وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministry of Higher Education and Scientific Research
جامعة قاصدي مرباح ورقلة
University Kasdi Merbah-Ouargla
كلية الرياضيات وعلوم المادة
Faculty of Mathematics and Matter Science
قسم الكيمياء
Chemistry Departement

رقم الترتيب:.....

رقم التسلسل:.....

مذكـرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي

فــي الكيـمياء

تخصص كيمياء المنتجات الطبيعية

من إعداد الطالبة : نورة بن شنة

بعنـوان

إستخلاص الفينولات و الفلافونيدات من بذور نبات *Pronus armenica* ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة.

نوقشت علنا يوم: 30 / 09 / 2020

أمام لجنة المناقشة:

زروقــي حيـــاة	أستاذ محاضر ب	رئيســـــــا
هادف الدراجي	أستاذ محاضر أ	مناقشـــــا
شـــربي رقيـــة	أستاذ محاضر أ	مؤطـــــــر
بن ساسي شيماء	أستاذ محاضر ب	مساعد مؤطر

السنة الجامعية: 2020/2019

شكر و تقدير

إذا كان من الواجب الشكر فالشكر لله على منه علينا بنعمه الفياضة نحمده بكره و عشية ، كما نتوجه بالشكر لمل الفضل فمن لا يذكر لأولي الفضل فضلهم فهو جاحد .

فنخص في هذا المقام بالشكر الجزيل و الامتنان الغفير للأستاذة الدكتورة شربي رقية التي قبلت الإشراف على مذكرتنا رغم أن واجباتها أكثر من أوقاتها ، والتي لم تبخل علينا بتوجيهاتها و كان صدرها رحبا في صغيرة و كبيرة ، وليس لنا في هذا المقام إلا أن نعبر عن عظيم شكرنا لها .

نسأل الله أن يجعل هذا خالصا لوجه الله و أن يجازيها عنا خير جزاء و أن يسامحنا لأتعابها.

كما نشكر الأستاذة الفاضلة بن ساسي شيماء لمشاركتها في الإشراف.

كما نتقدم بجزيل الشكر و العرفان للأستاذة زروقي حياة التي منحتنا شرف رئاسة لجنة المناقشة و الأستاذ هادف الدراجي على قبوله هذا البحث و إثرائه بالنصائح و الإرشادات ، نسأل الله العلي القدير أن يجزيهم خير الجزاء و أن يجعل هذا في ميزان حسناتهم.

دون أن ننسى كل من وقف إلى جانبنا و ساعدنا من قريب أو بعيد .

الإهداء

إلى كل من علمني حرفا في هذه الدنيا الفانية.

إلى روح أبـــي الزكية الطاهرة.

إلى أمـــي العزيزة أطالها الله في عمرها و بارك لها .

إلى إخوتي و أخواتي .

إلى جميع الأسرة التعليمة في الجامعات الجزائرية في بلادنا الجزائر الحرة الأبية .

إلى كل هؤلاء و هؤلاء أهدي هذا العمل المتواضع .

و نسأل الله أن يجعله نبراسا لكل طالب علم

آمين يا رب العالمين

قائمة المحتويات

تشكرات

إهداء

ملخص

قائمة الجداول

قائمة الأشكال

مقدمة 2

1–عموميات حول جنس البرقوق–*Prunus*– 4

2– الوصف المورفولوجي لنبات المشمش الأرميني–*Prunus armeniaca*– 4

3–التصنيف النظامي لنبات المشمش الأرميني–*Prunus armeniaca* – 5

4–التوزيع الجغرافي لنبات المشمش الأرميني_*Prunus armeniaca*– 5

5–بذرة نبات المشمش 6

6– الاستعمالات التقليدية لنبات المشمش..... 7

7–فوائد لوزة المشمش 7

II–1.منتجات الأيض الثانوي..... 9

II–2. المركبات الفينولية..... 9

II–2–1.الفينولات البسيطة..... 11

II–2– 2. الأحماض الفينولية البسيطة:..... 11

II–2–2–1. مشتقات حمض البنزويك..... 11

II–2–2–2.مشتقات حمض السيناميك:..... 11

II–2–3.الفلافونيدات..... 12

II–2–3–1. تصنيف الفلافونيدات 13

II–2–3–2.الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفلافونيدات..... 15

II–2–3–3.دور الفلافونيدات وأهميتها البيولوجية والعلاجية 15

II–2–3–4. الدراسة الكيميائية للفلافونيدات 16

II–2–4– الكومارينات..... 22

II–2–4–1– تقسيم الكومارينات..... 22
II–2–4–2– تراكم وتوزيع الكومارينات:..... 24
II–2–4–3. أهمية ودور الكومارينات :..... 25
II–2–4–4. طرق إستخلاص الكومارينات وتنقيتها :..... 26
II–2–5.التانينات..... 26
II–2–5–1.التانينات القابلة للتحلل أو الإماهة :..... 27
II–2–5–2.التانينات المكثفة..... 28
II–2–5–3.الفعالية الفيزيولوجية للتانينات:..... 28
III–1.مقدمة:..... 31
III –2 . الجذور الحرة..... 31
III–2–1.تعريف الجذور الحرة..... 31
III –2 – 2 . مصادر الجذور الحرة..... 31
III –2– 3 . أنواع الجذور الحرة..... 31
III –2– 4 . آلية تشكل الجذور الحرة..... 34
III–2– 5 . دور الجذور الحرة:..... 34
III –2– 6. الأمراض الناجمة عن الجذور الحرة..... 34
III –3. مضادات الأكسدة..... 35
III–3– 1– تعريف مضادات الأكسدة..... 35
III–3– 2 . آليات مضادات الأكسدة..... 35
III –3– 3 – تصنيف مضادات الأكسدة..... 35
III–3– 3 – 1 مضادات الأكسدة الطبيعية..... 35
III–3– 3 – 2. مضادات الأكسدة الاصطناعية..... 37
III–3– 4 . شروط إضافة مضادات الأكسدة..... 37
III –3– 5 . الطرق المستعملة في تحديد الفعالية المضادة للأكسدة..... 37
IV–1. طرق الاستخلاص..... 40
IV–2.طرق تقدير المركبات الفينولية..... 42

IV–3. طرق تقدير الفلافونويدات 43

IV–4. طريقة تقدير الأميغدالين (فيتامين B_{17}) 43

IV–5. الطرق المستعملة لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة : 44

IV –6. نتائج تقدير المركبات الفينولية 46

IV–7. نتائج تقدير الفلافونيدات..... 46

IV–8. نتائج تقدير الأميغدالين(فيتامين B_{17}) 47

IV–9. نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة: 47

IV–10. مناقشة النتائج 48

خاتمة 51

قائمة المراجع..... 53

قائمة الجداول

الفصل الأول

الجدول رقم I- 1: التصنيف النظامي لنبات المشمش..... 5

الفصل الثاني

الجدول رقم II- 1:تقسيم المركبات الفينولية إلى مجموعات. 10
الجدول رقم II- 2:بعض الأمثلة لمشتقات حمض البنزويك والسينناميك..... 12
الجدول رقم II- 3: معرفة البنية الفلافونيدية من خلال قيمة ثابت الإحتجاز. 20
الجدول رقم II- 4:بنية بعض كومارينات المستبدلة على حلقة البيرون..... 23
الجدول رقم II- 5:بعض التسميات والبنيات الكومارينية ونشاطها البيولوجي..... 25

الفصل الرابع

الجدول رقم IV- 1: طرق الاستخلاص 40
الجدول رقم IV- 2: طرق تقدير المركبات الفينولية الكلية: 42
الجدول رقم IV- 3: طرق تقدير الفلافونويدات 43
الجدول رقم IV- 4: طريقة تقدير الأميغدالين (فيتامين B_{17})..... 43
الجدول رقم IV- 5: الطرق المستعملة لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة..... 44
الجدول رقم IV- 6:نتائج تقدير المركبات الفينولية 46
الجدول رقم IV- 7: نتائج تقدير الفلافونيدات 46
الجدول رقم IV- 8نتائج تقدير الأميغدالين(فيتامين B_{17}) 47
الجدول رقم IV- 9: نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:..... 47

قائمة الأشكال

الفصل الأول

الشكل رقم I- 1: صورة لشجرة نبات المشمش. **4**

الشكل رقم I- 2: صور توضيحية للأجزاء الهوائية لنبات المشمش..... **5**

الشكل رقم I- 3: صورة توضيحية للامتداد التاريخي نبات المشمش. **6**

الشكل رقم I- 4: صورة توضيحية لثمرة المشمش و نواتها. **7**

الفصل الثاني

الشكل رقم II- 1:الصبغة العامة للفلافونيد. **13**

الشكل رقم II- 2: الصيغة الكيميائية ل Kaempferol و Quercetine **13**

الشكل رقم II- 3:أمثلة عن مركبات الفلافون..... **13**

الشكل رقم II- 4:الصيغة الكيميائية لمركب Catechine **14**

الشكل رقم II- 5: أمثلة عن مركبات الفلافانون. **14**

الشكل رقم II- 6:الصيغة الكيميائية العامة للإيزوفلافون..... **14**

الشكل رقم II- 7:الصيغة الكيميائية العامة للأنتيوسيان. **15**

الشكل رقم II- 8:المخطط العام لإستخلاص الفلافونيدات **18**

الشكل رقم II- 9:الصيغة الكيميائية العامة للكومارينات..... **22**

الشكل رقم II- 10: أمثلة عن كومارينات مستبدلة على حلقة البيرون..... **23**

الشكل رقم II- 11: الصيغة الكيميائية لكومارين مستبدل على حلقة بيرون..... **23**

الشكل رقم II- 12: أمثلة عن مركبات الفيرانوكومارينات. **24**

الشكل رقم II- 13: الصيغة الكيميائية لمركبات البيرانوكومارينات. **24**

الشكل رقم II- 14:معادلة الكيميائية توضح مبدأ إستخلاص الكومارينات. **26**

الشكل رقم II- 15:الصيغة العامة لحمض الإيلاجيك وحمض الغاليك. **27**

الشكل رقم II- 16:التركيبة الكيميائية للتانينات المتحللة. **28**

الشكل VI–1 : نتائج نسبة تثبيط جذر DPPH.....49

قائمة الرموز

ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid
AG	acide galic
$AlCl_3$	Alaminum chloride
BHA	buthyl hydroxyl aniaole.
BHT	Butylated hydroxytoluene
CAT	Catalase
CE	catechine equivalent.
DNA	Deoxyribonucleic acid
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DW	Dry weight
EDTA	ethylene diamine tetracetic acid disodium
EI	Electronic ejaculation technic
FRAP	Ferric reducing ability of plasma
GAE	gallic acid equivalent
GC	Gas phase chromatography
$HOO^{\cdot}$	Hydroperoxyl radical
HPLC	Hight performance liquid chromatography
IC_{50}	Inhibition concentration 50%
MeOH	Methanol
Na_2CO_3	Sodium carbonate
NaOH	Sodium hydroxide
NBT	nitroblne tetra –zolium
NH_3	Ammonia
$NO^{\cdot}$	Nitric oxide
$O_2^{\cdot -}$	Superoxide
$OH^{\cdot}$	Hydroxyl radical
PG	Propyl gallate
$R^{\cdot}$	Radical
RMN	Magnetic resonance spectroscopy
$RO^{\cdot}$	Alkoxyl radical
$ROO^{\cdot}$	Peroxyl radical
ROS	Reactive oxygen species
SM	Mass spectroscopy
SOD	super oxide dismutase
TCA	total antioxidant capacity
TLC	Thin layer chromatography.
TPTZ	2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine.
UV	Ultra violet spectroscopy
XOD	xantiue oxidase

مقدمة

مقدمة

إعتمد الإنسان منذ القدم على الطبيعة من أجل توفير إحتياجاته الأساسية كالغذاء , المأوى وحتى الملبس , من هنا نجد أن إستخدام النباتات من طرف الإنسان كعلاج للأمراض قديد جدا[1], حيث وجد في بلاد النيل كتابات هيروغرافية ,تدل أن هناك نباتات عديدة إستعملها المصريون القدماء ,ومن أمثلة ذلك قشور الرمان لقتل الديدان المعوية, الأفيون للتخدير, الشاي الأخضر للتنبيه.... , فقد عرفت الحضارات القديمة إستعمالا واسعا للنباتات الطبية ,في قارة آسيا خاصة الصين,الهند في الشرق الأوسط ,واليونان والرومان[2].

بعد تطور العلم و الدراسات في مجال النباتات الطبية ، وجد أنها تحتوي على آلاف المركبات الكيميائية , التي تؤثر على العمليات الوظيفية بجسم الإنسان, فالنبتة الواحدة تحتوي على مجموعة من هذه المركبات, مما يعني أنها ستؤثر على أكثر من عملية وظيفية في الجسم ,من هنا يكمن الفرق بين الأعشاب الطبية والأدوية , حيث تصنيع الأدوية يعتمد على عزل المركبات الكيميائية من النباتات, وتركيز كل واحدة منها على حدة للتأثير على وظيفة محددة بالجسم, يعني أن تأثير النباتات الطبية هو الأكثر شمولية , بينما تأثير الأدوية المصنعة مختص بعلاج مشكلة محددة, وبمقدار جرعات معروف[3].

