديدة وتستعمل صيدليا كمحليات دوائية (Edulcolorant) والعديد من الأنواع تستعمل تقليديا في الطب والصيدلة ومستحضرات التجميل والجدول (رقم:04) يوضح أهم الأنواع النباتية للعائلة النجمية واستعمالاتها:

جدول (رقم:04): إستعمالات أهم أنواع النجميات

Espèce	Utilisations	Réf.
Achillea millefolium *L'achillée: الأكيليا*	- تستخدم في العديد من المشروبات و في مستحضرات التجميل. - فاتحة للشهية، مساعدة للهضم و طاردة للغازات. - مضادة للتشنج - شافية للجروح - منشطة. - مدرة للبول - مدرة للطمث و منظمة للحيض - مدرة للصفراء.	(Bown, 1995) (Candan et al., 2003) (DeSantayans et al., 2005)
Arctium minus *La bardane:* الأرقطيون	- يضاف زيت الجذور لمستحضرات الشعر ليوقف تساقطه. - يعالج إضطرابات الجلد (حب الشباب، دمامل والخرجات). - تستعمل الأوراق خارجيا لعلاج الحكة و شقوق و تكسير الجلد و لسعات الحشرات.	(chenuet, 2007)
Arctium lappa *La grande bardane*	- مزيل للسموم و منق.	(Wichtl, 2004)
Arnica montana *Arnica:زهرة العطاس*	- علاج أمراض القلب و الجهاز التنفسي. - تعتبر دواء لحالات الوهن نتيجة العدوى و الأمراض الناتجة عن هشاشة الأدمة.	(Alanz et al, 2010)
Centaurea cyanus *La décoction de bleuet:ديكتيون عنبية*	- توصف لتهيج العيون و الأجفان و التهاب الملتحمة. - تعالج الالتهابات الجلدية و الأغشية المخاطية.	(Millanvoye, 1986)
Carthamus tinctorius *Le carthame: القرطم*	- يعالج أمراض القلب و الأوعية الدموية. - مضاد للالتهابات و يعدل ضغط الدم. - يزيل الكوليسترول الضار من جسم الإنسان.	(Belury, 2011)

جدول (رقم:04): إستعمالات أهم أنواع النجميات

Espèce	*Utilisations*	*Réf.*
Cichorium intybus L. *الهندباء*	- تستخدم الجذور كمدر للصفراء و منشطة للإفراز المعدي	*Ivanova et al., 2005*
Eupatorium cannabinum *L'eupatoire chanvrine*	- لعلاج بعض مشاكل الكلى و الكبد - تظهر سمية عند الجرعات القوية أوعند إستعمالها لفترات طويلة (لإحتوائها على بيروليزيدينات	
Hieracium pilosella *La piloselle*	- مضادة للعدوى و الإلتهاب - منظفة و منقية للجروح - مدرة للبول	*Grawronska-Grzywacz et al., 2011*
Matrcaria chamomilla L. *البابونج*	- تستخدم أزهاره كمفرزة للصفراء، لعلاج القرحة المعدية و إلتهاب المعدة و القولون - كمطهر للفم	*Mia et al., 2004* *Miliauskas et al,2004*
Petasites hybridus *Pétasitès hybride*	- تعالج آلام الصداع	*Lipton et al.2004*
Solidago virgaurea *La verge d'or: جلد النرد*	- تعالج أمراض المسالك البولية و تحصي الكلى و البروستات - مدرة للبول و مسكنة - ينصح بإستخدامها لمعالجة الجروح و الأمراض الروماتيزمية	*John petec paul et al, 2012.*
Tanacetum vulgare *La tanaisie: حشيشة الدود*	- مدرة للطمث. - منشطة وخافظة للحرارة - سامة جدا عند جرعات عالية لإحتواء زيتها الأساسي على مركب (Thuyone)	*Juan-Badaturuge et al., 2009*
Tussilago farfara *Le pas-d'àne: حشيشة السعال*	- تستعمل أجزائها الهوائية ضد السعال و إلتهاب القصبات الهوائية و أزهارها لعلاج الأمراض الصدرية و نوبات الربو الحساسية	*Li et al, 2012*

6 – الأجناس قيد الدّراسة:

6 – 1 – جنس *Ormenis*: يمثل جنس ***Ormenis*** بأكثر من 20 نوع موزع عبر القارة وغالبا على نطاق واسع في منطقة البحر الأبيض المتوسط والجدول (رقم:05) يوضح مناطق توزيع أهم أنواع هذا الجنس (السانتولينات: ***Santolininae***). يلاحظ تكوين هذا الجنس من مجموعة معقدة تصنيفيا يتم النظر فيها دوريا ***(SITI, 2012)*** و ***(NCBI, 2012)*** ويصنّف حاليا كما يلي في الجدول (رقم:06):

جدول (رقم:05): مناطق توزيع أهم أنواع جنس ***Ormenis***

رقم	مناطق الانتشار	أنواع جنس *Ormenis*
1	الجزائر، المغرب و تونس	*Santolina africana* Jord. & Fourr
2	فرنسا و إسبانيا	*Santolina benthamiana* Jord. & Fourr
3	إسبانيا	*Santolina canescens* Lag
4	إسبانيا، إيرلاندا و تركيا	*Santolina chamaecyparissus* L
5	قبرص	*Santolina corsica* Jord. & Fourr
6	فرنسا و إسبانيا	*Santolina decumbens* Mill
7	توسكانا بوسط غرب إيطاليا	*Santolina etrusca* (Lacaita) Marchi & D'Amato
8	سردينيا	*Santolina insularis* (Gennari ex Fiori) Arrigoni
9	جزر البليار	*Santolina magonica* (O.Bolòs, Molin. & P.Monts.) Romo
10	إسبانيا	*Santolina melidensis* (Rodr.Oubiña & S.Ortiz) Rodr.Oubiña & S.Ortiz
11	كامبانيا بجنوب يطاليا	Santolina neapolitana Jord. & Fourr
12	إسبانيا	*Santolina oblongifolia* Boiss
13	الجزائر، المغرب و إسبانيا	*Santolina pectinata* Lag
14	توسكانا بوسط غرب إيطاليا	*Santolina pinnata* Viv
15	إسبانيا و البرتغال	*Santolina semidentata* Hoffmanns. & Link
16	الشيلي	*Santolina tinctoria* Molina
17	فرنسا و إسبانيا	*Santolina villosa* Mill
18	فرنسا، إسبانيا، بريطانيا، ألمانيا، منطقة الأمبريز بوسط إيطاليا، أوكرانيا و شبه جزيرة القرم.	*Santolina virens* Mill

جدول (رقم:06): تصنيف جنس ***Ormenis*** حسب ***APG III***

(Angiosperms Phylogeny Group, 2009)

Règne	Plantae
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Noyau des Dicotylédones vraies
Clade	Astéridées
Clade	Campanulidées
Ordre	Asterales
Famille	**Asteraceae**
Sous-famille	Asteroïdeae
Tribu	Anthemideae
— non-classé —	Mediterranean clade
Sous-tribu	Santolininae
Genre	*Ormenis*

تستخدم بعض أعضاء نباتات ***Ormenis*** على نطاق واسع في الطب الشعبي ***(Ferrari et al., 2005)*** وبيّنت دراستها فوائد ذات قيمة طبية ممتازة وذلك بفصل فئات مختلفة من المنتجات الطبيعية ذات نشاطيات بيولوجية: مضادة للتشنج (Antispasmodiques) مطهرة (Antiseptique) مضادة للالتهاب (Anti inflammatoire) وطاردة للديدان (Antihelmintique) وإستخدامات أخرى كمبيدات للحشرات

(Appendino et al., 2005 ; Fattorusso et al., 2004).

Ormenis (=*Santolina* =) هو أصغر جنس ضمن العائلة النجمية تتواجد في الجزائر ثلاثة أنواع هي:

Ormenis africana (Jord. et Fourr)

Ormenis lonadioides (Coss.) M.

Ormenis nobilis (L.) J. Gay.

تتميز نباتات Ormenis africana Jord et Four بأزهار تحمل الأعضاء التكاثرية وحيدة الجنس أو مختلفة الجنس *(Hétérogames* أو *Homogames)* ذات شكل قرصي أصفر اللّون، توجد مجموعة قنابات حول قاعدة الأزهار متراكبة في عدّة صفوف ذات التخت *Paléacé*. هو نبات شجيري كثيف، أخضر أو رمادي، يصل ارتفاعه إلى حوالي 70سم، يشبه جدا جنس *Anthemis* ، يختلف فقط في الثمار الفقيرة (akènes) المجردة من نتوءات (يلاحظ على الأقل 10 نتوءات عند جنس *Anthemis)* ولكن تظهر 3 نتوءات بطنية كاذبة تتكوّن من حزم وعائية خشبية ساكنة في الثمرة ***(Quezet et Santa, 1963)***.

6 – 2 – جنس *Chrysanthemum*: يتميّز هذا الجنس بتنوع أزهاره وجمال ألوانه، يزرع غالبا في الحدائق، زرع مند القدم في الصين، منتشر عالميا لخصائصه التزيينية، يتواجد في أوروبا وآسيا وكذلك إفريقيا ***(Kumar et al., 2005)***، يصنّف ضمن العائلة النجمية (Asteraceae) تحت عائلة (Tubiflore) و قبيلة (Anthémideae)، يضم عالميا أكثر من 300 نوع، يمثل في الجزائر حسب ***(Quezel et Santa, 1963)*** بـ 15 نوع هي :

Chrysanthemum clausonis (Pomel) Batt., *C. coronarium* L., *C. deserticolum* (Murb.) Batt. et Trab., *C. fontanesii* (Boiss. et Reut.) Q. et S., *C. fuscatum* Desf., *C. grandiflorum* (L.) Batt., *C. gyanum, C. macrocarpum* Coss. et Kral., *C. macrotum* (D. R.) Ball., *C. maesii, C. multicaulis, C. myconis* L., *C. segetum* L., *C. trifurcatum* (Desf.) Batt. et Trab., *C. reboudianum Pomel &* C. viscido-hirtum.

نباتات جنس *Chrysanthemum* معمّرة يتراوح إرتفاعها من 20 سم إلى 120 سم، سيقانها منتصبة، أوراقها مسنّنة أو مقطعة، رؤوس أزهارها كبيرة تحتوي على أزهار أنبوبية (Fleurs tubulées) محاطة بأزهار لسانية أو شعاعية (Fleurs ligulées) أو تكون كل الأزهار لسانية. أشكال أزهاره عديدة مختلفة ومتنوعة تعرف بتوزيعها حول المركز. الأزهار تتشكل من مجموع زهرات فردية كل واحدة منها قادرة على إنتاج بذرة وتكون متوضعة في المركز أو في المحيطات. الزهرات المحيطة تكون زهرات ناقصة لأنها تحتوي فقط الأعضاء التكاثرية الأنثوية و زهرات المركز (القرص) تكون زهرات كاملة لامتلاكها أعضاء تكاثرية ذكرية وأخرى أنثوية. الثمار هي آكينات (akènes) ذات 2- 3 مم.

تستعمل أنواع عديدة من جنس *Chrysanthemum* في مجالات مختلفة: يستعمل *Chrysanthemum morifolium* كمكمّل غذائي أو كمشروب ويعتبر عند الكثيرين من الصينيين غذاء صحي ***(Lait et al., 2007)*** وأستعمل كذلك كنكهة غذائية في اليابان و الفيتنام و عموما يأخذ كمشروب شاي في آسيا أمّا في منطقة الشرق يعتبر الجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum coronarium* كحامي للجلد ***(Jung et Shin, 1990)*** و أستخدم صناعيا *cinerariaefolium Chrysanthemum* لاستخراج مبيد زراعي حشري ***(Shawkat et al., 2011)***.

نظرا لفعالياته البيولوجية والصيدلانية المتنوعة أستعمل في الطب التقليدي في العديد من بلدان العالم نذكر منها (تونس، المغرب، منطقة الشرق الصين وكوريا) و الجدول (رقم: 07) يلخص ذلك:

جدول (رقم:07): أهم استعمالات بعض أنواع جنس *Chrysanthemum*

النّوع النباتي	الاستعمال	المراجع
C. indicum	- يستعمل الجزء الهوائي للنبتة في الطب الصيني لعلاج العديد من الأمراض المعدية، مضاد للالتهابات ومضاد بكتيري. - المستخلصين (الميتانولي و آسيتات الإثيل) مضادين للالتهاب. - الأزهار مفيدة لعلاج أمراض العيون.	*Cheng et al., 2005* *Matsuda et al.,2002*
C. morifolium	- مضاد للأورام - يحمي عضلة القلب	*Miyazawa et Hisama, 2003* *Jiang et al., 2004*
C. coronarium	- يستعمل في منطقة المشرق لعلاج العديد من الأمراض	*Jung et Shin, 1990*
C. zawadaski	- سيستعمل في كوريا لعلاج مختلف أنواع التهابات الشعب الهوائية و لعدوى الرئوية. - اضطرابات الجهاز الهضمي - ارتفاع ضغط الدم	*Kwon et al., 2006* *Macdonald, 1997* *Lee, 1996*
C. boreale	- علاج أمراض العيون. - علاج الدوخة - الأزهار خافضة للحرارة و مضادة للالتهابات الجلد	*Choi, 1992* *Kang et al., 1996* *Han et al., 2010*
C. trifucatum	- تستعمل في تونس لعلاج الإمساك وتنظيم الدورة الشهرية للإناث - تستعمل في المغرب لعلاج اضطرابات الكبد و الحويصلات	*Bensassi et al., 2007* *Bellakhdar et al., 1991*
C. macrocarpum	- مكافحة للطفيليات	*Kumar et al., 2005*
C. segetum	- تستعمل في المغرب لعلاج اضطرابات الكبد و الحويصلات	*Bellakhdar et al., 1991*
C. viscidehertum	- تستعمل زيتها الأساسي كمضاد بكتيري	*Khallouki et al., 2000*

7 – مسح فيتوكيميائي للأجناس قيد الدّراسة:

تم مسح فيتوكيميائي ببليوغرافي لكل من الجنسين محور الدّراسة ***Ormenis*** و ***Chrysanthemum***.

7 – 1 – دراسات سابقة لجنس *Ormenis*:

أفادت دراسات فيتوكيميائية سابقة بفصل فئات مختلفة من المنتجات الطبيعية **(Iglesias et al., 1973)** هي: فلافونويدات، تربينويدات، كومارينات و بولي أسيتيلينات *(Coumarines, Terpenoides, Flavonoïdes* و *polyacetylèenes)* **(Barrero et al., 1994 ; Silvan et al., 1996)**، بالإضافة إلى العديد من المركبات الفينولية *(Composés phenoliques)* **(Flamini et al., 1994)** .

كما أجريت دراسات فيتوكيميائية أخرى على ***Santolina corsica*** بيّنت بأن مستخلص الجذور يحتوي على: تربينات نصف ثلاثية *(Sesquiterpènes)*، هيدروكربونات *(Hydrocarbones)*، تربينات ثلاثية *(Triterpènes)*، *Furylthienybutenynes* و مركب *Spiroketakenol* **(Ferrari et al., 2005)**.

كشفت الأعمال السابقة تركيب الزيوت الأساسية لمختلف أنواع ***Santolina*** التي تمّت دراستها من قبل العديد من الباحثين:

Santolina chamaecyparissus **(Giner et al., 1993 ; Lawrence, 1997 et Garg et al., 2001)**, *S. oblongifolia* **(De pascual et al., 1983)**, *S. ligustica* **(Flamini et al., 1999)**, *S. rosmarrni folia* **(Pala paul et al., 1999 , 2001)**, *S. canescens* **(Casado et al., 2001).**

أثبتت النتائج أن كل زيوت الأنواع المدروسة غنية بالتربينات الأحادية *(Monoterpènes)* مع مركبات أخرى.

7 – 2 – دراسات سابقة لجنس *Chrysanthemum*:

بيّنت دراسات المسح الفيتوكيميائي لجنس *Chrysanthemum* بتميّزه بالتنوع البنيوي لمواده الأيضية الثانوية وغناه بالمنتجات الطبيعية حيث كشفت الدّراسات عن فصل 7 كومارينات من *C. segetum* *(Ochocka et al., 1995)* و 7 سيسكويتربينات من *C. zawadskii* **(Hyun Jung et al., 2012)** وتميّز الأنواع:

- ***C. indicum***: تم فصل 26 مركب سيسكويتربيني نشرت بالعديد من الدّراسات **(Zi-ming et al., 2009 ؛ Yue-Feng et al., 2010 ؛ Leilei et al., 2012** و **Wang et al., 2012)**.
- ***C.coronarium L.***: تم فصل 6 مركبات عديدات الآسيتيلين **(Sanz et al., 1990)**.
- ***C. morifolium Ramat***: تم فصل منه 31 تربين ثلاثي نشرت بالعديد من الدّراسات **(Motohiko et al., 2001-2002** و **Toshihiro et al., 2005)**.

أثبتت الدّراسات المنجزة أيضا تواجد الفلافونويدات في العديد من أنواع جنس *Chrysanthemum* نذكر منها:

C. balsamita ، *C. vulgare (L) Brenh* ، *C. carinatum* ، *C. cinerariaefolium* ، *C. boreale* ، *C. viscidehirtum* ، *C. leucanthemum* ، *C. schousbeo* ، *C. nivellei Maire* ، *C. sensus stricto* ، *C. myconis* ، *C. nankingense* ، *Latilobum* ، *C. lavendulaefolium* ، *C. articum* ، *C. indicum* & *C. zawadskii.*

الأنـواع: *C. coronarium* L. ؛ *C. morifolium* Ramat و *C. segetum* L. غنية بالمركبات الفلافونويدية المتنوعة، مبيّنة في الجدول (رقم: 08) الآتي:

جدول (رقم: 08): الفلافونويدات المفصولة من بعض أنواع الـ *Chrysanthemum*

المرجع	الفلافونويد	النوع
Valant, et al., 2003 **(*)**	*Luteoline*	*C. segetum* L.
Harborne, 1970 **(+)**	*Luteolin-7-O-glucoside*	
(*)	*Kaempferol*	
(*)	*3-methoxy quercetine*	
(*)	*3 -methoxy quercetine*	
Harborne, 1976 **(⋆)**	*Quercetagetine*	
(⋆)	*Quercetagetin-7-O-glucoside*	
Hu, et al., 1994 **(-)**	*Gossypetine*	
Gessman et Steelink, 1957 **(x)**	*Gossyptin-7-O-glucoside*	
(x)	*Spinacetine*	
(*) & ***Ibrahim, et al., 2007*** **([)**	*Apigenine*	*C. coronarium* L.
([)	*Apigenin-7-O- glucoside*	
(+)	*Apigenin-7-O-glucuronide*	
(*) & ([)	*Luteoline*	
([) & (+)	*Luteolin -7-O-glucoside*	
(+)	*Luteolin -7-O-glucuronide*	
(+)	*Luteolin -7-O-rutinoside*	
(+)	*Chrysoriol*	
([)	*Kaempferol*	
([)	*Kaempferol-3-O-glucoside*	
([)	*Quercetine*	
(x) & (+)	*Quercetin-7-O- glucoside*	
([)	*Quercetin-3-O-glucoside*	
Anyos et Steelink, 1960	*Quercetagetine*	
(⋆)	*6- methoxy quercetegetine*	
(⋆)	*3-methoxy quercetagetine*	
(⋆)	*6,3-dimithoxy quercetagetine*	
(+)	*Quercetagetin-7-O- glucoside*	
(+)	*3-methoxy quercetagetin-7-O-glucoside*	
([)	*Naringenin-5- O- glucoside*	

تابع للجدول (رقم: 08): الفلافونويدات المفصولة من بعض أنواع الـ *Chrysanthemum*.

النوع	الفلافونويد	المرجع
C. morifolium Ramat	*Apigenine*	***Yuanyuan, et al., 2009*** **(C)**
	Apigenin-7-O- glucoside	(C)
	Apigenin-7-O-galactoside	(-)
	Apigenin-7-O-glucuronide	***Li-ming. et al., 2012***
	Apigenin-7-O-(4'caffeoyl) glucuronide	"
	Acacetine	(C)
	Acacetin-7-O-glucoside	(C)
	Acacetin-7-O-galactoside	(C)
	Acacetin-7-O-rutinoside	(-)
	Diosmetine	(-)
	Diosmetin-7-O-glucoside	(C)
	Diosmetin-7-O-glucuronide	(C)
	Luteoline	(C)
	Luteolin-7-O-glucoside	(-)
	Luteolin-7-O-glucuronide	(-)
	Chrysine	***Glennie et Harbone, 1972***
	Eriodictyol-7-O-glucuronide	**Lee, 1996**
	Quercetine	***Beninger, et al., 2004***
	Baicaline	(-)
	Fisetine	(-)
	(+)-catechine	(-)
	Galangine	(-)
	Hesperidine	(-)
	Flavanone	(-)
	7,8-dihydroxyflavanone	(-)
	4,5-dihydroxy-3̀,5̀dimethoxy	(-)
	Morine	***Cheng et al., 2013***
	Myricetine	(-)
		(-)

لفصل الثاني:

المنتجات الطبيعية

1 – الزيـوت الأسـاسيـة:

1 – 1 – عموميـات:

تدعى الزيوت الأساسية كذلك الأرواح النباتية (Essences) وتعتبر نواتج الأيض الثانوي لمختلف العائلات النباتية، تتواجد على مستوى الأجزاء الهوائية والأجزاء الترابية للنبتة بكميات صغيرة مقارنة بكتلة النبتة. تتميّز عن الزيوت النباتية الثابتة (Huiles fixes) والدّهون النباتية (Graisses) برائحتها الطيّارة، تركيبها الكيميائي، خصائصها الفيزيائية وتكون عادة مصحوبة بمركبات الرّاتنجات (Résines) والصموغ (Gommes) **(قبي ، 2002).**

تتواجد الزيوت الأساسية في النباتات الرّاقية خصوصا في العائلات الآتية : صنوبريات (Conifères)، سوذبيات (Rutaceae)، خيميات (Apiaceae)، آسيات (Myrtaceae)، شفويات (Lamiaceae) ومركبة (Asteraceae) ***(Bruneton, 1999)*** وتتموقع في مختلف أعضاء النبتة وغالبا ما تكون على المساحات السطحية للأجزاء الهوائية. حسب ***(Belaïche, 1979)*** مورفولوجية تكوين الغدد تسمح بتمييز مختلف أصناف العناصر المفرزة وهي:

- خلايا مفرزة محتواة في البشرة (Epiderme) أو في نهاية الزغبات (Extrémité des poils).
- جيوب تتكوّن من خلايا بإمكانها التغيّر.
- قنوات مفرزة تنشأ نتيجة تمدد الجيوب.
- زغبات مفرزة.

تكون الزيوت الأساسية مودعة داخليا أو خارجيا (Dépôts :exogènes/endogènes) وبذلك يمكن تخزينها في بعض أعضاء النبتة أو في كل الأعضاء وتختلف إن تواجدت في نفس النبتة حسب تموقعها، نسبة الزيوت الأساسية عموما ضعيفة وغالبا ما تكون أقل من 1 % ويلاحظ حالات شادة (فمثلا في نبتة القرنفل تصل إلى 15%) ***(قبي، 2002)*** .

تعتبرالزيوت الأساسية بقايا الأيض و مصدر طاقوي لتفاعلاته، تبعد بعض الحشرات أو تجذب أخرى للتلقيح و تحافظ على الرّطوبة الضرورية لحياة النبتة ***(Belaïche, 1979)*** وخاصّيتها (Qualité) تتغير حسب النوع النباتي، العوامل المناخية، درجة نضج النبتة، النوع الكيميائي، الحفظ وطريقة الاستخلاص ***(Regnault et al., 2008).***

1 – 2 – الاستعمالات و السّمية:

تكون بعض الزيوت الأساسية أحيانا سامة إذا احتوت كيتونات أحادية التربين (Thyones و/أو Pinocamphone) أو عند جرعات كبيرة لمركبات أخرى أحادية التربين أو عطرية مثل): Cis-anéthol، Cavacrol، thymol ، Thym، Menthol، Essence de sobine و Essence de genévier) ***(Bruneton, 1999 ; Telphon, 2003).***

رغم ذلك يستحيل الاستغناء عنها كلية للفائدة الكبرى للأنواع الأخرى على حياة الإنسان و الحيوان، لذلك لجأت المنظمة العالمية للصحة *(O.M.S)* بتحديد وتنظيم مبيعات وجرعات و تركيز الزيوت الأساسية المستعملة بمرسوم ***(O.M.S: 86) (Gazengel et al., 2001).***

تعتبر الدراسة الفارماكولوجية الدّقيقة صعبة نظرا لكون الزيوت الأساسية خلائط معقدة، لكن لا يمنع من تحديد بعض خصائصها الأساسية، معظمها تمتاز بخصائص التطهير و إبادة الجراثيم وخصائص أخرى : هضمية (Digestive)، مضادة للتشنج (Spasmodique)، مسكنات (Sédative)، مهيجة (Irritante)، مضادة للميكروبات (Antimicrobienne) و مضادة للأكسدة (Antioxydante). لذلك تستعمل بشكل واسع في مجالات : الطب والصيدلة، صناعة مواد التجميل ومواد صحية، صناعات غذائية- فلاحيه و في تطهير الأماكن:

- أ - **الطّب والصيدلة :** الزيوت الأساسية تثبط جيدا نمو العديد من الكائنات الدّقيقة الممرضة المختلفة (بكتيريا، خمائر وفطريات: (Bactéries, Levures et moisissures ***(Singh et al., 1983).*** كما تكون فعالة لبعض الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية ***(Duquenois, 1968 ; Valnet, 1984)*** مما يؤهلها لتكون من بين الوسائل العلاجية الهامة في حالات مرضية نذكر منها :

- وسائل علاجية للتطهير (Desinfection) و كمضادات للتّعفن والعدوى (Anti-infectieux)

(Duquenois, 1968 ; Valnet, 1984).

- علاج تجويف الفم من العدوى البكتيرية والفطرية والعناية بالأسنان حيث تكون مضافة معجون الأسنان أو على شكل عجائن للمضغ حيث يستعمل على الخصوص خلاصات الينسون (Anis)، النعناع، الليمون والبرتقال ***(Pellecuer et al., 1976).***

- التطبيب العطري (Aromathérapie) باستعمال الزيوت الأساسية للخزامى (Lavande) والليمون، زيت شجر الكاليتوس (Eucalyptus) وزيت الياسمين (Jasmni) لتحضير مستحضرات علاج على الترتيب : الأمراض الجلدية، الأمراض الصدرية وللتخفيف من شدة التعب العصبي ***(Hostettman et al., 1998(b)).*** حاليا يفضل هذا النوع من العلاج لأنه ثبت للزيوت الأساسية فعل مضاد حيوي خالي من كل التفاعلات الجانبية على وظائف العضوية، فمثلا: *Essence de thym* له قدرة مطهرة (Pouvoir antiseptique) أعلى من الماء الأوكسيجيني (Eau oxygénée) ومركب (Gaïacol) بفضل احتوائه على مركب (Thymol). ولوحظ بأنّ محلول التيمول يبيد في دقيقتين عصيات التيفوئيد (Bacille de la typhoïde) وفي أربعة دقائق الكرويات السبحية *(Streptocoque)* وخلال ساعة عصيات كوخ (Bacille de koch) ***(Chiej, 1982).***

- ب - صناعة مواد التجميل والمواد الصحية: تستخدم الزيوت الأساسية لتحضير مبيدات الحشرات وتكون عناصر أساسية في صناعة العطور فمثلا : استخدام مستحضرات الخزامى (Lavande) و مضافات عطرية في مواد التجميل المختلفة ونظرا

للامتصاص الجلدي الجيد للتربينات تستخدم كذلك في تحضيرات الاستحمام كمهدئات (Calmants) و للاسترخاء (Relaxants) *(Beylier-Maurel, 1976 ; Hostettman et al., 1998(b))*.

- ج - ***صناعة غذائية– فلاحية*** **:** التثبيط الجيّد للعديد من الكائنات الدقيقة المختلفة الأنواع والطبيعة العطرية للزيوت الأساسية تشجع استعمالها بشكل واسع في مجال تحسين الذوق والحفظ من التلف مثلا: إضافة التوابل و المعطّرات (Aromates) والزيوت الأساسية النباتية للأطعمة لتحسين ذوقها وحفظها لمدة زمنية بتثبيط نمو الكائنات الدقيقة (Contaminants)

(Busta et al., 1983).

- د - **تطهير الأماكن:** تستعمل الزيوت الأساسية لتطهير الأماكن بغرض إزالة التعفنات كاستعمال مركب « Paragan » ذو القدرة على إبادة البكتيريا (Bactéricide) وإبادة القراديات (Acaricide) و موقف لنمو الفطريات (Fongestatique) لاحتوائه على زيوت (Citronelle, Lilas, Citron) *(Mallea et al., 1979)*.

1 – 3 – الخصائص الفيزيائية والكيميائية:

1 – 3 – 1 – الخصائص الفيزيائية: الزيوت الأساسية عبارة عن عطور سائلة في درجة الحرارة العادية، ذات بنية زيتية طيارة، غير ملوّنة أو عموما صفراء شاحبة (Jaune pâle). تذوب في المذيبات العضوية (Liposolube)، تذيب الدهون، اليود، الكبريت، الفسفور، وترجع بعض الأملاح. تتميز بدرجة غليان تتراوح بين (160°م إلى 240°م)، كثافتها أقل من الماء (0.75 - 0.99)، درجة انكسارها عالية، حساسة لتأكسد و مدّة حفظ محدودة *(Lemberg, 1982 ; Legrand, 1978)*.

1 – 3 – 2 – التركيب الكيميائي : تعتبر الزيوت الأساسية خليط معقّد مكوّن من العديد من المركبات تصل أحيانا إلى 300 مركب، تتميز بوجود مجموعتين من المركبات متمايزتين نتيجة الأصل الوراثي (Biogénétique) وهما مجموعة المركبات العطرية المشتقة من Phenylpropane ومجموعة التربينات الأحادية (المفتوحة والحلقية) بنوعيها (أحادية الحلقة أو ثنائية الحلقة ذات الأصل الوراثي GPP (Géranyl-phosphate) وSesquiterpènes على الترتيب FPP (Farnésyl-phosphate).

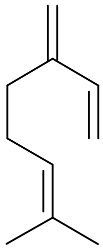
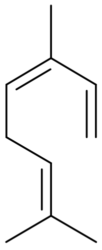
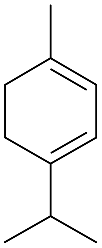
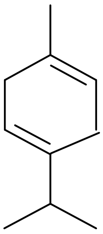
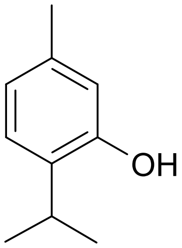
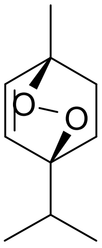
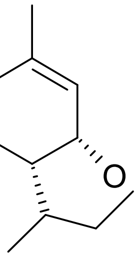
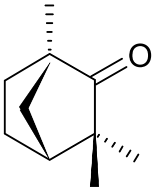
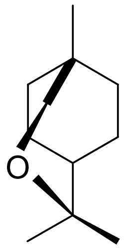
أ – **التربينات**: تعتبر فحوم هيدروجينية ذات بنية حلقية أو مفتوحة تتركب من وحدات إيزوبرينية (Isoprénique) ذات 5 ذرات كربون (C_5H_8) وتقسّم حسب وحدات الإيزوبرين إلى: Diterpènes ($C_{20}H_{32}$), Sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$),

Monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), Polyterpènes $(C_5H_8)_n$ (تتغير n: من 09 إلى 30) و Tetraterpènes ($C_{40}H_{64}$) التي تعطينا Carténoïdes.

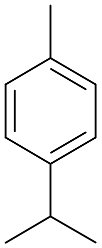
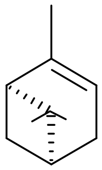
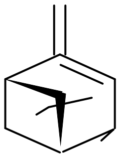
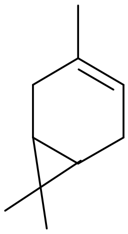
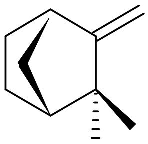
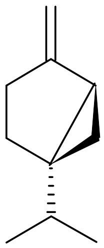
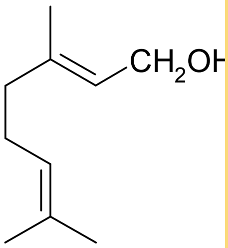
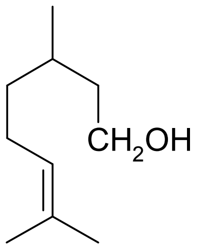
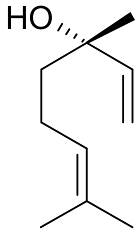
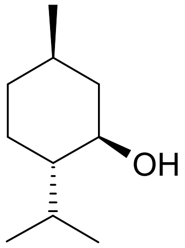
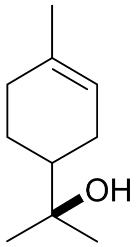
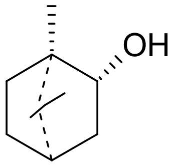
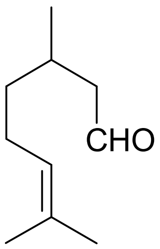
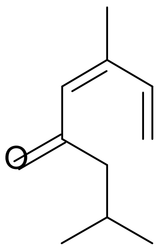
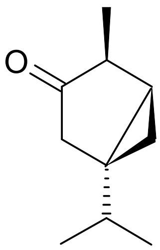
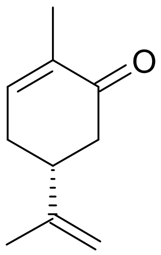
- **Terpenoïdes:** هي تربينات ذات العديد من الوظائف الكيميائية : (كحولية، ألديهيدية، كيتونية، حمضية.....إلخ) في حالة الزيوت الأساسية نجد التربينات الجد متطايرة.

- Monoterpènes: تمثل أغلبية مكونات الزيت الأساسي تصل أحيانا إلى 90 %، تكون غير حلقية (Myrcène , Ocymène)، أحادية الحلقة (α أو β Terpinène) أو ثنائية الحلقة (Pinène ,Camphène ,Sabinène) أنظر بعض بنى التربينات الأحادية الغير حلقية الموجودة في الزيوت الأساسية في الشكل (رقم: 06). إلى هذه التربينات تضاف بعض المركبات ذات وظائف كيميائية مختلفة:

- **Phénols:** Thymol
- **Ethers:** (1,8 – Cineol)
- **Aldehydes:** Géranial, Cironellal et Sinesal.
- **Cétones:** Carvone,Menthonone et β- vétinone.
- **Alcools:** α- terpinéol, Bornéol, Trans-trans-farnésol, Géraniol et Menthol.
- **Esters:** Acétate de géranyle, Acétate de linalyle,Acétate α- terpinyle et Acétata de Cédryle.

			
myrcène	*ocimène*	*α-terpinène*	*γ- terpinène*
			
Thymol	*ascaridol*	*Ditl-éther*	*(+)-fenchone*
			
1,8-cinéole			

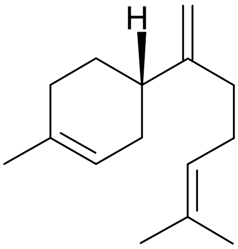
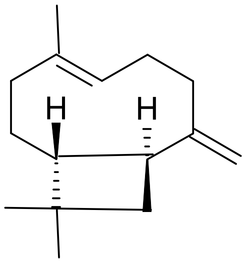
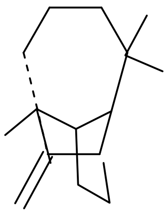
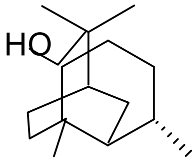
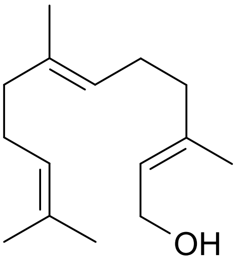
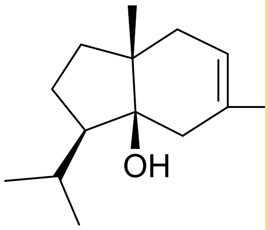
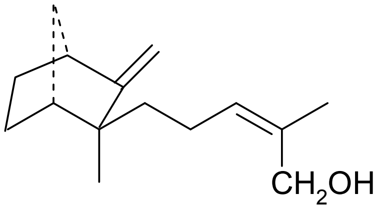
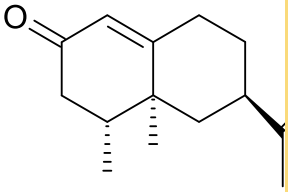
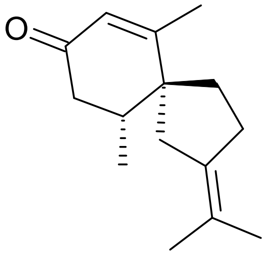
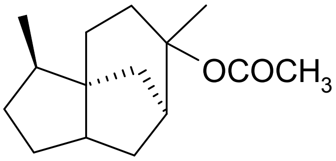
شكل(رقم:06): أمثلة لبنى التربينات الأحادية غير الحلقية و الحلقية المتواجدة في الزيوت الأساسية

			
p-cymène	***(-) α-pinène***	***(+) β- pinène***	***3-carène***
			
(+)-camphène	***(+)-sabinène***	***geraniol***	***citronellol***
			
(+)-linalol	***(-)-menthol***	***α-terpinéol***	***(-) boméol***
			
citronellal	***tagetone***	***(+)-3-thuyone***	***(-) carvone***

تابع للشكل(رقم:06): أمثلة لبنى التربينات الأحادية الغير الحلقية و الحلقية

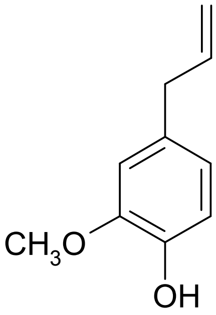
المتواجدة في الزيوت الأساسية

- **Sesquiterpènes :** قسم أكثر تنوعا يحتوي على أكثر من 3 آلاف جزيء نذكر منها: β-bisabolène, β-caryophyllène, α-bisalol, α-humulène, farnesol. ***(Hellal, 2011)*** ويلاحظ أنّ العديد من السيسكويتربينات الموضحة في الشكل (رقم:07) هي مكوّنات مألوفة للزيوت الطّيارة.

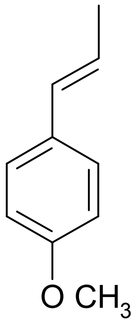
			
ß-bisabolène	***ß-caryophyllène***	***longifolène***	***patchoulol***
			
Trans, trans-famésol	***carotol***	***ß-santalol***	
			
(+)-noolkato ne	***ß-vétivone***	***Acétate de cédryle***	

شكل (رقم:07): أمثلة لبنى التربينات نصف ثلاثية المتواجدة في الزيوت الأساسية

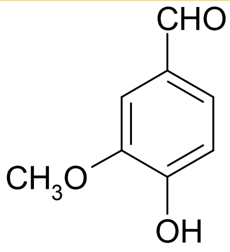
ب – المركبات العطرية: هي مشتقات **Phenyl-propane** ($C_6 - C_3$) وغالبا ما تكون allyles و Propenylphenols و أحيانا ألديهيدات. يمكن أن نجد في الزيوت الأساسية مركبات ($C_6 - C_1$) : Vanilline و Anthranilate de méthyle الموضحة مع بنى لمركبات عطرية موجودة في الزيوت الأساسية في (الشكل رقم:08) ***(Bruneton,1999)***.



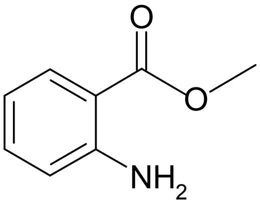
eugénol



E-anéthol



Vanilline



Anthranilate de méthyle

شكل (رقم:08): أمثلة لبنى المركبات العطرية المتواجدة في الزيوت الأساسية

ج – مركبات أخرى: ينتج بالأكسدة الذاتية للأحماض الدهنية مركبات عديدة بتحول جزيئات غير طيّارة ناتجة عن هدم التربينات الغير طيارة مثل: Acide linoléique أو α – linoleique إلى 3-cis-hexanel، Decanal و β-inone.

1 – 3 – 3 – النوع الكيميائي (Chemotype): يحدّد النوع الكيميائي للنبتة بدلالة نوعين أو العديد من المكوّنات الرئيسية (Constituants Majoritaires) لزيوتها الأساسية ويكون مرجعا أساسيا دقيقا يسمح بمقارنتها مع بعضها البعض والزيوت الأساسية الغير متشابهة الأنواع الكيميائية النباتية (Chemotype) تعطي فعاليات غير متشابهة و تسمّمات جد مختلفة

(Wichtel et al., 1999).

1 – 3 – 4 – الحفـظ: يجب حفظها بعيدا عن الضوء والحرارة في عبوات نظيفة وجافة من الألمونيوم أو الزجاج الملوّن أو معدن لا يصدأ ***(Valnet, 2000).***

1 – 4 – طرق الاستخلاص:

تستخلص الزيوت الأساسية بعدة طرق تختلف في مبدئها و اختيار الطريقة يرتبط بطبيعة النبات أو الجزء النباتي المستعمل، طبيعة المركبات الكيميائية، مردود الزيت و سهولة كسر بعض المكونات عند درجات الحرارة العالية. توجد عدة طرق مستعملة نذكر منها:

أ – الاستخلاص بالتقطير(Extraction par distillation)**:** تعتمد على مبدأ التقطير، توجد أربعة طرق هي: ***(Legast et al., 1983 ; Benjilali, 2000 ; Padrini et al., 1996)***

التقطير المكثف: Hydrodistillation

التقطير المكثف بالبخار: Vapo-hydrodistillation

االمكثف بالبخار الجاف: Vapo-distillation

التقطير المكثف بالبخار المنتشر: Hydrodiffusion

ب – الاستخلاص بالمذيبات (Extraction par solvants)**:** يكون الاستخلاص إمّا بالمذيبات الطيارة ***(Henri, 1993)*** أو بالمذيبات الثابتة حيث تستخلص بالدهون الباردة ***(Padrini et al., 1993)*** أو بالنقع في الدّهون الساخنة ***(Benjilali, 2004).***

ج – الاستخلاص بتقنية الضغط (Extraction par technique de la pression)**:** تعتبر أبسط وأقدم طريقة ولكنّها تطبق فقط في حالة تموقع الزيوت الأساسية في جيوب *مفرزة* ***(Padrini et al., 1996).***

د – استخلاص مدعم بالميكروويف (Extraction assistée par micro-ondes)**:** تقنية جديدة تضم تزاوج استعمال التسخين باستعمال الأمواج الدّقيقة وتقنيات الاستخلاص التقليدية ***(Hemwinon et al., 2007).***

ه – التقطير بالاستخلاص المتزامن (Distillation par extraction simultanée)**:** يعتمد على استخلاص من نوع سائل – سائل بواسطة الجهاز المعدّل Linkens et Nikerson.

1 – 5 – حساب المردود وتحليل المكونات:

أ – حساب المردود: يحسب المردود **(Rd)** وهو النسبة المئوية (%) بين وزن الزيت المستخلص ($P.\ H_{ES}$) مقدّرا بالغرام (g) و وزن المادة النباتية المعالجة (PP) بالعلاقة الآتية:

$$Rd = (P.\ H_{ES} / PP) \times 100\ \%$$

ب – تحليل مكوّنات الزيوت الأساسية: يتم التحليل بطريقتين كروماتوغرافيتين وهما:

1 – كروماتوغرافية الطور الغازي (GC): يتم إخضاع الزيوت المستخلصة للكروماتوغرافيا، بعد ذلك تخضع المركبات المفصولة للتحليل الطيفي بواسطة مطياف الرّنين النووي المغناطيسي للكربون $RMNC^{13}$ و منه يتم التعرف على المركبات النقية المفصولة ***(Tomi et al., 1995)*** كما يلي:

- المقارنة بين إحداثيات الحجز لمعامل الاحتباس **IR** المتحصل عليها والمحسوبة وفق سلسلة الألكانات (C_8 –C_{28}) مع قيم المركبات المرجعية الخاصة بالزيوت الأساسية والمنشورة في قاعدة بيانات.

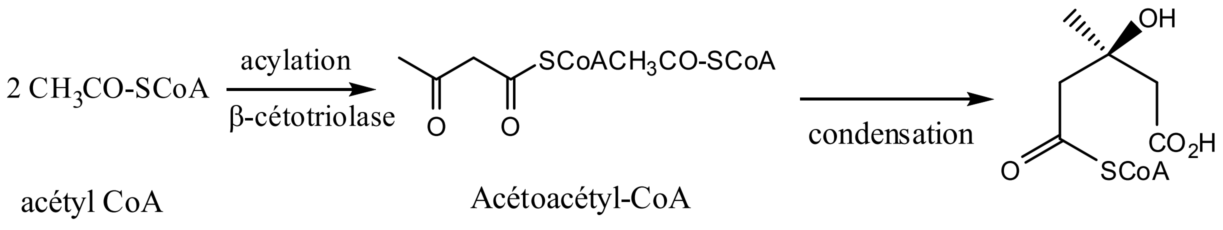
- المقارنة بين أطياف الكربون وقيم إزاحتها الكيميائية، شدّتها ومجموعها المتحصّل عليها مع أطياف المركبات المرجعية الخاصة بالزيوت الأساسية والمحسوبة وفق ظروف تجريبية محدّدة.

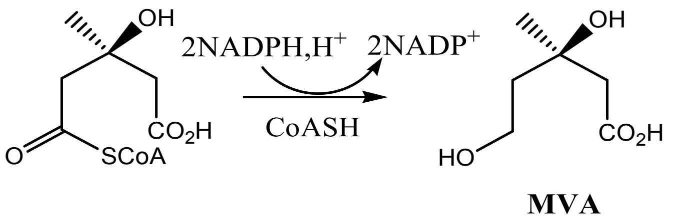
2 – كروماتوغرافية الطور الغازي المتزاوج بطيف الكتلة (GC/MS): الجهاز مبرمج بتقنية القذف الإلكتروني **(EI)** ومزود بأنبوب شعري ومنه يتم تحديد جميع المركبات المفصولة بالمقارنة بين أطياف كتلتها وإحداثيات الحجز لمعامل الإحتباس **IR** وزمن الحجز أو الاحتباس **(TR)** الخاصة لكل إشارة وتقارن مع المعطيات الطيفية لمركبات مخزنة لعيّنات مرجعية إنطلاقا من قاعدة البيانات الطيفية المنشورة ***(Adams, 2001).***

1 – 6 – الاصطناع الحيوي للزيوت الأساسية:

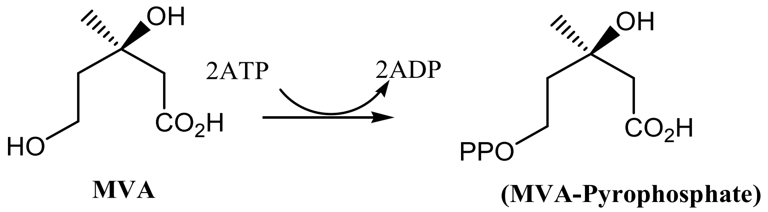
يتم اصطناع الزيوت الأساسية إبتداءًا من التربينات حيث تتبع مع الستيرويدات مسار (MVA) كما يلي:

1- **تخليق MVA من Acetyl CoA:** تتكاثف جزيئتين من acétyl CoA بفضل β–cétotriolase لينتج الـ Acétoacétyl-CoA الذي بدوره يتفاعل مع جزيئة ثالثة من (CH_3CO-SCoA)، و في وجود 3-Hydroxy-3-méthylglutalyl-CoA synthase المتبوع بعملية إرجاع لمجموعة CO إلى كحول في وجود أنزيم réductase و NADP نحصل على حمض الميفالونيك MVA وهذا وفق المخطط التالي:

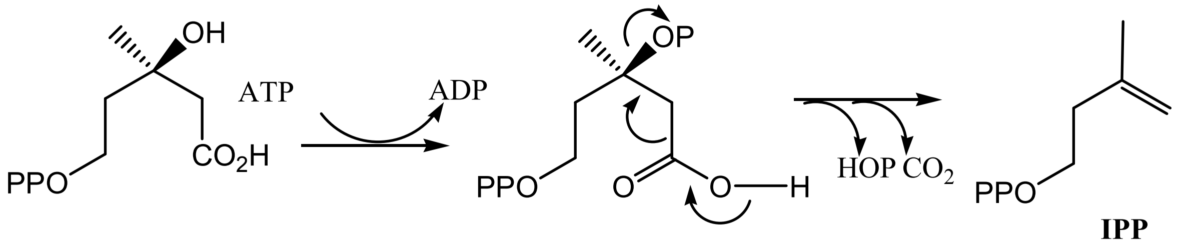




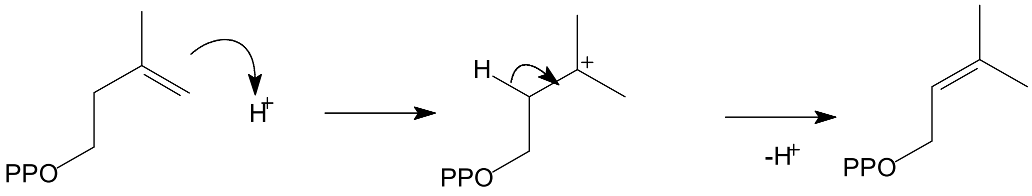
2- **اصطناع التربينات:** تتبع مسار MVA حيت تسمح الفسفرة المضاعفة متبوعة بنزع CO_2 ونزع الهيدروجين لحمض الميفالونيك في وجود الآنزيمين Mévalonate kinase و Phosphomévalonate kinase للحصول على إيزوبنتيل عديد الفوسفات (Pyrophosphate d'isopenténylе: IPP) كما يلي:



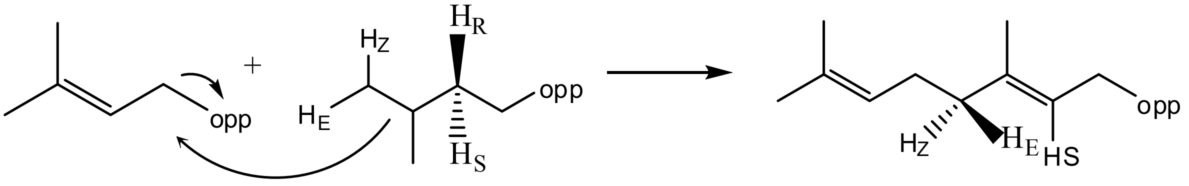
فسفرة MVAPP تسهل عملية نزع مجموعة $HOPCO_2$ في وجود الإنزيم (Mévalonate diphosphate décarboxyle) للحصول على (Pyrophosphate d'isopenténylе: IPP) الذي يعتبر أساس تكوين التربينات:



مركب IPP أو الإيزوبرين النشط يكون الوحدة الإيزوبرينية للتسلسل ويتماكب إلى DMAPP بإضافة بروتون إلى وسط التفاعل متبوعا بنزع H-pro-2R كما يلي:

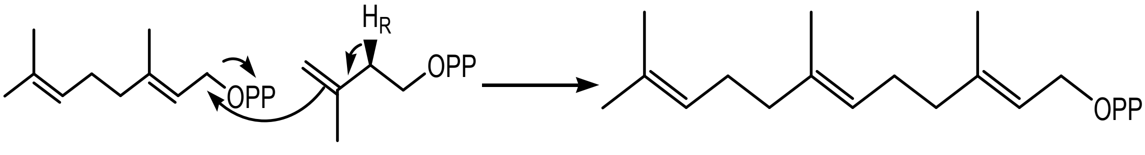


تؤدي الإضافة الإنتقائية للـ DMAPP على الرابطة المضاعفة للـ IPP في وجود GPP synthétase إلى تكوين الـ Géranyl-Pyrophosphate (GPP):



DMAPP IPP GPP

تحدث إضافة الـ GPP إلى IPP تكوين: Farnésyl-pyrophosphate، و يتكون الـ GGPP بعد إضافة وحدة من الـ IPP إلى FPP و التي تعتبرالوحدة الأساسية لجميع التربينات.



GPP IPP FPP

حسب ***(Lamarti et al., 1994)*** نستنتج بأن المركب (Diphosphate de Géranyle: $GPP_{(C10)}$) مولد للتربينات الأحادية و المركب (Diphosphate de Farnesyle: $FPP_{(15)}$) مولد للتربينات النصف ثلاثية، Squalène و Acide abscissique، بينما المركب (Diphosphate de Géranyl : GGPP) géranyle$_{(C20)}$ يكون مولدا للتربينات الثنائية، Phytoène ومجموعة مركبات: α- tocophérols، gibérillines، Chaîne phytol des chlorophylles و Acide résinique.

2 – الفلافونويـدات:

2 – 1 – عموميـات:

الفلافونويدات منتجات طبيعية نباتية تعتبر أحد أهم أقسام المركبات الفينولية إسمها متشتق من الكلمة اللاتينية **Flavus** وتعني أصفر، وهو مصطلح عام لمجموعة كبيرة من المركبات الفينولية التي عرفت لأول مرة من قبل العالم *Albert Szent-györgyi* *(Mabry et al., 1970)*.

عموما النباتات قادرة على تصنيع الفلافونيدات حيث تنتشر بشكل واسع في المزهرة منها **(Angiospermes)** و تم إستخراجها كذلك من الفطريات، الطحالب، كاسيات الزهر الوعائية، عاريات البذور، كاسيات البذور و عدد قليل من المرجان البحري *(Iwachina, 2000 ; Markham, 1988)*.

تتواجد الفلافونويدات وهي على الشكل الإيتيروزيدي الأقل تفاعلا والأكثر انحلالا في الماء مما يسهل تخزينها في معظم أجزاء النبات في: فجوات الخلايا، خلايا وحويصلات الأوراق، البراعم، الجذور و في خلايا البشرة للأزهار *(Bruneton, 1999)* بينما تتواجد الفلافونيدات التي تنحل في المذيبات غير القطبية في سيتوبلازم الخلية *(Harbone,1976 ; Wollenweber et Dietz 1980)* و تتموضع الفلافونيدات الأجليكونية على الأنسجة السطحية للأوراق، وتكون ملازمة لمواد ذات طبيعة ليبوفيلية (نباتات المناطق الجافة وشبه الجافة) وفي الأنسجة النباتية الميتة و في خشب الأشجار *(Iwachina, 2000)*.

الفلافونويدات متعددة الميثوكسي تتواجد في قشور الفواكه الحمضية، الخضروات، الجوز، البذور بشتى أنواعها، البقوليات الخضراء، الشاي، القهوة و الكاكاو. غالبا ما تتواجد معا Flavanones و Flavones أو Flavanols و Anthocyanes في نفس النبتة على عكس Flavones و Flavonols فهي عـادة لا تظهر معا *(Merken et Beecher, 2000)*.

2 – 2 – دورهـا واستعمالاتهـا:

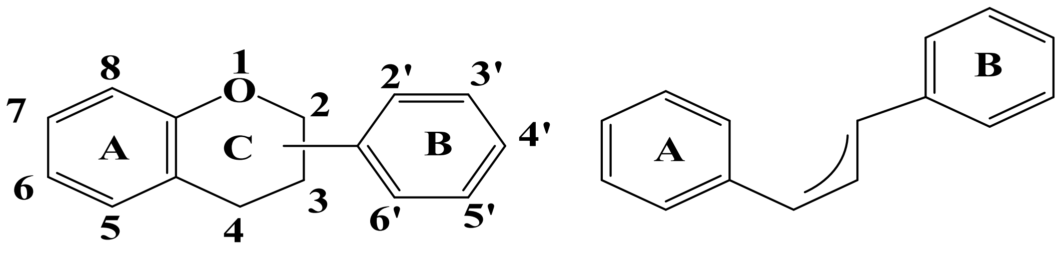
تحمي الفلافونويدات بتراكمها في الطبقات السطحية النباتات من الأشعة فوق البنفسجية وتطرد آكلات الأعشاب من خلال طعمها المر وأحيانا بلونها تجلب *الحشرات* التي تساعد في عملية التلقيح ونقل البذور كما تتدخل أيضا في عمليات التحسس للضوء، نقل الطاقة وعمليات التمثيل الضوئي *(Palazon et al., 1999)* و تلعب دورا مهما في النظام الغذائي للإنسان و في صحته *(Cody, 1988 ; Pieta, 2000)*، تحميه من أضرار الأكسدة الناتجة عن الأشعة فوق البنفسجية، التلوث البيئي، المعادن السّامة (مثل: الرصاص والزئبق)، و بعض المواد الكيميائية المضافة للأغذية المعلبة (الأصباغ ، والمواد الحافظة، ...إلخ) وبذلك تقلل من خطر الإصابة بالسرطان بمنع نمو الخلايا السرطانية بالحد من تفاعلات الجذور الحرة (مسببة الأكسدة) خاصة مركب **Quercétine** *(Zhou, et al., 2001)*.

تخفف من أعراض الحساسية بتثبيطها لبعض الأنزيمات المحفزة: Phosphodiesterase AMP cyclique و ATP Ca^{+} - dependante، التهاب المفاصل و تزيد من نشاط الفيتامين C (*Hollman, et al., 2000*). كما تتميز باستعمالات عديدة في الطب الشعبي حسب *(Yochum, 1999 ; Chaudry et al., 1983 et Hertog, 1995)*:

- ✓ تقوي وتحسن أداء عضلة القلب و تقلل من مخاطر أمراضه.
- ✓ تزيد من مقاومة إنكسار الشعيرات الدموية، تمنع حدوث النزيف وتحمي من الجلطات الدموية.
- ✓ تقلل من حدوث مرض السكري و تخفض نسبة الكولسترول في الدم.
- ✓ تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي.
- ✓ مضادات للجراثيم و الفيروسات خاصة الإيزوفلافونويدات.

2 – 3 – التركيب الكيميائي:

الفلافونويدات ذات بنيات كيميائية مختلفة تم التعرف على أكثر من 9 آلاف فلافونويد (***Williams et al., 2004)*** و (*Martens & al., 2005*)، تتكون من 15 ذرة كربون تتوزع على حلقتين بنزينيتين **A** و**B** ترتبطان بجسر يحتوي على ثلاث ذرات كربون، غالبا الجسر الرابط بين الحلقتين **A** و**B** يتحلق على شكل pyrane ليكون الحلقة البيرانية **C** ليعطي الهيكل القاعدي للفلافونويدات التي تنحدر أساسا من الوحدة الأساسية المسماة 2-phénylchromane حسب (الشكل رقم: 09):



شكل (رقم: 09): الوحدة الأساسية للفلافونويدات

2- phénylchromane

تختلف أقسام الفلافونويدات حسب نوع التحلق، عدم تشبع و درجة أكسدة الحلقة **C**، في حين يحدد نوع الفلافونويد داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الهيكل الفلافونويدي ونلخص أهم أقسام الفلافونويدات حسب نوع تحلق الوحدة **C** و درجة تأكسدها في الجدول (رقم:09). تصنف الفلافونويدات أيضا حسب حجمها الجزيئي فتكون: أحادية الجزيء، متعددة الجزيئات أو مختلطة الجزيئات و يلاحظ أن معظم الفلافونويدات تكون أحادية الجزيء وفي الحالة المتعددة تكون ثنائية، ثلاثية، رباعية ... و معظم الفلافونويدات الثنائية (Biflavonoïdes) ترتكز على الارتباط كربون- كربون لجزيئتين متماثلتين من وحدات الفلافون وتكون بعض الجزيئات المختلطة للفلافونويدات على شكل (Flavonylflavanones).

تتواجد الفلافونويدات طبيعيا في الشكل الأجليكوني والعديد منها يوجد في الشكل الإيتيروزيدي ***(Kijhau, 1976)***وهي غالبا من النوع: Flavone، Flavonol ، Flavanone و Dihydroflavonol، و تعتبر الفلافونات و الفلافونولات الأكثر انتشارا في النباتات من مجموع أقسام الفلافونويدات و تكون الحلقة **A** في هذا النوع مستبدلة بنسبة عالية جدا في الموضعين 5 و 7 و احتمال استبدالها في الموقعين 6 و/أو 8 يكون بدرجة متفاوتة. في حين تكون الحلقة **B** مستبدلة غالبا في الموضع '4 أو تكون ثنائية الاستبدال في '3 أو '4، أو ثلاثية الاستبدال أحيانا في '3، '4 ، '5. أما الموقعين '2 و '6 فنادرا ما يكونا مستبدلين.

- ✓ **الفلافونويدات الأجليكونية:** تكون المستبدلات مجموعات هيدروكسيل حرة أو بمجموعات أخرى مثل: méthyles، acétyle، prényles وsulfates.
- ✓ **الفلافونويدات الإيتيروزيدية:** تكون المجموعة الاستبدالية سكر أحادي ويمكن أن يكون ثنائي أو ثلاثي أو رباعي وهي حالة نادرة جدا.

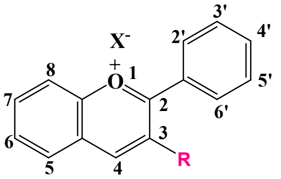
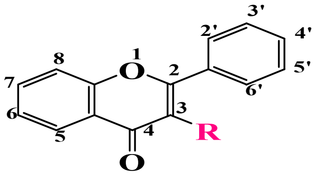
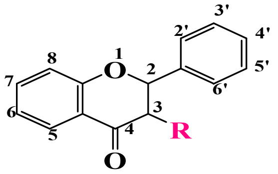
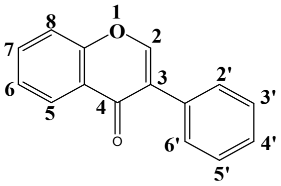
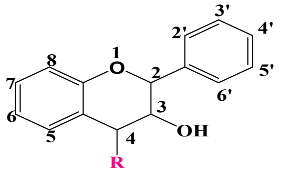
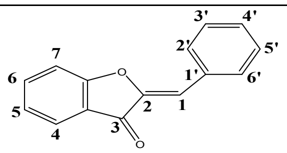
تم التعرف على العديد من التركيبات السكرية المرتبطة بالفلافونويدات المعزولة من النباتات فكانت إما أحادية على شكل سداسية منها: D-Glucose، D-Galacto*se*، D-Mannose أو على شكل خماسية مثل: L-Rhamnose، D-Xylose، L-Arabinose أو على شكل حمض D-glucuronique. تكون كذلك ثنائية موزعة على موضعين مختلفين على الهيكل الفلافونويدي أو يرتبط سكر ثاني بالسكر الأول المرتبط بالأجليكون، أهم السكريات الثنائية المرتبطة هي:

Rutinose (6-O-rhamnosylglucose) و Neohespéridose(2-O-rahamnosylgucose*)*

كما تم التعرف على العديد من أنواع السكريات الثلاثية و بعض رباعيات السكر النادرة الوجود.

موضع السكر في الأجليكون يكون في أي موقع من مواقع الهيدروكسيلات الحرة، وعادة ما يكون في C-7 عند الفلافون و C-3 عند الفلافونول، هذا إذا كان إرتباط السكر بالأجليكون من نوع O-glycoside. أما إذا كان ارتباط

جدول (رقم: 09): أقسام االفلافونويدات حسب نوع تحلق الحلقة C ودرجة تأكسدها

المشتقات	البنية الكيميائية	إسم العائلة الكيميائي	الجذر(R=)
2-phényl-benzopyrilium		**Flavylium (Anthocyane)**	**R= H**
		Anthocyanidine	**R=OH**
2-phényl-chromones		**Flavone**	**R= H**
		Flavonol	**R= OH**
		**Flavanone (dihydroflavone)**	**R= H**
		Flavanol	**R=OH**
Phényl-3- chromone		**Isoflavone**	**Isoflavone**
2-phényl-chromanes		**Catéchine (flavanol-3)**	**R= H**
		Leucoanthocyanidine (flavandiol-3,4)	**R=OH**
2-benzylidène-coumaranones (aurone)		**Aurone**	**Aurone**

الكربون الأنوميري للسكر بكربون الجزء الأجليكوني مباشرة فيكون هذا الارتباط من نوع C-glycoside، وعادة ما يكون على مستوى الحلقة **A** في الموقع 8 و/أو 6 للفلافونات خاصة.

2 – 4 - الإصطناع الحيوي للفلافونويدات:

تشتق الفلافونويدات من نفس الأصل الحيوي لذلك تشترك في هيكلها القاعدي، إذ تتشكل الحلقة **A** من تكاثف ثلاث جزيئات (Malonyl-CoA) الناتجة عن أيض الجلوكوز، أما الحلقة **B** والسلسلة الكربونية الثلاثية تتشكل عن طريق (Shikimate) الذي يتحول إلى Phénylalanine ثم إلى حمض P-coumaroyl-CoA.

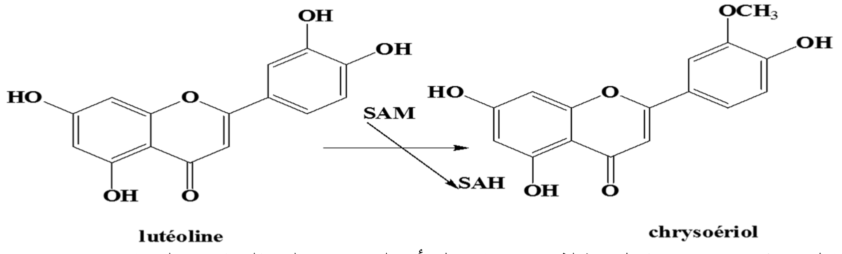
يتكاثف جزيء P-coumaroyl-CoA مع ثلاث وحدات للـ Malonyl-CoA في مرحلة إنزيمية تنتج نواة الشالكون (4,2',4',6'- tétrahydroxychalcone) بـإنزيم (Chalcone synthétase) الذي يمثل النواة الأولى لبناء مختلف أنواع الفلافونيدات ***(Heller et al., 1993)*** و الشكل (رقم:10) يوضح ذلك. تتشكل الحلقة C من تحلق الشالكون عن طريق الـ chalcone isomérase لينتج (Flavanone) الذي يتحوّل إلى (Flavone) عن طريق إنزيم (Flavone synthase) الذي يحفز تشكيل رابطة مزدوجة بين الكربونين (C-2 وC-3)، أو إلى (Dihydroflavonol) بفعل الإنزيم ((2S)-Flavanone-3-hydroxylase)، الذي يحفز إدخال مجموعة OH على الكربون C-3.

في وجود الإنزيمين (Flavonol synthase) أو (Dihydroflavonol-4-réductase) يتحول Dihydroflavonol إلى (Flavonol) أو إلى (Flavan-3,4-diol) على الترتيب، يكون Dihydroflavonol مولدا (Flavan-3-ols) و (Anthocyanidols) حسب الشكل (رقم: 11).

تكون الفلافونويدات أيضا مستبدلة بعدة مجموعات وظيفية (الأستيل، سكر، مثيل ...) حيث يتم إدخال هذه المستبدلات أثناء اصطناعها الحيوي بمحفزات إنزيمية خاصة:

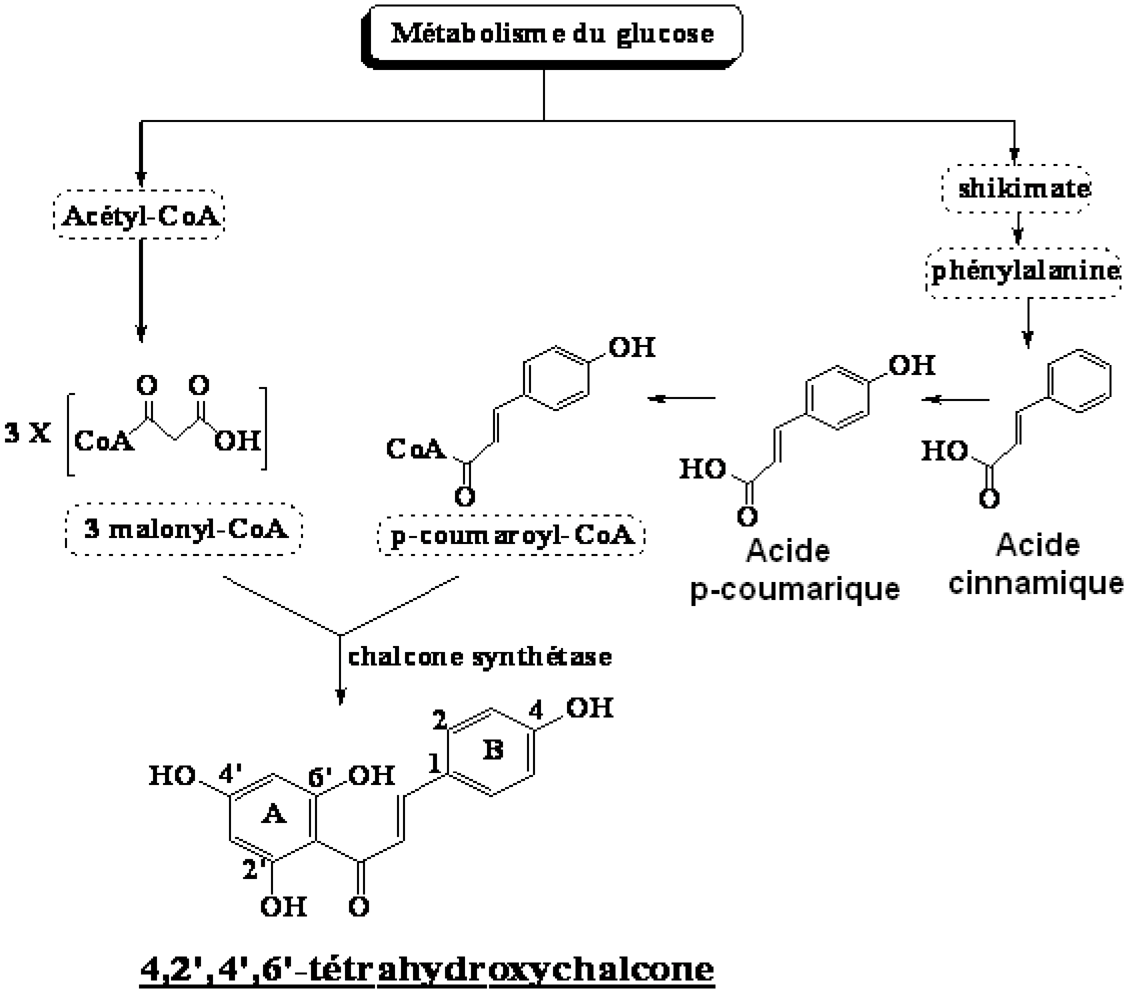
إدخال مجموعة الميثوكسيل: تتم عملية مثيلة مجموعات الهيدروكسيل عن طريق إنزيم O-Méthyl-transférase ومانح للمثيل S-adénosyl-méthionine.

