الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة فرحات عباس

كلية العلوم قسم البيولوجيا

مذكرة

لنيل شهادة الماجستير

في بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات

تخصص: تثمين الموارد النباتية

مقدمة من طرف:عمر لبنى

دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح

*Artemisia herba alba*Asso

قدمت يوم ..... أمام لجنة المناقشة المتكونة من:

الرئيس:	أ.د. عادل نجيب شاكر	أستاذ	جامعة فرحات عباس سطيف
المشرف:	د. بلحطاب رشيد	أستاذ محاضر	جامعة فرحات عباس سطيف
الأعضاء:	د. بن محمد عمر	أستاذ محاضر	جامعة فرحات عباس سطيف
	د . دحامنة صليحة	أستاذ محاضر	جامعة فرحات عباس سطيف

-2010-

كلمة شكر:

أحمد الله حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى الدكتور بلحطاب رشيد الذي لم يبخل علي بتوجيهاته ونصائحه القيمة طيلة إشرافه على هذا العمل .

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى إخوتي كل واحد باسمه الذين ساعدوني في كل خطوة من إنجاز هذه المذكرة وأخص بالذكر عادل والطيب ونبيلة .

أتقدم بالشكر إلى أعضاء لجنة المناقشة الذين تفضلوا وقبلوا مناقشة هذا البحث الأستاذ عادل نجيب شاكر والدكتور بن محمد عمر والأستاذة دحامنة صليحة .

الإهداء:

إلى الوجه الذي لا يكف ابتساما، إلى من علمني كل حرف فكان نعم المعلم، إلى الذي علمني طعم الحياة وعلمني كيف امضي في دروبها.....أبى العزيز.

إلى النهر الذي لا يجف حنانا أمي الحنون التي أسأل الله أن يرزقني دوام برها ماحييت ، فهي التي كانت ومازالت تغرق علي برعايتها وعطفها وسداد رأيها في أموري كلها .

إلى أشقاء روحي وبلسم جروحي إخوتي الأعزاء سمير، توفيق، عادل، مؤمن، جمال، الطيب، حسام، عبد الغني وأختي الغالية نبيلة .

إلىكلطلبةالماجستيردفعة2007 .

إلى كل من سكنوا قلبي ونسيهم قلمي ولم تتسع لهم هذه الورقة.

إلى كل أهلي اهدي ثمرة عملي هذا المتواضع وأتمنى التوفيق لهم والسداد في دروبهم.

الفهرس

الملخصات

المختصرات

قائمة الجداول

قائمة الأشكال

مقدمة 1

الجزء النظري

I-نبات الشيح 2

I-1-الوصف النباتي 2

I-2-تصنيف النبات 2

I-3-الإنتشار 3

I-4-الإستعمالات الطبية الشعبية 5

I-5-التأثيرات البيولوجية لنبات الشيح 5

I-5-1-التأثير المخفض لارتفاع نسبة السكر في الدم 5

I-5-2-التأثير الأليلوباتي.....6

I-5-3-التأثيرات السامة والمضادة للسم 6

II-المستقلبات الثانوية 7

II-1-المركبات الفينولية 8

II-1-1-الفلافونويدات 11
II-1-1-1-البنية والتخليق 11
II-1-1-2-الخصائص البيولوجية للفلافونويدات.....13
II-2-المركبات التربينية 15
II-2-1-البناء الحيوي للتربينات 15
II-2-2-الزيوت الأساسية 16
II-2-2-1-التوزيع.....16
II-2-2-2-مكان التخليق والتواجد 17
II-2-2-3-الدور الفيزيولوجي 17
II-2-2-4-تأثير الزيوت الأساسية 17
III-الإجهاد التأكسدي.....19
III-1-إستقلاب الأكسيجين 19
III-2-الأضرار الناتجة عن الإجهاد التأكسدي 20
III-3-مضادات الأكسدة 22
III-3-1-مضادات الأكسدة الإنزيمية 22
III-3-2-مضادات الأكسدة غير الإنزيمية 23

الجزء التطبيقي

I-المواد والطرق 25

I-1-المادة النباتية 25
I-2- المواد الكيميائية والأدوات 25
I-3-الإستخلاص 26
I-3-1-المستخلص المائي 26
I-3-2-المستخلص العضوي 26
I-3-3-الزيوت الأساسية 26
I-4-الدراسة الكيميائية 28
I-4-1-تقدير الفينولات الكلية.....28
I-4-2-تقدير الفلافونويدات 28
I-4-3-تحليل الزيت الأساسي (GCوGC/MS).....29
I-5-دراسة النشاطية المزيحة للجذور الحرة 30
I-6-دراسة النشاطية المضادة للميكروبات 32
II- النتائج 34
II-1-مردود الإستخلاص 34
II-2-تقدير الفينولات الكلية 34
II-3-تقدير الفلافونويدات 34
II-4- الزيوت الأساسية 36
II-5-النشاطية المزيحة للجذور الحرة 39
II-6-النشاطية المضادة للميكروبات 42

III-المناقشة 45

الخاتمة 57

المراجع 58

الملخص:

نبات *Artemisia*هو أشهر أجناس عائلة *Asteraceae*، يحتوي على العديد من الأنواع من بينها *Artemisia herba alba*أو الشيح و التي تتواجد في الجزائر على غرار دول حوض البحر المتوسط. يستعمل هذا النبات كثيرا في الطب التقليدي لإمتلاكه عدة خصائص علاجية. جمعت العينة في مرحلة الإزهار من منطقة سطيف. تستخلص الزيوت الأساسية بواسطة التقطير المائي باستعمال جهاز من نوع Clevenger ، المستخلص المائي بواسطة النقع و المستخلص العضوي بجهاز soxhlet بالأستون فتم الحصول على مردود (V/W) % 0.94، (W/W) 15% و (W/W) % 7.5 على الترتيب. حلل الزيت الأساسي ب GCو GC/MS ، فتحصلنا على 50 مركب متنوع، يتصدرها cis-Thujone (28.1%)، Camphor (22.8%) ، 1,8-Cineole(8.2%)و trans-Thujone (7.8%). المحتوى الفينولي الكلي في المستخلص المائي والعضوي حدد بطريقة كاشف Folin-Ciocalteu حيث وجدنا 1.35mg CAE/g dw و 0.32 mgCAE/mg dwفي المستخلصين بالترتيب. قدرت الفلافونويدات بإستعمال طريقة $AlCl_3$فوجدنا 0.53 mg QE/g dw فيما يخص المستخلص المائي و 0.54 mg QE/g dwللمستخلص العضوي . قدرت النشاطية المضادة للأكسدة بإستعمال جذر 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) .تظهر النتاج أن IC_{50} للزيت الأساسي 2.67 mg/ml و236 µg/ml للمستخلص المائي والمستخلص العضوي 331 µg/ml، النشاطية ضعيفة مقارنة بالشاهد الموجب BHA المقدر ب 81.5. µg /ml حددت النشاطية المضادة للميكروبات والتركيز الأدنى للتثبيط لثلاث سلالات بكتيرية و 5 سلالات فطرية بطريقة الأقراص ، المستخلصات كلها كانت مؤثرة على كل السلالات المختبرة فيما عدى *Pseudomonas aeruginosa* التي كانت مقاومة.

كلمات مفاتيح:*Asteraceae*، *Artemisia herba alba*،الزيوت الأساسية، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية المضادة للميكروبات.

Résumé :

La plante *Artemisia* fait partie des genres les plus connu de la famille des *Asteraceae* . Parmi les espèces appartenant à ce genre *Artemisia herba alba* Asso qui est très répandue en Algérie ainsi qu'aux pays méditerranéens. Elle est connu sous le nom de « Chih » cette espèce est utilisée en médicine traditionnelle en raison de ces nombreuses caractéristiques thérapeutiques. L'espèce a été récoltée en période de floraison dans la région de Sétif.Les huiles essentielle ont été obtenues par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger, alors que l'extrait aqueux a été obtenu par macération et l'extrait organique par soxhlet en utilisant l'acétone comme solvant. Les rendements respectifs sont : 0.94% (v/w), 15%(w/w) et 7.5%(w/w). Les huiles essentielles ont été déterminées par GC et GC/MS permettant l'identification de 50 constituants dominés par cis-Thujone (28.1%), Camphor (22.8%), 1, 8-Cineole (8.2%) et trans-Thujone(7.8%). La teneur totale en composés phénolique a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, on a retrouvé 1.35 mg CAE/mg dw dans l'extrait aqueux et 0.32 mg CAE/mg dw dans l'extrait organique. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant méthode $AlCl_3$, on a retrouvé 0.53 mg QE/g dw et0.54mg QE/g dw. L'activité antioxydant a été évaluée en utilisant le 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). L'IC_{50}a été estimé à : 2.67mg/ml, 236µg/ml et 331µg/ml pour les huiles essentielles, l'extrait aqueux et l'extrait organique respectivement. Les résultats semblent être faibles par rapport au témoin positif BHA (IC_{50} 81.5µg/ml). L'activité antimicrobienne ainsi que la CMIs (Concentrations minimale inhibitrice) ont été déterminées à partir de trois souches bactériennes et cinq souches de champignon, selon la méthode de diffusion disque, tous les extraits ont un effet sur les microorganismes testés sauf sur *Pseudomonas aeruginosa.*

Mots clés : *Asteraceae, Artemisia herba alba,* les huiles essentielles, activité antioxydant, activité antimicrobienne.

Abstract:

*Artemisia*plantis the largest genus of the *Asteraceae* familly .The species belonging to this genus are widespread in Algeria. *Artemisia herba alba* known as “Chih” is used in traditional medicine due to its several therapeutic characteristics. The plant was collected at the flowering stage in setif region. Essential oils were obtained by hydrodistillation using a Clevenger type apparatus, whereas aqueous extract was obtained by maceration and organic extract by soxhlet apparatus using acetone as solvent. The yields were 0.94 %(v/w), 15 %(w/w) and 7.5 %(w/w) respectively. Essential oils analysed by GC and GC/MS allowed to identification of 50 constituents dominated by cis-Thujone (28.1%), Camphor (22.8%), 1, 8-Cineole (8.2%) and trans-Thujone (7.8%). Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocaltou reagent. The aqueous extract content was 1.35 mg CAE/mg dw and the organic extract content was 0.32 mg CAE/mg dw. Aqueous and organic extract flavonoïd contents wererespectively 0.53 mg QE/g dw and0.54 mg QE/g dw. Free radical scavenging effects were evaluated using 2, 2-diphenyl-1- picrylhydrazyl(DPPH)radical. The IC_{50} were 2.67mg/ml, 236µg/ml and 331µg/ml for the essential oils, aqueous and organic extract respectively. These effects seem to be weak compared to BHA (IC_{50} 81.5µg/ml). Antimicrobial activities as well as the MICs (Minimal Inhibitory Concentrations) were determined using three bacterial strains and five fungal strains according to the disk diffusion assay, all extracts had an effect on the microorganisms tested.*Pseudomonas aeruginosa* was resistant.

Key words: *Asteraceae*, *Artemisia herba alba, essential* oils, antioxidant activity, antimicrobial activity.

قائمة المختصرات :

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATCC: American type culture collection.

ATP: Adinosine tri-phosphate.

BHA: Butylated hydroxyanisole .

CHS : Chalcone synthase.

CMI : Concentration minimaleinhibitrice.

DMSO : Diméthyl sulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl.

FID: Flame ionization detector.

FPP: Farnézyl diphosphate.

GC: Gaz chromatography.

GC-MS: Gaz chromatography- Mass spectrometry.

GGPP: Géranylgéranyl diphosphate.

GPP: Géranyl prophosphate.

Gpx: Glutathione peroxydase.

H_2O_2: Peroxyde d'hydrogène.

HMG: Hydroxyméthyl glutaryl-COA.

IC_{50}: Inhibitory concentration 50%.

IPP: Isopentéenyl diphosphate.

ITD: Ion trap detector.

LDL: Low density lipoprotein.

MH : Mueller Hinton agar.

MVA: Mévalonic acid.

NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NO: Nitric oxide.

PAL: Phényl alanine lyase.

PDA: Potato dextrose agar.

PEP: Phosphoénol pyruvate.

PKA: Protéine kinase A.

PTK: Protéine tyrosine kinase.

PUFA: Polyunsaturated fatty acid.

ROS: Reactive oxygen species.

SOD: Superoxyde dismutase.

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity.

V/W: Volume / Weight.

W/W: Weight/ Weight.

قائمةالأشكال:

شكل1 صورة فوتوغرافية لنبات الشيح 3

شكل2 خريطة توزيع نبات الشيح في العالم.....4

شكل3 آلية تخليق بعض المستقلبات الثانوية 10

شكل4 بنية حلقة benzo-γ-pyrone.....11

شكل5 التخليق الحيوي للفلافونويدات 12

شكل6 تأثيرات الإجهاد التأكسدي.....20

شكل7 فوق أكسدة اللبيدات.....21

شكل8 دور الإنزيمات المضادة للأكسدة في سير عملية تثبيط ايون فوق الأكسيد.....23

شكل9 مخطط طريقة الحصول على المستخلصا لمائي الخام لنبات الشيح.....27

شكل10 تحديد طول الموجة الأعظمي لمحلول DPPH.....31

شكل11 منحنى العيارية لحمض الكافييك لتقدير عديدات الفينول الكلية للمستخلصات النباتية..35

شكل12 منحنى العيارية للكرستين لتقدير الفلافونويدات للمستخلصات النباتية.....35

شكل13 منحنيات النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات 40

شكل14 منحنيات النشاطية المضادة للأكسدة للشواهد الموجبة.....41

شكل15 تقدير الفلافونويدات و الفينولات الكلية.....II

شكل16 تركيب الزيت الأساسي.....II

شكل17 قطر هالة التثبيط لمستخلصات نبات الشيح على الأنواع البكتيرية المختبرة.....III

شكل18 قطر هالة التثبيط لمستخلصات نبات الشيح علىالأنواع الفطرية المختبرة.....III

شكل19 قيمCMIs بالنسبة للسلالات البكتيرية.....IV

شكل20 قيمCMIs بالنسبة للسلالات الفطرية.....IV.

قائمةالجداول:

جدولI مكونات الزيت الأساسي المستخلص بالتقطير المائي لنباتAsso *Artemisia herba alba* 37

جدولII قيمIC_{50}للمستخلصات النباتية والشواهد الموجبة..... 39

جدولIII قطر هالة تثبيط مستخلصات نبات الشيح على مختلف الكائنات المجهرية المختبرة..... 42

جدولIV التراكيز الدنيا للتثبيط لمختلف مستخلصات نباتAsso *A.herba alba*..... 44

جدولV مردود الزيوت الأساسية لبعض النباتات التابعة لجنس*Artemisia* 46

جدولVI نسبة تواجد بعض المركبات في الزيوت الأساسية لنباتAsso *A.herba alba*..... 49

الدراسة المرجعية

الدراسة المرجعية

مقدمة:

تستعمل النباتات الطبية والعطرية في الطب الشعبي وتعدت هذه المجالات إلى التعطير، مواد التجميل، التتبيل وحافظات الغذاء حيث تعزى النشاطية إلى وجود مضادات الأكسدة و المضادات الميكروبية في أنسجتها (Hirasa et Takimasa, 1998)، فهي تعتبر المصدر الطبيعي لمضادات الأكسدة الطبيعية.

ينتمي نبات الشيح إلى جنس *Artemisia*وهو أهم أجناس العائلة المركبة. يستعمل بكثرة في الطب الشعبي في بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط وينتشر بكثرة في هذه البلدان، حيث عرف بعلاجه للإختلالات المعدية كالإسهال والتئام الجروح الخارجية بالإضافة إلى أمراض أخرى.

يملك نبات الشيح سمعة حسنة في الطب التقليدي مما دفع بالباحثين إلى إختبار مختلف المستخلصات المتحصل عليها من هذا النبات في علاج بعض الإضطرابات الفيزيولوجية والكشف على المواد الفعالة التي يعزى لها هذا النشاط. انصب تركيز الباحثين على المستخلصات العطرية أو الزيوت الأساسية لهذا النبات وأهملت إلى حد ما تلك المتحصل عليها عن طريق الماء أو المذيبات العضوية وهذا ما استدعى بنا إلى هذه الدراسة. بناءا على الاستعمالات الشعبية الواسعة لهذا النبات وندرة الدراسات العلمية لخصائصه العلاجية، يعتبر هذا العمل الأول من نوعه في الجزائر لكونه جامعا لمختلف النشاطات البيولوجية لمستخلصات متنوعة.

في هذه الدراسة نتطرق إلى استخلاص المواد الفعالة بطرق متنوعة مع تحديد تركيز بعض المجموعات منها ونوعيتها البنيوية. إختبار النشاط البيولوجي لهذه المستخلصات خاصة منها النشاط المضاد للأكسدة من خلال تقدير القدرة الإزاحية للجذور الحرة وكذا النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات.

I-نبات الشيح:

I-1-الوصف النباتي:

النباتات التابعة لجنس *Artemisia* هي عبارة عن شجيرات مستديمة الخضرة ، عطرية ، قائمة النمو يصل إرتفاعها من 30 إلى 150سم . فروعها متعددة كثيفة الأوبار ، تنتهي برؤوس زهرية خضراء مصفرة اللون أو بيضاء مخضرة ، تحتوي من 2 إلى 4 أزهار في كل رويس . النورات راسمية ، طرفية ، صغيرة ، جالسة ، بيضاوية الشكل ، صفراء ، كثيرة الزوايا لامعة ، الأوراق صغيرة الحجم ، متبادلة الوضع ، ريشية مركبة غالبا، ولونها رمادي مشوب بالبياض ، أو أخضر رمادي ، أو فضي مخضر . جذور كثيرة العدد لونها رمادي أو أردوازي فاتح صغير الحجم ، متطاولة ذات شق طولي ضيق (الديجوي ، 1996; Dellile , 2007).

A.herba alba Assoعبارة عن شجيرات متوسطية ، تنمو بارتفاع 30-60 سم ، الجذور قاسية و منتصبة، جد متفرعة من الأسفل. الحوامل الأولى للأوراق تكون بيضاوية كروية الشكل ثنائية الرويشات ، ذات فصة متطاولة ثنائية السنيبلات بتفرعات بسيطة تزين نهاياتها الجالسة ب 2 إلى 4 زهرات لكل واحدة (الشكل -1-) (Dob et Benabdlkadare ., 2006 ; Abou El-Hamad et al .,2010).

حسب الديجوي (1996) النبات الذي يحتوي على مادة "غلوسيد السانتونين " تكون ساقة حمراء اللون في أوائل فترة النمو ، في حين أن النبات الذي لا يحتوي على هذه المادة يكون لون ساقه أخضر وعند اكتمال النمو يتحول لون الساق في الحالتين إلى اللون البني .

الشكل –1–: صورة فوتوغرافية لنبات الشيح.

I–2– تصنيف النبات:

تصنف نباتات *Artemisia herba alba* Asso حسب Caratini (1971) ضمن:

مملكة : *Plantae*

تحت مملكة: *Tracheobionata*

فوق شعبة: *Spermatophyta*

شعبة : *Magnoliophyta*

صف : *Magnoliopsida*

تحت صف: *Asteridae*

رتبة : *Asterales*

عائلة: *Asteraceae*

تحت عائلة: *Asteroideae*

فصيلة : *Anthemideae*

تحت فصيلة: *Artemisiinae*

جنس : *ArtemisiaL.*

نوع : *Artemisia herba alba* Asso

I–3– الإنتشار :

الأنواع النباتية التابعة لجنس *Artemisia* عبارة عن شجيرات طبية عطرية تنمو في مناطق واسعة من شمال الكرة الأرضية ، خاصة في المناطق القاحلة وحوض البحر الأبيض المتوسط ، تمتد حتى غرب الهمالايا (Vernin et al ., 1995)(الشكل–2–). الموطن الأصلي لنبات الشيح غير معروف، لكن من المعتقد جدا أنالموطن الأصلي له هو باكستان نظرا للكميات الضخمة التي تنمو في مختلف مناطقها، حيث يعتبر المصدر الأول لمعظم دول العالم. كما أن مادة السانتونين المستخرجة من أزهار الشيح تنتشر بشكل كبير في روسيا (الديجوي ، 1996) .

الشكل–2–: خريطة توزيع نبات الشيح في العالم (Abou El-Hamad et al (2010.

■ مناطق تواجد نبات الشيح.

I-4- الاستعمالات الطبية الشعبية :

يستعمل نبات الشيح منذ القدم في الطب التقليدي لمداواة عدة أمراض

- المنقوع البارد أو الساخن لنبات الشيح المضاف إليه الصابون في تنظيف الأمعاء باستعماله كحقن شرجية لتطهير الأمعاء من البكتيريا الضارة .

- بتناوله عن طريق الفم في علاج المغص المعدي والمعوي ، والتقلصات الداخلية ، طرد البلغم، والديدان الصغيرة في الأمعاء .

-كعلاج لمرض الصفراء والبول السكري، تنظيم ضربات القلب، وتنشيط الدورة الدموية، علاج الكبد وتقويته، وخفض درجة الحرارة الناتجة من أمراض الحمى، كما يفيد أيضا في وقف النزيف الدموي خصوصا أثناء الحمل للسيدات.

- في إلتآم الجروح والحروق ، لعلاج الخوارج خاصة إذا استعمل العشب الجاف ، كما يصلح في وقف القيء الدموي ، وفي إدرار البول العادي ، وعلاج الإسهال وحالات آلام الرأس والروماتيزم وأوجاع الظهر ، وبجرعات خفيفة كمنبه للأعصاب ، ومهدئ للإظطرابات العصبية .