الجزائر بلد غني بنباتات متنوعة كثيرة، لا سيما الطبية منها، موزعة على بيئات مختلفة ومناخات متباينة وتضاريس عدة، لكل منها صفاتها وخصائصها، فهو يمتد جنوبا في العمق الصحراوي، واسع المساحة، متعدد المناخات، ولا شك في أن لهذا التنوع في المناخ والتربة الأثر البالغ في إختلاف الغطاء النباتي من منطقة إلى أخرى، وهذا ما جعل الجزائر تزخر بأنواع شتى من النباتات الطبية وبما لا يقل عن 3500 نوع[4].

من بين هذه النباتات المهمة نبات المشمش، فهو مصدر غني بالعناصر الغذائية المفيدة للصحة (الكربوهدرات، الفيتامينات،المعادن والألياف)، ويحتوي أيضا على المواد الكيميائية النباتية (البوليفونولات، الكاروتينات و الكليكوزيدات). خصصنا الدراسة حول نواة المشمش سواءا كانت مرة أو حلوة تحتوي على كمية أكبر من مضادات الأكسدة مقارنة باللحم، وهي أيضا مفيدة لجسم الإنسان[5]، فهل نواة المشمش تحتوي على فينولات وفيتامينات؟ وهل لها فعالية مضادة للأكسدة؟ من التي تمتلك فعالية أكبر إن وجدت النواة المرة للشمش أو الحلوة؟

من هنا قمنا بتقسيم المذكرة على النحو التالي:

الجزء النظري:

- الفصل الأول: عموميات حول نبات ***Pronus armeniaca*** .
- الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي.
- الفصل الثالث: الفعالية المضادة للأكسدة.

الجزء التجريبي.

الفصل الأول

عموميات حول نبات

PRUNUS ARMENIACA

1-عموميات حول جنس البرقوق-*Prunus*-

الخوخ أو البرقوق -*Prunus*- هو جنس من النباتات الخشبية، يتبع الفصيلة الوردية، يشمل عدة أنواع شجرية مهمة، مثل الخوخ، الكرز، الدراق، اللوز، و المشمش، يوجد منه 400 نوع من الأشجار و الشجيرات في المنطقة المعتدلة الشمالية، و عدد قليل في كل من أمريكا الجنوبية و شمال افريقيا، تتميز أشجار هذا الجنس بقدرة عالية على التكيف مع مجموعة متنوعة من التربة و الظروف المناخية، و تسهل زراعة معظم أنواعه كنباتات زراعية و نباتات زينة، الزهور منفردة خماسية التقسيم، تتميز باللونين الابيض و الوردي المائل إلى الحمرة، نواة الفاكهة، عادة ما تكون حجر واحد، صالحة للأكل في العديد من الأنواع [6].

2- الوصف المورفولوجي لنبات المشمش الأرميني-*Prunus armeniaca*-

هي شجرة كبيرة أو متوسطة الحجم بحسب نوعها، يتراوح ارتفاع أبعادها باختلاف الأصناف و ظروف النمو، لكن عموما يصل طولها بين 5 إلى 15م، و نادرا ما تتجاوز 10 م، بينما يحافظ على ارتفاع 3 إلى 305 م، في الزراعة [7]، الجذر وتدي و الجذع خشن الملمس لكثرة الشقوق أحمر مسمر، تتفرع منه سيقان قصيرة مستقيمة و قاسية، منتصبة أو شبه أفقية [8]، أوراقها متساقطة و متناوبة، بيضاوية أو قلبية الشكل،ناعمة و غير مزغبة في الأسفل، مسننة الحواف لونها اخضر فاتح، مشوب بحمرة أحيانا [9]، تعطي شجرة المشمش أزهارا ثنائية الجنس، تظهر قبل الأوراق و تتميز بحجمها الكبير، خماسية التقسيم و ذات أوراق كأسية بيضاء-Corolle-، و أوراق تويجية حمراء إلى وردية-Calide-[8]، الثمار لوزية كبيرة نوعا ما، خضراء اللون و حامضة الطعم قبل النضج، تتحول إلى اللون الأصفر، ثم البرتقالي عند النضج و يتغير طعمها إلى الحلو، تتكون الثمار من جزئين يفصل بينهما تجويف نووي، جزء خارجي لحمي و طري صالح للأكل-Péricarp-، و جزء داخلي يشكل النواة-Endocarp-[10].

الشكل رقم I- 1: صورة لشجرة نبات المشمش.

الشكل رقم I- 2: صور توضيحية للأجزاء الهوائية لنبات المشمش

3-التصنيف النظامي لنبات المشمش الأرميني-*Prunus armeniaca*-

تم الاعتماد في تصنيف هذا النبات على المرجع [11] و فق ما يوضحه الجدول التالي:

الجدول رقم I- 1: التصنيف النظامي لنبات المشمش.

النطاق	حقيقيات النواة	Eukaryote	Domaine
المملكة	النباتات	Plantae	Kingdom
تحت المملكة	النباتات الوعائية	Tracheobionta	Sub Kingdom
الفرع	ذوات البذور	Spermatophyta	Super Division
الشعبة	كاسيات البذور	Magnoliophyta	Division
الصنف	ثنائية الفلقة	Magnoliopsida	Class
الرتبة	الورديات	Rosales	Order
الفصيلة	الوردية	Rosaceae	Family
تحت الفصيلة	اللوزاوات	Amygdaloideae	Sub Family
الجنس	برقوق	*Prunus*	Genus
النوع	المشمش الأرميني	*P.armeniaca L*	Species
بعض الاسماء الشائعة	البرقوق	*Barkok*	Common name

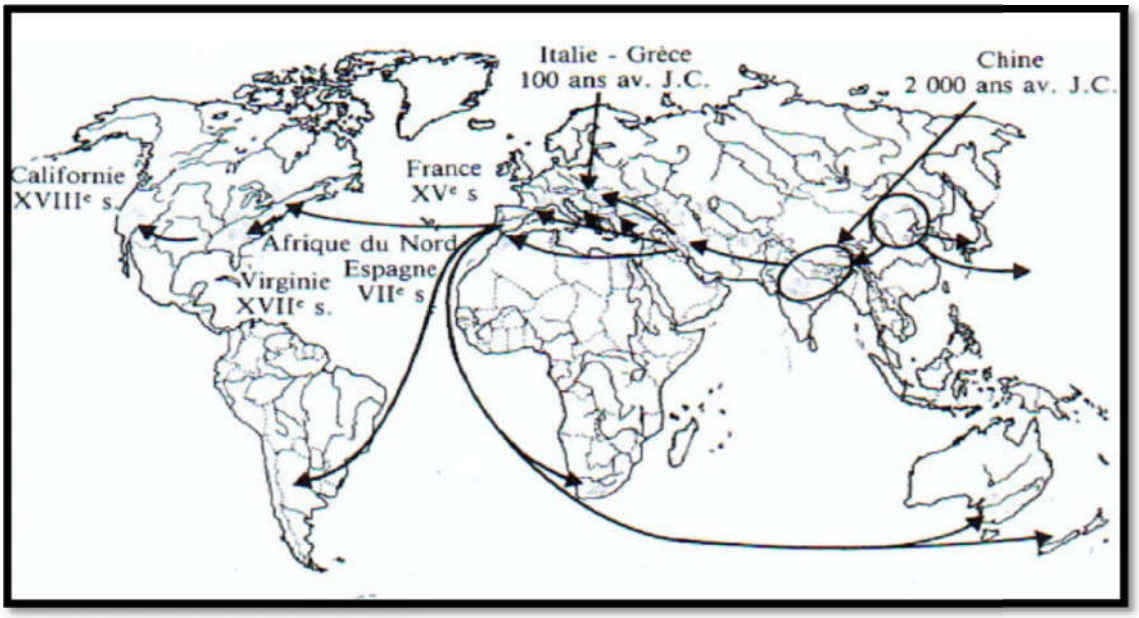
4-التوزيع الجغرافي لنبات المشمش الأرميني_*Prunus armeniaca*-

يمتلك نبات المشمش عدة أصناف موزعة على كل من آسيا الوسطى، آسيا الصغرى ، أوروبا و حوض البحر الأبيض المتوسط، إلا أنه و بشكل عام يمكن تحديد 3 أصناف رئيسية لهذه النبتة, حيث قام Vavilov سنة 1951 من تحديد ثلاث مناطق كبيرة تعتبر أصل شجرة المشمش, وهي كل من الصين, آسيا الوسطى و آسيا الصغرى, ثم بعد 10 سنوات تم تصنيفه وفقا لهجرته و انتشاره في ثلاث اتجاهات.

- النوع الأول ينتشر في الشرق الأوسط (مصر وشمال إفريقيا) وهو الصنف القادم من آسيا الوسطى, يتميز بعادة الانتشار و الازدهار الوفير.
- النوع الثاني ينتشر في اليونان و أوروبا, مطابق لصنف آسيا الصغرى, و هو النوع الأحدث وأقل تنوعا, ثماره كبيرة و ملونة, يتميز بقدرته على تحمل ومقاومة الصقيع.
- ثالثا المجموعة القادمة من الصين والتي هاجرت نحو الشرق, تتميز كذلك بقدرتها على تحمل درجات حرارة منخفضة.

توجد الكثير من الأصناف الفرعية الأخرى, حيث لا يمكن حصر أصل و انتشار نبات المشمش بشكل دقيق, نضرا لقدم زراعة هذا النوع إلى ما يقارب 500 ألف سنة .

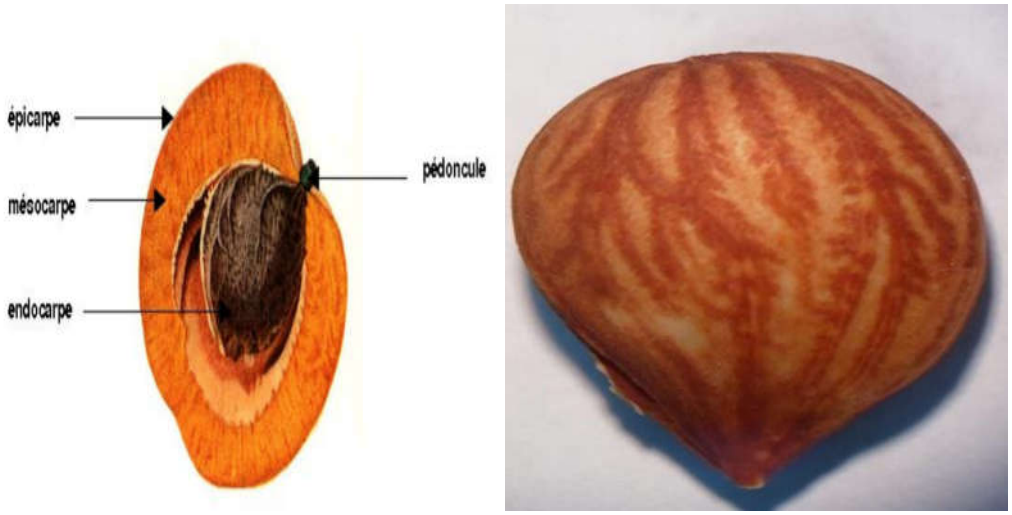
أما بالنسبة للجزائر فيوجد أكثر من 14نوعا من المشمش المزروع في الحضانة المركزية في العاصمة [11،12،13].



الشكل رقم I– 3: صورة توضيحية للامتداد التاريخي نبات المشمش.

5–بذرة نبات المشمش

توجد في ثمرة المشمش نوات واحدة صلبة القوام, ملساء أحيانا وخشنة في بعض الأصناف, وغالبا ما تكون حرة أو ملتصقة بشكل ضعيف, وعند النضج يتم فصلها بسهولة عن الجزء اللحمي, مركز النواة لوزي الشكل ذو طرف حاد, ثنائي الفلقة, مر الطعم عدا بعض الأصناف التي لها لوز حلو تحت قشرة بنية [9].



الشكل رقم I- 4: صورة توضيحية لثمرة المشمش و نواتها.

6- الاستعمالات التقليدية لنبات المشمش

المشمش فاكهة موسمية واسعة الانتشار، يأكل إما طازجا في وقت الصيف، أو مجففا، يستعمل نبات المشمش كمضاد للحرارة، و منشطا جنسيا، و طاردا للبلغم و مهدئا، كما ينفع في حالات الالتهابات و آلام الحنجرة، و مضاد للعطش.

مع ذلك يحذر من تناول البذور و الثمار قبل النضج، لاحتوائها على جلايكوزيدات سيانوجية، و أهم مركب هو الأميجدانين الذي يعرف باستخدامه كمبيد زراعي [10].

7-فوائد لوزة المشمش

لوزة المشمش غنية بالأميغدالين وهو فيتامين B_{17} ، له فوائد عديدة نذكر منها:

- ❖ يعالج مرضى السكري، الربو، الجذام و إلتهاب الشعب الهوائية.
- ❖ يستخدم أيضا كعامل مضاد للسرطان، في شكل من أشكال فيتامين B_{17} ، ذلك يحفز عملية موت الخلايا السرطانية، و يعمل على تباطؤ دورة الخلية، عن طريق تأخير تكاثرها و نموها.

رغم ذلك الأميغدالين سام إذا تم تناوله بكميات زائدة، حيث أكدت البحوث العلمية أن التحلل المائي للأميغداين يطلق سيانيد الهيدروجين HCN، وبالتالي قد لا تكون آمنة للإنسان [5].