حالة الهيدروكسيلات (OH) الأصلية: يتم التفاعل قبل تشكيل نواة الشالكون أما في حالة الهيدروكسيلات الأخرى يتم التفاعل بعد تشكيل نواة الشالكون، مثل تفاعل مثيلة هيدروكسيل أصلي بعد غلق النواة C لمركب Lutéoline ليعطي Chrysoériol:

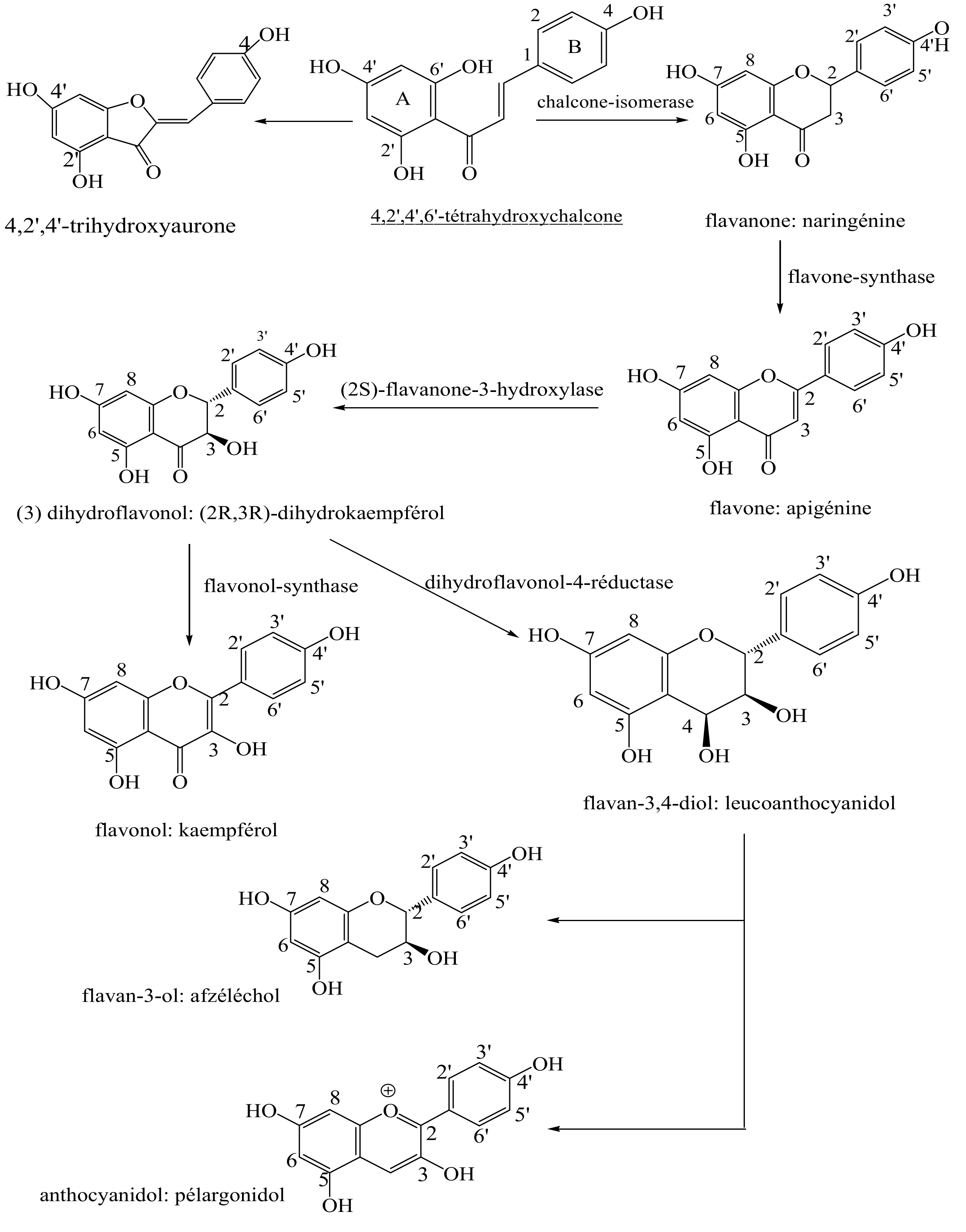


شكل (رقم: 12): تفاعل مثيلة هيدروكسيل أصلي بعد غلق النواة **C** لمركب Lutéoline

تثبيت عدة ميثيلات: يتم بتفاعلات تسلسلية وفي وجود إنزيمات بروتينة مختلفة مثلا: تثبيت عدة ميثيلات لمركب Quercétine ليعطي 3-méthyl quercétine، ثم 3,7-diméthyl quercétine و أخيرا يتشكل ثلاثي مثيل الكرستين 3,7,3'-triméthyl quercétine .



شكل (رقم:10): الاصطناع الحيوي لنواة الشالكون.



شكل(رقم: 11): الإصطناع الحيوي لمختلف الفلافونويدات انطلاقا من نواة الشالكون.

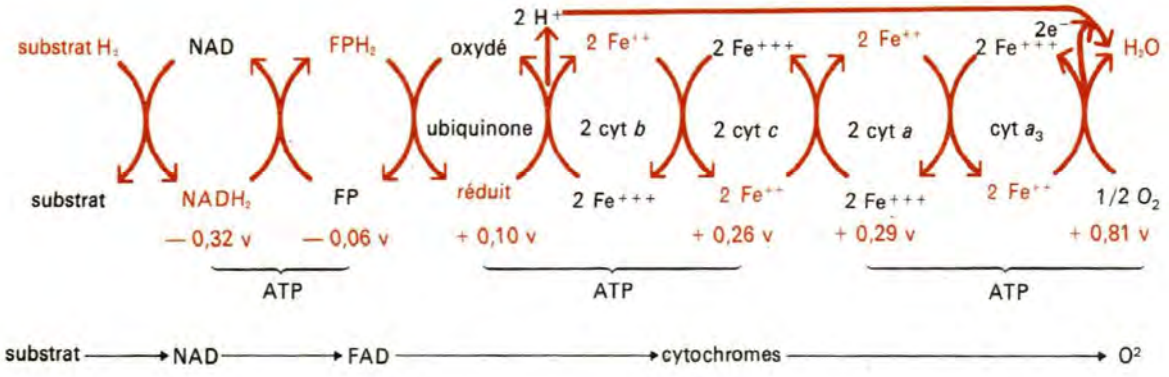
لفصل الثالث:
لنشاطية ضد مؤكسد

1 - الجذور الحرّة:

الجذر الحر ذرة أو جزيء (مشحون (ة) أو متعادل(ة) كهربائيا) يتواجد بشكل مستقل في الجسم يحتوي على إلكترون (e^-) في مداره الخارجي أو يحتوي إلكترونين بنفس العزم (Spin) في خانة كم (Case quantique) الّذي يرفع من قدرته التفاعلية بضرورة تزاوجه بإلكترون آخر ليستقر بالأكسدة وبذلك يكون زمن حياته قصير جدّا (ns آو على الأكثر ms). يتم تصنيع الجذور الحرّة داخل الجسم بشكل طبيعي خلال إستقلاب البروتينات والدّهون وعند توليد الطاقة. يلاحظ توليد جذور حرّة من تسرب حوالي 1% من الـ O_2 بالإضافة إلى الخلايا البيضاء نتيجة دفاعها المناعي.

بيوكيميائيا يعتبر جزيء الأوكسجين المستقبل الأخير للإلكترونات على مستوى السلسلة التنفسية (Chaîne respiratoire) لتكوين الطّاقة على شكل **ATP** بواسطة سلسلة تفاعلات الأكسدة الخلوية الموضّحة في الشكل رقم: 12) كما يلي: مرور الهيدروجين المنزوع إلى الأكسجين الهوائي يكون بتتابع تفاعلات إرجاع **NAD**، أكسدة **FPH_2**، إرجاع Ubiquinone و نقل الإلكترونين المحرّرين بسلسلة السيتوكرومات حسب المعادلة الإجمالية ***(Lehninger, 2010)*** و ***(Strayer, 2010)***:

$$2\ H^+ + 2e^- + \frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow H_2O$$



شكل (رقم: 13): سلسلة الأكسدة الخلوية

ففي حالة انتقال إلكترونات مفردة يتكوّن لدينا جذور حرة ذات فاعلية تأكسدية (Activité oxydante) في حالة تواجدها بتركيزات غير عادية (زيادة) تسعى للحصول على إلكترونات من الجزيئات الأقرب إليها فتخلق المزيد من الجذور الحرّة.

تبحث عن استقرارها بسلسلة تفاعلات غير مرغوبة فتهاجم غشاء الخلية الحيّة ومكوّناتها بما فيها جزيء الـ ADN مسببة لطفرات مؤدية لسرطانات وأمراض أخرى ضارة للجسم: تصلّب الشرايين، ضعف البصر و الشيخوخة المبكرة *(Quideau, et al., 2011 ; Boivin, et al., 2010)*.

تتواجد الجذور الحرّة في المركبات البترولية، المواد الملوّنة و الحافظة، المواد المنظّفة، الكحول، قطران التبغ و شوارد المعادن الثقيلة. وتدعى الأشكال النشطة للأوكسجين (Reactive oxygen species: R.O.S) و تكون على ثلاثة أنواع نذكر أهمها *(Buettner, 2009)*:

أ - جزيئات صغيرة لا تحتوي ذرة كربون: O_2 (Anion super oxyde)، HO^- (Radical-hydroxyl)، NO^- (monoxyde d'azote)، 1/2 O_2 (Oxygène singler).

ب - مشتقات أوكسجينية للأحماض الدهنية غير المشبعة: Ro^- (Alcoxyl)، Roo- (Peroxyl).

ج - مشتقات الأوكسجين الجذري: H_2O_2 (Peroxyde d'hydrogène)، Noo^- (Nitroxyde).

2 - زيادة الجذور الحرّة و ضررها بالجسم:

يتخلص الجسم من الجذور الحرّة الاعتيادية بعد تشبعها بطريقة آلية طبيعية وهي أن تطرح مباشرة من الجسم أو تلتهمها الكريات البيضاء كأجسام غريبة قد تستعملها لقتل بعض الجراثيم والفيروسات أو يستعملها الكبد ليزيل سميّة بعض الكيماويات أمّا في حالة زيادة نسبة الجذور الحرّة تكون مدمّرة للجسم بهجومها لجدر الخلايا والميتاكوندريا و الليزوزومات الممتلئة بالأنزيمات وجزيء الـ ADN. ترتص الجذور الحرة لبعض المستقبلات الخلوية على شكل قفل و مفتاح فتعطل وظيفتها الحيوية كما في حالة إرتصاصها على المستقبل الخلوي لجزيء الأنسولين فيصبح الجسم مريضا لا يستجيب حتى للأنسولين البشري.

بيّنت عدة دراسات أنّ *R.O.S* تؤكسد الليبيدات والبروتينات وأنزيمات DNA لذلك صنّفت المؤكسدات خطيرة تعّد السبب الرئيسي للعديد من الأمراض القلبية والسرطانية و أنّ تركيزاتها تزداد بميكانيكيات داخلية (Endogène) و/أو ميكانيكيات خارجية (Exogène) نتيجة تعرّض الجسم لعدّة عوامل *(Gutteridge, 1993 ; Hininger, 2013)* نذكر منها:

- **Stress oxydant**: تزداد الجذور الحرّة بسبب ازدياد الإستقلاب الخلوي و استهلاك الـ O_2 نتيجة التوتر والإجهاد.
- تعتبر الميتاكوندريا المصدر الرّئيسي لإنتاج O^-_2 (Anion super oxyde) في الخلية و يمكن أن يتكاثف إنتاجه في حالة خلل ميتاكوندري وراثي، التهابات (فعل TNF-α) وعدم اتزان غدائي (نقص Ubiquinone).
- الإلتهاب مصدر مهم للجذور الأوكسيجينية (Radicaux Oxygénés) الناتجة مباشرة بالمعقد الأنزيمي NADPH oxydase للخلايا البلعمية النشطة (Phagocytaires activées).

- تنتج جذور حرّة خلال التفاعلات البيوكيميائية بواسطة أنزيمات: Xanthine oxydase ، Hème oxygenase و Cytochrome P_{450}. ينتج كذلك جذر NO^- (Monoxyde d'azote) بأنزيم Monoxyde d'azote synthease

- الإشعاعات السينية (x) أو جاما (γ)، الإشعاعات فوق بنفسجية (UV) القادرة على إنتاج O^-_2 Anions super oxydes أو $½ O_2$ Oxygène singler.

- المعادن السّامة (Cuivre, Chrome, Vanadium) و الحديد الحرّ يولد في وجود H_2O_2 جذور الهيدروكسيل (OH^-) النشطة جدّا بتفاعل Fenton. كذلك الجزيئات المستنشقة مثل: Amiante و Selice تعتبر مصادر للجذور الحرّة.

- تتأكسد الجزيئات (Ascorbate, Glutathion, adrénaline, Flavines) بطريقة عفوية مع الـ O_2 وتنتج الـ O^-_2 و هذا ما يفسّر سمية الكحول، بقايا تدخين السجائر أو بعض الأدوية: Chloroquine, Adriamycine, Acetaminophène .

3 - مضادات الأكسدة:

مضادات الأكسدة هي مركبات كيميائية تستطيع الارتباط بالجذور الحرّة دون أن تتحول إلى جذر حر وبذلك تفصل الجذر الحر المرتّص عن المستقبل ويشترط أن لا تكون مؤذية للجسم قابلة للإ طراح وتعرّف كيميائيا حسب ***(Halliwel, 1999)*** بأنّها كل مادة (Substance) تؤثر بتركيزات ضعيفة مقارنة بالنسبة لمادة تفاعلها (Substrat) التي تتأكسد حيث تفقد أو تقلّل أكسدة هذه السبسترات.

4 – أنواع مضادات الأكسدة:

تتواجد مضادات الأكسدة على نوعين هما: مضادات الأكسدة الطبيعية و مضادات الأكسدة المصنّعة كيميائيا:

4 – 1 - مضادات الأكسدة الطبيعية: هي مركبات ذات فاعلية مضادة للأكسدة تتواجد طبيعيا في جسم الإنسان كجهاز دفاعي داخلي مضاد للأكسدة أو نتحصل عليها من الغذاء ***(Mahantesh et al., 2012)*** وتتكوّن من:

أنزيمات: Superoxydes dismutase، Glutathion peroxydase و Catalase.

فيتامينات: Vit A، Vit E و Vit C .

الصبغات الطبيعية: Lycopène (الطماطم) و Natrol (العنب).

عناصر معدنية مغذية (Oligo-élements): مثل: السيلينيوم (Se)، المغنيز (Mn) ومركبات الكبريت (S).

بالإضافة إلى بروتينات (Feritine)، مركبات Thiols، المركبات الفينولية من بينها: الفلافونويدات، الأحماض الفينولية و التانينات. يلاحظ بأنّ الفلافونويدات مضادات أكسدة أكثر فاعلية من الفيتامينات مثلا مضادات السرطان: Catechine، genistéine و Quercétine المتوفرة على التوالي في الشاي الأخضر، الصويا والخضار صفراء اللّّون. نذكر أهم مضادات الأكسدة الطبيعية:

1 – الأنزيمات:

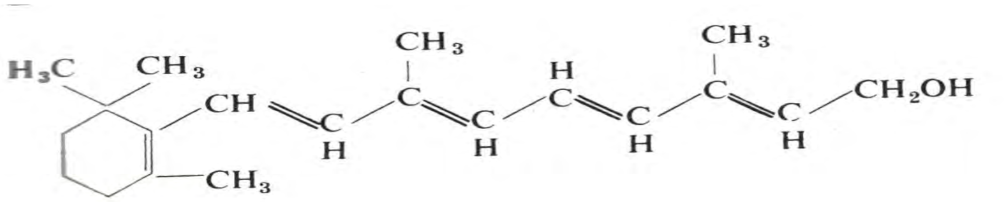
أ - **Superoxydes dismutase**: تحفّز تحّول O_2 (Anion super oxyde) إلى (Peroxyde d'hydrogène).

ب - **Glutathion peroxydase:** يحّفز التحوّل المباشر للـ H_2O_2 (Peroxyde) إلى ماء H_2O .

ج – **Catalase:** يحوّل الـ H_2O_2 (Peroxyde) إلى جذر الهيدروكسيل HO^- (Radical-hydroxyl) ثم إلى ماء H_2O .

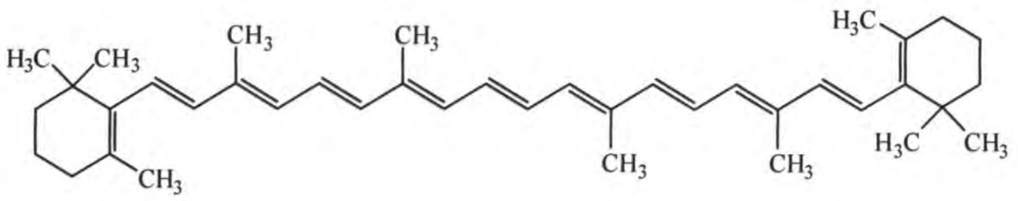
2 – الفيتامينات:

الفيتامين(A): الـ Vit A يدعى كذلك Axérophtol أو Rétinol وهو مركب حلقي، الحلقة هي B-inone مع سلسلة جانبية تحتوي روابط مزدوجة، يتكون من 20 ذرة كربون ناتجة عن بلمرة 4 وحدات إيزوبرينية، النواة ناتجة عن تكاثف إيزوبرينين، هذه البنية الكيميائية مبيّنة في الشكل (رقم: 14) الآتي:



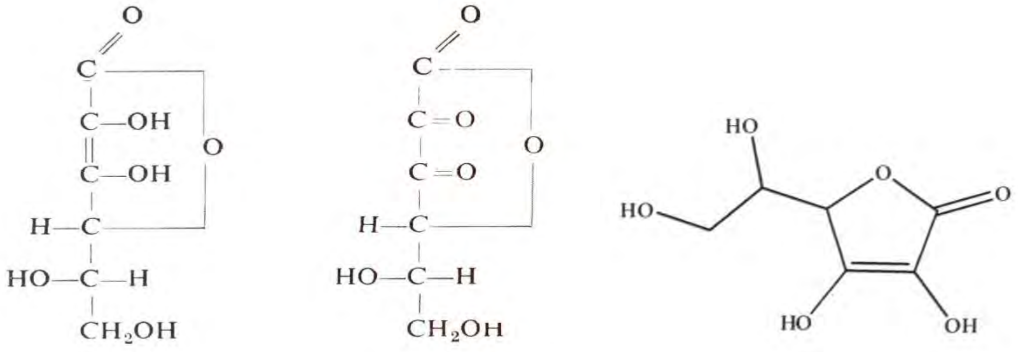
شكل (رقم: 14): البنية الكيميائية للفيتامين **A**

الفيتامين قابل للذوبان في الدّهون، يتواجد على شكلين: ريتينول (Rétinol) ومشتقاته ذات الأصل الحيواني و الكاروتينويدات (Caroténoïdes) ذات الأصل النباتي ***(wolinsky, 1998)*** تتكون من (40C) وتعتبر طليعة الفيتامينات (Provitamines) من بينها البادئ الرئيسي β– carotène (شكل رقم: 15). للفيتامين A دور بيوكيميائي مهمّ جدا في الرؤية بالإضافة لاعتباره من أقوى مضادات الأكسدة ***(Shils et al., 2006)***.



شكل (رقم: 15): البنية الكيميائية لـ **β- carotène**

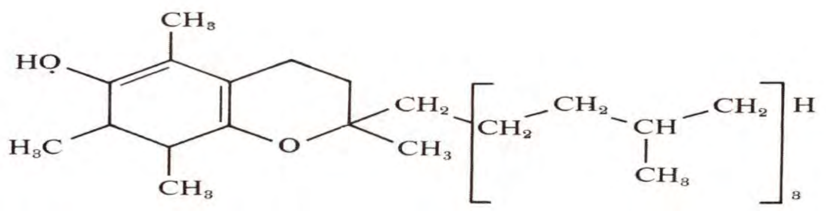
الفيتامين (C): الـ Vit C أو حمض L- ascorbique، مضاد أكسدة، قابل للذوبان في الماء، يتكون من 6 ذرات كربون، يشتق من الجلوكوز، وهو عبارة عن lactone مع مجموعة énediol (2 كحول مفصولة برابطة مزدوجة) لذلك يتأكسد بسهولة بواسطة أنزيم ascorbate oxydase إلى حمض déhydroascorbique، هذه البنيات الكيميائية مبيّنة في الشكل (رقم: 16) الآتي:



شكل (رقم:16) البنية الكيميائية: للفيتامين **C** وللحمضين: ascorbique و Déhydroascorbique

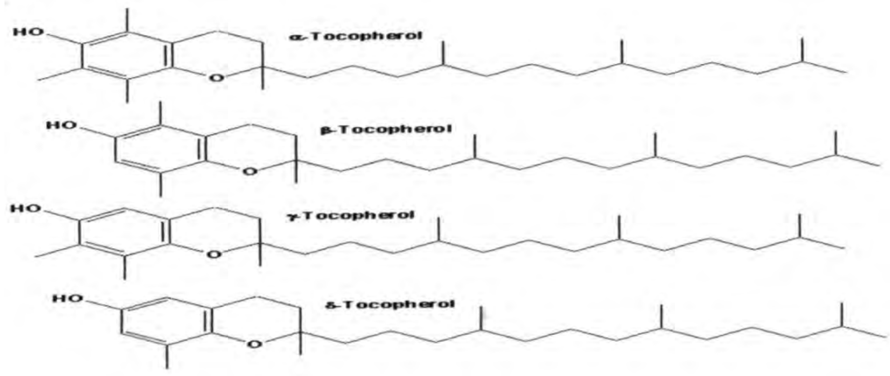
يلعب الـ Vit C دور مانع للأكسدة في البلازما والسوائل الخارج خلوية *(extracellulaires)* ويعتبر أهم مضاد أكسدة حيث يؤثر مباشرة على مركبات ROS وبطريقة غير مباشرة بتجديد Vit E و GSH.

الفيتامين(E): الـ Vit E يتكوّن من حلقتين إحداهما Hétérocyclique مع ذرة أوكسجين وسلسلة جانبية عديدة الإيزوبرينات ذات (15C) (شكل رقم: 17)، قابل للذوبان في الدّهون، مضاد أكسدة رئيسي يلعب دور هام في العضوية على مستوى الخلايا بحمايتها لبعض المركبات من الأكسدة خصوصا بأيّونات Superoxydes.



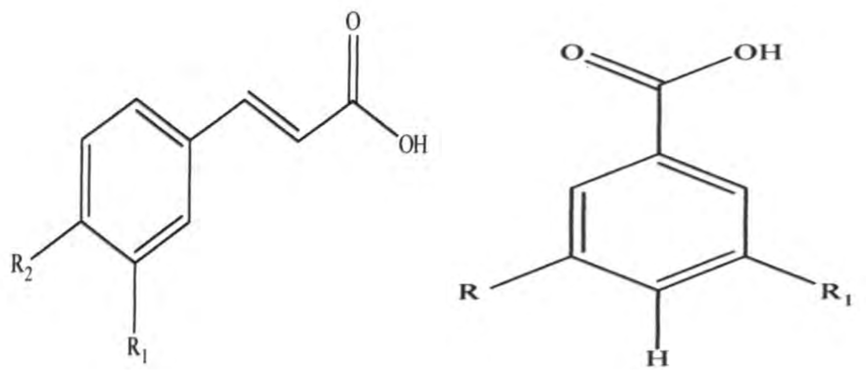
شكل (رقم: 17): البنية الكيميائية لـ **α- tocopherol**

يوجد في الطبيعة عدّة مشتقات للفيتامين E ذات نشاطيات مختلفة، من بين أهم أنواعه ($\alpha, \beta, \delta, \gamma$) Tocotriénol و Tocopherol مبيّنة في الشكل (رقم: 18) الآتي:



شكل (رقم: 18): البنية الكيميائية لبعض مشتقات الـ **Vit E**

3 - الأحماض الفينولية: تقسّم المركبات الفينولية على أساس تصنيعها الحيوي وهي بنية حلقية عطرية أو أكثر ترتبط بزمرة هيدروكسيلية أو أكثر، يطلق مصطلح حمض فينولي لجميع المركبات العضوية التي تمتلك على الأقل وظيفة كربوكسيلية وهيدروكسيل فينولي، تعتبر مجموعة الأحماض Hydrox benzoïque ومجموعة الأحماض Hydrox cinnamique المشتقة على الترتيب من حمض البنزويك وحمض السيناميك المبيّنة في (الشكل: رقم: 19) ***(Budic-leto et al., 2002)*** ذات فاعلية مضادة للأكسدة تنتج خصوصا لاستقرار الجذور الفينوكسيلية (Phenoxyliques) بواسطة نقل إلكترونات حول الحلقة العطرية وترتبط كذلك فاعليتها بعدد الوظائف الهيدروكسيلية المهدرجة (Hydrogène labile)، يلاحظ بأنّ مضادات الأكسدة الأكثر فاعلية هي التي تمتلك طاقات روابط ضعيفة على مستوى المجموعة الفاقدة للهيدروجين ***(Ghosh, et al., 2009 ; Quideau, et al., 2011).***



Acide benzoïque: R = H ; R_1 = H ; R_2 = H

Acide 4- hydroxy benzoïque: R = OH ; R_1 = H ; R_2 = H

Acide 4- methoxy benzoïque: R = OCH_3 ; R_1 = H ; R_2 = H

Acide protocatéchique: R = OH ; R_1 = OH ; R_2 = H

Acide gallique: R = OH ; R_1 = OH ; R_2 = OH

Acide vanillique: R = OH ; R_1 = OH ; R_2 = OCH_3

Acide cirigénique: R = OH ; R_1 = OH ; R_2 = OCH_3

Acide cinnamique: R_1 = H ; R_2 = H

Acide p- coumarique: R_1 = H ; R_2 = OH

Acide caféique: R_1 = H ; R_2 = OCH_3

Acide férulique: R_1 = OH ; R_2 =O H

Acide isoférulique: R_1 = OH ; R_2 =OH

Acide cinapique: R_1 = OCH_3 ; R_2 = OCH_3

شكل (رقم: 19): البنية الكيميائية لمجموعة أحماض البنزويك و مجموعة أحماض السيناميك

4 - الفلافونويدات: أجريت عدّة دراسات لتحديد علاقة بنية الفلافونويد بفاعليته كمضاد للأكسدة باستخدام التأثير المتبادل بين الفلافونويدات والعديد من الجذور، نذكر منها:

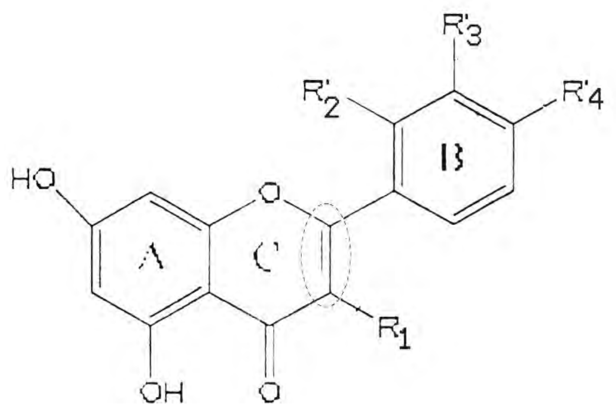
(***Van Acker, 1996 ; Cao, 1997 ; Cos, 1998 ; Dugas et al., 2000 & Sroka et al., 2005).***

نتيجة للدّراسات السابقة تعتبر الفلافونويدات من أهم مضادات للأكسدة الطبيعية نظرا لبنية الفلافونويد ذات الخصائص الكيميائية الآتية:

- بنية أورتو- ثنائي هيدروكسي في الحلقة B (Catechin) تؤثر في ثباتية الجذر Flavonoxy وتساهم في عدم توضع الإلكترونات.

- ترافق الرابطة الثنائية C_2-C_3 مع الزمرة 4- أوكسو.

- ارتباط الزمرة 3-OH مع الرابطة الثنائية C_2-C_3.



شكل (رقم: 20): الأجزاء المهمّة في بنية الفلافونويد المؤثرة على فاعليته كمضاد للأكسدة

5 – الزيوت الأساسية: الزيوت الأساسية خلائط معقّدة تحتوي على مركبات ذات فاعلية ضد مؤكسدة أثبتتها مختلف الدّراسات للعديد من الأنواع النباتية لمختلف الأجناس نذكر منها: *Nigella sativa*، *Pistachia vera*، *Tymus sipyteus*، *Petroselinum crispum*، *Bunium persicum* و *Satureja cuneifolia* .

(Oke et al., 2009 ; Shahsavari et al., 2008 ; Zhang et al., 2006 ; Tepe et al., 2005 ; Goli et al., 2005 et Burits et al., 2000).

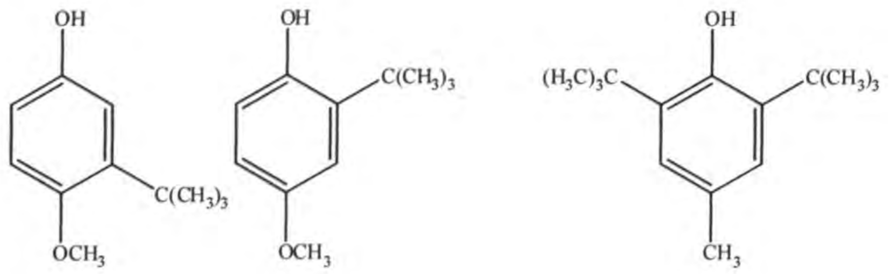
الفاعلية ضد مؤكسدة للزيوت الأساسية ناتجة عن الوظائف الكيميائية المختلفة لمحتوياتها من المركبات فمثلا الزيوت الأساسية للنبتتين (Coriandre، Bois de rose) تحتوي على مركبات كحولية (Linanol و Géraniol)، النبتتين: (Lavande و Menthe) تحتوي خليط من الأسترات و الكحولات (Acétate de lynalyle، Acétate de Menthol) أمّا (Carvi و Thya) تحتوي كيتونات (Carvone، Thyone).

مكوّنات الزيوت الأساسية لمعظم النباتات تحتوي على الوظائف: الألدهيدية (Aldéhyde cinnamique، Citral أو Citrannal و Citronelal)، الإيثيرية (Anéthol وEucalyptol)، البروكسيدية (Ascaridol) و الألدهيدية أحادية التربين: Géranial و Manthone وبعض التربينات الأحادية α-terpinène (*Edris, 2007*).

مكوّنات الزيوت الأساسية: Tymol، Carvacrol و Eugénol للنباتات (Thym، Origan، Girofle) تعتبر الأكثر فاعلية ضد مؤكسدة من بين محتويات هاته الزيوت لأنّها مركبات ذات خصائص أكسدة-إرجاعية تؤثر على الجذور الحرّة وتفككها إلى بيروأكسيدات وفاعليتها هذه نتيجة بنيتها الفينولية ***(Teps et al., 2005)***.

4 – 2- مضادات الأكسدة المصنّعة: تم تصنيع مضادات أكسدة الدّهون بتكلفة منخفضة وهما المركبين:

(Butyl Hydroxyl Anisol : BHA) و (Butyl Hydroxyl Toluène: BHT) و يعتبران الأكثر فاعلية من مجموع عائلة Gallates أسترات حمض الـ galique. المركبين BHT و BHA يلعبان دور مهم في تأخير أكسدة الدّهون، ولكن ثبت أنّه يمكن أن تكون هذه المؤكسدات سامّة ***(Yu et al., 2000).***



شكل (رقم: 21): البنية الكيميائية للمركبين BHA و BHT

5 – آليات عمل مضادات الأكسدة:

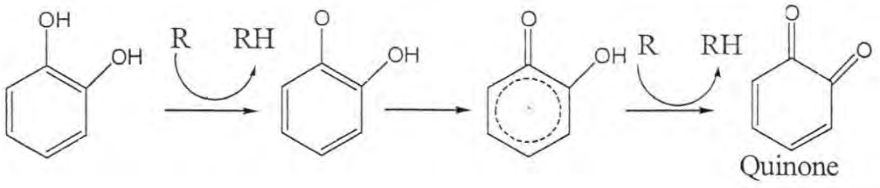
تعمل مضادات الأكسدة حسب ***(Halliwell, 1994)*** كما يلي:

1 - مصائد للأشكال النشطة للأوكسجين (ROS).

2 - تثبط الأنزيمات و وتتمخلب مع آثار المعادن المسؤولة عن إنتاج الـ ROS.

3 - حماية نظام الدّفاع المضاد للأكسدة.

الفلافونويدات مصائد للـ ROS: تعتبر الفلافونويدات (Fl-OH) قادرة ترموديناميكيا على إرجاع الجذور الحرّة المؤكسدة لصغر كمونها (Redox) و نتيجة لعدّة دراسات نذكر منها: ***Jovanovic, 1994 ; Cotelle, 1996) Bors,*** ***1997*** و ***Pietta, 2000***) تعمل الفلافونويدات كمصيدة للجذور الحرة المؤكسدة (ROS)، مثلا يمكن لجذر Flavonoxy ($Fl - O^{-}$) أن يتفاعل مع جذر آخر لتشكيل كينون مستقر:



شكل (رقم: 22): عمل الفلافونويدات كمصيدة للجدر الحر

التثبيط الأنزيمي: يحفز الكزانتين (Xanthine) أوكسيداز أكسدة الهيبوكزانتين و الكزانتين إلى حمض البولة حسب المعادلة التالية:

$$\textbf{Xanthine} + 2O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Xanthine oxydase}} \textbf{Uric acid} + 2O_2 + 2H^+$$

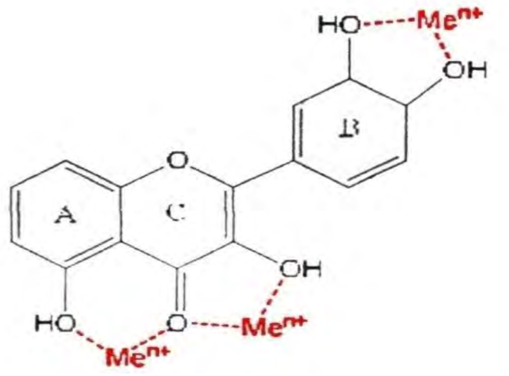
يعد الـ Xanthine oxydase مصدر حيوي مهم للجذر Syperoxyd حيث قدّم ***Hanski*** و زملاؤه دراسة عن مرض النقرس وتبيّن من هذه الأخيرة أنّ الفلافونويدات يمكن أن تؤثر على الكزانتين أوكسيداز ونتيجة لذلك يمكن التخفيف من هذا المرض بتخفيف تركيز حمض البول وجذر الـ Syperoxyd في الأنسجة البشرية.

التمخلب مع أيونات المعادن: إنّ شوارد الحديد Fe^{+2} وشوارد النحاس Cu^{+2} هي أساس لكثير من الوظائف الحيوية و الفلافونويدات تعد ممخلبات جيّدة لهذه الأيونات المعدنية ***(Brown et al., 1998)***، و الدّراسات التي قام بها ***(Van-Aker, 1996)*** حول تمخلب الحديد مع بعض الفلافونويدات أعطت نتيجة التموضع التالية:

1 - نواة Catechol في الحلقة B.

2 - المجموعات 3 - هيدروكسيل 4 - أوكسو في الحلقة C.

3 - المجموعات 4 - أوكسو 5 - هيدروكسيل بين الحلقة C و A.



شكل (رقم: 23): المواقع المقترحة لتمخلب الفلافونويدات مع الأيونات المعدنية

6 – تحديد النشاطية ضد مؤكسدة:

6 – 1 – الاختبارات المخبرية: لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة توجد عدّة اختبارات لونية تعتمد على ظهور أو اختفاء التلوين بدلالة زمن التفاعل تساعدنا على قراءة الامتصاصية عند طول موجي (λ) محدد بتحديد الاختزال النسبي للجذور ($DPPH^{\circ}$، $ABTS^{+\circ}$ أو $RCOO^{\circ}$) عند زمن مرجعي أو تحديد كمية المادة المؤكسدة الضرورية لاختزال 50 % من الجذور (IC_{50})، النتائج تكون نسبية مقارنة مع مضاد أكسدة مرجعي (طبيعي: Vit C أوVit E أو صناعي: BHT).

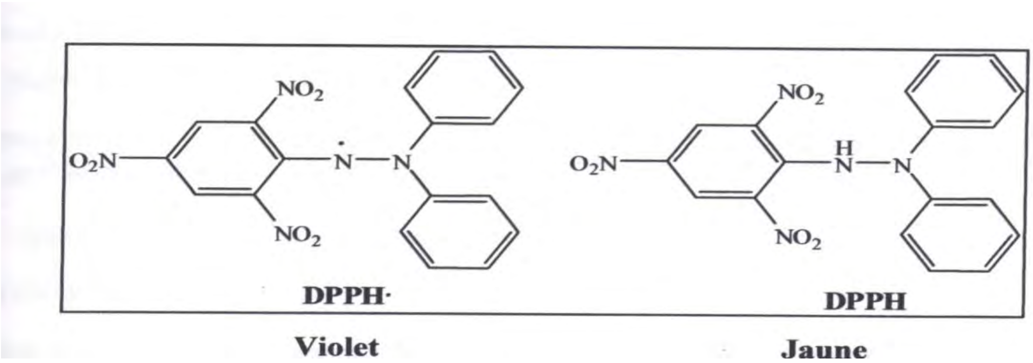
يوضح الفعل الآسر(للعيّنات) على إزاحة الجذور كما يلي:

أ - اختبار **DPPH**: استقرار الجذر يؤدي إلى عدم تمركز (Délocalisation) الإلكترون الأعزب على مجموع الجزيء كله وهو سبب اللّون البنفسجي في المحلول الكحولي مميّز بحزمة امتصاص ضوئي مرئي عند 516 نم. إضافة DPPH لمحلول كحولي (ميتانولي أو إيتانولي) يحتوي مركب مضاد-أكسدة و بإمكانه فقد ذرة H يؤدي إلى انخفاض اللّون البنفسجي الذي يدّل على ظهور الشكل المرجع لـ DPPH-H حسب معادلة شكل (رقم: 23):

$$\mathbf{DPPH^{\circ} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\circ}}$$

بنفسجي → أصفر

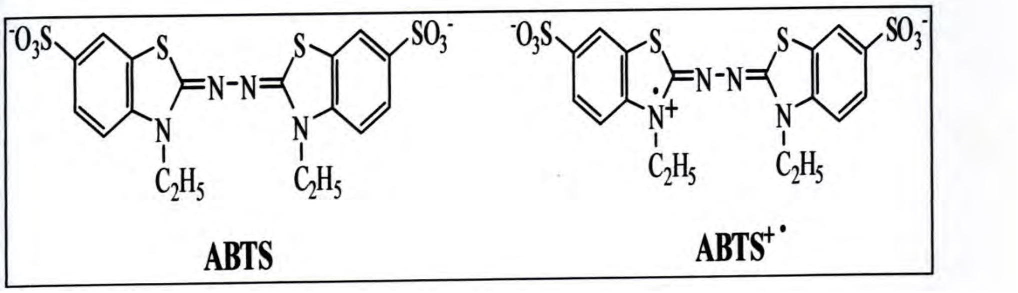
$DPPH^{\circ}$: جذر DPPH   AH : مضاد أكسدة   DPPH-H: شكل مرجع A°: ناتج جذر



(شكل رقم: 24) : البنية الكيميائية لجذر DPPH و شكله المختزل

ب – اختبار**$ABTS^{+\circ}$**: الجذر الكاتيوني $ABTS^{+\circ}$ في وجود Persulfate de potassium يعطي محلول ذو لون أخضر- مزرق مميّز لحزمة امتصاص ضوئي مرئي عند أطوال موجات: (416، 650 و 734) نانومتر.

إضافة مضاد أكسدة لمحلول الجذر الكاتيوني في وجود Persulfate de potassium يؤدي إلى اختزاله و انخفاض في الامتصاصية عند (λ= 734) نانومتر (شكل رقم: 25).

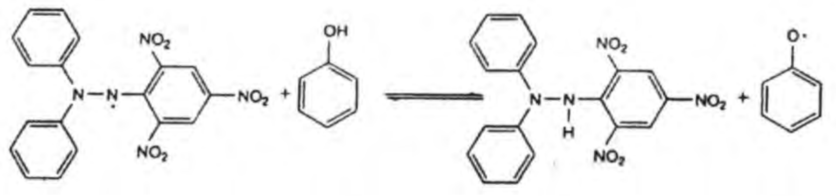


شكل (رقم: 25): البنية الكيميائية لجذر $ABTS^{+\circ}$ و شكله المختزل

ج - اختبار β-carotène: يتأكسد حمض اللينوليك (Linoléïque) بفقد ذرة H من مجموعة الميثيلات النشطة ليعطي جذر الهيدروبروكسيد $RCOO^{\circ}$ كما في المعادلة: $RCOO^{\circ} \xrightarrow{RH} RCOOH$

إضافة β-carotène لمحلول حمض اللينولييك الذي ينتج جذور الهيدروبروكسيد فتهاجم الروابط المزدوجة للبيتا كاروتين تكون سبب انخفاض اللون البرتقالي المميّز لها ممّا يؤدي إلى انخفاض في قيمة الامتصاصية عند طول موجي (= λ) 490 nm.

6 – 2 – تقنية الرّنين بارا المغناطيسي الإلكتروني: يتم الكشف على المركبات الجذرية والتعرّف عليها بطريقة طيفية هي (Résonance para eléctronique: RPE) لها القدرة على كشف الجذور الحرّة ذات التراكيز الضعيفة تصل إلى (10^{-8}M). تعتمد على مبدأ الفعل الآسر لجذر DPPH يتم فيها التقاط ذرة H من المركب الفينولي للجذر ليعطي الصورة المختزلة وجذر Phénoxy حسب المعادلة الآتية:



شكل (رقم: 26): تفاعل DPPH مع الفينول

دقّة هذه التقنية واستهلاكها كميّة أقل بكثير من العيّنة مقارنة مع الاختبارات المخبرية تجعلها من بين أحسن الطرق المستعملة في قياس الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات البيولوجية أو الجزيئات وتعتمد على طريقتين حسب درجة استقرار الجذر الحر (مركبات تتميّز بالاستقرار ومركبات غير مستقرة) ***(Brand-Williams et al., 1995)***:

أ – طريقة الوسم المغزلي (Spin-Labelling): تقاس الفعالية المضادة للأكسدة لمركب ما حسب قدرة المركب على إقتناص الجذر Spin-Label و تحويله إلى مركب غير جذري لا يكشف عنه جهاز RPE. اختزال الـ Spin-Label يكشف عنه جهاز RPE من خلال ملاحظة انخفاض في قيمة الطيف المقاس مقارنة مع الشاهد***(Jost et al., 1984)***.

ب – طريقة القطب المغزلي (Spin-trapping): تستعمل هذه الطريقة في حالة الجذور الحرّة الغير مستقرّة مثل الجذور الأوكسجينية والتي مدّة حياتها جد قصيرة، حيث يستلزم إضافة مركب عضوي قنّاص يسمى Piégeur de spin (SP) إلى العيّنة هذا المركب يتفاعل بسرعة مع الجذر الحر ليعطي مركب جديد يدعى Spin adduit (SA) هذا الأخير تكون مدّة حياته أطول من الجذر الّذي التقطه وبذلك يمكن الكشف عنه في جهاز RPE ***(Janzan, 1984)***.

الفصل الرابع:

الدّراسة الميكروبيولوجية

1 – الكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة:

1 – 1 – قدرتها المرضية:

الكائنات الدّقيقة قيد الدراسة ممرضة أصلا (Micro-organisme pathogène) قادرة على أن تسبب عدوى (Infection) بعد اختراقها لجسم صحّي أو تغيير البنية الخلوية لنسيج أو مختلف أنسجة العضوية تؤدي بذلك لأعراض مرضية، منها الممرض الصارم (Micro-organisme pathogène Stricte) و الممرض الانتهازي (Micro -organisme pathogène opportuniste) ***(Janeway, et al., 2009).*** وهي على نوعين:

فطريـة *(Fongique)*: منها نوع *Candida albicans* يؤدي لأمراض و لعدوى فطرية متنوعة تصيب الإنسان ***(Bennett et Jonhson, 2005 & Lavadière et Jonhson, 2006)*** و *Aspergillus niger* قد يكون سام وممرض للإنسان والحيوان (العدوى الفطرية الرئوية للطيور) والنبات *(Phytopathogène parasitaire)* حيث يصيب بنسب عالية جدّا بذور نبتة الثوم و القرعيات (Cucurbitacées) يعفن الكراث و الثوم بعض سلالاته تنتج سموم الـ *Ochratoxines A* ***(Samson et al., 2001 ; Semal et Lepoivre, 2003 & Pariz et al., 2008)*** و *Aspergillus flavus* ينتج سموم *Aflatoxines* B_1 الذي يعتبر حاليا أهم عامل مسرطن طبيعي معروف و B_2 و G_1 و G_2 وكذلك سموم *Mytoxines* بأنواعها: *Acide aspergillique*، *Acide kojique* السّامّة جدا للحيوانات، أمّا السمّوم: Flavicine، Flavicidine، Granegilline، Orizazine، Acide β-propionique، Acide falvicidique تكون سّامة للنباتات. يسبب فطر *Aspergillus flavus* إجهاض الحيوانات المجترة كما يتطفل على الحشرات ***(Smith et Paterman, 1977 & Samson et al., 2010)***، مختلف الأمراض التي تسببها الفطريات *Candida albicans, Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* للإنسان مبيّنة في الجدول (رقم: 10) مذكورة في المراجع الآتية:

(Smith et Paterman, 1977 ; Himejima et Kubo, 1993 ; Bennett et Jonhson, 2005 & Pariz et al., 2008).

بكتيريـة *(Bacteriennes)*: مختلف السلالات قيد الدّراسة متعايشة (Commensales) تعتبر ممرضة انتهازيـة (pathogène opportuniste) في حالة جسم صحي ذو جهاز مناعي ناقص (Immunodéprimé)، لها القدرة على إحداث عدوى تصيب مختلف أجهزة الجسم مبيّنة في الجدول (رقم: 11) حسب المراجع الآتية:

(Avril et al., 1992 ; Hart et Shears, 1997 ; Petignat et al., 2006 ; Delarras, 2007 & Willoquet et al., 2011).

جدول (رقم: 10): الأمراض المعدية الناتجة عن الفطريات ***C. albicans***، ***Asp. niger*** و ***Asp. Flavus***

الفطريـة	Maladies infectieuses	الأمراض المعديـة
Candida albicans	Candidose des muqueuses digestive et gynécologique Candidose Oral et Oesophagienne Candidémie Infection superficlelle Erythme chez les nouveau-nés Bronchopneumonie et/ou pneumonie Vaginite et Balanite	عدوى فطرية للغشاء المخاطي الهضمي والأمراض النسائية داء المبيضات الفموي والمريء المبيضات في الدم عدوى الجلد السطحية طفح جلدي لحديثي الولادة نزلة الالتهاب الرئوي و/ أو التهاب الرئوي التهاب الرحم و التهاب حشفة الذكر
Aspergillus sp.	douleurs thoraciques difficultés réspiratoires troubles de la vision céphalées sang dans les crachats aspergillose du conduit auditif	آلام في الصدر صعوبة في التنفس اضطرابات الرؤية صداع الدم في البلغم داء الرشاشيات لقناة الأذن
Aspergillus niger	mycose pulmonaire otite externe invasive	العدوى الفطرية الرئوي التهاب الأذن الخارجية الغازية
Aspergillus flavus	attaque les voies respiratoires aspergillose bronchique	يهاجم الجهاز التنفسي داء الرشاشيات القصبي

جدول (رقم: 11) : أهم الأمراض الناتجة عن السلالات البكتيرية قيد الدّراسة

الكائنات البكتيرية	Maladies infectieuses	الأمراض المعدية
E. coli	Colites hémorragiques, des syndromes hémolytiques, Symptômes dysentériques et des diarrhées. Entérite, infections des tractus urinaire et génital, méningo-encéphalite, avortement, infections du nouveau- né et mammite	التهاب القولون النزفية، متلازمة انحلال الدم، أعراض الدوسنتاريا والإسهال. المعوية الغازية وممرض للأمعاء، التهابات المسالك البولية والتناسلية، التهاب السحايا والدماغ، الإجهاض، التهابات الأطفال حديثي الولادة، التهاب الضرع
Staphylococcus aureus *Staphylococcus*	les infections de la peau et des tissus mous Pneumonies aigues nosocomiales Infections des voies respiratoires inférieures	التهابات الجلد و الأنسجة الرخوة الالتهاب الرئوي الحاد في المستشفيات التهابات الجهاز التنفسي السفلي
Klebsiella pneumoniae *Klebsiella*	Infections des voies respiratoires supérieures Infections des voies urinaires les mammites	التهابات الجهاز التنفسي العلوي التهابات المسالك البولية التهاب الثدي
Pseudomonas aeruginosa	Infections nosocomiales Otite moyenne aigue Infections de plaie, Infections urinaires, septicémie	عدوى المستشفيات التهاب الأذن الوسطى الحاد التهابات الجروح والتهابات المسالك البولية، وتعفن الدم
Proteus vulgaris *Proteus*	Infections aigues et chroniques diverses, entérite Infections urinaires et de plaie	الالتهابات الحادة والمزمنة المختلفة، والتهاب الأمعاء التهابات المسالك البولية والجرح

1 – 2 – تصنيفها: بتحليل البنية الدّاخلية لأجناس وأنواع الكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة تقسّم إلى زمرتين:

(Garrity et al., 2004 & Woese et al., 1990)

الأولى تضم مجموعة أجناس وأنواع من procaryotes Protistes مصنّفة حسب تقسيم ***(Bergey's, 2005)*** ضمن: (Domaine Bacteria)، الرتب التصنيفية (النّوع، الجنس، الفصيلة، الرّتبة والصف) للسلالات موضّحة في الجدول (رقم: 11) تنتمي إلى: Embranchement XII الذي يضم Proteobacteria.

جدول (رقم: 12): تصنيف السلالات المنتمية للـ ***Proteobacteria***

حسب تقسيم ***(Bergey's, 2005)***

المملكة	Bacteria					
الشعبة	Proteobacteria					
الصف	Gamma Proteobacteria					
الرّتبة	Enterbacteriales					Pseudomonadales
الفصيلة	Enterobacteriaceae					Pseudomonadaceae
الجنس	*Escherchia*	*Enterobacter*	*Salmonella*	*Proteus*	*Klebsiella*	*Pseudomonas*
النّوع	*E. coli*	*	*	*	*	*

أمّا مختلف الرّتب التصنيفية للسلالات الأخرى ***(Bergey's, 2009)*** الموضّحة في الجدول (رقم: 13) تنتمي إلى: Embranchement XIII الذي يضم كائنات Firmicuts.

الزمرة الثانية تضم النّوع *Candidat albicans* الذي تم تصنيفه حسب ***(Berkhout, 1923)*** والجنس *Aspergillus* يضم 24 نوعا مهمّا منها النوعين *Niger* و *Flavus* تمّ تصنيفها على الترتيب حسب:

(Van Tighem, 1867) و ***(Micheli ex link, 1809)*** و هي سلالات تنمي إلى مملكة *Fungi* والجدول (رقم: 14) يوضّح مختلف الرتب التصنيفية لهاته السّلالات.

جدول (رقم: 13): تصنيف السّلالات المنتمية للـ ***Firmicuts***

حسب تقسيم ***(Bergey's, 2009)***

Bacteria				المملكة
Firmicutes				الشعبة
Bacilli				الصف
	Bacillales	Lactobacillales	Bacillales	الرتبة
Staphylococaceae	Bacillales	Streptococcaceae	Staphylococcaceae	الفصيلة
Staphylococcus	*Bacillales*	*Streptococus*	*Staphylococcus*	الجنس
*	*	*Streptococcus feacalis*	*S. aureus*	النوع

جدول (رقم: 14): تصنيف السّلالات المنتمية للـ ***Fungi***

Fungi			*المملكة*
Ascomycota			*الشعبة*
Eurotiomycetes/ Eurotiomycetidae		Saccharomycètes	*الصف*
Eurotiales		Saccharomycetales	*الرتبة*
Trichocomaceae		Saccharomycetaceae	*الفصيلة*
Aspergillus		*Candida*	*الجنس*
A. flavus	*A. niger*	*C. albicans*	*النوع*

1 – 3 – خصائصها المورفولوجية والفيزيولوجية:

نبيّن مظهر الأشكال المرفولوجية المجهرية الموضّحة للسلالات قيد الدّراسة في الملحق (رقم: 02) ونلخص أهم الصفات المورفولوجية (الأبعاد، التجرثم، المستعمرات،...) والفيزيولوجية (درجات النمو المثلى، التغذوية وبيئات الزرع...) فيما يلي:

• **سلالة الإيشيريشيا القولونية** ***Escherichia coli*:** عزلت لأول مرة سنة 1885م من طرف العالم ***Escheriche***، تعتبر من الأنواع البكتيرية الأكثر دراسة. تنتمي هذه السلالة إلى عائلة Enterobacteriacea، هي عصويات هوائية سالبة الغرام (-) Gram، بعضها له أسواط، غير متجرثمة، أبعادها من (2 إلى 3) ميكرو متر طولا وقطرها 0.6 ميكرو متر، هوائية أولا هوائية اختيارية وبالتالي يمكن تنميتها بسهولة على الأوساط المخبرية أما الحرارة المثلى لنموها هي 37°م كما تنمو على مدى حراري (20- 44)°م. تنمو مستعمراتها على الآجار ليصل قطرها 2 إلى3 مم، نسبة CG لها من 48 إلى 52 %. تتواجد بصفة عادية في الجهاز الهضمي للإنسان و الحيوان حيث تمثل 10^7 إلى 10^9 (خلية بكتيرية/غرام)، في التربة وفي الماء. تحدث هذه البكتيريا إصابات داخل الأمعاء حيث تتكاثر بالجهاز الهضمي وتخترق الحواجز الدفاعية داخل العضوية على مستوى السطوح المخاطية و ذلك بإنتاج السموم أو التنافس على مصادر: الحديد، الكربون و الطاقة، أمّا خارج الأمعاء فتحدث التهابات بالمعدة، تعفنات دموية و إحداث بعض إصابات المجاري البولية عند الإنسان خاصة للأشخاص ذوي الجهاز المناعي الضعيف وكذلك عند بعض الأنواع الحيوانية ***Dunière,*** ***(Tortora et al., 2003 & 2012)***.

• **سلالة المكورات العنقودية** ***Staphylococcus*** : اكتشفت لأول مرة سنة 1880م من طرف باستور، تنتمي هذه السّلالة إلى عائلة Micrococaceae ، هي مكورات موجبة لصبغة غرام (+) Gram يتراوح قطرها من (0.5 إلى 2.5) نانومتر، غير متحركة، غير متجرثمة وبدون كبسولة، نجدها في شكل تجمعات عنقودية غير منتظمة، تنمو هوائيا و هي أيضا لا هوائية إختيارية عدا النوع *Staphylococcus saccharolyticu* الذي ينمو لا هوائيا، تستطيع النمو بسهولة على مختلف الأوساط المغذية والوسط الانتقائي لها هو Chapman، يتفاوت حجمها بتفاوت السّلالات وعمر المزرعة واختلاف الوسط الغذائي الذي تنمو فيه، تظهر على شكل مجاميع عنقودية الشكل ويكون ذلك واضح على الأوساط الصلبة ويتراوح قطر المستعمرة بين 1 و 4 سم، ذات سطح ناعم وحافة كاملة وذلك بعد 24 ساعة من الحضن وتختلف ألوان المستعمرات بين الأصفر والأبيض والذهبي وذلك حسب نوع المكورات بينما تظهر على شكل سلاسل قصيرة أو مزدوجة عند زرعها في المرق المغذي. المكورات أكثر مقاومة للحرارة والجفاف من معظم الأنواع البكتيرية، تموت معظم الأجناس عند درجة حرارة 60°م وتموت كلّها عند تعرّضها للمطهرات. يتواجد معظمها طبيعيا على مستوى الجلد و الأغشية المخاطية للإنسان، تكون مسؤولة عن العدوى الجلدية، الكلوية وإنتان الدم

(Singleton, 1999 ; Gounelle et Loraux, 1987) و من أهم أنواعها:

المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*: تعتبر أكثر المكورات العنقودية المكوّنة للصديد، غير متحرّكة، غير متجرثمة، مغلّفة أحيانا. تنمو على الأوساط الزراعية العادية مثل وسط الآجار المغذي في مدى حراري (10- 42)° م والوسط الانتقائي لها هو (Chapman ; NaCl 7.5 %). تظهر مستعمراتها باللون الذهبي عادة ولكن يتفاوت لون الصبغة بين البرتقالي والأبيض، يتراوح قطرها عادة بين (2- 3) ميكم يزداد بعد 48 ساعة، لها نسبة CG من 30 إلى 39 %. تعتبر جزء من الفلورا العادية للأفراد (Porteurs asymptômiques)، تتواجد بكثرة في الهواء، الماء والتربة وهي مكورات عنقودية ممرضة تفرز الـCoagulase ***(Avril, 92 ; Heart et shears, 1997)***

المكورات العنقودية الجلدية *Staphylococcus epidermis*: هي مكورات تعيش على جلد الإنسان والأغشية المخاطية ضمن الفلورة الطبيعية له وتعتبر غير ممرضة وتفرز إنزيم Coagulase.

المكورات العنقودية المترمّمة *Staphylococcus saprophyticus*: هي أيضا ضمن الفلورا الميكروبية لجلد الإنسان ومشابهة لصفات المكورات العنقودية الجلدية.

• **البكتيريا الزائفة *Pseudomonas*:** تشمل هذه المجموعة العديد من العصيات الهوائية وغير المتجرثمة وكل أنواع هذا الكائن متحركة إما عن طريق سوط واحد أو أكثر ما عدا الزائفة المطرقية *Pseudomonas mallei* التي تسبب مرض الرعام Glander وأهم الأنواع الممرضة للحيوانات أيضا توجد الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* التي تصاحب العديد من التقيحات وحالات التهاب الأمعاء، وهناك الزائفة المطرقية الكاذبة *Pseudomonas Pseudomallie* تسبب مرض شبيه الرعام Moliodosis. تتميّز البكتيريا الزائفة بشكلها العصوي طولها عادة 1,5 ميكرو متر وعرضها 0,5 ميكرو متر وقد تكون أحيانا أطول من ذلك، سالبة لصبغة غرام (-) Gram، متحركة بأسواط، تكوّن محافظ أو أبواغ. توجد طبيعيا في أمعاء الإنسان والحيوان، تعيش في حالة (Saprophyte) في المياه والتربة الرّطبة وعلى أسطح النباتات وتستطيع التعايش في الأنبوب الهضمي للإنسان ومختلف الحيوانات وتسبب حالات من الآفات التقيحية. تنمو على الأوساط الغذائية العادية عند درجة حرارة 37°م وفي مدى حراري واسع يتراوح بين (5- 43)°م و يلاحظ بأنّ أغلب أنواعها تفضل 30°م، تستطيع النمو على بيئات معدنية تركيبية بمصدر بسيط. تكون المستعمرات شبه شفافة محدّبة ولامعة تنتج صبغات (Pyocyanin) و الفلورسين لها خاصية مضادة للبكتيريا ***(Delarras, 2007 ; Avril, 1992).***

• **البكتيريا *Proteus*:** المتقلبات ذات شكل عصوي أبعادها في العادة (1- 3) ميكرو متر طولا و 0,5 ميكرومتر عرضا، تأخذ الشكل الكروي لظهورها بتعداد كبير في سلسلة خيوط قد يصل طولها إلى (10 أو 20) ميكرومتر، متحركة بأسواط محيطية ولا تحدث إنتاج جراثيم ومحافظ وتكون سالبة لصبغة غرام (-) Gram. المتقلبات هوائية ولا هوائية اختيارية ويمكنها النمو في مدى حراري في حدود (20 إلى 40)°م، مع إنتاج رائحة مميّزة، حيث تنمو على الأوساط الصلبة سريعا على شكل موجات "ظاهرة الإنثيال: Envahissement". تتعايش مع الإنسان والحيوانات في الأنبوب الهضمي وتوجد خاصة في الأمعاء وروث الحيوان، تتواجد في التربة ومجاري المياه السطحية والصرف الصحي ***(Delarras, 2007 ; Avril, 1992).***

• ***بكتيريا Klebseilla:*** عصيات سالبة لصبغة غرام (-) Gram، غالبا بيضاوية الشكل يتفاوت حجمها مابين (1- 3) ميكرومتر طولا و (0,5-1) ميكر ومتر عرضا، تعيش مترممة في المياه وفي أمعاء الحيوانات السليمة، غير متحركة، لا تنتج جراثيم لكنّها تنتج محافظ من مواد عديدة السكر لإنتاج مستعمرات مخاطية، توجد على هيئة عصيات منفردة أو ثنائيات تحيط بها عديدات السكريات المحفظية. تنمو على الأوساط الصلبة عند درجة حرارة 37°م على شكل مستعمرات مخاطية (شبيهة بمستعمرات *E. coli*) تأخذ اللّون القرنفلي على بيئـة الآجار نتيجة لتخمر اللاكتوز ***(Avril, 1992).***

• ***البكتيريا Bacillus:*** أنواع هذه المجموعة مترمّمة باستثناء العصية الجمرية *Bacillus anthracis* المسببة لمرض Anthrax، كل هذه الأنواع عصوية الشكل وموجبة لصبغة غرام (+) Gram، تكوّن أبواغا بعضها متحرك والبعض قادر على تكوين محافظ طولها يتراوح مابين (4- 8) ميكرو متر وعرضها ما بين (1,0- 1,5) ميكرو متر. تنمو بسهولة على الأوساط المخبرية العادية في الظروف الهوائية، كما تنمو أيضا في مناخ لاهوائي جزئيا، عند درجة حرارة تتراوح مابين (35 - 37) °م، تنمو كذلك في مدى حراري يمتد من (12 إلى 44)°م. تتبوغ هذه العصيات تحت الظروف الهوائية في حدود درجات حرارة ما بين (15- 20)°م، ويتم التبوّغ بصورة مثلى عند درجات حرارة (25- 30)°م ***(Tortora et al., 2003 ; Gueye, 2007).***

• ***فطر Candida albicans:*** يعتبر فطر *C. albicans* من أشهر وأهم أنواع جنس *Candida*، ترى بوضوح تحت المجهر على شكل بيضوي أو كروي أحياناً وتكون الخلية جوفاء. ينمو على بيئة Sabouraud و Gelose-sang، مستعمراته دائرية كبيرة ذات لون أبيض قشدي (Blanchâtre).

تتكاثر بالتبرعم وتكوّن سلسلة طويلة تكون على شكل مستعمرات، تظهر هذه المستعمرات بلون أبيض مائل للأصفر. تعيش في أنبوب الهضم ومستوى الجلد، تسبب عدوى مرضية Candidose والذي يكون أساسا على مستوي الأغشية المخاطية الهضمية والتناسلية ***(Bennett et Johnson 2003-2005).***

• **فطر الرشّاشية *Aspergillus:*** ينتشر الفطر في الطبيعة، ويعيش مترمّما على المواد العضوية غير الحيّة مثل الخضروات المتحلّلة والمحاليل السكرية والفواكه والمواد الذهنية. يضم هذا الجنس حوالي 185 نوع منها 20 نوع مرضي للإنسان ***(Smith, 1977).*** تقسّم الأنواع على أساس لون الرأس الكونيدي كأن يكون أبيض، أسود، أصفر، بني مصفر أو أخضر. ويكون الحامل الكونيدي في جميع الأنواع غير مقسّم وغير متفرّع، ينتهي بانتفاخ مستدير أو صولجاني الشكل تخرج منه نتوءات أو ذنيبات متشعبة على الرأس تعرف بالخلايا المولّدة للجراثيم.

أهم الأجناس الفطرية التابعة لهذا الجنس فطر *A. niger* يتميّز بجراثيمه ذات اللّون لذا يسمّى عادة فطر العفن الأسود، وهناك العديد من الأنواع الأخرى لهذا الجنس ملوثة للمنتجات الغذائية منتجة مواد سامّة (توكسينات)، بينما تنمو العديد من الأنواع الأخرى لهذا الفطر ملوّثة الجلود والملابس. ينمو في بيئات الزرع المألوفة عند PH= 5,5، مستعمراته تتراوح أقطارها من 4 إلى 5سم خلال 7 أيام من الزرع على بيئة Czapek عند 25°م، درجة حرارته المثلى للنمو (25-30)°م تمتد إلى غاية 48°م، المستعمرة تكون بيضاء ثم تصبح سوداء عندما تتجرثم ***(Parize, 2008)***.

فطر *A. flavus* واسع الانتشار ومحب للحرارة. يفضل المناطق الاستوائية، ينمو ضمن مجال حراري واسع يمتد من 10° م إلى 20° م درجة حرارته المثلى 33° م عند مجال أس هيدروجيني يتراوح من 3.4 إلى 10 مع PH=7,5 أمثل، زرعه على وسط M2 يعطي هيفات حبيبية خضراء مصفرة تميل إلى الأخضر الزيتي، مستعمراته كثيفة في الوسط بعكس محيطها ***(Samson et al., 2010)***.

1 - 4 – خصائصها البيوكيميائية:

تحدّد الخصائص البيوكيميائية للبكتيريا باختبارات عديدة ومختلفة تشمل عموما: اختبارات التخمّرات وتحديد منتجاتها الأيضية، مراقبة النمو على أوساط غذائية محدّدة، اختبار تكوينها للأنزيمات و تفاعلاتها المختلفة خصوصا الأكسدة-الاختزالية ***(Murray et al., 2003)***، مجمل الاختبارات الضرورية لتحديد بكتيريا *Enterobacteriacea* جمعت في أنابيب مصغّرة (Miniaturisés) في شريط **API 20E** (Galerie API 20E) بالإضافة لشريط Enterotubes II ***(Hayek et Willis, 1984 ; Smith et al., 1972)***. يلاحظ بأنّ هذه الأشرطة البيوكيميائية الأنزيمية ساعدت العديد من الباحثين نذكر منهم: ***(Gueye, 2007; Bakhoum, 2004 ; Dunière, 2012)*** على تحديد أهم الخصائص البيوكيميائية للسلالات البكتيرية المختلفة منها السلالات المستعملة قيد دراستنا المبيّنة في الجدول (رقم: 15) ذات خصائص محدّدة تجريبيا تمكننا من معرفة النّوع و تصنيفه بدقّة حسب توجيهات **(CLSI)**.

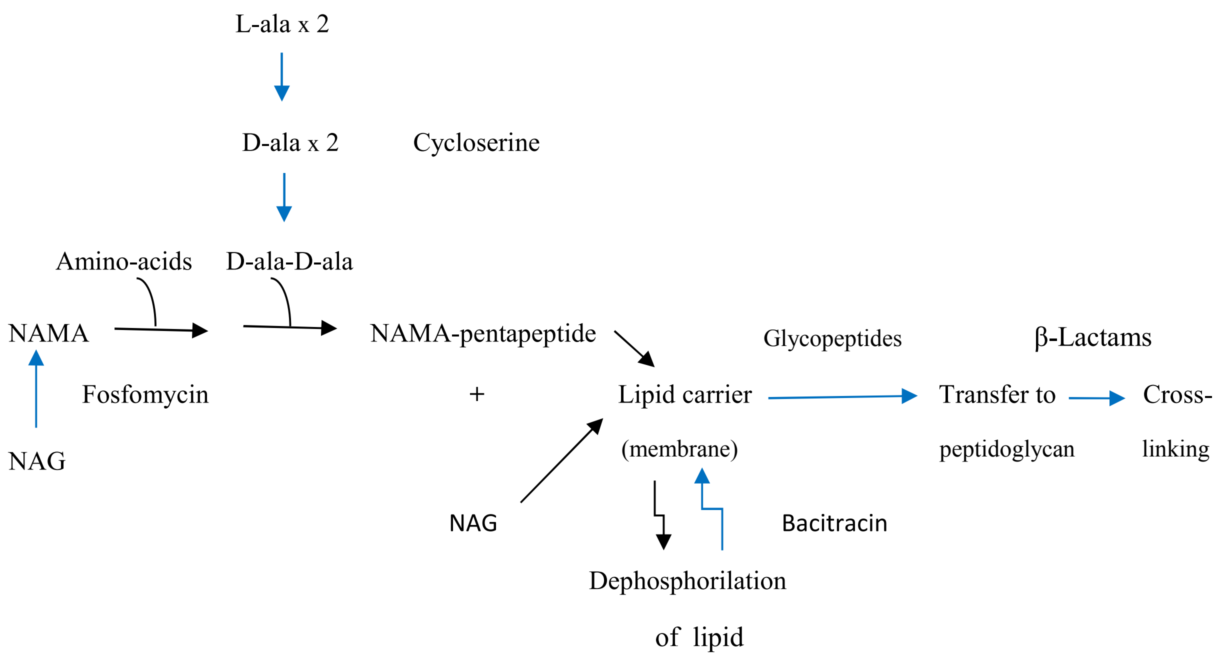
جدول (رقم: 15): أهم الخصائص البيوكيميائية للأنواع البكتيرية قيد الدّراسة

	E.coli	*Staphylococcus aureus*	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*	*p. vulgaris*
Lactose	+		+		
Glucose	+ ***gaz***$^+$		+	-	+
Mannitol	+		+		+
Sucre	±		+		
Citrate	-				
Dulcitol	±		±		
Tryptophane	+	-	-	-	
Uréase	-	+	+		
Mobilité	+		-		
H_2S	-		-	-	+
MR	+		-		
VP	-	+	+		-
PDA	-		-		
NO^-_3	+	+			+
ADH	±				
LDC	+			-	
ODC	+			±	-
Coagulase		+			
Catalase		+			
Oxydase		-		+	
Acétone		+			
Citrate de Simmons			+		+
TDA				-	+
Gélatine				+	
ONPG				-	-
Nitrate- réductase				+	
Urée				-	

2 – حساسية الكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة:

تؤثّر المضادات الميكروبية (Agents antimicrobiens) ذات المصادر المختلفة والبنى الكيميائية المتنوعة على الأنواع البكتيرية المرضية قيد الدّراسة (*Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Proteus vulgaris*، *Klebsiella pneumonia*، *Bacillus subtilis*، *Enterococcus faecalis*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidermidis*) و كذلك على الأنواع الفطرية (*Candida albicans*، *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus*) المسببة لعداوى فطرية (Mycoses) ***(Green wood et al., 2002)***.