(الديجوي ، 1996 ; Bézanger-Beauquisne et al ., 1980).

I-5-النشاطات البيولوجية لنبات ***Artemisia herba alba*** **Asso**:

I-5-1-نشاطية تخفيض تركيز السكر في الدم :

الشيح هو نبات طبي تقليدي، يستعمل في علاج داء السكري . وجد (1988) Twaij etAl-Badr أن المستخلصات المائية للجزء الهوائي لنبات الشيح تخفض تركيز السكر في بلازما أرانب لديها إرتفاع في السكر عادي و أخرى يحرض السكر لديها بالألكالين. في حين وجد (1986) AL-Waili أن المستخلصاتالمائية تلعب دورا مهم في تخفيض ضغط الدم المرتفع وتركيز السكر في الدم، وهو يملك كذلك نشاطية مضادة للقلق و antiarrythmic .

في دراسة ل Al-Yahya et al (1986)على المستخلص الإيثانولي و الكلوروفورمي للنبتة الكاملة تبين أنه لا يملك أي تأثير على تركيز السكر في الدم ؛ وفي دراسة Al-Khazraji et al (1993) برهن أن الجذور لا تحتوي عوامل مخفضة لتركيز السكر في الدم، لكنه أكد أن المستخلص المائي للأوراق له نشاطية أكبر من الأغصان. في حين لم يلاحظ أي تأثير للمستخلص الميثانولي على تركيز السكر في الدم عند الجرذان.

I-5-2- التأثير الأليلوباتي:

التداخلات نبات-نبات في المناطق شبه قاحلة للبحر الأبيض المتوسط قد تنطوي على التنافس على الموارد أو الظواهر الأليلوباتية في المركبات العضوية السامة التي ينتجها نبات واحد يطلقها في المحيط .

الدور المحتمل للعوامل الأليلوباتية لنبات *A. herba alba* تم تحديده لشرح نمط المجتمعات النباتية للمناطق الجبسية الشبه قاحلة في اسبانيا، هذا النمط يظهر مخروط حاد بين المجتمع الشجيري المحب للجبس يسيطر عليها *Hilianthemum squamatus* التي تنمو على المنحدرات مع القشور السطحية، والمجتمع المحب للتراكيز العالية من النتروجين على التربة الجبسية الغرينية من سفوح الجبال يسيطر عليها *A. herba alba* . من أجل توضيح السبب تم تجاهل تأثيرات التربة لأنه لا توجد إختلافات كبيرة. تؤكد النتائج التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لنبات الشيح على نسبة الإنتاش النهائية لبذور *Hilianthemum squamatus* ، حيث أن تأخر الإنتاش له علاقة وطيدة بالتربة التي تم الحصول عليها بجانب النباتات الناضجة التي تحتوي على عوامل مثبطة (Escudero et al., 2000) .

I-5-3- التأثيرات السامة و النشاطية المضادة للسم:

يحدد التأثير السام لنبات *A. herba alba* بعد حقنه لإناث جرذان وزنها 250-300غ لمرحلتين من الزمن 4 و 12 أسبوع. يتم الكشف على تأثير *A. herba alba* في الخصوبة لعدد من الجرذان الحوامل و الأجنة السليمة. اكتشف أن *A. herba alba* في الأسابيع الأربع لا تملك أي تأثير في الخصوبة، تخفيض مهم في العلاقة بين وزن المبايض ووزن الجنين عند الجرذان. بينما في الأسبوع 12ينتج إنقاص في نسبة حدوث الحمل وفي عدد مناطق الزرع عندما نقارن مع الشاهد خلال فترة المعالجة. الجرذان التي تتلقى العلاج خلال الأسبوع 12 تبدي نقص في وزن المبايض و عدد الأجنة السليمة. تشير هذه النتائج إلى أن المدى الطويل يكشف تأثيرات معاكسة لنبات الشيح في نظام الإنجاب والخصوبة عند إناث الجرذان (Almasad et al.,2007)

إضافةإلىأن نبات الشيح سام ففي دراسة على 12 مستخلص مائي لنباتات طبية تقليدية تستعمل في الأردن من أجل تثبيط سم الأفاعي والعقارب عند الإنسان، قدرت احتمالية النشاطية المضادة للسم.ضمن النباتات المختبرة.وجدأن 9 مستخلصات تثبط نشاطات انحلال الكريات الدموية الحمراء للسمين، ووجد أيضا أن مستخلص نبات *A. herba alba* هو الأحسن تأثيرا بتثبيط 100% (Sallal and Alkofahi, 1996) .

II– المستقلبات الثانوية :

في تفاعلات تمثيل الكربون والتحويلات الطاقوية جزء مهم من الكربون والطاقة تدخل في إنتاج البروتينات ، الأحماض النووية، اللبيدات وجزيئات أخرى ضرورية للوظائف الخلوية و العضوية. لكن بالنسبة للنباتات جزء مهم من الطاقة المخزنة والكربون، يقتطع ليشكل في النهاية جزيئات لا يعرف لها إلى حد الآن أي دور في النمو والتطور. تسمى هذه الجزيئات بالمستقلبات الثانوية.

تنتج المستقلبات الثانوية عموما بكميات صغيرة، ويتوقف إنتاجها على العائلة ، الجنس والنوع. بعض المركبات الثانوية تحمي النباتات من الحشرات والحيوانات آكلة الأعشاب.

تستعمل المستقلبات الثانوية كمواد طبية، ملونات، مواد أولية في الصناعات الكيميائية (صمغ، راتنج، مطاط) و مواد التعطير الغذائي والمشروبات (Hopkins , 2003).

إلى وقت قريب كان الباحثون في الكيمياء العضوية يصنفون المستقلبات الثانوية كفضلات إستقلابية بالنسبة للنباتات ، لكن خلال الفترة الأخيرة وجد أن العديد من المستقلبات تقوم بأدوار مهمة للعضوية

(Harborne et Williams, 2000) .

الصفوف الأساسية للمستقلبات الثانوية هي :

- المركبات الفينولية.
- التربينات.
- الألكالويدات .

II-1-المركبات الفينولية :

مسار حمض الشكميك يعطي الأحماض الأمنية العطرية الضرورية التي تكون أصل المستقلبات الثانوية أو الأولية. تعرف عائلة المستقلبات الثانوية هنا بمصطلح المركبات الفينولية، عديدات الفينول أو مشتقات phényl propanoides (Hopkins , 2003) .

المركبات الفينولية أو عديدات الفينول هي عائلة كبيرة من المركبات الكيميائية جد معقدة يتكون هيكلها القاعدي من الأحماض الفينولية البسيطة ، حوالي 8000 مركب موزعة في 12 رتبة كيميائية

(Hopkins, 2003 ; Hennebelle et al ., 2004) . العناصر الأصلية المكونة لهذه الجزيئات مميزة بوجود نواة بنزينية على الأقل ، تكون مرتبطة مباشرة بمجموعة هيدروكسيل على الأقل ، حرة أو مرتبطة مع وظيفة أخرى: إيثر ، أستر ، سكر غير متجانس (Bruneton, 1993 ; Kris-Etherton et al ., 2002).

تخلق المركبات الفينولية بعدة مسارات ، مسارين مباشرين و مسارات مختلطة لتكوين الحلقة العطرية :

- المسار الأكثر شيوعا هو مسار **حمض الشكميك** :

تخليق عديد المركبات الفينولية يبدأ على مستوى الأحماض الأمنية العطرية ، phénylalanine، tyrosine و tryptophane . هذه الأحماض الأمنية من جهتها يبدأ بناؤها من phosphoenol pyruvate و Erythrose-4-phosphate بتعاقب التفاعلات المسمات **حمض الشكميك** (الشكل-3-) . هذا المسار مشترك بين البكتيريا ، الفطريات و النباتات ، ويكون غائبا تماما عند الحيوانات (Voet et Voet, 1990).

بناء الأحماض الأمنية العطرية يبدأ بتكثيف جزيئات Erythrose-4-phosphateالذي ينتج من المسار التنفسي pentoses phosphates ، مع جزيئة من PEP الذي ينشأ من الغلوكوز . ينتهي هذا التكثيف إلى إنتاج الأحماض الأمنية الثلاث التي تكون الأصل في تكوين الأحماض الفينولية(Hopkins ,2003).

- المسار الثاني هو مسار **الأسيتات** :

ينطلق هذا المسار إبتداءا من حمض الأستيك ليؤدي إلى poly-β-cétoesters بتغيرات طويلة (polyacétates) التي تحدث بواسطة تشكيل حلقة (تفاعل Claisenأ وتكاثف الألدوليك) .

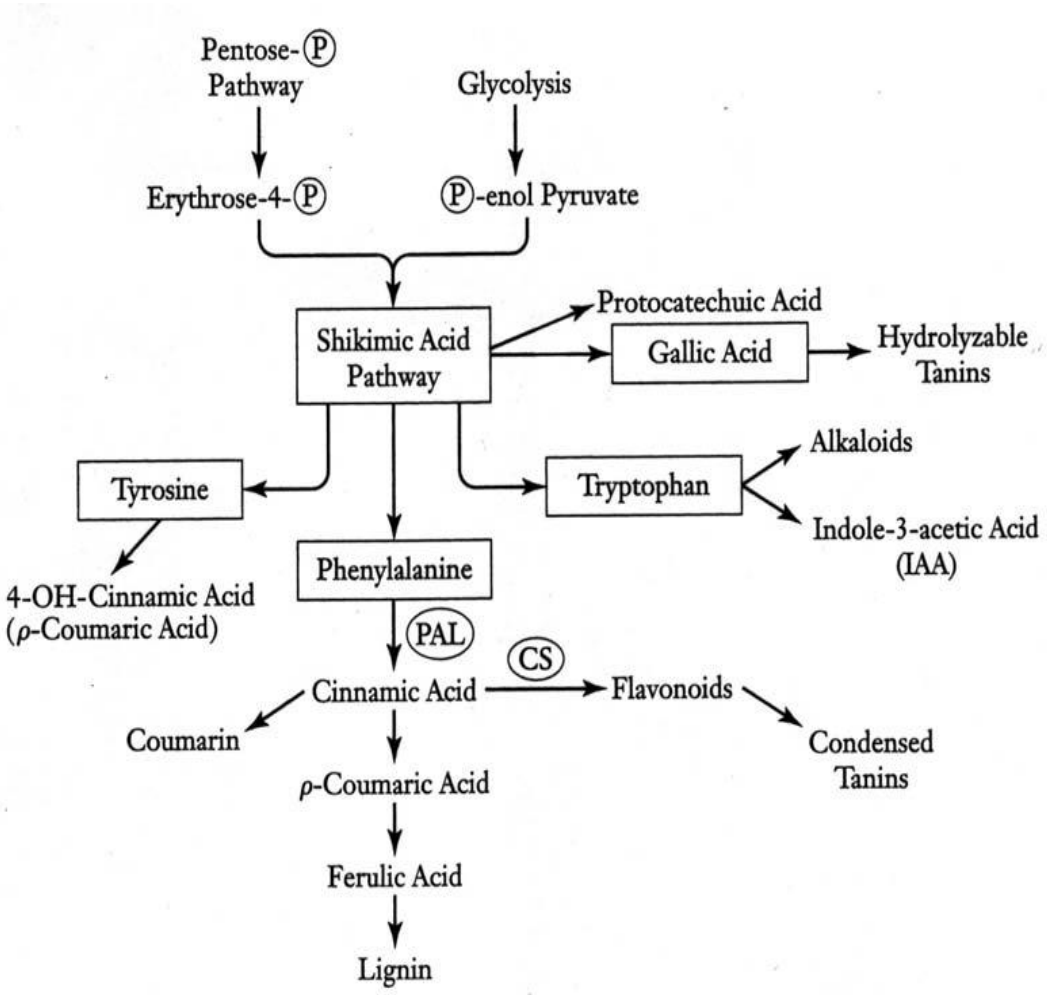
من بين المركبات متعددة الحلقات الناتجة عن هذا المسار نجد:chromones ، isocoumarines ، orcinols ،depsides، xanthones، quinones،(Bruneton ;1993).

هناك مركبات فينولية ذات مصدر مختلط بين حمض الشكميك والاسيتات مثل:بعض الفلافونويدات ،stilbenes، pyrones، xanthones... وبين حمض الشكميك و mévalonate : مثل بعض الكينونات.

حمض الأسيتات و mévalonate مثل: pyranocoumarine-وfurano (Bruneten,1993).

بناء أغلبية المركبات الثانوية الفينولية تبدأبإزاحةالأمين ل phenyl alanine التي تؤدي إلىإنتاج حمض السيناميك (الشكل -3-)،الإنزيم المسؤول عن هذا التفاعل Phénylalanine ammonia lyase (PAL). هو الإنزيم المفتاح ويعد مراقب جيد لتوجيه الكربون نحو إنتاج مركبات فينولية .

حمض السيناميك مركب غير ثابت ويتحول بسرعة إلى حمض p-coumarique بإضافة جذر هيدروكسيل الإضافات المتتالية للجذور الهيدروكسيلية و méthoxy تعطي حمض الكافييك و férulique اللذان يتجمعان بكميات معتبرة. دورها الأساسي مؤشرات لمشتقات جد معقدة مثل Coumarines :,lignines,isoflavonoides ,flavonoides , tanins .



الشكل–3–: آلية تخليق بعض المستقلبات الثانوية (Hopkins , 2003) .

I-1-1-الفلافونويدات :

الفلافونويدات مجموعة تضم أكثر من 6000 مركب طبيعي تميز عموما النباتات الوعائية ، تحتوي صبغات مسؤولة على ظهور اللون الأصفر، البرتقالي و الأحمر لمختلف أعضاء النبات. تتواجد الفلافونويدات في الفواكه والخضروات و المشروبات مثل : القهوة والشاي . كما يعزى لونالأزهار إلى صبغات anthocyanes (Hopkins, 2003 ; Di Carlo et al.,1999).

II-1-1-1- البنية والتخليق :

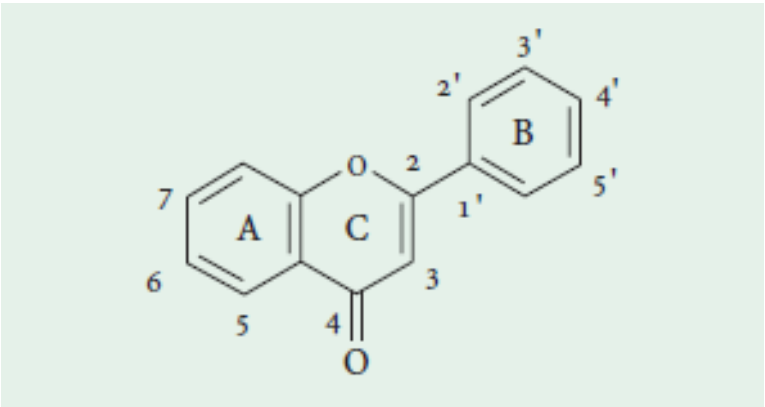
تصنف الفلافونويدات ضمن عائلة المركبات الفينولية المعقدة ، مشتقة من السلسلة Benzo –γ –pyrane وحسب طبيعة مختلف المكونات الموجودة في حلقات جزئية ودرجة تشبع هيكل Benzo –γ –pyrane تصنف إلى مجموعات(Di Carlo et al ., 1999) .

تتكون الفلافونويدات من ثلاث حلقات A , B و C(الشكل –4 و 5–) . حلقتين Aو Bمن حمض البنزويك مرتبطتين بجسر كربوني من ثلاث ذرات يشكل الحلقة C. الحلقة Aتكون مشتقة من مسار

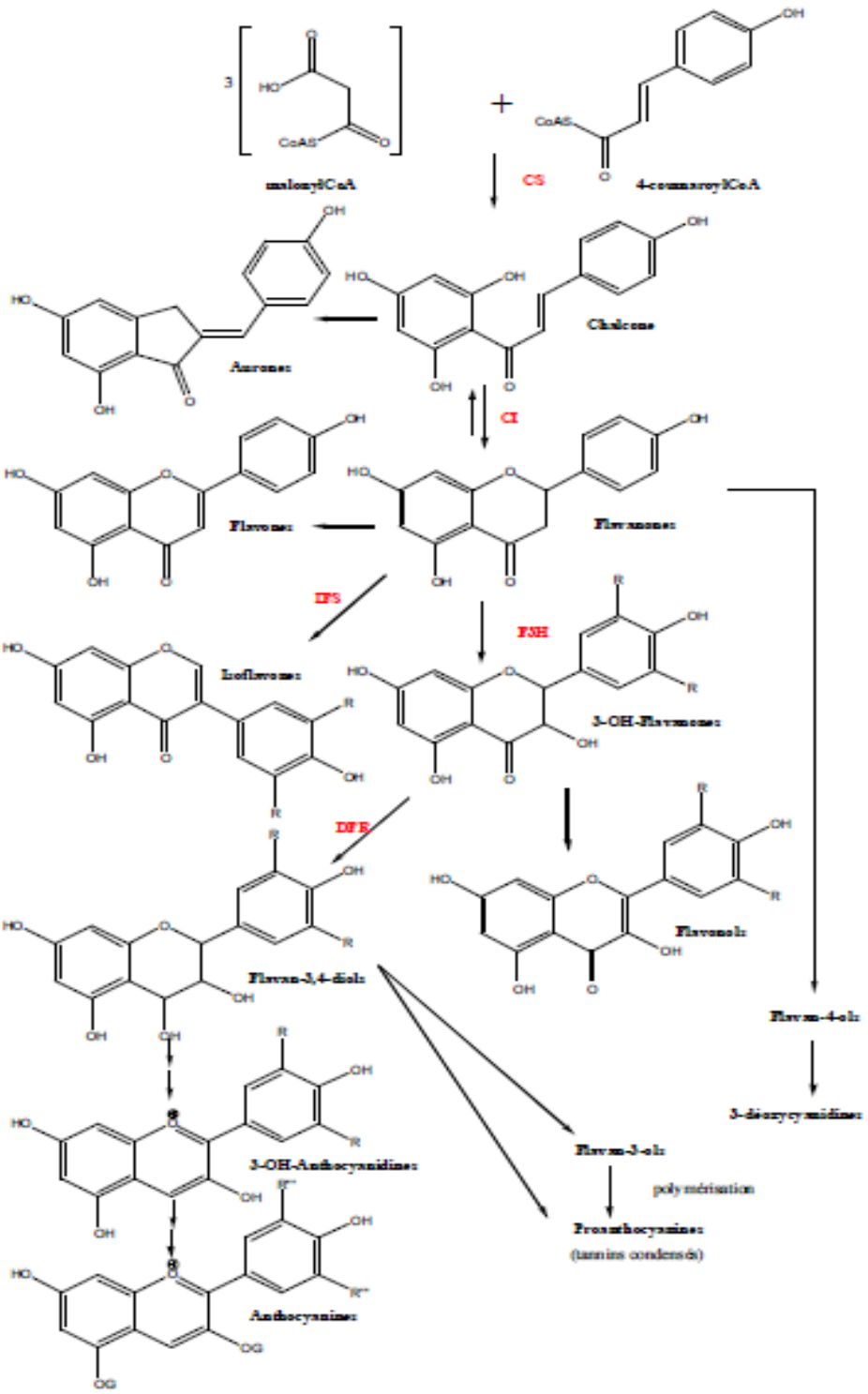
malonate / acetate بينما تشتق الحلقة B من phenylalanineعبر مسار الشكميك

(MerkanetBeecher,2000)

المجموعات الأساسية للفلافونويدات هي . , flavanols flavondiols , , flavones ,isoflavandiols anthocyanins , Chalcones aurones (Effendi et al., 2008)



الشكل –4–: بنية حلقة benzo-γ-pyrone(Di Carlo et al., 1999).



الشكل–5–: التخليق الحيوي للفلافونويدات(Bruneton , 1999).

CS : chalcone synthase ; CI : chalcone isomérase ; F3H : Flavanone 3-hydroxylase ; IFS : isoflavone synthase ; DRF : dihydroflavonol reductase ; FS : flavonol synthase ; AS : anthocyanin synthase. R=-H, -OH ou -OCH_3 et OG= -O-sucre

II-1-1-2- الخصائص البيولوجية للفلافونويدات :

أ- النشاطية المضادة للأكسدة :

الفلافونويدات عبارة عن مركبات قادرة على إلتقاط العديد من الأنواع المؤكسدة مثل : أيونات فوق الأكسيد، الجذر الهيدروكسيلي، الجذر البيروكسيلي والأكسجين الأحادي (Nijveldt et al ., 2001). ركزت دراسات عديدة حول العلاقة بين بنية الفلافونويد والنشاط المضاد للأكسدة

. (Cos et al ., 1995 ; Harborne et Williams, 2000 ; Woodman et al ., 2005)

$$\text{Flavonoïde (OH)} + R^{\circ} \longrightarrow \text{Flavonoïde } (O^{\circ}) + RH$$

المركبات التي تملك مجموعات هيدروكسيلية في $C_{4'}$، C_3و $C_{3'}$والرابطة الثنائية بين C_2و C_3 تمتاز بنشاطية مضادة للأكسدة كبيرة (Harborne et Williams ,2000).

ب-الفلافونويدات وNO :

نشاطية الفلافونويدات كملتقطات للجذور الحرة تم إختبارها في عدة دراسات. تنتج هذه الجذور بعدة أنماط على غرار الخلايا البطانية والخلايا البالعة الكبيرة التي تحرر جذور NO إنطلاقا من نشاط الإنزيم NOsynthase وهو مهم في الخفض من تمدد الأوعية الدموية (Huk et al., 1998) تملك بعض الفلافونويدات مثل Quercetine تأثير في منع توسع العروق الناتجة عن إمتداد الخلايا العضلية الملساء للجدار الخارجي للأوعية الدموية المحرضة من طرف NO (Andriantsitohaina, 1999 ; Duarte et al., 2002).