الفصل الثاني

منتجات الأيض الثانوي

II-1.منتجات الأيض الثانوي:

تنتج النباتات مركبات عضوية معقدة ليس لها وظيفة مباشرة في النمو تسمى مركبات الأيض الثانوي والتي تنتج من مركبات الأيض الأولي (الكربوهيدرات، البروتينات والدهون), إذ تملك هذه الأخيرة أهمية كبيرة في عمليات نمو وتطور النبات وحياة الإنسان والكائنات الحية الأخرى، أما مركبات الأيض الثانوي فيتجلى دورها في الدفاع عن النبات بإعتبارها وسيلة وقاية ضد المسببات المرضية فهي بمثابة جهاز المناعة للنبات، فعندما يهاجم النبات من الخارج بالأمراض تتكون هذه المنتجات الثانوية مثل: الفينولات، التربينات والقلويدات، كما أن البعض منها مسؤول عن الرائحة والطعم ولون النبات، والبعض الآخر يعطي أهمية طبية بالغة، فالدراسات الأخيرة تشير أن أكثر من ربع الأدوية والعقاقير المنتجة في العالم خلال العقود الثلاثة الماضية مشتقة من مركبات ثانوية نباتية، وتصنف هذه المنتجات إلى أنواع مختلفة لتسهيل دراستها، فقد تصنف أحيانا وفق المصادر الطبيعية التي تنتجها وأحيانا أخرى وفق تأثيراتها الفيسيولوجية.[14]

II-2. المركبات الفينولية:

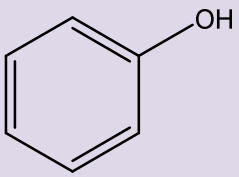
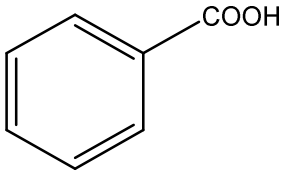
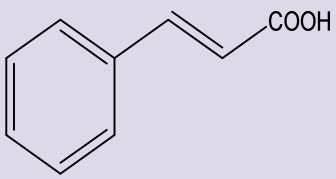
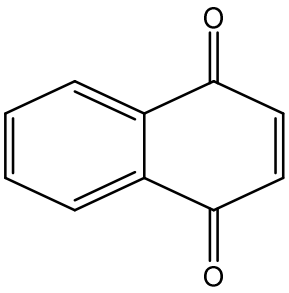
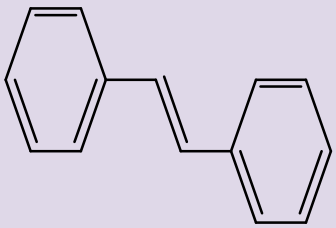
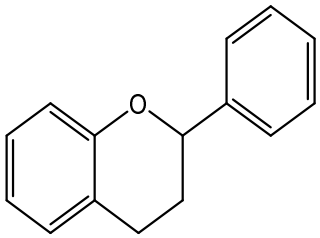
تمثل المركبات الفينولية قسما بالغ الأهمية في حقل منتجات الأيض الثانوي وذلك لتعددها وتباين هياكلها البنائية. وتعرف الفينولات على أنها مركبات غير آزوتية يتم تخليقها من أيض حمض الشكميك أو من متعدد الأسيتات، تضم مجموعة واسعة من المركبات العضوية التي تحتوي في هيكلها البنيوي واحدة أو أكثر من الحلقات العطرية (بنزن) مرتبطة بمجموعة واحدة أو أكثر من مجاميع الهيدروكسيل بالإضافة إلى مجاميع الأستر والكربوكسيل وكذلك الميثيل، حيث يستند تصنيف المركبات الفينولية على:

- ✓ عدد مجموعات الهيدروكسيل.
- ✓ التركيب الكيميائي: أحادية، ثنائية ومتعددة الفينولات.
- ✓ بدائل في الهيكل الكربوني: عدد الحلقات وذرات الكربون في السلسلة الجانبية.

مما يجعلها تنقسم إلى عدة مجموعات منها: الفينولات البسيطة، الأحماض الفينولية، الفلافونيدات، الكومارينات، التانينات، مركبات lignanes وكذلك les stilbene [14،15،16].

والجدول الموالي يوضح هذه المجموعات:

الجدول رقم II– 1:تقسيم المركبات الفينولية إلى مجموعات.

الهيكل الكربوني	أقسام المركبات الفينولية	البنية الأساسية	مثال	المصدر الغذائي
C_6	Phenols simple		Catechol	Spices, strawberry
C_6-C_1	Acide hydroxybenzoique		p-hydroxybenzoic	Apple, Potato
C_6-C_3	Coumarine, Acide hydroxylcinnamique		Acide cafeique, scopoletine	Citrus
C_6-C_4	Naphthoquinone		Juglone	Nuts
C_6-C_2-C_6	Stilbene, Anthraquinones		Resveratrol	Vingne
C_6-C_3-C_6	Flavonoides		Kaempfeerol Quercetine	Fruit, vegetable, flowers
$(C_6$-$C_3)_2$	Lignanes		Pinorésinol	Pine

Wood			Lignines	$(C_6-C_3)n$
Red grape	Pocianidine		Tannins condenses	$(C_6-C_3-C_6)n$

II–2–1.الفينولات البسيطة:

هي مركبات كيميائية عضوية بسيطة تنتج من النباتات، تحتوي على حلقة بنزن مرتبطة بواحد أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل، إذ يعد مركب الفينول C_6H_5OH أبسط الفينولات.تتميز المركبات الفينولية البسيطة بدور بيولوجي هام جدا ضد المكروبات في النبات، وتستخدم بشكل واسع في الصناعة الكيميائية (صناعة المبيدات الحشرية، العطور والمواد الصيدلانية...)، ومن أهم مركباتها مركب Catechol. [14]

II–2– 2. الأحماض الفينولية البسيطة:

هي جزيئات فينولية بسيطة تمثل الوحدة الأساسية لبناء المركبات الفينولية الأخرى، تتواجد في النباتات الطبية وتنقسم إلى قسمين رئيسيين هما: مشتقات حمض البنزويك ومشتقات حمض السينامیك.

II–2–2–1. مشتقات حمض البنزويك:

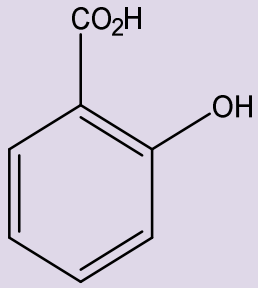
لها هيكل مكون من C_6-C_1، وهي تتواجد بكميات ضعيفة في النباتات ماعدا بعض الفواكه الحمراء والبصل، حيث تعتبر البنية الأساسية في تكوين الهياكل الهامة مثل حمض Protocatechuic وحمض Gallic، حيث يدخل هذا الأخير في بناء التانينات المتحللة. [17،15]

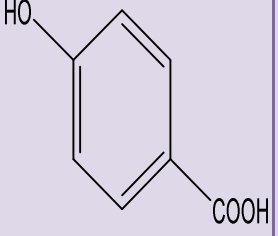
II–2–2–2.مشتقات حمض السينامیك:

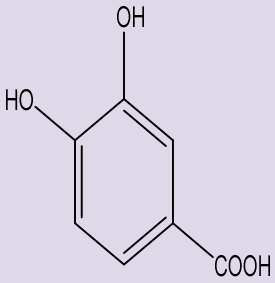
هي أكثر وفرة مقارنة بأحماض البنزويك، تشمل أربعة مركبات تتواجد بكثرة في الفواكه، تتمثل في:

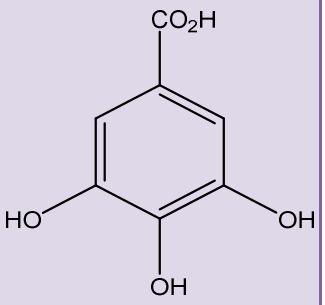
p-coumaric, sinapic, cafeic, ferulic، ونادرا ماتتواجد هذه الأحماض بشكل حر ماعدا في حالات التجمد و التخمر، يتم تخليقها بإزالة مجموعة الأمين من الحمض الأميني L-phe أو L-Tyr بالإضافة إلى تفاعلات الأكسدة والعديد من التفاعلات الكيميائية الأخرى، ومن خلال تكاثف هذه المركبات يتم بناء اللغنان Lignanes و اللغنينLignines. [14].

الجدول رقم II- 2:بعض الأمثلة لمشتقات حمض البنزويك والسيناميك.

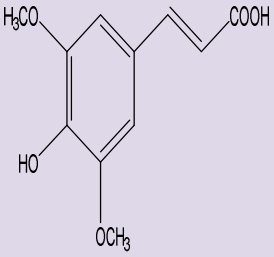


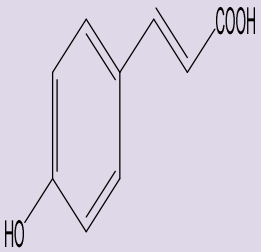


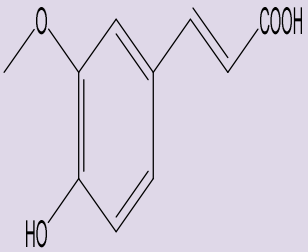


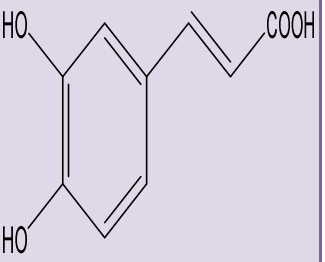


أمثلة لأحماض البنزويك			
Salicylic acid	p-hydroxyl acid	Protocatechic acid	Galic acid
أمثلة لأحماض السيناميك			
sinapic acid	p-coumaric acid	Ferulic acid	Cafeic acid







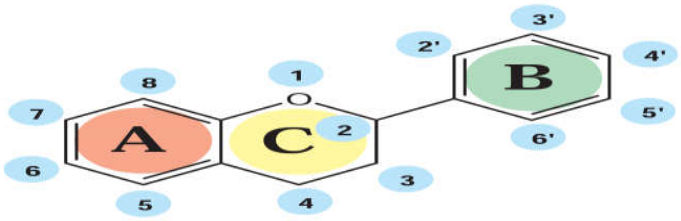


II-2-3.الفلافونيدات:

كلمة " فلافونيد" مشتقة من إسم يوناني " Vlavus "التي تعني الأصفر، فهي عبارة عن صبغات ملونة تنتشر في الأجزاء المختلفة للنبات وتتمركز بصفة خاصة في الجزء الهوائي.

تعتبر الفلافونيدات من أهم المجموعات الفينولية وتمثل القسم الأكبر لنواتج الأيض الثانوي للنبات، حيث شخص حوالي 8000 مركبا منها.

تتميز الفلافونيدات بهيكل أساسي ممثل في C_6-C_3-C_6 أي يحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين A و B مرتبطتين بحلقة C غير متجانسة تحتوي على ذرة أكسجين.[17،18،19]

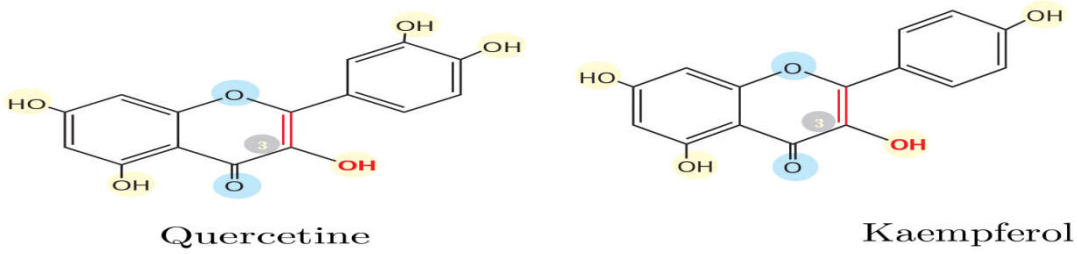


الشكل رقم II- 1:الصيغة العامة للفلافونيد.

II-2-3-1. تصنيف الفلافونيدات:

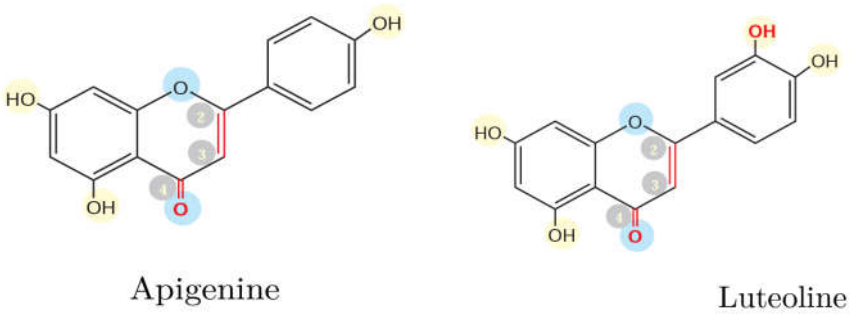
بنيويا تتفرع الفلافونيدات إلى عدة أنواع تبعا لعدد، موضع وطبيعة المستبدلات، أو تبعا لدرجة الأكسدة للحلقة غير المتجانسة، فنجد:

1- الفلافونول Flavonols : هي المركبات الفلافونيدية الأكثر وفرة، تتميز بعدم التشبع في الحلقة غير المتجانسة C، مع وجود مجموعة هيدروكسيل في الموضع منC_3 البيرون ومن أشهر مركبات هذا النوع Kaempferol و Quercetine.



الشكل رقم II- 2: الصيغة الكيميائية لـ Kaempferol و Quercetine .

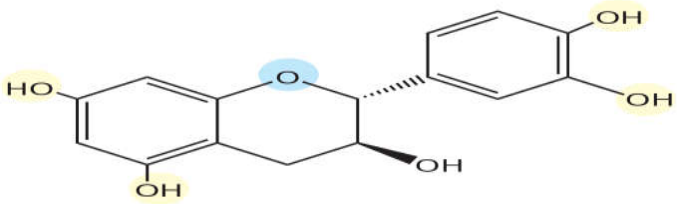
2- الفلافون Flavones : تتميز هذه المركبات بوجود رابطة ثنائية في الموقع 2 و3 للحلقة C و غياب مجموعة في الموضع 3 للحلقة و من أشهر مركباتها Luteoline و Apigenine.