2 – 1 – مضادات السلالات البكتيرية قيد الدّراسة: تؤثّر المضادات البكتيرية على السلالات المختبرة بآلية عمل (Mécanisme d'action) بيوكيميائية في مواقع محدّدة تسبب تأثرها وتحد من ضررها أو تقضي عليها دون أي تأثير على العضوية المصابة ويوضّح الشكل (رقم: 27) مواقع عمل مثبطات بناء مركب Peptidoglycane أساس بناء الجدر الخلوية للكائنات الدّقيقة الممرضة كما يبيّن الجدول (رقم: 16) طيف نشاط أهم أنواع مضادات البكتيريا علاجيا للكائنات قيد الدّراسة ***(Green wood et Ogilive, 2002)*** ; ***(Green wood, 2000)***.



NAG: N-acetylglucosamine **NAMA:** N-acetylmuramic acid

شكل (رقم: 27): مواقع عمل مثبطات بناء الجدار البكتيري ***(Green wood et Ogilive, 2002)***

جدول (رقم: 16): طيف نشاط أهم أنواع مضادات البكتيريا سريريا للكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة

(***Green wood et Ogilive, 2002***)

المضاد	مواقع العمل	طيف النشاط الذاتي المعتاد			
		Staphylococci	*Streptococci*	*Enterobacteria*	*Pseudomonas aeruginosa*
Penicillins	Cell wall	(+)	+	v	v
Cephalosporins	Cell wall	+	+	+	v
Other β-lactam agents	Cell wall	v	v	+	v
Glycopeptides	Cell wall	+	+	-	-
Tetracyclines	Ribosome	(+)	(+)	(+)	-
Chloramphenicol	Ribosome	+	+	+	-
Aminoglycosides	Ribosome	+	-	+	v
Macrolides	Ribosome	+	+	-	-
Lincosamides	Ribosome	+	+	-	-
Fusidic acid	Ribosome	+	+	-	-
Oxazolidinones	Ribosome	+	+	-	-
Streptogramins	Ribosome	+	+	-	-
Rifamycins	RNA synthesis	+	+	+	-
Sulphonamides	Folate metabolim	(+)	(+)	(+)	-
Diaminopyrimidines	Folate metabolim	+	+	(+)	-
Quinolones	DNA synthesis	v	v	+	v
Nitrofurans	DNA synthesis	-	-	+	-
Nitroimidazoles	DNA synthesis	-	-	-	-

(+): المقاومة مشتركة

2 – 2 – مضادات السلالات الفطرية قيد الدراسة:

توجد مجموعة متنوعة من العفنات الفطرية بالمقابل يتوفر فقط علاج عدد قليل نسبيا، وغالبا تعامل الالتهابات الفطرية السطحية من الجلد والأغشية المخاطية بالاستخدام الموضعي لـ Nystatin أو مشتقات الآزول (Clotrimazole، Miconazole وأEconazole) والعلاج عن طريق الفم باستخدام Griseofulvin أو Allylamine و تعالج عدوى الخمائر والفطريات الخطيرة بمركب Polyene و Amphotericin B (وهي سامّة)، والجدول (رقم: 17) يلخّص طيف نشاط مضادات الفطرين *(albicans* و*Aspergillus)* سريريا ***(Kucers et al., 1997)***.

جدول (رقم:17): طيف نشاط مضادات الفطريين *(Aspergillus و albicans)* سريريا

Agent	*Candida albicans*	*Aspergillus*
Amphotericin B	+	+
Flucytosine	+	-
Griseofulvin	-	-
Imidazoles	+	-
Nystatin[a]	+	-
Terbinafine	-	+[b]
Triazoles	+	(+)[c]

a: إستخدام موضعي فقط .
b: لم تثبت الفعالية السريرية حتى الآن.
c: ينشط المشتق *Itraconazole* بعكس *Fluconazole*

3 - النشاطية ضد ميكروبية:

3 - 1 - تقنيات دراسة النشاطية ضد ميكروبية:

الدّراسة المخبرية لحساسية كائنات دقيقة مرضية تسبب عدوي تجاه مستخلصات وزيوت أساسية نباتية ضرورية لمعرفة بشكل مفصّل نشاط المستخلصات و يمكن أن توجّه نظرا للصعوبات العملية الناتجة عن طبيعة العيّنات الفيزيوكيميائية: عدم انحلالها في الماء أو في مذيبات غير مؤثرة على السلالات المختبرة، تبخرها أو طيرانها (Volatilité) و ضرورة اختبارها بتراكيز ضعيفة. تختبر حاليا النشاطية ضد ميكروبية In vivo لمادة (Substance) بتقنية الـ Antibiogramme وبعديد من التقنيات الكلاسيكية في وسط صلب أو في وسط سائل، نذكر من بين مختلف تقنيات الوسط السائل: طريقة Sarbach وطريقة Maruzuella المذكورتين على الترتيب في المرجعين: **(Dorman et Deans, 2000)** و **(Banquour, 2000)** أما تقنيات الوسط الصلب هي: تقنية Antibioaromatogramme، طريقة Vincent وطريقة Morel-Rochaix حسب المرجعين:

(Dayal et Purohit, 1971) و **(Drugeon et al., 1991).** توجد كذلك تقنيات أوتوماتيكية نذكر منها أوّلا: تقنية الأوتوماتيكية السريعة (Antibiogramme automatisé rapide) تتم بأجهزة (AUTOBAC, COBAS-BACT, RAPID-ATB و VITEK) تعطينا النتائج خلال(3 إلى 6) ساعات مع تصنيف مباشر لحساسية السلالات بالاعتماد على قاعدة بيانات لقيّم التركيز الأدنى المثبط (CMI)، ثانيا التقنية الأوتوماتيكية (Antibiogramme automatisé) تتم بأجهزة (ABAC, API-ATB) تعطينا النتائج بقراءة طيفية بعد 24 ساعة مع تصنيف مباشر لحساسية السلالات **(Flandrois et al., 1986).**

تعتبر التقنيتين Antibiogramme و Antibioaromatogramme من أهم وأكثر التقنيات استعمالا على الترتيب لتقدير حساسية مختلف المستخلصات أو الزيوت الأساسية النباتية.

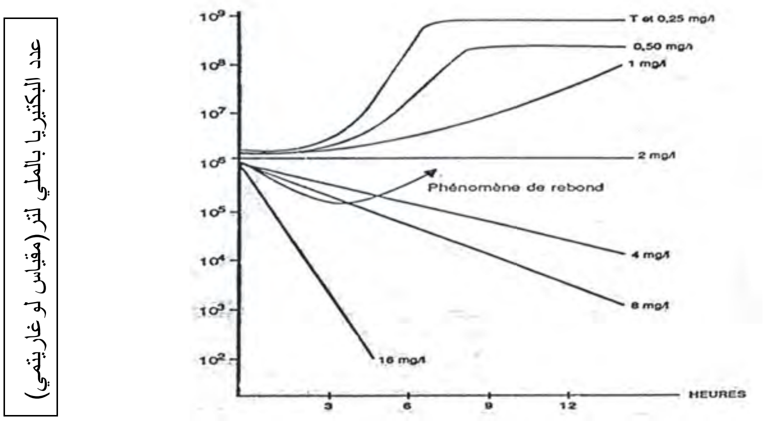
- **أ – تقنية الـ Antibiogramme:** عبارة عن تقنية In vitro تستعمل لمراقبة اختبارات حساسية الكائنات الدقيقة إزاء مضاد حيوي أو عدة مضادات حيوية معروفة أو مفترضة (مختلف المستخلصات أو الزيوت الأساسية النباتية)، مبدؤها هو هجرة العيّنة المختبرة بالانتشار على وسط جيلوزي، تعتبر آلية جيدة لمطابقة المستعمرات البكتيرية و تسمح باختيار أحسن مضاد حيوي و جمع عدة مضادات حيوية (تسمح بعلاج المريض بفعالية)، تعتمد على زرع البكتيريا في وجود العيّنات ثم القيام بملاحظة التطورات الطارئة على الكائن الدقيق.

- **ب- تقنية الـ Antibioaromatogramme:** شبيهة بتقنية الـ Antibiogramme تجرى لتقدير حساسية الزيوت الأساسية النباتية محدّدة النوع الكيميائي (HES. Chemotypées) *(Dayal et Purohit, 1971)*. تنجز مثل الـ Antibiogramme مع اختلاف بسيط في: تخفيف عيّنات الزيوت الذي يكون بمذيبات عضوية مثل: Ethylène glycol، Acétone و Ethanol 95 % و في وضع عيّنة الزيت باستعمال تجويف في الآجار بالإضافة إلى طبيعة و قطر ورق واطمان ***(Cornet, 1978) (Drugeon et al., 1991) ; .***

3 - 2 - تقييم النشاطية ضد ميكروبية:

يتم تقييم النشاطية ضد ميكروبية بدراسة تأثير المستخلصات أو الزيوت الأساسية النباتية للكائنات الدقيقة الممرضة و تحديد مدى حساسيتها (حساسة، متوسطة أو مقاومة) بتقييم قيم أقطار مناطق التثبيط، دراسة التأثير التثبيطي (Effet inhibitrice : Bactériostases) والتأثير القاتل (Effet bactéricide: Bactéricidie) وتقييمهما بحساب العاملين الأساسين: التركيز الأدنى المثبط (CMI: Concentration Minimale Inhibitrice) والتركيز الأدنى القاتل (CMB: Concentration Minimale Bactéricide).

3 - 2 - 1 - التأثير التثبيطي و التأثير القاتل: يعتمد تعريف التأثير التثبيطي والتأثير القاتل للمستخلص على العملية التجريبية بوضع على اتصال كل من البكتيريا و المستخلص ونتتبع مقاومة اللقاح البكتيري بدلالة الزمن فنلاحظ ظواهر تختلف باختلاف تراكيزه شكل (رقم: 28):



شكل (رقم: 28): تأثير مضاد حيوي معين على نمو اللقاح البكتيري

التراكيزالمنخفضة (0.5 إلي 2) ملغ/ل: نلاحظ انخفاض النمو البكتيري و يكون في كل لحظة عدد البكتيريا يساوي أو أكبر من العدد الابتدائي، إذن المضاد يقوم بتأثير تثبيطي (Bactériostatique) هذا التأثير يرجع أساسا إلى: بطء في سرعة الانقسام الخلوي للبكتيريا و نتيجة توازن بين النمو العادي والانحلال البكتيري.

التراكيز المرتفعة (4, 8 و16) ملغ/ل: نعاين بمرور الوقت اختزال عدد البكتيريا وذلك كلما زاد تركيز المضاد ويكون عندئذ تأثير قاتل (Bactéricide). أحيانا مفعول المضاد يكون جزئي، فبعد انخفاض ابتدائي في عدد البكتيريا نلاحظ عودة ارتفاع النمو البكتيري من جديد، هذه الظاهرة تدعى الارتداد (Rebond) نتيجة:

- عدم تجانس المجموعة البكتيرية جينيا،
- أوعدم استقرار المضاد (الموقع الفعال) مخبريا (in vitro)،
- أو تحتوي على إنزيم يؤمن لها مقاومة المضاد الحيوي *(Singleton, 1999).*

3 - 2 - 2 - التركيز الأدنى المثبط CMI: يعرّف على أنه التركيز الأدنى الذي يثبط تضاعف البكتيريا خلال 18 إلى 24 ساعة، تسمح هاته القيمة بمعرفة ما إذا كانت السلالة البكتيرية ضمن الفئة: الحساسة، المقاومة، أو متوسطة المقاومة لمفعول المضاد الميكروبي حيث تعتبر: **حسّاسة:** عندما يكون التركيز الأدنى المثبط CMI لها أقل من التركيز الدموي المتحصل عليه بعد منح الجرعة المستعملة في العلاج. **مقاومة:** عندما يكون التركيز الأدنى المثبط للمضاد الحيوي جد مرتفع من أجل الاستعمال في الحيوية دون استعمال جرعة سامة. **متوسطة المقاومة:** قيمة CMI واقعة بين القيمتين الحديتين. تحديد قيمة CMI لمضاد حيوي على سلالة بكتيرية يمكن أن يتحقق بطريقة التخفيف أو طريقة الانتشار للمضاد الحيوي وأن ينجز العملي في شروط قياسية: وسط الزرع Mueller-Hinton، لقاحة بكتيرية تساوي10^6 بكتيريا/ملل.

★ **طريقة التخفيف:** طريقة التخفيف مرجعية تطبق عمليا في وسط سائل أو صلب (Carbonnelles et al., 1987):

قياس CMI في وسط سائل: نقوم بتوزيع تراكيز متناقصة من المضاد الحيوي في سلسلة أنابيب المعقمة، والتي لها نفس الحجم ثم نضيف في كل أنبوب وبنفس المقدار المعلق البكتيري حيث يكون في المرحلة الأسية من النمو (Phase exponentielle)، يليه القيام بالتخفيف للحصول على تركيز نهائي يقارب 10^6 بكتيريا/ملل (اللّقاح الميكروبي غير مرئي بالعين المجردة). تحدد قيمة CMI للمضاد الحيوي على السلالة المدروسة كأقل تركيز مثبط بعد 18- 24 ساعة من الاتصال عند 37°م، يلاحظ بأنّ الأنبوب غير العكر لا يكون فيه أي نمو بكتيري و كل نمو بكتيري يكون مرئي (تعكر الوسط).

قياس CMI في وسط صلب: مبدأ التقنية في وسط صلب يكون مطابق لما سبق، حيث المضاد الحيوي في هذه الحالة يدمج في الوسط الصلب المحتوي على الجيلوز. هدف هذه التقنية هو إمكانية دراسة أكبر عدد ممكن من السلالات البكتيرية. عمليا لا يتم استعمال هاتين التقنيتين في التحديد الروتيني لنشاط عدد كبير من المضادات الحيوية على سلالة بكتيرية، ويفضل اللجوء إلى طريقة الانتشار (Diffusion).

★ **طريقة الانتشار:** تسمى كذلك طريقة الأقراص، تعتمد على وضع أقراص مشبعة بالمادة الفعالة على سطح وسط جيلوزي قياسي Mueller-Hinton يزرع مسبقا بطريقة Inondation بالمعلق البكتيري (10^6/ملل) وهو في المرحلة الأسية للنمو. تنتشر المادة الفعالة من الأقراص عبر الجيلوز حيث يقّل التركيز كلما ابتعدنا عن مركز القرص (تدرج متناقص). بعد 18 ساعة من الحضن عند 37°م نلاحظ أن كل قرص يحاط بمنطقة تثبيط للنمو البكتيري حيث يتوقف تضاعف الكائنات الدقيقة بوجود تركيز أكبر أو يساوي (CMI).

3 - 2 - 3 - التركيز الأدنى القاتل CMB: يعرّف CMB كأقل تركيز للمادة الفعالة قادرة على قتل 99,99 % من مجموعة بكتيرية بعد 18 ساعة من الاتصال عند 37°م. تحدد قيمتها بطريقة التخفيف للمضاد الحيوي، أساسا في وسط سائل يشبه ذلك المستعمل لأجل قياس CMI ومن الضروري تعداد البكتيريا قبل وبعد الاتصال مع المضاد الحيوي. لا يظهر نمو بالعين المجردة في كل الأنابيب (يفترض إذن موت أو بقاء البكتيريا حية) و لتحديد قيمة CMB نقوم بتعداد البكتيريا في كل أنبوب بأخذ 0.1 مل من السائل من كل أنبوب ويزرع على سطح طبق جيلوزي مغذي، و بعد 18 ساعة من الحضن عند 37°م نحسب المستعمرات الظاهرة في كل طبق ونقارنها مع اللقاح البكتيري الابتدائي (100%) (Carbonnelles et al., 1987).

4 – النشاطية ضد ميكروبية للنجميـات:

يستخدم العلاج بالنباتات (النبتة كاملة أو الجزء الهوائي أو جزء محدّد من النبتة) في الطب الشعبي التقليدي كما تستعمل أحيانا (زيوت أساسية أو مستخلصات النبتة أو مستخلصات جزء من النبتة) لدى العديد من شعوب العالم كعلاج بديل للعديد من الأمراض والعفنات (البكتيرية و/أو الفطرية) كما استعملت أيضا كعوامل حافظة للأغذية من التأثيرات السّامة للمؤكسدات، هذه التأثيرات العلاجية والحافظة للمواد الغذائية توحي بوجود مكوّنات فعّالة مضادة للأكسدة ومضادة للكائنات الدّقيقة الممرضة *(Zaidi and Crow, 2005)*، *(ديوك، 2003)* و *(بالتش، 2006)*.

4 – 1 – النشاطية ضد ميكروبية للمستخلصات:

بيّنت العديد من المراجع العالمية النشاطية ضد ميكروبية لنباتات طبية تقليدية منها النجميات تتواجد في مناطق عديدة موزّعة عبر مختلف القارّات مبيّنة في الجدول (رقم: 18)، هذه الدّراسات العلمية تحدّد النشاطية ضد بكتيرية و/أو ضد فطرية.

جدول (رقم: 18): دراسات النشاطية ضد ميكروبية للعائلة النجمية في مختلف المناطق

مناطق تواجد النباتات	نوع النشاطية ضد ميكروبية المدروسة	المراجع
إفريقيا: - المغرب	ب	*(Larshini et al., 2001)*
- أوغندا	م	*(Hamil et al., 2003)*
- غانا	م	*(Konning et al., 2004)*
- تانزانيا	ب- ف	*(Boer et al., 2005)*
- إفريقيا جنوب	ب- ف	*(Buwa & Van Staden , 2006)*
أوروبا: - إيطاليا	ب	*(Izzo et al., 1995)*
- أستكلندا	ب	*(Kumarasamy et al., 2002)*
- المملكة المتحدة جزيرة إسلندة	ب	*(Mothana & Lindequist., 2005)*
آسيا: - السعودية	م	*(Khatibi et al., 1989)*
"	ب	*(Salamah et al., 1989)*
- الهند	ب	*(Valsaraj et aj., 1997*
- فمسطين	ب	*(Ali-Shtayeh et al., 1998)*
"	ب	*(Essawi & Srour 2000)*
- اليمن	ب	*(Awadh Ali & al., 2001)*
- ماليزيا	م	*(Wiart et al., 2004)*
- تركيا	م	*(Dugler & Gonuz 2004*
- لبنان	م	*(Barbour et al., 2004)*
أمريكا الجنوبية: - الأرجنتين	م	*(Feresin et al., 2000)*
- كلومبيا	م	*(Lopez et al., 2001)*
- البيرو	ب	*(Neto et al., 2002)*
- البرازيل	م	*(De souza et al., 2004*
أمريكا الشمالية: جنوب غرب تكساس	ب	*(Romero et al., 2005)*
أستراليا	ب	*(Plaombo & Semple, 2001)*

(م): نشاطية ضد ميكروبية. *(ب):* نشاطية ضد بكتيرية. *(ف):* نشاطية ضد فطرية.

بيّنت دراسات سابقة نشاطية ضد بكتيرية لخلاصات كحولية لنباتات نجمية: *Inula viscosa* و *Phangnaton rupestre* **(Ali shtayeh et al., 1998)** و **(Essawi et Srour, 2000)** و تثبيط قوي للنبتتين: *Achillea millefulium* و *Motriria chamomilla* لبكتيريا *Staphylococcus aureus* من بين 10 نباتات فعّالة من مجموع 23 دواء عشبي شائع الاستعمال في جنوب غرب تكساس **(Romero et al., 2005)**، بالإضافة للنوعين: *Achillea millefolium sub sp. millefolium Afan* **(Candan et al., 2003)** و *Achillea biebersteini Afan* **(Sokman et al., 2004)**.

سجلت نشاطيات ضد بكتيرية أخرى لخلاصات كحولية للأجزاء الهوائية لنبتة: *Tussilago farfara L.* **(Kokoska et al., 2002)** كذلك أجزاء هوائية وجذور النّوع: *Arctium lapa L.* ضد بكتيريات *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* **(Sokman et al., 2004)** و أوراق و أزهار النبتة *Acanthospemum hispidum* **(Fleisher et al., 2001)**.

دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لنباتات مستعملة في الطب الشعبي في تركيا أثبتت بأنّ خلاصات الإيثر البترولي كانت قوية وخاصة نبتة *Senecio vulgaris* **(Uzun et al., 2004)** كما أظهرت خلاصات الإيثيل أسيتات، الميثانول و الماء لنباتات مختلف العائلات منها المركبة *Helichrysum italicum* نشاطية ضد فطرية **(Boer et al., 2005)** و **(Nostro et al., 2000)** كذلك خلاصات الكلوروفورم والإيثانول وإيثيل أسيتات لأوراق وأزهار وسيقان نبتة *Cynara scolymus L.* **(Zhu et al., 2005)**.

4 – 2 – النشاطية ضد ميكروبية للزيوت الأساسية:

تملك الزيوت الأساسية نشاطية ضد ميكروبية نتيجة كونها خليط معقّد مكوّن من العديد من المركبات الكيميائية تصل أحيانا إلى 300 مركب، تعتمد خصوصا على مركباتها الطّيارة الرئيسية، تؤثر على البكتيريا بمنع: تكاثرها، تجرثمها وتركيب سمومها، كما تعمل على تثبيط نمو الكتلة - الخلوية وإنتاج الـ Pseudo-mycelium للخمائر وعند الفطريات لوحظ تثبيط: نمو الجراثيم، استطالة الميسيليوم وإنتاج سمومها. يفترض بأن للزيوت الأساسية آلية عمل متعددة المواقع على مستوى الخلية وذلك اعتمادا على تأثيرها السام متعدد المواقع مثل: تذبذب غشائها السيتوبلازمي، تذبذب القوة المحركة للبروتون، تسرب الإلكترون وتخثر المحتوى ألبروتيني للخلية مما يؤدي إلى موتها **(Davidson, 1997)** ؛ **(Carson et al., 2002)** و **(Lahlou, 2004)**.

تؤثر محتويات الزيوت الأساسية: الكحولات الأوّلية، المركبات الفينولية، الألدهيدات العطرية و الأحماض العضوية لنباتات النجميات على كل من البكتيريا و الفطريات نشاطية ضد فطرية ذات آلية عمل ترتبط بنوع و خصائص المركبات الفعّالة:

الخصائص الطاردة للماء (Propriétés hydrophobes): تسمح ببقائها داخل الطبقة المزدوجة للغشاء الخلوي مما يؤدي إلى تغيير تشكل الغشاء، تذبذب الأسموزية–الكيميائية وتسرب أيونات (K^+) هذه الآلية تؤثر على البكتيريا موجبة الغرام *(Staphylococcus aureus)* و البكتيريا سالبة الغرام *Esherichia coli* و الخميرة *Candida albicans*[*] : ***(Marino et al., 2001 ; Cox et al., 2000 & Davidson, 1997)***.

إعادة تنشيط الوظيفة الألدهيدية (Réactivité)**:** تتم بتكوين معقّد ما بين عاطي الإلكترون والألدهيد ممّا يؤدي إلى تغيير الحالة الأيّونية للغشاء يترجم بعدم اتزان التبادل مع الوسط الخارجـ مؤديـا لمـوت بعـض الخلايـا الفطريـة ***(Kurita et al., 1979)***.

اختلال الغشاء الخلوي: يختل الغشاء الخلوي بالفينولات التي تتداخل مع بروتيناته ***(Knobloch et al., 1989)***.

إزالة مجموعة الكربوكسيل: لوحظ كذلك تثبيط بإزالة كربوكسيلات للأحماض الأمنية لسلالات *Enterobacter aecrogènes* ***(Wendakoom et Sakaguchi, 1995)***.

يؤثر المركبين Eugenol و Geraniol على الغشاء البلازمي حيث يؤثر الـ Eugenol على كل من *Candida albicans*[*] و *Crytococcus neoformans* و الـ Geraniol على سلالات الـ *Gandida* و *Saccharomyces* ***(Boônchrid et Flegel, 1982)*** و ***(Bard et al., 1998)*** و تأثير الفلافونات على *Staphylococcus aureus* ***(Tsuchiya et al., 1996)***.

سجلت نشاطية ضد ميكروبية للعديد من النجميات: لمستخلصات فلافونويدية وتربينات ثنائية لنبتة

Chilean pseudognaphalium ***(Mendoza et al., 1997)*** و *Artemisia campestris* ***(Tharib et al., 1983)***

و للزيوت الأساسية المستخلصة من الأنواع النجمية *Achellea Sefacea* و *Achellea teretifolia*

(Candan et al., 2003) و *Achellea millefolium sub sp. millefolium Afan* و

Achellea biebersteini ***(Sokman et al., 2004)***، بالإضافة إلى التربينات تعبر المركبات الفعّالة الأكثر أهمية بحيث تكون التربينات الأحادية و السيسكونتربينات الجزء الأكبر من الزيت.

الجزء العملي

الطرق الوسائل

1 - النباتات المستعملة:

استعملت أربعة نباتات مختلفة من النجميات هي: *Chrysanthemum macrocarpum* ،*Ormenis africana*، *Chrysanthemum reboudianum* ،*Chrysanthemum fuscatum* *بالإضافة إلى* (عمل خاص بالنشرية الثانية: *J. Microbiol. Biotech. Res., 2012, 2 (5). ; 736-740*) لعيّنتين أخرتين من النجميات هما: *Launaea glomerata* و *Cynara cardinculus*، يرمز للعيّنات على الترتيب بما يلي: *(Oa*، *Cm*، *Cr*، *Cf*، *Lg* و*Cc*).

العيّنات قطفت في مرحلة الإزهار من مناطق مختلفة كل واحدة على حدى وفي أزمنة مختلفة و متتالية: العيّنة *Oa* من منطقة قسنطينة (ماي: 2008) العيّنات *Cm*، *Cr* و *Cf* من منطقة الواد بجنوب شرق الجزائر(أفريل: 2009/2007)، العيّنتين (Lg و Cc) جمعت على التوالي من منطقة الواد و من ولاية ميلة (شرق الجزائر) و قد تم تحديد العيّنات من قبل **الدكتور حليس** بمحطة البيوفيزياء بالمركز التقني لأبحاث المناطق الجافة (CRSTRA) تقرت – الجزائر-، تعرفنا على هذه العيّنات النباتية اعتمادا على المراجع التصنيفية و مقارنتها مع العيّنات المعرّفة سابقا و المودعة بقسم الكيمياء - كلية العلوم الدقيقة - تحت رقم (16: ZA، 129: ZA، 18: ZA بمساعدة: **الأستاذ الدكتور عمار زلاقي** (جامعة الإخوة منتوري – قسنطينة -). قمنا بتنقيتها من الشوائب و فرزها ثم جمعنا الأجزاء المختلفة (الجزء الهوائي أو الأزهار) حسب الدّراسة المرغوبة بعد ذلك جفّفت ثم حفظناها لحين استعمالها.

2 - الكشف عن نواتج الأيض الثانوي:

يتم الكشف عن نواتج الأيض الثانوي للنباتات: *Ormenis africana, Chrysanthemum macrocarpum, Chrysanthemum reboudianum, , Chrysanthemum fuscatum, Cynara cardinculus, Launaea glomerata*

باستخلاص مستمر لـ 30غ من المادة النباتية المجفّفة بالإثير- البترولي بواسطة Soxhlet ثم نجمع القطفات و نرشحها بعد ذلك تركّز إلى حجم 40 مل. المادة النباتية الجّافة المتبقية تستخلص بالميتانول لمدة 20 دقيقة ثلاثة مرات متتالية. يستخلص كذلك بقايا المادة النباتية الجافة بالماء الدافئ لمدة 20 دقيقة. عمليا نستعمل مختلف الطرق الموضحّة في المرجع ***(Ciulel, 1983)***:

2 - أ - الكشف عن الزيوت الأساسية: بعد التبخير التام لبقايا المستخلص يكون الناتج ذو رائحة و متميّزة تعتبر مؤشر مهم على وجود الزيوت الأساسية.

2 - ب - الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرولات: يتم بتفاعل **Liebermann-Burchard** بحل بقايا من مستخلص الإيثير في 0.5 مل من حمض الخل اللامائي (acide acétique anhydre) و0.5 مل من الكلوروفورم ($CHCl_3$)، في أنبوب إختبار ثم نضيف له (1 مل كقطرات) من حمض الكبريت المركز (H_2SO_4). نلاحظ ظهور حلقة تفصل الطبقتين العضوية والمائية ذات لون أحمر بني أو بنفسجي تؤول إلى أزرق ثم إلى أخضر دليل على وجود التربينات الثلاثية و/أو الستيرولات.

2 - ج - الكشف عن الكارتينوويدات: يتم بتفاعل Carprices بتبخير مستخلص الإيثير البترولي حتى الجفاف مع ثلاثة قطرات من محلول مشبع بثلاثي كلوريد الأنتيموان في الكلوروفورم. تظهر أصباغ تكون أوّلا زرقاء تتحوّل لاحقا إلى حمراء تدل على وجود الكارتينوويدات.

2 - د – الكشف عن الأحماض الدهنية: يستخرج محلول مائي قلوي باستفاضة مع الإيثير و يحمّض بإضافة HCl (3- 4) =PH يصبح برّاق (Opalescent). الأحماض الدهنية تستخلص بواسطة Diethyl ether ثم تبخر. إذا كانت البقايا دهون و/أو أحماض دهنية موجودة.

2 - ه – الكشف عن الفلافونات اللاّ سكرية: يتم بتفاعل Shibata بحل بقايا مستخلص الإيثير البترولي في 2 مل من الميثانول عند 50° م ثم نضيف قطع من المغنيزيوم و 5 قطرات من محلول HCl المركّز. ظهور اللّون الأحمر أو البرتقالي يدّل على وجود الفلافونات اللاّ سكرية.

2 - و – الكشف عن الإيمودول (Emodols): يتم بتفاعل Bortrager و ذلك بإضافة 1 مل من *(% 25* NH_4OH) لمستخلص الإيثير. ظهوراللّون الأحمر يدّل على وجود مركبات:

(Emodoles = Anthracenoside aglycone)

2 - ز – الكشف عن الكومارينات: تحل بقايا مستخلص الإيثير أو الكحول بعد تبخيريها في الماء السّاخن، بعد التبريد نقسم المحلول الناتج إلى قسمين في أنبوبين اختبار:

- الأنبوب الأول: يعتبر المرجع.

- الأنبوب الثاني: نضيف له 0.5 مل من محلول الأمونيا (NH_4OH ; 10 %) ليصبح قاعدي.

نعرّض الأنبوبين للأشعة فوق البنفسجية (UV)، ملاحظة شدة إشعاع اللّون الأزرق أقوى في إحدى الأنبوبين بعد تأثيره بالإشعاعات الفوق بنفسجية دليل على وجود الكومارينات .

2 - ح – الكشف عن العفصيات: نخفّف1 مل من المستخلص المائي بإضافة 2 مل من الماء المقطر الساخن ثم نضيف 3 قطرات من كلوريد الحديد ($FeCl_3$):

- ظهور لون أزرق مسود دليل على وجود (Tannins galliques).

- ظهور لون أسود مخضر دليل على وجود (Tannins catéchiques).

2 - ط - الكشف عن المركبات المرجعة: يضاف 1 مل من محلول فهلنك للمستخلص الكحولي ثم نسخّن الخليط. ظهور الرّاسب الأحمر الآجوري يدل على وجود المركبات المرجعة.

2 - ي - الكشف عن مركبات Anthracenosides: تتم في المستخلص الكحولي أنظر طريقة تفاعل **ether** **(Bortrager ; extract)**

2 - ك - الكشف عن مركبات Anthocyanosides: يحمّض المستخلص الكحولي، المحلول الحمضي يصبح أحمر عند $pH = 7.0$ و لم يتغيّر اللّون الأخضر أو البنفسجي في الوسط القاعدي يدّل على وجود Anthocyanines.

2- ل - الكشف عن مركبات Polyuronides: نكشف عن كل من البكتين، هلام النبات والصمغ (Polyuronides)

بإضافة 2 مل من المستخلص في أنبوبة إختبار تحتوي على 10 مل من الآسيتون، ظهور راسب يدل على وجود مركبات Polyuronides.

2 - م – الكشف عن الكربوهيدرات: تضاف 3 أو 4 قطرات من محلول كحولي مشبع بمركب Thymol (كاشف **Molish**) ظهور اللّون الأحمر يدل على وجود (السكريات و/أو السكريات العديدة).

2 – ن - الكشف عن الفلافونويدات: نأخذ 10 مل من المستخلص الهيدروكحولي، نقوم بتبخيره حتى الجفاف ثم نضيف 2 مل من الميثانول الساخن و بعض قطع المغنيزيوم المعدني و (4 - 5) قطرات من HCl المركّز. ظهور اللون الأحمر أو البرتقالي ذلك دليل على وجود الفلافونويدات.

2 - س - الكشف عن القلويدات: نأخذ 50 مل من المستخلص الهيدروكحولي، يبخرليصل 5 مل، ثم نضيف 8 مل من (HCl 10 %)، نتركه يبرد ثم نضيف 0.5 غ من Na_2CO_3، بعد ذلك نقوم بترشيحه وتنقيته بواسطة 2 مل (HCl 10 %)، بعدها نأخذ 3 مل من المحلول المرشح الناتج ونضيف له بعض القطرات من كاشف **(Dragendorf)**، ظهور راسب أبيض دليل على وجود القلويدات.

2 - ع - الكشف عن الصابونينات: نأخذ 2 مل من المحلول الهيدروكحولي، نضعه في أنبوب اختبار و نسده، ثم نقوم برجه لبضع دقائق حوالي 15 د. ظهور رغوة تستمر لبضع دقائق في المحلول دليل على وجود الصابونينات.

3 - تحليل GC/MS للزيوت الأساسية:

3 – 1 - إستخلاص الزيوت الأساسية بطريقة (Hydrodistillation): تم إخضاع 200 غ لكل عينة (*Oa*، *Cr* و *Cf*) على حدى والتي جمعت في أزمنة مختلفة لعملية التقطير المكثف Hydrodistillation بجهاز Clevenger لمدة ثلاثة ساعات متتالية. تبرد الأبخرة المشبعة بالزيوت الأساسية بمرورها عبر حلزون التبريد فتتكاثف ثم تتسكب القطرات في قمع الفصل حيث ينفصل الماء عن الزيت نظرا لاختلاف كثافتهما. نستعمل حوالي10 مل من (diéthylique Ether)إيثيل الإيثر كمذيب جامع. تم تبخيره باستعمال كبريتات الصوديوم اللامائية لتشرب الماء، بعد ذلك تحفظ الزيوت الأساسية في أنابيب زجاجية نظيفة، مغلقة بإحكام ومحمية من الضوء عند 20°م لحين تحليلها.

3 – 2 – حساب المردود: يحسب المردود (Rd) وهو النسبة المئوية (%) بين وزن الزيت المستخلص (PH_{ES}) و وزن المادة النباتية المعالجة (PP) ويكون الوزن مقدّرا بالغرام (g) بالعلاقة الآتية:

$$Rd = (PH_{ES} / PP) \times 100\ \%$$

3 – 3 – تحليل مكوّنات الزيوت المستخلصة: تم تحليل الزيوت الأساسية لمختلف العينات بواسطة التحليل الكروماتوغرافي الطور الغازي الموصولة بطيف الكتلة (Gas Chromatography-Mass Spectrometry: GC/MS).

العينة (*Oa*): تم تحليلها باستعمال جهاز: (Shimadzu gas chromatography model GC-171) موصول بمطياف (Shimadzu mass spectroscapy model QP5050)، مجهز بالسيليكا الشعرية المنصهرة (DBX-5) طول العمود 30 متر قطره الداخلي 0.25 مم وسمك الفيلم 0.25 ميكرومتر ، كانت ظروف التشغيل كما يلي:

تدفق غاز الهيليوم He للحامل 1.6 مل/د، ضغط العمود 100 كباسكال. درجات حرارة الحاقن والكاشف 220°م و 250°م على الترتيب. درجة حرارة العمود تصل إلى 60°م لمدة 1 دقيقة ثم ترفع بمقدار10°م/د من 60°م إلى 200°م وتحجز 5 دقائق ثم ترفع من 200°م إلى 240°م وتحجز لمدة 6 دقائق. تم تشغيل البرنامج مع وضع مجموعة كتلة (50- 400) وحدة، ومجال فحص0.5 ثا. تم تعيين كاشف الجهد عند 1.5 كفولط.

العيّنتين (*Cr* و *Cf*): تم تحليلهما باستعمال جهاز Perkin Elmer mass spectrometer مجهز بالسيليكا الشعرية المنصهرة BPX-20 طول العمود 30م قطره الداخلي 0.25 مم وسمك الفيلم 0.25 ميكرومتر، كانت ظروف التشغيل كما يلي: تدفق غاز الهيليوم He للحامل 1.3 مل/د. درجات حرارة الحاقن والكاشف 220°م و 290°م على الترتيب. درجة حرارة العمود تصل إلى 50°م لمدة 1 دقيقة ثم ترفع بمقدار 5°م/د من 50°م إلى 120°م وتحجز 5 دقائق ثم ترفع من 120°م إلى 240°م وتحجز لمدة 10 دقائق. تم تعيين كاشف الجهد عند 70 إلكترون فولط.

3 – 4 - تحديد مكوّنات الزيوت: تحقق تحديد مكوّنات الزيت الأساسي اعتمادا على مؤشرات الاستبقاء (RI)، تحدد بمراجع بالقياس لسلسلة المتماثلات من الألكانات العادية والمقارنة بين أنماط التجزئة الطيفية مع التي ذكرت في البيبليوغرافيا والمخزنة في قاعدة البيانات المرجعية ***(WILLEY & NIST database)***. حساب تركيز المركبات المحدد من المساحة الإجمالية للذروة بدون أي معامل التصحيح ***(Adams, 2001 & Demirtas et Sahim, 2013)***

4 – الاستخلاص والتنقية:

4 – 1 – عمليات الاستخلاص:

نقعت 1100غ من العيّنة *Oa* المطحونة جيّدا في خليط من الميثانول و الماء (70:30) ثم تركت لمدّة 24 ساعة، يرشح المحلول للحصول على الراشح الهيدروكحولي و الرّشاحة تنقع من جديد في 2000 مل من الخليط (- $MeOH$ H_2O) أربعة مرّات متتالية مع تجديد المذيب في كل مرّة، بعدها يتم التبخير تحت ضغط منخفض ثم تجمع المركزات الهيدروكحولية ويضاف لها حوالي 1200 مل من الماء المقطّر المغلي وتترك ليلة كاملة في مكان بارد ثم ترشح للتخلص من الأتربة والشوائب.

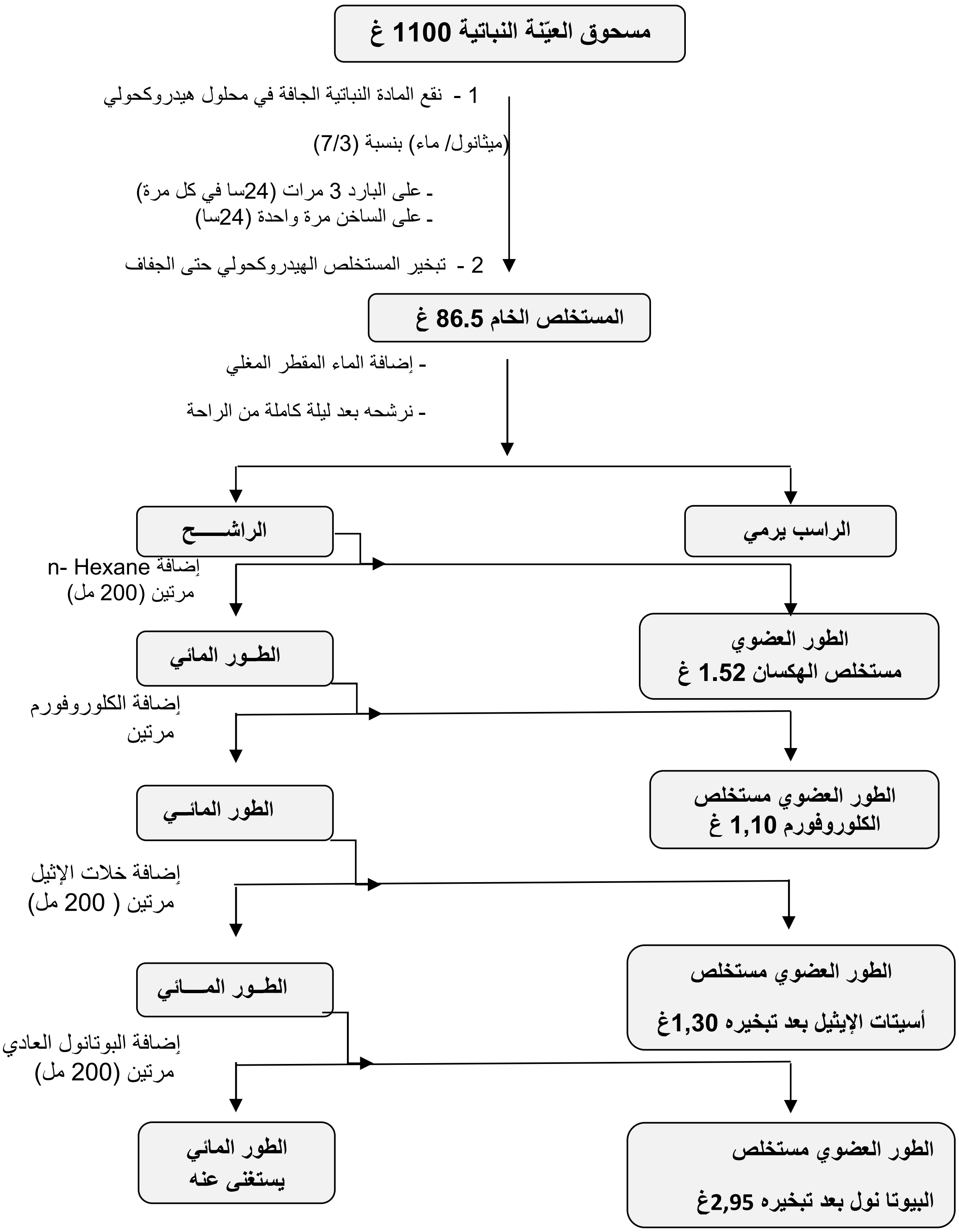
الرّاشح المتحصل عليه 86.5 غ يستخلص بكروماتوغرافيا (سائل-سائل) في قمع فصل مستعملين على التوالي المذيبات العضوية : الهكسان، كلوروفورم، أسيتات الإيثيل و البيوتانول والمخطط الموضح بالشكل رقم (29): يلخص خطوات الاستخلاص المنجزة.

كما تم نقع 500 غ من المسحوق الجاف لنبتة *Ormenis africana* في خليط من الميثانول و ثنائي كلور الميثان($MeOH : CH_2Cl_2$) بنسبة (1 : 1) لمدّة ثلاثة أيام متتالية، بعد ذلك تمّ الترشيح و التبخير تحت ضغط منخفض بهدف الحصول على مستخلص خام (حيث كانت النتيجة مقدّرة بـ 40 غ).

4 – 2 – الفصل والتنقية:

تم تحضير عيّنة كروماتوغرافية بإذابة 40غ من المستخلص الخام المتحصل عليه بالميثانول وإضافة قليل من مسحوق جال السيليس، بعد ذلك حضنت عند 40° م لغاية تبخيرها. بعد ذلك تمّ إخضاع العيّنة إلى عمود كروماتوغرافي يحتوي دعامة جال السيليس و التمليص بنظام (n-Hexane- CH_2Cl_2) المتدرج في القطبية [n-Hexane 100 %، CH_2Cl_2 n-Hexane : (75: 25) %، n-Hexane : CH_2Cl_2 (50: 50) % .....] أدّى إلى ظهور مركب أبيض ناصع في الكسور الناتجة من التمليص بنسب (50: 50)% و (25: 25)% فتم جمعها وتبخيرها وإخضاعها إلى عمود كروماتوغرافي (3 x 100) سم يحتوي جال السيليس (Silica gel 60) مكّننا من فصل وتنقية المركب B-Sitosterol كميته ($m = 47mg$) الذي تبيّنت بنيته بعد التحليل الطيفي.

تمّ إجراء اختبارات كروماتوغرافية تحليلية باستعمال كل من ورق (Whatman n°3) بجمل مملصات (B.A.W و 15% AcOH) بالإضافة إلى كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM (GF 254) في جمل مملّصات عديدة للمستخلصات: الهكسانية، الكلوروفورمية، الأسيتات الإيثيلينية و البيثانولية.

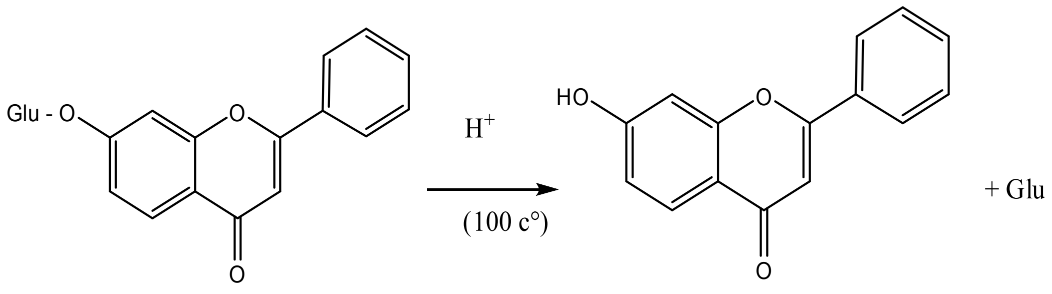


شكل (رقم: 29): خطوات استخلاص الفلافونويدات

أظهرت أنّ طور آسيتات الإيثيل يحتوي بقع لونها بنفسجية و أخرى بنفسجية-سوداء (Dark-purple)، لذلك تم إخضاعه إلى عمود كروماتوغرافي (90 x 10) سم من جال السيليس (230-240 mesh ASTM Merck, 40-63µm) كدعامة ثابتة واستعمال مملص (MeOH) : CH_2Cl_2 بتدرج في القطبية، تتابع الحزم باستعمال مصباح UV وتجمع القطفات في إرلينات 100 مل ثم تركّز تحت ضغط منخفض، نتابع تحليل CCM للكسور لتساعدنا على جمع المتشابهة منها وعلى تغيير قطبية المملص. أخضعنا كسرين مختارين إلى عملية فصل على ألواح زجاجية محضرة من السيليكا جال GF 254 و المملّص كان (AcOEt : MeOH : H_2O) (6 : 5 : 30) حيث استطعنا فصل ثم تنقية المركبين: QG و L.

4 – 3 – الإماهة الحمضية:

يتم تمييه المركبات الغليكوزيدية المفصولة بالإماهة الحمضية لمعرفة طبيعة السكر المرتبط و تمييز نوع ارتباطه إذا كان (O-glycosyl) أو (C-glycosyl) بسبب أن الرابطة من النوع الثاني مقاومة للتحليل الحمضي ***(Markham, 1982)*** يوضح التفاعل بالشكل (رقم: 30) و ينجز العملي بالطريقة الآتية:



الشكل (رقم: 30): التمييه الحمضي للمركبات الجليكوزيدية

نذيب كمية قليلة من الغليكوزيد في أنبوب اختبار و نضيف 2 ملل من (HCl , 4N) ثم نسخن الخليط في حمام مائي حتى الغليان 100°م لمدة ساعة، بعد ذلك يستخرج الأنبوب و يترك ليبرد.

بعد التبريد يضاف للأنبوب 2 ملل من ثنائي إيثيل الإيثر (EtOEt) و يرّج جيّدا، ثم يترك ليهدأ حتى ظهور خط الفصل بين الطورين المائي والعضوي، بعد ذلك تفصل الطبقة العضوية (تكرر العملية مرتين)، ثم تكرر مرتين مع 2 ملل خلات الإثيل (AcOEt) و آخرتين مع 2 ملل البوتانول العادي (n – Butanol) و في كل مرّة تفصل الطبقة العضوية عن المائية و تجمع كل على حدة و يتم تجفيفها لنحصل في النهاية على الأجليكون.

A- قراءة النتيجة: عموما الطبقة العضوية لثنائي إيثيل الإيثر هي التي تحتوي على الأجليكون، أمّا الجزء السكري من الغليكوزيد فيبقى مذابا في الطبقة المائية التي يتم تجفيفها. التعرف على الأجليكون يتطلب تسجيل السلسلة الطيفية UVفي الميثانول أو بكروماتوغرافية الطبقة الرقيقة (CCM) باستعمال أنظمة مناسبة أمّا الجزيء السكري يتعرف عليه كذلك بكروماتوغرافية الطبقة الرقيقة بمقارنته مع شواهد سكرية.

B - تحضير كاشف" مالونات الأنيلين: عبارة عن خليط لأربعة مكوّنات هي:

- الإيثانول 100 ملل
- حمض المالونيك 1غ
- حمض الفوسفوريك 3 ملل
- الأنيلين 1 ملل

C - التعرف على الجزيء السكري: بعد تحضير عيّنة الجزيء السكري يتم التعرف عليه بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بالخطوات التجريبية الآتية:

نبخر الطور المائي المتحصل عليه حتى الجفاف ثم نعيد تذويبه في كمية قليلة جدا من الماء المقطّر لتكون عيّنة الجزيء السكري جاهزة للاستعمال فيما بعد.

ينشّط اللوح الكروماتوغرافي (gel de silice 60 F 254) يرش بمحلول NaH_2PO_4 (0.2 M) و يترك بضع دقائق ليجف في الهواء ثم يوضع لمدة ساعة في الفرن عند 100°م، بعد ذلك نضع نقاط من عيّنة السكر مع الشواهد السكرية المعتادة باستعمال ماصة باستور و تجفف ثم نغمس اللوح في مملص (أسيتون/ماء) بنسبة (1/9) لمدة (50 – 180 دقيقة).

بعد الهجرة يستخرج الكروماتوغرام ويترك ليجف لمدة ساعة (تعاد العملية مرة ثانية)، للإظهار نرش بكاشف"مالونات الأنيلين و يترك ليجف في الهواء بضع دقائق ثم يوضع في الفرن عند 100°م لمدة 5 دقائق.
تظهر بقع (Spots) بنيّة اللّون بالعين المجردة وصفراء تحت مصباح الأشعة UV للسكريات، يتم التعرف عليها بمقارنتها مع قيّم الشواهد المستعملة المعروفة و تحسب قيمة R_f بالمعادلة *الآتية:*

$$d_1 / d_2 = R_f$$

بحيث:

R_f : النسبة الجبهوية.

d_1 : مسافة هجرة البقع Spot عن خط الوضع

d_2 : مسافة هجرة المذيب عن خط الوضع (جبهة المذيب)

5 – معايرة المحتوى الفينولي و الفلافونويدي:

5 – 1 – تقدير الفينولات الكلية:

تم تقديرالفينولات حسب الطريقة المذكورة في ***(Singleton et al., 1999 ; Singleton et al., 1965)*** وهي تفاعل لوني(Colorimétrique) لكاشف Folin-ciocalteu المتكوّن من حمض (Phosphomolybdique) ($H_3PMo_{12}O_{40}$) و حمض (Phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$) اللّذان يختزلان بأكسدة الفينولات إلى أوكسيدات التنغاستان (Oxydes de tungèstene W_8 O_{23}) و(Démolybdène Mo_8 O_{23}) زرقاء اللّون ذات إمتصاص أعظمي عند طول موجي (λ=765 nm) يمكن تقديره بواسطة مطياف UV-VIS مقارنة مع فينول مرجعي لحمض الغاليك، بطريقة العملي الآتية:

A - تحضير المحاليل:

- **تحضير محلول الأم (SM):** يحضر ابتداءا من فينول معروف و هو Acide gallique وذلك بإذابة 2 مغ حمض غاليك في 10 مل من الميثانول النقي أي بتركيز 200 µغ/مل.
- **تحضير كربونات الصوديوم [Na_2CO_3 ; 7,5 %]:** نقوم بإذابة 7.5غ من Na_2CO في 100 مل الميثانول النّقي.
- **تحضير الشاهد:** يحضر بنفس الشروط التجريبية (الموضّحة لاحقا) مع ملاحظة تعويض محلول Acide gallique الميثانولي بالميثانول النّقي (أي الأنبوب رقم: ′01 في الجدول رقم: 19 – ب-).

B - المنحنى القياسي والمعايرة:

- **تحضير التخفيفات:** نحقّق 6 تخفيفات في مجموعة أنابيب مرقّمة من (01 إلى 06) بتراكيز متزايدة تدريجيا موضّحة في الجدول (رقم: 19 - أ-).

جدول (رقم: 19 - أ-): تحضير تخفيفات حمض الغاليك بطريقة $n/10^{ième}$

رقم أنبوب التخفيف	01	02	03	04	05	06
درجة التخفيف $n/10^{ième}$	0/10	2/10	4/10	6/10	8/10	10/10
حجم محلول الأم (مل)	0,00	0.40	0.80	1.20	1.60	2.00
حجم MeOH النقي المضاف (مل)	2,00	1.60	1,20	0.80	0.40	0,00
[التركيز] µغ/مل	0.00	40	80	120	160	200

❖ **المعايرة (Etalonage)**: بواسطة ماصة مدرجة نضيف 1.5 مل من Folin-ciocalteu لكل 300 µل من كل تخفيف (كما هو موضح في الجدول الآتي)، بعد 4 دقائق نضيف 1200 µل محلول كربونات الصوديوم [Na_2CO_3 ; 7,5 %]، يرّج الخليط التفاعلي بقوة بواسطة Vortex. ثم يترك في مكان مظلم لمدة ساعتين. بعد ذلك تقاس الامتصاصية (أو الكثافة الضوئية) لمختلف التراكيز (الأنابيب) المتفاعلة عند طول موجي (nm 765 =λ) مقابل الشاهد بواسطة جهاز مطياف:

(UV-VIS spectrometer ; Biotech Engineering Management Co, Ltd UK). أخيرا نسجل النتائج (قيّم الامتصاصية المقاسة) في الجدول (رقم: 19 – ب-) الآتي:

جدول (رقم: 19 – ب-): معايرة لرسم منحنى قياسي للفينولات

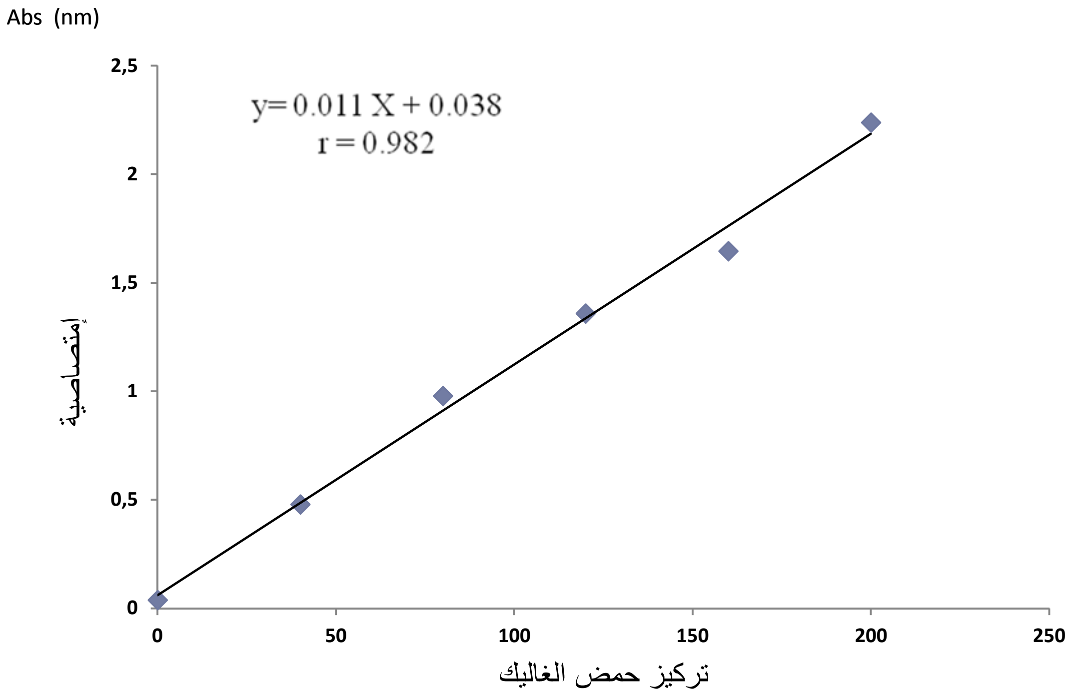
رقم أنبوب التفاعل	01'	02'	03'	04'	05'	06'
Folin-ciocalteu مل	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
حجم التخفيف µل	300	300	300	300	300	300
[Na_2CO_3 ; 7,5 %] µل	1200	1200	1200	1200	1200	1200
Abs_1 (λ= 430nm)	…	…	…	…	…	…
Abs_2 (λ= 430nm)	…	…	…	…	…	…
Abs_3 (λ= 430nm)	…	…	…	…	…	…
[A.Gallique] µغ/مل	0.00	40	80	120	160	200

C - قراءة النتائج: اعتمادا على النتائج المتحصل عليها يرسم منحنى للعلاقة: ($D.O_i = f([A.Gallique]_{i\ \mu g/ml})$) الممثل للمنحنى القياسي لمعايرة الفينولات.

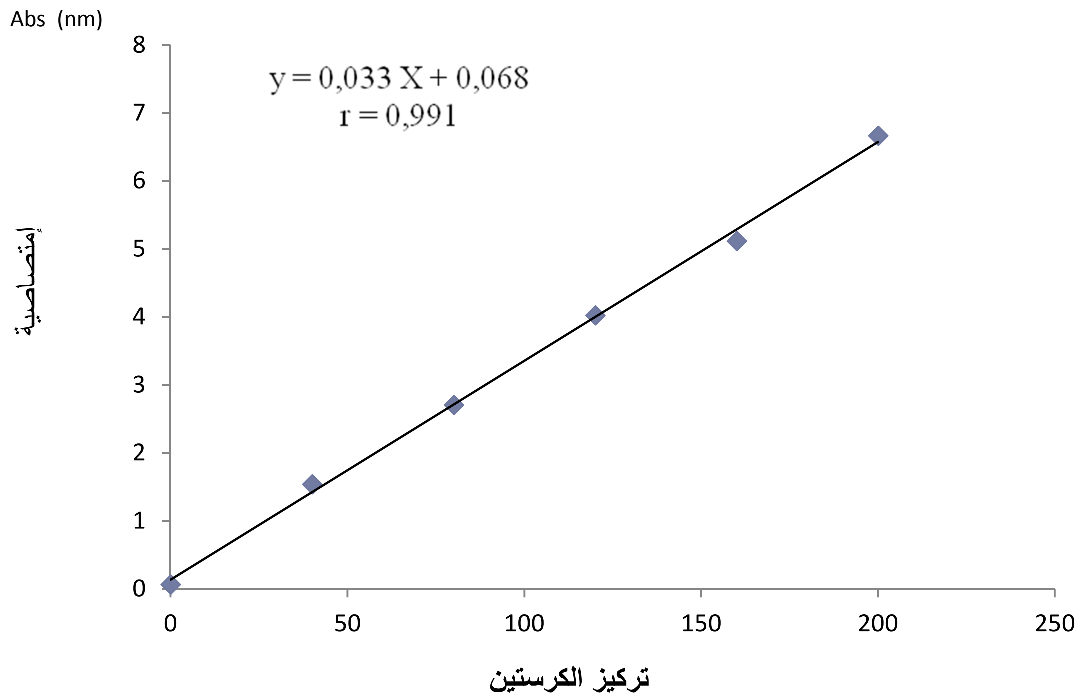
عمليا لتقدير تراكيز المركبات الفينولية الكلية في مختلف المستخلصات نجري معايرة بنفس الشروط السابقة ونقرأ قيمة الامتصاصية بالمطياف، نتيجة القراءة تساعدنا على تعيين التراكيز المجهولة التي تكون مقدّرة بالميكروغرام لحمض الغاليك المكافئ لكل 1 ميلي غرام من المستخلص (μg AGE/mg $_{d'extrait}$) اعتمادا على المنحنى القياسي المبيّن في الشكل (رقم: 31) الآتي:

5 – 2 – تقدير الفلافونويدات الكلية:

يتم تقدير الفلافونويدات حسب طريقة *Quetier et al* المذكورة في (*Djeridane et al., 2006*)، بطريقة العملي الآتية:



شكل (رقم: 31): منحنى قياسي لمعايرة الفينولات



شكل (رقم: 32): منحنى قياسي لمعايرة الفلافونويدات

A - تحضير المحاليل:

❖ **تحضير محلول الأم (SM):** يحضر إبتداءا من الجزيء المعروف Quercetine وذلك بإذابة 400 µg في 10 مل من الميثانول النقي أي بتركيز 40 µغ/مل .

❖ **تحضير كلوريد الألمنيوم [$AlCl_3$ 2%]:** نقوم بإذابة 0.2 غ من $AlCl_3$ في 10 مل ميثانول نقي.

❖ **تحضير الشاهد:** يحضر بنفس الشروط التجريبية (توضح لاحقا) مع ملاحظة تعويض محلول مركب Quercetine الميثانولي بالميثانول النقي (أي الأنبوب رقم: ′01 في الجدول رقم: 20 – ب-).

B - المنحنى القياسي والمعايرة:

❖ **تحضير التخفيفات:** نحقّق 6 تخفيفات في مجموعة أنابيب مرقّمة من (01 إلى 06) بتراكيز متزايدة تدريجيا موضّحة في الجدول (رقم: 20 - أ-) الآتي:

جدول (رقم: 20 -أ-): تحضير تخفيفات الكرستين بطريقة $n/_{10}^{ième}$

رقم أنبوب التخفيف	01	02	03	04	05	06
درجة التخفيف $n/_{10}^{ième}$	0/10	2/10	4/10	6/10	8/10	10/10
حجم محلول الأم (مل)	0,00	0,40	0,80	1,20	1,60	2,00
حجم MeOH النقي المضاف (مل)	2,00	1,60	1,20	0,80	0,40	0,00
[التركيز] µغ/مل	0	8	16	24	32	40

❖ **المعايرة (Etalonage):** بواسطة ماصة مدرّجة نضيف 0.5 مل من محلول كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$, 2 %) لكل 0.5 مل من كل تخفيف (التوضيح في الجدول الآتي)، يرّج الخليط التفاعلي بقوة بواسطة Vortex. ثم يترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق. بعد ذلك تقاس الإمتصاصية (أو الكثافة الضوئية) لمختلف التركيزات (الأنابيب) المتفاعلة عند طول موجي(λ= 430 nm) مقابل الشاهد بواسطة جهاز مطياف:

(UV-VIS spectrometer ; Biotech Engineering Management Co, Ltd (UK).

أخيرا نسجل النتائج (قيم الامتصاصية المقاسة) في الجدول (رقم: 20 - ب-) الآتي:

C - قراءة النتائج: اعتمادا على النتائج المتحصل عليها يرسم منحنى للعلاقة: $D.O_i = f([Quercetine]_i\ \mu g/ml)$ الممثل للمنحنى القياسي لمعايرة الفلافونويدات المبيّن سابقا في الشكل (رقم: 32) في الصفحة رقم: 87 .

عمليا للتقدير الكمي لفلافونويدات المستخلصات نجري معايرة بنفس الشروط السابقة ونقرأ قيمة الامتصاصية بالمطياف التي تساعدنا على حساب التركيز المجهول مقدّرا بالميكروغرام للكرستين المكافئ ل 1 ميلي غرام من المستخلص (g μQE /mg d'extrait).

جدول (رقم: 20 – ب-) معايرة لرسم منحنى قياسي للفلافونويدات

رقم أنبوب التفاعل	01′	02′	03′	04′	05′	06′
مل ($AlCl_3$, 2%)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
حجم التخفيف مل	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Abs_1 (λ= 430nm)	…	…	…	…	…	…
Abs_2 (λ= 430nm)	…	…	…	…	…	…
Abs_3 (λ= 430nm)	…	…	…	…	…	…
[Quercetine] μغ/مل	0	8	16	24	32	40

6 - تقييم النشاطية المضادة للأكسدة:

تقيّم النشاطية المضادة للأكسدة باختبار الأسر- الجذري لمركب DPPH (DPPH Radical - scavenging) باستعمال طريقة ***(Blois,1958)*** بتعديل طفيف حسب **Masuda** وآخرون (1999).

يتحول الجدر DPPH° ذو اللون البنفسجي إلى ثابت DPPH -H أصفر اللون حسب المعادلة:

$$DPPH° + AH \longrightarrow DPPH - H + A°$$

بحيث:

DPPH°: جذر DPPH

AH: مركب مانح للهيدروجين

DPPH – H: شكل مختزل

A°: جذر ناتج

لذلك تعتبر المركبات الفاقدة للإلكترونات (e^-) مضادة للأكسدة وتكون عينات الزيوت الأساسية والمستخلصات الفلافونويدية للنباتات تملك نشاطية مضادة للأكسدة إذا كانت قادرة على اختزال جذر DPPH (البنفسجي اللون) إلى DPPH – H (الأصفر). هذا التغيّر في اللّون يعبر عن إنخفاض قيّم الامتصاصية Abs بدلالة الزمن t المقاسة عند طول موجي λ فوق بنفسجي UV يساوي517 نانومتر.

A - طريقة العمل: تتم إضافة 30 µl لتراكيز مختلفة: المستخلص الخام (Extrait brut) وأربعة تخفيفات Dilutions من كل عيّنة إلى 3 مل من محلول DPPH الميثانولي، يرّج الخليط بقوة بواسطة رجّاج (vortex).ثم يوضع في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة في الظلام، بعد ذلك تقاس الامتصاصية لمختلف التركيزات المتفاعلة مع DPPH عند طول موجي (517 nm) مقابل الشاهد بواسطة جهاز:

(UV-VIS spectrometer ; Biotech Engineering Management Co, Ltd (UK)).

B - قراءة النتائج: تحول اللون البنفسجي العادي لمحلول DPPH الميثانولي إلى أصفر دليل على تزاوج الإلكترونات مع ذرة الهيدروجين القادمة من مضادات الأكسدة المحتملة (الزيوت الأساسية والمستخلصات الفلافونويدية للنباتات المختبرة).

تحسب النسبة المئوية للتثبيط I (%) (إرجاع DPPH) وفقا للمعادلة الآتية:

$$\mathbf{I\ \%} = [(A_{\text{الشاهد}} - A_{\text{العينة}}) / A_{\text{الشاهد}}]\ 5\ \ 100$$

$A_{\text{الشاهد}}$: امتصاصية الشاهد.

$A_{\text{العينة}}$: امتصاصية التركيز المتفاعل مع DPPH.

7 - دراسة ميكروبيولوجية:

تشمل تحديد سلالات ميكروبية متنوعة وتقييم نشاطيتها ضد ميكروبية بدراسة حساسية مختلف السلالات تجاه مستخلصات زيوت أساسية للعيّنات النباتية و مستخلصات فلافونويدية للعيّنات النباتية *(Oa، Cr و Cf)*. بقياس أقطار مناطق التثبيط بتقنية Antibiogramme لتحديد مدى حساسيتها (حسّاسة، متوسطة أو مقاومة)، تحديد قيم التركيز الأدنى المثبط (Concentration minimale Inhibitrice : C.M.I) و تحديد قيم التركيز الأدنى القاتل (Concentration minimale Bactericide : C.M.B). بالإضافة إلى تأثير المستخلصين CH_2Cl_2-MeOH و n-butanol للعيّنتين Lg و Cc (خاص بالنشرية الثانية: J. Microbiol. Biotech. Res., 2012, 2 (5) ; 736-740).

7 - 1 – السلالات الميكروبية قيد الدّراسة:

❖ **عزل و تنقية السلالات:** تم أخذ عيّنات بول وعيّنات أغشية مخاطية لمرضى (Infection Urinaires) حسب توجيهات ***(Brunet, 2006)*** بغرض عزل سلالات إكلينيكية بالمستشفى الجامعي CHU ابن باديس -قسنطينة -

ومستشفى محمد بوضياف - أم البواقي -. تنقية مختلف السلالات تمت بزرع لقاحات معزولة على أطباق بتري تحتوي جيلوز مغذي (GN) ثم تحضن لمدة 24 ساعة، بعد الحضن نختار المستعمرات المعزولة نوعا ما والمتشابهة ثم تنقل (répiquage) وتزرع مرّة أو أكثر بعد ذلك تزرع حسب نوع السلالة المرغوبة على بيئات متنوعة ومختلفة: اختيارية (Sélectif)، بيئات مثمنة (Enrichi)، تفاضلية (Différentiel) أو تمايزية (Discriminant) موضحة في الملحق (رقم: 03) ***(Washington, 1996)***.