ج-النشاطية المضادة للالتهاب :

ينشط حمض Arachidonique عن طريق إنزيم Lipoxygénase لينتهي إلى تشكيل Leucotriènes أما إنزيم cyclo-oxygenase فيؤدي إلى thromboxanes و prostaglandines، هذه الجزيئات تتدخل بقوة في التقدم الإلتهابي . cirsiliol ، baicaléine، lutéoline، morine ، glangine و catéchine هي فلافونويدات تقوم بتثبيط إنزيم (Sekiya and Okuda, 1982 ; Baumann., 1980) 5-lipoxygenase. chrysine ، apigénine و phlorétine تنقص من نشاط cycloxygénase وتثبط التجمع الصفائحي (Landolfi et al. 1984).

myricetine و quercétineتعيق عمل cyclo-oxygenase و lipoxygenase في تراكيز عالية نسبيا أما في وجود هذه المركبات بتراكيز ضعيفة فإنها تثبط lipoxygenase (Cruz et al., 1998).

د–النشاطية المضادة للحساسية :

الفلافونويدات معروفة بتأثيراتها المضادة للحساسية. حيث تثبط الإنزيمات التي تساعد على تحرير الهستامين إبتداءا من Mastocyte و basophyle وهي : AMP_C phosphodiestérase و Ca^{++}ATPase

(Kotani et al. 2000 ;Yamamura and Ozawa,1998).

هـ–النشاطية المضادة للقرحة المعدية :

الفلافونويدات قادرة على حماية الغشاء المخاطي ضد عدة عوامل محرضة للقرحة المعدية ، يملك فلافونويد hypolaeline-8-glucoseالمستخلص من أنواع *sideritis*نشاطية ضد القرحة المعدية عالية

(Villar et al. 1987) .يملك كل منnaringine وquercitine نشاطية مضادة للقرحة المعدية أختبرت على الجرذان التي تم تحريض القرحة فيها بفعل الإيثانول. وجد أن quercitine يملك تأثيرات واقية للخلايا وتثبط إنتاج Leucotriènes وذلك بإنتاج مخاط ذو خصائص مضادة للأكسدة (Martin et al.,1994)من جهة أخرى وجد أن quercitine يثبط نمو *Helicobacterpolii*وكذلك إنتاج الأحماض عن طريق الخلايا الجدارية ردا على التحفيز من الهستامين وAMP_C dibutyrique (Shin et Liang, 2004).

و–مثبطات إنزيمية:

تملك بعض الفلافونويدات خاصية تثبيط إنزيمات التنفس ، خاصةNO synthaseيتعلق الأمر بالفلافونويدات المشبعة في الوضعية C_2-C_3والتي تتضمن وظيفة كيتونيةفي C_4ومجموعة هيدروكسيل فيC_3،C_4و C_5، (Harborne and Williams ,2000) .

تثبط biflavonesالمتواجدة في*Ginkgo biloba* نشاطية إنزيم phosphodiestérase اللبيدي ، هذا الإنزيم مهم في تفاعلات الأكسدة الذاتية للبيدات (Dell'Agli and Bosisio,2002) .

يتم تثبيط إنزيمات Kinases مثل KinaseC (PKC)التي تشارك خصوصا في التقدم الإلتهابي والتقدم الإفرازي وإنتاج الخلايا اللمفاوية عن طريقquercitine، fisétine و lutéoline (Ferriola et al.,1989).

يثبط كل من genisteine و quercitine بروتينات تيروزين كيناز (PTK) و هي إنزيمات مهمة في عدة مسارات للإشارة كالتنظيم ، التحويل والنمو الخلوي ، التنقل الخلوي إلتصاق الخلايا

.(Qian and Weiss, 1997;Akiyama et al., 1987)

II-2-المركبات التربينية :

تضم المركبات التربينية مجموع جد متنوعة من الجزيئات سواء من الناحية البنيوية أو الوظيفية .

حوالي 15000 بنية جزيئية معروفة ، من المحتمل أنها تمثل أكبر عائلة وأكبر تنوع من المركبات النباتية

. (Gershenzon et Croteau, 1991)

التربينات مركبات ذائبة في الدهون يتركب هيكلها البسيط من 5 ذرات كربون وتطرأ على هذا الهيكل عدة تغيرات لتشكيل المركبات التربينية المعقدة من بينها : الهرمونات (acide abscissique , gibbérellines)، صبغات جزرينية(xanthophylle , carotène) ، ستيرولات (cholestérol , sitostérol , ergostérol)و مشتقات الستيرولات (héterosides digitalique)، جزء مهم من الزيوت الأساسية التي تمنحالنباتات رائحتها وذوقها.(Hopkins,2003)

II-2-1-البناء الحيوي للتربينات :

رغم إختلافاتها الكبيرة كل التربينات تملك مسار تخليقي واحد يدعى بمسار حمض mévalonique.يتم تخليق المركبات التربينية حسب المخطط التالي :

AcetylCoA + AcetylCoA → Acetoacetyl CoA

CoASH

AcetoacetylCoA +AcetylCoA → HMG ⋯→ MVA

MVA → IPP

IPP + IPP → GPP ⋯→ monoterpènes

GPP+ IPP → FPP → sesquiterpènes

FPP+IPP → GGPP → diterpènes

GGPP+GGPP ⟶ tetraterpènes

مخطط–1–: آلية تخليق المركبات التربينية(Hopkins, 2003; Bruneton, 1993).

II–2–2–الزيوت الأساسية:

الزيوت الأساسية هي عبارة عن خليط معقد من المركبات الكيميائية ، هذه المركبات تنقسم إلى مجموعتين، مجموعة التربينات ومجموعة المركبات العطرية المشتقة من فنيل بروبان وهي أقل تواجدا من المجموعة الأولى .

تتميز الزيوت الأساسية بسيلانها في درجات الحرارة العادية ، طيارنها ، كثافتها التي تكون عموما أصغر من كثافة الماء ولها معامل إنكسار عالي ، تذوب في المذيبات العضوية والدهون ومنعدمة الذوبان تقريبا في الماء (Bruneton, 1993) .

II–2–2–1–التوزيع:

توجد الزيوت الأساسية عند النباتات الراقية فقط، هذه النباتات موزعة في خمسين عائلة منظمة في الرتب التالية: *Lamiales, Asterales*و*Rutales*و*Laurales*و*Magnoliales*.

تخزن الزيوت الأساسية في كل أعضاء النباتات كالزهور في نبات مسك الليل، الأوراق في الليمونيات، توجد بكميات صغيرة في قشرة البابونج والخشب في الورود والجذور والريزومات في الزنجبيل والبذور في جوزة الطيب.

كميا مردود الزيوت يكون ضعيف، أقل من 1%(حجم/وزن) فيما عدا البرعم الزهري لنبات القرنفل يكون المردود فيه 15% فما فوق وهي حالة استثنائية (Bruneton, 1993).

II–2–2–مكان التخليق والتواجد:

يتم تخليق وتجميع الزيوت الأساسية في بنيات نسيجية نوعية مشتركة ، تكون متموقعة على أو بمقربة من سطح النبتة فهي عبارة عن خلية الزيت في *Lauraceae*و *Zingiberaceae*، الأوبار المفرزة في*Lamiaceae* ، الجيوب المفرزة في *Myrtaceae*و*Rutaceae* والقنوات المفرزة عند *Apiaceae*و*Asteraceae* (Bruneton, 1993).

II-2-2-3-الدور الفيزيولوجي :

تنتج نباتات عديدة الزيوت لكن دورها في تقدم حياة النبتة غير واضح إلى حد الآن (Rai et al., 2003).من المحتمل أن تقوم الزيوت الأساسية بدور بيئي أحيانا ، استنادا إلى هذه الفرضية نلاحظ أن دورها جيد في العلاقات بين النباتات (العوامل الأليلوباتية وخاصة منها مثبطات النمو) ، العلاقات بين النباتات والحيوانات (حماية النباتات من الحشرات التي تحدث التلف والفطريات وتجذب الحشرات الناقلة لحبوب الطلع) (Bruneton, 1993) .تؤثر الزيوت الأساسية على الميكروبات، الحيوانات الأكلة للأعشاب بالطعم والتأثيرات غير الملائمة للنظام العصبي (Porter,2001) .

II-2-2-4-تأثيرات الزيوت الأساسية:

أ-طرق تأثير الزيوت الأساسية :

استعمل العديد من الباحثين الزيوت الأساسية كأدوية أو كإضافات لأدوية. إذ وجد

Buchbauer et Jirovety (1994) انه بإمكانه استعمال الزيوت الأساسية باستنشاقها أو كمرهم للجلد لأنها تعمل على هدم اللبيدات المحبة للماء في الغشاء الخلوي وتعديل نشاط قناة الكالسيوم. في تركيز معين يشبع الزيت الأساسي الأغشية محدثا تخديرا موضعيا ، وذلك حسب خصائصها الفيزيوكيميائية وأشكال الجزيئات فهي تؤثر على الإنزيمات ، القنوات الأيونية الناقلة والمستقبلات . لوحظ تعدد التأثيرات الفيزيولوجية للزيوت الأساسية عند الإنسان ، فهي تنبه المخ ، تخفض القلق و نشاطات مضادة للإكتئاب ، بالإضافة إلى زيادة تدفق الدم الدماغي .

ب-النشاطية المضادة للميكروبات:

تمتلك الزيوت الأساسية نشاطية مضادة للميكروبات ، هذه النشاطية تقوم بحماية كيميائية ضد الأمراض النباتية . جربت هذه النشاطية على نبات *Myrica gale*باستعمال عدة أنواع من الفطريات، حيث لوحظ أنه عند إحداث أي جرح فيالأغصان يتدفق الزيت الأساسي من خلاله وهذا يؤدي إلى منع دخول الميكروبات التي بامكانها اختراق الجروح بسرعة وهذا ما يفسر عدم إصابة النباتات الطبية والعطرية بعدة أمراض نباتية شائعة (Carlton et al. 1992 ; Svoboda et Hampson, 1998).

تمتلك الزيوت الأساسية نشاطية مضادة للميكروبات على مختلف الميكروبات الحيوانية والنباتية في الزجاج، حيث في دراسةأجراها Belhattab et al(2004)لتأثير الزيت الأساسي لنبات*Origanum glandulosum*على عدة أنواع فطرية جلدية ونباتية وخمائر ، أبدى الزيت الأساسي تأثير تثبيطي على كل هذه الأنواع المختبرة .

III- الإجهاد التأكسدي :

يعرف الإجهاد التأكسدي على أنه إنعدام التوازن بين الجذور الحرة والنظام الدفاعي ، يلازم ذلك إنتاج العديد من التأثيرات على الأنظمة الوظيفية الخلوية (Visentin et al.,2003) .

III-1-إستقلاب الأكسجين:

الأكسجين ، عنصر ضروري لحياة العضويات الهوائية ، عند إستقلابه تتولد مركبات فعالة تسمى الجذور الحرة أو الأنواع الأكسجينية النشطة (ROS)(Visentin et al.,2003). هذه الأنواع الأكسجينية تنتج بكميات صغيرة أي تكون مراقبة من طرف الجهاز المناعي ، لكن في حالة تعرض الجسم إلى الأشعة الأيونية أو الأشعة فوق البنفسجية ، المعادن وحتى أثناء التفاعلات الإنزيمية يرتفع إنتاج الجذور وتصبح ذات سمية عالية

(Visentin et al.,2003)من أهم هذه الجذور :

III-1-1-أيون (Superoxyde($O_2^{\circ -}$):

ينتج جذر ($O_2^{\circ -}$)بإنزيم NADPHoxydase الميكروزومي و البلازمي و إنزيم NADPHdeshydrogenase الميتوكوندري (المركب I للسلسلة التنفسية) ومركبات ubiquinone(المركب II و III للسلسلة التنفسية). هذا الأيون يدخل كعامل مؤكسد في العديد من التفاعلات (Joanny,2005) .

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\circ -}$$

III-1-2-الجذر الهيدروكسيلي (OH°) :

يتشكل جذر الهيدروكسيل بتفاعل H_2O_2 مع $O_2^{\circ -}$ حسب المعادلة التالية :

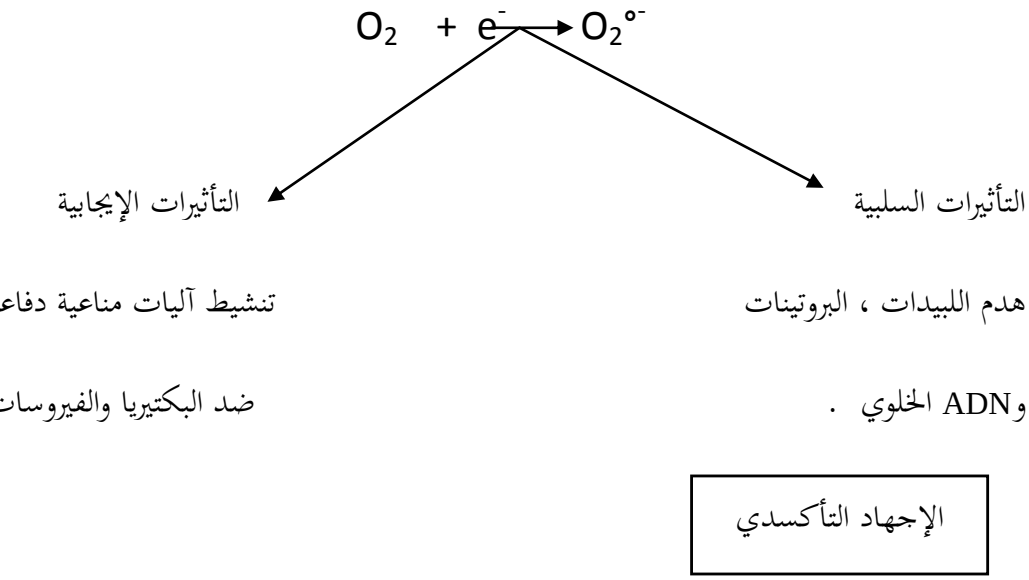
$$H_2O_2 + O_2^{\circ -} \longrightarrow OH^{\circ -} + OH^- + O_2$$

(Hammond et Hess, 1985)

III–2– الأضرار الناتجة عن الإجهاد التأكسدي :

تتواجد الأنواع الأكسجينية النشطة (ROS)في الجسم بكميات أو تراكيز ضعيفة وتقوم بأدوار فيزيولوجية مهمة كإستعمالها كمراسيل عصبية وتوسع الأوعية الدموية (Favier,2003).

تصاحب إنتاج مشتقات الأكسجين غير الثابتة كل من إستقلاب السكريات عن طريق الجهد الفيزيائي، إستقلاب الدهون، الإستجابة المناعية خصوصا تلك المتعلقة بالعدوى الميكروبية ، التعرض للأشعة(خاصة UV)، التلوث كل هذه العوامل تتسبب في إرتفاع هذه الجذور و هذا الإرتفاع ينجم عنه أضرار عديدة منها أكسدة ADN ، البروتينات ، اللبيدات و السكريات (الشكل– 6–) .



الشكل– 6– :تأثيرات الإجهاد التأكسدي (Joanny,2005) .

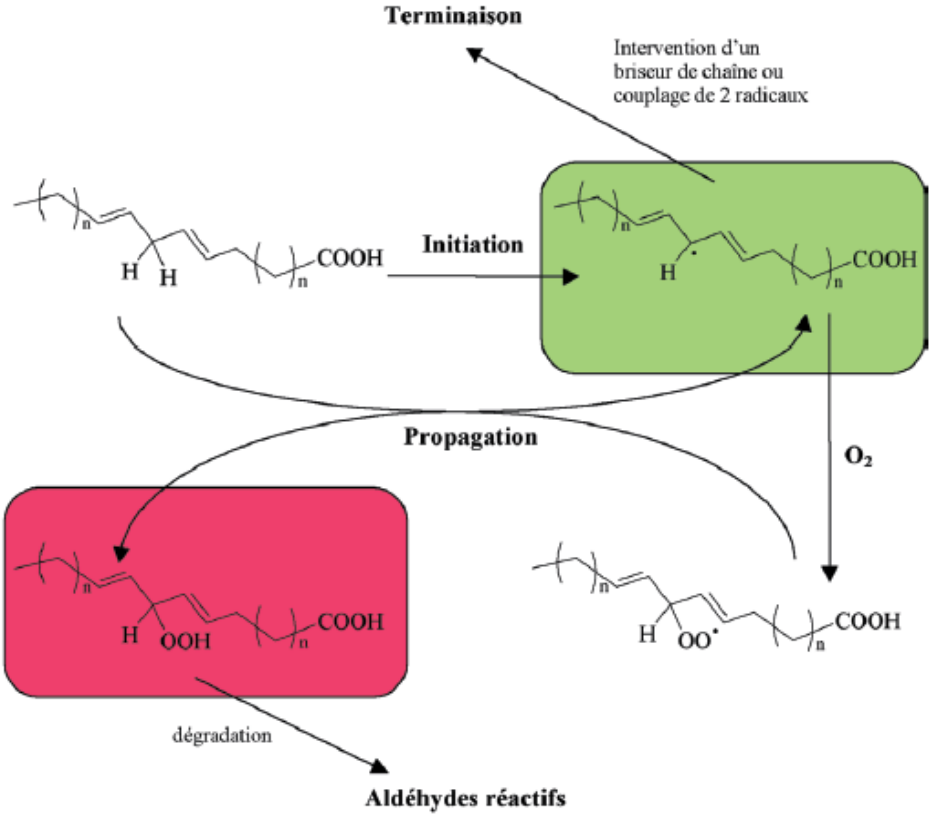
III–2–1–أكسدة اللبيدات :

المركبات اللبيدية التي تحتوي على روابط كثيرة غير مشبعة ، تتأثر كثيرا بالأكسجين . ففي وجوده تتهدم اللبيدات وتأخذ رائحة مزعجة ؛هذه الآلية تسمى بفوق أكسدة اللبيدات (الشكل–7–) هذا التفاعل ينقسم إلى ثلاث مراحل:

أ – المرحلة الإبتدائية : تحدث هذه المرحلة بتحفيز جذري للرابطة C-Hلسلسلة الأحماض الدهنية و تتشكل جذور جد فعالة في وجود الأكسجين وهي جذور بيروكسيلية .

ب– مرحلة الانتشار :امتدادا للمرحلة الأولى، الجذر البيروكسيلي يأخذ هيدروجين من جزئية أخرى من الأحماض الدهنية وبالتالي تخليق جذر جديد يتحويل الحمض الدهني إلى هيدروبيروكسيد.

ج–المرحلة النهائية: تتعرض الهيدروبيروكسيدات الناتجة إلى عدة تحولات، إما ترجع بواسطة إنزيم GPxأو تستمر أكسدتها وتتجزأ إلى ألدهيدات سامة . تتوقف هذه التفاعلات المتتالية إما بتدخل مركب مضاد للأكسدة والذي يقوم بدور كاسر للسلسلة، أو بتفاعل جذرين مع بعض لإنتاج جزيئة مستقرة (Hannebelleetal.,2004).



الشكل–7– : فوق أكسدة الليبيدات (Hannebelle et al., 2004).

III– 2–2–أكسدة ال ADN:

الجذور الحرة تحرض على الطفرات، توقف تضاعفADN، تؤدي إلى أكسدة القواعد المكونة لADN، قطع الجسور بين ADN والبروتينات (Krippeit-Drews et al., 1994).الألدهيدات الناتجة عن أكسدة اللبيدات تشكل إضافات على القواعد Guanineوالهجوم الجذري على البروتينات المتصلة بADN كالهستونات ، الإنزيمات وعوامل الإستنساخ والتضاعف و قطع الروابط الموجودة بين القاعدة والسكر (Rahman et al.,1999) .

إضافة إلى التأثيرات السابقة ، في وجود آثار من المعادن يؤكسد الغلوكوز في الشروط الفيزيولوجية ويؤدي إلى تحرير Cétoaldéhyde، H_2O_2و OH°، هذه الظاهرة مهمة جدا عند مرضى السكري حيث تساهم في إضعاف الأوعية الدموية وشبكية العين (Favier,2003).

الإجهاد التأكسدي هو السبب الرئيسي في إحداث العديد من الأمراض : السرطان ، تكثف عدسة العين، الشيخوخة المبكرة ، مرض السكري ، Alzheimer ، Parkinson، الروماتيزم ، الإلتهابات المعدية–المعوية ، أمراض القلب والشرايين و القرحة المعدية (Atawodi,2005 ; Georgetti et al.,2003).

III–3–مضادات الأكسدة:

مضادات الأكسدة هي مركبات بإمكانها تثبيط أو تأخير الجذور الحرة. تختلف طبيعة هذه الأنظمة حسب تواجدها في الوسط داخل وخارج الخلوي .