الشكل رقم II- 3 : أمثلة عن مركبات الفلافون.

3- الفلافانول Flavanol : تشبه الفلافون مع غياب الرابطة الثنائية بين ذرتي الكربون 2 و3،

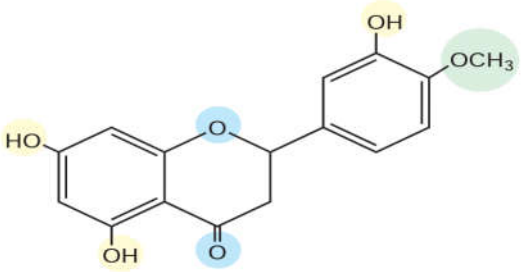
ويعد مركب Catechine من أبسط المركبات التابعة لهذه المجموعة.



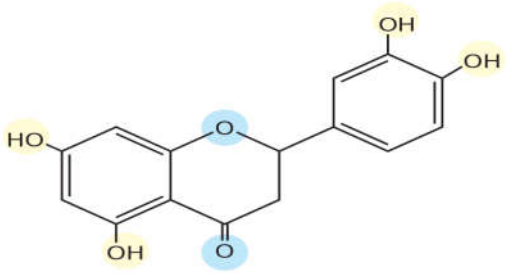
Catechine

الشكل رقم II- 4:الصيغة الكيميائية لمركب Catechine .

4- الفلافانون Flavanone : تتميز هذه المركبات بغياب الرابطة الثنائية بين C_2و C_3في الحلقة C، وكذلك غياب مجموعة هيدروكسيل في الموقع3، وتعتبر الحمضيات مصدر لهذه المركبات، مثل Eriodictyol المتواجد في الليمون و Hesperitin المتواجد في البرتقال.



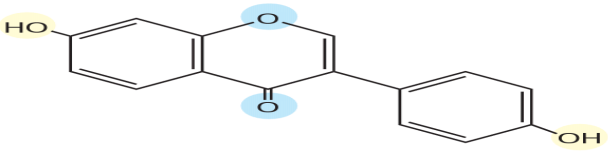
Hesperitin



Eriodictyol

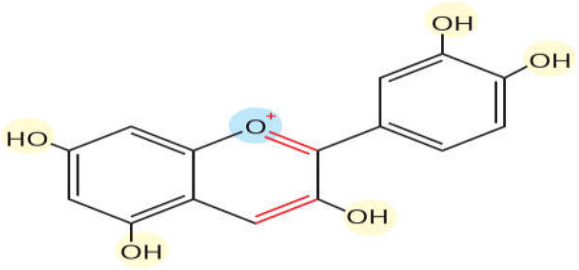
الشكل رقم II- 5: أمثلة عن مركبات الفلافانون.

5- الإيزوفلافون Isoflavones : في هذه المجموعة ترتبط الحلقة Bبالموضع 3 في الحلقة C مثل مركب Daidzeine، تتميز هذه المركبات بهيكل كيميائي مشابه لهرمون الأستروجين.



الشكل رقم II- 6 : الصيغة الكيميائية العامة للإيزوفلافون.

6- الأنتيوسيان Anthocyanes : هي ملونات طبيعية توجد في مختلف أنسجة النباتات (سيقان، جذور، ثمار، أوراق وأزهار) المسؤولة عن اللون البرتقالي، الوردي،الأحمر،الأرجواني والأزرق. تتميز بسهولة ذوبانها في الماء ويعد مركب Cyanidine من أبسط المركبات التابعة لهذه المجموعة [14،15،16].



الشكل رقم II- 7:الصيغة الكيميائية العامة للأنتيوسيان.

يمكن للفلافونيدات أن ترتبط فيما بينها لتشكل مركبات ثنائي الفلافونيد، هذا الإرتباط في الموقع 6 أو 8، ومعظم هذه الفلافونيدات الثنائية عبارة عن ديمرة بين الفلافون والفلافونول.

كما أن أغلبية الفلافونيدات تتواجد على شكل أجليكونات مرتبطة مع جزء سكري، هذا الأخير قد يكون أحادي، ثنائي أو ثلاثي السكر.[16،20]

II-2-3-2.الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفلافونيدات:

- ✓ تتميز الفلافونيدات بأنها مركبات هيدروكسيلية تتصف بخاصية حمضية ضعيفة في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم.
- ✓ تتصف الفلافونيدات التي تحمل عددا أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحوي على سكريات بالصفة القطبية وبالتالي فهي ذوابة في المذيبات القطبية مثل الماء، الإيثانول، الأسيتون،....
- ✓ الفلافونيدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات، الفلافونولات والفلافونات التي تحتوي على مجموعات مثوكسيلية مستبدلة تذوب في المذيبات غير القطبية مثل الكلوروفورم والايثر.

II-2-3-3.دور الفلافونيدات وأهميتها البيولوجية والعلاجية:

- دورها في النبات:

- ✓ الفلافونيدات لها دور في حماية النباتات ضد الأشعة فوق البنفسجية، وكذلك من الحيوانات الآكلة للأعشاب ومن الحشرات.

- ✓ الفلافونيدات مسؤولة أيضا عن إعطاء اللون للنبات وبصفة خاصة الأزهار مما يمنحها الصفة الجاذبة لمختلف ملقحات النبات.

دورها العلاجي:

للفلافونيدات العديد من الخصائص العلاجية منها:

- ✓ مضادة للأكسدة إذ تعمل على منع تشكل الجذور الحرة وتكوين مركبات أكثر إستقرار وهذا بفضل بنيتها.
- ✓ تتميز الفلافونيدات مثل Amentoflavone,Scutellarein ينشاطها المضاد للفيروسات، حيث تم إثبات فعاليتها على كبح تضاعف فيروس HIV وذلك من خلال تثبيط إنزيم الإستنساخ العكسي ADN polymérase، كما أن لها تأثيرات مضادة للبكتيريا.
- ✓ تمتلك الفلافونيدات نشاط مضاد للإلتهاب حيث ثبت أن كل من Quercetine,Hesperidin لهما دور في تثبيط الإنزيمات المسؤولة عن مظاهر الإلتهاب.
- ✓ لها القدرة على منع إنتشار الخلايا السرطانية.
- ✓ بصفة عامة أظهرت الدراسات المكثفة للفلافونيدات في المجال الطبي الفعاليات التالية:

مضادة للحساسية، مضادة للتسمم الكبدي ومضادة لإرتفاع الضغط.[14،19]

II-2-3-4. الدراسة الكيميائية للفلافونيدات:

1-إستخلاص الفلافونيدات:

بعد قطف المادة النباتية تجفف في الظل محفوظة بعيدا عن المؤثرات الخارجية (الغبار، الرطوبة، أشعة الشمس...)، يلي ذلك تنقيتها وفرز أجزائها ثم طحنها.

يتم إستخلاص الفلافونيدات وفق بروتوكول حدده العالم LEBRETON عام 1967 م والمعدل من قبل عدة علماء بعده إلى أن أصبح هذا البروتوكول يتبع كما هو إلا في بعض الحالات التي يحتاج فيها إلى تغيير لغرض إستخلاص مواد أو فئة معينة من المركبات .

تمر عملية الإستخلاص بعدة مراحل:

- تبدأ عملية الإستخلاص الأولية بإستعمال خليطمن محلولين، في الغالب يستعمل:

الإيثانول-ماء : 7-3

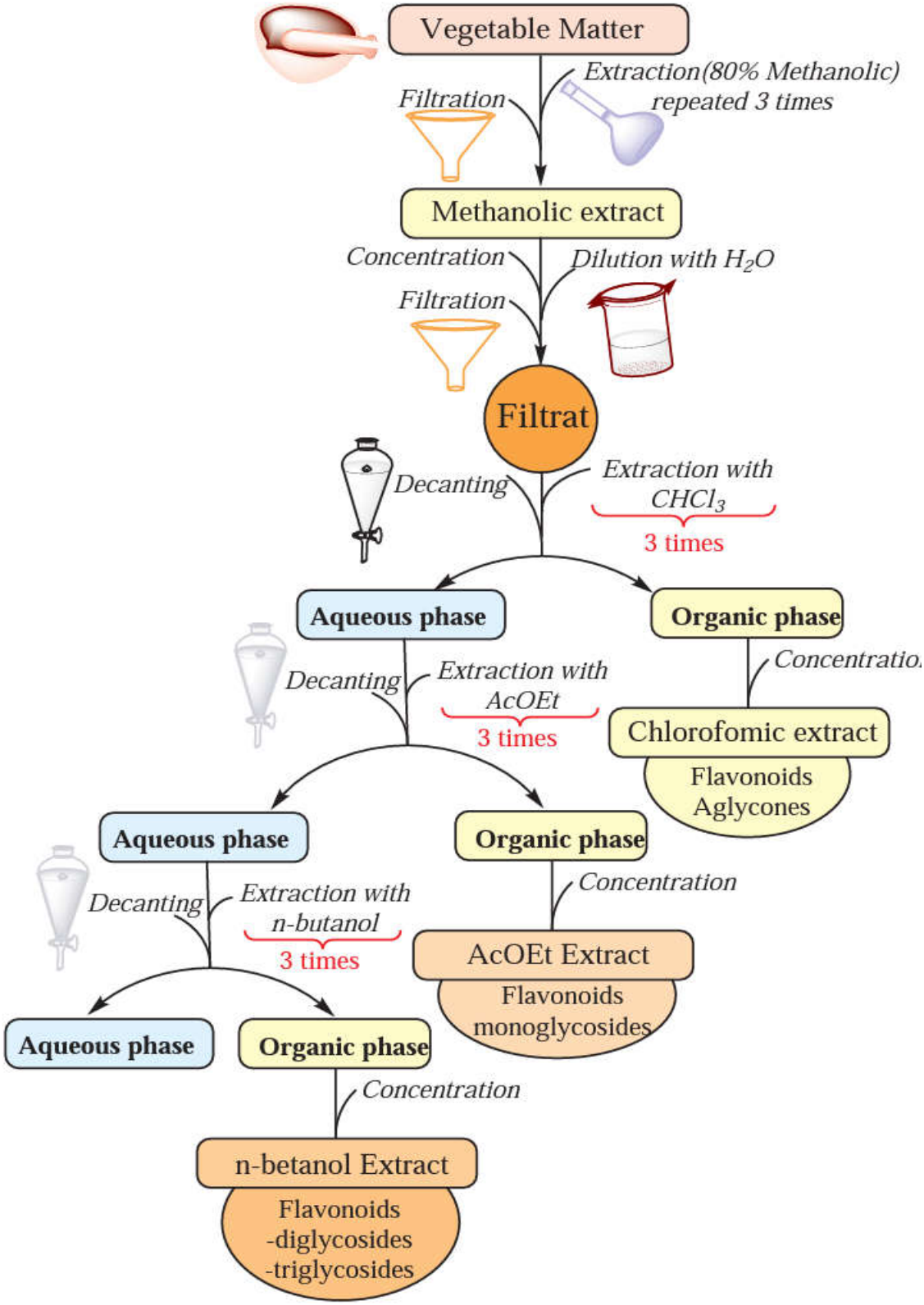
ميثانول-ماء: 7-3

ميثانول-ماء: 8-2

ميثانول: 100%

- تغمر المادة النباتية في المحلول الهيدروكحولي على البارد لمدة لا تقل عن 24 ساعة، ثم يرشح هذا الأخير ويتم تبخيره تحت ضغط منخفض حتى الجفاف وتكرر العملية 3 مرات. يعامل المستخلص الخام بواسطة الماء المقطر الساخن ويترك مدة 24 ساعة، بعدها يرشح المحلول أين يتم التخلص من الشوائب كالأتربة إضافة إلى الكلوروفيل والدهون.
- لنمر بعدها لعملية الإستخلاص من نوع سائل–سائل وهذا بإستعمال مذيبات متفاوتة القطبية قصد فصل المركبات ضعيفة القطبيةعن تلك ذات القطبية الكبيرة (إستخلاص إنتقائي)، وأكثر المذيبات إستعمالا لهذا الغرض:
  - ✓ الكلوروفورم:يستخلص به المواد ذات القطبية الضعيفة منها الفلافونيدات غير السكرية.
  - ✓ أسيتات الإيثيل: إذ يؤدي إستعمال هذا المذيب في الغالب إلى إستخلاص الجليكونات عديدة الهيدروكسيل و أحادية السكر.
  - ✓ البوتانول: يستخلص به الفلافونيدات عديدة الهيدروكسيل وعديدة السكر.[14،16،21]

والمخطط التالي يوضح طريقة إستخلاص الفلافونيدات:



الشكل رقم II- 8 : المخطط العام لإستخلاص الفلافونيدات

عند الإنتهاء من عملية الإستخلاص نركز كل الأطوار العضوية حتى الجفاف ويتم هذا تحت ضغط منخفض لتكون بذلك المستخلصات جاهزة لعملية الفصل، لكن قبل الشروع فيها نقوم بعملية كشف أولية لطبيعة الهيكل الفلافونيدي، وذلك بمجموعة من الوسائل منها كروماتوغرافيا الورق، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إضافة إلى اللون الإستشعاعي تحت الأشعة فوق البنفسجية والتي تعتبر أهم وسيلة للكشف عن ماتحويه المستخلصات من هياكل فلافونيدية محتملة.