- ❖ **فحص السلالات:** تتم عملية فحص السلالات (Screening) بتتابع عمليات نقل (Répiquage)، زرع (Ensemencement) و حفظ (Conservation) طيلة فترة إنجاز التجارب المخبرية.

- ❖ **تحديد السلالات:** تختبر مختلف عيّنات السلالات النقية ليتم التعرّف عليها بالاختبار الخلوي البكتيري (Examen cytobacteriologique).

7 – 2 – الاختبار الخلوي البكتيري:

يتم بأربعة اختبارات ميكروبيولوجية هي: اختبار ماكروسكوبي، اختبار باكتيريولوجي، تحديد الصفات المزرعية و اختبار شريط API 20E:

(Swanson et Collin, 1980) ; Murray,et al.,2003 و ***Archambaut et Clave, 2008)***.

1 - اختبار ماكروسكوبي: نلاحظ عيّنة البول المتجانسة هل هي واضحة (Limpide)، غائمة (Trouble) أو دموية (Hématurie).

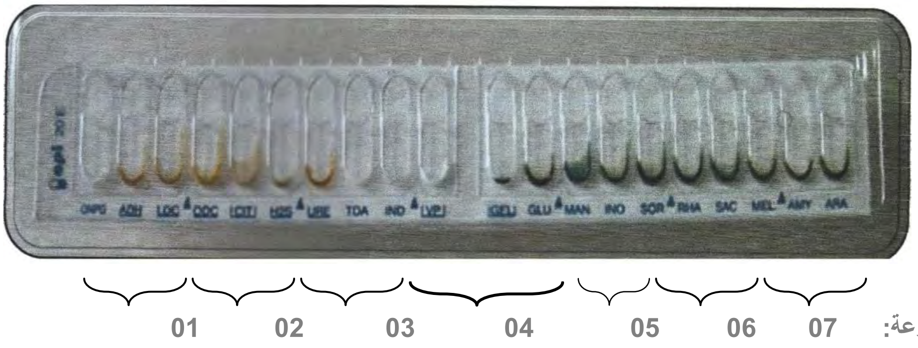
2 - اختبار باكتيريولوجي: هو اختبار ميكروسكوبي يسمح بإعطاء توجيه عملي وسريع حول السلالات البكتيرية المختبرة ويشمل الاختبارين (الحالة الحيّة و تلوين Gram).

3 – تحديد الصفات المزرعية: تخفف كل عيّنة إلى ème 1/100 بالماء المقطّر المعقّم، ثم نزرع 0.1 مل أطباق بتري تحتوي بيئات زرع مختلفة حسب نوع السلالة المرغوبة جدول (رقم: 21) ثم تحضن عند 37 ْم لمدة (24 إلى 28) سا.

4 – اختبار شريط API 20E: أستعمل شريط API 20E (bio Mérieux S A) للتعرف على مجموعة العصويات سالبة الغرام غير شديدة الحساسية (Bacille à Gram négatif non fastidieux) و Enterobactriceae. الشريط يضم 20 اختبار بيوكيميائي (شكل رقم: 33) يشمل: دراسة تخمّرات مختلف السّكاكر، اختبارات Auxanogramme والبحث المباشر عن أنزيم نوعي للسلالات المختبرة. الاختبارات مقسّمة إلى 7 مجموعات الـ 6 الأولى كل واحدة تضم ثلاثة اختبارات مرتبة (الأولى، الثانية، الثالثة) والاختبارين (رقم 19 و رقم 20) يشكلان المجموعة السابعة تجرى الاختبارات حسب طريقة العملي الموضحة في المرجعين:

(Murray, et al.,2003 ; Swanson et Collin, 1980).

- قراءة النتائج تكون حسب الجدول التفصيلي (ملحق رقم:04)، ثم تمثل نتائج التفاعلات بأرقام كما يلي:



شكل (رقم: 33): شريط ***API 20E (bio Mérieux S A).***

حالة النتيجة (-): يمثّل كل من الاختبار (الأول، الثاني والثالث) برقم: 0

حالة النتيجة (+) :يمثّل كل من: الاختبار الأول برقم:1

الاختبار الثاني برقم:2

الاختبار الثالث برقم:4

- تحديد الرّقم النهائي للمجموعة: هو مجموع أرقام النتائج الثلاثة للمجموعة.

- تحديد Profil biochimique numérique للسلالة: هو عدد مكوّن من 7 أرقام $(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_7)$

بحيث X_i : هو الرقم النهائي للمجموعة.

- يتحقق التعرّف اعتمادا على قاعدة بيانات خاصة بمخابر Biomérieux تسمح بالتعرّف على الكائن الدّقيق بالبحث عن الـ Profil numérique في قائمة Profils بواسطة: Catalogue analytique (Biomérieux SA) أو باستعمال برنامج تحديد السلالات **apiweb™** بكتابة 7 أرقام الـ Profil numérique أو بإرسال شريط نتائج API 20E الموضّح في الملحق (رقم: 05).

- يلاحظ في حالة حصولنا على Profil numérique غير متواجد في قاعدة البيانات يعني أنّ الكائن الدقيق ذو (Profil numérique non référencé: PNNR) بسبب خطأ أو مشكلة في إنجاز التقنية أو طفرة في حالة النمو البكتيري مع العلم أن في بعض الحالات يكون *PN* المكوّن من 7 أرقام غير كافيا فيقترح إجراء اختبارات أخرى ضرورية و يصبح مكوّن من 9 أرقام بإمكانها تحديد السلالة.

7 - 3 – السلالات الميكروبية المستعملة: اختبرنا 12 سلالة ميكروبية (بكتيرية و فطرية) ممرضة للإنسان ممثلة بمجموعتين الأولى مرجعية *(ATCC)* مصدرها معهد باستور- الجزائر العاصمة - والثانية إكلينيكية تم عزلها من عيّنات مرضية وتنقيتها والتعرف عليها بالستشفى الجامعي CHU ابن باديس– بقسنطينة – و مستشفى محمد بوضياف - أم البواقي-. السلالات البكتيرية متنوعة خلويا منها موجبة الغرام (+) Gram و سالبة الغرام (-) Gram مسجلة في الجدول (رقم: 21) الآتي:

جدول (رقم: 21): أنواع السلالات الميكروبية المستعملة

الكائن الدّقيق	بكتيريـــا		فطريـــات
صبغة Gram	**Gram (+)**	**Gram (-)**	-
سلالات مرجعية	*Bacillus subtilis ATCC 6633* *Enterococcus faecalis ATCC29212* *Staphylococcus aureus ATCC25923* *Staphylococcus epidermidis ATCC12228*	*Escherichia coli ATCC 25922* *Pseudomonas aeruginosa ATCC27853* *Proteus vulgaris ATCC6897*	*Aspergillus flavus ATCC 10239* *Aspergillus niger ATCC 6275*
سلالات إكلينيكية	*Staphylococus sp.*	*Klebsiela pneumonia* *Escherichia coli*	*Candida albicans*

7-4- اختبار Antibiogramme:

ينجز اختبار الـ Antibiogramme بتحضير: (التراكيز، الأقراص، وسط الزرع، المعلق البكتيري) يتبع بعملية زرع الأطباق ثم تحضينها حسب توجيهات *NCCLS(2003 et 2006)* كما يلي:

❖ **تحضير التراكيز**: نزن 0.8 ملغ من المستخلص النباتي ونذيبه في 100 ملل من DMSO، وذلك لتحضير التركيز A (8 ملغ/ل)، أما باقي التركيزات فتحضر انطلاقا من المحلول A حسب الجدول (رقم: 22) الآتي:

جدول (رقم: 22): تخفيفات المستخلصات بطريقة 1/2 ième

تخفيف المستخلص	درجة التخفيف	[المستخلص]ملغ/ل
التركيز B	5 ملل من المحلول A + 5 مل من DMSO	4
التركيز C	5 ملل من المحلول B + 5 مل من DMSO	2
التركيز D	5 ملل من المحلول C + 5 مل من DMSO	1
التركيز E	5 ملل من المحلول D + 5 مل من DMSO	0.5
التركيز F	5 ملل من المحلول E + 5 مل من DMSO	0.25

❖ **تحضير الأقراص:** تحضر الأقراص من ورق (Whatman n°03) ذات قطر 5 ملم في طبق بيتري زجاجي، ثم نضيف لها كمية من الماء المقطر لتتبل، تغلق بإحكام وتعقم في جهاز التعقيم لمدة 20 دقيقة عند 120° م ثم تحفظ لحين استعمالها حيث تشبّع بتركيزات معينة من المستخلص المراد اختباره.

❖ **تحضير وسط الزرع:** حسب منظمة (OMS) الوسط المثالي لتقنية Antibiogramme هو Hinton - Mueller يوزّع بعد إذابته بقوام 4 ملم موزّعة بالتكافؤ على كامل علبة بتري، بعد ذلك تجفّف في درجة حرارة 37°م لمدّة 30 دقيقة قبل الاستعمال.

❖ **إنجاز المعلق البكتيري:** تزرع السلالات المختبرة بطريقة الخطوط (En Stries) على بيئات زرع مناسبة تحضن لمدّة 24 ساعة عند درجة 37° م، بعد ذلك تكشط مستعمرات نقية معزولة جيدًا بوضوح بإبرة التلقيح ثمّ تفرغ في أنبوب اختبار يحتوي 10 مل ماء فيزيولوجي معقم، بعد ذلك ترّج جيّدا للحصول على معلّق بكتيري متجانس ذو عكارة (Opacité) موافقة لمعيار Mc Farland 0,5 (يمكن تعديل اللقاح البكتيري بإضافة عدّة مستعمرات عندما يكون أقل من المعيار أو بإضافة الماء الفيزيولوجي عندما يكون المعلق أكثر من المعيار)، يترك 15 دقيقة قبل الزرع.

❖ **الزرع:** نستعمل أطباق جيلوز Mueller - Hinton (نتحقق من غياب قطرات الماء على السطح، في حالة وجودها تترك حتى تجّف) و نعلّم أماكن وضع الأقراص في أسفل الطبق (يجب أن تكون بعيدة عن الحواف) - ثم نزرع بطريقة المسح الجيلوز بـ: 1 مل من المعلّق (يوزّع الحجم على كامل السطح جيّدا لغاية حواف الطبق بواسطة: Ecouvillon).

- بعد ذلك نقوم بتوزيع الأقراص المشبعة بتركيزات معيّنة من المستخلص المراد اختباره ثمّ نضغط قليلا بواسطة ملقط معقّم.

يلاحظ عمليا بأنّ الفطريات تزرع على بيئة Sabouraud عند 37°م لمدّة عشرة أيام متتالية لبلوغها مرحلة التجرثم، بعد ذلك تحضر في الماء الفيزيولوجي يحتوي على Twen 80 ثمّ تضبط عند UFC 10^5 / مل باستعمال خلايا العد الميكروبي (Cellule de Thomas).

❖ **التحضين:** تترك العلبة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لتجف وتنتشر جيّدا المستخلصات المختبرة، ثم تحضن الأطباق مقلوبة لمدة تتراوح بين 18– 24 ساعة في درجة حرارة 37°م.

❖ **قراءة النتائج:** بعد الحضن إذا ثبط المستخلص نمو البكتيريا تظهر مناطق واضحة حول محيط الأقراص تسمى: مناطق تثبيط النمو البكتيري للسلالة المختبرة. يحسب قطر هذا التثبيط بالميليمتر و حسب سّلم تقدير (Estimation) معطى ***(Mytail, 2009)*** ترتب قيّم أقطار مناطق التثبيط **(D)** للنمو الميكروبي في خمسة أقسام:

جدّ قوية التثبيط (Très fortement inhibitrice): $30 \text{ mm} \leq D$

قوية التثبيط (Fortement inhibitrice): $21 \text{ mm} \leq D \leq 29 \text{ mm}$

معتدلة التثبيط (Modérément inhibitrice): $16 \text{ mm} \leq D \leq 20 \text{ mm}$

واسعة التثبيط (Largement inhibitrice): $11\text{mm} \leq D \leq 15 \text{ mm}$

غير مثبطة (Non inhibitrice): $10 \text{ mm} \leq D$

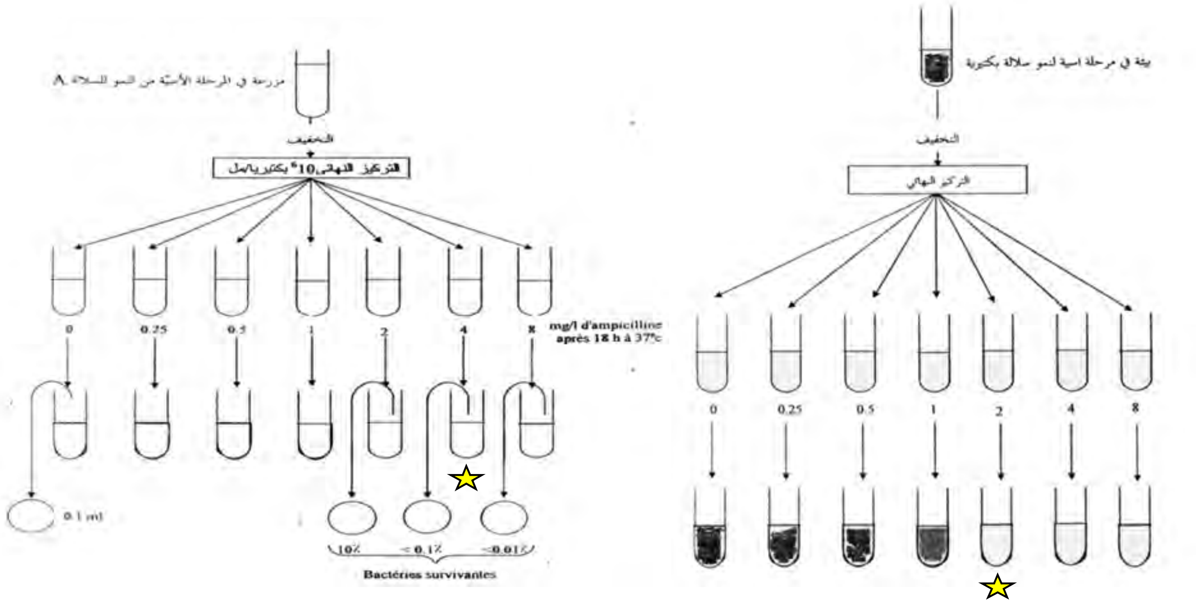
تصنف البكتيريا إلى ثلاثة أصناف: حسّاسة، متوسطة أو مقاومة و حسب القيّم المعيارية (NCCLS) نحدد مادة فعالة بأنها مضاد حيوي إذا كان تركيز التركيز الأدنى المثبط (CMI) أقل من 256 µغ/100 مل.

7 - 5 - تحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI):

تحضر6 تركيزات مختلفة من المستخلصات (0.25 ، 0.5 ، 1 ، 2 ، 4 و 8) ميكروغرام/مل مذابة في الكلوروفورم داخل أنابيب اختبار، يضاف إليها 10 مل من الحساء المغذي *(BN)*، يبخّر الكلوروفورم و تعقّم البيئة في الأوتوكلاف على درجة حرارة 120 ° م و1.5 ضج لمدة 20 دقيقة.

بعد التبريد نحقن بيئات الحساء المغذي ذات التركيزات المختلفة بـ 10^6 خلية بكتيرية من المعلّق البكتيري النامي حديث العهد (Phase logarithmique) بعد ذلك تحضن عند 37 °م لمدة 18 ساعة Carbonnelle, et al., (1987) و (دهيمات وآخرون، 1999).

قراءة النتائج: نحدد ظهور النمو البكتيري من عدمه في الأنابيب تبعا للتركيزات، وتحدد قيمة التركيز الأدنى المثبط (CMI)بأقل تركيز في الأنابيب التي لا يظهر فيها النمو (☆)كما في الشكل (رقم: 34 -أ-) الآتي:



- أ- : تحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI) - ب -: تحديد التركيز الأدنى القاتل (CMB)

شكل (رقم: 34): التأثير التثبيطي والتأثير القاتل للمستخلصات

7 - 6 - تحديد التركيز الأدنى القاتل (CMB):

نأخذ 0,1 مل من كل مزرعة من المزارع التي حضّرت لتحديد التركيز الأدنى المثبط للنمو وتوزع على سطح طبق Petri يحتوي على آجار مغذي GN وتحضن الأطباق على 37°م لمدّة 18 ساعة.

قراءة النتائج: نفحص الأطباق ونحدد ظهور النمو البكتيري من عدم النمو في كل تركيز، ويحدد التركيز الأدنى القاتل (CMB) بأقل تركيز من الأطباق أدى لقتل 99,99 % من المجموعة البكتيرية(☆) كما هو موضح في الشكل (رقم: 34 - ب-) أعلاه (Carbonnelle, et al., 1987) و (دهيمات وآخرون، 1999).

- يرمز للتركيز الأدنى القاتل للفطريات بـ CMF ويصطلح عموما التركيز الأدنى المدمّر لكل من البكتيريا والفطريات باختصار CMD (Concentration minimale destructive).

- يلاحظ عمليا لتحديد CMI و CMD للزيوت الأساسية قليلة الذوبان في البيئات الغذائية المائية (Milieux de culture aqueux) بأنّه يمكن إذابتها في الإيثانول (Drugeon et al., 1991) أو DMSO أو Twen 80 أو Twen 20 (Allegrini et al., 1973) و (Benjilali et al., 1986).

8 – التحليل الإحصائي:

تجرى قياسات إنجاز المنحنيين القياسيين للفلافونيدات و الفينولات و تقدير المحتويين الفينولي و الفلافونويدي و كذلك قياسات النشاطية ضد مؤكسدة لعيّنت الزيوت الأساسية الخام و تخفيفاتها و للمستخلصات و تخفيفاتها خلال أزمنة مختلف القياسات الضرورية لتحديد النسب المئوية للاختزال، كما تنجز أيضا تجارب حساسية السلالات الميكروبية لمختلف التركيزات المتزايدة (0.25 ; 0.5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 8) مغ/ل للزيوت الأساسية و المستخلصات الفلافونويدية بثلاثة تكرارات (n = 3) لكل حالة بهدف تمثيل النتائج بمتوسطات إحصائية (X): **(X = X + SD)** و تحليل إحصائي اعتمادا على برنامج رياضي– إحصائي (Logiciels Statistique Excel et/ou SPSS):

- رسم منحنيين قياسيين أحدهما للفينولات والآخر للفلافونويدات للدالتين الرّياضيتين على الترتيب للعلاقتين:

$D.O_i = f([Acide\ gallique]_{i\ \mu g/ml})$ و $D.O_i = f([Quercetine]_{i\ \mu g/ml})$ ثم استنتاج دالتهما التآلفيتين و هما على الترتيب: $D.O_i = a\ [Acide\ gallique]_{i\ \mu g/m} + b$ و $D.O_i = a\ [Quercetine]_{i\ \mu g/ml} + b$ اللتان تمثلان معادلتي انحدار (Droite de regression) لتغيرات الامتصاصية المقاسة تجريبيا بدلالة تركيزات محددة على الترتيب لحمض الغاليك و مركب الكرسيتين، المنحنيين يستغلان للتقدير الكمي للفينولات و الفلافونويدات بالمعايرة اللّونية و يساعدان على حساب تركيزاتهما بمعلومية قيّم الإمتصاصية تجريبيا.

- تحليل النتائج بحساب المتوسطات الإحصائية$(X = \overline{X} + SD)$ بحيث:

$$x = \sum_{i}^{n} \frac{xi}{n}$$

X : المتوسط الإحصائي (Moyenne statistique)

$\overline{X}$: المتوسط الحسابي (Moyenne arithmétique)

SD: الانحراف المعياري (Standard déviation)

n: عدد التكرارات (Nombre de répétition)

- تحليل الإرتباط برسم أفضل خط للعلاقة بين متغيرين X و Y (بطريقة أصغر مربع) بحيث: Y = A X + B و حساب معامل التحديد r^2 (Coefficient de détermination) لقياس نسبة التغير في نتائج Y تبعا للعلاقة بين Y : X و معامل الانحدار r (Coefficient de régression) لتوضيح التلازم الكمي بين المتغيرين و درجة العلاقة بينهما.

النتائج والمناقشة

1 – نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي:

نتائج الفحص الفيتوكيميائي (Screening phytochimique) للأنواع النباتية: *Ormenis africana*، *Chrysanthemum macrocarpum*، *Chrysanthemum reboudianum*، *Chrysanthemum fuscatum*، لعدّة مجموعات كيميائية لمستخلصات: الإثير البترولي، الميثانول و الماء الدافىء مبيّنة على الترتيب في الجداول (رقم: 23 – أ-)، (رقم: 23 – ب-) و (رقم: 3 – ج-). بالإضافة إلى الفحص الفيتوكيميائي للنوعين (*Launaea glomerata* و *Cynara cardinculus*) (عمل خاص بالنشرية الثانية: *J. Microbiol. Biotech. Res., 2012, 2 (5). ; 736-740*).

جدول (رقم: 23 – أ-): نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي

لمستخلص الإيثير البترولي

العيّنات النباتية / طرق الكشف	*Ormenis africana*	*Chrysanthemum macrocarpum,*	*Chrysanthemum reboudianum*	*Chrysanthemum fuscatum*	*Cynara cardinculus*	*Launaea glomerata*
الزيوت الأساسية	+	+	+	+	+	+
التربينات الثلاثية والستيرولات	+	+	+	+	++	+
الأحماض الدهنية	+	+	+	+	+	+
القلويدات	-	-	-	-	-	-
الفلافونويدات اللاّ سكرية	+	+	+	+	-	-
الإيمودول(Emodols)	-	-	-	-	-	-
الكومارينات	-	-	-	-	-	-
الستيرولات أو تربينات ثلاثية لا سكرية	+	+	+	+	++	+
الكاروتينويدات	-+	-	-+	-+	++	-+

يبيّن الجدول (رقم 23- أ-) لمستخلص الإيثير البترولي للعيّنات النباتية المسجلة وجود الزيوت الأساسية، التربينات الثلاثية و الستيرولات، الأحماض الدهنية و الفلافونات اللاسكرية و عدم وجود القلويدات في جميع العيّنات بالإضافة إلى تواجد الكاروتينويدات في *Cynara cardinculus* بعكس تواجدها بكميات ضئيلة في باقي العيّنات.

جدول (رقم: 23 – ب-): نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي

لمستخلص الميثانول

العيّنات النباتية / طرق الكشف	*Ormenis africana*	*Chrysanthemum macrocarpum,*	*Chrysanthemum reboudianum*	*Chrysanthemum fuscatum*	*Cynara cardinculus*	*Launaea glomerata*
العفصيات	+	-+	-+	-+	++	-+
المركبات المرجعة	-	-	-	-	+	-
القلويدات	-	-	-	-	-	-
مركبات Anthracenosides	+	-	-	+	-	-
الكومارينات	+	+	+	+	+	-
الستيرويدات السكرية	+	-	-+	-	-	-
التربينات الثلاثية السكرية	+	+	+	+	+	+
الفلافونات السكرية	+	+	+	+	++	+
مركبات Anthocyanosides	-	-	-	-	+	-

نتائج المستخلص الميثانولي المسجلة في الجدول (رقم 23- ب-) تبيّن تواجد الكومارينات، التربينات الثلاثية و الفلافونات السكرية وغياب القلوييدات وتواجد المركبات المرجعة و Anthocyanosides في نبتة *Cynara cardinculus* والتي لا تتواجد في باقي العيّنات النباتية بينما تتواجد مركبات Anthracenosides في كل من *Ormenis africana* و *Chrysanthemum fuscatum* فقط. يلاحظ كذلك تواجد الستيرويدات السكرية في نبتـة *Ormenis Africana* وبكميات ضئيلة في *Chrysanthemum reboudianum*.

جدول (رقم: 23 – ج-): نتائج الكشف عن نواتج الأيض الثانوي

لمستخلص الماء الدافىء

العيّنـات النباتيـة / طرق الكشـف	*Ormenis africana*	*Chrysanthemum macrocarpum,*	*Chrysanthemum reboudianum*	*Chrysanthemum fuscatum*	*Cynara cardinculus*	*Launaea glomerata*
مركبات Polyuronides	-	-	-	-	-	+
المركبات المرجعة	+	+	+	+	++	+
الكربوهيدرات	+	+	+	+	+	-+
الصابونينات	-	-	-	-	+	-+
العفصيات	+	+	+	+	++	-+
القلويدات	-	-	-	-	-	-
مركبات Anthracenosides	+	-	-	+	-	-+
الكومارينات	+	+	+	+	+	-
الستيرويدات السكرية	+		+	+	-	-
التربينات الثلاثية السكرية	+	+	+	+	+	-
الفلافونات السكرية	+	+	+	+	++	-+
Anthocyanosides	-	-	-	-	+	-

نتائج مستخلص الماء الدّافئ المسجلة في الجدول (رقم 23-ج-) تبيّن وجود المركبات المرجعة، الكربوهيدرات، العفصيات و الفلافونات السكرية وعدم تواجد القلويبدات.

كما يبيّن الجدول عدم تواجد *مركبات* Polyuronides وتواجد الكومارينات و التربينات الثلاثية السكرية في مختلف العيّنات النباتية بعكس نبتة *Launea glomerata* حيث سجل فيها وجود *مركبات* Polyuronides وعدم وجود الكومارينات و التربينات الثلاثية السكرية، نلاحظ أيضا تواجد الستيرويدات السكرية في النباتات *Ormenis africana*، *Chrysanthemum fuscatum* و *Chrysanthemum reboudianum* وتواجد الصابونينات في

النبتتين: *Launea glomerata* و *Cynara cardinculus* و *مركبات* Anthracenosides في النباتات:

Ormenis africana، *Chrysanthemum fuscatum* و *glomerata Launea* وتواجد مركبات Anthocyanosides في نبتة *Cynara cardinculus* فقط.

نتائج الفحص الفيتوكيميائي لنبتة *Ormenis Africana* موافقة تماما للنتائج الببيليوغرافية التي تبيّن عدم تواجد القلويدات و الصابونينات و*مركبات* Cardenolides وتواجد العفصيات، *مركبات* Anthraquinones، الفلافونويدات، الستيرويدات و الستيرولات (***Ladjel et al., 2011***).

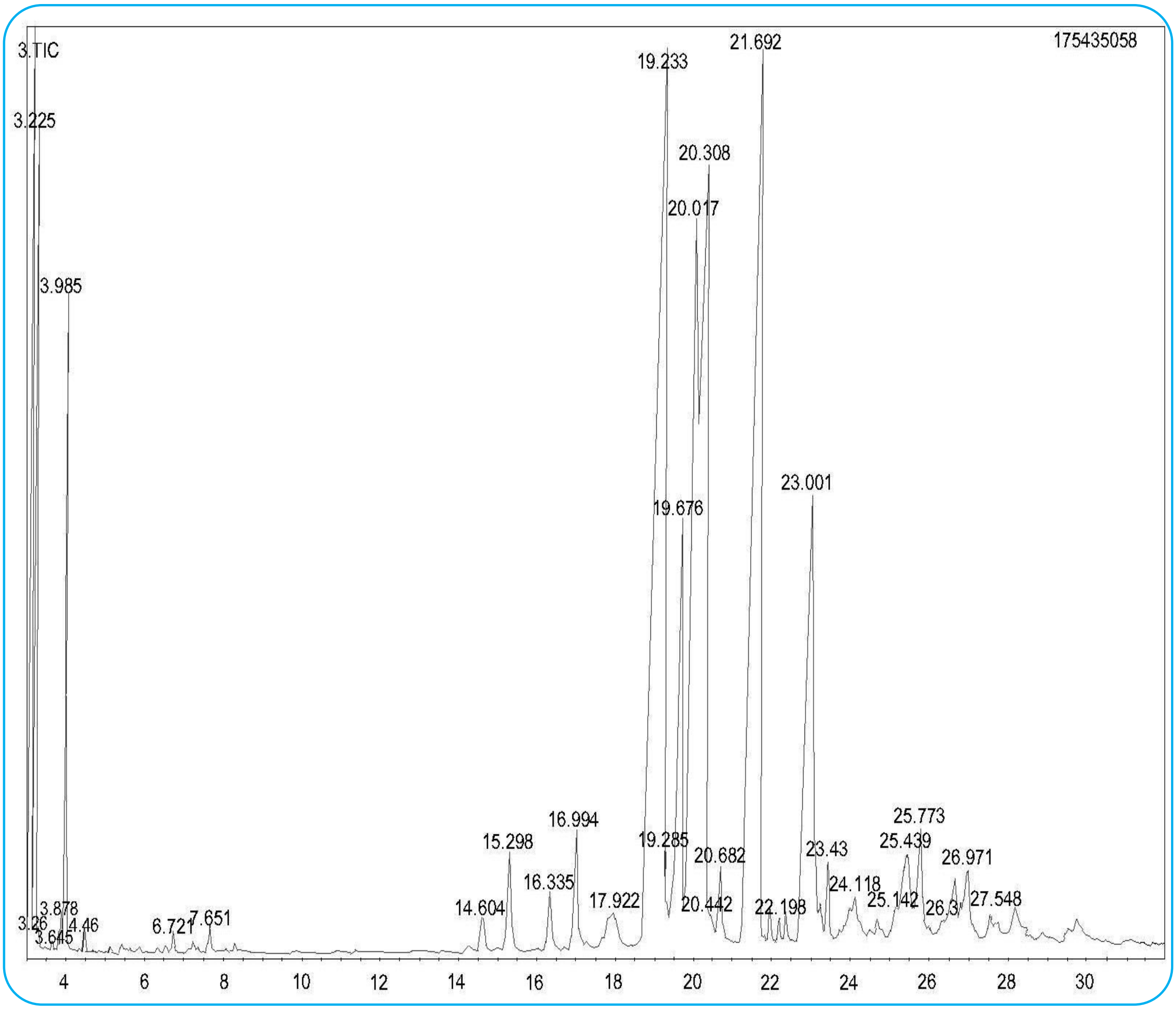
نتائج فحص أنواع جنس *Chrysanthemum* قيد الدّراسة تبيّن تواجد: الزيوت الأساسية، الستيرولات، الأحماض الدهنية، الكاروتينويدات، المركبات المرجعة، الكربوهيدرات و العفصيات وعدم احتوائها على القلويدات و *مركبات* Emodols كما تبيّن بأنّ الأنواع: *Chrysanthemum macrocarpum*، *Chrysanthemum reboudianum* و *Chrysanthemum fuscatum* غنية بالفلافونويدات، التربينات خصوصا التربينات الثلاثية و الكومارينات وهذا يوافق بيبليوغرافيا مختلف دراسات الأيض الثانوي عموما لجنس *Chrysanthemum*
(***Harbone et Baxter, 1970 ; Oksfiz et Wagner, 1982 & Harbone et al., 1970***)

المسح البيبليوغرافي يبيّن بأنّ فحص النبتتين *Launea glomerata* و *Cynara cardinculus* لم يسبق دراستهما من قبل ونتائجنا مطابقة تماما للنشرية (***Zellagui et al., 2012***).

2 – تحليل GC/MS للزيوت الأساسية:

نتائج تحليل الزيوت الأساسية: لأزهار نبتة *Ormenis africana* الأصيلة التي تنمو في الجزائر وتحليل الجزء الهوائي للنبتين *Chrysanthemum reboudianum* و *Chrysanthemum fuscatum* بواسطة GC/MS موضحة فيما يلي:

2 – 1 – تحليل الزيت الأساسي لأزهار نبتة *Ormenis africana*: تحليل الزيت الأساسي لأزهار نبتة *Ormenis africana* أعطت كروماتوغرام غازي (Chromatogramme de gaz) مبيّن في الشكل (رقم: 35):



شكل (رقم: 35): كروماتوغرام غازي (Chromatogramme de gaz) للزيت الأساسي لأزهارنبتة *Ormenis africana*

نستنتج من الكروماتوغرام الغازي المبيّن في الشكل (رقم: 35): المركبات الكيميائية المكوّنة للزيت الأساسي لأزهار نبتة *Ormenis africana*، نسبتها المئوية (Area %)، زمن احتباسها (TR) ومؤشرات الاستبقاء (RI) وهي مدرجة حسب أوقات الاحتفاظ بها. نتائج محتوى الزيت الأساسي لهذه العيّنة النباتية موضّحة في الجدول (رقم: 24) الآتي:

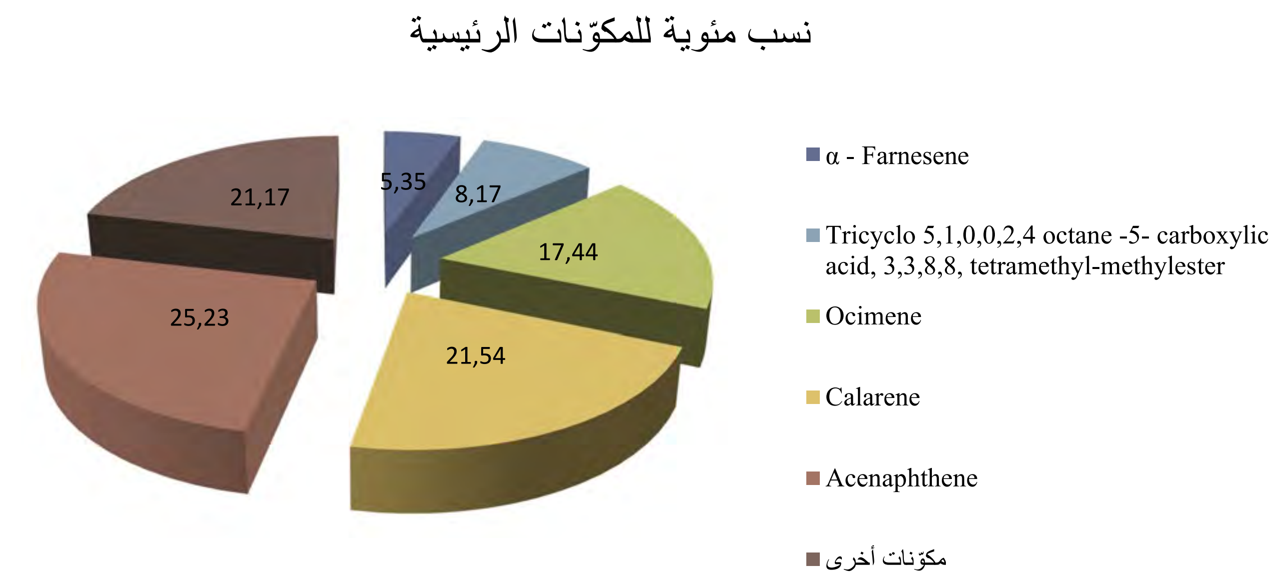
جدول (رقم: 24): المركبات الكيميائية للزيت الأساسي

لأزهار نبتة *Ormenis africana*

Pic	Composés	TR	RI	%
01	Cyclooctane	3.100	920	0.10
02	L- α –Pinene	3.225	932	4.48
03	β –Myrcene	3.267	988	4.18
04	P-Cymene	3.650	1024	0.06
05	Limonene	3.808	1027	0.17
06	α -cis-Ocimene	3.883	1038	0.09
07	Eucalyptol	3.442	1039	2.67
08	Ocimene	4.467	1055	17.44
09	Linalool	7.658	1095	0.15
10	Cucumber alcohol	15.300	1167	0.05
11	4-Thujanol	17.000	1171	0.03
12	Cis-Geraniol	19.233	1255	2.25
13	Limonene dioxide	19.683	1294	1.27
14	Dihydrocarveol acetate	20.017	1344	0.47
15	Carvomenthyl acetate	21.692	1347	0.90
16	Calarene	22.367	1385	21.54
17	Acenaphthene	23.008	1429	25,23
18	α –Farnesene	25.442	1500	5.35
19	Nerolidol	25.775	1531	0.78
20	Tricyclo 5,1,0,0,2,4 octane-5-carboxylic acid, 3,3,8,8, tetramethyl-,methylester	26.975	1580	8.17
21	Capillin		1637	*1.54*
	Total			96.92

تعرّفنا على 21 مركب كيميائي تمثل 96,92 % من مجمل المركبات المحتواة في هذا الزيت الذي يحتوي مركبات بنسب مئوية ضعيفة تتزايد نسبيا إبتداءا بنسبة 0,03 % للمركب 4-Thujanol لتصل نسبة 0,90 % للمركب Carvomenthyl acetate وأخرى بنسب مئوية متوسطة لا تتجاوز نسبة 5 % وهي: Limonene dioxide (1,27 %)، Cis-Geraniol (2,25 %)، Eucalyptol (2.67 %)، β –Myrcene (4.18 %) و

L- α –Pinene (4.48 %) ، مجموع النسب الضعيفة و المتوسطة ممثل بنسبة 21,17 % من المجموع الكلي. نلاحظ تواجد مركبات أخرى بنسب معتبرة أو مرتفعة تعتبر مكوّنات رئيسية (Constituant majoritaires) تمثل بنسبة 78,83 % حيث تتواجد بنسب متباينة مساوية على الترتيب: α –Farnesene (5.35 %)، (8.17 %) Tricyclo 5,1,0,0,2,4 octane-5-carboxylic acid, 3,3,8,8, tetramethyl-,methylester، (17.44 %) Ocimene، (21.54 %) Calarene، (25,23 %) Acenaphthene والشكل الإحصائي (رقم: 36) يوضح ذلك:



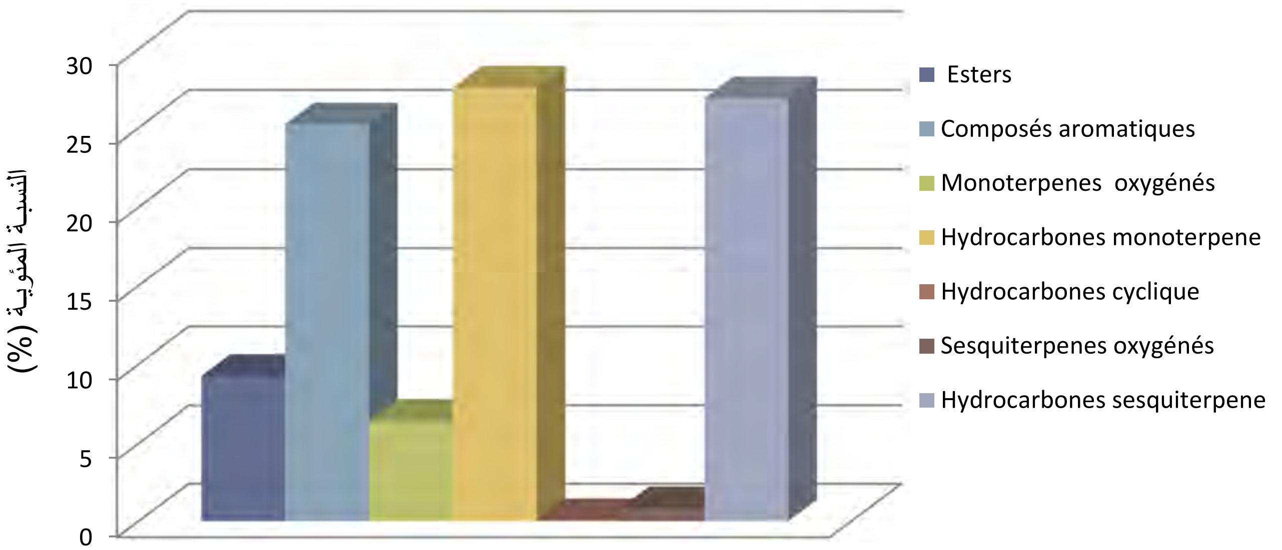
شكل (رقم: 36): المكونات الرّئيسية (Constituants majoritaires)
للزيت الأساسي لأزهار نبتة *Ormenis africana*

التقسيم الكيميائي لمختلف المكوّنات المبينة في الجدول (رقم: 25) يوضح سيطرة كل من التربينات الأحادية (27,56 %)، التربينات النصف ثلاثية الهيدروكربونية (26,89 %)، التربينات الأحادية الأوكسجينية (6,42 %) في حين كانت النّصف ثلاثية الأوكسيجينية محتويات منخفضة جدا (0,86 %). زيادة على ذلك المركبات العطرية ممثلة بنسبة مئوية معتبرة (25,23 %) تليها مركبات أستر (9,26 %) ويلاحظ نسب ضعيفة لكل من المركبات المحتوية على النيتروجين (0,37 %) وباقي المركبات الأخرى (0,24 %) وأعمدة هستوغرام شكل (رقم: 37) تعكس جيّدا مقارنة أهم المجموعات الكيميائية المكوّنة للزيت الأساسي لنبتة *Ormenis africana* .

جدول (رقم: 25): التقسيم الكيميائي لمكوّنات الزيت الأساسي

لأزهار نبتة *Ormenis africana*

Composés	Pic area %
Esters	9.26
Composés aromatiques	25.23
Monoterpenes oxygénés	6.42
Hydrocarbones monoterpene	27.56
Hydrocarbones cycliques	0.10
Sesquiterpenes oxygénés	0.86
Hydrocarbones Sesquiterpene	26.89
Composés azoté	0.37
Autres	0.24



شكل (رقم: 37): هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي

لأزهار نبتة *Ormenis africana*

2 – 2 – تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum fuscatum*:

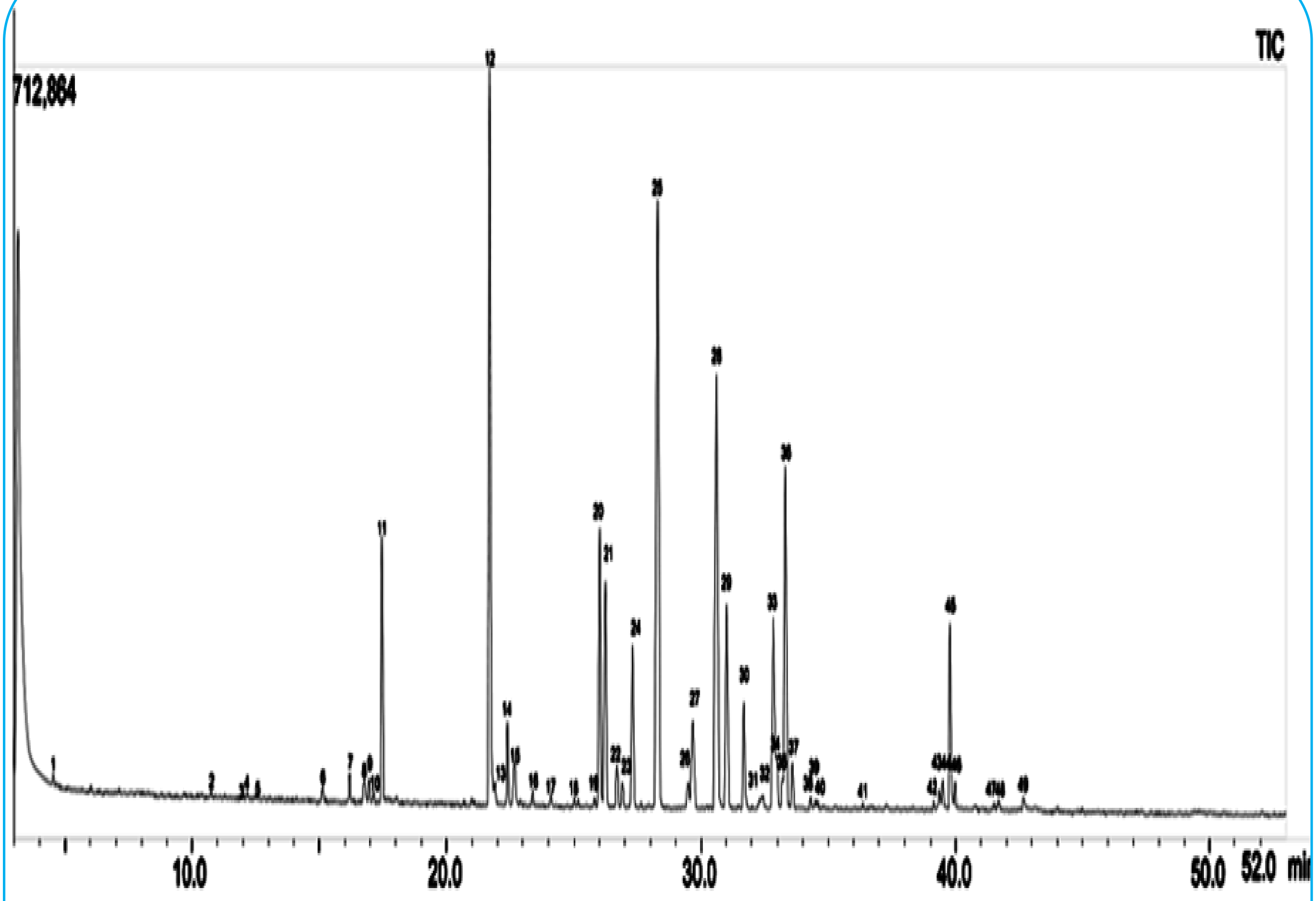
تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum fuscatum* أعطت كروماتوغرام غازي مبيّن في الشكل (رقم: 38) الآتي :

نستنتج من الكروماتوغرام الغازي المبيّن في الشكل (رقم: 38) و الجدول (رقم: 26) المركبات الكيميائية المكوّنة للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum fuscatum* ، نسبتها المئوية (Area %) و زمن احتباسها (TR) وهي مدرجة حسب أوقات الاحتفاظ بها. نتائج محتوى الزيت الأساسي لهذه العيّنة النباتية موضحّة في الجدول (رقم: 26) الآتي:

جدول (رقم: 26): المركبات الكيميائية للزيت الأساسي

للجزء الهوائي لنبتة: *Chrysanthemum fuscatum*

Pic	Composés	TR	%
01	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	4.535	0.14
02	4,4-dimethyl- Hexanal	10.724	0.19
03	Hexane, 1-chloro-5-methyl-	12.148	0.14
04	d-Arabinal	12.445	0.09
05	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)-	15.120	0.28
06	2,6-Dimethyl-3,5,7-octatriene-2-ol, Z,Z-	16.199	0.39
07	Isopropyl phenylacetate	16.761	0.54
08	2-Pentanone, 4-methyl-4-phenyl-	16.953	0.38
09	Ketone, 1,5-dimethylbicyclo[2.1.0]pent-5-yl methyl	17.122	0.15
10	(-)-Myrtenyl acetate	17.469	4.33
11	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	21.692	13.94
12	1,7-Nonadien-4-ol, 4,8-dimethyl-	21.897	0.43
13	(+)-3-Carene, 10-(acetylmethyl)-	22.399	1.44



شكل (رقم: 38): كروماتوغرام غازي (Chromatogramme de gaz) للزيت الأساسي

للجزء الهوائي لنبتة: *Chrysanthemum fuscatum*

تابع لجدول (رقم: 26): المركبات الكيميائية للزيت الأساسي

للجزء الهوائي لنبتة: *Chrysanthemum fuscatum*

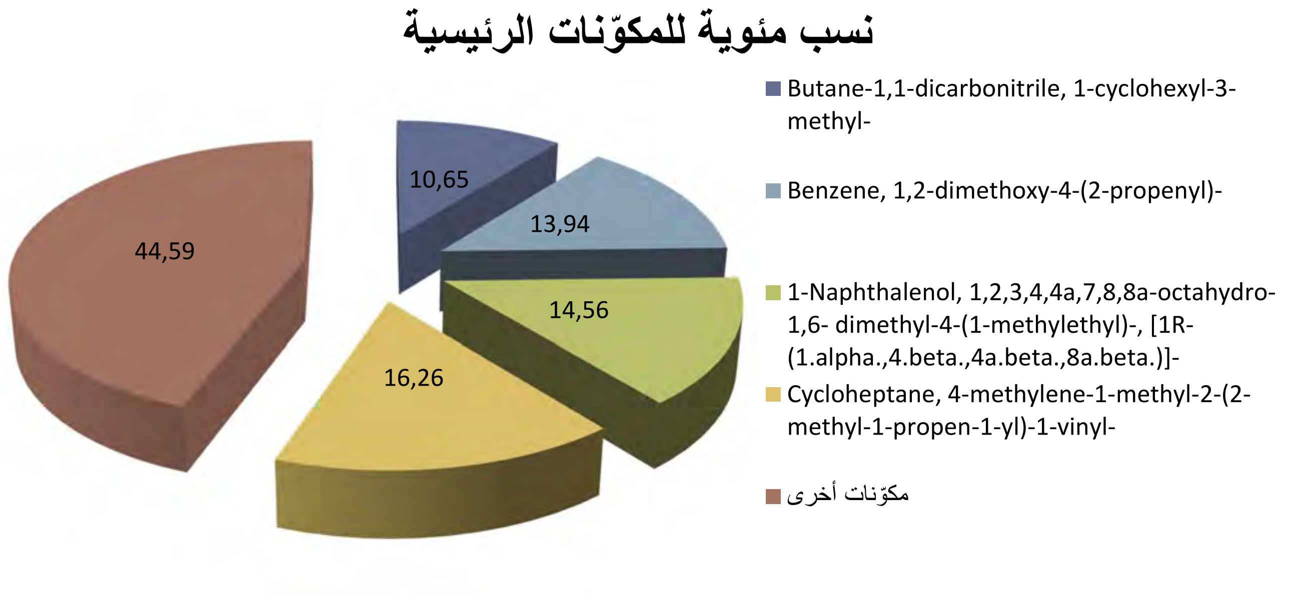
Pic	Composés	TR	%
14	Estran-3-one, 17-(acetyloxy)-2-methyl-, (2.alpha.,5.alpha.,17.beta.)-	22.689	1.26
15	Acetic acid, 2-[4-(4-oxo-2-thioxothiazol-5-ylidenemethyl)phenoxy]-, ethyl ester	23.371	0.24
16	Bicyclo[4.1.0]heptane, 7-methylene-	24.107	0.11
17	tert-Butyl cyclopropylmethyl sulfoxide	25.013	0.14
18	Benzene, (1-methyl-1-propylpentyl)-	25.813	0.15
19	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, propanoate	26.009	5.55
20	Bicyclo[3.1.1]hept-3-ene, 2-formylmethyl-4,6,6-trimethyl-	26.226	5.36
21	1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]-	26.698	3.56
22	1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-	26.914	0.52
23	.alpha.-Cubebene	27.302	3.64
24	Cycloheptane, 4-methylene-1-methyl-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)-1-vinyl-	28.276	16.26
25	Bicyclo[4.1.0]-3-heptene, 2-isopropenyl-5-isopropyl-7,7-dimethyl-	29.486	0.68
26	Butane-1,1-dicarbonitrile, 1-cyclohexyl-3-methyl-	30.617	10.65
27	trans-Z-.alpha.-Bisabolene epoxide	31.002	5.10
28	(+)-3-Carene, 2-(acetylmethyl)-	31.690	2.74
29	Copaene	32.416	0.33
30	1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6- dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,4.beta.,4a.beta.,8a.beta.)]-	32.849	14.56

تابع لجدول (رقم: 26): المركبات الكيميائية للزيت الأساسي

للجزء الهوائي لنبتة: *Chrysanthemum fuscatum*

Pic	Composés	T R	Area %
31	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]-	33.186	0.60
32	2-Furanmethanol, tetrahydro-.alpha.,.alpha.,5-trimethyl-5-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-, [2S-[2.alpha.,5.beta.(R@)]]-	33.586	0.94
33	Octane, 1-chloro-	34.310	0.25
34	Benzene, (1-methyldodecyl)-	34.480	0.19
35	Fenproporex	34.587	0.10
36	Tetrahydrofurfuryl acrylate	36.349	0.08
37	Nonane, 5-methyl-5-propyl-	39.137	0.13
38	1-Phenyl-1-nonyne	39.371	0.45
39	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	39.508	0.53
40	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	39.782	3.06
41	4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, acetate, (R)-	39.974	0.33
42	Oxalic acid, dineopentyl ester	41.505	0.14
43	Hexanoic acid, 2-methyl-	41.692	0.25
44	3-Pentanol, 2,4-dimethyl- 73.00	42.674	0.26
Total		100 %	

تم التعرف على 44 مركب مبيّن في الجدول (رقم: 26) من مجمل مكوّنات الزيت الكلي الذي يحتوي مركبات عديدة بنسب متباينة تتزايد نسبة تواجدها من (0.08 %) لتصل نسبتها إلى (16.26 %) من بينها مركبين تفوق نسبة كل واحد منهما 5 % وهما : Bicyclo[3.1.1]hept-3-ene, 2-formylmethyl-4,6,6-trimethyl- (5.36 %) و 2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, propanoate (5.55 %) بالإضافة لمركبات بنسب معتبرة تعتبر مكوّنات رئيسية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum fuscatum* تمثل (55.41 %) ، هذه المركبات تتواجد بنسب متباينة ومتزايدة تشمل المركبات الكيميائية : Butane-1,1-dicarbonitrile, 1-cyclohexyl-3-methyl- (10.65 %)، Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (13.94 %)، 1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6- dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,4.beta.,4a.beta.,8a.beta.)]- (14.56 %) و Cycloheptane, 4-methylene-1-methyl-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)-1-vinyl- (16.26 %) والشكل الإحصائي (رقم: 39) يوضّح ذلك.

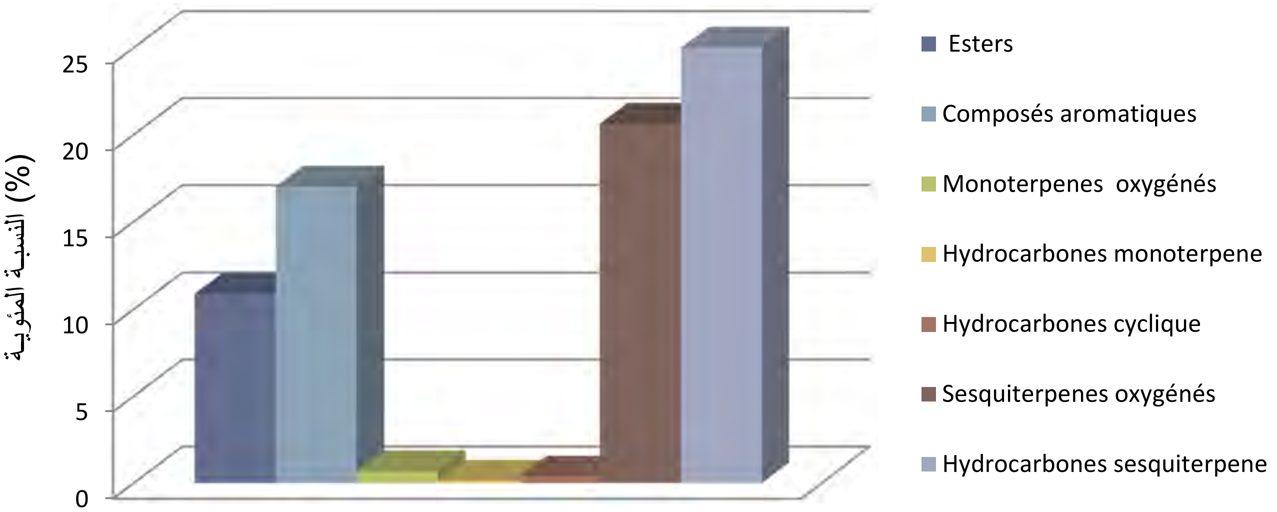


شكل (رقم: 39): المكونات الرّئيسية (Constituants majoritaires)
للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum fuscatum*

التقسيم الكيميائي لمختلف مكوّنات الزيت الأساسي لنبتة *C. fuscatum* المبيّن في الجدول (رقم: 27) يوضح بأنّ مجموعة Sesquiterpènes بنوعيها (التربينات النصف ثلاثية الأوكسيجينية و التربينات الهيدروكربونية النصف ثلاثية) احتلت النسبة الكبرى، تليها المركبات العطرية بنسبة (17.01 %) ثم مركبات الأستر بنسبة (10.88%) مع تسجيل تواجد التربينات الهيدروكربونية الأحادية و التربينات الأحادية الأوكسيجينية بمجموع نسبة ضعيفة مساوية (1.04 %) وأعمدة هيستوغرام شكل (رقم: 40) توضح تواجد أهم مجموعات مكوّنات الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. fuscatum*.

جدول (رقم: 27): التقسيم الكيميائي لمكوّنات الزيت الأساسي
للجزء الهوائي لنبتة: *Chrysanthemum fuscatum*

Composés	%
Esters	10,88
Composés aromatiques	17,01
Monoterpenes oxygénés	0,67
Hydrocarbones monoterpene	0,14
Hydrocarbones cycliques	0,37
Sesquiterpenes oxygénés	20,62
Hydrocarbones Sesquiterpene	24,99
Aldéhydes	5,47
Cétones	8,34
Alcools	0,43
Acides	0,25
Autres	12,46

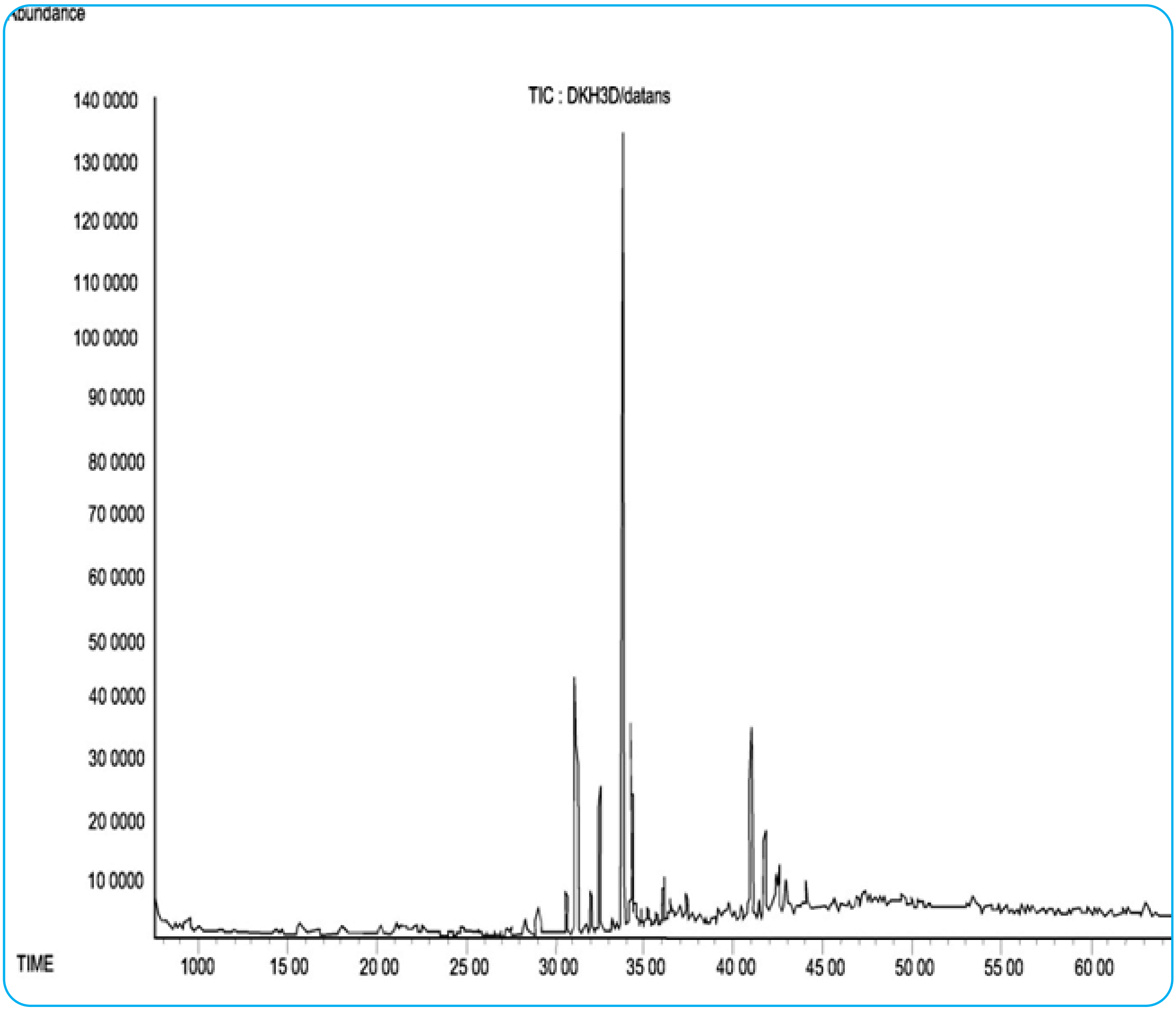


شكل (رقم: 40): هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي
للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum fuscatum*

2 – 3 – تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum reboudianum*:

تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum reboudianum* أعطت كروماتوغرام غازي مبيّن في الشكل (رقم:41) الآتي:

نستنتج من الكروماتوغرام الغازي المبيّن في الشكل (رقم: 41) و الجدول (رقم: 28) المركبات الكيميائية المكوّنة للزيت الأساسي لأزهار نبتة *Chrysanthemum reboudianum*، نسبتها المئوية (%)، زمن احتباسها (TR) ومؤشرات الاستبقاء (RI) وهي مدرجة حسب أوقات الاحتفاظ بها. نتائج محتوى الزيت الأساسي لهذه العيّنة النباتية موضّحة في الجدول (رقم: 28) الآتي:



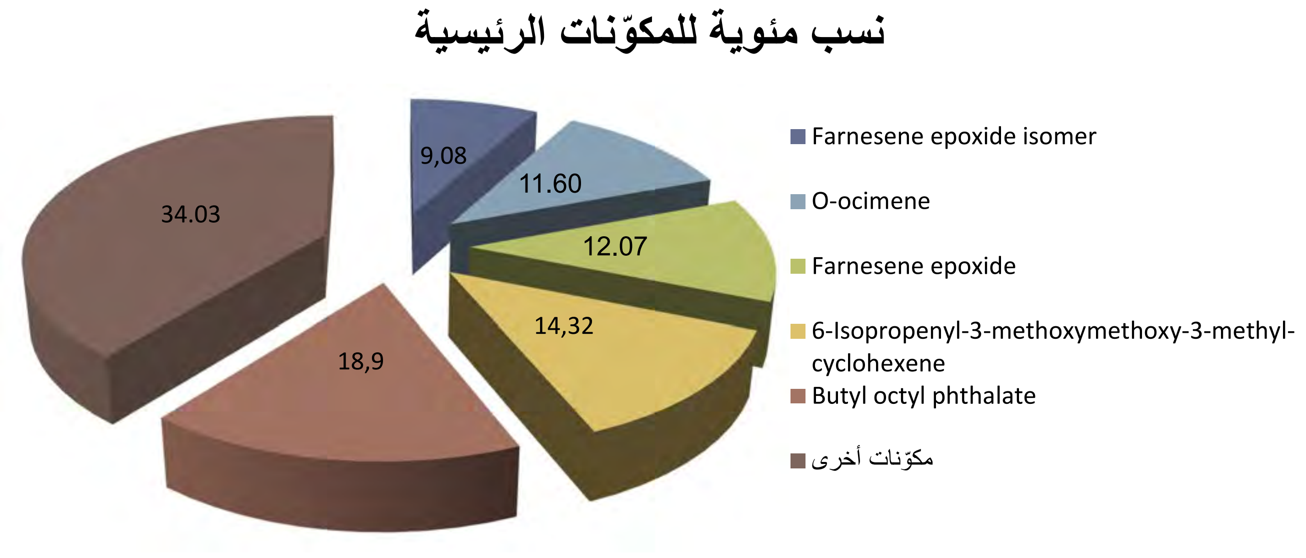
شكل (رقم: 41): كروماتوغرام غازي للزيت الأساسي

للجزء الهوائي لنبتة: *Chrysanthemum reboudianum*

جدول (رقم: 28): المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لنبتة *Chrysanthemum reboudianum*

Pic	Composés	TR	RI	%
1	Butyl hydroxyl toluene	30.665	2.55	2.03
2	Farnesene epoxide	31.104	11.72	12.07
3	Farnesene epoxide isomer	31.230	9.30	9.08
4	Butyl hydroxyl toluene	32.022	2.16	2.82
5	6-Isopropenyl-3-methoxymethoxy-3-methyl-cyclohexene	32.514	6.68	14.32
6	trans-Pinocarveol	33.790	35.40	9.08
7	o-ocimene	34.284	12.08	11.60
8	tau-Muurolol	36.065	2.79	3.35
9	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	40.962	8.64	1.65
10	Butyl octyl phthalate	41.749	4.20	18.90
11	1H-Indene-1,3(2H)-dione,2-(2-methylpropylidene)-	42.566	2.48	5.22
Total				90,13 %

تعرّفنا على 10 مركبات مبيّنة في الجدول (رقم: 28) تمثل نسبة (90.13 %) من مجمل مكوّنات الزيت الكلي الذي يحتوي مركبات بنسب متباينة تتزايد نسبة تواجدها من (2.03 %) إلى (18.90 %) من بينها توجد مركبات بنسب مئوية معتبرة تعتبر مكوّنات رئيسية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum reboudianum* تمثل (65.97 %) وهي المركبات الكيميائية الآتية: Farnesene epoxide isomer (9.08 %) ، O-ocimene (11.60 %)، Farnesene epoxide (12.07 %)، 6-Isopropenyl-3-methoxymethoxy-3-methyl-cyclohexene (14.32 %) و Butyl octyl phthalate (18.90 %) موضحة بالشكل الإحصائي (رقم: 42) الآتي:

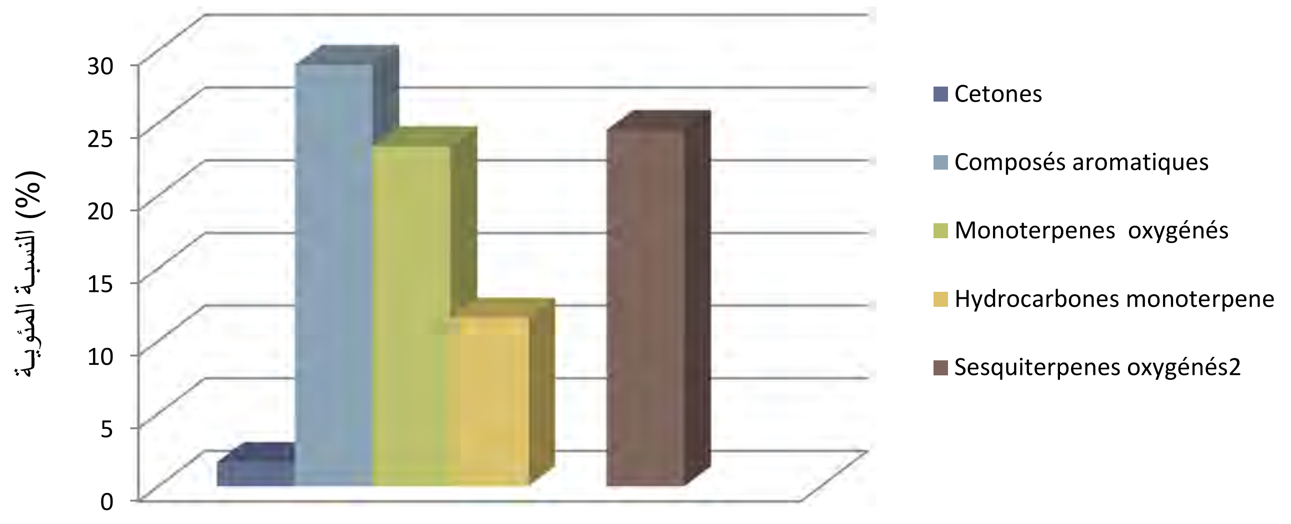


شكل (رقم: 42): المكونات الرّئيسية (Constituants majoritaires)
للزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum reboudianum*

التقسيم الكيميائي لمختلف مكوّنات الزيت الأساسي لنبتة *C. reboudianum* المبيّن في الجدول (رقم: 29) يوضح بأنّ التربينات الأحادية متواجدة بنوعيها: التربينات الأحادية الهيدروكربونية بنسبة (11.60 %)، و التربينات الأحادية الأكسجينية بنسبة (23.40 %) ممّا يمكنها من بلوغ نسبة مئوية مرتفعة (35.00 %) تليها المركبات العطرية بنسبة (28.97 %) ثم التربينات النصف ثلاثية بنسبة (24.50 %) بينما نلاحظ تواجد المركبات الكيتونية بنسبة ضعيفة (1.65 %) وأعمدة هيستوغرام (شكل رقم: 43) توضح تواجد أهم مجموعات مكوّنات الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *C. reboudianum*.

جدول (رقم: 29): التقسيم الكيميائي لمكوّنات الزيت الأساسي
للجزء الهوائي لنبتة: *Chrysanthemum reboudianum*

Composés	%
Composés aromatiques	28.97
Monoterpenes oxygénés	23.40
Hydrocarbones monoterpene	11.60
Sesquiterpenes oxygénés	24.50
Cétones	1.65
Autres	9.87



شكل (رقم: 43): هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي
للجزء الهوائي لنبتة *Chrysanthemum reboudianum*

بيّنت نتائج الاستخلاص أنّ أزهار نبتة *Oa* و الجزء الهوائي لجنس *Chrysanthemum* بنوعيه *Cf* و*Cr* تحتوي على زيوت أساسية بمردود متقارب يساوي على الترتيب 2,25 %، 2,30 % و 1,97 %، يعبّر عن النسبة المئوية (%) بين كمية الزيت المستخلصة والكتلة الجافة للعيّنة المستعملة.