III—3–1–مضادات الأكسدة الإنزيمية:

أ–Superoxyde dismutase (SOD):

الدور المحدد لSODفي النظام الدفاعي ضد الأكسدة للجسم معروف منذ1968. أيون فوق أكسيد

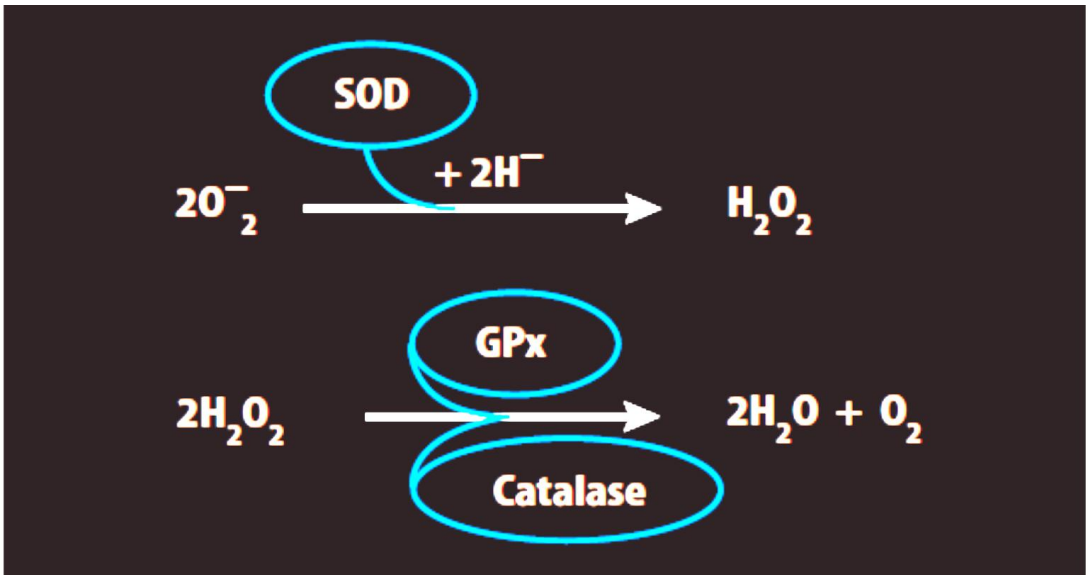
($O_2^{\cdot -}$) هو نقطة إنطلاق سلسلة إنتاج الجذور الحرة. دور هذا الإنزيم هو تقصير مدة حياة أيون فوق الأكسيد، فهو يعتبر كإنزيم مفتاح للدفاع ضد الجذور (الشكل – 8–) (Vouldoukis et al.,2004).

د–**Catalase**:

يوجد هذا الإنزيم في أغلب الكائنات الهوائية وفي كل أعضاء الجسم، يعمل على تحويل بيروكسيد الهيدروجين إلى جزيئات أبسط هي الماء والأكسجين (الشكل – 8–)

ج– **Glutathion peroxidase (GPx)**:

يتواجد هذا الإنزيم في الميتوكوندري و السيتوزول و مهمته إتلاف بيروكسيد الهيدروجين والبيروكسيدات اللبيدية (الشكل– 8 –) (Herbette et al., 2007).



الشكل –8–: دور الإنزيمات المضادة للأكسدة في سير عملية تثبيط ايون فوق الأكسيد (Joanny, 2005).

III–3–2–مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:

مهمة مضادات أكسدة حماية الخلية من التلف المصاحب للجذور الحرة وكنتيجة لذلك إطالة العمر الخلوي بتخفيض تقدم الشيخوخة وإنقاص ترسب الدهون في الشرايين(Meydani , 2000).

أ–الفيتامين E:

الفيتامينات Eهي مركبات ذائبة في الدهون ، تعيق المرحلة الابتدائية ومرحلة الانتشار في الأكسدة الذاتية للبيدات . تساعد بنيتها على إلتقاط الجذور الحرة فمقدرة α-tocopherol للتحول إلى جذر حر أكبر ضمن كل tocopherols ، يتبع ب(Zingg , 2007)-β , -δ , δ - tocopherol .

عند منح هيدروجين من α- tocopherolsتتحول إلى جذر α- tocopheroxy والجذر البيروكسيلي يتحول إلي الهيدروبيروكسيد(Cobbold et al., 2002; Stocher andkeaney, 2004)و الجذر المتشكلα –tocopheroxy يرتبط بجذر آخر من نفس النوع أو يرتبط مع حمض الأسكوربيك (فيتامينC).

يتواجد الفيتامين E في الزيوت النباتية ، الأنوية والبذيرات والفيتامين المستخلص طبيعيا يبدي قوة بيولوجية تفوق مرتين من الفيتامين الإصطناعي (Burton et al., 1998).

ب–Glutathione (GSH):

عبارة عن ببتيد ثلاثي ويمثل أهم مضادات الأكسدة التي لها دور في الحماية داخل العضوية، تقدر تراكيزه بالميلي مولر في جميع الخلايا تقريبا كما يوجد في السوائل خارج خلوية بتراكيز جد ضعيفة، فهو عامل مساعد لإنزيم glutathione peroxidase في تخفيض الإنتاج الداخل خلوي للبيروكسيد كما تعمل على الإزاحة المباشرة ل ROSو RNS ويعملGSH على حماية البروتينات التي تحمل مجموعات SH من الأكسدة وإلتقاط الأيونات المعدنية مثل النحاس (Hanna et Mason, 1992) .

ج–الفيتامين C:

مركب قابل للذوبان في الماء ، يتواجد في السيتوزول وفي السوائل خارج خلوية ، يتم صنعه في الكبد إبتداءا من الغلوكوز عند كل الثديات ولا يتم صنعه عند الإنسان. يمتلك حمض الأسكوربيك وظائف متعددة مضادة للأكسدة من أهمها ازاحة °OH و ($O_2^{\cdot -}$) .بإمكان حمض الأسكوربيك أن يتفاعل مع الفيتامين E (Sebastian et al., 2003).

الدراسة المخبرية

الدراسة المخبرية

I–المواد والطرق:

I–1–المادة النباتية:

حصلنا على العينة النباتية للشيح (*Artemisia herba alba Asso*)في مرحلة الإزهار، من منطقة بوقاعة شمال سطيف في صيف 2008. تم تجفيفها في الظل لمدة أسبوعين، وبعد جفافها تسحق العينة بالأيدي. تعرفنا على العينة في قسم بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات بجامعة سطيف، وتم حفظ عينة مرجعية في المخبر.

I–2–المواد الكيميائية والأجهزة:

- الكرستين نقي (sigma, 98% HPLC grade) .
- حمض الكافييك**(** Sigma**)** .
- **2.2**Dipheny-1- picrylhydrazyl(DPPH)منشركةSigma.
- carvacrol (5-jso propyl -2-methylphenol) Aldrich .
- Thymol**(Sigma).**
- BHA**(Sigma).**
- Spectrophotometre(spectronic20genesys TM).
- Rotavapeur(Büchi **)**
- جهازالكروماتوغرافي : (Perkim Elmer 8700)
- **السلالات الميكروبية :**

استعملت سلالات بكتيرية – Gram**:** ATCC 25922 *Escherechia coli,*

*Staphylococcusaureus*ATCC27853 *Pseudomonas eroginosa ,+ Gram :* ATCC 25923.

السلالات الفطرية *Penicillium italicium* **,***Asperagillus niger* **,***Aspergillus flavus*,

Fusarium sp,*Penicillcium sp*تم عزلها من الحبوب وحفظها في مخبر علم الأحياء الدقيقة التطبيقية (LMA) في جامعة سطيف.

ا-3-الاستخلاص:

ا-3-1-المستخلص المائي:

تم الحصول على المستخلص المائي بإذابة 50غرام من مسحوق النبتة في 250ملل من الماء المقطر . ينقع لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة وبالرج. ثم يرشح على ورق واتمان رقم-1- (Tariq et al.,2008). تعاد العملية ثلاث مرات . يركز المرشح في جهاز التبخير الدوراني « Büchi » (الشكل-9-) .

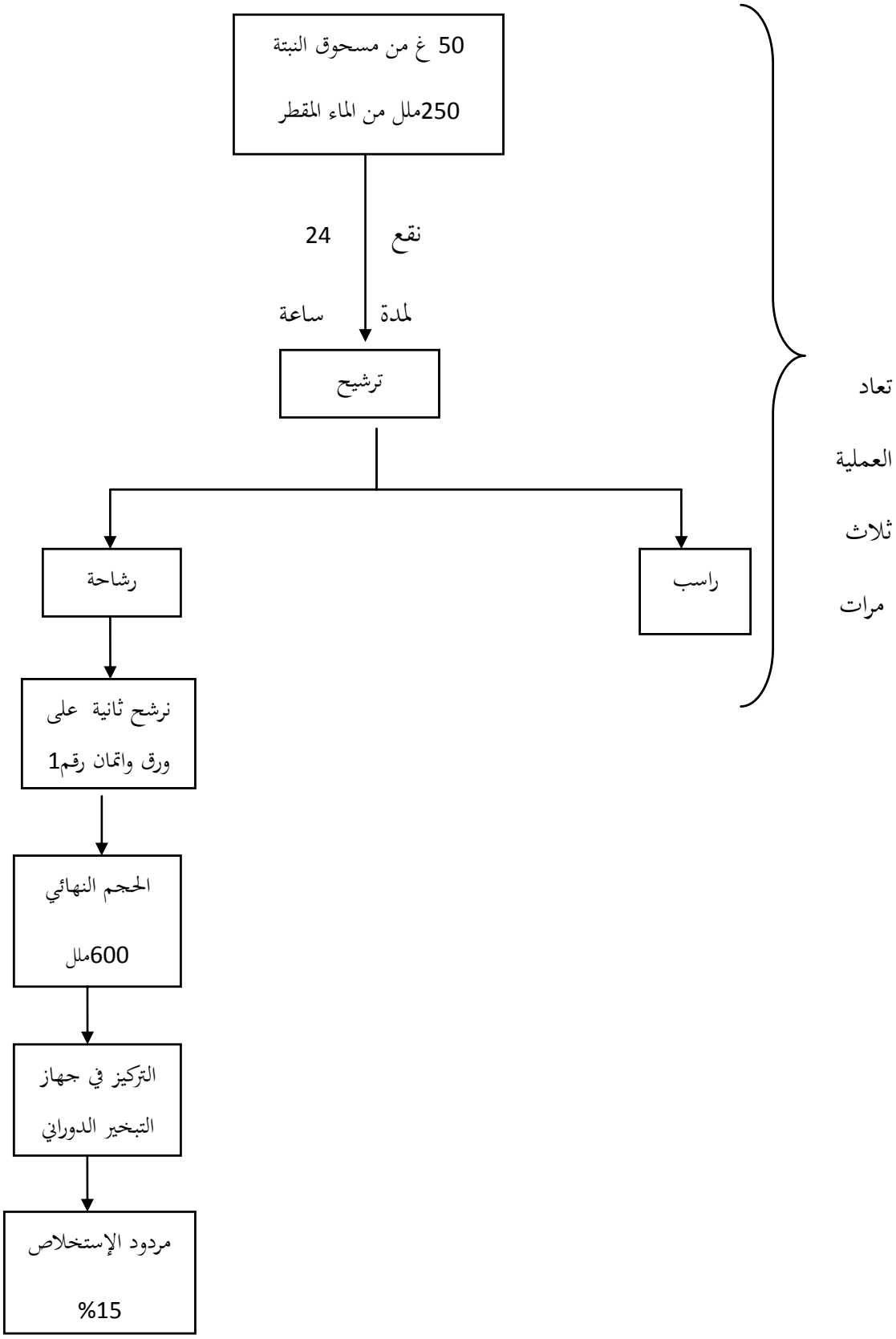
تحفظكمية المستخلص في قنينة بعيدا عن الهواء وفي درجة حرارة 4°م إلى غاية الاستعمال .

ا-3-2- المستخلص العضوي:

تم الاستخلاص بواسطة الأستون وباستعمال جهاز Soxhlet لمدة 6 ساعات . المستخلص المتحصل عليه يركز بواسطة جهاز التبخير الدوراني ، نتحصل على مردود 7.5(w/w)% . يحفظ إلى غاية استعماله ، عند الاستعمال يذاب في محاليل حسب الحاجة (Belhattab et al.,2004) .

ا-1-4- الزيوت الأساسية :

تم الحصول على عينة الزيت من مسحوق الجزء الهوائي للنبتة بواسطة التقطير المائي لمدة 3 ساعات بواسطة جهازClevenger بسرعة تقطير 3ملل/دقيقة (Belhattab et al.,2005) .



الشكل–9 –: مخطط طريقة الحصول على المستخلص المائي الخام لنبات الشيح (Tariq et al.,2008).

I-4-الدراسةالكيميائية:

I-4-1- تقدير الفينولات الكلية :

تم تقدير تركيز عديدات الفينول حسب Singleton et al (1999). بإعتماد الطريقة التي تستعمل متفاعل Folin-Ciocalteu . وتلخص الطريقة فيما يلي :

في أنبوب إختبار نضع 7.9ملل ماء مقطر، 0.1ملل مستخلص (المستخلص المائي : يذاب المستخلص المركز في الماء المقطر والمستخلص العضوي في الميثانول) و 0.5ملل من كاشف Folin-Ciocalteu .

نرج الخليط جيدا وبعد 1 دقيقة يتم إضافة 1.5ملل من كاربونات الصوديوم (20%) ونرج ثانية.

يترك الخليط في الظلام وفي درجة حرارة المخبر لمدة 2 ساعة وتقرأ الإمتصاصية في طول موجة 765nm في جهاز التحليل الطيفي ، بعد أن يعدل صفر الجهاز بالشاهد الأبيض .

أستعمل حمض الكافييك لتحديد منحنى العيارية، يعبر عن النتائج بعدد الملغرامات الموافقة لحمض الكافييك لكل غرام من وزن المستخلص الجاف.

I-4-2- تقدير الفلافونويدات :

قدرت الفلافونويدات الكلية للمستخلصات النباتية بطريقة $AlCl_3$(Kosalec et al.,2004)مع بعض التعديلات. في أنبوب إختبار نضع 2.8 ملل ماء مقطر ، 0.1 ملل من $AlCl_3$ ، 0.1 ملل CH_3COOK (1M) ، 0.5 ملل مستخلص (المستخلص المائي مذاب في الماء المقطر و المستخلص العضوي مذاب في الميثانول) ، نضيف 1.5 ملل إيثانول. نخلط المكونات جيدا ونتركها في الظلام وفي درجة حرارة المخبر لمدة 30 دقيقة . نقرأ الإمتصاصية في طول موجة 415nm بإستعمال جهاز التحليل الطيفي، بعد تعديل صفر الجهاز بالشاهد الأبيض الذي يحتوي على 0.2 ملل من $AlCl_3$(10%) و 4.8 ملل ماء مقطر.

استعمال الكرستين لتحديد منحنى العيارية، ويعبر عن النتائج بعدد الملغرامات الموافقة للكرستين لكل غرام من وزن المستخلص الجاف.

I-4-3-تحليلالزيوت الأساسية:

أ-كروماتوغرافيا الطور الغازي « GC » :

تنجز تحاليل GC باستعمال جهاز الفصل الكروماتوغرافي في الطور الغازي (Perkin Elmer8700)

مزود بكاشفين FIDs وعمودين بقطبيات مختلفة . الطور الثابت في هذه الحالة عبارة عن السليكا ترتبط بجدران العمود الشعري الداخلية .

- عمود DB-1 (30m ×0.25mm)السمك الداخلي للغشاء 0.25µm.
- عمود DB-17HT (30m ×0.25mm) السمك الداخلي للغشاء 0.15µm.

تبرمج درجة حرارة الفرن من 15-175°م بسرعة 3°م/دقيقة، ثم 15°م/دقيقة وتحفظ في درجة ثابتة لمدة 10 دقائق . درجة حرارة الحاقن والكاشف هي 280°م و 290°م على التوالي . يعدل تدفق الغاز الحامل الذي هو عبارة عن الهيدروجين إلى سرعة خطية 30 سم/ ثانية. تحقن العينات باستعمال تقنية شق العينات بنسبة 1:50.

تحسب النسبة المئوية للزيوت انطلاقا من مساحة المعاول المحصل عليها بالفصل الكروماتوغرافي الغازي وهي معدل حقنين لكل زيت (Belhattab et al.,2005).

ب-الكروماتوغرافيا الغازية المزوجة بالقياس الطيفي « GC-MS » :

تتالف وحدة GC-MS من جهاز الفصل الكروماتوغرافي في الطور الغازي

(Carlo Erboa 6000 Vega) المزود ب :

- عمود DB-1من السليكا (30m×0.25mm)السمك الداخلي للغشاء 0.25um

والواجهة ايون الكشف Finnigan MAT 8000.أحجام الحقن و حرارة الفرن كما ذكرت سابقا، تغير محور الحرارة 280°م، درجة حرارة ايون الاحتباس 280°م، يعدل تدفق الغاز الحامل الذي هو الهليوم إلى سرعة خطية وتقدر ب30سم /ثانية، نسبة الفصل 1 :40، طاقة التأين 70ev، تيار التأين60µA ، مجال المسح 40-300u، زمن المسح 1ثانية.

التعرف على طبيعة المكونات يتم عن طريق مقارنة مؤشرات الاحتجاز الموافقة للألكينات C_1-C_9وأطياف GC-MS الموافقة للمعطيات الخاصة لمكونات الزيوت المرجعية والمكونات المصنعة في المخبر وكذا الشواهد المتوفرة في السوق والمتواجدة في بنك معلومات خاص بالمخبر (Belhattab et al.,2005).

I-5- دراسة النشاطية المزيحة للجذور الحرة :

نشاطية المستخلصات والزيوت ضد جذرية تحدد بإتباع طريقة Blois(1985) المعدلة من قبل Kulsic etal(2004) حيث يستعمل جذر 2.2 diphenyl -1- picrylhydrazyl (DPPH). يتم تحضير محلولDPPH بإذابة 4مغ منه في 50 ملل ميثانول.

I-5-1-تحديد طول الموجة الاعضمي لامتصاص DPPH :

حددت طول الموجة الأعظمية لإمتصاص DPPHتجريبيابعد مسح الكثافة الضوئية في المجال الطيفي 512- 520 nm و تبين أن الامتصاصية العظمى تكون في طول موجة 515nm(الشكل- 10-). تم إعتماد هذه القيمة في القياسات الموالية .

I-5-2- تقدير النشاطية :

نأخذ 1ملل من محلول DPPH و نضيفه إلى 1ملل من المستخلص المائي أو العضوي أو الزيت الأساسي المخفف بالميثانول. بعد الحضن لمدة 30 د في الظلام و درجة حرارة الغرفة تقاس الامتصاصية في طول موجة515 n m في جهاز التحليل الطيفي بعد تعديل صفر الجهاز بالميثانول .

قدرت نشاطيةThymol, (BHA) Butylated hydroxyanisole كشواهد موجبة.

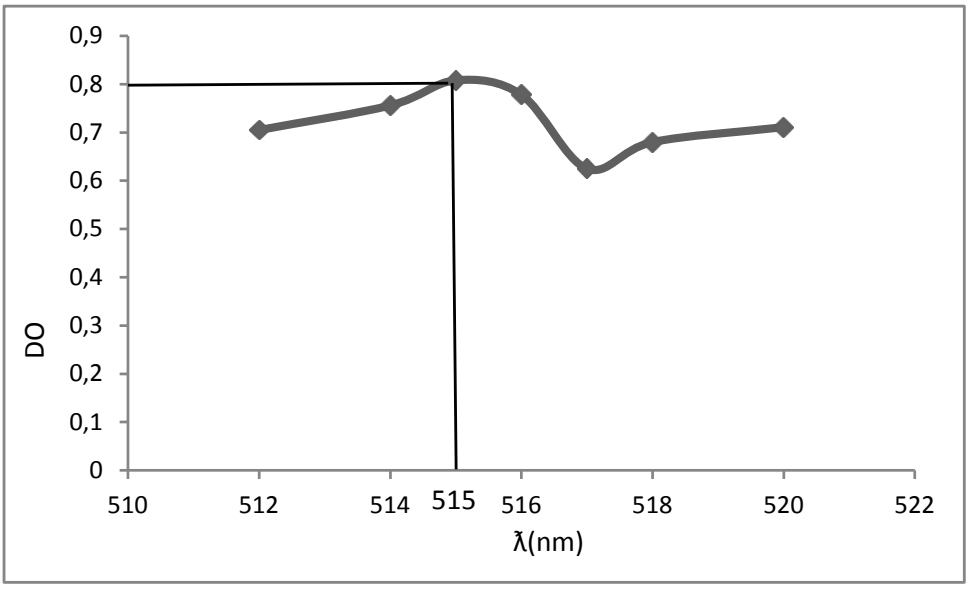
تحسب نسبة النشاطية حسب العلاقة التالية :

100 ((x الشاهدA /العينات A)- 1)حيث :

العيناتA : هي امتصاصية العينات.

الشاهدA : هي امتصاصية الشاهد.

تقدم النشاطية المضادة للأكسدة بقيمة IC_{50} التي هي عبارة عن التركيز الموافق لتثبيط 50% من الجذر الحر. يتحول اللون من البنفسجي إلى الأصفر.



الشكل–10– : تحديد طول الموجة الأعظمية لمحلول DPPH .

I–6–دراسة النشاطية المضادة للميكروبية :

تستعمل طريقة الأقراص لتحديد النشاطية ضد ميكروبية للزيوت الأساسية والمستخلصات

(Sokmen et al .2004)ويمكن تلخيص الطريقة فيما يلي:

I–6–1–النشاطية المضادة للبكتيريا:

تمت تنمية السلالات البكتيرية المستعملة في هذه التجربة على وسط Mueller Hinton (MH) في درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة قبل إجراء الإختبار. يعدل التركيز إلى10^7 - 10^8خلية / ملل.