كما تستخدم العديد من الكواشف للدلالة على وجود الفلافونيدات، حيث تقوم بإعطاء ألوان مميزة على حسب نوع المجموعات المتصلة بالهيكل الفلافونيدي، ومن الكواشف المستعملة نجد:

5% H_2SO_4, NaOH, $AlCl_3$، محلول anisaldéhyde، محلول Vaniline chlorhydride، كما تستعمل أبخرة محلول النشادر NH_3 أيضا [16،21].

2- طرق الفصل :

يعتمد الفصل على تقنية أساسية وهي الكروماتوغرافيا بأنواعها، إذ تعتمد جميع تقنياتها على توزيع المادة بين طورين احدهما ثابت والآخر متحرك، حيث الأول قد كون جامدا أو سائلا ممتزا علة دعامة جامدة أما الثاني في الغالب مايكون مذيب عضوي.

وتنقسم تقنيات الفصل الكروماتوغرافي إلى عدة أنواع من بينها :

- ✓ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة(TLC)
- ✓ كروماتوغرافيا الورق (CP)
- ✓ كروماتوغرافيا العمود (CC)
- ✓ كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)
- ✓ كروماتوغرافيا الغازية المتصلة بمطيافية الكتلة (GC-MS)

2-1-كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) :

تعد كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من أسهل أبسط وأسرع الطرق الكروماتوغرافية فهي تستعمل خاصة في فصل المركبات الطبيعية على السلمين التحضيري والتحليلي، وفي تحليل ودراسة النسب المحصل عليها من الفصلبالعمود الكروماتوغرافي وتستعمل أيضا في تحديد الشروط العملية لتطبيق CCوتعطي نظرة مبدئية للمستخلص المدروس قبل تطبيق HPLC.

الدراسة التحليلية للفلافونيدات بواسطة TLC تتطلب طور ثابت مثل البولي أميد، السليكاجال أو السليلوز، أما الطور المتحرك هو عبارة عن مذيب كحولي زائد مذيب عضوي متوسط أو عديم القطبية مثل الكلوروفورم، أسيتون، ميثانول، البيتانول... لكن في جميع الحالات يجدر بنا إضافة قطرات من حمض عضوي لاستقرار المستخلص النباتي وتجنب جرف البقع.

يتم فصل مركبات المستخلص وفق ظاهرة الإدمصاص و الذوبانية التي هي محل تنافس بين الطور الثابت والطور المتحرك التي تتحكم فيها عدة عوامل منها عامل القطبية، ومن العوامل المحددة لعملية الفصل نذكر ثابت الإحتجاز Rf والذي نلجأله في بعض الأحيان لتحديد البنية الجزئية، وذلك لوجود علاقة بينه وبين طبيعة المركب، حيث أن قيمته تتأثر بالمستبدلات ومواقعها، ومن القيم يمكننا التمييز بين الجليكوزيدات والجليكونات كما هو موضح في الجدول:[19]

الجدول رقم II- 3 : معرفة البنية الفلافونيدية من خلال قيمة ثابت الإحتجاز.

البنية الفلافونيدية	قيمة Rf
الزيادة في مجاميع OH	نقصان في Rfفي الأنظمة العضوية
إستبدال OH بمجموعةCH_3	يزداد Rf في الأنظمة العضوية
إدخال المجموعات السكرية	تنقص قيمة Rf في الأنظمة العضوية وتزداد في الأنظمة المائية

2-2- كروماتوغرافيا الورق (CP) :

تعتبر هذه التقنية من أحسن الطرق لفصل المركبات الفلافونيدية وذلك بسبب قدرة الإدمصاص الكبيرة كما في حالة ورق واتمان 3، يعتمد مبدأ هذه التقنية على وضع خليط بواسطة ماصة على كامل عرض الورقة قريب من الحافة العلوية مع ترك هامش 2سم، وبعد أن يجف تغمس الورقة في المملص أين تبدأ الحزم في الهبوط تسلسليا، وبالإستعانة بمصباح UV يتم تحديد الحزم التي تقص إلى قطع صغيرة وتغمس في الميثانول، بعدها ترشح ويجفف الراشح لتجرى عليه عملية فحص متعددة بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للتأكد من نقاوة المركب الذي تم فصله. [16]

2-3- كروماتوغرافيا العمود (CC) :

كروماتوغرافيا العمود هي طريقة تحضيرية تسمح بفصل المكونات المختلفة انطلاقا من عينة يتراوح وزنها 1g إلى عدة غرامات، هذه الطريقة تتطلب تجهيزا بسيطا وتعتمد في الفصل على ظاهرة القطبية والوزن الجزئي الذي بدوره يعمل على تحريك الطور المتحرك على طول الأنبوب الزجاجي الذي يحوي الطور الثابت.

الهدف الأساسي من هذه الطريقة هو الحصول على كسور أقل تعقيدا يمكن فصلها بالطرق الكروماتوغرافية الأخرى، ويستعمل لهذا الغرض كدعامة ثابتة كل من (السيليكاجال، السيليلوز أو متعدد الأميد)، حيث يعتبر السيليكاجال دعامة جيدة لفصل الفلافونيدات الأقل قطبية، أما السيليلوزفيستخدم لفصل الفلافونيدات الجليكوزيدية خاصة على عكس متعدد الأميد الذي يعد أفضل دعامة لفصل الفلافونيدات الجليكوزيدية وغيرها.[16،19]

2-4- كروماتوغرافيا ذات الكفاءة العالية (HPLC) :

كروماتوغرافيا العمود ذات الكفاءة العالية هي تقنية متطورة تطبق في الدراسات التحليلية للجزيئات غير قابلة للتبخر ذات القطبية العالية. تمتاز هذه التقنية بعدة إيجابيات أهمها السرعة والدقة العالية.

بالنسبة للفلافونيدات تعد هذه التقنية من أدق و أنجح الطرق الفصليةفهي تستعمل بكثرة في الدراسات النوعية مقارنة بالدراسات الكمية، طبقت أول مرة في الدراسة التحليلية للفلافونيدات عام 1974م من طرف Ward et Pelter .

عموما الفلافونيدات الحرة تفصل بهذه التقنية بكيفيتين العادية أو المعكوسة للقطبية أما الفلافونيدات السكرية يستحسن فصلها بالكيفية المعكوسة للقطبية، ففي الكيفية العادية نستعمل كطور ثابت السيليكاجال وكطور متحرك مزيج الهيبتان وإيزوبروبانول أوالإيثانول، أما في الكيفية المعكوسة فنستعمل كطور ثابت (C-18) وكطور متحرك مزيج من الماء–ميثانول–حمض الخل أو مزيج من الماء–أسيتونتريل–حمض الخل.

ومسايرة للتطورات العلمية في الدراسات الفصلية زودت هذه الطريقة بمختلف تجهيزات الكشف منها مطيافية الكتلة(SM)، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) ومطيافية الرنين المغناطيسي(RMN)، فيما يخص الكشف عن الفلافونيدات فإنه يتم بسهولة بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية نظرا لكونها تمتلك عصابتين للإمتصاص.[19]

2-5- كروماتوغرافيا الغازية المتصلة بمطيافية الكتلة(GC-MS):

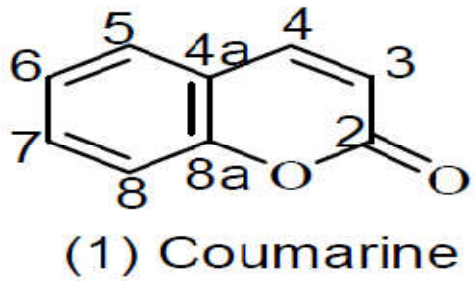
مطيافية الكتلة هي تقنية تستعمل في التعرف على البنية الكيميائية لمركب ما وذلك بالتعرف على الكتلة الجزيئية ومختلف الروابط الكيميائية في المركب من خلال دراسة الشظايا (الأيونات)، تعتمد على عدة طرق للتأين أهمها وأقدمها تقنية القذف الإلكتروني (EI)، وتستعمل هذه التقنية في حالة الجليكونات ولا تكون صالحة في حالة في حالة الجليكوزيدات نظرا لوجود المستبدلات السكرية التي لا تتحمل الطاقة القوية التي تتطلبها هذه التقنية، لذلك نلجأ إلى إستعمال المشتقات المثيلة لهذه المركبات.

كروماتوغرافيا الطور الغازي طريقة من الطرق التي تطبق في الدراسات التحليلية للمركبات العضوية وخاصة تلك القابلة للتبخر، مقدار العينة المدروسة يتراوح من ميكروغرام إلى مليغرام، إزدواجية هذه الأخيرة بمطيافية الكتلة أدى إلى التسريع والتدقيق في تحديد الصيغ الكيميائية للمركبات المفصولة.

بالنسبة للفلافونيدات هذه التقنية تطبق في فصل الفلافونات والفلافونولات وأكثر تخصيص تطبق في فصل المركبات الفلافونيدية التي تحتوي على عدد كبير من المجموعات المثيلية أو في فصل المركبات الفلافونيدية أحادية أو ثنائية المجموعات الهيدروكسيلية.[19]

II-2-4- الكومارينات:

أدخل مصطلح الكومارين أول مرة سنة1820م من طرف العالم "Vogel "، الإسم مشتق من كلمة Coumarou وهو الإسم الشائع لشجرة Tonka، تنتمي الكومارينات إلى مجموعة من المركبات تسمى a- benzopyrone تتكون من حلقة عطرية مرتبطة مع حلقة بيران، صيغتها الجزيئية ($C_9H_6O_2$) وهو ناتج من تحلق حمض p-coumaric acid الذي يعتبر المركب الأم للعديد من المنتجات الطبيعية وذلك بإستبدال موضع أو أكثر في نواة الكومارين بمجموعات أكسيجينية التي توجد على هيئة فينولية أو إيثيرية أو مرتبطة بوحدة سكرية تكون في المواضع 3 إلى 8. يعرف منها ما يقارب 1500 مركب منتشرة في 800 نوع نباتي.[14،22]



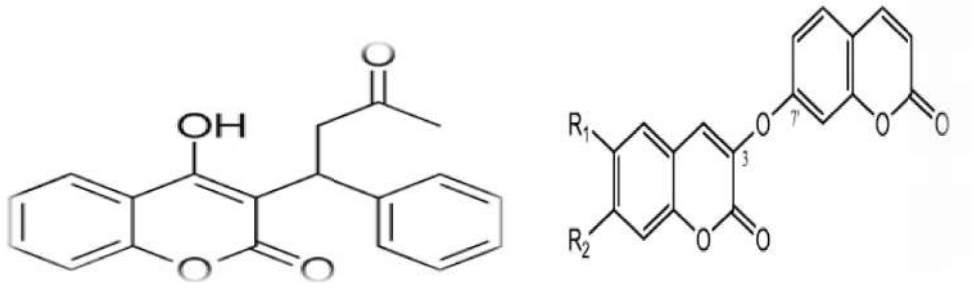
(1) Coumarine

الشكل رقم II- 9 : الصيغة الكيميائية العامة للكومارينات.

II-2-4-1- تقسيم الكومارينات:

يمكن تقسيم الكومارينات إلى عدة أقسام:

1) كومارينات مستبدلة على حلقة البيرون: وتشمل هذه المجموعة كومارينات مستبدلة في الموقعين 3 أو 4 على حلقة البيرون مثل: هيدروكسيل، ألكيل، فينيل ، ومن أشهر العائلات التي تحتوي على هذا النوع من الكومارينات نجد: Umbelliferae, Meliaceae, Rutaceae, Papillonaceae, Guttiferae.



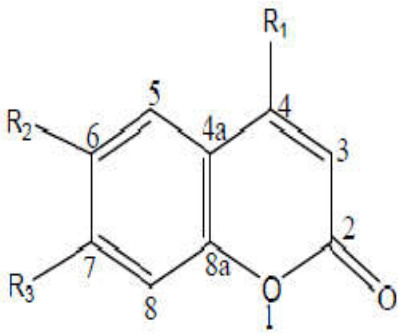
الشكل رقم II- 10 : أمثلة عن كومارينات مستبدلة على حلقة البيرون.

2) كومارينات مستبدلة على الحلقة البنزينية:يكون المستبدل على حلقة البنزين بمجموعات هيدروكسيل، ألكيل أو أسيتيل. يتواجد هذا النوع في أكثر من 100 عائلة نباتية مثل Umbelliferone، حيث يتواجد في أزهار Hydrangea piniculta وقلف Aegle وقشورCitrus grandis.