نتائج تحليل GC/MS لأزهار *Oa* أدّت إلى تحديد والتعرّف على 21 مركب يكوّن خليط غني بالتربينات (61,73 %) و المركبات العطرية (25,23 %) من مجموع المركبات المفصولة، زيتها الأساسي يتكوّن من المركبات الرئيسية المبيّنة في الشكل (رقم: 36) تختلف عن الزيوت الرئيسية المحدّدة لبعض أنواع جنس *Ormenis* (*=Santolina=*): *Santolina Chamaecyparisas* النامي بفرنسا و *Santolina Chamaecyparisas* النامي بالجزائر ***(Iglesias et al., 1973)*** و ***(Garg, 2001)*** لكنّها تشترك مع هذين النوعين ومع نوع *Santolina africana* النامية بالجزائر في مكوّنات أخرى هي: Myrcène، P-Cimène، Limonène، Linalool و α-pinène. نفسّر اختلاف التركيب الكيميائي بين زيوت جنس *Ormenis* بتنوعه البيولوجي نتيجة ارتباط أيضه البيوكيميائي بالأصل الجغرافي، الشروط البيئية و المناخية، طرق استخلاصه والجهاز المستعمل بالإضافة إلى شروط التحليل الفيزيائي ***(Giner et al., 1993)*** و ***(Padrini et Lucheroni, 1996)***.

نتائج تحليل GC/MS للجزء الهوائي للنبتتين *Cf* و*Cr* أدّت على الترتيب إلى تحديد والتعرّف على 44 مركب و12 مركب. الزيت الأساسي للعيّنتين *Cf* و*Cr* يحتوي على مركبات عطرية تقدّر على الترتيب بـ: (17,01 %) و (28,97 %) بذلك تعتبر غنية بالتربينات مع اختلاف نوعها، النبتة *Cf* تحتوي على التربينات النصف ثلاثية بنوعيها (الأوكسيجينية و الهيدروكربونية) تمثل (45,61 %) من مجموع المركبات المفصولة بينما النبتة *Cr* تحتوي على تربينات أحادية بنوعيها (الهيدروكربونية و الأوكسيجينية) و تربينات نصف ثلاثية أوكسيجينية بمجموع (59,50 %) من بين المركبات المفصولة وهذا موافق مع طبيعة مكوّنات الزيت الأساسي لجنس *Chrysanthemum* خصوصا النوعين:

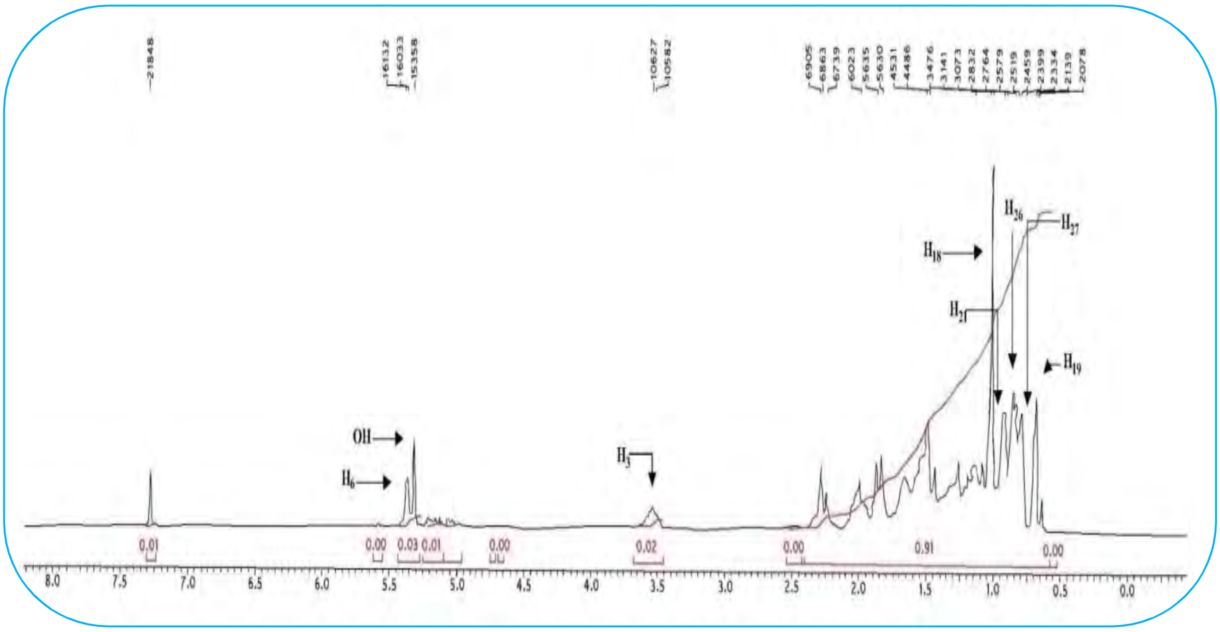
C. viscidehirdum (***Khallouki et al., 2000***) و *C. macrocarpum* ***(Boutaghane et al., 2008)***.

المكوّنات الرّئيسية للزيت الأساسي للنوعين *Cf* و*Cr* المبيّنة على الترتيب في الشكل (رقم: 39) و الشكل (رقم: 42) تختلف فيما بينها وهذا موافق مع اختلاف المكوّنات الرّئيسية لمختلف الزيوت الأساسية المدروسة و المذكورة ببليوغرافيا لبعض أنواع هذا الجنس: *C. coronarium* ***(Alvarez-Castellanos et al., 2001)***، *C. yoshinaganthum* ***(Uchio et al., 1981)*** و *C.indicum* ***(Shunying et al., 2005)***.

3 – التحليل البنيوي للمركبات المفصولة من أزهار نبتة *Ormenis africana*:

3 – 1 – التحليل البنيوي للمركب *B* :

مطيافية الرّنين المغناطيسي النّووي للبروتون ^{1}H- RMN المسجّل في $CDCl_3$ للمركب ***B*** مبيّن في الشكل (رقم: 44):



شكل (رقم: 44): طيف البروتون ^{1}H- RMN المسجّل في $CDCl_3$ للمركب ***B***

نلاحظ بأنّ طيف البروتون ^{1}H- RMN للمركب B يوضح ما يلي:

- عند انزياح كيميائي $\delta = 0,61$ ppm نلاحظ إشارة أحادية بتكامل 3H يمكن أن تنسب إلى مجموعة الميثيل CH_3-18.

- عند $\delta = 0,74$ ppm ($J = 7,0$ Hz) و $\delta = 0,77$ ppm ($J = 7,3$ Hz) نلاحظ إشارتين ثنائيتين بتكامل 3H يمكن إسنادهما على التوالي إلى مجموعتي الميثيل CH_3-26 و CH_3-27 المكوّنة لمجموعة الإيزوبروبيل (و هي غير متكافئة مغناطيسيا نظرا لاتصالها بكربون مجاور لمركز كيرالي (C-24)).

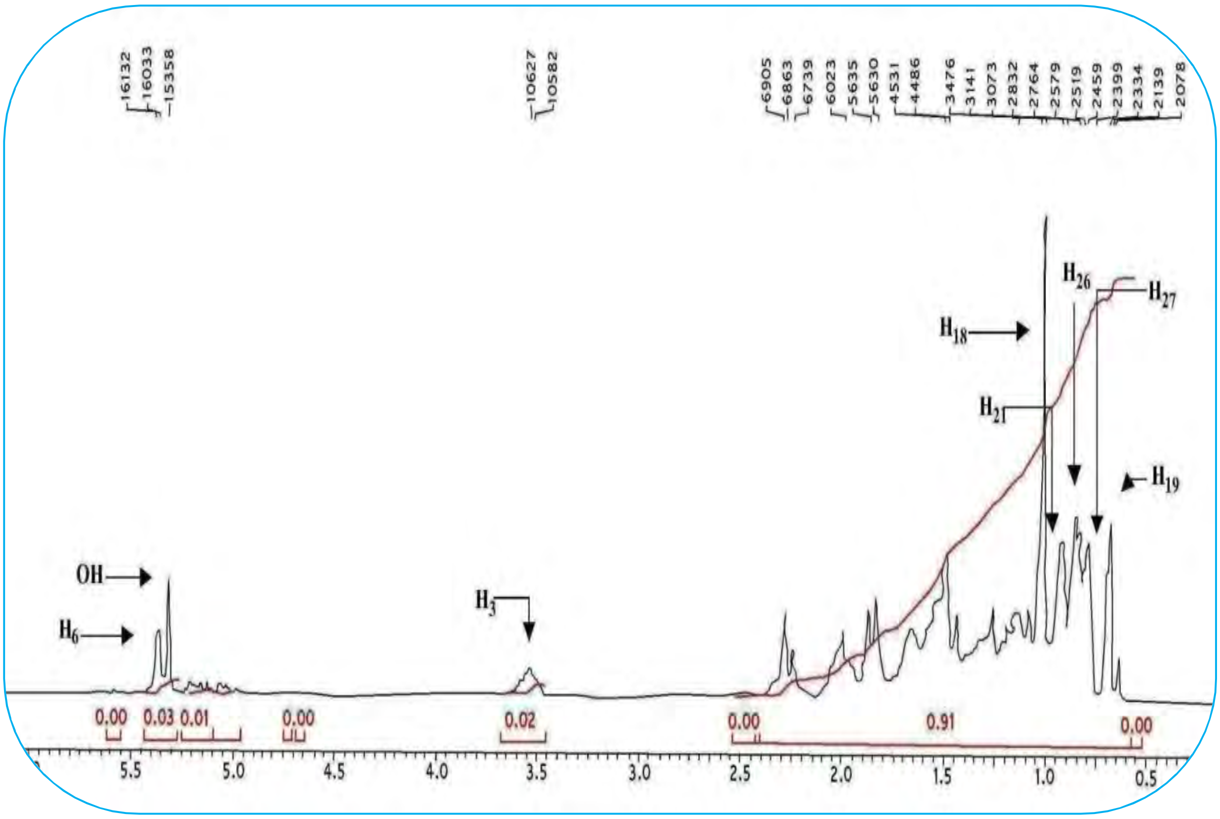
- عند $(J = 6,6\ Hz)$ $\delta = 0,81\ ppm$ نلاحظ إشارة ثلاثية بتكامل 3H حيث يمكن إسنادها إلى CH_3-29.

- عند $(J = 6,4\ Hz)$ $\delta = 0,85\ ppm$ نلاحظ إشارة ثنائية بتكامل 3H حيث يمكن إسنادها إلى CH_3-21.

- عند $(J = 6,4\ Hz)$ $\delta = 0,94\ ppm$ نلاحظ إشارة أحادية بتكامل 3H حيث يمكن إسنادها إلى CH_3-19.

- عند $(J = 6,4\ Hz)$ $\delta = 3,46\ ppm$ نلاحظ إشارة متعددة بتكامل 1H حيث تسند فقط إلى بروتون يكون متصل بكربون مؤكسج يمثل H-3 لمركب الستيرول.

- عند $(J = 5,1\ Hz)$ $\delta = 5,35\ ppm$ نلاحظ ثنائي عريض بتكامل 1H تكون موافقة للبروتون الإثيليني H-6 .



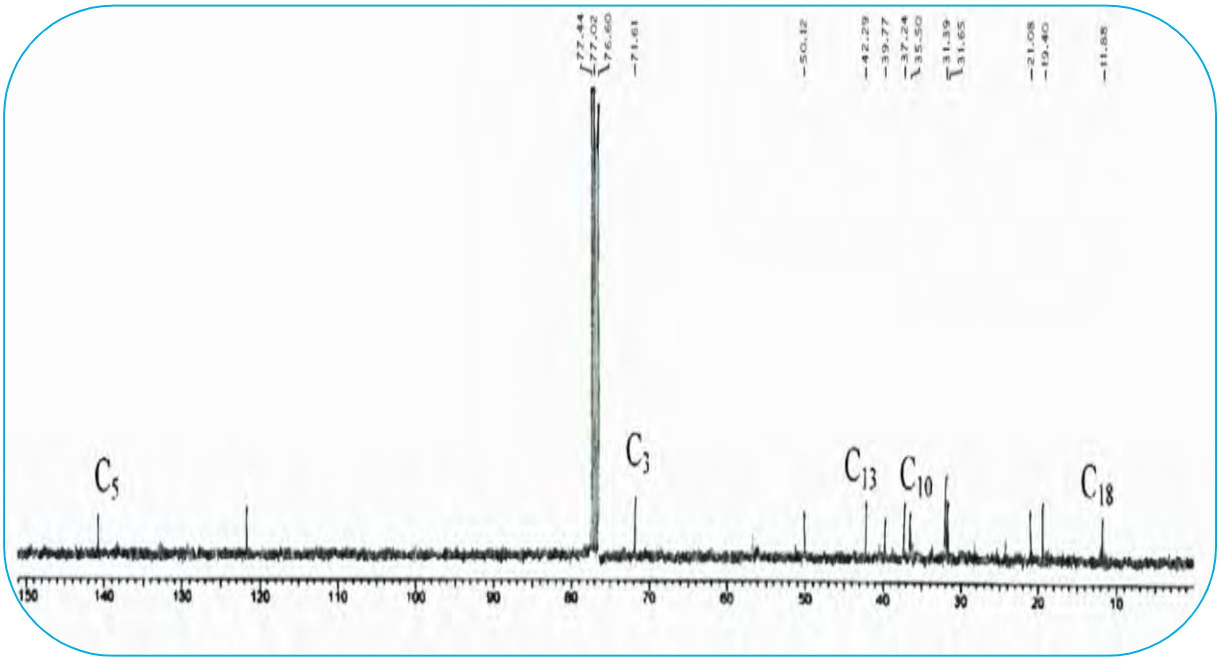
تابع للشكل (رقم: 44): تكبير طيف البروتون ^{1}H- RMN المسجّل في $CDCl_3$ للمركب ***B***

بعد هذه القراءة نلخص معطيات طيف البروتون ^{1}H- RMN المسجّل في $CDCl_3$ للمركب B في الجدول (رقم: 30) الآتي:

جدول (رقم: 30): نتائج طيف البروتون ^{1}H- RMN للمركب ***B***

الإنزياح الكيميائي δ (ppm)	***J*** (Hz)	التكامل	التعددية	التعيين
0,61	-	3H	s	CH_3-18
0,74	(7,0)	3H	d	CH_3-26
0,77	(7,3)	3H	d	CH_3-27
0,81	(6,6)	3H	t	CH_3-29
0,85	(6,4)	3H	d	CH_3-21
0,94	-	3H	s	CH_3-19
5,35	(5,1)	1H	brd	H-6
3,46	-	1H	m	H-3

مطيافية الرّنين المغناطيسي للكربون ^{13}C- RMN المسجّل في $CDCl_3$ للمركب ***B*** مبيّن في الشكل (رقم: 45) الآتي:



شكل (رقم: 45): طيف الكربون ^{13}C- RMN المسجّل في $CDCl_3$ للمركب ***B***

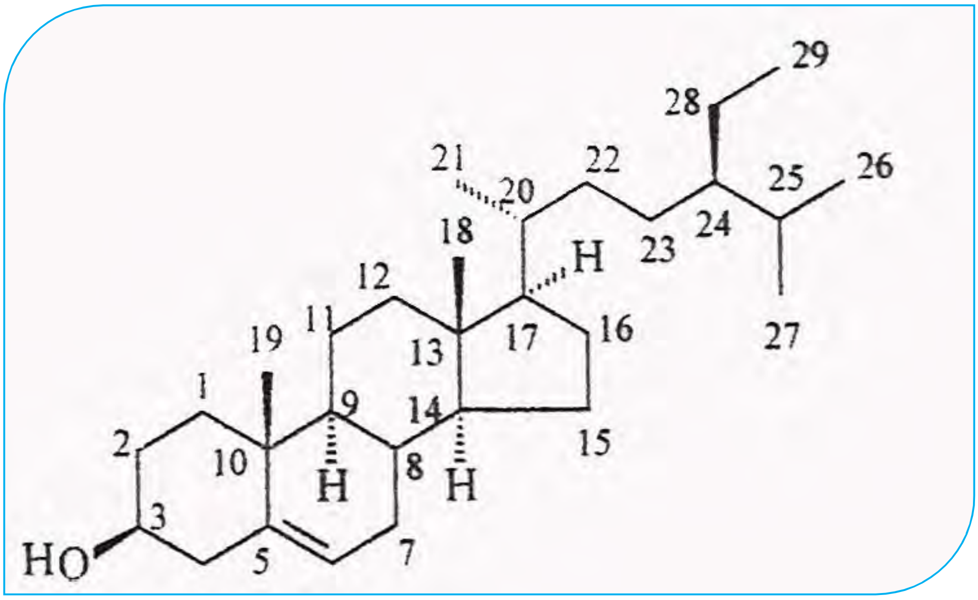
فحص الشكل (رقم: 45) يبيّن وجود 29 ذرة كربون، موزعة على إشارات تسجيل طيف كربون المركب ***B*** حيث نلاحظ :

- عند انزياح كيميائي $\delta = 12,00$ ppm إشارة تنسب إلى C_{18}،

- ثلاث كربونات رباعية عند $\delta = 36,50$ ppm ، $\delta = 42,39$ ppm و $\delta = 140,75$ ppm تنسب بالترتيب إلى الكربونات رقم: C_{10} ، C_{13} و C_5 .

- عند $\delta = 71,81$ ppm إشارة خاصة بالكربون C_3 الحامل لمجموعة الهيدروكسيل وعند انزياح كيميائي $\delta = 121,73$ ppm إشارة خاصة تنسب إلى الكربون الإيثيلي C_6.

مقارنة هذه النتائج مع المعطيات البيبليوغرافية ***(Akihisa et al., 1987)*** و ***(Saxena et Albert, 2005)*** تؤدي إلى جزيء من نوع β - Sitostérol ذو البنية الكيميائية الموضحة في الشكل (رقم: 46) الذي يعتبر مركب مشترك لمختلف النجميات وتم عزله من عدّة أجناس منها جنس *Chrysanthemum* ***(Mahato et Kundu, 1994)*** وحسب المراجع المتوفرة لدينا لم يعزل سابقا من نبتة *Ormenis africana* المحلية بالجزائر.



شكل (رقم: 46): البنية الكيميائية للمركب β - Sitostérol

3 – 2 – التحليل البنيوي للمركب *L* :

لون المركب تحت مصباح (UV) بنفسجي وقيمة العصابة (I) 348 nm في الميثانول تدل على أنّه فلافون أو فلافونول مستبدل في الموقع (3) كما توضح السلسلة الطيفية فوق بنفسجية للمركب *L* المبيّنة في الشكل (رقم: 47).

عند إضافة كاشف (NaOH) إلى محلول المركب في الميثانول يلاحظ انزياح باتوكرومي للعصابة (I) بمقدار $\Delta \lambda$=45nm دون نقصان في الشدة، هذا يعني وجود هيدروكسيل (OH) حر في الموقع ('4) ، في حين عدم ظهور عصابة جديدة بين (320 و 330) nm يوحي لنا بأنّ الموقع (7) ليس حرّا ونتأكد من ذلك عندما نلاحظ عدم تغيير قيمة العصابة (II) بعد إضافة كاشف NaOAc إلى محلول المركب المنحل في الميثانول.

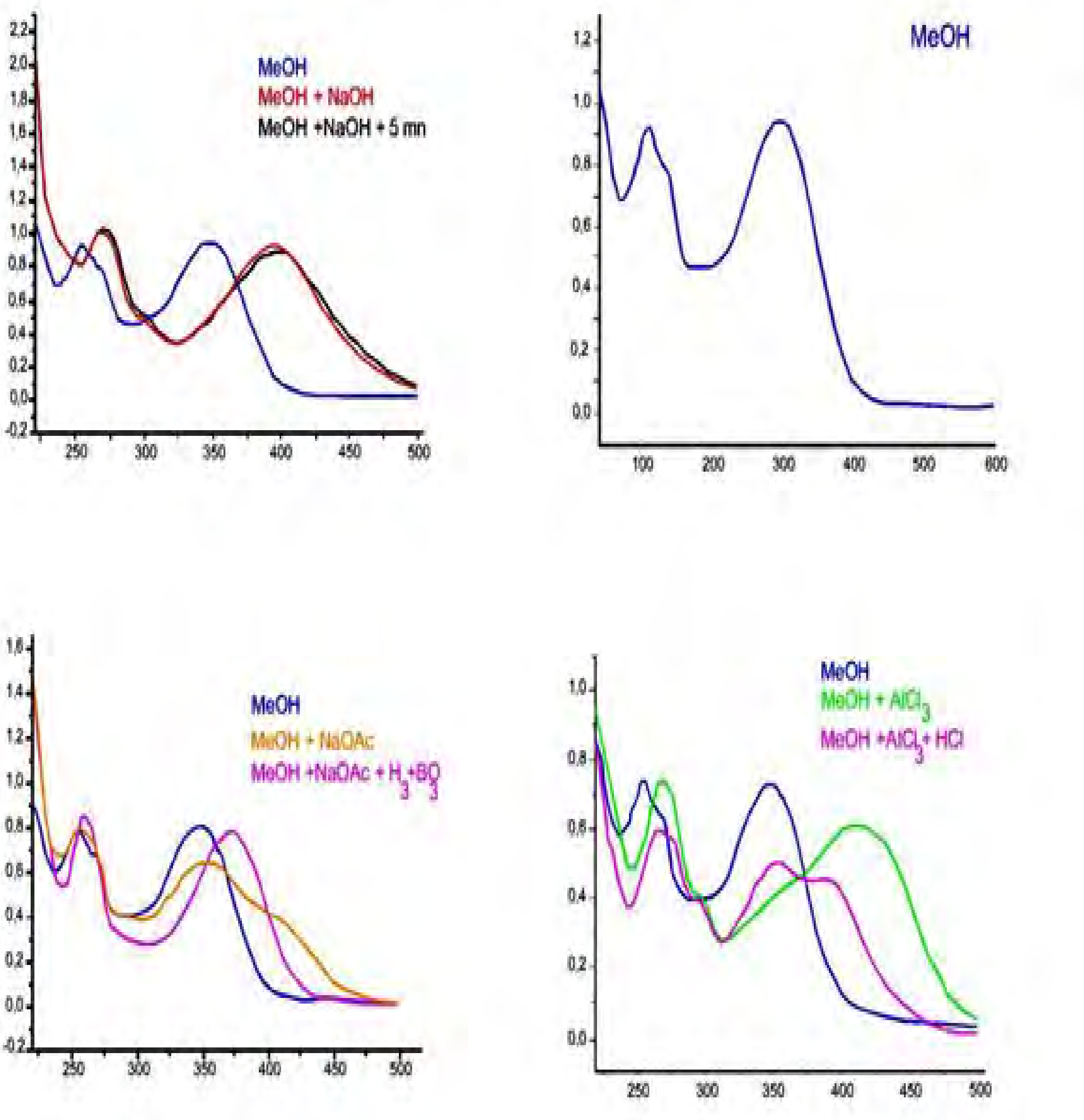
الإزاحة الهيسوكرومية للعصابة (I) والملاحظة بعد إضافة كاشف HCl إلى محلول المركب في ($MeOH/AlCl_3$) والمقدرة بـ $\Delta \lambda$= 60 nm تدل على وجود ثنائي هيدروكسيل على الحلقة (B) ويؤكد ذلك الطيف المسجّل في (H_3BO_3 + NaOAc) مقارنة مع طيف (NaOAc) حيث نلاحظ انزياح للعصابة بمقدار $\Delta \lambda$= 23 nm.

أمّا وجود مجموعة هيدروكسيل حر (OH) في الموقع (5) فنستدل عليه بمقارنة طيف ($AlCl_3$ + HCl) بطيف المركب في الميثانول حيث نلاحظ انزياح للعصابة (I) بمقدار 72 nm $\Delta \lambda$=.

نلخص معطيات طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب **L** في الجدول (رقم: 31) الآتي:

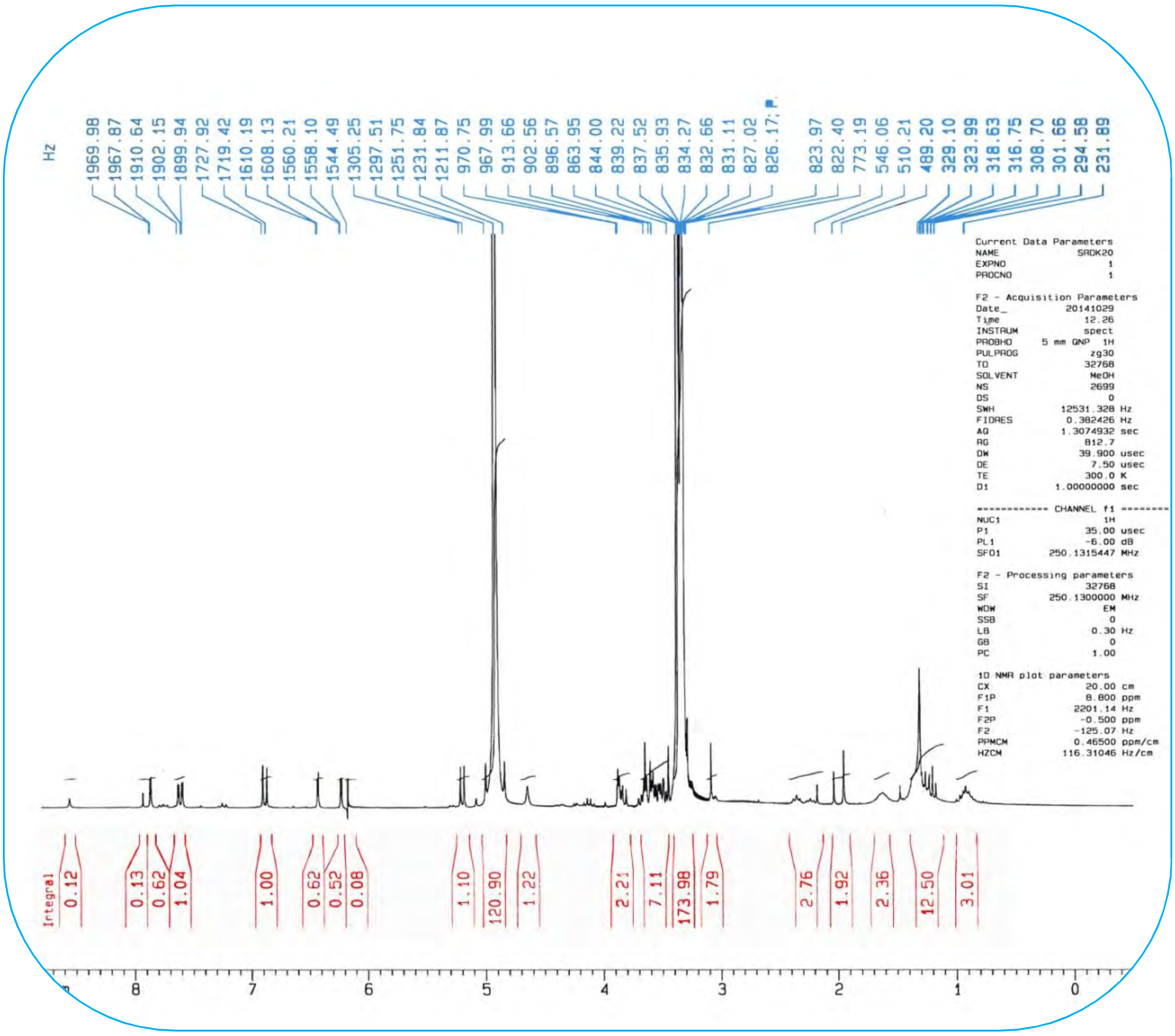
جدول (رقم: 31): نتائج مطيافية الأشعة فوق بنفسجية (UV) للمركب L

الكواشف	العصابة I (nm)	العصابة II (nm)	قمم(nm)
MeOH	348	248	268
NaOH	394	271	-
NaOH + ' 5		بعد 5 دقائق: مستقر	
NaOAc	350	254	480
NaOAc + H_3BO_3	371	260	-
$AClCl_3$	412	270	295
$AlCl_3$ + HCl	352	268	296



شكل (رقم: 47): السلسلة الطيفية فوق بنفسجية**(UV)** للمركب ***L***

مطيافية الرّنين النووي المغناطيسي للبروتون ($RMN-{}^{1}H$) المسجّل في $CDCl_3$ للمركب ***L*** مبيّنة في الشكل (رقم: 48) و ملخصة في الجدول (رقم: 32) التاليين على الترتيب:

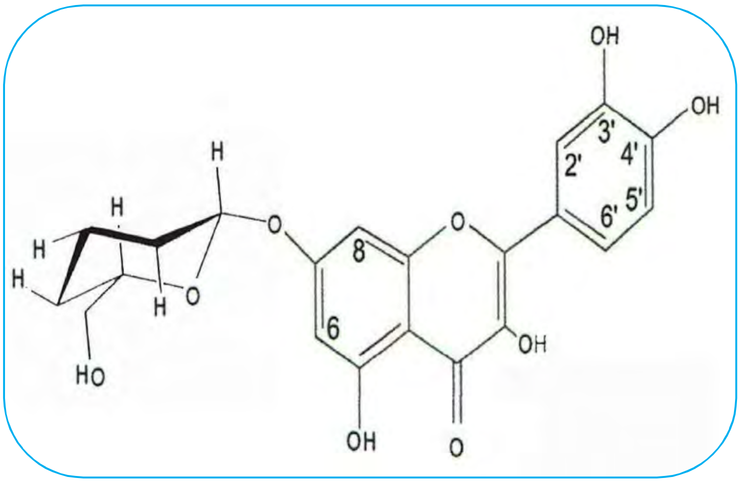


شكل (رقم: 48): طيف البروتون $NMR-{}^{1}H$ للمركب ***L***

جدول (رقم: 32): نتائج مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (RMN- ^{1}H) للمركب ***L***

الإزاحة الكيميائية δ(ppm)	ثابت التزاوج *J* (Hz)	التكامل	التعددية	البروتون الموافق (التعيين)
7,89	2,0	1H	d	H-´2
7,62	(8,5 , 2)	1H	d d	H-´6
6,89	8,5	1H	d	H-´5
6,48	2,0	1H	d	H_8
6,25	2,0	1H	d	H_6
6,17	-	-	-	H_3
5,18	7,74	1H	d	H-˝1 glu
3,40 - 4,00	-	-	-	بروتونات السكر

من خلال نتائج مطيافية السلسلة الطيفية للأشعة فوق بنفسجية المبيّنة في الجدول (رقم: 31) و معطيات نتائج مطيافية الرّنين النووي المغناطيسي للبروتون (RMN- ^{1}H) للمركب ***L*** *المبيّنة في الجدول* (رقم: 32) التي تساهم في تدعيم اقتراح الصيغة وتؤكد موقع نزع السكر، نستطيع اقتراح صيغة للجزيء ***L*** تكون موضحة في الشكل (رقم: 49) كما يلي:



شكل (رقم: 49): البنية الكيميائية للمركب *Luteolin-7-O-glucoside*

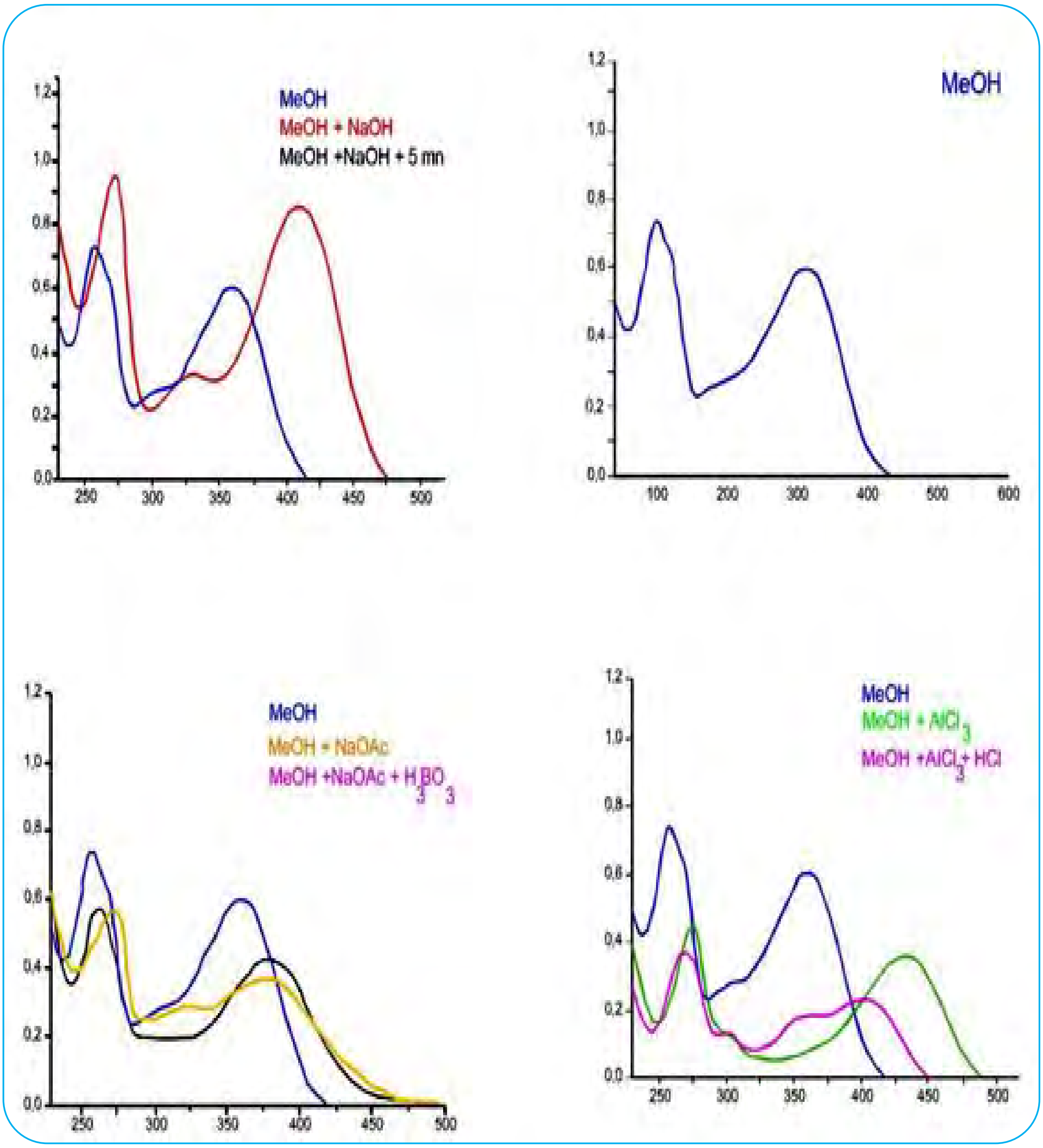
مقارنة نتائج مطيافية السلسلة الطيفية و معطيات نتائج مطيافية الرّنين النووي المغناطيسي للبروتون ($RMN-^1H$) للمركب ***L*** مع المعطيات البيبليوغرافية التي تثبت عزل مثل هذا المركب في العديد من أنواع جنس *Chrysanthemum*:
C. segetum و *C. coronarium* ***(Harbon, 1970)*** و *C. morifolium* ***(Hu et al., 1994)***
يكون المركب ***L*** المعزول من *Ormenis africana* المحلية مطابقا تماما للبنية الكيميائية المبيّنة في الشكل (رقم: 49) أعلاه.

3 – 3 – التحليل البنيوي للمركب *Q* :

لون المركب تحت مصباح (UV) بنفسجي- أسود (Dark purple) وقيمة العصابة (I) 360 nm في الميثانول المبيّنة في الشكل (رقم: 50) تدل على أنّه فلافونول مستبدل في الموقع (**3**).

عند إضافة كاشف (NaOH) إلى محلول المركب في الميثانول يلاحظ انزياح باتوكرومي للعصابة (I) بمقدار λ=49nm هذا يعني وجود هيدروكسيل (OH) حر في الموقع (**4'**) و ظهور قمّة عند 323 nm تدل على وجود هيدروكسيل حر في الموقع (**7**).

الإزاحة الباتوكرومية للعصابة (I) والملاحظة بعد إضافة ($AlCl_3$ + HCl) إلى محلول المركب في الميثانول بمقدار $\Delta\lambda$= 42 nm تدل على وجود هيدروكسيل حر في الموقع (5') ، نلاحظ كذلك إزاحة هيبسوكرومية لهذه العصابة مقدرة بـ $\Delta\lambda$ = - 29 nm نتيجة مقارنة طيف ($AlCl_3$) و ($AlCl_3$ + HCl) التي تشير إلى وجود نظام أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة (B) و هذا يؤكد الانزياح الباتوكرومي لنفس العصابة الملاحظ بعد إضافة (H_3BO_3 + NaOAc) إلى محلول المركب الميثانولي و المقدرة بـ $\Delta\lambda$= 21 nm.



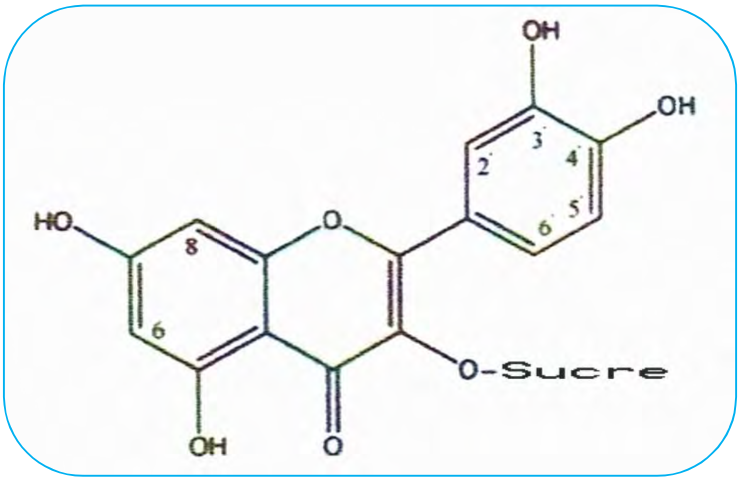
شكل (رقم: 50): السلسلة الطيفية فوق بنفسجية (UV) للمركب ***Q***

معطيات نتائج مطيافية الرنين المغناطيسي النووي للبروتون NMR-^{1}H للمركب ***Q*** مبيّنة في الجدول (رقم: 33) الآتي:

جدول (رقم: 33): نتائج مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون (RMN- ^{1}H) للمركب ***Q***

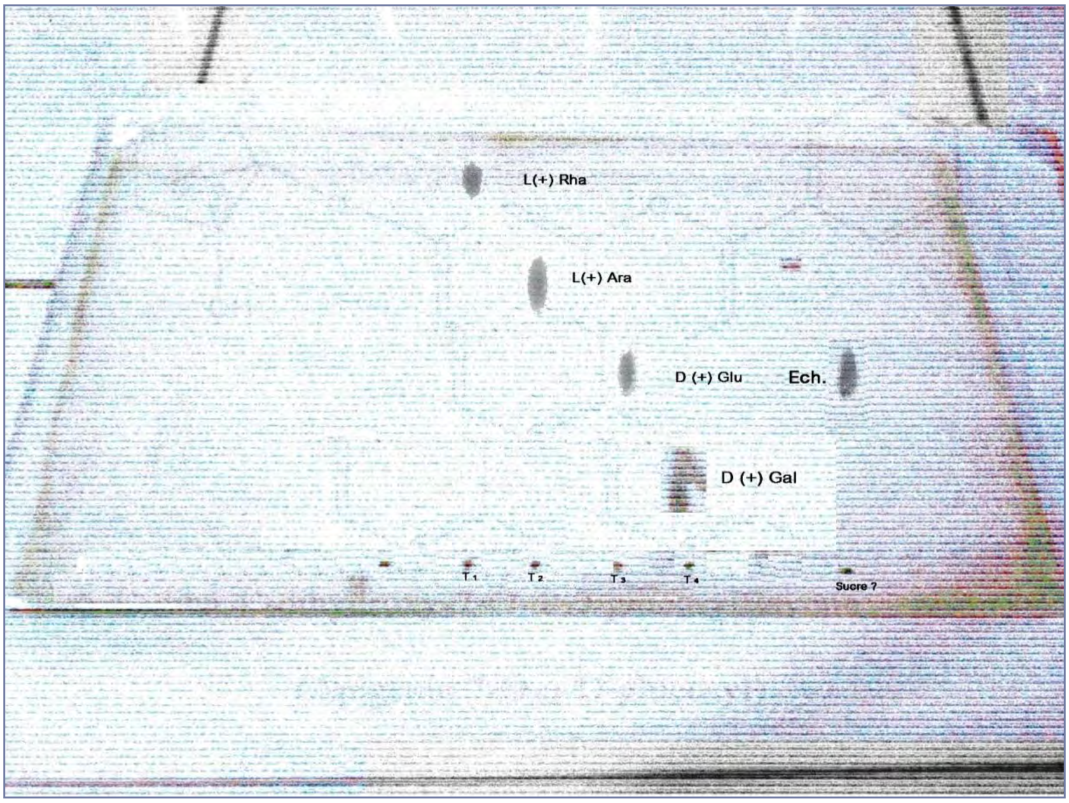
الإزاحة الكيميائية δ(ppm)	ثابت التزاوج *J* (Hz)	التكامل	التعددية	البروتون الموافق (التعيين)
6,25	2,0	1H	d	H'_6
6,40	2,0	1H	d	H_8
6,75	2,5	1H	d	H'_5
7,49	2,0	1H	d	H'_2
7,65	8,5	1H	d d	H'_6
5,35	7,6	1H	d	بروتون Glu أو Gal

رنين هذه البروتونات الخاصة بالحلقتين العطريتين (A) و (B) للجزء الأجليكوني ورنين الجزء السكري للفلافونويد يكون موافقا للمركب *Quercetine-sucre* المبيّن في الشكل (رقم: 51) والذي تم عزله سابقا من أنواع نباتية مختلفة (*Harbone, 1970*)، ***(Cessman et Steelink, 1957)*** و ***(Valant et al., 2003)***.

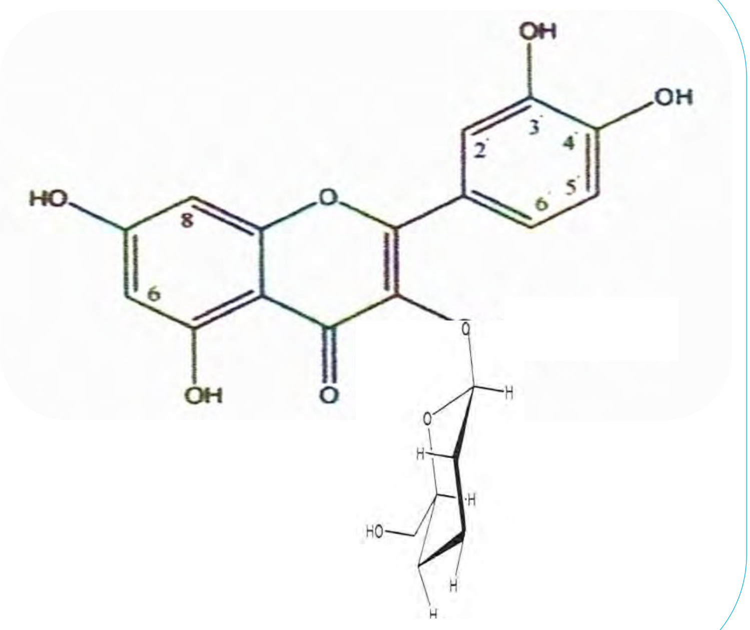


شكل (رقم: 51): البنية الكيميائية للمركب Q-sucre

بعد عملية حلمهة حمضية للمركب Q-sucre و تحرر الجزء السكري المذاب في الطبقة المائية تأكدنا بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) بعد الهجرة وإظهار البقع (Spots) بتفاعل ملوّن مع كاشف مالونات الأنيلين ثم المقارنة مع بعض السكريات الشاهدة و المعروفة (L(+) Rha، L(+) Ara، D(+) Glu و D(+) Gal) وضعت في نفس شروط العيّنة المراد تحديدها من تشخيص السكر المرتبط نظرا لتطابق قيمة Rf العيّنة المساوية لـ 0,53 ولون بقعتها مع قيمة Rf و لون بقعة الشاهد D(+) Glucose المبيّنة في الشكل (رقم: 52) واعتمادا على المرجع ***(Markham, 1982)*** فإنّ الجزء السكري عبارة عن سكر Glucose و بذلك يكون المركب Q-sucre هو Quercetine-3-0-Glucoside الموضح في الشكل (رقم: 53) الآتي:



شكل (رقم: 52): صورة فوتوغرافية لكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للجزء السكري للحلمهة الحمضية للمركب Q-sucre



شكل (رقم: 53): البنية الكيميائية للمركب Quercetine-3-0- Glucoside

4 – دراسة المحتوى الفينولي والفلافونويدي:

4-1 – مردود المستخلصات:

المستخلصات (الهكسانية Hexane، الكلوروفورمية $CHCl_3$، الآسيتات الإيثيلية AcOEt و البيتانولية n-BuOH) للعيّنات النباتية: *Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm* أعطت مردود بنسب مئوية متباينة مسجّلة في الجدول (رقم: 34) الآتي:

جدول (رقم: 34): نتائج مردود المستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و n-BuOH)

للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*)

Cm (%)	*Cr* (%)	*Cf* (%)	*Oa* (%)	العيّنة / المستخلص
جنس *Chrysanthemum*			جنس *Ormenis*	
1,20	0,90	1,48	1,76	Hexane
1,30	0,80	1,00	1,27	$CHCl_3$
1,80	1,00	1,35	1,50	AcOEt
2,10	1,65	1,95	3,41	n-BuOH

تختلف النسب المئوية (%) لقيم مردود المستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و n-BuOH) فيما بينها حسب نوع النبتة والعيّنة.

النسب المئوية (%) لمردود مستخلص $CHCl_3$ للعيّنات (*Cr*، *Cf*، *Oa*) المساوية على الترتيب (0,80 %، 1,00 %، 1,27 %) و النسبة المئوية لمردود مستخلص Hexane للعيّنة (*Cm*) المساوية (1,20 %) أعطت أقل مردود بينما أعطى مستخلص $CHCl_3$ أكبر مردود (1,30 %) للعيّنة (*Cm*) كما سجّل مستخلص Hexane أكبر مردود (1,76 %) للعيّنة (*Oa*).

مستخلص n-BuOH أعطى مردود متزايد تدريجيا أكبر من مردود جميع المستخلصات لجميع العيّنات (*Cr*، *Cf*، *Cm* و *Oa*) يساوي على الترتيب (1,65 %، 1,95 %، 2,10 % و3,41 %)، يليه مردود مستخلص AcOEt الذي يتراوح بين 1,00 % للعيّنة (*Cr*) و 1,80 % للعيّنة (*Cm*).

4 – 2 – نتائج تقدير الفينولات الكلية:

نتائج التقدير الكمي لفينولات المستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و n-BuOH) للعيّنات النباتية: *Oa*، *Cm*، *Cf* و *Cr* المقاسة بتفاعلات تمت في نفس شروط إنجاز المنحنى القياسي لحمض الغاليك الخاص بمعايرة الفينولات مسجّلة في الجدول (رقم: 35) وهي ممثلة بالمعادلة الحسابية ($X = \bar{X} \pm SD$) بحيث $\bar{X}$ هي متوسطات حسابية و SD انحرافات معيارية محسوبة من ثلاثة تكرارات (n = 3)، تم استنتاج مختلف قيّم المحتوى الفلافونويدي من المنحنى البياني للعلاقة:

$DO_i = f([A.Gallique]_{i\ \mu g/ml})$ المبيّن في الشكل (رقم: 31 ، ص رقم: 87) والممثل رياضيا بدالة تآلفية كما يلي:

$DO_i = 00.011\ [_{Phenoles}] + 0.038$ تمثل معادلة انحدار لتغيرات الامتصاصية المقاسة تجريبيا بدلالة التركيزات المحددة لحمض الغاليك بمعامل تحديد $r^2 = 0,982$ و معامل انحدار $r = 0,99$ يؤكدان دقة القياسات، تقدّر كمية الفينولات بالميكروغرام لحمض الغاليك المكافئ لكل ميلي غرام من المستخلص(μ AGE/ mg $_{d'extrai}$).

جدول (رقم: 35): نتائج المحتوى الفينولي للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و n-BuOH)

للأنواع النباتية قيد الدّراسة

المحتوى الفينولي (μ AGE/ mg d'extrai) $X = \bar{X} \pm SD$	المستخلص	العيّنة النباتية
52,30 ± 0,10	Hexane	*O. africana*
62,80 ± 0,20	$CHCl_3$	
135,20 ± 0,06	AcOEt	
176,10 ± 0,11	BuOH	
68,50 ± 0,10	Hexane	*C. fuscatum*
57,40 ± 0,07	$CHCl_3$	
105,20 ± 0,05	AcOEt	
185,20 ± 0,15	BuOH	

تابع للجدول (رقم: 35): نتائج المحتوى الفينولي للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و n-BuOH)

للأنواع النباتية قيد الدّراسة

العيّنة النباتية	المستخلص	المحتوى الفينولي (µ AGE/ mg d'extrai) $X = \overline{X} \pm SD$
C. reboudianum	Hexane	70,10 ± 0,12
	$CHCl_3$	68,00 ± 0,10
	AcOEt	130,20 ± 0,08
	BuOH	140,70 ± 0,06
C. macrocarpum	Hexane	56,70 ± 0,15
	$CHCl_3$	60,50 ± 0,05
	AcOEt	110,20 ± 0,10
	BuOH	160,10 ± 0,02

X: المتوسط الإحصائي $\overline{X}$: المتوسط الحسابي SD: الانحراف المعياري

احتوت العيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) على قيم مختلفة من الفينولات الكليّة مقدّرة بالميكروغرام من حمض الغاليك المكافىء لـ 1 ملي غرام من المستخلص حيث أظهر المستخلص n-BuOH قيم عالية و متفاوتة لجميع العيّنات تتراوح من (0,06 ± 140,70) إلى (0,15 ± 185,20) يليه مستخلص AcOEt بمحتوى فينولي يتزايد تدريجيا كما يلي: (0,05 ± 105,20)، (0,10 ± 110,20)، (0,08 ± 130,20) و (0,06 ± 135,20) يخص على الترتيب العيّنات (*Cf*، *Cm*، *Cr* و *Oa*).

أحتوى مستخلص Hexane أقل كمية من الفينولات الكليّة (0,10 ± 52,30) للعيّنة (*Oa*) أمّا أعلى كمية (0,12 ± 70,10) سجّلت للعيّنة (*Cr*) بينما احتوى *مستخلص* $CHCl_3$ أقل كمية من الفينولات الكليّة (0,07 ± 57.40) للعيّنة (*Cf*) أمّا أعلى كمية (0,08 ± 68,00) سجّلت للعيّنة (*Cr*).

4 – 3 – نتائج تقدير الفلافونويدات الكلية:

نتائج المتوسطات الإحصائية للتقدير الكمي لفلافونيدات المستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للعيّنات النباتية: *Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm* الناتجة عن تفاعلات تمت بنفس شروط إنجاز المنحنى القياسي لمركب الكرستين الخاص بمعايرة الفلافونويدات تم استنتاجها اعتمادا على المنحنى البياني للعلاقة:

$DO_i = f([Quercetine]_{i\ \mu g/ml})$ المبيّن في الشكل (رقم: 32، ص رقم: 87) والممثل رياضيا بدالة تآلفية كما يلي:

$DO_i = 0.033\ [Flavonoïd] + 0.068$، تمثل معادلة انحدار لتغيرات الامتصاصية المقاسة تجريبيا بدلالة التراكيز المحددة لمركب الكرستين بمعامل تحديد $r^2 = 0,991$ و معامل انحدار $r = 0,99$ يؤكدان دقة القياسات، تقدّر كمية الفلافونويدات بالميكروغرام لمركب الـ Quercetine المكافئ لكل ميلي غرام من المستخلص ($\mu QE/\ mg\ _{d'extrait}$) و هي مسجلة في الجدول (رقم: 36) الآتي:

جدول (رقم: 36): نتائج المحتوى الفلافونويدي للمستخلصات

(Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للأنواع النباتية قيد الدّراسة

العيّنة النباتية	المستخلص	المحتوى الفلافونويدي (µQE/ mg d'extrai) $X = \bar{X} \pm SD$
O. africana	Hexane	-
	$CHCl_3$	-
	AcOEt	38,85 ± 0,85
	BuOH	28,40 ± 0,28
C. fuscatum	Hexane	-
	$CHCl_3$	1,90 ± 0,20
	AcOEt	24,80 ± 1,15
	BuOH	34,44 ± 0,35
C. reboudianum	Hexane	-
	$CHCl_3$	-
	AcOEt	30,75 ± 1,10
	BuOH	24,12 ± 0,40

X: المتوسط الإحصائي $\bar{X}$: المتوسط الحسابي SD: الانحراف المعياري

تابع للجدول (رقم: 36): نتائج المحتوى الفلافونويدي للمستخلصات

(Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للأنواع النباتية قيد الدّراسة

العيّنة النباتية	المستخلص	المحتوى الفلافونويدي (µ QE/ mg d'extrai) $X = \overline{X} \pm SD$
C. macrocarpum	Hexane	-
	$CHCl_3$	1,10 ± 0,14
	AcOEt	26,50 ± 0,15
	BuOH	27,16 ± 0,19

X: المتوسط الإحصائي $\overline{X}$: المتوسط الحسابي SD: الانحراف المعياري

النتائج المسجّلة في الجدول (رقم: 36) مقدّرة بـ: µQE/mg$_{d'extrait}$ تبيّن عدم تواجد الفلافونويدات الكليّة تماما في مستخلصات Hexane لنبتة *Oa* وكذلك في الأنواع *Cf*، *Cr* و *Cm* كما ينعدم كذلك تواجدها في مستخلص $CHCl_3$ للنبتتين *Oa* و *Cr* لكن نلاحظ قيّم منخفضة جدّا للفلافونويدات الكلّية للنبتتين *Cf*، *Cm* تساوي على الترتيب (1,90 ± 0,20 و 0,14 ± 1,10)، بينما المستخلصين BuOH و AcOEt للأنواع: *Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm* يحتويين قيم متباينة من الفينولات الكلّية كما يلي:

- المستخلص BuOH احتوى أعلى قيمة للنّوع *Cf* تساوي (0,35 ± 34,44) وقيمتين متقاربتين للنّوعين *Cm* و *Oa* مساوية على الترتيب: (0,19 ± 27,16 و 0,28 ± 28,40) و قيمة أقل للنوع *Cr* مساوية (0,40 ± 24,12).

- المستخلص AcOEt أظهر أعلى محتوى فلافونويدي كلّي مساويا (0,85 ± 38,85) للنّوع *Oa* يليه *Cr* بقيمة تساوي (1,10 ± 30,75) ثم النوعين *Cm* و *Cf* بقيمتين متقاربتين مساويتين على الترتيب: (0,15 ± 26,50 و ± 24,80 1,15).

بيّنت نتائج استخلاص المحاليل الهيدروكحولية [ميثانول (70 %) : ماء (30 %)] بكروماتوغرافيا سائل- سائل باستعمال المذيبات العضوية (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) لمختلف العيّنات النباتية: *Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm* المسجّلة في الجدولين (رقم: 35 و رقم: 36) بأنّ المستخلصين (AcOEt وBuOH) لنبتة *Oa* وأنواع جنس *Chrysanthemum* قيد الدّراسة يحتويين كميات معتبرة من الفينولات الكلّية والفلافونويدات الكلّية نتيجة قطبيتهما المرتفعة على الترتيب مقارنة مع المستخلصين (Hexane و $CHCl_3$)، هذا يتوافق مع غنى بالفينولات الكلّية كل من النوعين: *S. pinata* **(*Flamini et al., 1994*)** و *S. ligustica* **(*Flamini et al., 1999*)** وكذلك غنى بالفينولات الكلّية بعض أنواع جنس *Chrysanthemum* نذكر منها: *C. coronarium* L. **(*Anyos et Steelink, 1960*)**،

C. morifolium Ramat **(*Yuan Yuan et al., 2009* ؛ *Beninger et al., 2004*)** بالإضافة للنّوع *Derndran thema marifolium* Ramat **(*Li-ming et al., 2012*)**، كما أكدّت دراسات منشورة غنى بالمركبات الفلافونويدية المتنوعة العديد من أنواع جنس *Chrysanthemum* نذكر منها: *C. segetum* L. **(*Gessman et Steelink, 1957*** ؛ *C. morifolium* Ramat **(*Hu et al., 1994*)** و *C. coronarium* L. **(*Ibrahim et al., 2007*)**.

يلاحظ أنّ محتوى نفس النوع النباتي من المواد الأيضية الثانوية يتغيّر حسب العوامل المناخية، درجة نضج النبتة، الحفظ وطريقة الاستخلاص، كما تعتبر الظروف المناخية القاسية (درجة الحرارة المرتفعة والجفاف) والتركيب الكيميائي للتربة من محفّزات الاصطناع الحيوي للفينولات ***(الحازمي، 1995) و (هيكل و عبد الله عبد الرّازق، 2002)*** وبذلك تبقى مقارنة نتائج المحتوى الفينولي الكلي والفلافونويدي الكلي مع مختلف نتائج الباحثين غير ممكنة إذ تتطلب تحديد عوامل كثيرة أخرى تتعلّق ببيئة النبتة وفسيولوجيتها (Ecophysiologie). نشير كذلك لعدم وجود دراسات منشورة سابقة تتعلق بتقدير المحتوى الفينولي الكلّي والفلافونويدي الكلّي لهاته المستخلصات الأربعة للأنواع النباتية قيد الدّراسة، لكن عموما تتم دراسة الفينولات الكلّية والفلافونويدات الكلية لنباتات الجنسين المستعملة غذائيا بهدف تحديد قيمتها الغذائية.

بمقارنة قيّم متوسطات المحتوى الفينولي بقيّم متوسطات المحتوى الفلافونويدي المسجّلة على الترتيب في الجدول (رقم: 35) و (رقم: 36) نلاحظ تلازم كمي بين هذين المتغيّرين لكل من المستخلصين AcOEt و BuOH للأنواع : *Oa*، *Cf*، *Cr*، و *Cm*، حيث أكدّت دراسة العلاقة بين كميّة الفلافونويدات التابعة للمتغيّر المستقل وهي كميّة الفينولات الارتباط الخطي المعنوي بعلاقة موجبة بسبب نتيجة قيمة r المنتمية للمجال [0 ، 1] بالإضافة أنّ قيمة r للبيانات أكبر من قيمة r الجدولية، هذه النتيجة منطقية بسبب أنّه غالبا ما تكون الفلافونويدات من المكوّنات الرّاجحة لعديد الفينولات كما أنّ نتائج **(*Maisuthisakul et al., 2008*)** بيّنت ارتباط المحتوى الكلي لفلافونويدات المستخلص الإيثانولي لـ 28 نبتة بالمحتوى الفينولي الكلي.

5 – تقييم النشاطية ضد مؤكسدة:

5 – 1 – نتائج النشاطية ضد مؤكسدة للزيوت الأساسية:

نتائج قياس حركية الفعل الآسر لعيّنات الزيوت الخام و تخفيفاتها المتناقصة تدريجيا على الترتيب: 1/10, $1/10^2$, $1/10^3$ و $1/10^4$ خلال أزمنة متزايدة تدريجيا: ″30 , ″60 , ″90 , ′2 , ′3 , ′4 و ′5 لمختلف العيّنات النباتية *Oa*، *Cf* و *Cr* مسجّلة في الجدول (رقم: 37) الآتي:

جدول (رقم: 37): نتائج قياس حركية الفعل الآسر لعيّنات الزيوت الخام و تخفيفاتها

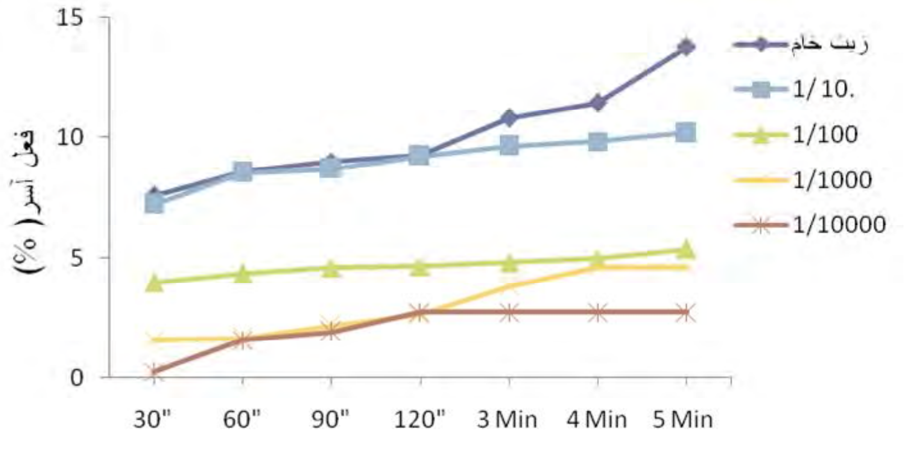
Temps (s)	[ ] / العيّنة النباتية	المستخلص الخام	1/10	$1/10^2$	$1/10^3$	$1/10^4$
30″	*O. africana*	7.60	7.21	3.97	1.57	0.24
	C. fuscatum	12.9	2 1	8.4	5.8	5.3
	C. rebondianum	6.3	4.7	4.5	3.4	1.8
60″	*O. africana*	8.60	8.55	4.34	1.65	1.57
	C. fuscatum	13.80	12.75	8.8	6	5.9
	C. rebondianum	7.3	6	5.2	4	2
90″	*O. africana*	9.00	8.70	4.60	2.17	1.92
	C. fuscatum	14.20	13.2	9.25	6.57	6.1
	C. rebondianum	8	6.45	5.8	4.9	2
120″	*O. africana*	9.25	9.22	4.65	2.64	2.74
	C. fuscatum	14.58	13.8	9.45	7.2	6.5
	C. rebondianum	8.5	7	6.1	5.6	2.2
180″	*O. africana*	10.83	9.65	4.80	3.81	2.74
	C. fuscatum	15.35	14.5	9.5	8.2	6.82
	C. rebondianum	10.7	7.3	6.8	6	2.4
240″	*O. africana*	11.45	9.85	4.97	4.62	2.74
	C. fuscatum	16.40	14.68	9.6	8.75	6.9
	C. rebondianum	11.6	7.8	7.1	6.3	2.4
300″	*O. africana*	13.80	10.20	5.37	4.62	2.74
	C. fuscatum	19.60	15.58	9.85	9	6.9
	C. rebondianum	12.6	9.9	7.3	6.3	2.4

القيّم: نسب مئوية (%)

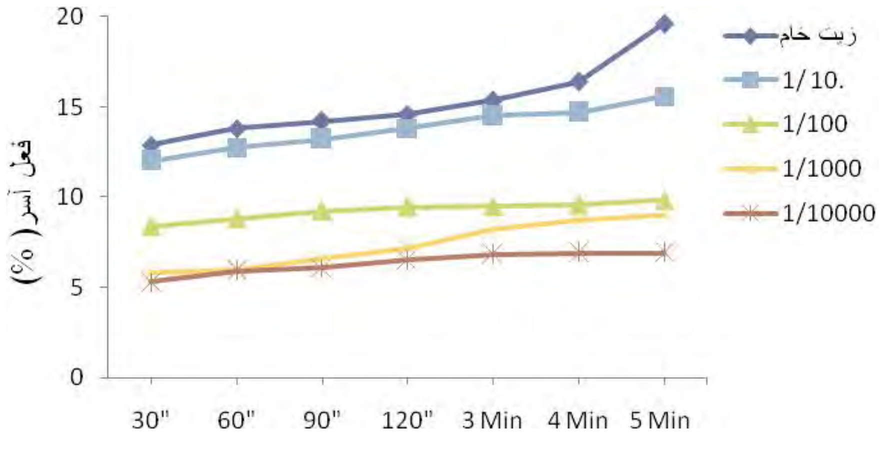
النتائج المسجّلة في الجدول (رقم: 37) توضح تزايد النسب المئوية (I %) للفعل الآسر بزيادة كل من الزمن و/ أو التراكيز (نسب التخفيفات) حيث وصلت كحد أقصى خلال خمسة دقائق للزيوت الخام و لجميع تخفيفاتها للعيّنات: *Oa*، *Cf* و *Cr*.

النسبة المئوية للفعل الآسر للزيت الخام لـ Cf أعطت قيمة (12.90 %) عند 30 ثانية ثم تزايدت تدريجيا لتصل كحد أقصى بعد 5 دقائق مساوية (19.60 %) بينما النبتتين Oa و Cr أعطت على الترتيب قيّما مساوية % (7,60و 6,30 %) لتصل لحدها الأقصى مساوية (13,80 % و 12,60 %). أمّا نسبة اختزال الجذر الحر DPPH للتخفيف (10/1) مقبولة نوعا ما للعيّنتين Cf و Oa، حيث أنّ العيّنة Cf أعطت على الترتيب تزايدا (من 12.00 % إلى 15.58 %) أمّا العيّنة Oa أعطت على الترتيب تزايدا (من 7,21 % إلى 10,20 %)، بينما كانت ضعيفة للعيّنة Cr المتزايدة (من 4,70 % إلى 9,90 %) و يلاحظ لبقية التخفيفات $1/10^2$، $1/10^3$ و $1/10^4$ نسبة مئوية للاختزال منخفضة للعيّنة Cf و ضعيفة جدّا للعيّنتين Cf و Oa.

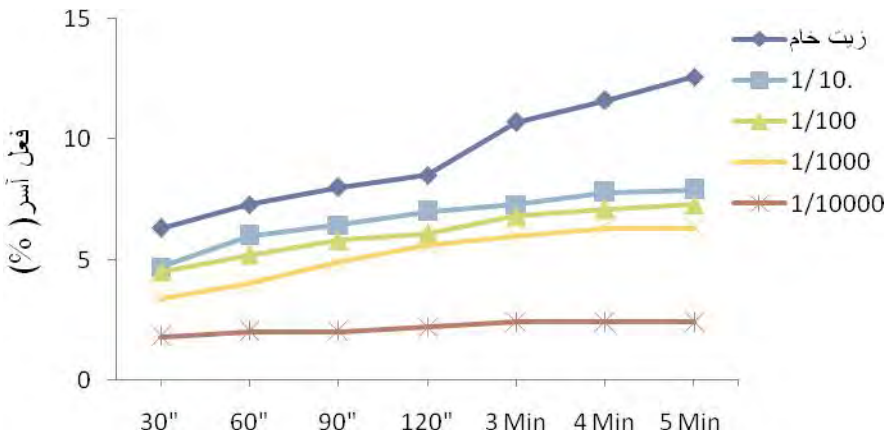
معطيات الجدول (رقم: 37) السّابق تمكّننا من رسم منحنيات حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للزّيوت الخام للأنواع قيد الدّراسة موضحّة بالأشكال (رقم 54: أ، ب و ج) الآتية:



شكل (رقم: 54 - ا -)



شكل (رقم: 54 - ب -)



شكل (رقم: 54 - ج -)

شكل (رقم 54: أ، ب و ج): حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH

للزيوت الخام و تخفيفاتها للأنواع قيد الدّراسة

- أ – أزهار نبتة *Oa* - ب – الجزء الهوائي لنبتة *Cf* - ج – الجزء الهوائي لنبتة *Cr*

نلاحظ تجريبيا عند إضافة حجم 30 µl سواء من عيّنة الزيت الخام أو من عيّنات التخفيفات لحجم 30 مل من محلول DPPH الميثانولي يتغيّر اللّون البنفسجي إلى أصفر شاحب دلالة على أنّ تفاعل الاختزال يؤدي إلى انخفاض في قيمة الامتصاصية (A) عند طول موجي فوق بنفسجي و(λ = 517 nm) للخليط التفاعلي بدلالة الزمن (t) لكل من الزيوت الخام أو تخفيفاتها خلال فترتين مقسّمة لمجالات زمنية مدّتها 30 ثانية:

- الأولى تتميّز بنقص أوّل سريع إلى قيمة منخفضة مقارنة بامتصاصية الشاهد خلال الثلاثون ثانية الأولى و بانخفاضات بسيطة متتالية لغاية الدّقيقة الثانية.

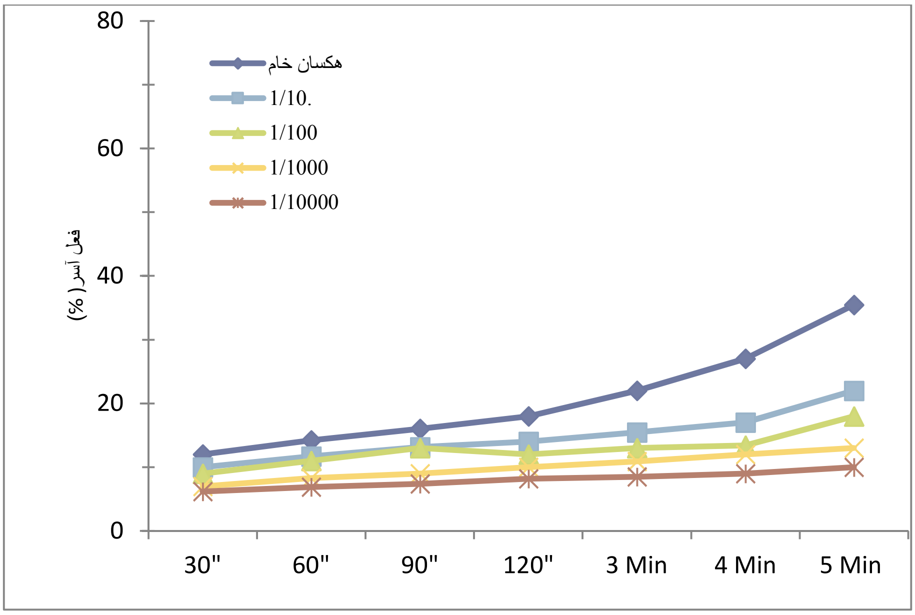
- الفترة الثانية تتبع الأولى مباشرة و تتميّز بانخفاض متدرج يستمر خلال فترة زمنية ممتدة من الدّقيقة الثانية إلى الخامسة لغاية استقرار التفاعل.