نضع100µl من المعلق البكتيري المحضر سابقا وننشره في طبق بتري على وسط MH. يشبع القرص (القطر 6 مم، واتمان 3MM) ب 10µL من المستخلص (المستخلص المائي مذاب في الماء أو المستخلص العضوي مذاب في DMSO) أو الزيت الأساسي المخفف في DMSO، ويتم وضعها على الوسط في أطباق بتري المزروعة بعدما تجف. تحضن الأطباق في 37°م لمدة 24 ساعة، وبعد إنتهاء مدة الحضن يتم قياس قطر هالة التثبيط.

I–6–2– النشاطية المضادة للفطريات :

تنمى الفطريات على وسط مستخلص البطاطا (PDA)في أطباق بتري لمدة 7 أيام في درجة حرارة 28°م قبل إجراء الإختبار، وبعد إنتهاء مدة الحضن تنقل كتلة من الأبواغ عن طريق سلك البلاتين إلى محلول Tween80 بتركيز 1%. يعدل التركيز إلى 10^5–10^7 بوغة /ملل بإستعمال خلية Mallassez.

نأخذ100µl وننشرها على أطباق تحتوي على PDA ونضع فوقه الأقراص المشبعة بالمستخلصات والزيت النباتي، تحضن في 28° م لمدة 72 ساعة وبعد انتهاء المدة يتم قياس قطر هالة التثبيط.

نستعمل الماء و DMSO كشواهد سالبة Gentamicine و carvacrol كشواهد موجبة.

I–6–3–تحديد التركيز الأدنى للتثبيط (CMI) :

استعملت طريقة الأقراص السابقة لكن في هذه الحالة استعملت تخافيف متزايدة من المستخلصات والزيوت الأساسية ليتم تحديد التركيز الموافق لأدنى تثبيط ممكن (CMI) .

يتم حساب التركيز الأدنى للتثبيط للشواهد الموجبة بنفس الطريقة السابقة .

التحليل الإحصائي :

تم التعبير عن النتائج التجريبية على شكل متوسط حسابي لكل القيم المتحصل عليها ± الإنحراف المعياري (SD) .

II- النتائج:

II-1-مردود الإستخلاص:

تم تحضير المستخلص المائي بواسطة النقع فتحصلنا على مردود 15% ، أما المستخلص الأسيتوني فتم تحضيره بجهاز Soxhlet وكان المردود7.5%.

II-2- تقدير الفينولات الكلية :

قدرت الفينولات الكلية باعتماد طريقة متفاعلFolin-Ciocalteu و استعمل حمض الكافيين كمرجع، تم قياس الكثافة الضوئية في طول موجة 765nm.

تنظم النتائج المتحصل عليها في منحنى عيارية (الشكل -11-)ذو المعادلة:

$$Y=0,0022x +0,0818$$

$$R^2=0,9918$$

منخلالهذا المنحنى نحدد تركيز عديدات الفينول الكلية التي تقدر ب1,35mgCAE/g dw في المستخلص المائي و 0,32mgCAE/g dwفي المستخلص العضوي.

II-3- تقدير الفلافونويدات :

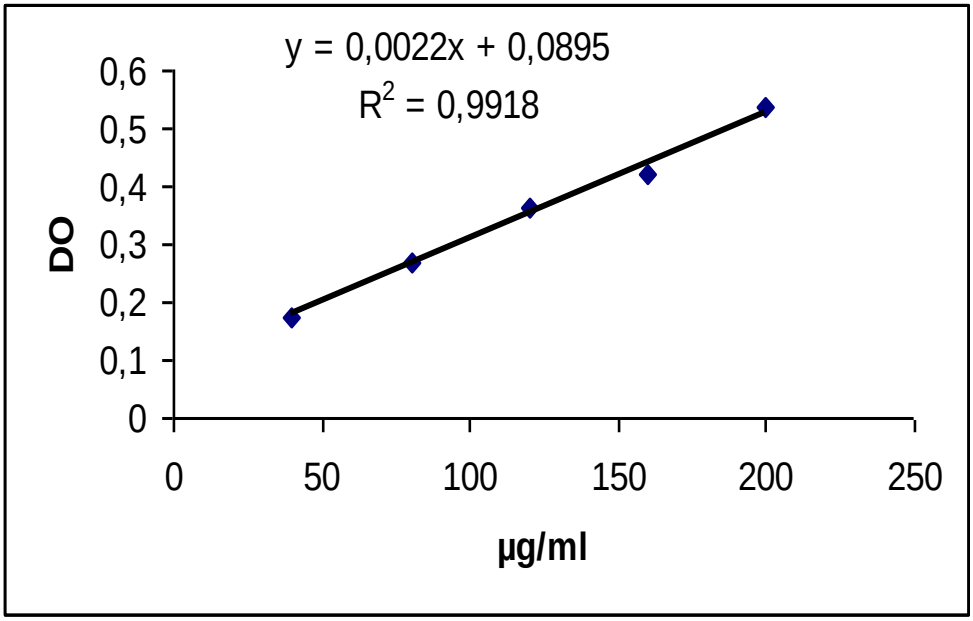
قدرنا الفلافونويدات باستعمال طريقة $AlCl_3$ و استعمال الكرستين كمرجع، تم قياس الكثافة الضوئية في طول موجة 415nm.

تنظم النتائج المتحصل عليها في منحنى عيارية (الشكل-12-) ذو المعادلة :

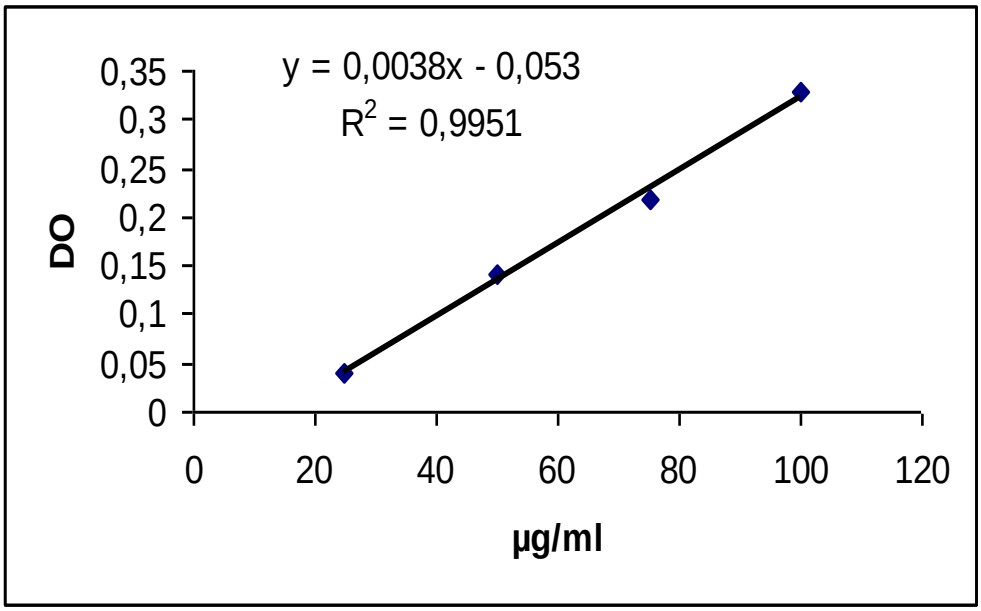
$$Y=0,0038x -0,053$$

$$R^2=0,9951$$

من خلال هذا المنحنى العياري نحدد تركيز الفلافونويدات في المستخلص المائي ب 0,53mgQE/g dw و المستخلص العضوي ب 0,54mgQE/g dw.



الشكل – 11– : منحنى العيارية لحمض الكافييك لتقدير عديدات الفينول الكلية للمستخلصات النباتية.



الشكل – 12 – :منحنى العيارية للكرستين لتقدير الفلافونويدات للمستخلصات النباتية.

II-4- الزيوت الأساسية:

تم الحصول على عينات الزيت الأساسي من نبات *Artemisia herba alba* Asso بواسطة التقطير المائي حيث أعطت مردود0.94%وتم تحليلها بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي « GC » التي تمكننا من التعرف على المركبات الموجودة في الزيت ونسبة كل مركب، يتبع هذا التحليل بتحليل الكروماتوغرافيا الغازية المزوجة بالقياس الطيفي للكتلة « GC-MS » التي تمكننا من معرفة طبيعة كل مركب كيميائي (الجدول-I-).

تم التعريف على91.9% من نسبة المركبات المكونة للزيت الأساسي، التي تحتوي على 50 مركب كيميائي مختلف. هذه المركبات الكيميائية تصنف في مجموعات رئيسية هي: Oxygen-containing (79.7%) monoterpenes ، Monoterpene hydrocarbons (9.6%) ، Sesquiterpene hydrocarbons(1.1%) ، Oxygen-containing sesquiterpenes (0.4%) ومجموعة غير متجانسة (1.1%).

حسب نسبة تواجد المركبات الكيميائية يمكن تنظيمها في مجموعات:

- **المجموعةالأولى**:تضم المركبات التي تفوق نسبة تواجدها 10% وتحتوي على مركبين هما:

cis-Thujone بنسبة 28.1% و Camphor بنسبة 22.8%.

- **المجموعة الثانية**:تضم المركبات التي تتواجد بنسب بين 5-10%وهيبالترتيب:

1,8-Cineole بنسبة 8.2% و trans-Thujone بنسبة 7.8% .

- **المجموعة الثالثة**:تضم المركبات التي تتواجد بنسبة بين 1-5%وهي كالتالي:

Camphene بنسبة 4.2% ، Chrysanthenone بنسبة 3.9% ، Borneolبنسبة2% ، Pinocarvone بنسبة 1.5% و Filifolene بنسبة 1% .

- **المجموعةالرابعة**:وتضم المركبات التي تتواجد بنسب أقل من 1% في الزيت الأساسي.

الجدول-1-: مكونات الزيت الأساسي المستخلص بالتقطير المائي لنبات

Artemisia herba alba Asso

المركبات الكيميائية	RI*	النسبة
Santolina	911	0.2
Tricyclene	921	0.3
α-Thujene	924	t
α-Pinene	930	0.8
Camphene	938	4.2
Sabinene	958	0.2
1-Octen-3-ol	961	t
β-Pinene	963	0.3
1,2,4-Trimethyl benzene	978	0.4
1-Decene	995	t
α-Phellandrene	995	0.8
1,2,3-Trimethyl benzene	1001	0.7
α-Terpinene	1002	0.1
p-Cymene	1003	0.9
1,8-Cineole	1005	8.2
Limonene	1009	t
Santolina alcohol	1011	t
γ-Terpinene	1035	0.8
trans-Sabinene hydrate	1037	0.8
Filifolene*	1074	1.0
Cis-Thujone	1074	28.1
Trans-Thujone	1081	7.8
Chrysanthenone*	1081	3.9

α-Campholenal	1088	0.1
trans-p-2-Menthen-1-ol	1095	0.5
Comphor	1095	22.8
Trans-Pinocarveol	1106	0.7
cis-Verbenol	1110	0.3
trans-Verbenol	1114	0.1
Pinocarvone	1121	1.5
Borneol	1134	2.0
Terpinen	1148	0.6
Myrtenal	1153	0.2
Myrtenol	1168	0.1
trans-Carveol	1189	0.1
cis-Carveol	1202	0.2
Carvone	1206	0.1
cis-Ocimenone	1206	0.1
Piperitone	1211	0.3
cis-Chrysanthenyl actate	1241	0.2
Bornyl acetate	1265	0.3
Carvacrol	1286	0.7
β-Copaene	1426	t
β-Ylangene	1435	t
allo-Aromadendrene	1456	t
γ-Muurolene	1469	0.7
Biclogermacrene	1487	0.4
o-Cadinene	1505	t
Spahulenol	1551	0.4
Ledol	1580	t
% of identification		91.9

Grouped components	
Monoterpene	9.6
Oxygen-containing monoterpenes	79.7
Sesquiterpene hydrocarbons	1.1
Oxygen-containing sesquiterpenes	0.4
Others	1.1
Oil Yield (%, v/dry weight)	0.94

*RI = Retention index relative to C9-C16 n-alkenes on the DB-1 column , T = trace (<0.05%),*Identification based on mass spectra only.

II-5-النشاطية المزيحة للجذور الحرة:

حددنا النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال طريقة جذر DPPH و هذه الطريقة من أشهر الطرق المستعملة في قياس النشاطية كونها سهلة و سريعة. تم قياس الكثافة الضوئية لكل من المستخلص المائي، المستخلص العضوي و الزيت الأساسي المذابان في الميثانول، إضافة إلى الشواهد الموجبة. تنظم النتائج المتحصل عليها في منحنيات عيارية (الشكل-13- و-14-) و ذلك بعد حساب نسبة التثبيط من منحنيات العيارية فوجدنا معادلاتها كالتالي :

الزيت الأساسي : $y=4,9951x+1,859;R^2=0,9801$

المستخلص المائي: $y=0,2149x-0,8485 ;R^2=0,9934$

المستخلص العضوي: $y=0,1126x+12,229 ;R^2=0,9957$

BHA : $Y=0,1542x+37,422;R^2=0,99$

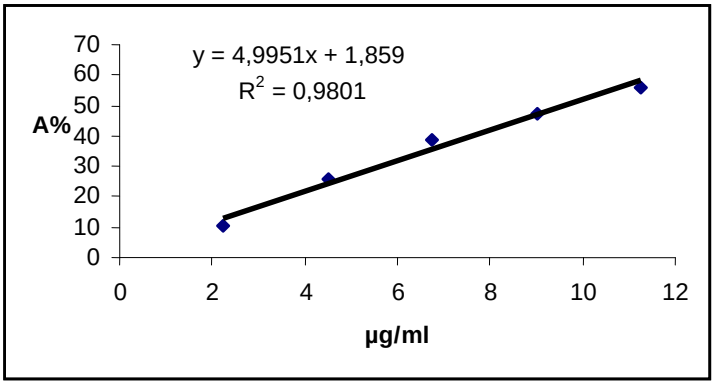
Thymol: $Y=66,615x-10,623;R^2=0,9868$

عيناIC_{50}و هو يمثل التركيز المثبط ل50%من الجذر الحرDPPH.وجد أن IC_{50}تتغير حسب المستخلص المختبر في حين وجد أن هذا التأثير ضعيفا نسبيا مقارنة مع الشواهد الموجبة.

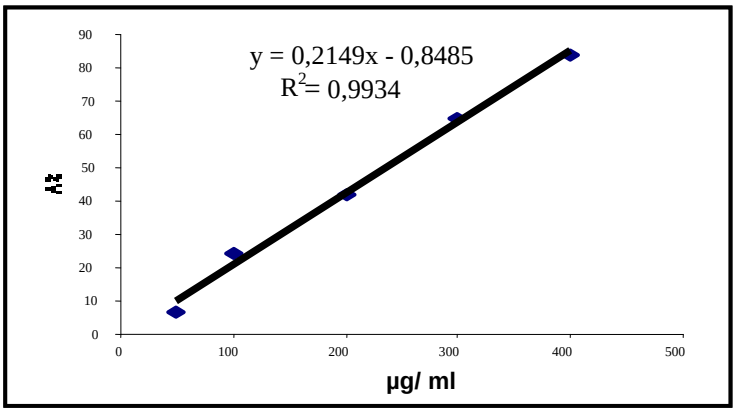
الزيت الأساسي هو المستخلص النباتي الذي يملك نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة مقارنة بالمستخلصات النباتية الأخرى (المستخلص المائي و المستخلص العضوي).نشاطية المستخلصات ضعيفة كذلك إذا ما قورنت بالشاهد الموجب BHA(الجدول-II-).

الجدول-II-:قيم IC_{50} للمستخلصات النباتية والشواهد الموجبة.

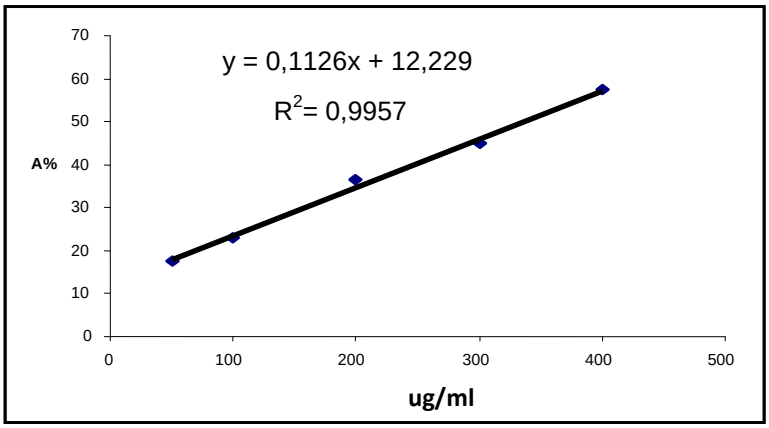
المستخلصات	المائي	العضوي	HE	BHA	Thymol
IC_{50}	236,6 ug/ml	331 ug/ml	2.67mg/ml	81,56 ug/ml	0,9 mg/ml



(أ)



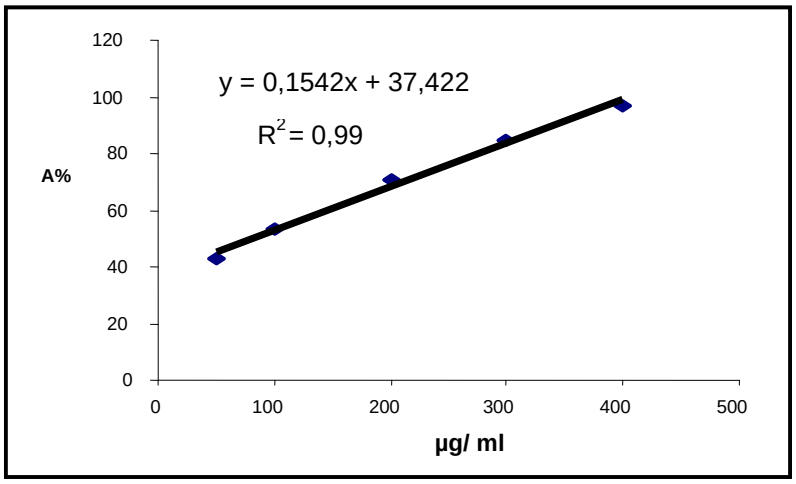
(ب)



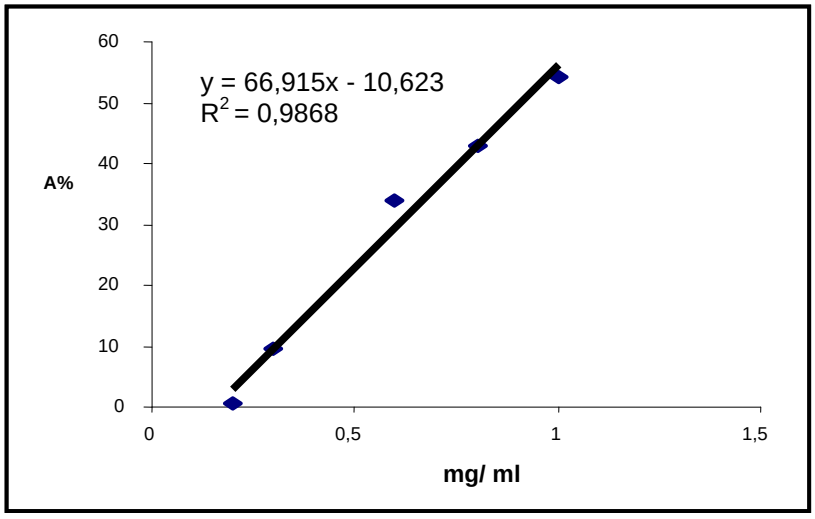
(ج)

الشكل – 13 –: منحنيات النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات الشيح.

(أ) : الزيتالأساسي،(ب): المستخلص المائي،(ج):المستخلص العضوي.



(أ)



(ب)

الشكل – 14– : النشاطية المضادة للأكسدة للشواهد الموجبة .

(أ) : BHA ، (ب) : Thymol

II–6–النشاطية المضادة للميكروبات :

سمحت طريقة الأقراص بالكشف عن مدى تأثر الكائنات المجهرية بالمستخلصات (المستخلص المائي، المستخلص العضوي المذاب في DMSO،الزيت الأساسي المذاب في DMSO كذلك) حيث يظهر التأثير على شكل هالة حول القرص المشبع بالمستخلص، كدليل على عدم نمو الكائنات المجهرية في هذه المنطقة. تم إستعمال Gentamicine و Carvacrol كشواهد موجبة، الماء و DMSO كشواهد سالبة (الجدول –III–).

الجدول -III- : قطر هالة تثبيط مختلف مستخلصات نبات الشيح للكائنات المجهرية المختبرة*.

الكائنات الدقيقة	المستخلص المائي(1g/ml)	المستخلصالع ضوي (0,5g/ml)	الزيت الأساسي (1,12mg/ml)	Gentamicine (30ug/dix)	Corvacrol (1/10)
S .aureus(G^+)	0,50±8,66	0,40±9,33	0.3±8,00	1,53±24,3	ND
E .coli (G^+)	0,50±8,66	0,57±10,3	0.2±8,33	0,00±22,0	ND
P. aeruginosa	لا يوجد تأثير	لا يوجد تأثير	لا يوجد تأثير	0,00±19,0	ND
A. niger	0,33±15,00	0,66±10,66	0.5±11,00	ND	0,00±15
A. flavus	0,50±12,50	0,33±11,66	ND	ND	0,00±18,66
P .italicum	0,60±10,00	0,66±8,33	ND	ND	2,5±17,5
Penicillium sp	0,33±10,33	0,00±11,00	0.00±16,6	ND	1±14
Fusarium sp	0,66±10,66	4,66±14,66	0.1±10,0	ND	0,00±20

ND : لم يدرس. * :قطر هالة التثبيط مقدر ب : مم

P.aeruginosa هي أكثر الأنواع البكتيرية مقاومة لكل المستخلصات،*S.aureus*و *E.coli* لديهما نفس الحساسية فيما يخص المستخلص المائي و *S.aureus* أكثر مقاومة من *E.coli* فيما يخص المستخلص العضوي و الزيت الأساسي.