الشكل والجدول المواليين يوضحان بنية بعض كومارينات هذا النوع:

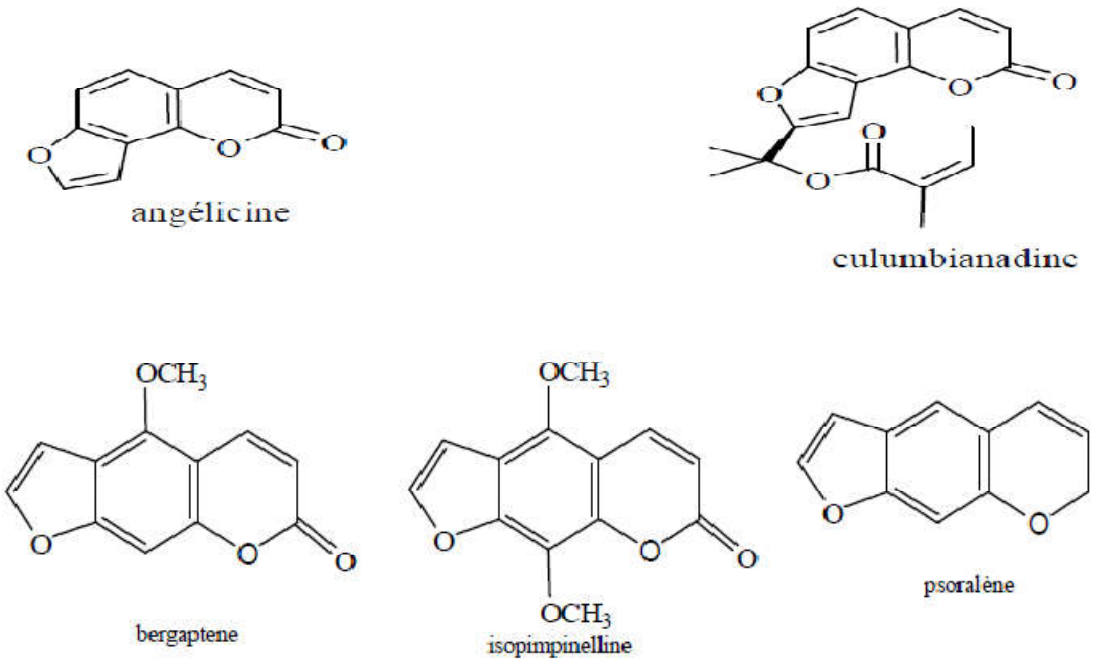
الجدول رقم II- 4:بنية بعض كومارينات المستبدلة على حلقة البيرون.

	R1	R2	R3
coumarine	H	H	H
herniarine	H	H	OCH_3
Méthylombelliférone	CH_3	H	OH
scopolétine	H	OCH_3	OH
ombelliférone	H	H	OH



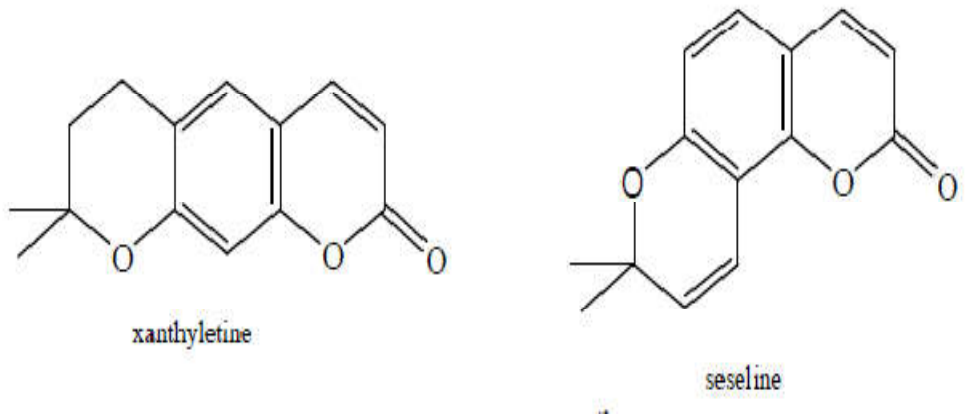
الشكل رقم II- 11 : الصيغة الكيميائية لكومارين مستبدل على حلقة بيرون.

فيرانوكومارينات: تتألف هذه المجموعة من إندماج حلقة الفيران مع الكومارين في الموقع 7 وتضم نموذجين أساسيين الأول خطي والثاني زاوي، وقد ثبت أن عائلة Rutaceaeيتركز بها هذا النوع من الكومارينات مقارنة بالعائلات الأخرى.



الشكل رقم II- 12 : أمثلة عن مركبات الفيرانوكومارينات.

3) **بيرانوكومارينات: تتكون هذه المجموعة من إندماج حلقة سداسية مع نواة الكومارين في الموقع 7 لتعطي نوع خطي أو زاوي.** [22]



الشكل رقم II- 13 : الصيغة الكيميائية لمركبات البيرانوكومارينات.

II-2-4-2- تراكم وتوزيع الكومارينات:

تتواجد الكومارينات في عدة فصائل نباتية مثل Magnoliaceae, Leguminosae, Compositae, Oleaceae, Rutaceae.**يتم الإصطناع الحيوي للكومارينات في الأوراق لكنها تتراكم بنسب كبيرة في الثمار، الجذور**

والسيقان، كما أن التغيرات الفصلية والعوامل المحيطية يمكن أن تؤثر على تواجد وتراكم الكومارينات في مختلف أجزاء النبات. [22]

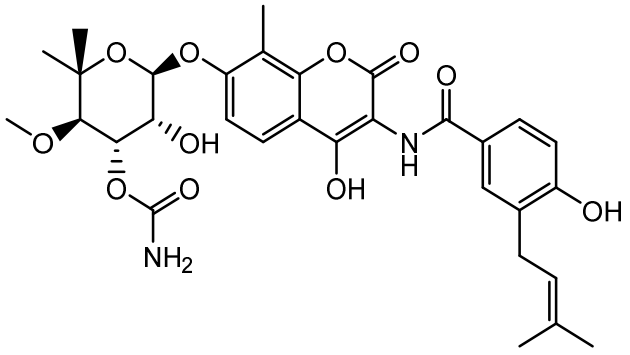
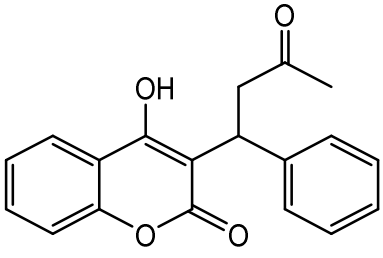
II-2-4-3. أهمية ودور الكومارينات :

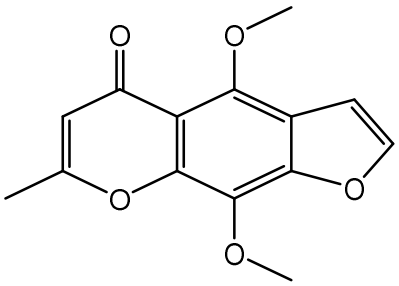
الكومارينات مهمة لكل من النبات والحيوان، إذ تعتبر من أهم المستخلصات الطبيعية حيث تستعمل كمواد حافظة للأغذية وتضاف إلى مستحضرات التجميل والعطور، والأهم من ذلك أنها إرتبطت بالعديد من الأنشطة البيولوجية والدوائية متمثلة في:

- ✓ مضادات للأكسدة.
- ✓ مثبطات إنزيمية لطلائع المواد السامة.
- ✓ مضادات للإلتهاب والحساسية.
- ✓ مضادات للفيروسات والسرطان.
- ✓ مضادات لتخثر الدم وإنسداد الأوعية الدموية للقلب.

والجدول أدناه يوضح بعض التسميات والبنيات الكومارينية و نشاطها البيولوجي. [14]

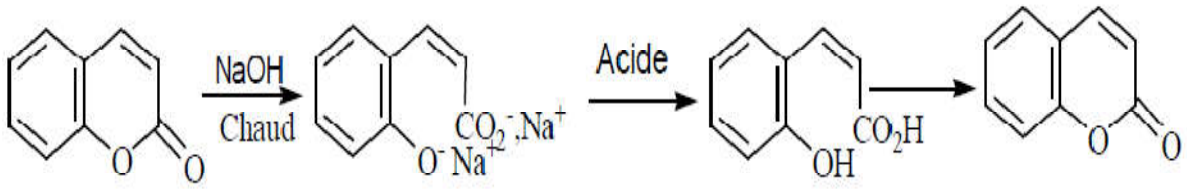
الجدول رقم II- 5 : بعض التسميات والبنيات الكومارينية ونشاطها البيولوجي.

نوع الكامارين	البنية الكيميائية	الخاصية العلاجية
Aminocoumarine		مضاد حيوي
Coumaphéne		مضاد للتخثر، يمنع إنسداد الأوعية الدموية

Khelline		معالجة المغص الكلوي، مرض الشريان التاجي، البو والأمراض الجلدية مثل الصدفية

II-2-4-4. طرق إستخلاص الكومارينات وتنقيتها :

يمكننا إستخلاص الكومارينات من مصادرها الطبيعية بمعاملة الأجزاء النباتية بالمحاليل القلوية حيث أن هذه الأخيرة لها القدرة على تحطيم الرابطة اللاكتونية في الكومارين فتنشأ أملاح يمكن أن تتخلق مرة أخرى في وسط حمضي لتعطي المركب الأصلي كما يوضحه المخطط التالي:



الشكل رقم II- 14 : معادلة الكيميائية توضح مبدأ إستخلاص الكومارينات.

أما الشائع في الوقت الحاضر فهو إستخلاص الكومارينات بالمذيبات خاصة المحاليل الكحولية دون المعالجة القلوية أو الحمضية التي تؤثر على المركب الأصلي في غالب الأحيان، ثم تليها عمليات الفصل بالطرق الكروماتوغرافية المختلفة. [22]

II-2-5.التانينات :

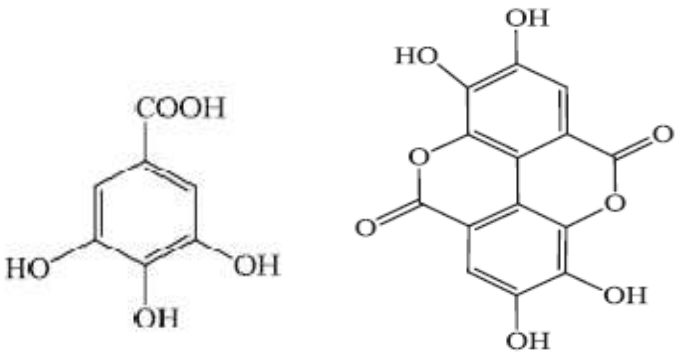
وتعرف ايضا بالعفصيات أو المواد الدباغية وزنها الجزيئي يتراوح مابين 500-20000Dalton, تنتج بشكل طبيعي في النباتات ,وتتواجد في جميع أجزائه كالخشب ، الأوراق. الجذور.وتتواجد أيضا في الثمار والفواكه كالعنب، التمر ، القهوة والكاكاو.وهي مركبات أيضية ثانوية ، صيغتها العامة(C_6-C_3-C_6) ، تحتوي على عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل والتي تمكنها من الذوبان في الماء، تسمى التانينات بالمواد الدباغية لأنها مركبات مستخدمة بالدباغة ,وهذا بفضل خاصيتها في تحويل جلود الحيوان الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ، وهي عبارة عن مواد

قابضة تتميز بقدرتها على الإرتباط بالبروتينات وإنزيمات الجهاز الهضمي ، و أيضا السيليلوز وبعض العناصر المعدنية مثل الحديد مشكلة معقدات ، مما يؤدي إلى ترسيبها ولها مذاق غير مستساغ.[18،23]

تتقسم التانينات إلى مجموعتين : تانينات قابلة للإماهة وتانينات مكثفة.

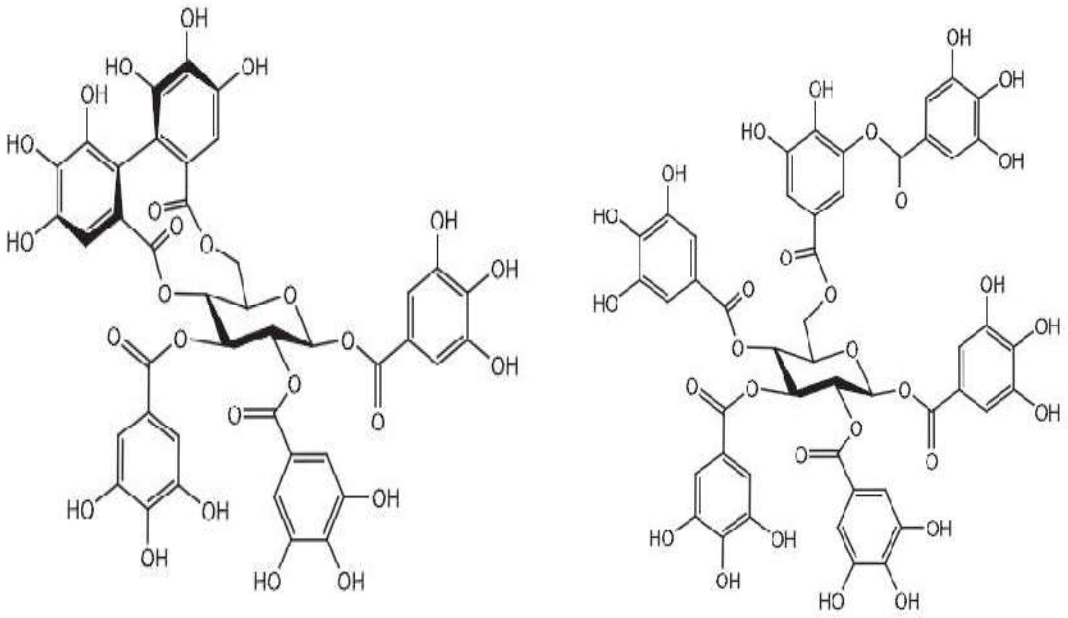
II-2-5-1.التانينات القابلة للتحلل أو الإماهة :

تتراوح كتلتها الجزيئية بين 500u-5000u قابلة للتحلل أو الإماهة هي إسترات لسكر وعدد متغير من جزيئات من حمض الفينول ، عند إماهتها ينتج جزء سكري في ألب الأحيان يكون غلوكوز وجزءا فينوليا مشكلة من الغاليك أو حمض الإيلاجيك أكثر من 500 تانين متحلل ثم عزله من أنواع مختلفة من النبات، ولها عدة فعاليات فيزيولوجية مضادة للأورام والفيروسات ولها تأثير منشط ومبثط لإنزيمات مختلفة. [18،23]



حمض الإيلاجيك Ellagic acid حمض الغاليك Gallic acid

الشكل رقم II- 15 : الصيغة العامة لحمض الإيلاجيك وحمض الغاليك.