نتيجة لذلك تزداد النسبة المئوية للفعل الآسر لجذر DPPH بزيادة الزمن للزيوت الخام حيث تزداد النسب المئوية للاختزال في الفترة الأولى للعيّنات *Oa*، *Cf* و *Cr* بزيادات مساوية على الترتيب (1,65 ، 1,68 و 2,2) % أمّا في الفترة الثانية تتميّز بزيادات أكبر من الأولى بقيّم مساوية على الترتيب (4,55 ، 5,02 و 4,1) %.

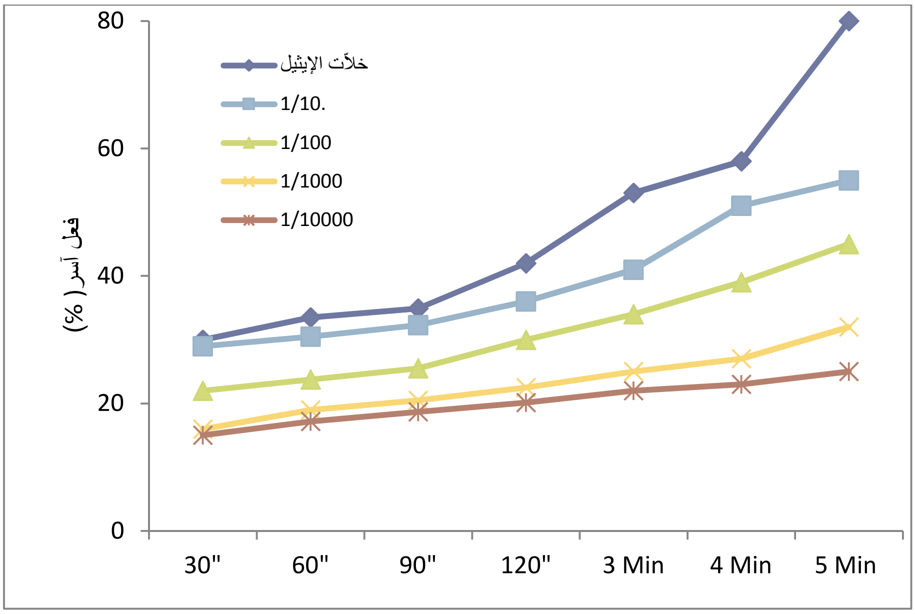
5 – 2 – نتائج النشاطية ضد مؤكسدة للمستخلصات:

نتائج قياس حركية الفعل الآسر للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) و تخفيفاتها المتناقصة تدريجيا على الترتيب: 1/10 , $1/10^2$, $1/10^3$ و $1/10^4$ خلال أزمنة متزايدة تدريجيا: ″30 , ″60 , ′90

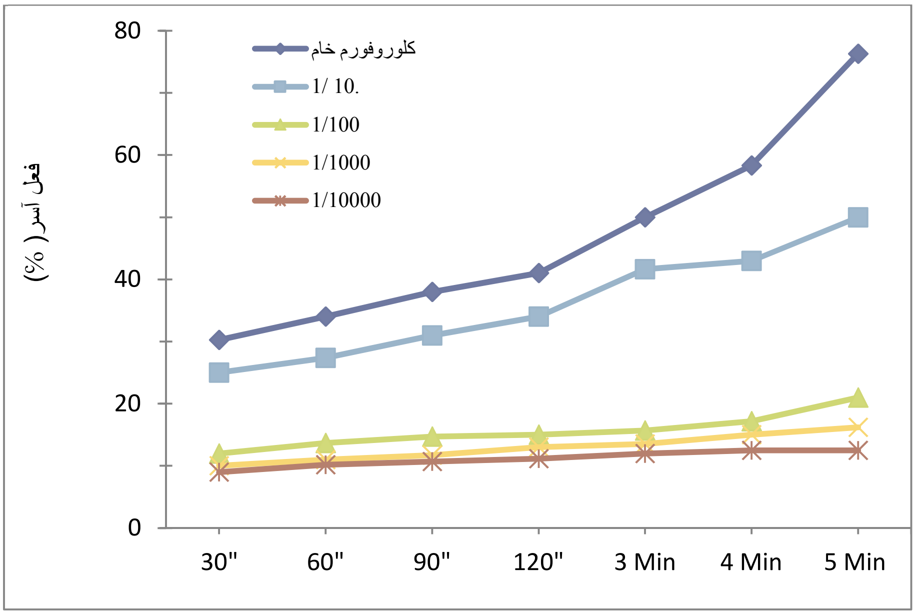
$2'$, $3'$, $4'$ و $5'$ لمختلف العيّنات النباتية : *Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm* أعطت منحنيات حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH نوضّح بعضها بالأشكال (رقم 55: أ،ب ، ج و د) الآتية:



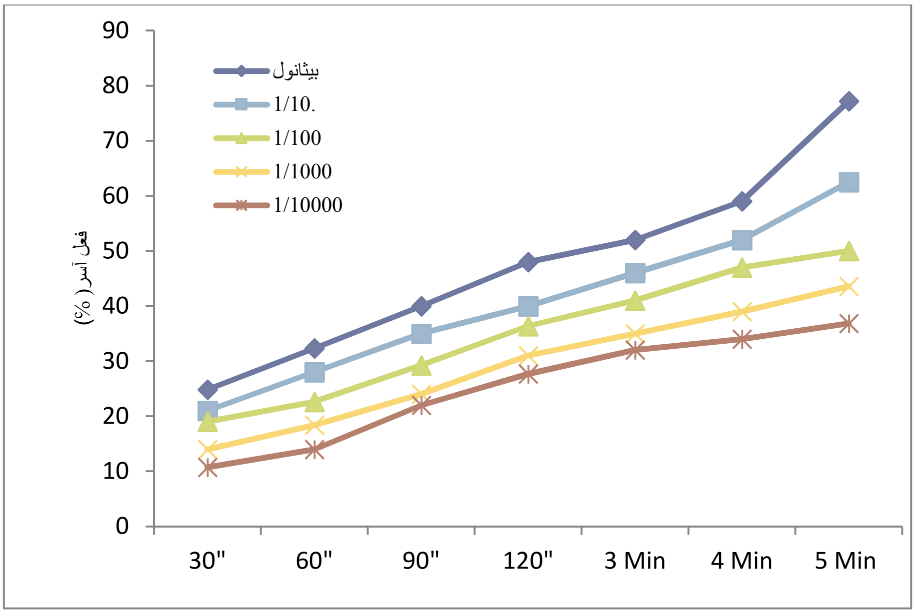
الشكل (رقم 55: - أ-): حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلص الخام Hexane و تخفيفاته للعيّنة *Oa*



الشكل (رقم 55: - ب-): حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلص الخام AcOEt و تخفيفاته للعيّنة *Cf*



الشكل (رقم 55: - ج -): حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلص الخام $CHCl_3$ و تخفيفاته للعيّنة *Cr*



الشكل (رقم 55: - د -): حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلص الخام BuOH و تخفيفاته للعيّنة *Cm*

نلاحظ تجريبيا أنّ تفاعل اختزال محلول DPPH الميثانولي للخليط التفاعلي لكل المستخلصات الخام (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) و تخفيفاتها ($1/10$, $1/10^2$, $1/10^3$ و $1/10^4$) للأنواع (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) يؤدي إلى تغيّرات ملحوظة لقيّم الامتصاصية بتغيّر كل من الزمن و/أو التركيز حيث تعطينا منحى متشابه تقريبا لجميع حركيات نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH رغم الاختلاف والتباين الواضح لقيم النسب المئوية للفعل اللآسر الناتجة عن اختلاف طبيعة المستخلصات و /أو العيّنات.

منحنيات حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH المبيّنة بالأشكال (رقم 55: أ، ب، ج و د) تتميّز بفترتين مقسّمة لمجالات زمنية مدّتها 30 ثانية:

- الأولى تتميّز بانخفاض أوّل سريع جدّا يعطي قيمة امتصاصية منخفضة مقارنة بامتصاصية الشاهد الأول خلال الثلاثون ثانية الأولى متبوعة بانخفاضات بسيطة متدرّجة تعطي تزايد متتالي للنسب المئوية للفعل الآسر لغاية الدّقيقة الثانية.

- الفترة الثانية تتبع الأولى مباشرة و تتميّز بانخفاض ملحوظ متدرج يعطي تزايد واضح للنسب المئوية للفعل الآسر يستمر خلال فترة زمنية ممتدة من الدّقيقة الثانية إلى الخامسة لغاية استقرار التفاعل.

5 – 3 – دراسة مقارنة للنشاطيات المضادة للأكسدة :

مقارنة منحنيات حركية نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH المبيّنة بالأشكال (رقم 54: أ، ب و ج) و الأشكال (رقم 55: Oa، *Cf*، *Cr* و *Cm*) تدلنا على اشتراك الزيوت الأساسية والمستخلصات لجميع العيّنات قيد الدّراسة في خاصية تفاعل ثنائي الطور (Reaction diphase) لاختزالها جذر DPPH يشمل منطقتين واضحتين:

- منطقة أولى حركيتها قوّية لأسر الجذر(Forte cinétique de piégeage du radical) تلاحظ خلال 30 ثانية الأولى تشمل كل التراكيز.

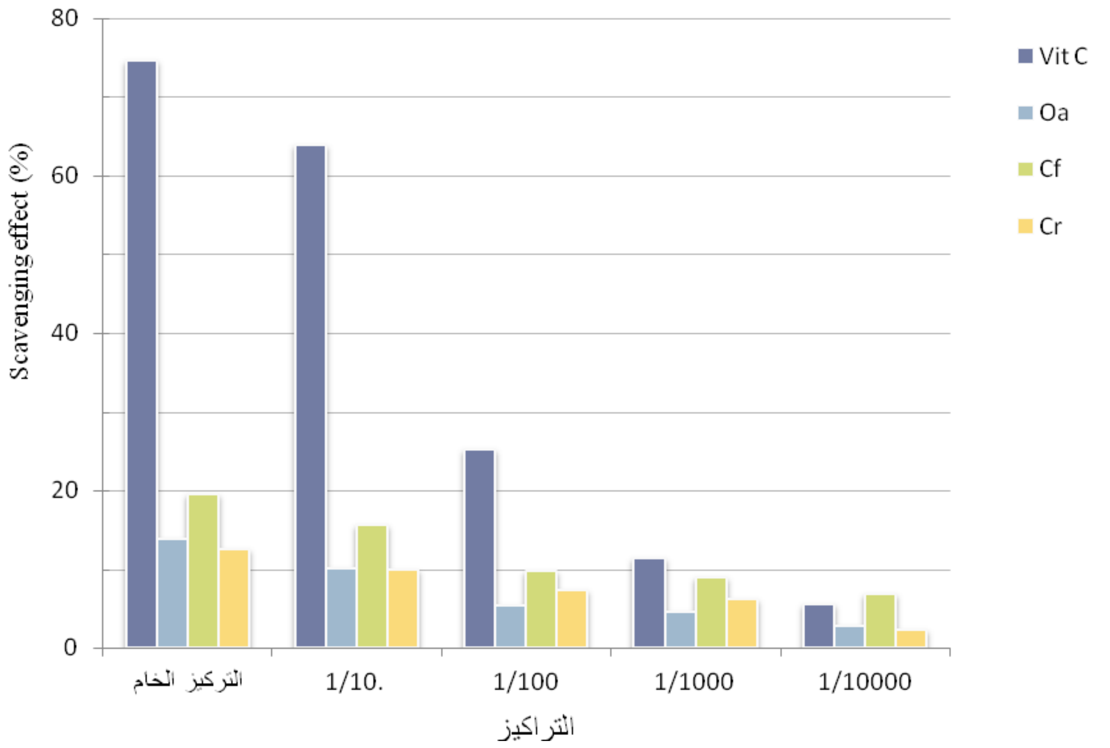
- منطقة ثانية تتبع الأولى حركيتها ضعيفة تستمر لمدّة 5 دقائق لغاية تحقيق استقرار الاختزال تشمل كذلك كل التراكيز.

نشير أيضا إلى اختلاف واضح بين المنطقتين الأوليتين لعيّنات الزيوت و المستخلصات:

- المستخلصات و تخفيفاتها: تؤدي لانخفاض سريع جدّا (Diminution très rapide) نحو قيمة امتصاصية منخفضة جدّا (Valeur d'absorbance très basse) مقارنة بالشاهد لتصبح تقريبا مستقرة في زمن وجيز (Temps extrêmement court)

- الزيوت و تخفيفاتها : تؤدي لانخفاض سريع نحو قيمة امتصاصية منخفضة لتصبح مستقرة في زمن قصير.

مقارنة النسب المئوية لاختزال الخليط التفاعلي بعد 5 دقائق لكل من الزيوت الخام و تخفيفاتها للعيّنات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) و المستخلصات الخام (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) و تخفيفاتها للأنواع (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) بشاهد مرجعي هو الفيتامين C موضّحة بالأشكال (رقم: 56، 57 و 58) حيث أظهر الشاهد التفاعلي Vit C المعروف بخاصيته المضادة للأكسدة وقدرته على تثبيط الجذور الحرّة نسبة تثبيط مئوية تتزايد من (5,62 %) عند التركيز $1/10^4$ لتصل إلى تثبيط قوي عند التركيزين الخام و 1/10 تساوي على الترتيب (64 % و 74,65 %) موضّحة بأعمدة هيستوغرامات الأشكال (رقم 56، 57 و 58).

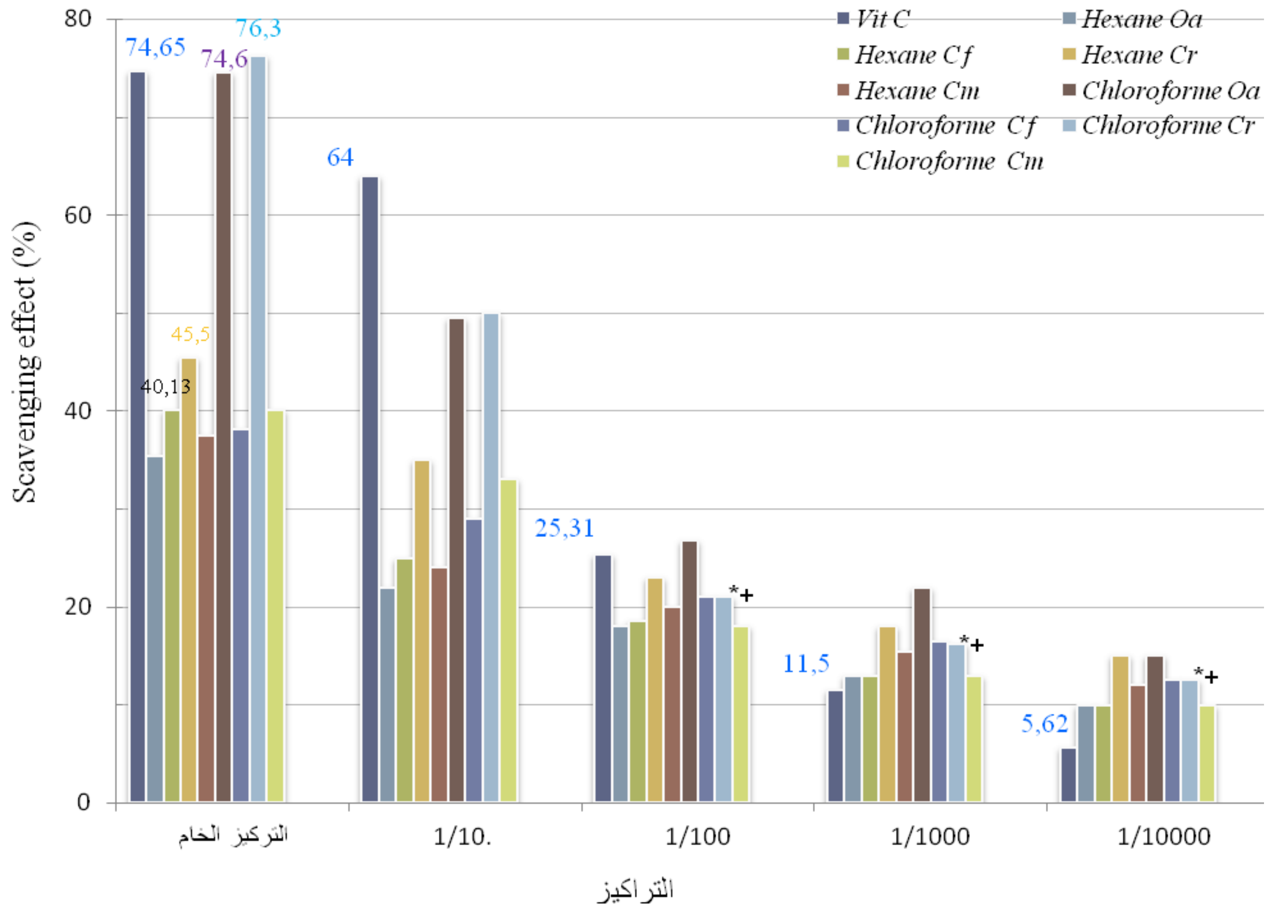


شكل (رقم: 56): مقارنة نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH

للزيوت الخام و تخفيفاتها مع الفيتامين C

النتائج الموضّحة في الشكلين (رقم: 57 و رقم: 58) تبيّن أنّ جميع المستخلصات النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) ذات فعالية ضد مؤكسدة نتيجة قدرتها على إعطاء ذرات هيدروجين تتزاوج مع الإلكترونات الضرورية لتفاعلات الاختزال التي تؤدي لافتراض هذه المستخلصات كمضادات أكسدة محتملة لديها نسب مئوية للتثبيط متفاوتة و متباينة فيما بينها حسب: التراكيز، طبيعة المستخلص و نوع العيّنة، كما يلاحظ كذلك زيادة النسب المئوية للاختزال لجميع المستخلصات بزيادة تراكيزها.

مستخلصات الهكسان و الكلوروفورم الموضحة في الشكل (رقم: 57) تتفاوت نسبيا فيما بينها إذ أبدى مستخلصي الهكسان للنبتتين (*Cr* و *Cf*) تفاوت ضعيف مقارنة مع باقي تخفيفاته بتسجيل نسبتي تثبيط مئوية متوسطة تقدّر على الترتيب (45,50 % و 40,13 %)، بينما يلاحظ تفاوت واضح لمستخلصي الكلوروفورم للنبتتين (*Oa* و *Cr*) اللّذان سجّلا نسبتي تثبيط قوّية تعادل نسبة المركب المرجعي Vit C بلغت على الترتيب (74,60 % و 76,30 %).أعمدة التركيز 1/10 تتماثل مع أعمدة التركيز الخام لتعبّر عن تناسب طردي لقيّم النسب المئوية للتثبيط التي تتغيّر حسب طبيعة المستخلص و نوع العيّنة، أمّا التراكيز ($1/10^2$, $1/10^3$ و $1/10^4$) تتماثل كذلك فيما بينها و مع التركيز الخام أيضا ولكن مع تسجيل انخفاض بسيط لقيمتي النسبة المئوية للتثبيط لمستخلص الكلوروفورم للعيّنة *Cm* و انخفاض واضح للعيّنة *Cr*.

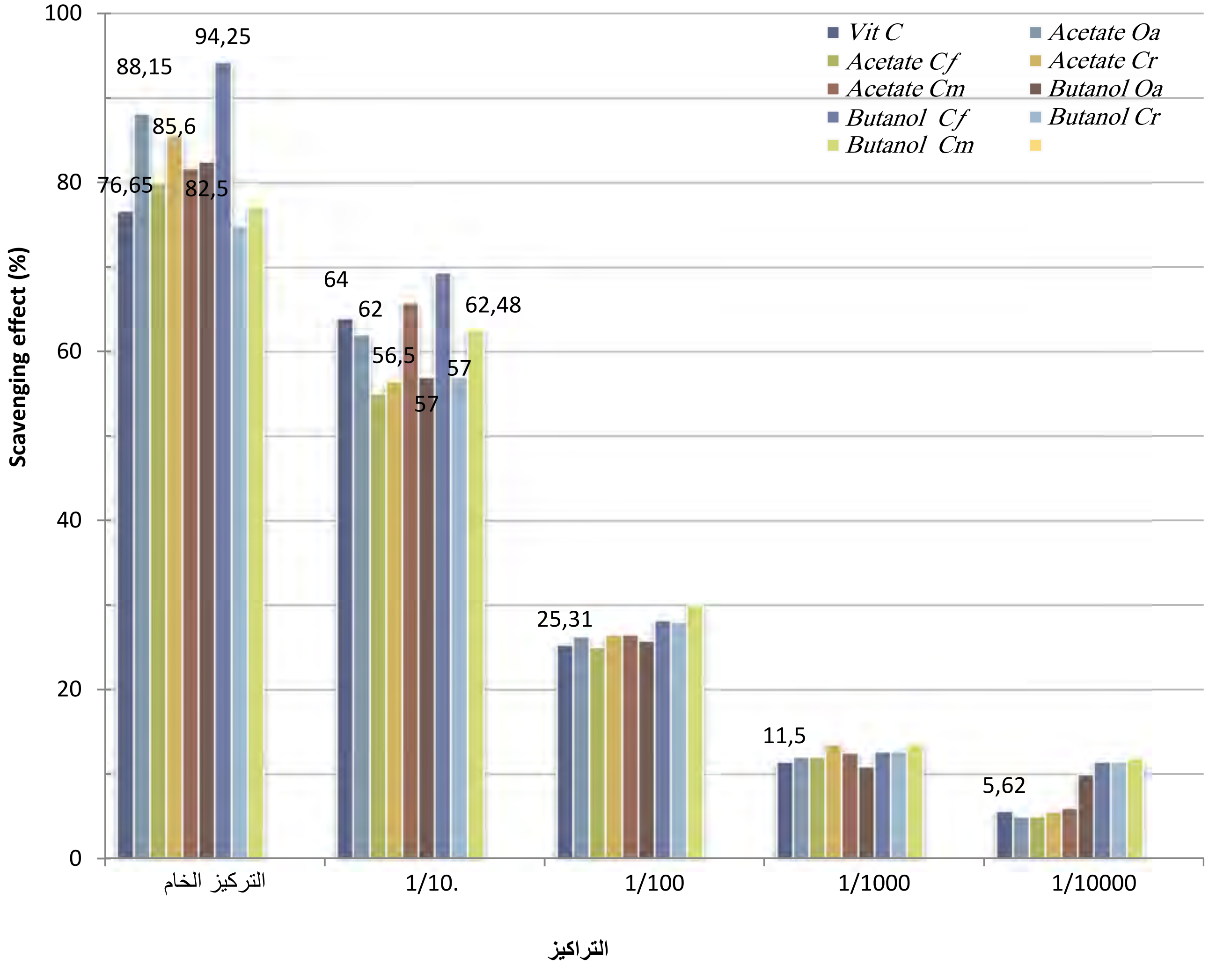


*: انخفاض واضح +: انخفاض بسيط

شكل (رقم: 57): مقارنة نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلصين

(Hexane و $CHCl_3$) و تخفيفاتهما مع الفيتامين C

أعمدة هيستوغرام الشكل (رقم: 58) تبيّن أنّ لكل من المستخلصين آسيتات الإيثيل و البيتانول أقوى نسب تثبيط مقارنة بالمركب المرجعي Vit C بلغت على الترتيب في مستخلص آسيتات الإيثيل للعيّنتين (*Oa* و *Cr*) (% 88,15 و 85,60 %) و في مستخلص بيتانول للعيّنتين (*Oa* و *Cf*) (94,25 % و 82,50 %). يلاحظ أنّ كل قيم أعمدة نسب التثبيط المئوية لجذر DPPH لجميع العيّنات و لكلّ التراكيز تفوق قليلا القيمة المرجعية (76,65 %)، بينما تتقارب قيّمها مع القيمة المرجعية 64 % عند التخفيف (1/100) لمستخلص آسيتات الإيثيل للعيّنة *Oa* و لمستخلص بيتانول للعيّنة *Cm* المساويتين على الترتيب (62 % و 62,48 %) و تنخفض قليلا قيمتي العيّنتين (*Cr* و *Cf*) لمستخلص آسيتات والعيّنتين (*Oa* و *Cr*) لمستخلص بيتانول المساوية على الترتيب (56,5 % و 55 %) و (57% لكل منهما). و تتميّز جميع أعمدة التراكيز ($1/10^2$, $1/10^3$ و$1/10^4$) رغم اختلاف طبيعة المستخلصين و نوع العيّنات بأنّها ذات نسب مئوية للتثبيط منخفضة حيث تتقارب مع قيّم مستخلصات الأسيتات بينما قيّم مستخلصات البيتانول تفوت القيمة المرجعية نسبيا و هذا لجميع النباتات المختبرة.



شكل (رقم: 58): مقارنة نشاط الفعل الآسر لجذر DPPH للمستخلصين

(AcOEt و BuOH) و تخفيفاتهما مع الفيتامين C

أبدت زيوت العيّنات النباتية : *Oa*، *Cf* و*Cr* نسب تثبيط للجذر الحر منخفضة موضّحة في الشكل (رقم: 56) إذا ما قورنت مع المركب المرجعي الذي نسبة تثبيطه (74,56 %)، حيث أنّ أحسن فعالية ضد أكسدة سجّلت لزيت *Chrysanthemum fuscatum* بنسبة تثبيط (19,60 %) تليها (13,60 %) لزيت *Ormenis africana* ثم بنسب أضعف لزيت *Chrysanthemum reboudianum* و باقي التركيزات، تفسّر هذه النتائج بأنّ النسب المئوية للتثبيط ترجع إلى نوع المكوّنات الرئيسية المتواجدة في الزيت الأساسي حسب العديد من الدّراسات **(Bruneton, 1999 ; Blumental, 1999** و **Oke et al., 2009)**. نشير كذلك إلى أنّ هذه النتائج متقاربة لمل ورد في دراسة لتأثير مضاد لأكسدة الزيوت الأساسية للأجزاء الهوائية للنّوع *Santolina canascens* ***(Utrila et al., 1995)***.

نتائج المستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) المبيّنة في الشكلين (رقم: 57 و رقم: 58) تتوافق مع كثير من الأبحاث المنشورة التي بيّنت أنّ الجنسين *Ormenis* و *Chrysanthemum* غنيين بالفينولات الكلّية ***(Yuan Yuan et al., 2009 ; Flamini et al., 1994/99 ; Beninger et al., 2004*** و ***Li-ming et al., 2012)*** و بالفلافونويدات الكلّية ***(Hu et al., 1994*** و ***Ibrahim et al., 2007)*** وهي مركبات معروفة بفعاليتها المضادة للأكسدة ***(Budicleto et al., 2002*** و ***Soroka et al., 2005)*** وبذلك تكون المستخلصات نتيجة تأثير هذه المحتويات بالإضافة إلى تأثيرها المشترك عالية المستوى في اختزالها للجذور الحرّة ممّا يؤكد قدرة مختلف هذه المستخلصات لتكون مواد محتملة مضادة للأكسدة.

نتائج النسب المئوية للتثبيط لمختلف العيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) المبيّنة في الشكل (رقم: 57) قدّرت للمستخلصين (Hexane و $CHCl_3$) على الترتيب بالقيّم الآتية: (35,45 %، 40,13 %، 45,5 % و 37,5 %) و (% 74,60، 38,15 %، 76,30 % و 40,10 %)، غالبية نتائجنا متماثلة أو متقاربة مع نتائج منشورة سابقا للمستخلصين (Hexane و $CHCl_3$) لنبتة *Artemisia macrocephala* المنتمية للعائلة النجمية التي قدّرت على الترتيب (% 38,66 و 77,33 %) ***(Niaz et al., 2013)*** بينما يختلف عن هذه الدّراسة مستخلص الكلوروفورم للعيّنتين (*Cf* و*Cm*) التي قدّرت نتائجه على الترتيب (38,15 % و 40,10 %).

نتائج النسب المئوية للتثبيط لمختلف العيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) المبيّنة في الشكل (رقم: 58) قدّرت للمستخلصين (AcOEt، BuOH) على الترتيب بالقيّم الآتية: (88,15 %، 80,00 %، 85,60 % و 81,75 %) و (% 82,50، 94,25 %، 74,90 % و 77,20 %)، يلاحظ كذلك بأنّ نتائجنا متطابقة مع نتائج منشورة ***(Niaz ali)*** و أنّ مجمل النتائج السابقة تتقارب مع العديد من نتائج أنواع مختلفة تنتمي للعائلة النجمية (*Centanurea kotschyi var-persica*، *Senecio lorentii* و *Wartonia saharae*) التي قدّرت على الترتيب (74,93 % ، % 87,13 و 93 %) حسب الباحثين ***(Zengin et al., 2011 ; Sevil et al., 2008*** و ***Mezhoud et al., 2012)***.

6 – دراسة ميكروبيولوجية:

6 – 1 – تنقية وتحديد السلالات السريرية المستعملة:

تم عزل سلالات بكتيرية (S_1، S_2، S_3 و S_4) ابتداءا من عيّنات مرضية (E_1 ، E_2 ، E_3 و E_4)، نتائج اختبارها ماكروسكوبيا بيّنت مظهرها المضطرب (Aspect troublé) مع وجود سحابة دموية (Présence d'hematurie) فيما عدا العيّنة (E_1)، نتائج الاختبار البكتيريولوجي المجهري لحركة الكائنات الدّقيقة و تلوينها بصبغة Gram و نتائج تحديد الصفات المزرعية لمستعمرات السّلالات المعزولة على بيئات متنوعة و مختلفة حسب نوع السّلالة المرغوبة أو المحتملة أعطت نتائج مسجّلة في الجدول (رقم: 38) الآتي:

جدول (رقم: 38): نتائج الاختبار البكتيريولوجي المجهري وتحديد الصفات المزرعية للسّلالات النقية المعزولة (S_1، S_2، S_3 و S_4)

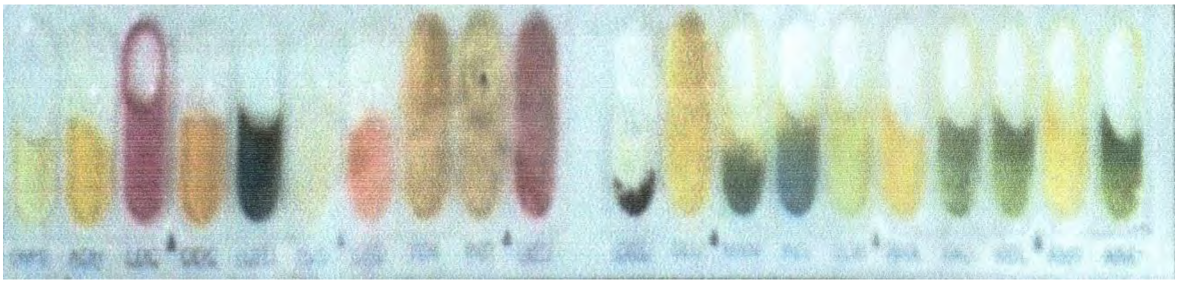
السّلالات	الحالة الحيّة	صبغة غرام
S_1	عصويات متحركة	Gram (-)
S_2	عصويات غير متحركة	Gram (-)
S_3	كرويات غير متحركة	Gram (+)
S_4	شكل بيضوي	-

السّلالات	وسط الزرع	نتيجة الزرع
S_1	جيلوز مغدي GN	- مستعمرات صفراء اللّون، صغيرة، غير منتظمة، ملساء لامعة و شفافة - وسط الزرع يحافظ على لونه الأصفر
	بيئة Chapman	- لا يوجد نمو
	بيئة Héktoën	-
S_2	جيلوز مغدي GN	- مستعمرات شبيهة بسمك السلمون، صفراء عريضة، غير منتظمة وشفافة
	بيئة Chapman	-لا يوجد نمو
	بيئة Héktoën	- مستعمرات صفراء، مخاطية جدا عريضة ولامعة - تحول لّون الوسط الأخضر إلى الأحمر
S_3	جيلوز مغدي GN	- مجاميع عنقودية، صفراء تميل للأبيض الذهبي، سطح ناعم وحافة كاملة
	بيئة Chapman	- يعتبر وسطها الانتقائي تنو عليه و تعطي اللّون الذهبي
	بيئة Héktoën	-
S_4	بيئة Sabouraud أو GS	- مستعمرات دائرية كبيرة، لون أبيض قشدي (Blanchâtre)

GN:Gélose nutritive   GS: Gélose-sang

نتائج اختبار شريط API 20E للتعرّف و تحديد بدقة العصويات سالبة الغرام نبيّن منها في الشكلين (رقم 59: أ و ب) الآتيين:

شكل (رقم: 59 – أ -): النتائج السّلالة S_1



شكل (رقم: 59 – ب-): نتائج السّلالة S_2

شكلين (رقم 59: أ و ب): صورة فوتوغرافية لنتائج اختبارات شريط API 20E للسّلالتين S_1 و S_2

قراءة مجموع النتائج السابقة مع توجيهات الميكروبيولوجيين العاملين في مجال تنقية و التعرّف على السّلالات الممرضة أدّت إلى تحديد السّلالات السّريرية المستعملة (S_1، S_2، S_3 و S_4) و هي على الترتيب : *Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Staphylococcus sp* و *Candida albicans*.

عمليا نلاحظ بأنّ مختلف السّلالات المستعملة يتم فحصها (Screening) دوريا بتتابع عمليات (نقل، زرع وحفظ) طيلة فترات التجارب المخبرية.

6 – 2 – النشاطية ضد بكتيرية و ضد فطرية للزيوت الأساسية:

6 – 2 – 1 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية للزيوت الأساسية:

نتائج أقطار مناطق تثبيط مقاسة بالملم لزيوت العيّنات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) لثلاثة عشرة سلالة ممرضة متنوّعة، سلالات مرجعية (ATCC) و سلالات سريرية (*) تتكوّن من 10 سلالات بكتيرية منها 5 Gram (+) و 5 أخرى Gram (-) بالإضافة لـ 3 سلالات فطرية مسجّلة في الجدول (رقم: 39) الآتي:

جدول (رقم: 39): نتائج هالات تثبيط زيوت نباتات (*Oa* ، *Cf* و *Cr*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنات دقيقة		تراكيز الزّيوت (µغ/مل)					
		0.25	**0.5**	**1**	**2**	**4**	**8**
Gram (+)							
Bacillus subtilis ATCC 6633	***Oa***	-	7.0±0.40	8.50±0.25	14.50±0.50	17.0±0.70	20.15±1.10
	Cf	-	-	-	7.50±0.90	12.50±0.50	16.75±0.75
	Cr	-	-	-	10.50±0.40	14.30±0.30	17.20±0.90
Enterococcus faecalis ATCC29212	***Oa***	-	-	-	08.0±0.66	11.30±0.45	15.0±0.55
	Cf	-	-	-	5.00±0.40	7.50±0.80	10.00±1.10
	Cr	-	-	-	5.50±0.80	10.00±1.0	12.20±5.0
Staphylococcus aureus ATCC25923	***Oa***	-	-	6.50±0.30	13.0±0.50	16.50±0.65	19.50±0.70
	Cf	-	-	6.00±0.50	11.00±1.0	15.00±0.75	18.00±0.70
	Cr	-	-	7.70±0.80	13.00±0.65	16.30±0.90	19.80±0.80
Staphylococcus epidermidis ATCC12228	***Oa***	-	-	-	08.0±0.30	09.60±0.40	11.30±0.35
	Cf	-	-	-	5.00±0.80	6.00±0.80	9.50±0.40
	Cr	-	-	-	-	7.10±0.30	9.50±0.40
*Staphylococcus sp.**	***Oa***	-	-	-	10.50±0.50	12.00±0.85	15.75±0.45
	Cf	-	-	-	6.00±7.00	9.00±0.50	11.00±0.40
	Cr	-	-	-	9.50±0.50	11.00±0.70	13.80±0.75

ATCC: American type culture collection

* : سلالة إكلينيكية

تابع للجدول (رقم: 39): نتائج هالات تثبيط زيوت نباتات (Oa ، Cf و Cr) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنـات دقيـقة		تراكيـز الزّيـوت (µغ/مل)					
		0.25	0.5	1	2	4	8
Gram (-)							
Escherichia coli ATCC25922	***Oa***	-	-	-	-	-	7.20±0.50
	Cf	-	-	-	-	-	4.00±0.50
	Cr	-	-	-	-	-	6.00±0.30
*Escherichia coli**	***Oa***	-	-	-	-	-	7.90±0.95
	Cf	-	-	-	-	-	4.00±0.50
	Cr	-	-	-	-	-	5.80±0.50
Pseudomonas aeruginosa ATCC27853	***Oa***	-	-	-	-	-	6.50±0.20
	Cf	-	-	-	-	-	6.00±0.30
	Cr	-	-	-	-	-	4.00±0.70
Proteus vulgaris ATCC6897	***Oa***	-	-	-	-	-	7.50±0.95
	Cf	-	-	-	-	-	5.00±0.40
	Cr						6.00±0.80
*Klebsiella pneumoniae**	***Oa***	-	-	-	-	0.80±0.33	09.00±0.63
	Cf	-	-	-	-	5.00±0.40	8.00±0.40
	Cm	-	-	-	-	6.00±1.00	7.50±0.80
Fungi فطريات (خمائر)							
Aspergillus flavus ATCC10239	***Oa***	-	-	7.0±0.33	8.0±0.20	12.0±0.25	16.50±1.00
	Cf	-	-	-	6.20±0.80	9.00±0.70	10.50±1.00
	Cr	-	-	-	6.00±0.30	8.80±0.25	14.20±0.80
Aspergillus niger ATCC6275	***Oa***	-	-	-	07.0±0.45	8.50±0.60	10.50±0.70
	Cf	-	-	-	-	5.00±0.60	6.50±0.50
	Cr	-	-	-	4.00±0.50	7.20±1.20	9.50±0.80
*Candida albicans**	***Oa***	-	-	-	-	-	08.50±0.27
	Cf	-	-	-	-	-	4.00±0.50
	Cr	-	-	-	-	-	6.00±0.55

ATCC: American type culture collection

* : سلالة إكلينيكية

نتائج الجدول (رقم: 39) تبيّن أنّ لزيوت النباتات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) أثر تثبيطي على مختلف السلالات المختبرة البكتيرية و الفطرية، تتأثر كل السلالات البكتيرية نوع (+) Gram و الفطرين *Aspergillus flavus ATCC* 10239 و *Aspergillus niger ATCC* 6275 بالتراكيز المساوية أو التي تفوق 2 μg/مل، كما نلاحظ حساسية السلالتين *Bacillus subtilis ATCC* 6633 و *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 بالإضافة لفطر *Aspergillus flavus ATCC* 10239 للتركيز المنخفض 1 μg/مل مع استمرار حساسية *Bacillus subtilis ATCC* 6633 و *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 بمفردهما إلى التركيز المنخفض جدّا 0,5 μg/مل، تتأثر كذلك سلالات نوع (-) Gram و فطر *Candida albicans*[*] فقط عند التركيز العالي 8 μg/مل، ماعدا *Klebsiella pneumoniae*[*] التي تتأثر بالتركيزين (8 و 4 μg/مل).

نتائج تحديد مدى تأثير زيت نبتة *Oa* أظهرت مناطق تثبيط واضحة تتراوح أقطارها من (6,50 إلى20,15) مم مع أعلى مناطق تثبيط سجّلت لأربعة أنواع ميكروبية: لفطر *Aspergillus flavus ATCC* 10239 بقطر تثبيط معتدل يساوي 16,50 مم و لثلاثة أنواع بكتيرية كلّها موجبة الغرام هي (*Bacillus subtilis ATCC* 6633 و *Staphylococcus aureus ATCC* 25923) بأقطار قوّية مساوية على الترتيب (20,15 و 19,50) مم و *Enterobacter faecalis ATCC* 29212 بقطر واسع 15 مم، كما يمتد تأثير زيت نبتة *Oa* لهاته السّلالات بقيّم معتبرة عند التركيزين (2 و 4) μg/مل بأقطار واسعة التثبيط تتجاوز 11,30 مم ماعدا سلالة *Enterobacter faecalis ATCC* 29212 كانت قيمة قطرها عند التركيز2 μg/مل يساوي 08 مم فقط. و تميّز فطر *Aspergillus niger ATCC* 6275 بأقطار تثبيط تتغيّر قيّمها عند التراكيز (2، 4 و8) μg/مل على الترتيب كما يلي (7، 8,5 و10) مم، بينما أبدت السلالات سالبة الغرام (-) Gram و فطر *Candida albicans*[*] نمو ملاحظ عند مجمل التراكيز ماعدا عند التركيز الأعلى 8 μg/مل حيث أظهرت أقطار مناطق تثبيط ضعيفة تتراوح من (6,50 إلى 9,00) مم مع ملاحظة تثبيط وحيد للسلالة *Klebsiella pneumoniae*[*] عند التركيز المتوسط 4 μg/مل بقطر يساوي 8,0 مم.

تبيّن نتائج الجدول (رقم: 39) أنّ لزيت النبتين *Cf* و *Cr* تأثير تثبيطي معتبر فقط على السّلالتين الموجبة الغرام (*Bacillus subtilis ATCC* 6633 و *Staphylococcus aureus ATCC* 25923) عند التركيزين (4 و 8) μg/مل بأقطار تتراوح بين واسعة و معتدلة التثبيط حيث تتغيّر على الترتيب (من 12,50 إلى 17,20) مم و (من 15.00 إلى 19.80)، ولكن يلاحظ تأثير ضعيف لباقي السلالات حتى عند أعلى تركيز 8 μg/مل بقيمة أقطار تثبيط ضعيفة لزيت نبتة *Cf* 4 ملم لكل من السلالة السالبة الغرام الإيشيرشيا القولونية المرجعية *Escherichia coli ATCC* 25922 أو السريرية *Escherichia coli*[*] و فطر *Candida albicans*[*] السريري. وبأقطار تثبيط لزيت نبتة *Cr* على السلالات سابقة الذكر على الترتيب (6، 5.80 و 6) مم. ليبلغ التأثير التثبيطي لزيت نبتة *Cf* أقصاه ليعطي قطر واسع بقيمة 11 مم للسلالة السريرية *Staphylococcus sp.*[*] أما تأثير زيت نبتة *Cr* يبلغ أقطار واسعة التثبيط مساوية على الترتيب للسلالتين *Enterobacter faecalis ATCC* 29212 و *Staphylococcus sp*[*]. (12,20 و 13,80) مم و لفطر *Aspergillus flavus ATCC* 10239 ,20 14 مم.

6 – 2 – 2 – نتائج تحديد CMI و CMD للزّيوت الأساسية:

نتائج تحديد التركيز الأدنى لتثبيط نمو الخلايا (CMI) و التركيز الأدنى المبيد (CMD) للزّيوت الأساسية للعيّنات النباتية (*Oa*، *Cf* و *Cr*) للسّلالات البكتيرية (+ Gram و - Gram) و الفطريات قيد الدّراسة مع تحديد قيّم النسبة $\left(\frac{CMD}{CMI}\right)$ لكل عيّنة مسجّلة في الجدول (رقم: 40) الآتي:

جدول (رقم: 40): تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات الزيوت الأساسية

للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf* و*Cr*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنـات دقيـقة		CMI			CMD			CMD/CMI		
		Oa	*Cf*	*Cr*	*Oa*	*Cf*	*Cr*	*Oa*	*Cf*	*Cr*
Bacillus subtilis ATCC 6633	Gram (+)	1	2	4	2	4	8	2	2	2
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Gram (+)	4	2	2	8	8	8	2	4	4
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Gram (+)	1	2	2	2	4	4	2	2	2
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Gram (+)	2	2	2	4	8	8	2	4	4
*Staphylococcus sp.**	Gram (+)	0,25	0,5	0.25	8	8	8	32	16	32
Escherichia coli ATCC 25922	Gram (-)	2	1	1	8	8	8	4	8	8
*Escherichia coli**	Gram (-)	1	1	2	8	8	8	8	8	4
Pseudomonas aeruginosa ATCC27853	Gram (-)	1	1	2	8	8	8	8	8	4
Proteus vulgaris ATCC6897	Gram (-)	1	1	2	8	8	8	8	8	4
*Klebsiella pneumoniae**	Gram (-)	0.5	1	0,5	8	8	4	16	8	8
Aspergillus flavus ATCC 10239	Fungi	1	2	2	2	8	4	2	4	2
Aspergillus niger ATCC 6275	Fungi	2	2	2	4	8	8	2	4	4
*Candida albicans**	Fungi	1	1	2	8	8	8	8	8	4

اعتمادا على قيّم النسبة $\frac{CMD}{CMI}$ لتأثير زيوت نباتات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) على مختلف الأنواع (البكتيرية و الفطرية) المبيّنة في الجدول (رقم: 40)، فإنّ الأثر المبيد البكتيري (Bactéricide) أوالأثر المبيد الفطري(Fongicide)

يتضح بالقيمة المساوية 2 لنسبة $\frac{CMD}{CMI}$ للعيّنة *Oa* على السّلالات البكتيرية: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ، *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Staphylococcus epidermedis* ATCC 12228 و على الفطرين: *Aspergillus flavus* ATCC 10239 و *Aspergillus niger* ATCC 6275 و للعيّنة *Cr* على السّلالات البكتيرية: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و كذلك على الفطر: *Aspergillus flavus* ATCC 10239، أمّا العيّنة *Cf* تبيد بكتيريا *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. بينما يتضح الأثر المثبط البكتيري (Bactériostatique) والمثبط الفطري (Fongistatique) لزيوت نباتات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) بالقيم المحصورة بين [4 و 16] لأغلب السّلالات الميكروبية المتبقية (لاحظ الجدول رقم: 40) باستثناء بكتيريا *Staphylococcus sp.** أبدت ظاهرة تحمّل (Tolérance) نتيجة لتأثير زيتي العيّنتين (*Oa* و *Cr*) بقيمة مساوية 32 لنسبة $\frac{CMD}{CMI}$.

بيّنت دراسات سابقة بأنّ مجموعة واسعة من زيوت أساسية مستخلصة من أنواع نجمية مختلفة نذكر منها: *Achillea setacea*، *Achillea tertiofolia* و *Achillea millefolium sub sp. millefolium* Afan ***(Candan et al., 2003)*** و *Achillea biebersteini* Afan ***(Sokman et al., 2004)*** تملك خصائص مضادة للكائنات الدّقيقة الممرضة.

نتائج تحليل زيوت الأنواع النباتية (*Oa*، *Cf* و *Cr*) بيّنت إحتوائها على الترتيب مكوّنات فعّالة بيولوجيا بنسب معتبرة مسجّلة في الجداول: (رقم: 25 ، ص: 106)، (رقم: 27 ، ص:112) و (رقم: 29 ، ص: 116)، هذه المعطيات تفسّر وتؤكّد نشاطها ضد ميكروبي الذي يعزى أساسا للإيزوبرينات (التربينات الأحادية، التربينات نصف ثلاثية)، الهيدروكربونات الأخرى، المركبات العطرية، الكحولات والفينولات حيث تعتبر الخاصية المحبّة للدّهون للهيكل الكربوني والخاصية المحبّة للماء من المجموعات الوظيفية ذات الأهمية الرّئيسية في عمل مضادات الميكروبات ***(Griffin et al., 1999* و *Nostro et al., 2000).***

التأثير المبيد البكتيري لزيوت النباتات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) على بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و تأثير زيتي النبتتين (*Oa* و *Cr*) على كل من بكتيريا *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و فطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 و كذلك تأثير هاتين النبتتين على الترتيب على كل من *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 و *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228، يفسّر بأنّه نتيجة تأثير محتويات الزيوت خصوصا مركباتها الرّئيسية إذ نلاحظ أنّ النسبة المئوية (%) لأهم المركبات المؤثرة على النشاطية ضد ميكروبية (التربينات و المركبات العطرية) للعيّنات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) تساوي على الترتيب (87,06 ، 63,80 و 88,47) %. كما أنّ نتائجنا على السّلالات المختبرة: المبيدة (Bactéricide أو Fongicide) لموجبة الغرام خصوصا على بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و فطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 و

المثبطة (Bactériostatique أو Fongistatique) لنمو سالبة الغرام و الفطرين *Aspergillus niger* ATCC 6275 و *Candida albicans*، تتوافق مع نتائج دراسات تأثير زيوت نباتات عديدة منها النجميات على البكتيريا و الفطريات بآليات فعل (Mode d'action) تؤدي للإبادة باختلال الغشاء الخلوي البكتيري بالفينولات التي تتداخل مع البروتينات ***(Knobloch et al., 1989)*** و/أو بالخصائص الطاردة للماء بتغيير شكله بتذبذب أسموزيته وتسرّب أيونات K^+ المؤثرة بالإبادة على البكتيريا الموجبة الغرام *Staphylococcus aureus* و بالتثبيط لنمو بكتيريا السالبة الغرام *Escherichia coli* و فطر *Candida albicans* ***(Cox et al., 2000) ; (Marino et al., 2001)*** و ***(Carson et al., 2002)*** و/أو كذلك بإزالة مجموعة الكربوكسيل للأحماض الأمينية عموما لسلالات (*Enterobacter aerogenes*) ***(Wendakoom et Sakaguchi, 1995).***

ظاهرة تحمّل بكتيريا *Staphylococcus sp.** تتوافق مع المعروف علميا و المتفق عليه سابقا وهو عند الأجناس الموجبة الغرام العنقودية (مثل: *Staphylococcus* و *Streptococcus*) نتيجة إستقلابها البكتيري يظهر تحمّلها للمضادات الحيوية التي تؤثر على بناء الجدر الخلوية (مثل: Vancomycine و B-lactamine) ***(Leclerc, 1983).***

تجدر الإشارة أنّه لا توجد خلفية دراسات للنشاط ضد ميكروبي ذات عمق على زيوت الأنواع (*Oa*، *Cf* و *Cr*) بينما في جنس *Ormenis (= Sontolina)* تمّ الإبلاغ عن نتائج مماثلة من حيث نوعية التثبيط بأقطار تثبيط لزيت خام (في 10% من DMSO) لنبتة *S. corsica* للسّلالات (*E.coli*، *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*) مساوية على الترتيب (6,6 ، 14,7 و 6) مم ***(Liu et al., 2007).***

6 – 3 – النشاطية ضد بكتيرية و ضد فطرية للمستخلصات:

نتائج أقطار مناطق تثبيط مقاسة بالملم لمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt وBuOH) للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) لثلاثة عشرة سلالة ممرضة متنوّعة، سلالات مرجعية (ATCC) و سلالات سريرية (*) تتكوّن من 10 سلالات بكتيرية منها 5 (+) Gram و 5 أخرى (-) Gram بالإضافة لـ 3 سلالات فطرية مسجّلة على الترتيب في الجداول (رقم: 41، رقم: 42 و رقم: 43).

6 – 3 – 1 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية لمستخلص الهكسان:

نتائج أقطار هالات تثبيط مستخلص هكسان (Hexane) للعيّنات النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) لـ 7 سلالات مرضة تأثرت هي: 5 سلالات بكتيرية (4 مرجعية و واحدة سريرية*) و فطرين مرجعيين من بين مجموع 13 سلالة مختبرة: 10 بكتيرية [5 (+) Gram و 5 أخرى (-) Gram] بالإضافة لـ 3 سلالات فطرية مسجّلة في الجدول (رقم: 41) الآتي:

جدول (رقم: 41): نتائج أقطار هالات تثبيط مستخلص (Hexane)
للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنات دقيقة		تراكيز مستخلصات الهكسان (µg/مل)					
		0.25	0.5	1	2	4	8
Gram (+)							
Bacillus subtilis ATCC 6633	***Oa***	-	-	-	-	-	9,50±0,50
	Cf	-	-	-	-	-	8,00±0,50
	Cr	-	-	-	-	-	6,00±0,60
	Cm	-	-	-	-	-	6,00±0,30
Staphylococcus aureus ATCC 25923	***Oa***	-	-	-	5,00±0,60	7,00±1,10	10,50±0,60
	Cf	-	-	-	4,00±0,30	6,00±0,80	9,00±0,80
	Cr	-	-	-	-	5,50±0,20	7,80±0,20
	Cm	-	-	-	-	5,50±0,50	8,50±0,50
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	***Oa***	-	-	-	-	-	7,50±0,20
Gram (-)							
Proteus vulgaris ATCC 6897	***Oa***	-	-	-	-	-	5.00±0,80
	Cm	-	-	-	-	-	4,00±0,20
*Klebsiella pneumoniae**	***Oa***	-	-	-	-	4,00±0,50	6,50±0,40
فطريات (خمائر) Fungi							
Aspergillus flavus ATCC 10239	***Oa***	-	-	-	-	5,00±0,30	8,50±0,50
	Cf	-	-	-	-	400±0,50	7,00±0,50
	Cr	-	-	-	-	-	5,00±0,80
	Cm	-	-	-	-	-	5,00±0,70
Aspergillus niger ATCC 627	***Oa***	-	-	-	-	-	5,50±0,50

* : سلالة إكلينيكية　　　- : لا يوجد تثبيط　　　ATCC: American type culture collection

نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصات الهكسانية للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) أعطت أقطار ضعيفة لجميع السّلالات البكتيرية والفطرية المبيّنة في الجدول (رقم: 41) إذ تراوحت قيّمها للسّلالات البكتيرية (موجبة الغرام و سالبة الغرام) والفطريات على الترتيب (من 4 إلى 10,50) مم، (من 4 إلى 6,50) مم و (من 4 إلى 8,50) مم.

أبدت السّلالتين موجبة الغرام: *Enterobacter faecalis* ATCC 29212 و *Staphylococcus sp.** والسّلالات سالبة الغرام: *Escherichia coli* ATCC 25922، *Escherichia coli** و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و الفطرين *Aspergillus niger* ATCC 6275 و *Candida albicans* مقاومة تجاه جميع تراكيز المستخلصات الهكسانية لجميع النباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) بالإضافة لمقاومة مماثلة ملاحظة لبكتيريا *Staphylococcus epidermidis* ATCC 2228 و لفطر *Aspergillus niger* ATCC 6275 للعيّنات (*Cf* ، *Cr* و *Cm*) و *Proteus vulgaris* ATCC 6897 للعيّنتين (*Oa* و *Cm*).

أبدت السّلالات موجبة الغرام المبيّنة في الجدول (رقم: 41) نمو خلاياها عند التركيز (0,25، 0,5 ، 1، 2 و 4) µg/مل، لجميع العيّنات النباتية المختبرة، ماعدا بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 أظهرت أقطار تثبيط ضعيفة عند التراكيز (2، 4 و 8) للعيّنتين (*Oa* و *Cf*) تتراوح على الترتيب (من 5 إلى 10,50) مم، (من 4 إلى 9,00) مم وعند التركيزين (4 و 8) للعيّنتين (*Cr* و *Cm*) تتراوح (من 5.5 إلى 7,80) مم و (من 5,5 إلى 8,50) مم.

6 – 3 – 2 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية لمستخلص الكلوروفورم:

نتائج أقطار هالات تثبيط مستخلص كلوزوفورم ($CHCl_3$) للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) لثلاثة عشرة سلالة ممرضة متنوّعة، سلالات مرجعية (ATCC) و سلالات سريرية (*) تتكوّن من 10 سلالات بكتيرية منها 5 Gram (+) و 5 أخرى (-) Gram بالإضافة لـ 3 سلالات فطرية مسجّلة على الترتيب في الجدول (رقم: 42).

جدول (رقم: 42): نتائج أقطار هالات تثبيط مستخلص ($CHCl_3$)
للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنات دقيقة		تراكيز مستخلصات الكلوروفورم (µg/مل) 0.25	0.5	1	2	4	8
Gram (+)							
Bacillus subtilis ATCC 6633	***Oa***	-	-	9,20±0,60	11,30±0,50	14,80±0,30	18,50±0,85
	Cf	-	-	-	9,00±0,50	11,00±0,70	16,60±0,30
	Cr	-	-	-	8,00±0,60	10,00±0,90	12,50±0,50
	Cm	-	-	-	8,00±0,30	10,00±0,50	12,00±0,50
Enterococcus faecalis ATCC 29212	***Oa***	-	-	-	9,40±0,50	11,00±0,65	13,00±0,50
	Cf	-	-	-	8,50±0,35	10,00±0,20	11,00±0,70
	Cr	-	-	-	9,20±0,25	10,20±0,50	11,80±0,20
	Cm	-	-	-	8,50±0,80	11,75±0,35	14,50±0,30
Staphylococcus aureus ATCC 25923	***Oa***	-	8,00±0,50	11,73±0,90	14,36±0,25	16,75±0,50	20,50±0,70
	Cf	-	-	11,10±0,20	12,10±0,50	14,5±0,70	18,30±0,65
	Cr	-	-	-	8,50±0,60	11,00±0,30	14,50±0,30
	Cm	-	7,30±0,20	11,00±0,30	14,00±0,50	16,50±0,30	20.00±0,50
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	***Oa***	-	-	-	8,00±0,35	10,00±1,10	12,00±0,60
	Cf	-	-	-	-	10,00±0,80	12,00±0,50
	Cr	-	-	-	-	9,80±0,20	11,00±0,75
	Cm	-	-	-	-	9,50±0,50	11,00±0,40
*Staphylococcus sp.**	***Oa***	-	-	-	8,40±0,10	11,00±0,65	13,75±1,00
	Cf	-	-	-	6,00±0,33	8,20±0,50	11,20±0,90
	Cr	-	-	-	6,00±0,40	8,00±0,40	11,00±0,40
	Cm	-	-	-	7,00±0,30	10,00±0,30	13,70±0,40

* : سلالة إكلينيكية   - : لا يوجد تثبيط   ATCC: American type culture collection

تابع جدول (رقم: 42): نتائج أقطار هالات تثبيط مستخلص ($CHCl_3$)
للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنات دقيقة		تراكيز مستخلصات الكلوروفورم (µg/مل)					
		0.25	**0.5**	**1**	**2**	**4**	**8**
Gram (-)							
Escherichia coli ATCC 25922	***Oa***	-	-	-	-	4,00±0,33	6,50±0,60
	Cf	-	-	-	-	-	6,00±0,20
	Cr	-	-	-	-	-	6,00±0,20
	Cm	-	-	-	-	4,00±0,33	8,00±0,50
*Escherichia coli**	***Oa***	-	-	-	-	-	6,50±0,50
	Cf	-	-	-	-	-	5,50±0,20
	Cr	-	-	-	-	-	6,00±0,33
	Cm	-	-	-	-	-	8,50±0,50
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	***Oa***	-	-	-	-	-	6,00±0,50
	Cf	-	-	-	-	-	4,00±0,75
	Cr	-	-	-	-	-	4,00±0,50
	Cm	-	-	-	-	-	5,00±0,35
Proteus vulgaris ATCC 6897	***Oa***	-	-	-	-	5,00±0,33	6,75±0,80
	Cf	-	-	-	-	-	8,00±0,50
	Cr	-	-	-	-	-	7,00±0,50
	Cm	-	-	-	-	5,00±0,20	6,00±0,20
*Klebsiella pneumoniae**	***Oa***	-	-	-	-	6,00±0,50	11,20±0,40
	Cf	-	-	-	-	-	08,00±0,50
	Cr	-	-	-	-	-	8,00±0,30
	Cm	-	-	-	-	5,50±0,20	9,20±0,30
Fungi (فطريات (خمائر)							
Aspergillus flavus ATCC 10239	***Oa***	-	-	7,50±0,40	10,00±0,30	11,00±0,50	13,75±0,35
	Cf	-	-	-	6,00±0,50	8,00±0,50	10,00±0,40
	Cr	-	-	-	5,00±0,30	7,00±0,80	9,20±0,20
	Cm	-	-	-	5,00±0,25	7,00±0,70	11,50±0,50
Aspergillus niger ATCC 6275	***Oa***	-	-	6.00±0.20	7,00±0,40	9,50±0,60	12,60±0,50
	Cf	-	-	-	5,00±0.40	7,50±0,50	11,20±0,50
	Cr	-	-	-	5,00±0.25	6,00±0,40	9,50±0,80
	Cm	-	-	-	5,20±0.60	7,80±0,35	10,00±0,50
*Candida albicans**	***Oa***	-	-	-	-	6,00±0,65	9,00±0,40
	Cf	-	-	-	-	5,20±0,70	7,00±0,50
	Cr	-	-	-	-	5,00±0,30	7,00±0,40
	Cm	-	-	-	-	5,50±0,50	8,00±0,20

* : سلالة إكلينيكية - : لا يوجد تثبيط ATCC: American type culture collection

يبيّن الجدول (رقم: 42) بأنّ نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصات الكلوروفورمية للنباتات (*Oa*، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) للسلالات موجبة الغرام (+) Gram والفطريات تتراوح على الترتيب (من 7,30 إلى 20,50) مم و (من 5 إلى 13,50) مم، بينما تتراوح بقيّم أغلبها ضعيفة للسّلالات سالبة الغرام (-) Gram (من 4 إلى 11,20) مم.

يبيّن الجدول (رقم: 42) تسجيل السّلالتان موجبة الغرام عند التركيز الأعلى (8 µغ/مل) أقطار هالات تثبيط قوّية (20,50 و 20,00) مم لبكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 على الترتيب للعيّنتين (*Oa* و *Cm*) مع أقطار معتدلة 18,30 مم للعيّنة *Cf* و لبكتيريا *Bacillus subtilus* ATCC 6633 للعيّنتين (*Oa* و *Cf*) مساوية على الترتيب (18,50 و 16,00) مم، كما سجّلت أقطار واسعة التثبيط عديدة لباقي السّلالات موجبة الغرام للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) تتراوح من (11 و 14,50) مم و يمتد التأثير الواسع للمستخلصات الكلوروفورمية عند التركيز 4 µغ/مل لبكتيريا *Bacillus subtilus* ATCC 6633 للعيّنتين (*Oa* و *Cf*)، *Enterobacter faecalis* ATCC 29212 للعيّنتين (*Oa* و*Cm*)، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 للعيّنتين (*Cr* و *Cf*) و *Staphylococcus sp.** للعيّنة *Oa* بقيم أقطار مساوية على الترتيب (14,80 و 11,00) مم، (11,00 و 11,75) مم، (11,00 و 14,50) مم و 11 مم، وعند التركيز 2 µغ/مل السّلالتين *Bacillus subtilus ATCC* 6633 للعيّنة *Oa* بقطر 11,30 مم و Staphylococcus aureus ATCC 25923 للعيّنات (*Oa* ، *Cf* و *Cm*) بقيّم أقطار مساوية على الترتيب (14,36، 12,10 و 14,00)، و تستمر المستخلصات الكلوروفورمية بالتأثير الواسع على هذه السلالة بمفردها عند التركيز 1 µغ/مل للعيّنات (*Oa* ، *Cf* و *Cm*) بأقطار مساوية على الترتيب (11,73، 11,10 و 11,00) و بأقطار ضعيفة عند التركيز 0,5 µغ/مل للعيّنتين (*Oa* و *Cm*) مساوية على الترتيب (8,00 و 7,30) مم.

سجّلت السّلالات سالبة الغرام (-) Gram المبيّنة في الجدول (رقم: 42) نمو خلاياها عند التراكيز (0,25، 0,5، 1 و 2) µغ/مل، و يستمر النمو لغاية التركيز المتوسط 4 µغ/مل للسلالتين: *Escherichia coli** و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 لجميع العيّنات النباتية المختبرة أمّا السّلالتين: *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Klebsiella pneumoniae** تنموان في حالة العيّنتين (*Cr* و*Cf*) و كذلك تنمو بكتيريا *Proteus vulgaris* ATCC 6897 في حالة العيّنة *Cr* فقط.

أعلى تأثير للمستخلصات الكلوروفورمية للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) على الفطريات المبيّنة في الجدول (رقم: 42) كان عند التركيز الأعلى 8 µغ/مل بأقطار واسعة التثبيط للفطرين: *Aspergillus niger* ATCC 6275 للعيّنتين (*Oa* و *Cf*) بقطرين على الترتيب (12,60 و 11,20) مم و *Aspergillus flavus* ATCC 10239 للعيّنتين (*Oa* و *Cm*) بقطرين على الترتيب (13,75 و 11,50) مم و تأثر هذا الفطر كذلك عند التركيز 4 µغ/مل بقطر واسع التثبيط قيمته 11 مم. يلاحظ نمو خلايا كلا الفطرين عند التراكيز (0,25، 0,5 ، 1 و 2) µغ/مل فيما عدا العيّنة *Oa* التي سجّلت تثبيط للفطرين عند التركيز 2 µغ/مل قطرين ضعيفين على الترتيب (6 و 7,5) مم و كانت بقية أقطار التأثير ضعيفة لا تتجاوز 10 مم. الفطر السريري * *Candida albicans* ينمو عند التراكيز الضعيفة والمنخفضة و يثبط عند التركيزين المتوسط والأعلى (4 و 8 µغ/مل) بأقطار ضعيفة بلغت أقصاها 9 مم للعيّنة *Oa*.

6 – 3 – 3 – نتائج النشاطية ضد ميكروبية للمستخلص الآسيتات و البيثانول:

نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصين آسيتات الإيثيل و البيثانول (AcOEt و BuOH) للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) لـ 11 سلالة ممرضة تأثرت هي: 9 سلالات بكتيرية (6 مرجعية و 3 سريرية) و فطرين مرجعيين من بين مجموع 13 سلالة مختبرة: 10 بكتيرية [5 (+) Gram و 5 أخرى (-) Gram] بالإضافة لـ 3 سلالات فطرية مسجّلة في الجدول (رقم: 43).

جدول (رقم: 43): نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصين (AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنات دقيقة		التراكيز (µغ/مل)					
		مستخلص (AcOEt)			مستخلص (BuOH)		
		2	4	8	2	4	8
Gram (+)							
Bacillus subtilis ATCC 6633	***Oa***	8,00±0,40	11,00±0,60	13,50±0,50	8,50±0,50	11,80±0,30	15,80±0,20
	Cf	-	8,50±0,70	11,20±0,30	-	9,50±0,30	13,00±0,50
	Cr	-	6,00±0,50	8,50±0,20	-	7,20±0,40	10,00±0,45
	Cm	-	8,00±0,50	10,50±0,30	-	7,00±0,60	10,00±0,25
Enterococcus faecalis ATCC 29212	***Oa***	-	-	8,50±0,60	-	7,00±0,50	10,50±0,40
	Cf	-	-	7,00±0,20	-	-	9,30±0,60
	Cr	-	-	7,00±0,45	-	-	9,00±0,75
	Cm	-	-	10,00±0,30	-	7,50±0,30	11,00±0,10
Staphylococcus aureus ATCC 25923	***Oa***	7,50±0,50	11,00±0,20	15,60±0,40	8,70±0,20	11,20±0,40	16,20±0,30
	Cf	7,50±0,30	10,50±0,20	13,00±0,20	7,50±0,30	11,00±0,50	14,10±0,70
	Cr	6,00±0,40	8,00±0,10	11,00±0,50	5,50±0,40	7,20±0,70	10,50±0,50
	Cm	7,00±0,20	12,50±0,60	15,00±0,30	8,00±1,10	12,30±0,30	16,60±0,40
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	***Oa***	-	-	8,50±0,70	-	-	9,50±0,30
	Cf	-	-	8,50±0,80	-	-	9,00±0,30
*Staphylococcus sp.**	***Oa***	-	7,50±0,20	10,00±0,10	5,00±0,20	8,00±0,30	10,80±0,20
	Cf	-	6,00±0,50	9,00±0,40	-	6,00±0,30	9,00±0,20
	Cr	-	5,00±0,20	8,00±0,30	-	5,00±0,20	7,00±0,10
	Cm	-	8,00±0,10	10,50±0,20	8,50±0,50	6,50±0,40	9,00±0,35

ATCC: American type culture collection

* : سلالة إكلينيكية - : لا يوجد تثبيط

تابع للجدول (رقم: 43): نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصين (AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) للسّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنـات دقيقة		التراكيـز (µغ/مل)					
		مستخلص (AcOEt)			مستخلص (BuOH)		
		2	4	8	2	4	8
Gram (-)							
Escherichia coli ATCC 25922	***Oa***	-	-	-	-	-	6,00±0,20
	Cf	-	-	-	-	-	5,00±0,20
*Escherichia coli**	***Oa***	-	-	-	-	-	5,50±0,10
	Cf	-	-	-	-	-	5,00±0,30
Proteus vulgaris ATCC6897	***Oa***	-	-	5,00±0,10	-	4,50±0,50	5,80±0,20
	Cf	-	-	5,00±0,30	-	4,00±0,20	5,00±0,70
	Cr	-	-	5,00±0,20	-	4,00±0,70	6,00±0,40
	Cm	-	-	6,00±0,45	-	5,00±0,40	6,80±0,50
*Klebsiella pneumoniae**	***Oa***	-	6,00±0,50	10,00±0,30	-	6,00±0,30	9,50±0,40
	Cm	-	5,00±0,50	7,00±0,20	-	5,00±0,30	8,00±0,50
Fungi فطريات (خمائر)							
Aspergillus flavus ATCC 10239	***Oa***	-	8,20±0,15	11,00±0,50	-	8,00±0,40	10,80±0,15
	Cf	-	6,00±0,30	9,60±0,30	-	6,00±0,60	9,00±0,30
	Cr	-	4,00±0,50	7,00±0,50	-	5,00±0,50	8,00±0,50
	Cm	-	6,50±0,20	9,50±0,40	-	7,00±0,20	10,00±0,40
Aspergillus niger ATCC 6275	***Oa***	-	5,00±0,15	8,00±0,70	-	5,60±0,45	9,50±0,60
	Cm	-	5,00±0,20	8,00±0,45	-	5,50±0,30	8,50±0,20

ATCC: American type culture collection — : لا يوجد تثبيط — * : سلالة إكلينيكية

يبيّن الجدول (رقم: 43) بأنّ نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصين (AcOEt و BuOH) للكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة بكتيريا (+) Gram ، بكتيريا (-) Gram و الفطريات تتراوح أقطارها على الترتيب للمستخلصات الأسيتات الإيثيلية كما يلي: (من 5,00 إلى 15,60) مم، (من 5,00 إلى 10,00) مم و (من 4,00 إلى 11,00) مم و للمستخلصات البيتانولية تكون: (من 5,00 إلى 16,60) مم، (من 4,00 إلى 9,50) مم و(من 5,00 إلى 10,80) مم.