أبدى المستخلص المائي أكبر تأثير على فطر*A.niger* بقطر 0,33±15,00 مم و المستخلص العضوي على فطر *Fusariumsp* بقطر4,66±14,66 مم. فطر *P.italicum* هو الفطر الأكثر مقاومة للمستخلص المائي و العضوي بهالة تثبيط قدرت ب 0,66±10,00 مم و 0,66±8,33مم على الترتيب. فيما يخص الزيوت الأساسية تم تحديد

قطر هالة التثبيط عند الفطريات *A.niger*، *Penicillium sp*، *Fusarium sp* و لم يتم متابعته عند فطر *A .flavus*و *P .ialicum* .يبدي *Penicillium sp* أكثر حساسية بهالة تثبيط تقدر ب16,6مم

spFusarium بهالة تثبيط10,00±0.1مم و هو أكثر مقاومة.

تم حساب التراكيز الدنيا للتثبيط (CMIs) لمختلف الكائنات الدقيقة المختبرة (الجدول-4-). *P.aeruginsa* لا تبدي أي حساسية لكل المستخلصات النباتية و التركيز الأدنى للتثبيط للشاهد الموجب

Gentamicineكان عاليا مقارنة بالبكتيريا الأخرى المختبرة، تأتي بالدرجة الثانية من حيث المقاومة للمستخلص المائي و العضوي بكتيريا *E.coli* ب CMI مقدر ب 285mg/ml و 142mg/ml على الترتيب و في الدرجة الأخيرة بالنسبة لمقاومة البكتيريا للمستخلص المائي و العضوي*S.aureus* ب CMI يقدر ب 200mg/ml وفي حالة المستخلص المائي و 111mg/ml في حالة المستخلص العضوي.

CMI لكل من بكتيريا *S.aureus* و *E.coli* في حالة الشاهد الموجب Gentamicine متقاربة و هي مقدرة ب 6,3 ug/ml.

الفطريات *A.niger* ، *A.flavus*و *Penicilliumsp* لديها نفس الحساسية للمستخلص المائي ب CMIs تقدر ب 200mg/ml و هم الأكثر حساسية لهذا المستخلص، يأتي في الدرجة الثانية كل من فطر*sp Fusarium* و *P.italicum* بنفس CMI و المقدر ب 285mg/ml.

فطر*spFusaricum* هو الفطر الأكثر حساسية للمستخلص العضوي ب CMI يقدر ب 83mg/ml،

فطر *A.niger* ب CMI يقدر ب 142mg/ml و الفطريات *P.italicum* و *A.flavus* هي الفطريات الأكثر مقاومة للمستخلص العضوي ب CMI يقدر ب 200mg/ml.

الفطر *Penicillium sp* أكثر حساسية للزيت الأساسي ب CMI يقدر ب 0,36 mg/ml و الفطريين *Fusarium sp*و *A.niger* ب CMI مقدر ب 0,45 mg/ml.

الجدول-IV-: التراكيز الدنيا للتثبيط لمختلف مستخلصات نبات Asso *A.herba alba**.

الكائنات الدقيقة	المستخلص المائي	المستخلص العضوي	الزيت الأساسي	Gentamycine	Corvacrol
S.aureus(G^+)	200	111	0,594	6,3	ND
E.coli (G^+)	285	142	0,42	6,3	ND
P.aeruginosa	لا يوجد تأثير	لا يوجد تأثير	لا يوجد تأثير	12,5	ND
A.niger	200	142	0,45	ND	6,50
A.flavus	200	200	ND	ND	3,25
P.italicum	285	200	ND	ND	1,39
Penicillium sp	200	200	0,36	ND	2,44
Fusarium sp	285	83	0,45	ND	1,39

ND: لم يتم تحديدها. *تركيز المستخلصات النباتية والشاهد الموجبCorvacrolمقدر ب(mg/ml) وug/dix بالنسبة لGentamycine.

III.المناقشة :

III–1–الزيوت الأساسية :

التقطير المائي للجزء الهوائي (أغصان، أزهار، أوراق) لنبات الشيح (*A.herba alba* Asso) ينتج زيت سائل أصفر اللون، يتميز برائحته العطرة. مردود الزيت الأساسي لعينة الزيت المدروسة هو (V/W) 0,94%. هذه النسبة متوسطة إذا ما قورنت بعينات زيت أخرى أستعمل فيها نفس جزء النبات. قدر المردود في عينة جلبت من منطقة المسيلة ب (Dob et Benabelkader,2006) 1,02%وفي ثلاث عينات مأخوذة من تونس قدر المردود ب (Neffati etal.,2003)1,8% ، (Akrout et al., 2010)1,0% و (Akrout.,2004)0,65%أما في عينة جمعت من المغرب الأقصى كان المردود (Chebli et al.,2003)0,3%. لوحظ أن المردود في أنواع مختلفة تابعة لجنس *Artemisia* لا يتعدى 1.5% ففي *A.campestris* من تونس كان المردود بين 1,2 و (Neffati et al.,2008 ;Akrout et al.,2010)1,5% و في *A. Judaica* من الجزائر كان المردود 0.7% (Dob et Chelghoum 2006) , وفي دراسة أخرى قام بها Lopes et al (2008)كان المردود محصور بين 0,3و 1,5% على عدة أنواع من جنس *Artemisia* (الجدول–V–).

من الملاحظ أن مردود الزيت يختلف باختلاف النوع، حتى في نفس النوع فيختلف اختلافا كبيرا. هذا الاختلاف يتوقف على الموقع الجغرافي و فصل الجمع (Akrout et al.,2010).

تم تحليل الزيت بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي متبوعة بكروماتوغرافيا الطور الغازي المزوجة بالقياس الطيفي للكتلة فتحصلنا على مركبات كيميائية متنوعة، هذه المركبات تمثل 91,9% من المركبات المتواجدة فيه. تحتل مجموعة Monoterpenes المرتبة الأولى من حيث التواجد حيث

oxygen-containingmonoterpenes بنسبة 79,7% و Monoterpnes hydrocarbones بنسبة 9,6% و تأتي في الدرجة الثانية مجموعة Sesquiterpene حيث Sesquiterpène hydrocarbones1,1%و

Oxygen-containing Sesquiterpènes% 0,4 و المجموعة الأخيرة التي تمثل المركبات غير المتجانسة بنسبة

1,1% .تظهر دراسات في إسبانيا (Salidoet al.,2004 ;Feuerstein etal.,1988)على عينة *A.herba alba*

الجدول–V– : مردود الزيوت الأساسية لبعض النباتات التابعة لجنس *Artemisia* :

النبات	البلد	المردود	المرجع
A. herba alba ASSO	الجزائر	%1,02	Dob et Benab. (2006)
A .herba alba ASSO	المغرب	%0,3	Chebli et al(2003)
A. herba alba	تونس	%1,8	Neffati et al(2008)
A .herba alba	تونس	%1,0	Akrout et al(2010)
A .herba alba	تونس	%0,65	Akrout(2004)
A. Campestris	تونس	%1,5	Neffati et al(2008)
A. Campestris	تونس	%1,2	Akrout et al(2010)
A. Judaica	الجزائر	%0,7	Dob et Chelghoum (2006)
A. frigida, A. Cana	كندا	%1,5	Lopes-lutz et al(2008)
A .Langifolia,A. absinthium	كندا	%0,5	Lopes-lutz et al(2008
A.dracunculus	كندا	%0,4	Lopes-lutz et al(2008)
A .biennis	كندا	%0,3	Lopes-lutz et al(2008)

أن مجموعة (Oxygen-containing monoterpenes , Monoterpenes hydrocarbons)Monoterpnes تحتل المرتبة الأولى، نفس النتائج متحصل عليها من نبات مأخوذ من جنوب فلسطين و سيناء (Feuerstein et al.,1986) وكذلك الأردن (Hudaib et Aburjai,2006). في دراسة كذلك قام بها كل من Lamari etal(1997a ;1997b) وجد أنه في 16 نمط كيميائي (Chemotypes)تابعة لنبات *A .herba alba* على 12 من هذه الأنماط الأولوية كانت لمجموعة Monoterpenes و 4 منها الأولوية فيها لمجموعة Sesquiterpenes. إن سيادة مجموعةMonoterpenes على بقية مكونات الزيوت الأساسية المستخلصة من النباتات التابعة لجنس *Artemisia* تم تأكيدها في عدة أعمال (الجدول- V-).

تركيب زيت *A.herbaalba* المدروس متنوع ويحتوي بالدرجة الأولى و بنسبة كبيرة على cis-Thujone

(% 28,1)، Camphor (22,8 %)،(% 8,2)1,8-Cineole، (% 7,8)trans-Thujone. فهي متواجدة بنسب متفاوتة في زيت *A.herbaalba* المدروس في تونس فمركب Thujone يمثل (30 %)β-Thujoneمن نسبة المركبات و(%25,7)α-Thujone،(% 6,0)1,8-Cineole ،Bornylacetate،%5.7)(Camphor

و(Akroutetal.,2010)(% 2,8)Terpinene-4-ol و في دراسة ثانية ل Akrout(2004) وجد أن تركيب عينة الزيت المدروسة تمتاز باختلاف طفيف حيث فهي غنية ب (43,85 %)α-Thujone ، trans-Acétate de sabinyle (% 17,46)، β-Thujone(%10,1)، (%3,93) AcetatedeChrysanthenyl

و (%3,3)1,8-Cineole. في دراسة قام بها(2008)Giordaniet al على نفس النبات مأخوذ من عنابة (الجزائر) كان تركيب الزيت الأساسي كما يلي:

trans-pinocarveol(%24,75)، β-Thujone(%10,21)، 1,8-Cineole (%31.95)، Camphor(%31,95) و

Camphene(%4,91) . في دراسة ثانية أقيمت في مسيلة (الجزائر) من طرف Dob et Benabelkader(2006)، تركيب الزيت فيها كان مختلفا قليلا حيث Camphor(%19,4) ، trans-pinocarveol(%16,9)، Chrysanthenone(%15,8)، و β-Thujone(%15) فهذا التركيب مقارب لتركيب الزيت المأخوذ من عنابة، لكن وجود اختلاف معتبر مقارنة بعينة الزيت المدروسة ؛ أما في الدراسة التي قام بها Chebli et al(2003) في المغرب الأقصى كان تركيب الزيت متقارب مع كل العينات السابقة لكن هناك اختلاف كبير في نسب تواجد هذه المركبات : Camphor(%46) هذه النسبة كبيرة إذا ما قورنت مع النسبة المتحصل عليها في عينة الزيت المدروس

α-Thujone، (%33,2) وهي نسبة متقاربة مع النسبة الموجودة في عينة الزيت المدروسة كذلك فيما يخص β-Thujone(%9)، Champhene(%8,5)، 1,8-Cineole(%6,4) و هذا التركيب متقارب مع زيتنا فيما يخص التركيب لكن نسب التواجد مختلفة من عينة إلى أخرى.

عينة أخرى قام بدراستها(Neffati et al2008)كان فيها التركيب مختلف تماما و نسب كبيرة من Pinocarvone(%38,3) مقابل 1,5%في العينة المدروسة ، Isoanyl 2-methylbutyrate(%19,5) في حين عدم ملاحظة هذا المركب في عينة الزيت المدروسة، Limonene(%12,0) حيث هذا المركب ظهر في دراستنا كآثار.

من خلال الدراسات المقدمة سابقا التي أقيمت على الزيوت الأساسية لنبات A. herba alba تبين أن التركيب الكيميائي مختلف في حين كل الزيوت تقريبا تحتوي على مركبات Thujone(B-Thujone,α-Thujone) فنسبة هذا المركب تتراوح بين 25,6 و 43,85% بالنسبة ل α–Thujone و ما بين 1,9 و 44% بالنسبة ل β-Thujone لذلك تصنف هذه الزيوت ضمن النمط الكيميائي Thujone(Akrout et al., 2010).إضافة إلى غنا الزيت الأساسي بمركبات أخرى مثل (Camphor%68,2-15:) ،1,8-Cineole(3-50%) ، Davanone (%51,2-18,1)، cis-chrysanthenyl acetate(%69)، Sabinyl acetate(%22,5-17,1) (الجدول–VI–).

تغير تركيب الزيت الأساسي لهذا النبات يرتبط بعدة عوامل منها : فصل الجمع،عمر النبتة،مختلف أجزاء النبتة و مكان الجمع(El-Massry et al.,2002).

يتميزThujone بنشاطات بيولوجية عديدة : نشاطية مضادة للبكتيريا، قاتل للحشرات (Teisceira Da Silva., 2004) ، مجهض1998 (Duke.,).

الجدول–VI–: نسبة تواجد بعض المركبات في نبات Asso *A.herbaalba*.

المركب	نسبة التواجد	المرجع
Cis-Thujone	%43,85-25,6	Boutekedjiret et al.,1992 ;Fleisher et al.,2002 ; Akrout.,2004.
Camphore	%68,2-15	Vernin et al.,1995 ; Feuerstein et al.,1988 ; Bendjilali et al.,1980 ; Fleisher et al.,2002
1,8-Cineole	%50-3	Salido et al., 2004 ; Feuerstein et al., 1986
trans-Thujone	%44-1,9	Fleisher et al. ,2002
Davanone	%51,2-18,1	Salido et al., 2001 ; Salido et al.,2004 ;Haouari et al.,2009
Cis-chrysanthenyl acetate	%69	Fleisher et al.,2002
Sabinyl acetate	%22,5-17,1	Haouari et al.,2009 ; Akrout.,2004

III-2-عديدات الفينول والفلافونويدات الكلية :

تحدد الفينولات الكلية باستعمال عدة طرق مثل Prussian blue (Graham,1999) إلا أن طريقة

Folin–Ciocalteu الأكثر استعمالا. تفاعل كاشف Folin–Ciocalteu غير نوعي بالمركبات الفينولية أي أن هناك مركبات أخرى قادرة على إرجاع هذا الكاشف مثل Vitamin C,(II)Cu: ... . رغم أن التفاعل الدقيق لهذا الكاشف مع الأنواع المرجعة غير معروف. باعتبار أن المعقد

Folin–Ciocalteu– أنواع مرجعة يتكون بين المركب Phospho molybdic tungistate من كاشف

Folin–Ciocalteu والأنواع المرجعة كأيونات حمض الفينول . يتغير لون الكاشف من الأصفر إلى الأزرق في وجود عديدات الفينول ليتم قياس الكثافة الضوئية في طول موجة (Huang et al ., 2005)m n 765 .

الفينولات الكلية في المستخلص المائي اكبر منها في المستخلص العضوي حيث تحصلنا على النتائج

1.35 mg CAE/g dwو0.32 mg RE/g dw على التوالي. من خلال النتائج يتبين أن طريقة الإستخلاص تؤثر في مردود الفينولات الكلية. فالمستخلص المائي يضم أكبر كمية من عديدات الفينول مقارنة بالمستخلص الأسيتوني وهذا يعود إلى ذوبانية المركبات في المذيبات .

بالمقارنة مع دراسة قام بها (Gharzouli et al (1999 باستعمال طريقة Prussian blue وجدوا أن تركيز الفينولات الكلية للمستخلص المائي لنبات *A-herba alba*الذي تم شراءه من عند العشاب

0.15 mg TAE/mlوهي نسبة متقاربة مع النتائج التي تحصلنا عليها في المستخلصات.

في دراسة أخرى قام بها (Djeridane et al (2006على نفس النبات تم الحصول عليه في جوان 2002 من منطقة الأغواط و تم استخلاصه باستعمال خليط من الماء و الإيثانول (70%) قدر تركيز الفينولات الكلية ب± 13.06 mg GAE/g dwتعد هذهالنسبة عالية نسبيا إذا مقارنة بالنتائج التي تحصلنا عليها. أما عند إستخلاصه بالماء والايثانول (80%) (Djeridane et al., 2007)قدر تركيز الفينولات الكلية ب

35.8 mg GAE/g dwهذه النتيجة أعلى من النتائج السابقة. إذا ما تم مقارنة النتائج التي تحصل عليها Djeridane في الحالتين نلاحظ أن نفس النبات ولكن نتائج مختلفة ربما يرجع ذلك إلى مكان الجمع بالضبط

والظروف المناخية لتلك السنة . بينما النتائج التي تحصلنا عليها والتي تحصل عليها Djeridaneفتبدوا ضئيلة جدا حوالي 10 مرات أقل من الكمية التي تم تقديرها في هذا البحث ، يمكن إرجاع هذا الإختلاف إلى طريقة التقدير وكذلك المرجع وربما موقع جمع النبات. من خلال هذه النتائج يمكن استنتاج أن طريقة التقدير، المرجع المستعمل ، موقع الجمع و فصل الجمع كلها عوامل تحدد نسبة المركبات الفينولية وبالتالي المستقلبات الثانوية في النبات.

تحدد الفلافونويدات بطريقة كلوريد الألمنيوم وهي من أكثر الطرق إنتشارا. تعتمد هذه الطريقة على تشكل معقد فلافونويد– أيون ألمنيوم وهذا الذي يملك امتصاصية عظمى في 415 nm . أستعمل الكرستين كمرجع. فكانت نتائج تراكيز الفلافونويدات 0.531 mg QE/g dw و 0.54 mg QE/g dw للمستخلص المائي والمستخلص العضوي بالترتيب.

في الدراسة التي قام بهاDjeridane et al(2006)وجد أن تركيز الفلافونويدات الكلية

11.31± 0.51 mg RE/gdw, و الدراسة الثانية التي أجراها في 2007 وجد أن تركيز الفلافونويدات الكلية 6 mg RE/gdw.

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ أن هناك علاقة طردية بين تركيز الفينولات والفلافونويدات إذ كانت تمثل في العينة المأخوذة في سنة 2002 11.31± 0.51 mg RE/gdw / 13.06 ± mg GAE/g dwأما في سنة 2007 فأصبحت 6 mg RE/gdw /35.8 mg GAE/g dw(Djeridane et al.,2006; 2007)بينما في دراستنا فنسبة هذه المركبات قدرت ب 0.531 mg QE/g dw /1.35 mg CAE/g dwو

0.54 mg QE/g dw / 0.32 mg RE/g dwللمستخلص المائي والعضوي على التوالي.

III–3–النشاطية المزيحة للجذور الحرة :

النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات الشيح تقدر باستعمال جذر

DPPH.2.2 diphenyl -1- picrylhydrazyl (DPPH) جذر حر عضوي جد ثابت مع لونه البنفسجي الغامق الذي يعطي امتصاصية عظمى في المجال الموجي(Mosquera et al., 2007)512-520nm عندما يتلقى DPPH بروتون من أي معطي هيدروجيني (عادة تكون الفينولات) فإن هذا الجذر يفقد Chromophoreويصبح لونه اصفر حسب المعادلة التالية :

$$(DPPH^{\circ}) + (A - H) \longrightarrow DPPH - H + (A^{\circ})$$

بنفسجي معطي هيدروجيني اصفر

كلما زاد تركيز المركبات الفينولية تنقص نشاطية جذر ,DPPH فيتحول اللون من البنفسجي إلى الأصفر وهكذا يتم تحديد النشاطية المضادة للأكسدة التي هي نسبة تحول اللون البنفسجي إلى الأصفر – Sanchez) (Moreno et al ., 1999 هذا النظام الجذري جد حساس لوجود معطي هيدروجيني ;Iqbal et al., 2006) .Zhou et yu., 2004)

النشاطية المضادة للأكسدة للزيت كانت جد ضئيلة مقارنة بالمستخلصات الأخرى و الشواهد الموجبة.

في دراسة قام بها Akroutetal(2010) وجد أن نشاطية الزيت الأساسي ضعيفة مقارنة بالزيت الأساسي ل *Thymuscapitatus*، النشاطية التي تحصل عليها في زيت *A.herba alba* من نمط Thujone (α + B) كانت أعلى بمرتين تقريبا من تلك التي تحصل عليها في زيت *A.campestris*.

في الدراسة التي قام بها Mighri et al (2009) على أربع أنماط من *A.herba alba* تم دراسة النشاطية المضادة للأكسدة بعدة طرق : جذر DPPH ، جذر $ABTS^{+}$ و حمض اللينوليك، لاحظوا أن كل أنماط الزيوت المستعملة تبدي نشاطية أقل من الشواهد الموجبة بشكل واضح، و أن النشاطية تختلف باختلاف طريقة الدراسة، أي أن نشاطية الزيوت الأساسية لنبات *A.herba alba* ضعيفة.

Lopez et al(2008) أكدوا في دراسة على بعض أنواع *Artemisia* أن النشاطية المضادة للأكسدة لهذه النباتات ضعيفة.

Singh et al (2008)في دراسة على الزيت الأساسي لنبات *A.soparia* قدر IC_{50} ب 143ug/ml نشاطية عالية إذا ما قورناها بنشاطية زيوت *A.herba alba*.

الخاصية المضادة للأكسدة المتحصل عليها لدى الزيت الأساسي ترجع إلى تركيب الزيت نفسه(الجدول-1-)

فالمركبات الفينولية مثل : Thymol، Corvacrol و الزيوت الغنية بهذه المركبات تبدي نشاطية مضادة للأكسدة قوية (Alma et al.,2003 ; Mighel et al., 2003).

كمية المركبات الفينولية في عينة الزيت ضئيلة جدا من ناحية Corvacrol و خال تماما من Thymol، الزيت الأساسي هنا فقير من ناحية المركبات الفينولية.هذا ما يفسر النشاطية المضادة للأكسدة الضعيفة للزيوت الأساسية لنبات *Artemisia*.

نشاطية المستخلص المائي كانت أكبر من نشاطية المستخلص العضوي حيث IC_{50} للمستخلص المائي

236,6 ug/ml و المستخلص العضوي 331 ug/ml.

في دراسة على مجموعة من النباتات الطبية الجزائرية من بينها *A.herba alba*، قدرت النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص المائي بطريقة °ABTS فكانت 11,6 mmol TEAC/gdw و

0,276mmolTEAC/gdwالذي تم جمعه في سنة 2002 و 2007 على التوالي

(Djeridane et al., 2006; 2007). من هذه النتائج يمكن ربط هذه النشاطية بمحتوى النبتة من الفلافونويدات في حين يمكن اعتبار وجود علاقة عكسية بين محتوى النبتة من الفينولات الكلية والنشاط المضاد للأكسدة وعليه كل المركبات الفينولية لم تشارك في عملية إرجاع Trolox المستعملة كمرجع في هذه البحوث .

في النتائج المحصل عليها تركيز الفلافونويدات متساوية تقريبا، لكن المستخلص المائي الذي يحتوي على تركيز أعلى من الفينولات الكلية كانت نشاطيته أعلى من المستخلص الثاني الذي يحتوي على تركيز أقل من الفلافونويدات الكلية لذلك يمكن استنتاج أنه إلى جانب الفلافونويدات توجد مركبات فينولية أخرى قادرة على إرجاع جذر

DPPHولكن بنسبة أقل من تلك التي تملكها الفلافونويدات وهذا ما تؤكده نتائج Djeridane حيث نشاطية وجد نشاطية عالية في المستخلص الذي يملك أكثر تركيز من الفلافونويدات .

III-4-النشاطية المضادة للميكروبات :

التركيز الأدنى للتثبيط هو أضعف تركيز للمضاد الميكروبي يثبط كل نمو مرئي بعد فترة الحضن المقدرة بين 18 و 24ساعة .يسمحCMI بالتعرف على حساسية أو مقاومة السلالات الميكروبية ضد المركبات المضادة حيث كلما كان التركيز صغيرا كانت الحساسية كبيرة أو مقاومة الميكروب ضعيفة والعكس صحيح .يحددCMI بالعين المجردة حيث لا يلاحظ هناك هالة حول القرص المشبع بالمركبات المضادة للميكروبات(Kablan et al.,2008).

تملك الزيوت الأساسية خاصية عدم الذوبان في الماء لذلك يتم استعمال محاليل تشكل مستحلبات ك DMOS و ذلك لضمان اتصال الميكروبات و العوامل المضادة لها(Hili et al.,1997).

كل مستخلصات نبات *A.herba alba* أظهرت نشاطية ضد ميكروبية فيما عدا *P.aeruginosa* التي لم تظهر أية حساسية لهذه المستخلصات. الزيت الأساسي يبدي نشاطية جيدة مقارنة بالمستخلصات النباتية الأخرى، حيث بكتيريا *E.coli*(G^-)أكثر حساسية للزيت الأساسي من *S.aureus*(G^+) ب CMI مقدران ب 0,45mg/mlو 0,594mg/mlعلى التوالي.

في دراسة قام بها Mighri et al(2009)على أربع أنماط من*A.heba alba* هم :(β- Thujone)،

(α-Thujone)،(α)+β-Thujone و (1,8-Cineol/Camphor/Thujone α+β).النتائج جاءت لتأكد نتائج المتحصل عليها،فيما يخص *S.aureus* كانت أكثر مقاومة من بكتيريا *E. coli*حيث وجد CMI_Sمختلفة باختلاف نمط الزيت الأساسي. هذه النتيجة تؤكد النتيجة التي توصلنا إليها حيث الزيت الأساسي لنبات الشيح أكثر تأثير على غرام+ منها على غرام – فيما عدى بكتيريا *P.aeruginosa*التي تبدي مقاومة عالية لكل المستخلصات النباتية.من بين كل أنماط الزيت التي اختبرها Mighri و عينة الزيت المختبرة التي كانت من نمط (cis-Thujone/Camphor) نلاحظ أن الزيت من نمط(1,8-Cineole/Camphor/Thujone α+β) يملك نشاطية ضد ميكروبية أكبر من الأنماط الأخرى.

في دراسة Mighri et al (2009) لقطر هالة التثبيط وجد أن الزيت الخام يحدث هالة بقطر 17,7±0,6مم بالنسبة للنمط I، 13,3 ±1,2مم بالنسبة للنمط II، 22,3±1,2 مم بالنسبة للنمط IIIو 13,7±1,2 مم بالنسبة للنمط IVفيما يخص ببكتيرياS.aureusو 11,7±1,5 مم(النمطI)،12,0±0,0 مم(النمطII)،12,7±1,5 مم(النمطIII) و 20,3±1,0 مم(النمطVI) و هذا بالنسبة ل *E.coli*. في دراسة ل Akrout et al (2010) كان قطر هالة التثبيط لدى بكتيريا *S.aureus*30مم و 12مم لدى بكتيريا *E.coli*،حيث أستعمل الزيت الخام الذي كان نمطه α+β-Thujone. كل هذه النتائج تقارب النتيجة التي تحصلنا عليها.

اعتمادا على نمط الزيت و العناصر المكونة له كان التأثير على *S.aureus*(G^+) أكثر من *E.coli* في حالة α-Thujone،β-Thujone، (α+B)-Thujone و العكس في حالة

(1,8-Cineole/Camphor/α+β-Thujone) و (α-Thujone/Camphor).

فيما يخص الفطريات*Penicillium.sp* أكثر حساسية من الفطريات المختبرة ب CMI مقدر ب0,45mg/ml. في دراسة لأنواع مختلفة من نبات *Artemisia* ومن مناطق مختلفة كذلك

(Lopes-lutz et al.,2008 ; Kordali et al ., 2005 ; Curini et al .,2006) تؤكد أن لأنواع *Artemisia* نشاطات ضد ميكروبية متفاوتة وحسب المركبات المكونة للزيت الأساسي .

من خلال ملاحظة النتائج نجد أن الفطريات أكثر مقاومة للزيت الأساسي من البكتيريا .

مجموعة oxygenated monoterpenes مثل:1,8-Cineole، Camphor، Terpinen-4-ol ، Linalool ، Alpha- terpinol و Borneol ، تكون حاضرة في كل الزيوت التي تملك نشاطية ضد ميكروبية (Pattnaik et al.,1997 ; Carson and Riky ,1995) Thujones تملك نشاطية ضد بكتيرية

(Duke, 1998).

من ناحية أخرى من الصعب نسب النشاطية إلى مركب واحد، أو إلى المركبات الأساسية فالزيت الأساسي عبارة عن خليط من المركبات، مهما كانت نسبة تواجدها فكلها تساهم في النشاطية ضد ميكروبية.

حيث تملك هذه الأخيرة نشاطية ضد ميكروبية عالية مقارنة بالمجموعات الأخرى

(Pattnaik et al.,1997 ;Carson and Riley.,1995)

المستخلص العضوي أكثر تأثير من المستخلص المائي، بكتيريا (G^+)*E.coli* أكثر حساسية من (G^- *S.aureus*). فطر *Fusarium* من أكثر الفطريات مقاومة من بين كل الفطريات المختبرة.

أظهر هذا البحث ولأول مرة أن المستخلصات العضوية والمائية وكذلك الزيوت الأساسية تملك قدرة مضادة للعديد من البكتيريا سالبة وموجبة الغرام ماعدا *P.aeruginosa* كما تبين النتائج أن لهذه المستخلصات تأثيرات معتبرة على مختلف الفطريات (الأعفان) ، ففطر *A.flavus* هو من الأعفان المفرزة لسم الأفلاتوكسين المسرطن وكذا فطر *A. niger* المعروف بإصابة المحاصيل الزراعية ويعتبر من أهم الأعفان التي تصيب مواد التخزين أما فطريات *Penicillium* و*Fusarium* فهي فطريات تخزين وطفيليات حقلية معروفة حيث تؤدي إلى خسائر كبيرة في المحاصيل الزراعية والفواكه.

الخاتمة:

كانت النباتات الطبية ولازالت محط اهتمام العلماء بغية اكتشاف مواد طبيعية فعالة تستعمل في الطب والصيدلة والتجميل، حيث أكثر من نصف سكان الكرة الأرضية يستعملون هذه الأدوية وأكثر مواد التجميل رواجا مصنوعة من المواد الطبيعية.

المحتوى الفينولي والفلافونويدي للمستخلص المائي كبير مقارنة بالمستخلص العضوي ، أما المحتوى الفلافونويدي فكان بكميات متقاربة في المستخلصين، في حين مردود الزيت الأساسي 0.94 ويضم 50 مركبا كيميائيا مختلفا .

بناءا على النتائج المتحصل عليها يمكن اعتبار نبات الشيح كمصدر فقير للمركبات المزيحة للجذور الحرة، في حين وجدنا نشاطية الزيت الأساسي ضد الميكروبية كبيرة جدا إذا ما قورنت بالمستخلصات الأخرى التي كانت نشاطيتها مقبولة.

نأمل في المستقبل أن يتم التدقيق أكثر في اختبار النشاطية باستعمال طرق تقديرية أخرى وتوسيع طيف الميكروبات وتحليل نوعي للمستخلصات والبحث عن المركبات النشطة، بالإضافة إلى دراسة تأثيرات أخرى لهذا النبات في الزجاج والحي .

المراجع :

*Abou El-Hamd H. M., El-Sayed M. A. , El-Hegazy M., Helaly S. E., Esmail A. M. and Mohamed E. N.(2010). Chemical composition and biological activities of *Artemisia herba alba .Rec. Nat. Pord.***4**(1):1-25.

*AkiyamaT., Ishida J. , Nakagawa S., OgawaraH., Watanabe S. , Itoh N. , Shibuya M. , and Fukami Y .(1987) Genistein , a specific inhibitor of tyrosine-specific protein Kinases .*J.Biol.chem.,***262**(12):5592-5595.

***Akrout, A.(** 2004). The study of chemical compositions of essential oils of three pastoral plants from Matmata (south Tunisia) (in French).Cah. Options Méditerr.,**62**:289-292.

* **Akrout A ., Eljami H., Amouri S ., Neffati M .,** (2010) Screening of Antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L ., *Artemisia herba alba Asso* and *Thymus capitatus* Hoff .et link Wild in the Southern of Tunisia .Recent Research in Science and Technology **2** (1):29 – 39 .

***Al-Khazraji S. M. Al-Shamaony , L. A. and Twaij H. A. A.** (1993). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. I. effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity.*J. of Ethnopharma.,* **40:**163-166.

***AlmaM.H.,MaviA., Yildim A.,Digrak M., Hirata T.(**2003**)**.ScreeningChemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Organum Syriacum L.*Growing in Turkey.*Biochem.Pharm.Bull*,**26**:1725-1729.

Almasad M. M. Sh., Qazan W. and Daradka H.** (2007). Reproductive toxic effects of *Artemisia herba-alba* ingestion in female Spague-dawley rats. *Pak. J. of Bio.Sci..10** (18):3158-3161.

***Al-waili N. S.**,(1986). Treatment of diabetes mellitus by *Artemisia herba-alba* extract: preliminary study.

Clinic.and Experim. Pharmacol.and Physiol., **13**: 569-573.

*** Al-Yahya M. A., Tariq M. , Al-Meshal I. A. , Mossa S. J. and Al-Badr A. A.** (1986). Artemisia herba-alba, Saudi plants: A phytochemical and biological Approach. College of pharmacy, King Saud University, Riyadh, pp. 44-49.

***Andriantsitohaina R.** (1999). Regulation of vascular tone by plant polyphenols: role of nitric oxide.

GenPhysiol Biophys **18** (1): 3-5.

Atawodi S. E.**(2005). Antioxidant potential of African plants.*African J. of Biotec.4** :(2):128-133.

* **Baumann J ., Von B – F ., and Wurm G.** (1980)Flavonoidsand related compounds as inhibition of arachidonic acid perxidation .*Prostaglandins,* **20** (4): 627 -639 .

***Belhattab R. , Larous L., Kalantzakis G., Boskou D. and Exarchou V.** (2004) Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. Extracts.*J. food Agriculture and Environment* **2**(1):69-73.

* **Belhattab R ., Larous L ., Figueiredo A .C ., Santos P.A.G., Barroso J.G. and Pedro L .G.,** (2005) .*Origanum glandulosum* Desf . grown Wild in Algeria :essential oil composition and glycosidic bound Volatiles .*Flavour Fragr .J* .**20** : 209-212 .**Benjilali B. and Richard H.** (1980). Etude de quelques peuplements d'armoise blanche du Maroc Artemisia herba-alba. *Rivista. Ital. EPPOS,* **62** : 69-74 .

*** Bézanger-Beauquesne L . Pinkas M. , Trotin F.** (1980) **.** Plantes médicinales des regions tempérées . Ed. Maloine S.A Paris. pp378-382 .

Boutekedjiret S. Charchari R. Bélabbès J. and Bessière M.**, (1992). Contribution à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba Asso. *Riv. Ital.EPPOS,3**: 39-42 .

*** Bruneton J** (1993) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2ème Ed. Paris. pp197-385.

*** Bruneton J.**(1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème Ed Paris.1120p.

***Buchbauer G. and Jirovetz L.** (1994). Aromatherapy-use of fragrances and essential oils as medicaments.*Flav. Fragr. J.* **9**/217-222.

***Burton G. W., Traber M. G. Acuff R.V. et al.** (1998). Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrationsin response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr*.**67**:669-684.

* **Caratini R.** (1971). Bordas encyclopedie.*Bodas ed* , Belgique.,**23**, pp137-195.

***Carlton R.R., Waterman P.G., Gray A.I., Deans S.G**.(1992). The antifungal activity of the leaf gland volatile oil of sweet gale (*Myrica gale*) (*Myricaceae*). Chemoecology **3**:55 – 59.

Carson C.F. et Riley T.V.** (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Mlaleuca alternifolia* . *j. Appl. Bacteriol.78**:264-269.

***Chebli B., Achouri M.,, Idrissi Hassani M. and Hmamouchi M.**(2003).

Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens .*Phytopathol.Mediterr.***42**:251–256.

***Cobbold C.A., Sheratt J.A. and Maxwell S. R. J.** (2002). Lippoprotein oxidation and its significance for atherosclerosis: Amathematical approach. *Bulletin of Mathematical Biology*. **64**:65-95.

*** Cos P., Ying L. , Calomme M. , Hu J.P. , Cimanga K., Van Poel B., Pieters L., Vlietinck A.J. and Vanden Berghe D.** (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers .*J .Nat. Prod.* **61**(1):71-76.

Cruz T., Gálvez J., Ocete M.A.**(1998). Oral administration of rutoside can ameliorate inflammatory bowel disease in rats. *LifeSci.62** (7): 687-95.

Curini, M. Epifano, F. Genovese, S. Tammaro, 1F. and Menghini, L.** *(2006).*COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Artemisia dracunculus*"PIEMONTESE" FROM ITALY. *Chemistry of Natural Compounds,* **42:* 6.

***Dellille lucienne .(2007) .**Plantes médicinales d'Algerie. BERTT Ed. Alger. pp34-35.

* **Dell'AGLI .and Bosisio ,E ,(**2002**).** Bioflavones of *Ginkgo biloba* stimulate lipolysis in3T 3 – L1 adipocytes *Planta Medica*, **68**:76 – 79.

***Di Carlo G, Mascolo N, lzzo AA, et Capasso , F.** (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci. **65** (4): 337-53.

* **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stcker P .and Vidal N. (**2006) .Antioxidant activity of some. Algerian medicinal plants axtracts containing phenolic compounds .Food chem. **97**:654-660 .

* **Djeridane A ., Yousfi M ., Najemi B ., Vidal N ., Lesgards JF ., and Stocker P .** (2007) Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compouds and their antioxidant activity . *Eur.Food Res. Techenol.***224**: 801-809.

***Dob T. and Benabdelkader T**. (2006). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia herba-alba* Asso Grown in Algeria.*J. Essent. Oil. Res*. **18**: 685-690.

***Dob T. and Chelghoum C.**(2006). Chemical composition of the essential oil of Artemisia judaica L. from Algeria.**21**(2):343-347 .

***Duarte J., Jimenez R., O'Valle F., et al**. (2002). Protective effects of the flavonoid quercetin in chronic nitric oxide deficient rats. *J Hypertens* **20** (9): 1843-54.

***Duke J.A.** (1998).Phytochemical Database .USDA-ARS-NGRL(ed),Beltville Agricultural Research Centre, Belstville.Maryland.

Effendi L., Yajun Y. et al.**(2008). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Eschrichia coli .Metabolic Engineering.8**: 172-181.

*** El-Massry K. F., El-Ghorab A. H. and Farouk A.** (2002). Antioxidant activity and volatile components of Egyptian Artemisia judaica L. *Food Chemistry***79**:331–336.

***EscuderoA., Albert M. J., Pita J. M. and Pérez-Garcia F.** (2000). Inhibitory effects of *Artemisia herba-alba* on the germination of the gypsophyte *Helianthemum squamatum*. *Plant Ecology*.**148**: 71-80.

***Favier A.**(2003).Le stress oxidant . Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.*108-115.

*** Feuerstein L., Müller D., Hobert K., Danin A. and Segal R.** (1986). The constitution of the essential oils from Artemisia herba-alba populations of Israel and Sinai.*Phytochemistry*, **25**: 2343-2347.

Feuerstein I., Danin A, and Segal R.** (1988). Constitution of the essential oil from an *Artemisia herba-alba* population of Spain. *Phytochemistry, **27:433-434 .

* **Ferriola P. C., Cody V . and Middleton , E . Jr** .(1989) .ProteinKinase C inhibition b plant flavonoids . K inetic mechanisms and structur –activity relationships Biochemical Pharmacology **38** (10): 1617 -1624 ***Fleisher Z., Fleisher A. and Nachbar R.B.** (2002). Chemovariation of Artemisia herba-alba Asso.aromatic plants of the Holy Land and the Sinai. Part XVI. *J. Essent. Oil Res*. **14**:156-160.

***Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V.**(2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence medhod.*AAPS Pharm Sci.* **5**(2):5p.

***Gershenzon J. et Croteau R.** (1991). Terpenoids. In : G.A. Rosenthal, M. R. Berenbaum(eds.), Herbivores: Their Internations with Secondary Metabolites. Vol. 1.The Chemical Participants. 2end ed. San Diego: Academic Press, pp 165-219.

*** Gharzouli K., Khennouf S., Smain A. and Gharzouli A.** (1999). Effects of Aqueous Extracts from *Quercus ilex L*. Root Bark, *Punica granatum* L. Fruit Peel and *Artemisia herba-alba Asso* Leaves on Ethanol-induced Gastric Damage in Rats.*Phytother. Res*. **13**: 42–45.

***Giordani R. , Hadef Y. , Kaloustian J.** (2008) Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants Short report. *Fitoterapia* **79** : 199–203.

GrahamH. D.** (1992).Stabilisation of the Prussian blue colourin the determination of polyphenols.*J. Agric. FoodChem. 40**:801-805.

***Halliwell B**. (1995) Antioxidant characterization. Methodology and mechanism.*Biochem. Pharmacol*

49 :1341–1348.

***Halliwell B. and Gutteridge JMC**.(2007).Free radicals in biology and medicine. 4th edition. Oxford: Oxford **Lahmann** University Press.

***Hammond B., Hess M.L.**(1985). The oxygen free radical system: Potential mediator of myocardial injury.*J.Am Col Cardiol* **6**:215-220.

*__Hanna. P. M. et Mason R. P.__ (1992). Direct evidence for inhibition of free radical formation from Cu(I) and hydrogen peroxide by glutathione and other potential ligands using the EPR spin-trapping technique. *Arch Biochem Biophys.***295**:205-213.

***Haouari, M., Ferchichi, A**. (2009). Essential Oil Composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia. *Molecules*, **14** : 585-1594.

*__Harborne , J .B . and Williams ,C . A .__(2000)Advances in flavonoid research since 1992 **(** Review article **)** . *Phytochemistry*.**55** (6): 481- 504 .

*** Hennebelle T., Sahpaz S. and Bailleul F.**(2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie***1**: 3-6.

Herbette S., Roeckel-Drevet P. and Drevet J. R.** (2007). Seleno-indespendent glutathione peroxidases.More than simple antioxidant scavengers.*FEBS J.274**: 2163-2180.

*__Hilli P ., Evans C S . and Venes R . C.__ (1997) Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethyl sulphoxide in the activity of cinnamon oil lett .Appl .Microbiol. **24**: 269-275.

***Hirasa, K.and Takemasa, M**. (1998). Spice science and technology. New York: Marcel Dekker.

***Hopkins W.G.**(2003). Physiologie végétale. Ed De Boeck Université. pp267-280.

***HuangD.,OuB. and PriorR.L.**(2005) The chemistry behind antioxidant capacity assays .*journal of Agricultural and Food chimistry* ,**53**:1841-1856.

*** Hudaib M. and Aburjai T.** (2006). Composition of the Essential Oil from Artemisia herba-alba Grown in Jordan. *J. Essent. Oil. Res*. **18**: 301-304.

Huk I., Brovkovych V. et Nanobash V.J.** (1998). Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study. *Br J Surg85**: 1080-5.

***Iqbal,S,Bhanger,M.I.Akhtar,M.,Anwar,F.,AHMED,K.R.,and Amwar,T.** (2006) Antioxidant properties of methanolic extractsfrom leaves of *Rhazya Stricta.Journal of Medecinal Food*,**9**(2): 270-275.