أبدت السّلالات سالبة الغرام ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa* و الفطر *Candida albicans** مقاومة تجاه جميع تراكيز المستخلصات الآسيتات الإيثيلية والمستخلصات البيتانولية لجميع النباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*)، بالإضافة لمقاومة مماثلة تشمل إيشيرشيا القولونية بنوعيها (المرجعية و السريرية) و بكتيريا ATCC 12228 *Staphylococcus epidermidis* *الموجبة الغرام* للعيّنتين (*Cr* و *Cm*) و فطر *Aspergillus niger* ATCC 6275 و بكتيريا* *Klebsiella pneumoniae* للعيّنتين (*Cf* و *Cr*).

أظهرت السّلالات موجبة الغرام المبيّنة في الجدول (رقم: 43) تجاه مستخلص آسيتات الإيثيل نمو خلاياها عند [0,25، 0,5 ، 1 و 2] µغ/مل للمستخلصات و يلاحظ أنّه عند [2] µغ/مل أظهرت السّلالتين: بكتيريا *Bacillus subtilus* ATCC 6633 قطر منخفض 8 مم للعيّنة *Oa* و بكتيريا *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 أقطار منخفضة (7,5 ، 7,5 ، 6 و 7) مم للعيّنات على الترتيب (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*)، كما سجّلت هاتين السّلالتين عند [4] µغ/مل أقطار واسعة ومنخفضة التثبيط متباينة تتراوح على الترتيب (من 6 إلى 11) مم و (من 8 إلى 11,50) مم، أما عند [8] µغ/مل أظهرت بكتيريا ATCC 6633 *Bacillus subtilus* أقطار واسعة التثبيط للعيّنات (*Oa*، *Cf* و *Cm*) تساوي على الترتيب (13,5 ، 1,20 و 10,50) مم مع قطر منخفض 8,5 مم بينما أظهرت بكتيريا *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 أقطار واسعة التثبيط للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) تساوي على الترتيب (15,60 ، 13,00 ، 11,00 و 15) مم.

أظهرت السّلالات موجبة الغرام المبيّنة في الجدول (رقم: 43) تجاه مستخلص البيتانول نمو خلاياها عند [0,25، 0,5 ، 1 و 2] µغ/مل للمستخلصات و يلاحظ أنّه عند [2] µغ/مل أظهرت السّلالتين: بكتيريا *Bacillus subtilus* ATCC 6633 قطر منخفض 8,5 مم للعيّنة *Oa* و بكتيريا *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 أقطار منخفضة (8,70 ، 7,50 ، 5,50 و 8,00) مم للعيّنات على الترتيب (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*)، كما سجّلت هاتين السّلالتين عند [4] µغ/مل أقطار واسعة ومنخفضة التثبيط متباينة تتراوح على الترتيب (من 7 إلى 11,80) مم و (من 7,20 إلى 12,30) مم، أما عند التركيز [8] µغ/مل أظهرت بكتيريا ATCC 6633 *Bacillus subtilus* قطر معتدل وآخر واسع التثبيط للعيّنتين على الترتيب (*Oa* و *Cf*) مع قطرين متساويين 10 مم للعيّنتين (*Cr* و *Cm*) بينما أظهرت بكتيريا *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 قطرين معتدلي التثبيط للعيّننتين (*Oa* و *Cm*) مساوية على الترتيب (16,20 و 16,60) مم مع قطرين واسعي التثبيط (14,10 و 11,00) مم للعيّنتين على الترتيب (*Cf* و *Cr*).

سجّلت السّلالات سالبة الغرام و الفطرين ATCC 10239 *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* ATCC 6275 نمو خلاياها عند [0,25، 0,5 ، 1 و 2] µغ/مل و يستمر النمو لغاية [4 و 8] µغ/مل للمستخلص الآسيتات الإيثيلي على السّلالة إيشيرشيا القولونية (المرجعية و السّريرية) للعيّنتين (*Oa* و *Cf*) بينما تظهر هاتين العيّنتين عند التركيز الأعلى قيّم أقطار منخفضة متقاربة تتراوح (من 5.00 إلى 6.00) مم للمستخلص البيتانولي، عند التركيز [4 و 8] µغ/مل تظهر السلالتين: ATCC 6897 *Proteus vulgaris* أقطار منخفضة تتراوح (من 5 إلى 6) مم.

و *Klebsiella pneumoniae** قطرين منخفضين للعيّنتين (*Oa* و *Cm*) مساوية على الترتيب (10 و 7) مم. أمّا مستخلصات البيتانول تظهر *Proteus vulgaris* ATCC 6897 و *Klebsiella pneumoniae** أقطار منخفضة تتراوح (من 4 إلى 8) مم فيما عدا العيّنة *Oa* أعطت قطر واسع التثبيط (11 مم) على السلالة *Klebsiella pneumoniae** .

6 – 4 – تحديد CMI و CMD للمستخلصات النباتية:

نتائج تحديد التركيز الأدنى لتثبيط نمو الخلايا الميكروبية (CMI) و التركيز الأدنى المبيد (CMD) لمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات البكتيرية (+Gram و -Gram) و الفطريات قيد الدّراسة مع تحديد قيمة النسبة $\left(\frac{CMD}{CMI}\right)$ لكل عيّنة مسجّلة في الجداول (رقم: 44)، (رقم: 45)، (رقم: 46) و (رقم: 47).

6 – 4 – 1 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات الهكسان:

نتائج تحديد التركيز الأدنى لتثبيط نمو الخلايا الميكروبية (CMI) و التركيز الأدنى المبيد (CMD) لمستخلصات Hexane للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات البكتيرية (+Gram و -Gram) و الفطريات قيد الدّراسة مع تحديد قيمة النسبة $\left(\frac{CMD}{CMI}\right)$ لكل عيّنة مسجّلة في الجدول (رقم: 44) الآتي:

جدول (رقم: 44): تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات (Hexane)
للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنات دقيقة		CMI				CMB				CMB/CMI			
		Oa	*Cf*	*Cr*	*Cm*	*Oa*	*Cf*	*Cr*	*Cm*	Oa	*Cf*	*Cr*	*Cm*
Bacillus subtilis ATCC 6633	Gram (+)	4	8	ND	ND	8	ND	ND	ND	2	-	-	-
Staphylococcus aureus ATCC 25923		4	2	1	1	8	8	8	8	2	4	8	8
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228		2	+	+	+	8	+	+	+	4	+	+	+
Proteus vulgaris ATCC 6897	G (-)	ND	+	+	ND	ND	+	+	ND	-	+	+	-
*Klebsiella pneumoniae**		ND	+	+	+	ND	+	+	+	-	+	+	+
Aspergillus flavus ATCC 10239	Fungi	2	2	1	1	8	8	8	8	4	4	8	8
Aspergillus niger ATCC 6275		ND	+	+	+	ND	+	+	+	-	+	+	+

ATCC: American type culture collection (غير محدّدة) Non déterminée : ND - : ليست لها قيمة + : يوجد نمو في كل التراكيز

يلاحظ بأنّ الكائنات الدقيقة المختبرة النامية في جميع تراكيز مستخلصات الهكسان لجميع النباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) محذوفة من عمود الجدول (رقم: 41)، كما نوضّح في الجدول (رقم: 44) بعلامة (+) لتأكيد نتائج عدم تثبيط كلّي لتلك العيّنات المختبرة. يتضح بالقيمة (2) لنسبة $\frac{CMD}{CMI}$ للعيّنة (*Oa*) بأنّها ذات تأثير مبيد بكتيري (Bactéricide) على السّلالتين: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 كذلك يتضح بالقيمة 4 أثر موقف بكتيري (Bactériostatique) على بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 و أثر موقف فطري (Fongistatique) على فطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239. القيّم (4 و8) لنسبة $\frac{CMD}{CMI}$ للعيّنات (*Cf*، *Cr* و *Cm*) توضح تأثيرها الموقف البكتيري على الترتيب للسّلالتين: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Aspergillus flavus* ATCC 10239 ، و يلاحظ أن العلامة (ND) توضح عدم إمكانية تحديد قيمتي CMI و CMD بسبب النمو الملاحظ في كل التراكيز المختبرة للعيّنات المعنية.

6 – 4 – 2 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات الكلوروفورم: نتائج تحديد التركيز الأدنى لتثبيط نمو الخلايا الميكروبية (CMI) والتركيز الأدنى المبيد (CMD) لمستخلصات $CHCl_3$ للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات البكتيرية (+Gram و -Gram) و الفطريات قيد الدّراسة مع تحديد قيّم النسب $(\frac{CMD}{CMI})$ لكل عيّنة مسجّلة في الجدول (رقم: 45 موجود في الصفحة الموالية).

تبيّن نتائج الجدول (رقم: 45) لتأثير مستخلصات الكلوروفورم بأنّ بكتيريا الإيشيريشيا القولونية بنوعيها (المرجعية و السّريرية) و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و فطر *Candida albicans** السّريري ذات قيم CMB لجميع العيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) غير محدّدة (ND) لكل التراكيز المختبرة، بالإضافة لبكتيريا *Proteus vulgaris* ATCC 6897 باستثنائها للعيّنتين (*Oa* و *Cm*) و *Klebsiella pneumoniae** باستثنائها للعيّنة *Oa*.

اعتمادا على قيّمة النسبة $\frac{CMD}{CMI}$ لتأثير مستخلصات الكلوروفورم للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على مختلف الأنواع (البكتيرية و الفطرية) المبيّنة في الجدول (رقم: 45) فإنّ الأثر المبيد (البكتيري أو الفطري) أو الأثر الموقف (البكتيري أو الفطري) يتضح بالقيّم على الترتيب المساوية 2 أو المحصورة ضمن المجال (4 إلى 8) و بذلك يتضح مايلي:

- أثر مبيد للعيّنة *Oa* لجميع السّلالات الميكروبية باستثناء بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 و *Staphylococcus sp.** ذات التأثير الموقف البكتيري.

- أثر مبيد للعيّنة *Cm* لجميع السّلالات الميكروبية باستثناء بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 و فطر *Aspergillus niger* ATCC 6275 المؤديان على الترتيب لتأثير موقف بكتيري وتأثير موقف فطري.

- أثر موقف للعيّنتين *(Cf و Cr)* للفطرين ATCC 10239 *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* ATCC 6275 ولأغلب السّلالات البكتيرية موجبة الغرام المختبرة و أثر مبيد بكتيري للسّلالتين: بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 للعيّنتين و *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 لعيّنة *Cf*.

جدول (رقم: 45): تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات ($CHCl_3$)

للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنـات دقيـقة		CMI				CMB				CMB/CMI			
		Oa	***Cf***	***Cr***	***Cm***	***Oa***	***Cf***	***Cr***	***Cm***	**Oa**	***Cf***	***Cr***	***Cm***
Bacillus subtilis ATCC 6633	**Gram (+)**	1	2	2	4	2	8	8	8	2	4	4	2
Enterococcus faecalis ATCC 29212		4	2	2	4	8	8	8	8	2	4	4	2
Staphylococcus aureus ATCC 25923		1	1	4	1	2	2	8	2	2	2	2	2
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228		2	4	2	2	8	8	8	8	4	2	4	4
*Staphylococcus sp.**		2	2	2	4	8	8	8	8	4	4	4	2
Escherichia coli ATCC 25922	**Gram (-)**	8	ND	8	8	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
*Escherichia coli**		8	ND	8	8	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853		8	ND	ND	8	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
Proteus vulgaris ATCC 6897		4	8	8	4	8	ND	ND	8	2	-	-	2
*Klebsiella pneumoniae**		4	8	8	4	8	ND	ND	ND	2	-	-	-
Aspergillus flavus ATCC 10239	**Fungi**	1	2	2	2	2	8	8	4	2	4	4	2
Aspergillus niger ATCC 6275		4	2	1	1	8	8	8	8	2	4	8	8
*Candida albicans**		8	ND	ND	8	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-

ATCC: American type culture collection   Non déterminée : ND (غير محدّدة)   - : ليست لها قيمة

6 – 4 – 3 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات آسيتات الإيثيل: نتائج تحديد التركيز الأدنى لتثبيط نمو الخلايا الميكروبية (CMI) والتركيز الأدنى المبيد (CMD) لمستخلصات آسيتات الإيثيل للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات البكتيرية (+Gram و -Gram) و الفطريات قيد الدّراسة مع تحديد قيمة النسبة $\left(\frac{CMD}{CMI}\right)$ لكل عيّنة مسجّلة في الجدول (رقم: 46) الآتي:

جدول (رقم: 46): تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات (AcOEt)

للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنات دقيقة		CMI				CMB				CMB/CMI			
		Oa	***Cf***	***Cr***	***Cm***	**Oa**	***Cf***	***Cr***	***Cm***	**Oa**	***Cf***	***Cr***	***Cm***
Bacillus subtilis ATCC 6633	**Gram (+)**	2	2	2	2	8	8	8	8	4	4	4	4
Enterococcus faecalis ATCC 29212		8	8	8	2	ND	ND	ND	8	-	-	-	4
Staphylococcus aureus ATCC 25923		4	2	2	4	8	8	8	8	2	4	4	2
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228		8	8	+	+	ND	ND	+	+	-	-	+	+
*Staphylococcus sp.**		2	8	8	8	8	ND	ND	ND	4	-	-	-
Escherichia coli ATCC 25922	**Gram (-)**	8	8	+	+	ND	ND	+	+	-	-	+	+
*Escherichia coli**		8	8	+	+	ND	ND	+	+	-	-	+	+
Proteus vulgaris ATCC 6897		ND	ND	8	8	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
*Klebsiella pneumoniae**		1	+	+	8	8	+	+	ND	8	+	+	-
Aspergillus flavus ATCC 10239	**Fungi**	1	8	8	ND	8	ND	ND	ND	8	-	-	-
Aspergillus niger ATCC 6275		2	+	+	8	8	+	+	ND	4	+	+	-

ATCC: American type culture collection (غير محدّدة) Non déterminée : ND - : ليست لها قيمة + : يوجد نمو في كل التراكيز

يلاحظ بأنّ بكتيريا سالبة الغرام *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و فطر *Candida albicans** النامیان في جميع تراكيز مستخلصات آسيتات الإيثيل لجميع النباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) محذوفة من عمود الكائنات الدّقيقة للجدول (رقم: 46) كما يوضّح بعلامة (+) لتأكيد نتائج عدم تثبيط كلي لتلك العيّنات للسّلالات المختبرة (وهي غير مسجّلة في عمود الكائنات الدّقيقة للجدول (رقم: 43 السابق، ص: 161 و 162).

تبيّن نتائج الجدول (رقم: 46) لتأثير مستخلصات آسيتات الإيثيل بأنّ بكتيريا *Proteus vulgaris* ATCC 6897 لجميع العيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) و باستثناء العيّنة *Oa* للسلالتين: *Staphylococcus sp.** و فطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239، والعيّنة *Cm* لبكتيريا ATCC 29212 *Enterococcus faecalis* ذات قيم CMB غير محددة (ND) ضمن التراكيز المختبرة، بالإضافة لبكتيريا إشيريشيا القولونية بنوعيها (المرجعية و السريرية) للعيّنتين (*Oa* و *Cf*)، كذلك بكتيريا *Klebsiella pneumonia* و فطر *Aspergillus niger* ATCC 6275 للعيّنة *Cm* فقط.

اعتمادا على قيمة النسبة $\frac{CMD}{CMI}$ لتأثير مستخلصات آسيتات الإيثيل للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على مختلف الأنواع (البكتيرية و الفطرية) المبيّنة في الجدول (رقم: 46) فإنّ الأثر المبيد (البكتيري أو الفطري) يتضح بالقيّم المساوية 2 للسّلالة ATCC 25923 *Staphylococcus aureus* للعيّنتين (*Oa* و *Cm*). كما يتضح الأثر الموقف (البكتيري أو الفطري) بالقيّم المحصورة ضمن المجال (4 إلى 8) للمستخلصات التي أعطت قيّم CMB محدّدة للسّلالات البكتيرية الموجبة الغرام لمختلف النباتات و السالبة الغرام *Klebsiella pneumonia** للعيّنة *Oa* فقط، و كذلك للفطرين: ATCC 10239 *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* ATCC 6275 للعيّنة *Oa*.

6 – 4 – 4 – نتائج تحديد CMI و CMD لمستخلصات البيثانول: نتائج تحديد التركيز الأدنى لتثبيط نمو الخلايا الميكروبية (CMI) والتركيز الأدنى المبيد (CMD) لمستخلصات BuOH للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات البكتيرية (+Gram و -Gram) و الفطريات قيد الدّراسة مع تحديد قيمة النسبة $\left(\frac{CMD}{CMI}\right)$ لكل عيّنة مسجّلة في الجدول (رقم: 47) الآتي:

يلاحظ بأنّ بكتيريا سالبة الغرام ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa* و فطر *Candida albicans** الناميان في جميع تراكيز مستخلصات البيتانول لجميع النباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) محذوفة من عمود الكائنات الدّقيقة للجدول (رقم: 47) كما يوضّح بعلامة (+) لتأكيد نتائج عدم تثبيط كلي لتلك العيّنات للسّلالات المختبرة (وهي غير مسجّلة في عمود الكائنات الدّقيقة للجدول (رقم: 43 السابق، ص: 161 و 162).

تبيّن نتائج الجدول (رقم: 47) لتأثير مستخلصات البيتانول بأنّ بكتيريا *Proteus vulgaris* ATCC 6897 لجميع العيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) و باستثناء العيّنة *Oa* للسّلالتين: *Staphylococcus sp.** و فطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 ذوي قيم CMB غير محددة (ND) ضمن التراكيز المختبرة، بالإضافة لبكتيريا إشيريشيا القولونية بنوعيها (المرجعية والسريرية) و بكتيرياATCC 29212 *Enterococcus faecalis* على الترتيب للعيّنتين (*Oa* و *Cf*) و (*Cf* و *Cr*) كذلك بكتيريا *Klebsiella pneumonia* والفطر *Aspergillus niger* ATCC 6275 للعيّنة *Cm* فقط.

جدول (رقم: 47): تحديد CMI، CMD و (CMD/CMI) لمستخلصات (BuOH)

للأنواع النباتية (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على السّلالات الميكروبية قيد الدّراسة

كائنـات دقيقـة		CMI				CMB				CMB/CMI			
		Oa	***Cf***	***Cr***	***Cm***	**Oa**	***Cf***	***Cr***	***Cm***	**Oa**	***Cf***	***Cr***	***Cm***
Bacillus subtilis ATCC 6633	**Gram (+)**	2	2	2	2	8	8	8	8	4	4	4	4
Enterococcus faecalis ATCC 29212		4	8	8	2	8	ND	ND	8	2	-	-	4
Staphylococcus aureus ATCC 25923		2	2	2	2	4	4	8	4	2	2	4	2
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228		2	2	+	+	8	8	+	+	4	4	+	+
*Staphylococcus sp.**		2	8	8	8	8	ND	ND	ND	4	-	-	-
Escherichia coli ATCC 25922	**Gram (-)**	8	8	+	+	ND	ND	+	+	-	-	+	+
*Escherichia coli**		8	8	+	+	ND	ND	+	+	-	-	+	+
Proteus vulgaris ATCC 6897		ND	ND	8	8	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
*Klebsiella pneumoniae**		2	+	+	8	8	+	+	ND	4	+	+	-
Aspergillus flavus ATCC 10239	**Fungi**	1	8	8	8	8	ND	ND	ND	8	-	-	-
Aspergillus niger ATCC 6275		1	+	+	ND	8	+	+	ND	8	+	+	-

ATCC: American type culture collection   (غير محدّدة) Non déterminée : ND   - : ليست لها قيمة   + : يوجد نمو في كل التراكيز

اعتمادا على قيّم النسبة $\frac{CMD}{CMI}$ لتأثير مستخلصات البيتانول للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) على مختلف الأنواع (البكتيرية و الفطرية) المبيّنة في الجدول (رقم: 47) فإنّ الأثر المبيد (البكتيري أو الفطري) يتضح بالقيم المساوية 2 للسلالتين: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 للعيّنات (*Oa*، *Cf* و *Cm*) و *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 للعيّنة *Oa* فقط. كما يتضح الأثر الموقف (البكتيري أو الفطري) بالقيّم المحصورة ضمن المجال (4 إلى 8) للمستخلصات المحددة التي أعطت قيم CMB للسّلالات البكتيرية الموجبة الغرام لمختلف النباتات و السالبة الغرام *Klebsiella pneumonia** للعيّنة *Oa* ، بالإضافة للفطرين: *Aspergillus flavus* ATCC 10239 و *Aspergillus niger* ATCC 6275 كذلك للعيّنة *Oa*.

بيّنت دراسات سابقة بأنّ للعديد من مستخلصات النجميات نشاطية ضد بكتيرية و/أو فطرية حسب مراجع مختلفة مذكورة في الجدول (رقم: 18 ، ص: 73)، نضيف دراسات أخرى للعديد من الباحثين تؤكد هذا النشاط لثلاثة نجميات هي: نبتة *Senecio vulgaris* ***(Uzun et al., 2004)***، الخلاصات الإيثانولية (للأوراق والقمم المزهرة) لنبات *Acanthospermum hispidum* ***(Fleisher et al ., 2003)*** و الخلاصات الميثانولية لنبتة *Achillea millefolium sub sp. millefolium* Afan ***(Candan et al., 2003)***، معطيات و نتائج هذه الدّراسات السّابقة تتماشى عموما مع نتائج تسجيلنا لنشاط ضد ميكروبي للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*). كما نشير إلى نتائج فعالية ضد ميكروبية لأجناس وأنواع ميكروبية متطابقة تماما مع بعض سلالاتنا المستعملة وهي: *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* مع تطابق آخر من حيث الجنس مع بكتيريا *Bacillus cereus* من طرف الباحثين ***(Kokoska et al., 2002).***

النتائج المبيّنة في الجدولين (رقم: 41 و رقم: 43) على الترتيب لمستخلصات (Hexane) و (AcOEt و BuOH) و هي تسجيل أقطار هالات تثبيط للسّلالة *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و عدم تثبيط: فطر *Candida albicans** لكل العيّنات، بالإضافة لعدم تثبيط السّلالتين: *Escherichia coli* بنوعيها (المرجعية و السريرية) بمستخلصات الأسيتات لكل العيّنات، بينما عند [8]µg/مل لمسخلص البيثانول سجّلت السّلالتين: *Escherichia coli* بنوعيها (المرجعية و السريرية) للعيّنتين (*Oa* و *Cf*) أقطار هالات تثبيط ضعيفة تتراوح (من 5.00 إلى 6.00) التي تعتبر غير مثبطة، مجمل نتائجنا هذه متطابقة تماما مع نتائج كل من ***(Romero et al., 2005)*** التي بيّنت تثبيط قوّي لخلاصات كحولية للنّوعين المحليين بتكساس *Achillea millefolium* و *Matricaria chamomilla* لسلالة موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* و عدم تثبيط للسّلالتين سالبة الغرام (*Escherichi coli* و *Pseudomonas aeruginosa*)، كما نلاحظ تسجيل أقطار هالات واسعة التثبيط عند [8]µg/مل للمستخلصين و (AcOEt و BuOH) لبكتيريا ATCC 6633 *Bacillus subtilis* المنتمية لنفس الجنس مع النوع *Bacillus cereus* و بذلك نجد نتائجنا المبيّنة في الجدولين (رقم: 41 و رقم: 43) مماثلة أيضا لحد بعيد مع نتائج ***(Kokoska et al., 2002)*** المبيّنة بأنّ الخلاصة الإيثانولية لجذور نبتة *Arctium lappa L.* أشدّ فعالية من مثيلتها للأوراق للسّلالتين الموجبة الغرام (*Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus*) مع نمو واضح وعدم فعالية ضد فطر *Candida albicans** و السّلالتين السالبة الغرام (*Escherichi coli* و *Pseudomonas aeruginosa*) بالإضافة لنتائجه الخاصة بنبتة *Tussilago farfara* L. بأنّ مستخلصات أجزاؤها الهوائية أشدّ فعالية من مستخلصات ريبوزوماتها و ضد نفس السّلالات سابقة الذكر.

نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلص ($CHCl_3$) للفطرين: ATCC 10239 *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* ATCC 6275 عند أعلى تركيز على السّلالات المختبرة المبيّنة في الجدول (رقم: 42 ، ص: 158-159) تساوي على الترتيب (11,50 و 13,75) للعيّنتين (*Cm* و *Oa*) و (11,20 و 12,60) للعيّنتين (*Cf* و *Oa*) مساوية تقريبا لنتائج باحثين آخرين ***(Zhu et al., 2005)*** للنشاطية ضد فطرية لخلاصات الكلوروفورم، الإيثانول و آسيتات الإيثيل (الأوراق والرؤوس المزهرة والسيقان) التي بيّنت بأنّ أشد الفعّالية ضد فطرية للمستخلصات بأقطار تثبيط بلغت 13 مم، يمكن كذلك مقارنة نتائج أقطار هالات تثبيط المستخلصين (AcOEt و BuOH) للعيّنة *Oa* لفطر ATCC 10239 *Aspergillus flavus* المساوية على الترتيب (11,00 و 10,80) بأنّها تعتبر تجريبيا قريبة من القيمة 13 مم المذكورة سابقا.

6 – 5 – دراسة مقارنة لتقييم النشاطيات ضد ميكروبية:

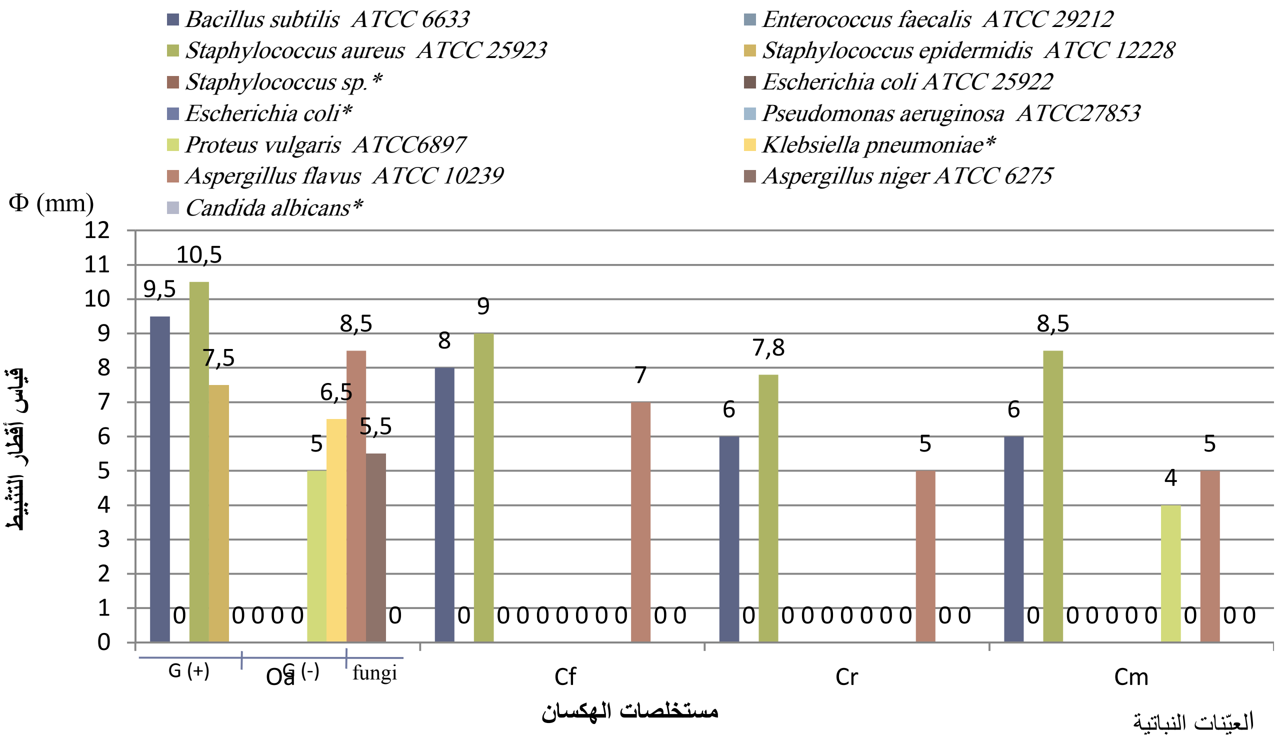
بتقييم شامل لنتائج أقطار هالات تثبيط زيوت (*Oa*، *Cf* و *Cr*) ومستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) لنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*)، نلاحظ أنّ مختلف أقطار هالات تثبيط نمو أي نوع من السّلالات الميكروبية المبيّنة في الجدول (رقم: 21 ، ص: 93) تتشابه عموما فيما بينها حيث تزداد بزيادة التراكيز و أنّ منعها من النمو يكون إبتداءا من تراكيز محدّدة تتغيّر حسب صنف ونوع الكائن الدّقيق.

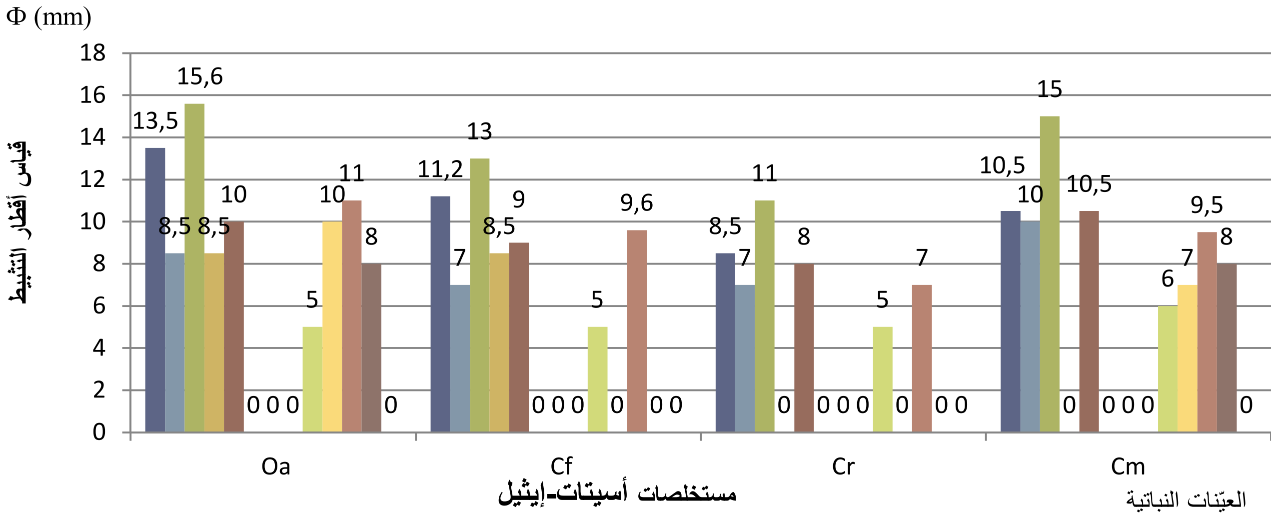
بمقارنة أعمدة هستوغرامات جميع الأشكال (ص: 172 و 173) فيما بينها نلاحظ:

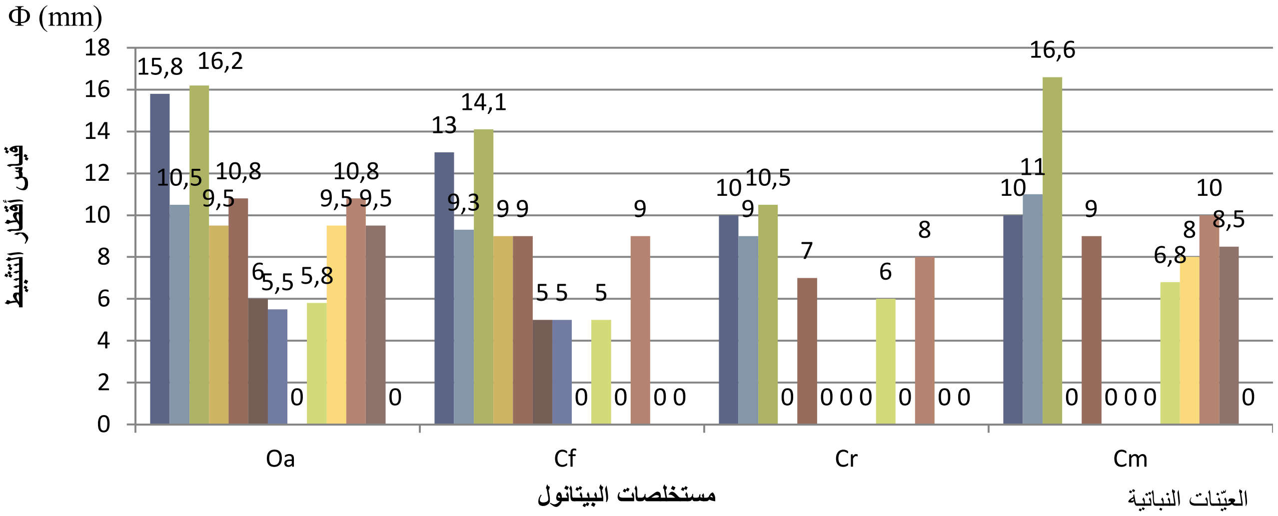
- عدم تثبيط للعديد من العيّنات النباتية للمستخلصات (Hexane، AcOEt و BuOH) للسلالات الميكروبية المذكورة في عمود الكائنات الدّقيقة في الجدول (رقم: 39، ص: 150 و 151) يتضح بدلالة الأعمدة المعدومة، عدد حالات عدم تثبيط عيّنات المستخلصات (المذكورة سابقا) يساوي على الترتيب (35 ، 22 و 18) عيّنة من مجموع 52 لكل مستخلص.

- تثبيط مستخلصات زيوت (*Oa*، *Cf*، و *Cr*) و مستخلصات $CHCl_3$ للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) لمجموع السّلالات المختبرة.

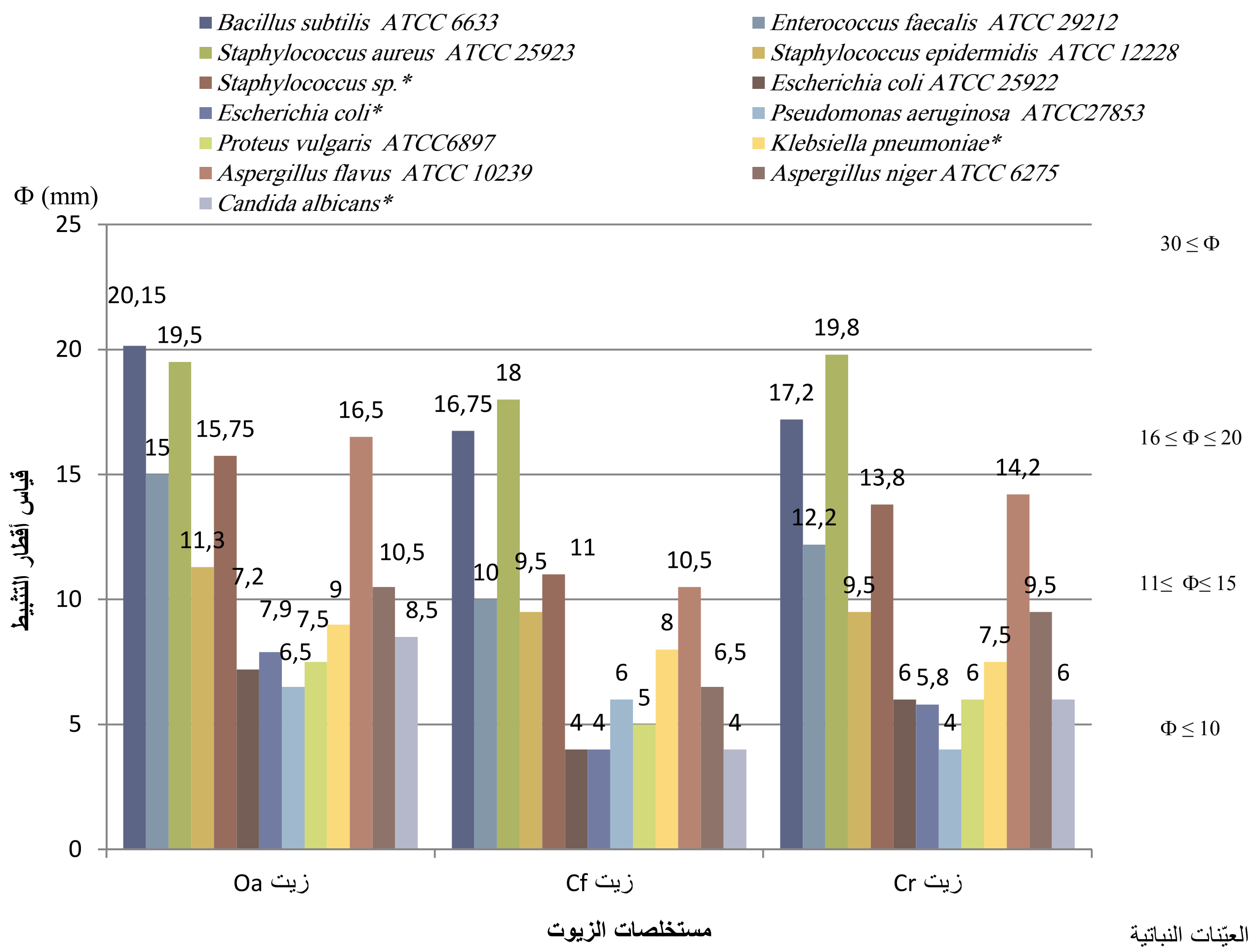
بملاحظة تتابع ترتيب أعمدة السلالات الميكروبية الملوّنة تكون: الخمسة الأولى لسلالات موجبة الغرام Gram (+) ، تليها 5 أخرى سالبة الغرام (-) Gram ثم 3 فطريات fungi مبيّنة على محور تراتيب شكل (رقم: 60)، يتبع نفس النظام لتسلسل السلالات الميكروبية لجميع زيوت (Oa، *Cf*، و *Cr*) و مستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) نستنتج ما يلي:



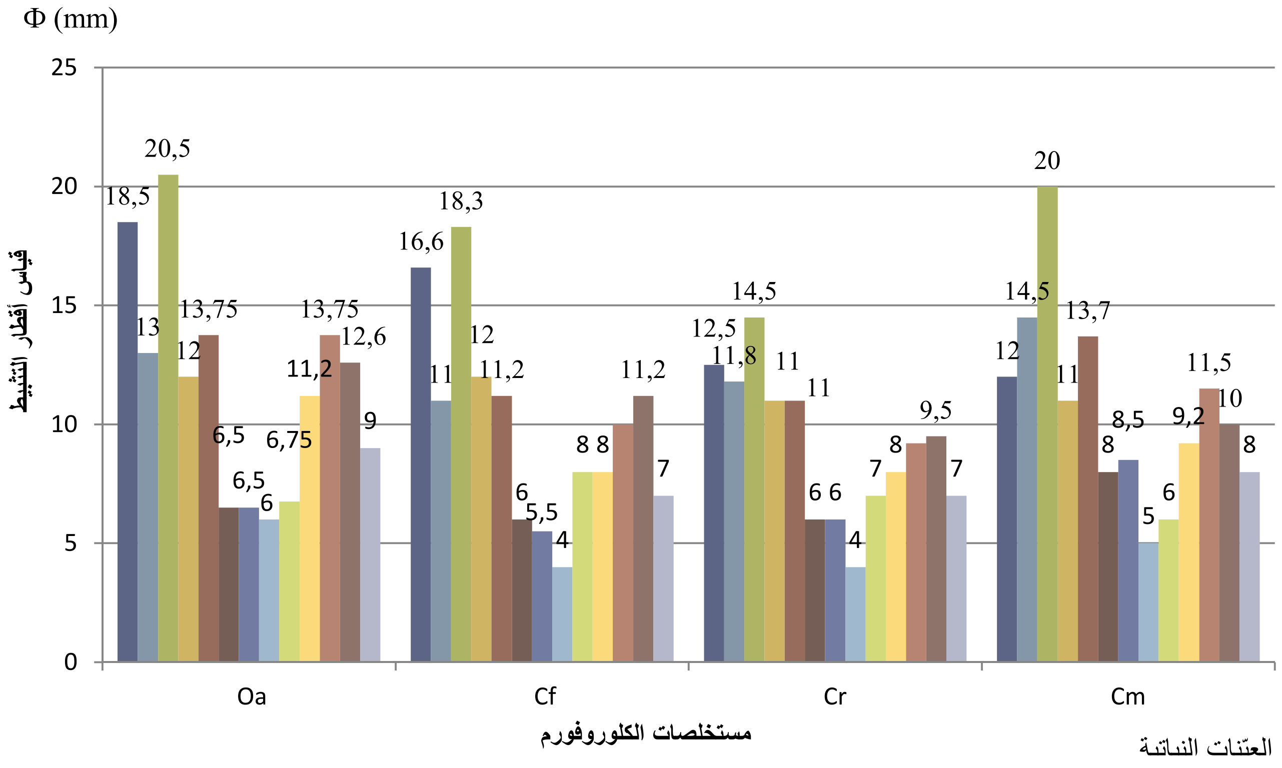




الأشكال (رقم: 60)، (رقم: 61) و (رقم: 62): هستوغرامات أقطار تثبيط المستخلصات للكائنات الدّقيقة قيد الدّراسة



شكل (رقم: 63): هستوغرام أقطار تثبيط الزيوت للكائنات الدّقيقة الممرضة قيد الدّراسة



شكل (رقم: 64): هستوغرام أقطار مستخلصات الكلوروفورم للكائنات الدّقيقة الممرضة قيد الدّراسة

- أقطار هالات التثبيط معتدلة وقوية للسّلالات (+) Gram تبلغ أقصاها (20,15) لبكتيريا *Bacillus subtilis* ATCC 6633 لزيت *Oa* و (19,50، 18,00 و 19,80) مم لبكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 على الترتيب لعيّنات زيوت (*Oa*، *Cf* و *Cr*) و كذلك تبلغ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 أقصاها لعيّنات مستخلصات ($CHCl_3$ ، BuOH ، AcOEt ثم Hexane) على الترتيب (20,5، 16,6، 15,6 و 10,5) مم.

- أقطار هالات منخفضة التثبيط للسّلالات (-) Gram تبلغ أقصاها (9، 8 و 7,5) مم لبكتيريا *Klebsiella pneumoniae** على الترتيب لعيّنات زيوت (*Oa*، *Cf* و *Cr*) كما تبلغ *Klebsiella pneumoniae** أقصاها (11,20، 10، 9,5 و 6,5) مم على الترتيب لعيّنات مستخلصات ($CHCl_3$ ، AcOEt ، BuOH ثم Hexane).

- أقطار هالات تثبيط متباينة للعيّنات (Oa، *Cf* و *Cr*) تبلغ أقصاها على الترتيب: (16,5، 10,50 و 14,20) مم لفطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 و (10,5، 6,5 و 10,5) مم لفطر *Aspergillus niger* ATCC 6275، بينما سجّل فطر *Candida albicans** أقطار هالات تثبيط ضعيفة للعيّنات (Oa، *Cf* و *Cr*) مساوية على الترتيب (8,5، 4 و 6) مم.

- أقطار هالات تثبيط متباينة تتأثر بنوع النبتة و/أو المستخلص تبلغ أقصاها للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) على الترتيب: (8,5، 13,75، 11 و 10,8) مم لفطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 و (5,5، 12,6، 8 و 9,5) مم لفطر: *Aspergillus niger* ATCC 6275، و نلاحظ عدم تسجيل أقطار هالات تثبيط فطر *Candida albicans** لجميع عيّنات نباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) للمستخلصات (Hexane، AcOEt و BuOH) فيما عدا في مستخلص $CHCl_3$ و كانت ضعيفة تتراوح (من 7 إلى 9) مم و بذلك يكون الفطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 أكثر تحسسا مقارنة مع فطر *Aspergillus niger* ATCC 6275 و فطر *Candida albicans** الأكثر مقاومة.

- عدم تسجيل أقطار هالات تثبيط بكتيري للسّلالات: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Escherichia coli** لجميع عيّنات نباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) للمستخلصات (Hexane، AcOEt و BuOH) باستثناء بكتيريا إيشيريشيا القولونية (المرجعية و السريرية) للعيّنتين (Oa و *Cf*) لمستخلص BuOH و كانت ضعيفة التثبيط تساوي على الترتيب (6، 5 و 5) مم.

نستنتج أنّ السّلالات موجبة الغرام (+) Gram أكثر تحسّسا من السّلالات سالبة الغرام (-) Gram، وأنّ السّلالتين: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Bacillus subtilis* ATCC 6633 هما الأكثر تحسسا مقارنة بالسّلالات المختبرة، السّلالة الأكثر مقاومة هي: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 تليها المقاومتين: *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Escherichia coli**.

في دراستنا هذه تعتبر زيوت (Oa، *Cf* و *Cr*) و مستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*) كعوامل كيميائية (Agents chimiques) مؤثرة على نمو الأنواع البكتيرية و الأنواع الفطرية قيد الدّراسة و بذلك نسندها للمتفق عليه علميا بأنّ عدم تواجد الغلاف البكتيري و اختلاف طبيعة بنيته في حالة تواجده يؤدي إلى تباين حساسية الميكروبات تجاه العوامل المؤثرة عليها و تكون الطبقة الخارجية لغلاف السّلالات (-) Gram حاجز ضد مختلف العوامل الكيميائية المؤثرة نظرا لتركيبه البيوكيميائي المعقّد المتكوّن من عديدات السكاكر، البروتينات والدّهون ***(Russel et chopra , 1996)*** و بذلك تكون أقطار هالات تثبيط السّلالات الموجبة الغرام أكبر من مثيلتها للسّلالات السالبة الغرام أي أن ّ السّلالات (-) Gram أكثر مقاومة من السّلالات Gram (+).

بمقارنة قيّم CMI المبيّنة في الجداول (رقم: 44، 45، 46 و 47) مع أقطار هالات التثبيط المقابلة لها نلاحظ بأنّ قيّم CMI للسّلالات موجبة الغرام (+) Gram عموما أقل من مثيلتها للسّلالات سالبة الغرام (-) Gram بالإضافة إلى أنّه كلما كانت الأقطار كبيرة تقابلها قيم CMI المنخفضة أكثر مؤكدة تناسب عكسي بين طول القطر وقيمة CMI متفق عليه مرجعيا.

نستنتج من حصيلة النتائج بأنّ فعاليات زيوت (Oa، *Cf* و *Cr*) أقوى من جميع فعاليات مستخلصات $CHCl_3$ الذي يليه الستخلصين (BuOH ثم AcOEt) و أخيرا Hexane الذي يبدو ضعيف جدّا للنباتات (*Oa* ، *Cf* ، *Cr* و *Cm*) تجاه مختلف السّلالات الميكروبية المختبرة، استنتاجنا هذا متماثل مع نتائج دراسات سابقة تقارن النشاطية ضد ميكروبية للزيت العطري و مستخلصات ميثانولية للنبتتين *Achillea millefolium sub sp.* Afan *millefolium* ***(Candan et al., 2003)*** و *Achillea biebersteini* Afan ***(Sokman et al., 2004)*** التي كانت نتيجتها هي أنّ الزيوت العطرية لهذه النبتتين أقوى فعالية من مستخلصاتها الميثانولية.

النباتات الطبية خصوصا الأصيلة (Endémiques) والنادرة (rares) في الجزائر شديدة التنوع (Biodiversité)، الكثير منها لم تتم دراستها واستغلالها كمواد خام هامة للبحوث الدّوائية وتطوير الأدوية، من بينها الجنس *Ormenis* و *Chrysanthemum* يمثلان مصدر هام من المواد الكيميائية النباتية.

دراستنا هذه امتداد للدّراسات الفيتوكيميائية و البيوتكنولوجيا والنشاط ضد ميكروبي للمخبرين (مخبر المنتجات الطبيعية ذات الأصل النباتي و الاصطناع العضوي و مخبر البيوتكنولوجيا والنشاط ضد ميكروبي)، بدأنا هذا العمل بجزء تجريبي يشمل الفحص الكيميائي النباتي (Criblage chimique) للأنواع: *Ormenis africana*، *Chrysanthemum macrocarpum*، *Chrysanthemum reboudianum* و *Chrysanthemum fuscatum* متبوعا بتحليل GC/MS للزيوت الأساسية للعيّنات (Oa، *Cf* و *Cr*)، بعد ذلك دراسة المحتويين الفينولي والفلافونويدي و لتثمين هذا الجزء توجهنا لفصل و تنقية بعض الفلافونويدات التي تشتهر بها عموما النجميات من أزهار نبتة *Ormenis africana* باعتبارها أصيلة في الجزائر.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي نتائج إيجابية لمجموعة العيّنات المختبرة بوجود مجموعات كيميائية مهمّة و فعّالة بيولوجيا (مثل: الزيوت الأساسية، الفلافونويدات، التربينات و الصابونينات و الكاروتينات).

بيّنت تحاليل الزيوت الأساسية الثلاثة للأنواع النباتية (Oa، *Cf* و *Cr*) بكروماتوغرافيا الطور الغازي الموصولة بطيف الكتلة (GC/MS) ثلاثة أنواع كيميائية مختلفة (*Ormenis africana* ذات Acenaphtane، *Chrysanthemum fuscatum* ذات Cycloheptane و Chrysanthemum reboudianum ذات Butyl octyl phthalate)، كما تمّ التعرف على:

- 21 مركب، تمثل 96,62 % من مجمل المركبات المحتواة في زيت *Oa* المتكوّن من مركبات رئيسية هي: (5.35%) Tricyclo 5,1,0,0,2,4 octane-5-carboxylic acid, 3,3,8,8, tetramethyl-,methyl ester، (8.17%) α –Farnesene، (17.44 %) Ocimene، (21.54 %) Calarene، (25,23 %) Acenaphthene.

- 44 مركب، تمثل تقريبا 100 % من مجمل المركبات المحتواة في زيت *Cf* الذي يشمل مركبات رئيسية هي: *B*utane-1,1-dicarbonitrile, 1-cyclohexyl-3-methyl- (10.65 %)، Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (13.94%)، Naphthalenol (14.56 %) و Cycloheptane 4-methylene-1-methyl-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)-1-vinyl- (16.26 %).

- على 12 مركب، تمثل 99,99 % من مجمل المركبات المحتواة في زيت *Cr* المتكوّن من مركبات رئيسية هي: Farnesene epoxide isomer (9.08 %)، O-ocimene (12.60 %)، Farnesene epoxide (13.07 %)، 6-Isopropenyl-3-methoxymethoxy-3-methyl-cyclohexene (14.32 %) و Butyl octyl phthalate (18.90 %).

باستخدام مختلف طرق الإستخلاص و كروماتوغرافيا سائل-سائل ثم تقنيات الفصل الكروماتوغرافي بالعمود و كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) استطعنا من فصل و تنقية 3 مركبات، تم التعرّف عليها و تحديد صيّغها بالإعتماد

على الطرق التحليلية الفيزيائية - كيميائية، ابتداءا بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية ثم مطيافية الرّنين النووي المغناطيسي للبروتون (RMN-^{1}H) و الكربون RMN-^{13}C، بالإضافة إلى الإماهة الحمضية لمعرفة طبيعة السكّر المرتبط و تمييز نوع إرتباطه (O-glycosyl أو C-glycosyl)، هذه الدّراسة سمحت بعزل، تنقية و التعرّف على ثلاثة مركبات من أزهار *Oa*: (B-sitostérol, Luteolin-7-o-glucoside et Quercetine-3-o- glucoside)، تمّ تحديد البنى الجزيئية للمركبات المعزولة والنقية على تقنيات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV و الرّنين النووي المغناطيسي (RMN: ^{1}H ; ^{13}C)، نشير إلى أنّ هذه المركبات تم عزلها من عدّة أجناس تنتمي للنجميات منها جنس *Chrysanthemum* وحسب المراجع المتوفرة لدينا لم تعزل سابقا من نبتة *Ormenis africana* الأصيلة بالجزائر.

احتوت العيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) على قيّم مختلفة من الفينولات الكليّة مقدّرة بالميكروغرام من حمض الغاليك المكافىء لـ 1 ملي غرام من المستخلص حيث أظهر المستخلص BuOH قيّم عالية و متفاوتة لجميع العيّنات تتراوح من (0,06 ± 140,70) إلى (0,15 ± 185,20) يليه مستخلص AcOEt بمحتوى يتراوح من (0,05 ± 105,20) إلى (0,06 ± 135,20)، بينما احتوى المستخلصين Hexane و $CHCl_3$ على أعلى كمية من الفينولات الكليّة قدّرت على الترتيب (0,12 ± 70,10) و (0,10 ± 68,00) للعيّنة *Cr* .

ينعدم تواجد الفلافونويدات في مستخلصات Hexane للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) و في مستخلصات $CHCl_3$ للنبتتين (Oa و *Cr*) لكن نلاحظ قيّم منخفضة جدا للفلافونويدات الكلّية للنبتتين (*Cf* و *Cm*)، بينما المستخلصين BuOH و AcOEt للأنواع (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) يحتويان قيم متباينة إذ احتوى المستخلص BuOH أعلى قيمة للنّوع *Cf* تساوي (0,35 ± 34,44) و مستخلص AcOEt أعلى قيمة للنّوع *Oa* تساوي (0,85 ± 38,85).

ليتسنى لنا إستغلال نتائج هذا الجزء اتبعناه بجزء ثاني حاص بدراسة فعاليات بيولوجية لزيوت نباتات (Oa، *Cf* و *Cr*) و مستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) هي: النشاطيات (ضد مؤكسدة، ضد بكتيرية و ضد فطرية)

تم قياس النشاطية المضادة للأكسدة بتقييم فعلScavenger بطريقة $DPPH^0$ لعيّنات زيوت (*Oa*، *Cf* و *Cr*) و مستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) باختبار العيّنة الخام و أربعة تخفيفات أخرى (1/10 ، 1/100 ، 1/1000 و 1/10.000) خلال زمن متزايد (30'، 60'، 2'، 3'، 4' و 5').

أعطت نتائج نسب إرجاع مئوية لزيوت خام (Oa، *Cf* و *Cr*) تساوي على الترتيب (13,80، 19,60 و 12,60) %، أمّا لمختلف عيّنات الخام للمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) بلغت أقصاها للمستخلصين $CHCl_3$ و AcOEt للعيّنتين (*Oa* و *Cr*) على الترتيب (74,60 و 76,30) % و(88,15 و 85,60) %، ولمستخلصBuOH للعيّنتين (*Cf* و *Oa*) قدّرت على الترتيب و(94,25 و 82,50) %، بينما لمستخلص Hexane للعيّنتين (*Cf* و *Cr*) كانت أعلى القيّم على الترتيب (40,13 و 45,50) % فقط.

نتائج النشاط الإختزالي لزيوت نباتات (Oa، *Cf* و *Cr*) معنوية برغم نسب تثبيطها المنخفضة للجذر الحر إذا ما قورنت مع المركب المرجعي الذي بلغت نسبته (84.50 %)، أمّا المستخلصات ($CHCl_3$، AcOEt و BuOH)

تعتبر الأكثر نشاطا، و بذلك نستنتج انّ هنالك علاقة وطيدة أو توافق نسبي بين النشاطية المضادة للأكسدة و المحتوى الفينولي و الفلافونويدي. باعتبار الفلافونويدات و الأحماض الفينولية مركبات قانصة المعروفة كيميائيا، كما نشير إلى أنّ هذه الدّراسة لم يسبق ملاحظتها في البيبليوغرافيا و النتائج المتحصل عليها مشجّعة تلزمنا بمتابعة دراستنا باختبارات النشاطية ضد مؤكسدة In vivo.

إختبرنا النشاطية ضد ميكروبية لزيوت (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) و لمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للنباتات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و*Cm*) كعوامل كيميائية مؤثرة على نمو سلسلة متدرجة (Gamme) للكائنات الدّقيقة المبيّنة في الجدول (رقم: 21 ص 93) بغرض معرفة مدى تأثير تراكيزها المختلفة و تحديد مدى حساسيتها (حساسة، متوسطة أو مقاومة) بتقييم أقطار مناطق التثبيط بطريقة الانتشار على وسط صلب (طريقة الأقراص) حسب توجيهات تقنية Antibiogramme و دراسة التأثير التثبيطي (Effet inhibitrice : Bactériostases) و التأثير المبيد (Effet bactériocide/ fongicide : Bactéricidie /fongicidie) و تقييمها بطريقة التخفيف في وسط سائل بحساب العاملين الأساسيين: التركيز الأدنى المثبط (CMI) و التركيز الأدنى القاتل أو المبيد (CMB أو CMD) .

تبيّن نتائج النشاطية ضد ميكروبية لقيم أقطار هالات التثبيط إلى إثبات نشاط ضد ميكروبي لزيوت (*Oa*، *Cf* و Cr) و كذلك للمستخلصات (Hexane، CHCl3، AcOEt و BuOH) يتمثل في:

- تأثير تثبيطي معتبر لزيت العينتين (*Cf* و Cr) على السّلالتين معتبر فقط على السّلالتين الموجبة الغرام (*Bacillus subtilus* ATCC 6633 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) عند التركيزين (4 و 8) µغ/مل بأقطار تتراوح بين واسعة و معتدلة التثبيط حيث تتغيّر على الترتيب (من 12,50 إلى 17,20) مم و (من 15.00 إلى 19.80) مم.

- تأثير تثبيطي لزيت *Oa* بأقطار قوية للسّلالتين *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 تساوي على الترتيب (20,15 و 19,50) مم و بقطر معتدل التثبيط لفطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 ، بينما أظهر *Aspergillus flavus* قطر تثبيط منخفض 10 مم.

- أبدت السّلالات سالبة الغرام (-) Gram و فطر*Candida albicans* نمو ملاحظ عند مجمل التراكيز فيما عدا عند التركيز الأعلى حيث أظهرت مناطق تثبيط ضعيفة تتراوح (من 6,5 إلى 9,00) مم.

بيّن تحديد قيم CMI و CMB وتقييمها بطريقة التخفيف في وسط سائل ما يلي:

- التأثير المبيد البكتيري لزيوت النباتات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) على بكتيريا *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و تأثير زيتي النبتتين (*Oa* و *Cr*) على كل من بكتيريا *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و فطر *Aspergillus flavus* ATCC 10239 و كذلك تأثير هاتين النبتتين على الترتيب على كل من *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 و *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

- تسجيل أقطار هالات تثبيط للسّلالة *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و عدم تثبيط: فطر *Candida albicans*[*] لكل العيّنات، بالإضافة لعدم تثبيط السّلالتين: *Escherichia coli* بنوعيها (المرجعية و السريرية) بمستخلصات الآسيتات لكل العيّنات.

حسب معرفتنا لا توجد خلفية دراسات للنشاطية ضد ميكروبية منشورة ذات عمق تعالج زيوت نباتات *(Cf* و *Cr, Oa)* و مستخلصات (Hexane، $CHCl_3$، AcOEt و BuOH) للعيّنات (*Oa*، *Cf*، *Cr* و *Cm*).

دراستنا هذه تعتبر بداية آفاق بيوتكنولوجية صناعية واسعة لربط البيوتكنولوجيا و النشاط ضد ميكروبي لعيّنات المستخلصات النباتية، تتطلب تثمينها بدراسات معمّقة و أبحاث كثيرة متنوّعة:

- تحديد خصائصها الطبيعية و آلية تأثيرها الكيميائي بأبحاث بيوفيزيو-كيميائية (Biophysico-chimique).

- تنقية هذه المنتجات الأيضية و إزالة المجاميع ذات التأثير السلبي المعروفة مسبقا لخلايا العائل مع دراسات التآزر البيولوجي.

- دراسة تأثيراتها الجانبية باختبارات In vivo: للتأكد من عدم سميّتها و تأثيرها على المناعة الدفاعية و تحديد درجة ثباتها و امتصاصها و قدرتها على (إبادة أو إيقاف) الميكروبات بمجال واسع، دون التأثير بخلايا العائل، و لتحقيق غرض استغلال هذه النباتات علاجيا بإعتبارها قد تكون كمواد خام لتطوير الأدوية و البحوث الصيدلانية و السريرية يجب متابعة استخدامها السطحي الخارجي كمطهرات (Antiseptiques) خارجية للجلد و الأغشية المخاطية أو الداخلية كمواد علاجية (Chimio thérapeutiques) ذات أصل طبيعي.

- نتطلّع مستقبلا لمواصلة الاستثمار الفيتو- كيميائي لنباتات العائلة النجمية خاصة الأصيلة و النادرة منها و التي لم يسبق دراستها بهدف استغلالها في المجال الصناعي و الاقتصادي.

- كما نسعى لتحقيق آفاق بيوتكنولوجية صناعية بربط البيوتكنولوجيا والنشاط ضد ميكروبي للزيوت و المستخلصات النباتية كعوامل كيميائية مؤثرة على نمو الكائنات الدّقيقة.

- لتحقيق غرض استغلال هذه النباتات علاجيا يجب تثمين هذه النتائج باختبارات بيولوجية أخرى *In vivo* متقدّمة بالإضافة إلى إجراء دراسات كيميائية معمّقة على مكوّنات الزيوت و المستخلصات النباتية لمعرفة طريقة تأثيرها وتحديد تركيبها الكيميائي.

المراجع

قائمة المراجع

Abu-Irmaileh, B. E. & Afifi, F.U. (2003). Herbal medicine in Jordan With special emphasis on commonly used herbs. *Journal of Ethnopharmacology 89, pp. 193-197.*

Abu-Shaneb, B., Adwan, G., Abu-Safiya, D., Jarrar, N. & Adwan, K. (2004). Antibacterial activities of Some Plant Extracts Utilized in Popular Medicine in Palestine. *Turk. J. Biol., 28, pp. 99-102.*

Adams, R.P. (2001). Identification of essential oil Components by Gas, chromatography/Mass Spectroscopy. Carol Stream, *IL: Allured Publisching Corp., USA.*

Akihisa, T., Shimizu, N., Ghosh, P., Thakur, S., Rosenstein, F.U., Tamura, T. & Matsumoto, T. (1987) . Sterols of the Cucurbitaceae. *Phytochemistry 26, 1693-1706.*

Alaniz, F.S., Mazzarini, L.A., Demo, M.S., Sabini, L.I. & Maldonado, A.M. (2010). Derivated products from *Achyrocline satureioïdes* and *Arnica montana*, with immunomodulating effects. *Molecular Medicinal Chemistry. 20: 121-124.*

Ali-Shtayeh, M. S. & Abu Ghdeib, S. I. (1999). Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. Mycoses, *Volume 42, Issue 11-12 Page 665-672.*

Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, R.M.R., Faidi, Y.R., Salem, K. & Al-Nuri, M.A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology, Vol.60, pp: 265-271.*

Allegrini, J., Simmeon de Buochberg, M. & Billot, A. (1973). Emulsions d'huiles essentielles, fabrication et application en microbiologie. *Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier, 33: 73-86.*

Alvarez- Castellanos, P. P., Bishop, C. D. & Pascual-Villalobos, M. J. (2001). Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. *Phytochemistry, 57, 99.*

Alves, T., Almeida, M., Silva, A.F., Brandao, M., Grandi, T.S.M., Elza de Smânia, F.A, Junior, A.S. & Zani, C.L. (2000). Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol.95(3), pp:367-373.*

Al-Yahya, M. (1990). Saudi Plants a phytochemical and biological approach. *King Abdul Aziz City for Science and Technology, Riyadh, p. 524.*

Amsol, P. (2002). L'huile de tournesol : un partenaire de notre alimentation quotidienne. Industries des Semences de plantes oléoprotéagineuses. France.

Anyos, T. & Steelink, C. (1960). Fluorescent petal Constituents of *Chrysanthemum coronarium L. Archives of Biochemistry and Biophysics. 90: 63-67.*

Appendino, G, Aviello, G., Ballero, M., Borrelli, F., Fattorusso, E., Petrucci, F., Santelia F.U. & Taglialatela-Scafati, O. (2005). Cytotoxic germacrane sesquiterpenes from the aerial parts of *Santolina insularis. J. Nat. Prod., 68(6): 853-857.*

Auzi, A., Najat, T., Hawisa, M., Shrrif, F., Atyajit, D. & Sarker (2007). Neuro pharmacological properties of *Launaea resedifolia. Brazilian J. of Pharmacognosy, 17(2), 160-165.*

Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F. & Montell, H. (1992). Bactériologie clinique. Ed. Copyright, Paris, Chap. II : *Strepto-entero* 2ème *édition. pp.31, 184, 188, 193. ISBN 2-7298-9218-4.*

Awadh Ali, N.A., Julich, W.D., Kusnick, C. & Lindequist, U. (2001). Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology, vol.74 pp: 173-179.*

B

Bakhoum, I.M.S. (2004). Contrôle de qualité et validation de différentes micro-méthodes d'identification bactérienne. *Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.pp.3, 9, 13.*

Banquour, N. (2000). Etude de l'effet de *thym* (décoction) et de son huile essentielle sur l'évolution de la flore microbienne et quelques paramètres chimiques du Smen, au cours de son élaboration. *Thèse de doctorat de 3ème cycle en microbiologie.*

Barbour, E.K., Al Sharif, M., Sagherian, V.K., Habre, A.N., Talhouk, R.S. & Talhouk, S.N. (2004). Screening of selected indignenous plants of Lebanon for Antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology, Volume 93, Issue 1, Page 1-7.*

Bard, M., Albrecht, M.R.N., Guynnet, C.J. & Stillwell, W. (1988). Geraniol interfers Witrh membrane function in strains of *candida* and *saccharomyces*. *Lipids. 23: 534-538.*

Barrero, A.F., Herrador, M.M., Molina Molina, J., Quílez, J.F. & Quirós, M. (1994). α-Longipinene derivatives from *Santolina viscosa*. A conformational analysis of the cycloheptane Ring. *J. Nat. Prod., 57(7): 873-881.*

Belaïche, P. (1979). Traité de phytotherapie et d'aromatherapie. *Ed. Maloine S.A., Tome I.*

Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J. & Younos, C. (1991). Repertory of standart herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. *Journal of Ethnopharmacology*. 35: 123.

Belury, M. (2011). Daily dose of safflower oil can help reduce cardiovascular disease. *Medical Research News. Published on March 22, 2011.*

Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F., Borgi, W., Chouchéne, N. & Aouni, M. (2007). Effects Of methanol extrait of *Chrysanthemum trifurcatum (Desf.) Batt. And Trab*. On duodenal motility of rat. *Comptes rendus Biologies*. 330(3): 226-230.