*__Joanny Menvielle –Bourg F .__(2005) .la superoxyde dismutase ,puissant antioxydant natural , disponible par voie orale .Phytothérapie **3** :118-121 .

* **Kablan , B . J ., Adiko , M ., Abrogoua , D .P .** (2008) Evaluation invitro de l'activité antimicrobienne de *Klanchoe cremata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmées en Cote d'Ivoire . *Phytothérapie***6** : 282 – 288 .

*__Kordali S ., Cakir A ., Mavi A ., Kilic H ., and Yildirim A__ (2005) .Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species .*J . Agric .Food chem*.**53**: 1408 -1416.

Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and Vladimir-Knez EICS.**(2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia.*Acta Pharm.54**:65-72.

* **Kotani M , Matsumoto M , Fujita A** (2000) Persimmon leaf extract and astragalim inlibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice . *Jaller Clim Immunol***106(** 1): 159-166 .

*** Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonamone A, et al.** (2002) Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 113: 71S-88S.

Krippeit-Drews P., Lang F., Haussinger D. et Drews G.** (1994). H_2O_2 induced hyperpolarization of pancreatic B-cells .*Pflugers Arch426**:552-554.

* **Kulsic , T ., Radomic , A . Katalinic , V. and Milos M.** (2004) .Use of different methods for testing antioxidant activity of *Oregano* essential oil . *Food. chem*. **85**:633-640 .

***Lamiri A., Belanger A., Berrada M., Ismaïli-Alaoui M.M. et Benjilali B**.(1997a). Origin of chemical

polymorphism of Moroccan Artemisia herba-alba Asso (in French). *Rabat, Morocco, 81-92.*

***Lamiri A., Belanger A., Berrada M., Zrira S., Benjilali B.**(1997b). Chemical polymorphism of *Artemisia herba-alba Asso* from Morocco (in French).*Rabat, Morocco*, 69-79.

* **Landolfi R ., Mower R . L. and Stener M . (**1984) Modification of platelet function and arachidomic acid metabolism by bioflavonoids .Structure .activity relations .*biochemical Pharmacology* . **33** (9):1525 -1530.

***Lopes-Lutz D., Alviano D., Alviono C. S. and Kolodziejczyk P.P.** (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils.*Phytochemistry* **69**:1732-1738.

***Martin MJ, Marhuenda E, Perez-Guerrero C, et al.** (1994)Antiulcereffect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats**.** *Pharmacology* **49** (3): 144-50

***Merken, H. M., Beecher, G. R.** (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review.*J. of Agricultural and Food Chemistry*.**48**:577-599.

Meydani M.** (2004). Vitamin E modulation of cardiovascular diseases.*Annual New York Academy of science.1031**: 271-279.

***Mighel M.G.,Figneredo A .C., Costa M. M .,Martins D ., Duarte J ., Barroso J . G .and Pedro L .G . (**2003). Effect of the volalite constituents isolated from *thymus albicans th .mastichina ,th .carnosus* and *thymus capitata* . *Nahrung* / *Food*, **47**:397 -402.

*** Mighri H., Hajlaoui H., Akrout A. Najjaa H. and Neffati M.** (2009).Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone.*C. R. Chimie* .Article in press.

***Mosquera O. M., Correa Y. M., Buitrago D. C. and Niö J.** (2007). Antioxidant activity

of twenty five plants from Colombian biodiversity. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, **102**:631–634.

Neffati A., Skandrani I., Neffati M., Chraief I. and Chekir-Ghedira L.** (2008). Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba alba*. *J. Essent. Oil. Res20**:471-477.

Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, et al.** (2001) Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nut74** (4): 418-25.

Pattnaik S., Subramanyam V.R., Bapaji M., and Kole C.R.**(1997). Antibactirial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils.*Microbios. 89**:39-46.

***Porter N .** (2001)Essential oils and their production .*crop and Food Research* .Number39.

Qian D. and Weiss A. (**1997).Tall antigen receptor signal transduction **.Curr .opin . cell* biol**9** (2):205 -212 .

***Rai M . K ., Acharya Det. Wadegaonkax P .** (2003)Plantderived –antimycotics : Potential of Asteraceaes plants , In Plant- derived antimycotics **:** current Trends and Future prospects , Haworth press , N –York , London , **Oxford** :165-185 .

Rahman A., Nourooz J., Moller W. et al.** (1999). Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS Lett.448**:120-122.

*** Salido S., Altarejos J., Nogueras M. and Shanchez, A**.(2001). Chemical composition of essential oil of Artemisia herba alba Ass. Ssp. Valentine (Lam.) Marc. *J. Essent. Oil. Res.* **13**: 221-224.

Salido, S., Valenzuela, L.R, Altarejos, J., Nogueras, M., Sanchez, A., Cano, E.** 2004. Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain.*Biochem.Syst. Ecol.32**: 265-277.

***Sallal A-K. J., and Alkofahi A.** (1996). Inhibition of the hemolytic activities of snake and scorpion venoms in vitro with plant extracts. *Biomedical Lett*.**53**(212):211-215.

***Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., & Saura-Calixto F.** (1999). Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food ResearchInternational*, **32**,407–412.

***Sebastian J. Padayatty M.R.C., Phd P., Arie-Katz M.D. Yahui W. et al.** (2003). Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *Am. Coll. Of Nutr*.**22**:18-35.

* **Sekiya K .and Okuda H.** (1982) .Selective inhibition of platelet lipoxygenase loybaicalein. *Biochem .Biophys .Res .Commun***105** (3): 1090 -1095.

* **Shin C.M. and Liang Y.C. (2004)** Concentration – dependent differential effects of quercetin on rat aortic smooth muscle cells .*Eur J .Pharmacol***496** (1 – 3) : 41-8 .

***Singh H. P., Mittal S., Kaur S., Batish D. R. and Kohli R. K**. (2008). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from residues of *Artemisia scoparia.Food Chemistry*.Article in press.

***Singleton, V.L., Orthofer, R .and Lamuela-Raventos , R.M.** (1999).Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin-Ciocalteu reagent . In: Jones, L.(ed). Methods in enzymology. San Diego ,CA:Acadimic Press.**99**:152-178.

***Sokmen A ., Glluce M., Akpulat H.A., Daferera D., Tepe B. , Polisiou M. ,** (2004) The in vitro antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius* . *Food control.**15**:627*-634.

Stocker R. and Keaney J.F.Jr.** (2004). Role of oxidative modification in atherosclerosis.*Physiological Reviews.84**:1381-1478.

***Svoboda K. P. et Hampson J .B. (**1998**)** Bioactivity of essential oils selected temperate aromatic plants: antib acterial , antioxidant , anti inflamatory and other related pharmaxological activities . Plant Biology Departement , SAC Auchincrnive ,Ayr , Scotland , UK , KA 65 HW .

* **Tariq K .A., Chishti M . Z ., Ahmad F . and Shawl A . S .**(2008) . Anthelmintie activity of extracts of *Artemisia absinthium* against avine nematodes .*Veterinamary Parasiology* xxx : xxx –xxx .

***Teixeira da silva J.A.**(2004) .Mining the essentiel oils of the anthemedeae. *Africain J. of Biotechnology.* **3**(12),706-720.

***Twaij ,H. A. A. and Al-Badr , A. A.** (1988). Hypoglycemic activity of *Artemisia herba-alba*. *J. of Ethnopharmacol*.,**24**, 123-126.

* **Yamamura S. and Ozawa K.** (1998). Autihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha Spicta* .Phytochemistry **48** (1): 131- 136.

***Vernin, G., Merad, O., Vernin, G.M.F., Zamkotsian, R.M. and Parkanyi, C.** (1995). GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria.Dev. *Food Sci*.**37A**: 147-205.

Villar A, Gasco MA. and Alcaraz MJ** (1987) Some aspects of the inhibitory activity of hypolaetin-8-glucoside in acute inflammation. *J. Pharm. Pharmacol39** (7): 502-507.

*** Visentin V ., Prevot D ., Marti L .and carpene C . (**2003). Inhibition of ratfat cell lipolysis **.**by mono amine oxidase andsemicarbazide – sensitive amine oxidase substrates .*Eur . J . Pharmcol*, **466** (3):235-243.

***Voet D., Voet J.** (1990) ..Biochemistry. New York: Wiley.

***Vouldoukis I, Lacan D, Kamate C, et al**. (2004) .Antioxidant and anti-inflammatory properties of a

Cucumismelo LC. Extract rich in super-oxide dismutase activity. *J Ethnopharmacol***94** (1): 67-75

***Woodman , O .L ., Meeker ,W . F ., and Boujaoude , M . (**2005) Vasorelaxant andantioxidant activity of flavonds and flavones **:**structure – activity relationships .*J.Cardiovax .Pharmacol*.46 (3). 302 – 309.

***Zhou K. and Yu L.**(2004).Effects of extraction from leaves of Rhazya stricta . *Journal of Medicinal Food,* **9**(2):270-275.

***Zingg J.M.** (2007). Vitamin E: An overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*.**28**:400-422.

*** الديجوي علي** (1996) . موسوعة النباتات الطبية والعطرية (الجزء الأول) .مكتبة مدبولي القاهرة . ص 92-98.

الملحق:

أوساط الزرع:

- **(PDA) Potato Desctose Agar**

Potato extract ……..200g

Glucose ……..20g

Agar…….15g

Water..…..……..……1000ml

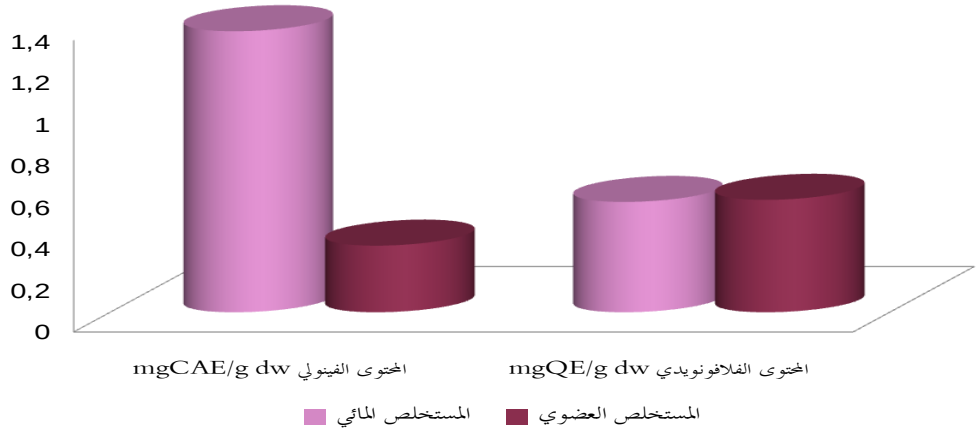
- **:(MH) Muller Hinton Agar**

Beef extract Powder…….……2.0g.

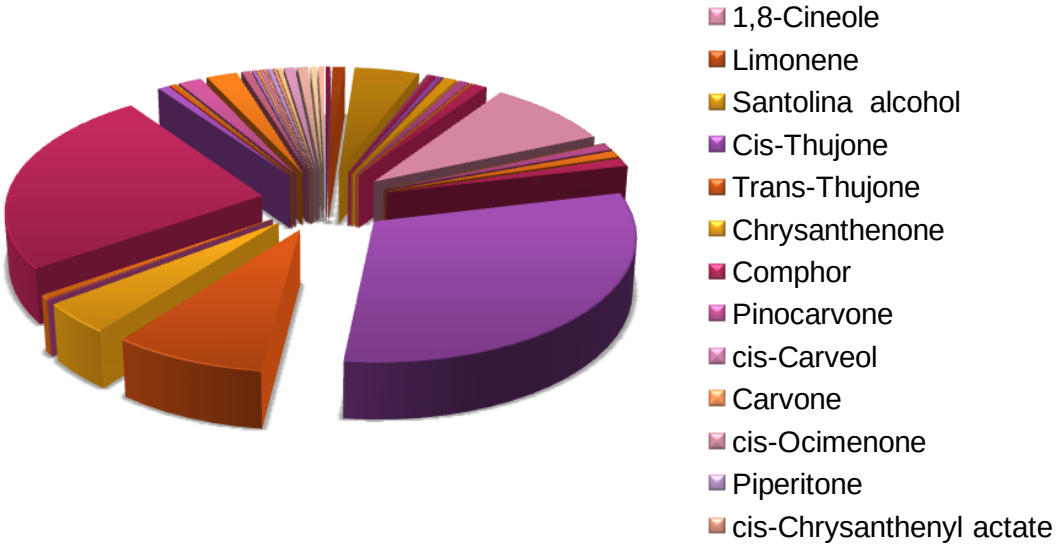
Acid digest of casein……. 17.5g.

Starch……..... 1.5g.

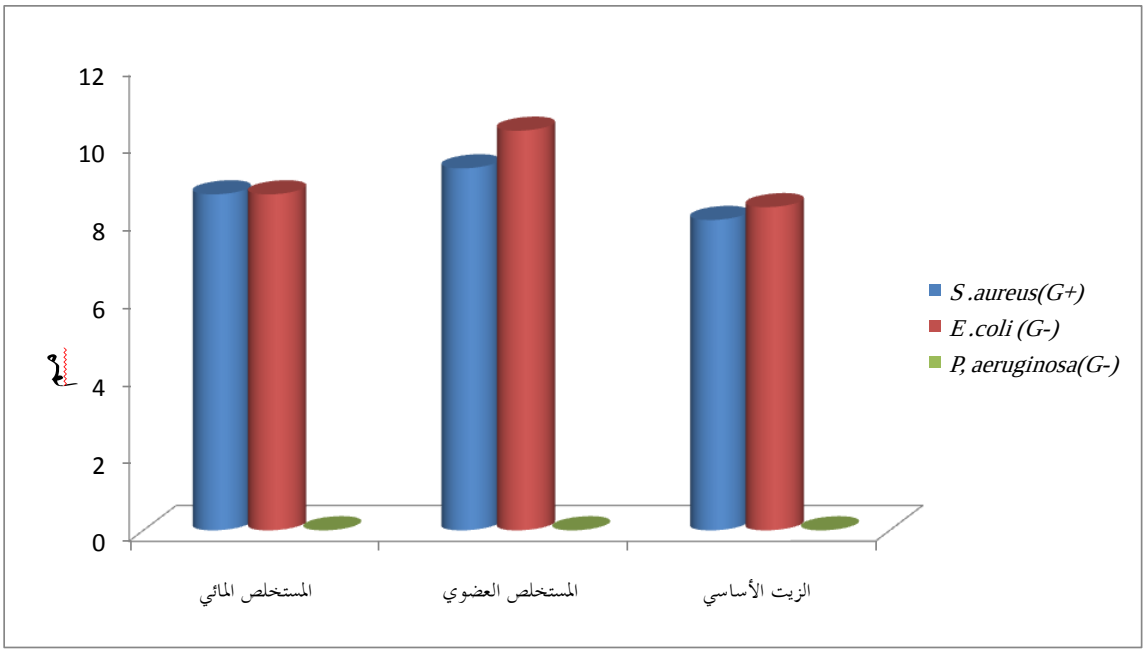
Agar……17.0g.



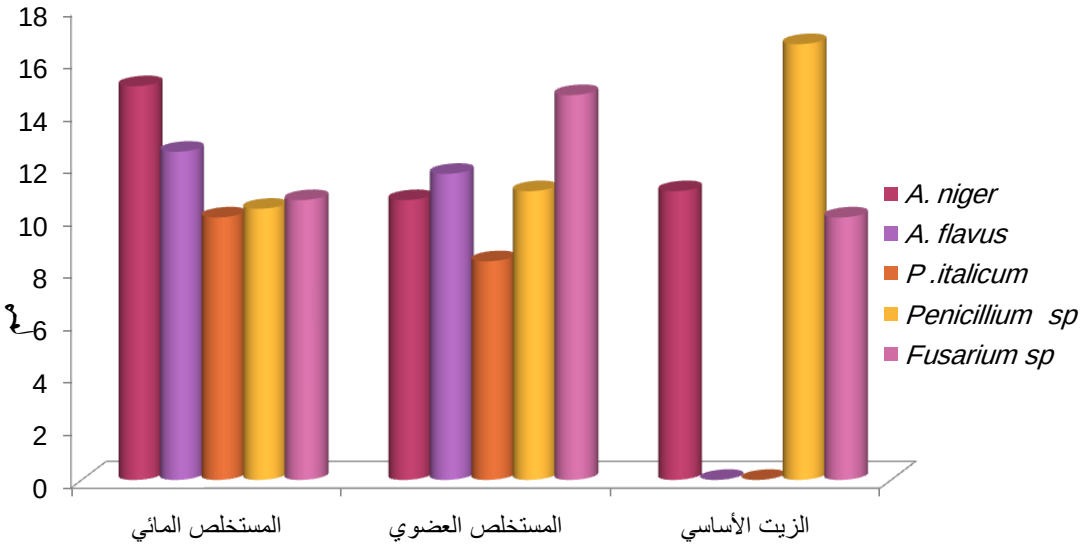
الشكل-15-: تقدير الفلافونويدات و الفينولات الكلية



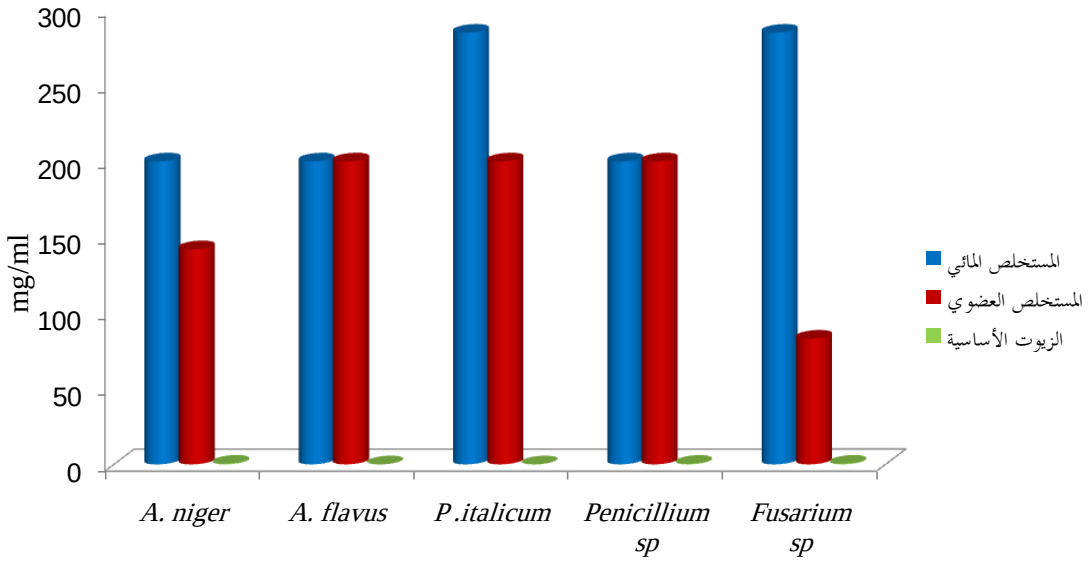
الشكل -16-: **تركيب الزيت الأساسي**.



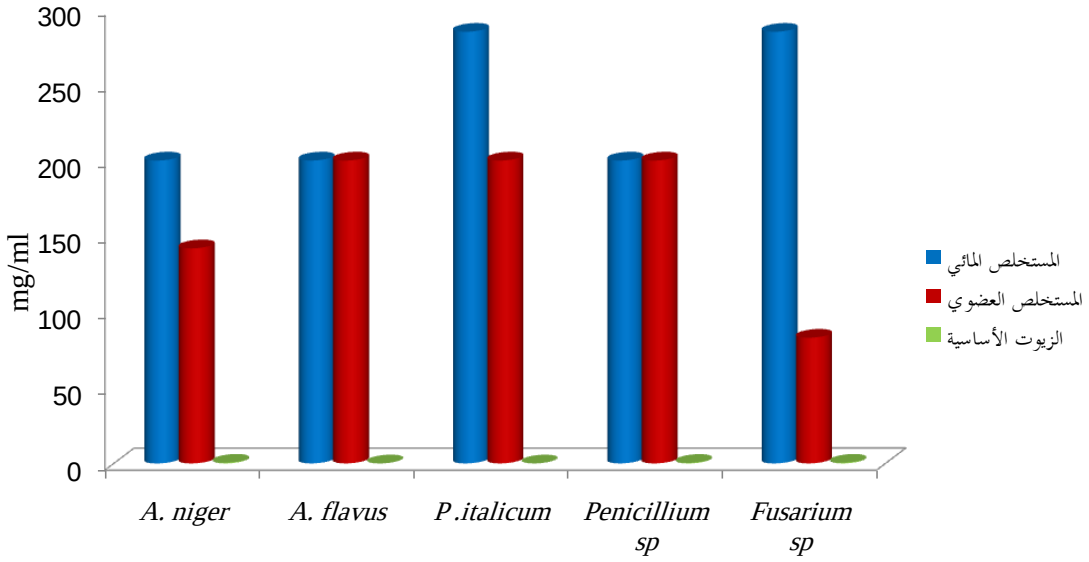
الشكل-17-: قطر هالة التثبيط لمستخلصات نبات الشيح على الأنواع البكتيرية المختبرة.



الشكل-18-: قطر هالة التثبيط لمستخلصات نبات الشيح علىالأنواع الفطرية المختبرة.



الشكل-19-: قيمCMIsبالنسبةللسلالات البكتيرية.



الشكل-20-:قيمCMIsبالنسبةللسلالات الفطرية.