Beninger, C.W., Abou-Zaid, M.M., Kistner, A.L., Hallett, R. H., Iqbal, M. J., Grodzinski, B. & Hall, J.C. (2004). A flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. *Journal of Chemical Ecology. 30(3): 589-606.*

Benjilali , B., Tantaoui-Elaraki, A., Ismaili-Alaoui, M. & Ayadi, A. (1986). Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plants Médicinales et Phytothérapie. 20(2): 155-167.*

Benjilali, B. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entrainement à la vapeur d'eau et ses équipements. *Institut agronomique et vétérinaire, Maroc.*

Bennett, R.J. & Johnson, A.D. (2005). Mating in Candida albicans and the search for sexual cycle, *Annu. Rev. Microbiol., n° 59, P. 233-225.*

Bennett, R.J. & Johnson, A.D. (2003). Completion of parasexual cycle in *Candida albicans* by induced chromosome loss in tetraploid strains. *Embo J. 22: 2505-2515.*

Berche, P. (2007). L'histoire des microbes. *Edition John Libbey Eurotext, Paris, 197-199.*

Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *J.antibois. 58, 1-26.*

Berkhout, (1923). ***In***: Bennett R. J. & Johnson. A. D. (2003): Completion of parasexual cycle in *Candida albicans* by induced chromosome loss in tetraploid strains. *Embo J. 22: 2505-2515.*

Bernard, R. (2007). Résistance à la bacitracine chez *Bacillus subtilis, 2 Biotechnol. 32, 378-381.*

Beylier-Maurel, F. (1976). Activités bactériostatiques des certaines matières premières de parfumerie. *Rivista Italiana E ppos, 58, P.283-286.*

Bitam, F., Letizia, Ciavata M., Manso E., Dibi A. & Gavagnin (2008). Chemical Characterisation of the Terpenoïd Constituents of the Algerian plant *Launea arborescents. Phytochemistry. 69, 2984-2992.*

Blois, M.S. (1958). Antioxdant detrminations by the use of a stable free radical. *Nature, 181, 1190-1200.*

Blumenthal, M. (1999). The Complete German Commission E Monographs ; American Botanical Council: *Austin, TX, USA, pp. 218–219.*

Boer, H.J. A., Kool, A., Broberg Mziry, W.R., Hedberg, I. & Levenfors, J.J. (2005). Anti-fungal and anti-bacterial activity of some herbal remedies from Tanzania. *Journal of Ethnopharmacology 96, 461-469.*

Boissonnet, B. & Boissennet, G. (1999). Abrège de bactériologie générale et appliqué (théorie et pratique), France, *P. (179-182), (191).*

Boivin, P., Gajdos, A. & Lestradet, H. (2000). Enzymopathies. Masson. Paris. France

Boônchrid, C. & Flegel, T. W. (1982). In vitro antifungal activity of eugenol and vanillin against *Candida albicans and crytococcus neoformans. Can J. Microbio. 28: 1235-1241.*

Bors, W., Vyncke, B., Opdenakker, G., Foidart, J.M., De Pestel, G. & Mareel, M. (1999). Effect of catechins and citrus flavonoïds on invasion in vitro. *Clin. EXP. Metastasis. 9: 13-25.*

Bousseboua, H. (2003). Cours de microbiologie générale, *Edition de l'université mentouri, Constantine (Algérie), P. 39-50.*

Boutaghane, N., Kabouche, A., El-Azzouny, A.M. & Kabouche, Z. (2008). Composition of the essential oil of *Chrysanthemum macrocarpum* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds, 44, 817-818.*

Bown, D. (1995). Encyclopaedia of herbs and their uses. *Edition Dorling Kin dersley. London.*

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol., 28, 25-30.*

Brooks, K.A., Jens, M. & Sodeman, T.M.A. (1974). Clinical Evaluation of the API Microtube System for Identification of *Enterobacteriaceae. Am. J. Med. Techn. 40, 55-61.*

Brown, J. E., Khodr H., Hider, R.C. & Rice-Evans, C. (1998). Structural dependence of flavonoïds interaction with Cu^{+2} ions: implication for their antioxidant properties. *Biochem. J. 330, 1173-1178.*

Bruneton, J. (1999). Huiles essentielles, ***In:*** pharmacognosie-phytochimie: plants médicinales. *3ème ed. Doc. & Tec. Lavoisier, 1999.*

Brüssow, H., Chanchaya, C. & Hardt, W. (2004). Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol. Biol. Rev. 68 (3): 560-602.*

Budic-leto, T. & Lovric, J. (2002). Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of white Wines Posip and Rukatac. *Food Technology and Biotechnology. 40(3): 221-225.*

Buettner, G. R. (2009). What are free radicals? Society *for free radicals Biologie, USA.*

Burits, M. & Bucar, F. (2000). Antioxdant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. res. 14: 323-328.*

Busta, F. & Foegeding, P.M. (1983). Chemical food preservatives ***In:*** S. block: Desin - fection, sterilization and preservation. *Lea and Febiger Ed., P. 256-694.*

Buwa, L.V. & Van Staden, J. (2006). Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology 103, pp. 139-142.*

C

Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A. & Akpulat, H.A. (2003). Antioxidant and Antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp. millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology 87, 215-220.*

Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A. & Akpulat, H.A. (2003). Antioxidant and Antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp. millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology 87, 215-220.*

Cao, G., Sofic, E. & Proir, R.L. (1997). Antioxdant and prooxidant Behavior of flavonoïds: Structure- activity Relationship. *Free Radic. Biol.Med.1997, 22: 749-760.*

Carbonnelle, B. F., Denis, A., Marmonier, G. & Rivargues, P. B. (1987). Bacteriologie médicale-techniques usuelles. P. 224-243. France.

Carson, C.F., Mee, B.J. & Riley, T.V. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemoth. 46: 1914-1920.*

Casado, J. P., Navarro, M. C., Martinez, A., Utrilla, M. P. & Jimenez, J. (2001). Multiple headspace extraction of volatiles from *Santolina canescens* Lagasca during its growth cycle. J. Ess. Oil Res., 13: 170-173.

Casida, J. E. (1973). Pyrethrum: the natural insecticide. *.Academic Press, New York. P. 329.*

Chaudhry, P.S., Cabrera, J., Juliani, H.R. & Varma, S.D. (1983). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoïds, sulindac and Indomethacin. *Biochem Pharmacol,* 32, 19 - 95.

Cheng, W., Cheng, X., Zeng, Y. & Zhang, W. (2013). One new flavonoïd glycoside from *Chrysanthemum morifolium. Asian Journal of chemistry. 25(4): 2335-2336.*

Cheng, W., Li, J., You, T. & Hu, C. (2005). Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum Linne. Journal of Ethnopharmacology, 101, 334-337.*

Chenuet, G. (2007). La santé par les plantes. Phytothérapie. *Digest sélection du reader. p 320.*

Chevallier, A. (1996). The encyclopedia of medical plants. Dorling Kindersly, London. ISBN 9-780851-303148.

Chiej, R. (1982). Les plants médicinaux. *Ed. Solar.*

Choi, Y.J. (1992). Korean Traditional Herbal Plants. *Academic press, Seoul, Korea, P. 53.*

Ciulel, I. (1983). Methdologie for analysis of vegetable drug. Romania. P. 1-26.

CLSI (2010). ***Clinical and Laboratory Standards Institute,*** M50-A, Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; *Approved Guideline, Vol. 28 N° 23.*

Cody, V. (1988). Crystal and molecular structure of flavonoïds. ***In:*** Plant Flavonoïds in Biology and Medicine LH Biochemical, Calder, and Medicinal Properties, *Alan R. Liss, New York, 29-44.*

Combes, R., (1962). Microbiologie sur les antibiotiques d'origine microbienne. *Extrait, des Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences . 255, 599-601.*

Cook, N.C. & Samman, S. (1996). Nutritional Biochemistry, 7, 66 -76.

Cornet, F. (1981). L'aromatogramme. *Phytomédecine, 1et 2, 109-117.*

Cos, P.,Ying, L., Vlietinck, A.J. & Vanden Berghe, D. (1998). Structure-activity Relationship and classification of flavonoïds as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod 1998, 61: 17-76.*

Cotelle, N., Bernier, J.L., Catteau, J. P., Pommery, J., Wallet, J.C. & Gaydou, E.M. (1996). Antioxidant properties of hydroxy-flavones, *Free Radic. Biol. Med., 20: 35-43.*

Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Gustafson, J.L., Warmington, J.R. & Wyllie, S.G. (2000). The mode of antimicrobial actions of *Malaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *J. Appl. Microbiol. 88: 170-175.*

D

Davidson, P.M. (1997). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. ***In:*** M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.) *Food Microbiol. 520-556. ASM, Washington.*

Dayal, B. & Purohit, R.M. (1971). Screening of some Indian essential oils for their antifungal activity. *The flavor industry, 2: 484-485.*

De Pascual, T. J., Vincente, S., González, M.S. & Bellido, I.S. (1983). Nerolidol-5,8-oxides from the essential oil of *Santolina oblongifolia*. *Phytochemistry, 22(10): 2235-2238.*

De Santayana, M.P., Blanco, E. & Morales, R. (2005). Plants known in Spain. An ethno-pharrmaco-botanical, review. *Journal of Ethnopharmacology 98, 1-19.*

De Souza, G.C., Haas, A.P.S., VON Poser, G.L., Schapoval, E.E.S. & Elisabetsky, E. (2004). Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology 90, 135-143.*

Delarras, Camile. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. *P: 248 - 253, 357- 359 et 389 - 93. Ed. Lavoisier. Paris. France.*

Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A. & Capasso, F. (1999). Flavonoïds: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences, 65(4), 337-353.*

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjmi, B., Boutassouna, D., Stoker, P. & Vidal, N. (2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing compound. *Food chemistry (79). 654-660.*

Dorman, H.J.D. & Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. of applied Microbiology 88 : 308-316*

Drugeon, H., Legallou, F. & Caillon, J. (1991). Méthodes d'étude de l'activité bactéricide. Aspects théoriques et thérapeutiques. *Edité par: Courvalin P,, Drugeon H,, Flandrois J. P et Goldstein F., Maloine. Paris.*

Ducquenois, P. (1968). L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. *Parf. Cosm. Sav. P. 414-418.*

Dugas, A.J., Castaneda-Acosta, J., Bonin, G.C., Price, K.L., Fischer, N.H. & Winston, G. W. (2000). Evaluation of the total peroxyl radical-scavening capacity of flavonoïds: Structure- activity Relationship. *J. Nat. Prod. 2000, 63: 327-31.*

Dugler, B. & Gonuz, A. (2004). Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian Journal of Plant Science, vol. 3, no.1, pp: 104-107.*

Dunière, L. (2012). Stratégies de limitation du portage sain des *Escherichia coli* producteurs de Shigatoxines (STEC) par les bovins. Potentiel bio-protecteur des bactéries lactiques enalimentation animale. *Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal. P. 36.*

E

Edris, A.E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: *A review. Phytother. Res. 21, 308-323.*

Essawi, T. & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal Plants for antibacterial activity. *Journal* of *of Ethnopharmacology 70, pp. 343-349.*

F

Fattorusso, E., Santelia, F.U., Appendino, G., Ballero, M. & Taglialatela-Scafati, O. (2004). Polyoxygenated eudesmanes and *trans*-chrysanthemanes from the aerial parts of *Santolina insularis . J. Nat. Prod., 67: 37-41.*

Feresin, G.E., Tapia, A.A. & Bustos, D.A. (2000). Antimicrobial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina. *Fitoterapia, vol. 71, pp: 429-432.*

Fernandez, J., Curt, M.D. & Aguado, P.L. (2006). *Industrial Crops and Products*, 24, 222–229.

Ferrari, B., Tomi, F. & Casanova, J. (2005) . Terpenes and acetylene derivatives from the roots of *Santolina corsica (Asteraceae). Biochemical Systematics and Ecology. 33(4): 445-44.*

Flamini, G., Bertoli, A.,Taglioli, V., Cioni, P.L. & Morelli, I. (1999) . Composition of the essential oils of *Santolina ligustica. J. Ess. Oil Res., 11: 6-8.*

Flamini, G., Caroti Ghelli, G., Pistelli, L. & Morelli, I. (1994). Phenolic compounds from *Santolina pinnata*, *Planta Medica, 60(1), 97.*

Flandrois, J.P. & Carret, G. (1986). Nouvelles approches de l'étude de la sensibilité de bactéries aux antibiotiques. *Rev. Fr. Lab, 151: 7-12.*

Fleischer, T.C., Ameade, E.P.K. & Sawer, I.K. (2003). Antimicrobial activity of the leaves and flowering tops of Acanthospermum hispidum. Fitoterapia, 74, 130-132.

Funk, V.A., Bayer, R.J., Keely, S., Chan, R., Watson, L., Gemein-holzer, B., Schilling, E., Panero, J.L., Baldwin, B.G., Garcia jacas, N., Susanna, A. & Jansen, R.K. (2005). Every where but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the compositae. *Biol. Skr., 55, 343-374.*

G

Garg, S.N., Gupta, D., Mehta,V.K. & Kumar, S. (2001). Volatile constituents of the essential oil of *Santolina chamaecyparissus L.* from the southern hills of India. *J. Ess. Oil Res., 13: 234-235.*

Garrity, G.M., Bell, J.A. & Lilburn, T.G. (2004). Taxonomic Outline of the *Procaryotes, Bergey's Manual of Systemetic Bacteriology. Edition Release 5.0, Springer-Verlag. New York, 110-114.*

Garrity, G.M., Brenner, D.J., Krieg, N.R. & Staley, J.T. (2005). The Proteobacteria. *Bergey's Manual of systematic Bacteriology* 2C. *2nd ed. NewYork: Springer. P. 1388. British Library no. GBA 561951.*

Garrity, G.M.,Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. & Whitman, W.B. (2009). The *Firmicutes. Bergey's Manual of systematic Bacteriology* 3. *2nd ed. NewYork: Springer. P. 1450. British Library no. GBA 561951.*

Gaussen, H. & Leroy, F. (1982). Précis de botanique: végétaux supérieures, *2ème édition P. 424-426.*

Gawronska-Grzywacz, M., Krzaczek, T., Nowak, R., Los, R., Malm, A., Cyranka, M. & Rzeski,W. (2011). Biological activity of new flavonoïd from *Hieracium pilosella L. Central European Journal of Biology.* 6(3): 397-404.

Gazengel, M. & Oerechioni, M. (2001). Le préparateur en pharmacie « Botanique-pharmacognosie- phytotherapie- Homéopathre *», P.144-146.*

Gessman, T.A. & Steelink, C. (1957). Flavonoïds petal Constituents of *Chrysanthemum segetum L. Organic Chemistry. 22(8): 946-948.*

Geyid, A., Abebe, D., Debella, A., Makonnen, Z., Aberra, F., Teka, F., Kebede, T., Urga, K .,Y ersaw, K. & Biza, T. (2005). Screening of some medicinal plants of Ethiopia for their anti-microbial properties and chemical profiles. *Journal of Ethopharmacology, 97, pp. 421-427.*

Gheraf, N., Zellagui, A. & Rhouati, S. (2006). Isolation of Coumarins and Coumarin glucosides from *Launaea resedifolia*. *Asian J. of Chem, 2348-2352.*

Ghosh, D. & Scheeepens, A. (2009). Vascular action of polyphenols. *Molecular Nutrition & Food Research, 53: 322 – 331.*

Giner, R.M., Manez, S. & Rios, J.L. (1993). Seasonal variations in the essential oil of *Santolina chamaecyparissus,* Fac. Farm., Univ. Valencia, Burjassot, *Spain Scientia Pharmaceutica, 61(3), 169-73.*

Glennie, C.W. & Harborne, J. B. (1972). Flavonoïds of Pyrethrum. *Pyrethrum Post. 11(3): 82-84.*

Goli, A.H., Brazegar, M. & Sahari, M.A. (2005). Antioxdant activity and total phenolic compounds of *pistachio (Pistachia vera)* hull extracts. *Food Chem 92: 521-525.*

Gounelle, P. & Loraux, (1987). Soins infirmiers: La maladie infectieuse, 6ème cycle. P. 47-48. Ed. AP. Paris. France.

Greenwood, D., Slack, R.C. B. & Peutherer, J.F. (2002). Medical Microbiology a Guide to Microbiol Infection: Pathogenesis, Immunity, Laboratory, Diagnosis and Control. *Edition16. Churchill Livingstone, Edinburgh, London New York Oxford Philadelphia St Louis Sydney Toronto.*

Greenwood, D. & Ogilive, M.M. (2002). A guide to microbial infections: pathogenesis, immunity, laboratory diagnosis and control. *University of Nottingham Medical School, sixteenth edition,* London New York Oxord Philadelphia ST Louis Sydney Toronto.

Greenwood, D. (2000). Antimicrobial Chemotherapy, 4th edn. Oxford University Press, Oxford.

Griffin, S. G., Wyllie, S .G., Markham, J.L. & Leach, D.N. (1999). The role of structure and molecular properties of terpenoïds in determining their antimicrobial activity. *Flav. Frag. J.*, 14: 322-332.

Gueye, O. (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif. *Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. P. 6-8, 12-13, 29, 31-32.*

Guignard, J.L. (1994). Abrégé botanique. *9ème Ed. Edition Masson, Paris. France. P. 204.*

Guignard, J.L. (2000). Biochimie végétal, *2ème édition préface de pierre potier, P. 155-217*

Gutteridge, J.M. (1993). free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun. 19: 141-158.*

H

Halliwell, B. (1999). How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications. 9: 1-32.*

Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: *a personal view. Nutr. Rev., 52: 253-265.*

Hamil, F.A., Apio, S., Mubiru, N.K., Bukenya-Ziraba, R., Mosango, M., Maganyi, O. W. & Soejarto, D.D. (2003). Traditional herbal drugs of Southern Uganda, II: Literature analysis and antimicrobial assays. *Journal of Ethnopharmacology, 84, pp. 57-78.*

Han, C.S., Kim, W.T., Choi, H.Y., Ham, I., Yang, G. & Bang, C. (2010). Compound comprising extracts or fractions of *Chrysanthemum boreale* makino having anti-inflammation activity. *Patentscope. KR 2010006651 A 20100270.*

Hans, W.k. (2005). 1000 plantes aromatiques et médicinales, *Terres éditions, P. 10-14.*

Harbone, J.B. & Baxter, H. (1999). The handbook of natural flavonoïds, Lavoisier librairie, 1770 p.

Harborne, J. B., (1988). The flavonoïds, *Advances in research since 1980 Chapman & Hall. London.*

Harborne, J. B. & Smith, D.M. (1978 a). Anthochlor and other flavonoïds as honey guides in the compositae. *Biochem. Syst. & Ecol. 6(4), 287-291.*

Harborne, J.B. & Smith, D.M. (1978 b). Correlations between anthocyanin chemistry and pollination ecology in the Polemoniaceae. *Biochem. Sys. & Ecol. 6(2), 127-130*

Harborne, J.B., Heywood, V.H. & King, L. (1976). *Biochemical Systematics and Ecology. 4: 1-4.*

Harborne, J.B., Heywoode, V.H. & Saleh, N.A.M. (1970). Chemosystematies of the Compositae: Flavonoïds patterns in the *Chrysanthemum* complex of the tribe *Anthemideae. Phytochemistry. 9(9): 2011-2017.*

Heart, T. & Shears, P. (1997). Atlas de poche de Microbiologie. *Ed. Flammarion Médecine-Sciences, France. P. 1, 71-79, 85- 87, 117. ISBN: 2-257-10125-1.*

Hastings, P., Rosenberg, S. & Slack, A. (2004). Antibiotic-induced lateral transfer of antibiotic resistance. *Trends Microbiol. 12 (9): 401.*

Havsteen, B. (1983). A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol. Flavonoïds. 32, 1141-1148.*

Hayek, L. & Willis, G.W. (1984). Identification of the *Enterobacteriaceae:* a Comparison of the Enterotube II with the API 20E. *J. Clin. Pathol. 37, 344-347.*

Hemwimon, S., Pavasant, P. & Shotiprux, A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrofolia*. Separation and Purification Technology, 54, 44-50.

Henri, V. (1993). Mes procédé d'extraction des huiles essentielles, partie 1, d'après des articles de Henri Viaud, distillateur thérapeutique naturelles, *GNOMA.*

Hernandez, N.E., Tereschuk, M.L. & Abdala, L. R. (2000). Antimicrobial activity of flavonoïds in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucuma' n, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology, 73,317-322.*

Hertog, M.G. (1995). Flavonoïd intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Archives of Internal Medicine, Vol. 155 No. 4.*

Himejima, M. & Kubo, I. (1993). Fungicidal activity of polygodial in combination with anethole and indole against *Candida albicans. J. Agric. Food Chem., 41, p. 1776-1779.*

Hininger, F. (2013). Le Sress oxydant. *Journal de Laboratoire de Biologie du stress Oxydant Faculty de Pharmacie. P. 1-6. Grenoble.*

Hollman, P.C.H. & Arts, I.C.W. (2000). Flavonols, flavones and flavanols-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 80 (7), 1094-1096.*

Hostettman, K., Potteray, O. & Wolfender, J.L. (1998L b). The potent of higher plants as a source of new drugs. Chimie, 52, P. 10-17.

Hu, C.Q., Chen, K. & Shi, Q. (1994). Anti-aids agents. 101. Acacetin-7-O-β-D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from *Chrysanthemum morifolium* and structure-activity correlation with some related flavonoïds. *Journal of Natural Products. 57: 42-51.*

Husnu CanBaser, K. & Buchbauer, G. (2010). Hand book of essential oils, Science technology and applications, *Eds. Taylor & Francis group, London, New-York, USA.*

Hyun Jung, S., So Young, L., Ju Sun, K., Sanghyun, L., Ran Joo, C., Ha Sook, C., Yeong Shik, K. & Sam Sik, K. (2012). Sesquiterpens and other constituents from *Dendranthema zawadskii var & Chrysanthemum latilobum. Pharmaceutical Bulletin. 60(3): 306-314.*

I

Ibrahim, D. & Sahim, A. (2013). Bioactive volatile Content of the Stem and root of Centaurea Carduiformis DC. Subs p. Carduiformis var. Carduiformis, *Hindawi Publishing Corporation, Journal of Chemistry, volume 2013, Article ID 125686, P.6.*

Ibrahim, L.F., El-Senousy, W.M. & Hawas, U.W. (2007). NMR spectral analysis of flavonoïds from *Chrysanthemum coronarium. Chemistry of Natural Compounds. 43(6): 659-662.*

Iglesias, J., Adzet, T. & Torrent, M.T. (1973). Phytochemical studies on *Santolina chamaecyparissus,* San Martin, R. Fac. Farm., Univ. Barcelona, Barcelona, Spain, *Revista de la Real Academic de Farmacia de Barcelona, 7, 5-13.*

Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T. & Yankova, T. (2005). Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology 96, 145-150.*

Iwashina, T. (2000). The Structure and distribution of the flavonoïds in Plants. *Journal of Plant Research. 113(3), 287-299.*

Izzo A.A., Di Carlo, G., Biscardi, D. & Capasso, F. (1995). Biological screening of Italian medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytotherapy Research, Vol. 9, pp: 281-286*

J

Janeway, C.A., Murphy, K., Travers, P. & Walport, M. (2009). Immunobiologie. *3ème Edition, de Boeck supérieur, Paris, 502.*

Janzen, E. (1984). Spin trapping. Methods in enzymology, Editors-in-chief: Sidney P. Colowick and Nathan O.Kaplan. *Method. Enzymol., 105, 188-198. Academic Press New York San Francisco London.*

Jiang, H., Xia, Q., Xu, W. & Zheng, M. (2004). *Chrysanthemum morifolium* attenuated the reduction of contraction of isolated rat heart and cardiomyocytes induced by ischemia/reperfusion. *Farmazie, 59, 565-567.*

John Peter Paul, J., Revathy. I. & Johnson, M. (2012). *In* vitro propagation of *solidago virgaurea L.* through nodal culture. *Research in Plant Biology*. 2(4): 8-15.

Jost, P.C. & Griffith, O.H. (1984). The spin-labeling technique. Methods in enzymology, Editors-in-chief: Sidney P. Colowick and Nathan O.Kaplan. *Method. Enzymol., 105, 369-418. Academic Press New York San Francisco London.*

Jovanovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B. & Simic, M.J. (1994). Flavonoïds as antioxidant. *J. AM. Chem. Soc. 1994, 116: 4846-4851.*

Juan-Badaturuge, M., Habtemariam, S., Jackson, C. & Thomas, M.J.K. (2009). Antioxidant principles of *Tanacetum vulgare L.* aerial Parts. *Natural Product Communications.* 4: 1561-1564.

Jung, E.B. & Shim, M.K. (1990). Hyang Yak Dae Sa Jun. Young Lim Sa (3rd ed.), Seoul, Korea.

K

Kandler, O. & Wheelis, M. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA p. 87*

Kang, S.S., Kim, J.S., Son, K.H., Lee, C.O. & Kim, Y.H. (1996). Isolation of handelin from *Chrysanthemum boreale*. *Archives of Pharmacal Research*. 19 (5): 406-410.

Khallouki, F., Hmamouchi, M., Younos, C., Soulimani, R., Bessiere, J.M. & Essassi, E. M. (2000). Antibacterial and molluscicidal activities of the essential oil of *Chrysanthemum viscidehirtum. Fitoterpia, 71, 544-546.*

Khatibi, A., Shah, A.H., Ageel, A.M., Ahmad, M.S., Al-Yahya, M.A. & Tariq, M. (1989). Saudi Folk Medicine: phytochemical and Antimicrobial Screening. *Pakistan J. Pharm. Sci., 2 (1): 29-34.*

Kijhnau, J. (1976). The flavonoïds. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. Wld. Rev. Nutr. Diet. 24, 117-191.

Knobloch, K.A., Pauli, B., Iberl, H., Weigand, N. & Weis, (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J. of Ess. Oil Res. 1: 119-123.*

Kohanski, M.A., Dwyer, D.J. & Clins, J.J. (2010). How antibiotics Kill bacteria: from targets to networks. *Natural Reviews Microbiology*, **8**, 423-434.

Kokoska, L., Polesny, Z., Rada, V., Nepovim, A. & Vanek, T. (2002). Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology, 82, 51-53.*

Konning, G.H., Agyare, C. & Ennison B. (2004). Antimicrobial activity of some medicinal plants from Ghana. *Fitoterapia, Vol. 75, pp: 65-67.*

Koubaa, I.., Damak, M., McKillop, A. & Simmonds, M. (1999). *Fitoterapia*, , 70, 212–213.

Kucers, A., Crowe, S.M., Grayson, M.L. & Hoy, J.F. (1997). The Use of Antibiotics: *a Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs, 4th edn. Heinemann, London.*

Kumar, A., Singh, S.P. & Bhakuni, R.S. (2005). Secondary metabolites of *Chrysanthemum genus* and their biological activities. *Current science. 89(9): 1489-1501.*

Kumarasamy, Y., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L. & Sarkar, S.D. (2002). Screening Seeds of Scottish Plants for Antibacterial Activity. *Journal of Ethnopharmacology, Vol. 83, pp: 73-77.*

Kurita, N., myaji, M., Kurane, R., Takahara, Y. & Ichimara K. (1979). Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds rom oils of higher plants. *Agric. Biol. Chem. 43: 2365-2371.*

Kwon, H.S., Ha, T.J., Hwang, S.W., Jin, Y.M., Nam, S.H., Park, K.H. & Yang, M. S. (2006). cytotoxic flavonoïds from the whole plants of *Chrysanthemum zawadskii Herbich var.* Latilobum Kitamura. *Korean Journal of life Science, 16, (746-749).*

L

Ladjel, S., Gherraf, N., Zellagui, A., Brahim, L. & Hameurlaine, S. (2011). Phytochemical and Antibacterial screening of some Algerian Saharian Medicinal Plants. *Journal of Plant Siences feed., 1(10): 178-179.*

Lahlou, M. (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytoth. Res. 18, 435-448.*

Lai, J.P. Lim, Y.H., Su, J., Shen, H.M. & Ong, C.N. (2007). Identification and characterization of major flavonoïds and caffeoylquinic acids in three Compositae plants by LC/DAD-APCI/MS. *Journal of chromatography. 848: 215-255.*

Lamarti, A., Badok, A., Deffieux, G. & Carde, J.P. (1994). Biogénèse des monoterpènes, II. La daîne isoprénique, *P. 79-99, Bordeaux, France.*

Larshini, M., Oumoulid, L., Lazrek, H.B., Wataleb, S., Bousaid, M., Bekkouche, K. & Jana, M. (2001). Antibacterial activity of some Moroccan medicinal plants. *Phytotherapy Research, Vol. 15, pp: 250-252.*

Laverdière, M. & Johnson, A.D. (2006). Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans oesophagitis. J. Antimicrob. Chemother. 57: 705-708.*

Lawrence, B.M. (1997). Progress in essential oil research. *Perfum. Flav.*, 22: 78-82.LC/DAD-APCI/MS. *Journal of chromatography*. 848: 215-255.

Leclerc, H. (1983). Microbiologie générale, 2ème édition, paris, P. 200-217, 313-322.

Lee, K.H. (1996). Book of Abstracts, *American Chemical Society.*

Lee, Y.N. (1996). *Flora of Korea. Kyo-Hak. P. 827.*

Legast, E. & Peyron, L. (1983). IX congrès international des huiles essentielles, P. 63, Singapour. République Singapour.

Legrand, G. (1978). Manuel préparatoire en pharmacie. *8ème éd. Masson. Paris. Franç*e.

Lehninger, A. (2000). Biochmie (traduit en francais). *Flammarion Paris. France.*

Leilei. L., Rui. W., Junli, Y. & Yanping. S. (2012). Five New Sesquiterpenoïds from *Chrysanthemum indicum. Chinese Journal of Chemestry. 30(6): 1255-1260.*

Lemberg, S. (1982). Armoise, *Artémisia herba alba. Perfumer ftavorist, 7, P. 58-63.*

Lepoivre, P. (2003). Les bactéries phytopathogènes, ***In:*** Phytopathology. *Lepoivre P. 432. Edition De Boeck, Bruxelles.*

Li, Z.Y., Zhi, H.J., Xue, S.Y., Sun, H.F., Zhang, F.S., Jia, J.P., Xing, J., Zhang, L.Z. & Qin, X.M. (2012). Metabolomic profiling of the flower bud and rachis of *Tussilago farfara* with antitussive and expectorant effects on mice. *Journal of Ethnopharmacology. 140 (1): 83-90.*

Li-ming, Z., Cheng-hui, W. & Zhi-qiang, X. (2012). Identification of the flavonoïds and phenolic acids in *Derndranthema marifolium (Ramat)* Tzvel. Cv. Chuju and their effect on sensory quality of cigarette. *Anhui Nongye Kexue. 40(23): 11820-11822.*

Lipton, R.B., Gobel, H., Einhaupl, K.M., Wilks, K. & Mauskop, A. (2004). Petasites hybridus root (butterbur) is an effective preventive treatment for migraine. *Neurology. 63: 2240-2244.*

Liu, K., Rossi, P.G., Ferrari, B., Berti, L., Casanova, J. & Tomi, F. (2007). Composition, irregular terpenoids, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina corsica* Jordan et Fourr. *Phytochemistry, 68(12): 1698-1705.*

Lopez, A., Hudson, J.B. & Towers, G.H.N. (2001). Antiviral and Antimicrobial Activity of Colombian Medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology, Vol.77, pp:189-196.*

M

Mabry, T.J., Thomas, M.B. & Markham, K.R. (1970). The systematic identification of flavonoïds, Springer-Verlag. Berlin, 13.

Macdonald, H.G. (1997). A dictionary of natural products. Medford. *New Jer- sey: Plexus publishing Inc. p 185.*

Madigan, M. & Martinko, J. (2007). Biologie des micro-organismes. *P.802. 11ème ed. Pearson education. Paris. France.*

Mahantesh, S.P., Gangawane, A.K. & Patil, C.S. (2012). Free radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedcines in Human Health: Future perspects. *World Research of Medcinal et Aromatic Plants, **1**(1), 06-10*

Mahato, S.B. & Kundu, A.P. (1994). ^{13}C - NMR Spectra of pentacyclic triterpenoïds a compilation and some salient features. *Phytochemistry. 37, 1517-1575.*

Maisuthisakul, P., Pasuk, S. & Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis.* Vol. 21, N°3.

Mallea, M., Soler, M., Anfoso, F. & Charpin, J. (1997). Activité antifongique d'essences aromatiques. *Path. Biol., 27, P. 57-602.*

Marino, M., Bersani, C. & Comi, G. (2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae.* International. *Journal of Food Microbiology 67, 187-195.*

Markham, K.R. (1982). Technique of flavonoïd Identification, eds. Academic press, London, New York, Paris, San Diago, Sậu Paulo, Sydney, Tokyo, Toronto P. 52-60.

Markham, K.R. (1988). Distribution of flavonoïds in the lower plants and its evolutionary significance. In the flavonoïds: *Advances in research since 1980. Harborne J.B. Ed.*

Markham, K.R. (1988). Distribution of flavonoïds in the lower plants and its evolutionary significance. In the flavonoïds: Advances in research since 1980. *Harborne J.B. Ed. Chapmann & Hall. London, 427-468.*

Martens, S. & Mithöfer, A. (2005). Flavones and flavone synthases: *Phytochemistry, 66(9), 2399-407.*

Masuda, T., Yonemori , S., Oyama, Y., Takeda, Y. & Tanaka, T. (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts from seashore plants. *J. Agric. Food Chem., 47(4): 1749-1754.*

Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchida, I., Harima, S. & Yoshikawa, M. (2002). Medicinal Flowers VI. Absolute stereostructures of two new flavanone glycosides and a phenylbutanoïd glycoside from the flowers of chrysanthemum indicum L.: their inhibitory activities for rat lens aldose reductase. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 50: 972-975.

Mc Govern, T.W. & Barkley, T.M. (1998). Botanical dermatology**.** *Int. j. Dermatol.,37(5): p. 321-34*

Merken, H.M. & Beecher, G.R. (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: *Journal of agricultural and food chemistry a review. 48(3), 577-599.*

Mezhoud, S., Derbré, S., Ammedah, S., Mekerrou, R., Boumaza, O., Seghiri, R., Benayache, S., Richoum, P. & Benayache, F. (2012). antioxydant activity and chemicals constituents of *warionia saharae* Benth (compositae) from Algeria.

Mia, N.B., Bovi, O.A., Perecin, M.B., Marques, M.O.M., Granja, N.P. & Trujillo, A.R. (2004). *Acta. Horticulturae, 629, 39.*

Micheli ex Link. (1809). In: Raper, K. B. & Fennell, D. I. (1965). The genus *Aspergillus. Wikins, Baltimore, p. 686.*

Miguel, M.G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short *review. Molecules, 15: 9252-9286.*

Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. & Van Beek, T.A. (2004). Food Chem., 85, 231.

Millanvoye, G. (1986): Mini-encyclopédie des médecines naturelles. *France Loisirs, Paris.*

Miyazawa, M. & Hisama, M. (2003). Antimutagenic activity of flavonoïds from *Chrysanthemum morifolium. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 67, 2091-2099.*

Mothana, R.A.A. & Lindequist, U. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *Journal of Ethnopharmacology, vol.96, pp: 177-181.*

Motohiko, U., Tshihiro, A., Harukuni, T., Hiroyukis, S. & Hoyoku, N. (2002). Constituents of Compositae plants Ш. Anti tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpen diols from edible *Chrysanthemum flowers*. *Cancer letters. 177(1): 7-12.*

Motohiko, U., Tshihiro, A., Ken, Y., Yoshimasa, K., Yumiko, K., Kazup, K., Tamostu, N. & Michio, T. (2001). Costituents of Composiatae plants. 2. Triterpene diols, triols, and their 3-O-fatty acid esters from edible *Chrysanthemum flowers extract* and their anti-anflammatiry effects. *Agricultural and food Chemistry. 49(7): 3187-3197.*

Moussaoui, F., Zellagui, A., Segueni, N., Touil, A. & Rhouati, S. (2010). Flavonoïd constituents from *Algerian Launea resedifolia (O.K.)* and their antimicrobial activity. *Rec. Nat. Prod.*, 4:1, 91-95.

Mucaji, P., Granc̆ai, D., Nagy, M., Vis̆n̆ovska, Z. & Ubik, K. (2000). *Farmacie, 49, 75-77.*

Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A. & Yolken, R.H. (2003). Manual of Clinical Microbiology. *8th Edition. American Society for microbiology, Washington, D.C.*

Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D. & Roussis, V. (2009). Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes – *Journal of Ethnopharmacology.*

N

NCCLS (2003). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard. M7-A6, 6th ed., Wayne.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (2006). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard-Ninth Edition. M2-A9, Wayne, Pennsylvania, USA.

Neto, C.C., Owens, C.W., Langfield, R.D., Comeau, A.B., Onge, J.St., Vaisberg, A.J. & Hammond, G.B. (2002). Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. *Journal of Ethnopharmacology, 79, 133-138.*

Niaz Ali, Ismail Shah, Syed Wadood Ali Shah , Ghayour Ahmed, Mohammad Shoaib, Muhammad Junaid, Waqar Ali & Zahoor Ahmed. (2013). Antioxidant and relaxant activity of fractions of crude methanol extract and essential oil of *Artemisia macrocephalajacquem.*472-6882.

Nostro, A., Germano, M.P., D'Angelo, V., Marino, A. & Cannatelli, M.A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology 30, 379-384.*

O

Ochocka, R.J., Rajzer, D., Kowalski, P. & Lamparczyk, H. (1995). Coumarins from *Chrysanthemum. Electrophoresis Journal of Chromatography A. 709:197-202.*

Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. & Altundag, S. (2009). Essential oil composition. antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuniefolia Ten. Food Chemstry 112 (2009) 874-879*

Oksfiz, S. & Wagner, H. (1982). *Journal of Natural Products 45: 374.*

Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara, third ed. Ed. CNRS, Paris, France.

P

Padrini, F. & Lucheroni, M.T. (1996). Legrand livre des huiles essentielles. Ed. devecchi.

Palá Paúl, J., Perez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Ramos-Vázquez, P., Gómez-Contreras, F. & Sanz, J. (1999). Essential oil of *Santolina rosmarinifolia L.* ssp. *rosmarinifolia*: first isolation of capillene, a diacetylene derivative. *Flavour Fragr. J. 14: 131-134.*

Palá Paúl, J., Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Palá-Paúl, R., Sanz, J., & Conejero, F. (2001). Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia L. ssp. rosmarinifolia. Biochem. Syst. Ecol., 29(7): 663-672.*

Palazón, J., Cusidó, R.M. & Morales, Y.C. (1999). Métabolisme et la signification biologique des polyphénols dans le vin, *Groupe de biotechnologie des plantes, Faculté de Pharmacie, Université de Barcelone. Paris, France; 1963.*

Paris, R. & Moyse, H. (1971). Précis de matière médicale (tome III). Paris: Masson et Cie

Parize, P. (2008). Antifungal Therapy of *Aspergillus* Invasive Otitis Externa: Efficacy of Voriconazole and Review*, Antimicrob. Agents Chemother, décembre, 2008.*

Paul, R. & Impens, P. (2003). Les maladies non parasitaires. ***In:*** Phytopathology. *Lepoivre P.50. Edition De Boeck, Bruxelles.*

Pavelaa, R., Sajfrtovà, M., Sovova, H., Bàrnet, M. & Karban, J. (2010). The insecticidal activity of *Tanacetum parthenium (L.)* Schultz Bip. Extracts obtained by supercritical fluid extraction and Hydrodistillation. *Industial Crops and Products 31 (3): 449-454.*

Pellecuer, J., Allegrini, J. & De Boucheberg, M.S. (1976). Huilles essentielles bactéricides et fongicides. *Revue de l'Institut pasteur de Lyon, P. 135-159, Lyon. Françe.*

Petignat, C., Dominique, B. & Bally, F. (2006). Microbiologie Pathogenèse de L'infection, *Institut Central Hôpitaux Valaisans, France, 9.*

Pietta, P.G. (2000). Flavonoïds as antioxidant. *J. Nat Prod.2000, 63: 1035-1042.*

Pinelli, P., Agostini, F., Comino, C., Lanteri, S., Portis, E. & Romani, A. (2007). *Food Chemistry*, 105(4), 1695–1701.

Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, C., Boatto, G., Tomi, F., Chessa, M., Cerri, R. & Casanova, J. (2002). Chemical composition and Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis L.* oils from Sardinia and Corsica. *Flavour Fragr. J.; 17: 15-19.*

Plaombo, E.A. & Semple, S.J. (2001). Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology, 77, pp. 151-157.*

Q

Quezel, P. & Santa, S. (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, *Tomes (I et II). Ed. CNRS, Paris. France.*

Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie - International Eddition 50(3): 586-621.*

R

Rashid, S., Ashraf, M., Bibi, S. & Anjum, R. (2000). Insecticidal and Cytotoxic Activities of *Launaea Nudicaulis (Roxb.)* and *Launaea Resedifolia (Linn.). Pakistan J. of Biol. Sc. 3(5).: 08-809.*

Regnault-Roger, C. & philogene-Bet, V. (2008). Biopesticides d'origine végétale, *2ème Edition, Lavoisier. Paris. P.550.*

Romero, C.D., Chopin, S.F., Buck, G., Martinez, E., Garcia, M. & Bixby, L. (2005). Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. *Journal of Ethnopharmacology, 99, 2, 253-257.*

Roseiro, L.B., Barbosa M., Ames, J.A. & Wilbey, R.A. (2003). *International Journal of Dairy Technology*, 56, 76–85.

Russel, A. & chopra, D. (1996). Understanding antibacterial action and resistance. 2 nd Ed. Ellis Horwood, Chichster, England.

S

Salamah, A.A., Hassan, H.M. & Nassar, T.M. (1989). Antibacterial Wild Flowering *Plants in Saudi Arabia. J. King Saud Univ., Vol. 1, Science (1, 2), pp.5-19.*

Samson, R.A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C. & Andersen, B. (2010). Food and indoor fungi. *(CBS-KNAW fungal Biodiversity Centre: Ulrecht, The Netherlands).* P. 390.

Samson, R.A., Houbraken, J., Summerbell, R.C., Flannigan, B. & Miller, J.D. (2001). Common and important species of *fungi and actinomycetes* in indoor environments. In: Microorganisms in Home and Indoor Work Environments. *NewYork: Taylor & Francis. pp. 287-292. ISBN*

Sanz, J.F., Falcó, E. & Marco, J.A. (1990). New acetylenes from *Chrysanthemum coronarium L. Liebigs Annalen der Chemie. 1990(3): 303-305.*

Saxena, V.K. & Albert, S. (2005). β-Sitostérole-3-O-β-D-xylopyranoside from the flowers of *Tridax procumbens Linn. J. Chem. Sci, 117(3), 263-266.*

Sell, Y., Benezra, C. & Guérin, B. (2002). Plantes et réactions cutanées. *Montrouge , John Libbey Eurotext., P. 160.*

Semal, J. & Lepoivre, P. (2003). Les maladies des plantes: concepts généraux. *In:* Phytopathology. Lepoivre P. *Edition De Boeck, Bruxelles, 77.*

Sevcikova, P., Glat, Z. & Slanina, J. (2002). *Electrophoresis*, 23, 249–252.

Sevil, A., Ahmet, A., Ergin, H., Lutfiye, E. & Umit, B. (2008). Antimicrobial and antioxydant activities of Senecio species growing in the Black Sea region, Turkey. Gallica. 155(3): 447-456.

Shah, A., Cross, R.F. & Palombo, E.A. (2004). Identification of the Antibacterial Component of an Ethanolic Extract of the Australian Medicinal Plant, *Eremophila duttonii. Phytother. Res.18, pp. 615-618.*

Shahsavari, N., Barzegar, M., Ali Sahari, M. & Naghdibadi, H. (2008). Antioxidant Activity and Chemical Characterization of Essential Oil of ***Bunium persicum***. *Plant Foods Hum Nutr (2008) 63: 183-188.*

Shawkat, M.S., Khazaal, A.Q. & Majeed, M.R. (2011). extraction of pyrethrins from *Chrysanthemum cinerariaefolium* petals and study its activity against beetle flour tribolium castanum. *Iraqi Journal of science. 52(4): 456-463.*

Shils, M.E., Shike, M., Ross, A.C., Caballero, B., Cousins & R.J. (2006): Modern Nutrition in Health and Disease. *Tenth Edition. Lippincott Williams et Wilkins.*

Shunying, Z., Yang, Y., Huaidong, Y., Yue, Y. & Guolin, Z. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *chrysanthemum indicum Journal Ethnopharmacology, 96, 15*

Silva, S.V. & Malcata, F.X. (2005). *Food Chemistry*, 89, 19-26.

Silván, A.M., Abad, M.J., Bermejo, P., Sollhuber, M. & Villar, A. (1996). Anti-inflammatory activity of coumarins from *Santolina oblongifolia.. J. Nat. Prod., 59(12) 1183-1185.*

Singh, A.K., Dikshit, A. & Dixit, S.M. (1983). Fungitoxic properties of essential oil of *mentha arvensis varpepiraxens. Perfumer and flavorist, P. 55-58.*

Singleton P. (1999). Bacteriologie Bristol, P. 268-272, 331-351.

Singleton, P. (1997). Bacteria: in biology and medicine. P. 15, 22, 342, 386-387, 391-393. *4th ed. John wiely and Sons. New York.*

Singleton, P. & Sainsbury, D. (1984). Bactériologie. Edition Masson, Paris, 131-132.

Slu, Y., Benezra, C. & Guirin, B. (2002). Plantes cutanées montrouge: John Libbey Eurotext, P. 160. ***In:*** Dermatoses professionnelles aux végétaux (2006): *Documents pour le medecin du travail N°105, 1er trimester P. 77-78.*

Smith, J.E. & Pateman, J.A. (1977). Genetics and physiology of *Aspergillus. Academic press. London.*

Smith, P.B., Tomfohrde, K.M., Rhoden D.L. & Balows, A. (1972). API System: A multitube Micromethod for Identification of Enterobacteriaceae. *Applied Microbiol. 24, 449-452***.**

Sokmen, A., Sokmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Unlü, M. & Akpulat, H.A. (2004). the in vitro Antioxidant and Antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae). *Phytother. Res., 18, 451-456.*

Sroka, Z. (2005). Antioxidative and antiradical properties of plant phenolics. Z. *Naturfosch C, 60, (11-12), 833-843.*

Stock, R.S. & Rice, B.F. (1967). Chromatographic Method, science paper back, 2nd Edition.

Strayer freeman, L. & Co. (2000). Biochemistry San Fransisco.

T

Telphon, T. (2003). ABC des huilles essentielles, *Ed. Grancher.*

Teps, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Dafera, D., Polissiou, M. & Sokmen, A. (2005). Antioxdant activity of the essential oil of *Thymus .sipyleus var. sipyleus and thymus sipyleus subsp. Sipyleus var.rosulant. J. Food. Eng. 66: 447-454.*

Tirillini, B., Ricci, A., Pintore, G., Chessa, M., Menghini, L. & Pagiotti, R. (2007). Essential oïl composition of Santolina etrusca from ITALY.

Tomi, F., Bradesi, P., Bighelli, A. & Casanova, J. (1995). Computer-aided identification of individual Components of essential oils using Carbom-13 NMR Spectroscopy. J of Magnetic Resonance Analysis, P. 1, 25-34.

Tortora, G., Funk, B. & Christine, C. (2003). Introduction à la microbiologie. *P. 604-611. Ed. ERPI. Québec. Canada.*

Toshihiro, A., Scott, G.F., Motohiko, U., Hiroki, O., Fangqiu, Z., Ken, Y. & Takashi, S., Yumiko, K. (2005). Antitubercular activity of triterpenoids from Asteracea flowers. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 28(1): 158-160.

Traore, Y.N.D. (2008). Incidence du *Streptocoque* Bêta-hémolytique du groupe a Chez les enfants âgés de 5 à 16 ans à Bamako, Mali de mai 2007. *Thèse de Doctorat. Université de Bamako. pp.20, 23, 25, 34.*

Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazak, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka & T., Linuma, M. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicilin-resistant *Staphylococcus aurreus. J.Ethnopharmacol. 50: 27-34.*

U

Uchio, Y., Tomosue, K., Nakayama, M., Yamamura, A. & Waki, T. (1981). Constituents of the essential oil from three tetraploid species of *chrysanthemum. Phytochemistry, 20, 2691.*

Utrilla, M.P., Navarro, M.C., Jimenez, J., Montilla, M.P. & Martin, A. (1995). Santolindiacetylene, a polyacetylene derivative isolated from the essential oil of *Santolina canescens* J. Nat. Prod., 58(11): 1749-1752.

Uzun, E., Sariyar, G., Adsersen, A., Karakoc, B., Otuk, G., Oktayoglu, E. & Pirildar, S. (2004). Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. Journal of Ethnopharmacology, 95, 287-296.

V

Valant, V.K.M., Wollenweber, E., Faure, R. & Gaydou, E. (2003). New exudates flavonoïds of species from the *Chrysanthemum complex* (Asteracea-Anthemideae). *Biochemical Systematic and Ecology. 31: 545-548*

Valentao, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P.B., Seabra, R.M. & Bastos, M.L. (2002). *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 50, 4989–4993.

Valnet J. (2000). Aromatherapie. Ed. Maloine S.A.

Valnet, J. (1984). Aromatherapie: Traitement des maladies par les essences de plantes. *Ed. Maloine S.A., n° 10.*

Valsaraj, R., Pushpangadan, P., Smitt, U.W., Adsersen, A. & Nyman, U. (1997). Antimicrobial Screening of Selected Medicinal Plants from India. *Journal of Ethnopharmacology, Vol.58, pp:75-83.*

Van Tighem, (1867). In: Raper, K.B. & Fennell, D.I. (1965): The genus *Aspergillus.* Wikins, *Baltimore, p. 686.*

Van-Acker, S.A.B.E., Vanden berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H.,Van bennekom, W.P., Vander-vijgh, W.J.F. & Bast, A. (1996). Structural aspect of antioxidant activity of flavonoïds. *Free Rad. Biol. Med.1996, 20: 331-342.*

W

Wang, J.S, Zhou, J. & Kong, L.Y. (2012). There new germacrane-type sesquiterpene steroisomers from the flowers of Chrysanthemum indicum. *Fitoterapia. 83(8): 1675-1679.*

Washington, J.A. (1996). Baron's Medical Microbiology, 4ème ed; Galveston, *univ of Texas, Medical Branch, America.*

Wendakoon, C.N. & Sakaguchi, M. (1995). Inhibitio of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in in spices. *J. of Food Protection. 58: 280-283.*

Wiart, C., Mogana, S., Khalifah, S., Mahan, M., Ismail, S., Buckle, M., Narayana, A.K. & Sulaiman, M. (2004). Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia, Vol.75, pp:68-73.*

Wichtl, M. & Anton, R. (1999). Plantes thérapeutiques:Tradition pratique, *officinale, Sciences et thérapeutiques Ed. Teeh. & Doc.*

Wichtl, M. (2004). Herbal Drugs and phytopharmaceuticals: *A Handbook for practice on a scientific basis, 3ème Edition, Stuttgart: Medpharm GmbH Scientific publishers.*

Wichtl, M. & Anton, R. (2003). Plantes thérapeutique, Tradition, pratique officinde, sciences thérapeutique 2ème édition, Tec & Doc, Editions médicales internationales, Allée de la croix Bossée F94234 Cachan cedex. Paris, France.

Williams, C.A. & Grayer, R.J. (2004). Anthocyanins and other flavonoïds. *Nat. Prod. Rep, 21, 539-573.*

Willoquet, G., Talbert, M. & Gervais, R. (2011). Guide pharmaco Clinique. *Edition 2 Wolters Kluwer, France, 101-961.*

Woese, C., Kandler, O. & Wheelis, M. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains *Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc. Natl. Acad. Sci. USA p. 87.*

Wolinsky, I. (1998).. Nutrition in Exercise and Sport. *3th edition. New York: CRC Press.*

Wollenweber, E. & Dietz, V.H. (1980). Biochem. Shyest. Eco. 8, 21.

Y

Yochum, L. (1999). Dietary Flavonoïd Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. American Journal of Epidemiology, 149, 10.

Yu, R., Mandlekar, S. & Tony-kong, A.N. (2000). Molecular mechanisms of butylated hydroxylanisoleinduced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Molecular Pharmacology. 58: 431-437.*

Yuan yuan, X., Dan, Y., Huifang, T. & Qilong, W. (2009). Chemical constituents in flowers of Chrysanthemum morifolium Ramat. Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi. 19(4): 276-279.

Yue-Feng, B., Lu, J., She-Po, S., Xiao-Li, S., Yuan-Yuan, C. & Yang-Bing, Z. (2010). New Sesquiterpens from the Flowers of *Chrysanthemum indicum. L., Helvetica Chimica Acta. 93(10): 1953-1959.*

Z

Zaidi, M.A. & Crow, S.A. (2005). Biologically active traditional medicinal herbs from Balochistan, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology, vol.96, pp:331-334.*

Zellagui Amar, Derouiche Kamel, Gherraf Noureddine & Rhouati Salah. (2012). Caracterisation of Secondary Metabolites and Evaluation of Antibacterial activity of two Algerian species: *Launaea glomerata (Cass. Hook. F. and Cynara cardinculus var. silvestris (Lamk.). J. Microbiol. Biotech. Res., 2012, 2 (5):736-740. ISSN: 2231-3168 CODEN (USA): JMBRB4*

Zellagui, A., Gherraf, N., Ladjel, S. & Hameurlaine, S. (2012). *Organic and Medicinal Chemistry Letters* 2012, 2:2.

Zengin, G., Gokalp, O. Guler, Yavus, S., Cakmak & Abdurrahman Aktumsek. (2011). Antioxidant capacity and fatty acid profile of *Centaurea kotschyi* (Boiss. & Heldr.) *Hayek var .persica* (Boiss.) *Wagenitz* from Turkey. 0017-3495.

Zhang, H., Chen, F., Wang, X. & Yao, H. (2006). Evaluation of Antioxdant activity of *parsley (Petroselinum crispum)* essential oil and identification of its Antioxdant constituents. *Food. res. Int. 39:833-839.*

Zhou, J., Wang, L., Wang, J. & Tang, N. (2001). Antioxidative and antitumour activities of solid quercetin metal (II) complexes. *Transition Met. Chem , 26 (1-2), 57-63.*

Zi-Ming, F., Shuang, S., Peng-fei, X., Jian-Shuang, J. & Pei-Chang, Z. (2009). There New Sesquiterpenoids from Chrysanthemum indicum, L., *Helvetica Chimica Acta. 92(9): 1823-1828.*

المراجع باللغة العربية

بالتش، ف. إ. (6002). الوصفة الطبية للتداوي بالأعشاب. مكتبة جرير، الرياض، السعودية، الطبعة الأولى، 546 صفحة.

توفيق الحاج يحيى، (6006). النبات والطب البديل، الدار العربية للعلوم، ص (44-404).

الحازمي، ح. بن م. (5991). المنتجات الطبيعية، الطبعة الثانية، عمادة شؤون المكتبات، جامعة الملك فهد الوطنية، ص(3-65).

دهيمات، ل.، عطا الله، م. م.، قاسم- شاوش، ن. (5999). دراسة الأثر التثبيطي والقاتل للمنتجات الأيضية الثانوية لفطر *Aspergillus fumigatus* على العزلات البكتيرية المختلفة، *علوم وتكنولوجيا، رقم 44 (4444)، ص: 43-41، جامعة منتوري-قسنطينة- الجزائر*

ديوك، ج. (6002). الصيدلية الخضراء. مكتبة جرير، الرياض، المملكة العربية السعودية، 655 صفحة.

سلامة، ف. (5991). مقدمة في تصنيف النباتات الزهرية، الطبعة الأولى، *الدار الدولية للنشر و التوزيع القاهرة، ص (444-446). مصر.*

شكري، إ. س. (5991). النباتات الزهرية (نشأتها – تطورها– تصنيفها)، *دار الفكر العربي مدينة نصر، ص(546-544). لبنان.*

شوفالبية أندوز، (6001). الطب البديل للتداوي بالأعشاب والنباتات الطبية. *اكاديميا إنتر ناشيونال، بيروت، لبنان.*

قبي، ح. (6006). معجم الأعشاب والنباتات الطبية. *دار الكتب العلمية، ص 404-340، بيروت، لبنان.*

ماهر، ح. م. أ.)6002(. الطب البديل. *دار الوفاء لدنيا الطباعة والنشر، الإسكندرية، مصر.*

محمد حلمي، (5991). أساسيات علم البكتيريا، الطبعة الأولى، *دار المعارف، مصر، ص (41-44).*

مشال، ح. (6002). موسوعة النباتات الطبية، *مكتبة لبنان، ص(44-46).*

هيكل، م. و عبد الرازق، عبد الله ع. (6006). النباتات الطبية العطرية، *دار المعارف بالإسكندرية، ص (634-646).*

ملخص

الفحص الكيميائي للأنواع: *Ormenis africana*، *Chrysanthemum macrocarpum*، *C. reboudianum* و *C. fuscatum* يبيّن وجود: زيوت أساسية، فلافونويدات، ستيرولات أو تربينات، صابونينات وكاروتينويدات.

بيّنت تحاليل GC/MS للزيوت الأساسية للأنواع: *Oa* ، *Cf* و *Cr* بأنّها تحتوي على مركبات رئيسية ذات وظائف أوكسيجينية (ألديهيدية، سيتونية، أسترية و حمضية) و هذا بالنسبة للنباتات الثلاثة.

كما سمحت هذه الدّراسة بعزل، تنقية والتعرّف على ثلاثة مركبات من أزهار *Oa*: (B-sitostérol, Luteolin-7-o-glucoside et Quercetine-3-o- glucoside)، تمّ تحديد البنى الجزيئية للمركبات المعزولة والنقية على تقنيات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV و الرّنين النووي المغناطيسي (RMN: ^{1}H ; ^{13}C).

بيّن التقدير الكمي للفينولات الكلية بكاشف Folin-ciocalteu والفلافونويدات بواسطة كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ غنى المستخلصين (AcOEt، BuOH) للأنواع النباتية قيد الدّراسة بالفلافونويدات والأحماض الفينولية مقارنة بالمستخلصين (Hexane و $CHCl_3$).

تقييم النشاطية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية للعيّنات (*Oa*، *Cf* و *Cr*) والمستخلصات (Hexane، $CHCl_3$, AcOEt و BuOH) لنبتة *Oa* و أنواع *Chrysanthemum* المختبرة، تمّ باختبار الأسر- الجدري لمركب DPPH بحيث بيّنت النتائج بأنّ الزيت الأساسي لـ *Oa* هو الأكثر فعالية مقارنة بزيتي النوعين (*Cf* و *Cr*). المستخلصين البيتانولي وآسيتات الإيثيلي للنوعين (*Oa* و *Cm*) بالإضافة للمستخلص الكلوروفورمي للنوع *Cf* أظهروا نشاطية ضد مؤكسدة ملحوظة.

اختبارات القدرة ضد ميكروبية وتحديد قيم (CMI وCMB) لمجموعة (بكتيريا وفطريات) بغرض توضيح مجال النشاطية ضد ميكروبية لزيوتنا الأساسية ومستخلصاتنا الفلافونويدية، تبيّن بأنّ الزيت الأساسي للنوع *Oa* يلعب دور مثبط ملحوظ على الأنواع البكتيرية موجبة الغرام (+) Gram المختبرة وعلى *Candida albicans*، مقارنة مع الزيتين الأساسيين للنوعين (*Cf* و *Cr*) اللّذين أظهرا فعالية أقل. تبيّن النتائج كذلك حساسية *Staphylococcus aureus* و مقاومة *Pseudomonas aeruginosa* للزيوت الأساسية ومختلف المستخلصات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: العائلة النجمية، *Chrysanthemum sp.*، الفلافونويدات، الزيوت الأساسية، النشاطية ضد ميكروبية، النشاطية ضد مؤكسدة.

Summary

The phytochemical screening of species: *Ormenis africana, Chrysanthemum macrocarpum*, *C. reboudianum* and *C. fuscatum* shows the presence of essential oils, flavonoids, sterols or terpenes, saponins and carotenoids.

The GC/MS analysis of the essential oils of species: *Oa, Cf* and *Cr* showed that these oils contain major compounds with oxygenic functions (aldehydes, ketones, esters and acids) and that for theathreeaplants.

This study also allowed the isolate, the purify and the identify of three compounds from the flowers of *Oa* (B-sitosterol, Luteolin-7-O-glucoside and Quercetin-3-O-glucoside), the molecular structures of purified compounds were elucidated by UV spectroscopy techniques and NMR (^{1}H, ^{13}C).

Spectrometric quantitative determinations of total polyphenols by Folin-Ciocalteu reagent and flavonoids those prepared by the aluminum chloride $AlCl_3$ revealed rich extracts (AcOEt and BuOH) by flavonoids and phenols contribution extracts (Hexane and $CHCl_3$) of different species tested.

The antiradical potential of essential oils (*Oa, Cf* and *Cr*) and extracts (Hexane, CHCl3, EtOAc and BuOH) Oa and chrysanthemum species tested was determined by the method of DPPH and the results show that essential oil of *Oa* is most active by supplying essential oils (*Cf* and *Cr*). The extract butanol and ethyl acetate of the two species (*Oa* and *Cm*) in addition to the chloroform extract of the species *Cf*, demonstrated a remarkable antioxidant activity.

The antimicrobial potency testing, CMI and CMD has been made on a range of (bacteria and fungi) to give an idea of the scope of our antimicrobial activity (essential oils and flavonoid extracts), the EO of *Oa* seems to enjoy a remarkable inhibitory activity against Gram (+) tested and *Candida albicans* compared with the EO of C*f* and EO of *Cr* appears less active. The results also show a sensitivity of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* resistant to the essential oils and various extracts tested.

Keywords: Asteraceae, *Chrysanthemum sp.*, Flavonoides, Essential oils، Antimicrobial acivity, Antioxydant acivity.

Résumé

Le screening chimique des espèces: *Ormenis africana*, C*hrysanthemum macrocarpum, C. reboudianum et C. fuscatum* montre la présence des huiles essentielles, flavonoïds, stérols ou terpènes, saponines et caroténoïdes.

L'analyse GC/MS des huiles essentielles des espèces: *Oa*, *Cf* et *Cr,* a montré que ces huiles contenant des composés majeurs avec des fonctions oxygénique (aldéhydes, cétones, esters et acides) pour les trois plantes.

Cette étude a également permis d'isoler, de purifier et d'identifier à partir des fleurs de *Oa* trois composés: (B-sitostérol, Luteolin-7-O-glucoside et Quercetine-3-O-glucoside), les structures moléculaires des composés purifies ont été élucidées par les techniques de spectroscopie UV et de RMN (^{1}H et ^{13}C).

Les dosages quantitatifs spectrométriques des polyphénols totaux par le réactif Folin-ciocalteu et ceux des flavonoïdes établis par le chloride d'aluminium $AlCl_3$ ont révélé la richesse des extraits (AcOEt et BuOH) par les flavonoïdes et les phénols par apport aux extraits (Hexane et $CHCl_3$) de différentes espèces testées.

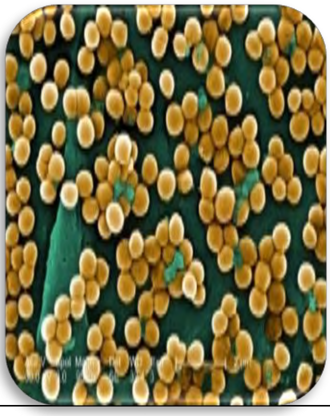
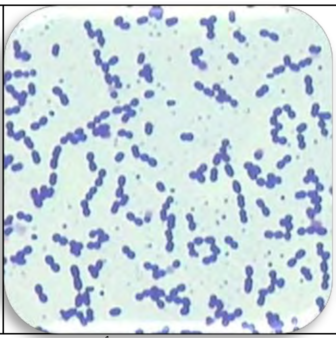
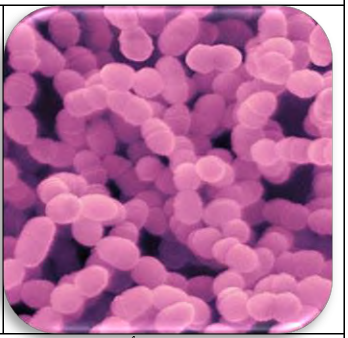
Le potentiel anti radicalaire des huiles essentielles (d'*Oa*, de *Cf* et de *Cr)* et des extraits (Hexane, $CHCl_3$, AcOEt et BuOH) d'*Oa* et des chrysanthemum testées a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que l'HE d'*Oa* est le plus actif par apport aux huiles essentielles de (C*f* et Cr). L'éxtrait butanolique et d'acétate d'éthyle des deux espèces (*Oa* et *Cm*), en plus l'extrait chloroformique de l'espèce C*f*, ont manifesté une activité antioxydante remarquable.

Les essais du pouvoir antimicrobien, les CMI et les CMD ont été réalisés sur une gamme de (bactéries et champignons) afin de donner une idée du champ d'activité antimicrobienne de nos (huiles essentielles et des extraits flavonoïdiques), l'HE d'*Oa* semble jouir une activité inhibitrice remarquable sur les Gram(+) testées et le *Candida albicans*, par comparaison avec l'HE de C*f* et l'HE de *Cr* apparait moins active. Les résultats montrent aussi une sensibilite de *Staphylococcus aureus* et une résistante de *Pseudomonas aeruginosa* aux huiles essentielles et aux différents extraits testés.

Mots clés: Asteraceae, *Chrysanthemum sp.*, Flavonoïdes, Huilles essentielles, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante .

الملحق

ملحق رقم (10): أنواع أزهار نباتات تحت عائلة النجميات

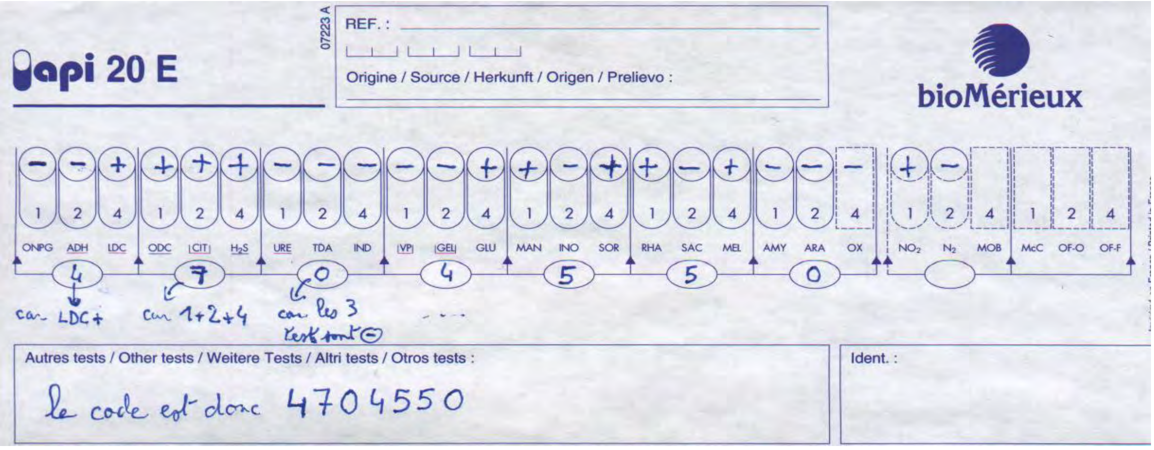
			
- ب - *Staphylococcus aureus*	- أ - المكورات العنقودية الذهبية	- ب - *Escherichia coli*	- أ - الإيشييريشيا القولونية
			
- ب - Enterobacter	- أ - سلالة	- ب - *Streptococus feacalis*	- أ - المكورات السبحية
- ب - *Candida albicans*	- أ - فطر	- ب - *Salmonella sp* .	- أ - سلالة

ملحق (رقم: 10): الأشكال المرفولوجية المجهرية لبعض السلالات قيد الدراسة

أ – أشكال ميكروسكوبية ضوئية ب - أشكال ميكروسكوبية إلكترونية

نوع البيئة	بيئة الزرع	السلالات الميكروبية
إختيارية	Milieu S-S Gélose Kan-Vanco: (GKV) Sabouraud	*Salmonelles* *Bactéries anaérobies strictes* *Mycètes*
مثمنة	Milieu au sang frais Gélose au sang frais/cuit: GSF/GSC Gélose Braid Parker: (GBP)	*Bactéries exigeantes*
تفاضلية	Gélose Hektoën Gélose Maclonkey:(MCK) Gélose chapman:(MCK)	*Baciles Gram(-)* *Baciles Gram(-)* *Staphylocoques: S. aureus*
تمايزية	Cps3: (activité B-glucuronidose) (activité B-glucosidase) SM2: (activité estérasique) CAN2:(activité hexosaminidase) SAID STRB	*Escherichia coli* *Entérocoques,* *Entérobactéries: (klebsiella)* *Enterobacter, Serratia et citrobacter* *Salmonella* *Candida albieans* *Staphylococcus aureus* *Streptocoques du groupe B*

ملحق رقم: (30): أنواع مختلف بيئات الزرع الميكروبي ***(Washington, 1996)***



ملحق رقم: (35): شريط نتائج (bio Mérieux S A API 20E)

الاسم: كمــال
اللّقب: درويــش

تاريخ المناقشة: 1162 /61/ 61

رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم
تخصص: بيوتكنولوجيا ميكروبية

تحت عنوان:
استخلاص وتنقية المركبات الفعالة بيولوجيا من بعض الأنواع النباتية: ***Ormenis africana***

Chrysanthemum fuscatum* , *Chrysanthemum macrocarpum* et *Chrysanthemum

reboudianum مع دراسة مقارنة لنشاطيتها ضد ميكروبية.

Résumé

Le screening chimique des espèces: *Ormenis africana*, C*hrysanthemum macrocarpum, C. reboudianum et C. fuscatum* montre la présence des huiles essentielles, flavonoïds, stérols ou terpènes, saponines et caroténoïdes.

L'analyse GC/MS des huiles essentielles des espèces: *Oa*, *Cf* et *Cr,* a montré que ces huiles contenant des composés majeurs avec des fonctions oxygénique (aldéhydes, cétones, esters et acides) pour les trois plantes.

Cette étude a également permis d'isoler, de purifier et d'identifier à partir des fleurs de *Oa* trois composés: (B-sitostérol, Luteolin-7-O-glucoside et Quercetine-3-O-glucoside), les structures moléculaires des composés purifies ont été élucidées par les techniques de spectroscopie UV et de RMN (^{1}H et ^{13}C).

Les dosages quantitatifs spectrométriques des polyphénols totaux par le réactif Folin-ciocalteu et ceux des flavonoïdes établis par le chlorure d'aluminium $AlCl_3$ ont révélé la richesse des extraits (AcOEt et BuOH) par les flavonoïdes et les phénols par apport aux extraits (Hexane et $CHCl_3$) de différentes espèces testées.

Le potentiel anti radicalaire des huiles essentielles (d'*Oa*, de *Cf* et de *Cr)* et des extraits (Hexane, $CHCl_3$, AcOEt et BuOH) d'*Oa* et des chrysanthemum testées a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que l'HE d'*Oa* est le plus actif par apport aux huiles essentielles de (C*f* et Cr). L'éxtrait butanolique et d'acétate d'éthyle des deux espèces (*Oa* et *Cm*), en plus l'extrait chloroformique de l'espèce C*f*, ont manifesté une activité antioxydante remarquable.

Les essais du pouvoir antimicrobien, les CMI et les CMD ont été réalisés sur une gamme de (bactéries et champignons) afin de donner une idée du champ d'activité antimicrobienne de nos (huiles essentielles et des extraits flavonoïdiques), l'HE d'*Oa* semble jouir une activité inhibitrice remarquable sur les Gram(+) testées et le *Candida albicans*, par comparaison avec l'HE de *Cf* et l'HE de *Cr* apparait moins active. Les résultats montrent aussi une sensibilite de *Staphylococcus aureus* et une résistante de *Pseudomonas aeruginosa* aux huiles essentielles et aux différents extraits testés.

الكلمات المفتاحية : Asteraceae، *Chrysanthemum sp.*، Flavonoïdes، Huilles essentielles،
Activité antimicrobienne، Activité antioxydante.