Tannic acid ellagitannin Tannic acid gallotannin

الشكل رقم II- 16 : التركيبة الكيميائية للتانينات المتحللة.

II-2-5-2.التانينات المكثفة :

هي الأكثر إنتشارا وهي مركبات ناتجو من بلرة لجزيئات أولية تملك البينة العامة للفلافونيدات ويعد Catéchine Flavan3ol **أو** Flavane3,4diols **الأكثر أهمية و ترتبط في ما بينها بروابط كربون-كربون مما يجعلها صعبة الإنحلال .تتميز التانينات المكثفة بعدم وجود المجاميع الكربوكسيلية في تراكيبها الكيميائية ، و يمكن للجزيئات الكبيرة أن تكون عديمة الذوبان في الماء ، و يوجد هدا النوع من التانينات في الخضر ، الفوالكه و بعض الحبوب** [18].

II-2-5-3.الفعالية الفيزيولوجية للتانينات:

ينسب للتانينات العديد من الفعاليات الفيزيولوجية في جسم الإنسان :

- **تنشيط الخلايا البالعة ومقاومة الأورام.**
- **لها القدرة على تثبيط نمو الأحياء المجهرية (الجراثيم، الفطريات، الفيروسات والخمائر) وترسيب القلويدات والبروتينات.**
- **لها فعل قابض عند ذوبانها فالماء، مما يمنحها قدرة عالية في معالجة الجروح وتكوين أنسجة جديدة.**
- **لها القدرة في علاج الإلتهابات المخاطية و التهاب الأمعاء.**

- تدخل كذلك في تحضير الأدوية المستخدة في علاج الإسهال.
- تستعمل كمضادات للسرطان وداء السكري.
- لها أيضا دور في وقاية الكبد والقلب والأوعية الدموية.[23]

الفصل الثالث:

الفعالية المضادة للأكسدة

III–1.مقدمة:

الأكسجين عنصر مهم في عمليات الأكسدة التي تعتبر أحد التفاعلات الأساسية والمهمة في جسم الإنسان، حيث يقوم الجسم بالعديد من العمليات الحيوية ومنها أكسدة الغذاء بإستخدام الأكسجين للحصول على الطاقة، ولكن في المقابل نواتج تلك الأكسدة مواد ضارة بالجسم.

من بين هذه النواتج هي جزيئات الأكسجين النشط والتي تعرف بالجذور الحرة، حيث تعمل هذه الأخيرة على تدمير جزيئات الخلية من خلال سلسلة من التفاعلات، لتحدث بها أضرارا بالغة في مادتها الوراثية و وظائفها الخلوية المختلفة، مما يجعل أجسامنا عرضة للعديد من الإلتهابات والفيروسات والسرطانات، لذا يمكن القول أن أكسدة خلايا الإنسان هي الخلل الذي يحدث لخلايا الجسم، نتيجة لإرتباط الجذور الحرة بها، فتقوم هي بأكسدة الخلايا وتدميرها، و تصبح بذلك خلايا تالفة.[1]

III -2 . الجذور الحرة :

III–2–1.تعريف الجذور الحرة :

الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية ، تملك إلكترونا حرا أو أكثر في مدار التكافؤ ، و هو السبب في عدم استقرارها، و هي عبارة عن شظايا جزئية ، تنشأ عند استخدام الخلايا الأكسجين لتوليد الطاقة ، شديدة التفاعل تسعى للاستقرار من خلال اقترانها مع جزيئات بيولوجية مثل الدهون، البروتينات، الأحماض النووية و الكربوهيدرات . [24]

III –2 – 2 . مصادر الجذور الحرة :

يتم إنشاء الجذور الحرة من مصادر داخلية نتيجة عدة وظائف داخلية للجسم من قبل الخلايا الحية نتيجة العمليات الفيزيولوجية و البيوكيميائية في الجسم مثل تنشيط الخلايا المناعية، التهابات، الإجهاد العقلي، الخلايا البالعة، الميتوكوندري و فقر الدم ، و مصادر خارجية ,عند تعرض الجسم لبعض المواد البيئية السامة, تنتج عن تلوث الهواء، المياه و التدخين , وتناول الكحول، المعادن الثقيلة (الكادميوم، الزئبق، الرصاص و الحديد)، المخدرات ،المذيبات العضوية , الأشعة فوق البنفسجية ، الأدوية و مبيدات الحشرات . [24]

III –2– 3 . أنواع الجذور الحرة : [23]

يتم إنتاج العديد من المواد المؤكسدة القوية خلال عمليات الأيض الطبيعية في كل من الخلايا الدموية الحمراء ومعظم خلايا الجسم الأخرى، وهذه المواد المؤكسدة تتضمن الأنواع الأكسجينية الفعالة(ROS) مثل :جذر فوق الأكسجين (O^{-}) الأكسجين المنفرد $^1O_2$، فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ، جذور الألكوكسيل ($RO^{\cdot}$)، و

البيروكسيل($ROO^{\cdot}$)، جذر الهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$)، وحمض الهيبوكلوريك (HOCl)، والأنواع النيتروجينية الفعالة مثل : أكسيد الآزوت (NO•) ،

1. جذر أيون فوق الأكسيد:

جذر أيون فوق الأكسيد هو واحد من الأنواع الأكسيجينية النشطة أو الجذور الحرة ينتج طبيعيا في كل خلايا الكائنات الحية التي تتنفس الأكسجين في الميتوكندريا، ويتم تكوينه في خلايا الدم الحمراء عن طريق الأكسدة الذاتية للهيموجلوبين Hemoglobin (Hb)، إلى ميثيموجلوبين Methemoglobin وفي الأنسجة الأخرى يتم تكوين هذا الجذر الحر عن طريق عمل إنزيمات Cytochrome –P450، Xanthine oxidase و reductase.

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

$$NADPH + 2O2 \longrightarrow NADP^+ + H^+ + 2O_2^{\cdot-}$$

وهو جذر سام جدا لأن بإمكانه التفاعل مع بيروكسيد الهيدروجين وفق تفاعل Haber-Weiss، لإعطاء جذر الهيدروكسيل شديد التفاعل والذي يمكن أن يسبب أكسدة المكونات الخلوية، هذا التفاعل يحفز بواسطة أيونات بعض العناصر الإنتقالية، مثل الحديد والنحاس ويتفاعل $O_2^{\cdot-}$ أيضا مع أكسيد النيتريك لإنتاج أيون Peroxynitrite، وهو عامل مؤكسد قوي للنترتة.

$$O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{2+}/Cu} O2 + OH^- + {}^{\cdot}OH$$

2. فوق أكسيد الهيدروجين:

ينتج النوع H2O تلقائيا من الجذر $O_2^{\cdot-}$ في وسط حمضي أو من تَفاعل dismutation (تَفاعل بين جزيئين يكسب أحدهما ما يخسره الثاني) للأيون $O_2^{\cdot-}$ بواسطة إنزيم Superoxide dismutase(SOD)، حسب التفاعل التالي :

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

يتحول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في وجود إنزيمCatalase الموجود في العديد من أنواع الخلايا إلى ماء H_2O و أكسجين O_2كما أن الخلايا الدموية البيضاء المتعادلة تمتلك إنزيم فريد يسمى Myeloperoxidase، يحول H_2O_2 و الهاليدات إلى أحماض ، ويعتبر H_2O_2 من الأنواع الأكسيجينية الأكثر سمية ، لأن غياب شحنة عليه يجعله قابل للمرور عبر الأغشية البيولوجية ، ويمكن لجزيء H2O2 القضاء على الميكروبات المسببة لبعض الأمراض، كما يسبب تلف الجزيئات الحيوية مثل : DNA ، RNA والبروتين ودهون الأغشية الخلوية كما يمكنه أن يتحول إلى جذر $OH^{\cdot}$ في وجود بعض أيونات المعادن وفقا لتفاعل Fenton ، وبتفاعله مع $O_2^{\cdot-}$ وفق تفاعل Haber–Weiß حسب المعادلات التالية:

$$Fe^{2+}/Cu^{2+}$$

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

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + {}^{\cdot}OH$$

3. **جذر الهيدروكسيل:**

يمكن أن يتكون من H_2O_2 في تفاعل غير إنزيمي يتم تحفيزه بأيونات Fe^{+2} ، ويسمى هذا التفاعل بتفاعل Fenton، ويعتبر جذر الهيدروكسيل ($^{\cdot}OH$) ، أكثر نشاطا وأقل استقرارا من بين مجاميع ،حيث يملك نصف عمر صغير جدا ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض الأمينية والأحماض النووية وليبيدات الأغشية الخلوية وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلف للأنسجة .

4. **الأكسجين الأحادي:**

يعتبر الأكسجين الأحادي من الأنواع الأكسيجينية غير الجذرية، يتميز بغياب إلكترون حر في المدار الخارجي، ويتشكل في الأنسجة البيولوجية عن طريق تفاعلات الأكسدة الحيوية والتي تشمل peroxidases و lipoxygenases أو عن طريق العلاج بالأشعة ، أو بتفاعل الأصناف الأكسيجينية النشطة (ROS) فيما بينها، وينتج أيضا عن طريق التحفيز الضوئي كما يمكن أن ينتج عن إجهاد تأكسدي محفز بواسطة تنشيط الخلايا البالعة الكبيرة، أو خلال عملية أكسدة الدهون ويلحق $^1O_2$ أضرارا خلوية بتفاعله مع دهون الأغشية الخلوية والبروتينات، وDNA وذلك حسب مواقع إنتاجه ويسبب تلفا للأنسجة .

5. **جذور الألكوكسيل($RO^{\cdot}$)و جذور البيروكسيل($ROO^{\cdot}$):**

تتشكل هذه الجذور من أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة في الليبيدات بواسطة أيون فوق الأكسيد، الجذر الهيدروكسيلي، الأكسجين المنفرد والأكسجين، فمثلا جذر $ROO^{\cdot}$ يتشكل مباشرة من تفاعل الأكسجين مع جذر الالكيل $R^{\cdot}$.

6. **أكسيد الآزوت:**

ينتج جذر $NO^{\bullet}$ عن طريق أكسدة L-arginine إلى L-citrulline بواسطة إنزيم Nitric oxide synthaseفي وجود الأكسجين في العديد من الأنواع الخلوية، وله دور فعال في نقل الإشارة الخلوية

$$O2 + arginine + NADPH \longrightarrow {}^{\bullet}NO + citrulline + H2O + NADP+$$

ويتفاعل جذر $NO^{\bullet}$ مع جذر $O_2^{\cdot -}$ لإعطاء أيونPeroxynitrite ($ONOO^-$) وهو مؤكسد قوي جدا وعالي النشاطية كانه أن يساهم في تلف الأنسجة في حالة الالتهابات المزمنة.

$$O_2^{\cdot -2} + {\bullet}NO \longrightarrow ONOO^-$$

7. **حمض الهيبوكلوريت:**

ينتج هذا النوع الأكسيجيني النشط(HOCl) عن طريق أكسدة أيونات Cl^- بأكسيد الهيدروجين H2O2 بواسطة إنزيم Myeloperoxidase الموجود في الخلايا المتعادلة (neutrophils) نوع من خلايا الدم البيضاء

$$H_2O_2 + Cl^- \xrightarrow{\text{myeloperoxidase}} HOCl + OH^-$$

ويعتبر (HOCl) مؤكسد قوي جدا للعديد من الجزيئات الحيوية وخاصة المجموعات الأمينية، ويتفكك في الأوساط الحامضية ويعطي غاز الكلور السام Cl_2، وله قدرة عالية على قتل البكتيريا والأحياء الدقيقة

III –2– 4 . آلية تشكل الجذور الحرة : [26]

الجذور الحرة يمكن أن تتشكل كما يلي :

- ✓ **انشطار الرابطة التساهمية من الجزيء الطبيعي مع احتفاظ كل شظية بالإلكترونات المقترنة**

$$AX \longrightarrow A^{\cdot} + X^{\cdot}$$

- ✓ **إضافة إلكترون منفرد لجزيء طبيعي**

$$X^{\cdot} + e^- \longrightarrow X^{\cdot -}$$

III–2– 5 . دور الجذور الحرة:

الجذور الحرة لها دور مزدوج إما أن تكون ضارة أو نافعة للأنظمة الحية ففي حالة انخفاضها وفي شروط معتدلة تلعب الجذور الحرة دورا حيويا:

- ✓ **قتل الجراثيم باستخدام إنزيم الميليوبروكسيداز و ذلك عن طريق تحفيز من بيرو كسيد الهيدروجين**
- ✓ **تمايز الخلايا بشكل عام تؤدي إلى ارتفاع معدلات التنفس المقاومة للسيانيد**
- ✓ **للحفاظ على الوظائف الفسيولوجية الطبيعية للجسم أساسا في الجهاز المناعي، إنضاج هيكل الخلية، آليات عمل الخلايا.**

III –2– 6. الأمراض الناجمة عن الجذور الحرة : [27]

تتسبب الجذور الحرة في العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان بما في ذلك:

- ✓ **اضطرابات الأعصاب مثل مرض الزهايمر، مرض باركنسون، التصلب المتعدد، فقدان الذاكرة و الاكتئاب.**

- ✓ الاضطرابات الرئوية مثل التهاب الرئة، مرض الربو، مرض الانسداد الرئوي المزمن و أمراض الكبد
- ✓ الاضطرابات الكلوية مثل التهاب الكلية و الفشل الكلوي المزمن.
- ✓ التهاب المفاصل الروماتيزم و البنكرياس
- ✓ أمراض الجهاز الهضمي مثل القرحة المعدية، التهاب القولون و الأمعاء.
- ✓ ارتفاع ضغط الدم و الصدمات النفسية
- ✓ الايدز و الأورام السرطانية مثل سرطان الرئة، سرطان المستقيم، سرطان الدم، سرطان المبيض و سرطان الثدي، تثبيط المناعة و العقم
- ✓ أمراض القلب والأوعية الدموية

III –3. مضادات الأكسدة :

III–3– 1– تعريف مضادات الأكسدة :

هي جزيء أو ايون أو جذر مستقر نسبيا , قادرة على تأخير أو منع أكسدة جزيئات أخرى , تحمي الخلايا من الأضرار التي تسببها الجزيئات غير المستقرة و التي تعرف بالجذور الحرة, و تتكون من مجموعتين رئيسيتين هما منع بدء الأكسدة و إبطاء تطور سلسلة التفاعلات حيث تعرف على انها أي مادة تكون بتركيزات منخفضة مقارنة بما كانت عليه المواد القابلة للأكسدة تؤخر أو ربما تمنع أكسدتها و توجد بوفرة في الفواكه، الخضروات، الحبوب، المكسرات، بعض اللحوم، الدواجن و الأسماك ، فهي تلعب دورا كبيرا في تأخر تفاعلات أكسدة دهون المنتجات الغذائية .[25]

III–3– 2 . آليات مضادات الأكسدة :

لمضادات الأكسدة عدة آليات تتمثل في كسر سلسلة تفاعلات جذرية، امتصاص الأشعة فوق البنفسجية و المرئية، كبح الجذور الحرة، توقيف انتقال الالكترونات و إزالة المعادن الثقيلة بالاستخلاب. [25]

III –3– 3 – تصنيف مضادات الأكسدة :

تصنف وفقا لآلية عملها، مضادات الأكسدة الطبيعية و هي كسر سلسلة تفاعلات المواد المضادة للأكسدة، و مضادات الأكسدة الاصطناعية وتعتبر وقائية .[28]

III–3– 3 – 1 مضادات الأكسدة الطبيعية:

اكتسبت مضادات الأكسدة في الآونة الأخيرة اهتماما متزايدا نظرا لأهميتها فمنها المصنعة من قبل الجسم البشري مثل إنزيمات، بروتينات ومنها ما يتم الحصول عليه من المواد الغذائية التي نتناولها مثل فيتامينات، كاروتينات

وفلافونيدات، و عليه فان مضادات الأكسدة الطبيعية تحمي الجسم من الجذور الحرة و تؤخر تقدم الكثير من الأمراض المزمنة و كذلك أكسدة الدهون.[25]

, وهي تضم نوعين مضادات أكسدة إنزيمية وأخرى غذائية. [24]

- مضادات الأكسدة الإنزيمية :

تعتبر خط دفاعي أو ضد الجذور الحرة وهي عبارة عن إنزيمات خاصة هي (SOD(super ،CAT(catalase oxide dismutase),(Glutathione Peroxidase). [24]

1. إنزيم فوق أكسيد الديسميوتاز:

يعتبر انزيم(super oxide dismutase) SOD من أكثر الإنزيمات المضادة للأكسدة في جسم الإنسان، ويعمل هذا الإنزيم على تحفيز التخلص من الجذر الأيوني النشط فوق الأكسجين ، وذلك بتحويله إلى أكسيد الهيدروجين H2O2 والأكسجين O_2.

2. إنزيم الكاتالاز :

يعمل إنزيم CATكمادة مقاومة للأكسدة عن طريق إزالة أكسيد الهيدروجين، ويوجد في معظم الخلايا والأعضاء والأنسجة خاصة في الكبد وكريات الدم الحمراء أين يتواجد بتراكيز مرتفعة ويحول إنزيم CAT أكسيد الهيدروجين H2O2 إلى ماء H_2O و أكسجين O_2.

3. إنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز :

إنزيم Glutathione Peroxidase هو عبارة عن Selenoproteins ويوجد في العصارة الخلوية والمتوكوندريا، ويعتبر من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة، ويرجع هذا الإنزيم(GPx) أكسيد الهيدروجينH2O2 والبيروكسيدات العضوية في وجودGSH وينتجGS-SG كما يقلل من أكسيد الهيدروجين بتحويله إلى ماء و أكسجين، ويقوم هذا الإنزيم بحماية البروتينات الخلوية وأغشية الخلايا.

- مضادات الأكسدة الغذائية :

وهي مضادات أكسدة ذات مصدر غذائي كفيتامين C – و E وبعض المعادن والكروتينويدات والمركبات الفينولية (الأحماض الفينولية، الفلافنويدات، التنينات....) وكذا الزيوت الأساسية .[25]

III–3– 3 – 2. مضادات الأكسدة الاصطناعية :

تستخدم مضادات الأكسدة الاصطناعية على نطاق واسع كمضافات غذائية نظرا لأدائها العالي، انخفاض التكلفة و توفرها الواسع ، و مؤخرا زاد الاهتمام بمضادات الأكسدة الاصطناعية لأن هذه المغذيات تعتبر علاجية و وقائية، تستخدم في الصناعات الغذائية, الأدوية و مستحضرات التجميل , لمنع أكسدة الدهون .

و هناك أربع مضادات أكسدة اصطناعية تستخدم على نطاق واسع في الأطعمة و هي BHT،PG، AG , BHA . [25]

III-3- 4 . شروط إضافة مضادات الأكسدة : [2]

لإضافة هذه المواد في الأغذية يجب أن يشترط فيها ما يلي :

- ✓ درجة السمية ضعيفة و فعالة بتركيز منخفض في أنواع عديدة من الدهون.
- ✓ عدم إضافة رائحة غير مرغوب فيها.
- ✓ نزع نكهة مرغوب فيها.
- ✓ إضافة نكهة غير مرغوب فيها.

إن إضافة فائض من مضادات الأكسدة في الغذاء ينتج عنه تسمم أو طفرات و بالتالي تعرض صحةالإنسان للخطر لهذا في معظم البلدان تكون إضافة مضادات الأكسدة في الأغذية المصنعة محدودة بدقة.

III –3– 5 . الطرق المستعملة في تحديد الفعالية المضادة للأكسدة :

هناك عدة اختبارات تستعمل لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة نذكر منها الأكثر استعمالا

- ❖ اختبار DPPH
- ❖ اختبار β-carotene
- ❖ اختبار ABTS
- ❖ اختبار FRAP
- ❖ اختبار CUPRAC

1. اختبار الـ DPPH : يعتمد هذا التفاعل على إرجاع جذر الـ DPPH , الذي هو عبارة عن جذر مستقر يظهر لون بنفسجي في المحلول, ويتحول إلى اللون الأصفر عندما يلتقط من طرف مضاد الأكسدة, في الواقع يتحول إلى الغير جذري بعد تشبع الطبقة الإلكترونية, المصحوبة بفقدان اللون البنفسجي, هذا التغير في اللون يترجم بنقص الامتصاص بدلالة الزمن عند طول موجة 517 nm . [24]

2. اختبار ال β-carotene : يعتمد هذا الاختبار على تحديد قدرة المركب المختبر على مسك الجذر β-carotene المكون من (Tween + Linolic acid + β-carotene) و مقارنتها بمضاد أكسدة مرجعي هو BHT و α-Tocopherol . [24]
3. اختبار ABTS : يعتمد هذا الاختبار على تحديد قدرة المركب على مسك الجذر $ABTS^{+}$ المكون من (ABTS و Potassium Persulfate) , ومقارنتها بمضاد أكسدة مرجعي هو BHT و α-Tocopherol . [24]
4. اختبار FRAP : هو تفاعل مضاد للأكسدة يعتمد على الإرجاع اللوني، أي يدرس مدى قدرة المستخلصات النباتية على تثبيط عملية الأكسدة، حيث يعتمد مبدأ الطريقة على تلوين أو عدم تلوين المعقد :

(TPTZ) 2,4,6-tripyridyl-s-triazine ferrique في وسط حامضي (مرجع)، بعد تحضير تراكيز مختلفة من المستخلصات النباتية المخففة في الإثانول, يمزج 100µl من كل مستخلص 2ml من الميثانول و1ml من خليط FRAP, وتجرى نفس العملية على حمض الأسكوربيك المستعمل في الصناعة الغذائية قصد المقارنة. [24]

الفصل الرابع:

الجانب التطبيقي

IV-1. طرق الاستخلاص

الجدول رقم IV- 1 : طرق الاستخلاص

طريقة جمع العينة	طريقة الاستخلاص	المرجع
جمعت ثمار المشمش *Pronusarmeniaca* في مرحلة النضج من بلدة أوزملو أرزبنجان تركيا. تعرف الحبات المرة بإسم Zardali، والحبوب الحلوة باسم Hasanbey .	تم تجفيف الحبوب بعد إزالة القشرة ثم طحنت إلى مسحوق بإستخدام خلاط كهربائي.تم إستخلاص المركبات الفينولية الكلية، و ذلك بنقع كمية من مسحوق الحبوب في الميثانول، بإستعمال جهاز سوكسلي لمدة 24 ساعة،تم تبخيرالميثانول باستخدام مبخر دوار، كما تم تحضير المستخلصات المائية ، و ذلك بنقع 20g من مسحوق الحبوب في 200ml من الماء المغلي لمدة ساعتين، ثم رشح المزيج و حفظ الراشح في درجة حرارة 24C° لحين الإستعمال.	[29]
تـم جمع ثمار المشمش البري *Pronusarmeniaca* من أنقرة تركيا، ثم تجفيفها في درجة حرارة الغرفة، ثم طحنها إلى مسحوق متجانس.	تم إضافة 10ml من $NaHSO_3$و10ml من الإيثانول لـ**5g** من بذور*Pronusarmeniaca*ثم خلطهم في محرك مغناطيسي لمدة 2min ,بعد إضافة 20mlمن الكلوروفورم للبذور تم تقليبها مرة أخرى لمدة دقيقة.تم وضع الخليط في أنبوب الطرد المركزي، تم تقسيم الخليط إلى 3 أجزاء، تم فصل المحلول الكحولي المائي في الطور العلوي بواسطة ماصة باستور, بقايا البذور في الوسط، وتم فصل طور كلوروفورم في القاع أيضا عن طريق الترشيح، ثم إعادة هذه المرحلة 6مرات، بعد الجمع بين المراحل المائية الكحولية تم تبخيرها عن 30C° حتى يبقى المحلول المائي فقط، نقوم بعد ذلك بالإستخلاص سائل سائل بـ 20ml. من أسيتات الإيثيل تكرر العملية ستة مرات، تم تبخير مستخلصات أسيتات الإيثيل المجمعة عند 30C° حتى الحصول على مستخلص جاف، تخزين المستخلص في الثلاجة حتى العمل التجريبي.	[30]
جمعت بذور المشمش من مصنع أدفينا من الإسكندرية خلال موسم إنتاج المشمش، تحفظ البذور في أكياس مغلقة بإحكام في الثلاجة لتحضير الخلاصة.	مستخلص الإيثانول 99.9% : تم نقع الحبوب في محلول إيثانول بنسبة 99.9% عند درجة حرارة الغرفة، وهذا بعد طحنها، ثم تعريضها للغليان لمدة 100min عند 55C°، ثم تم ترشيح المستخلص بواسطة قطعة من الشاش, تمت إزالة المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار متصل بمضخة تفريغ ودرجة حرارة **40-50C°**، ثم يحفظ العائد (المستخلص) في الثلاجة حتى الاستخدام. مستخلص الإيثانول 70% : توضع البذور في الخلاط مع الماء وحمض الستريك حتى تمام الطحن، ثم توضع البذور في دورق يحتوي على 70% من محلول الإيثانول للغليان عند 55C° لمدة 100 دقيقة، ثم تم ترشيح المستخلص ، تم ازالة المذيب بنفس الطريقة السابقة، ثم يحفظ	[31]

	المستخلص في الثلاجة حتى الاستخدام.	
تم جمع 19 نوع من حبات المشمش *Pronus armeniaca* من شمال باكستان (جلجيت بالستان) وتخزينها في 25C°،حتى الاستخلاص، تم تحديد محتوى الرطوبة بواسطة تقنية التجفيف بالفرن.	تم استخلاص مسحوق 2g من *Pronus armeniaca* مع 100ml من الأسيتون (80%) لمدة 3min ثلاث مرات، ثم يصفى تحت التفريغ، المرشح تم تبخيره عند 45C° تحت الضغط, و أعيد استرجاعه بالماء المقطر إلى حجم 10ml ويحفظ عند 25C° حتى الاستعمال.	[5]
تم حصد 14 صنفا من المشمش التجاري في مرحلة النضج ، في موسم الحصاد 2009، تم تجفيف حبات المشمش تحت الظل في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 يوما، ثم سحقها إلى مسحوق.	تم الاستخلاص على مرحلتين الاولى بالميثانول والثانية بالأسيتون، نقع 0.5g من حبات المشمش في20ml ميثانول مع الرج لمدة 12h، تم طرد العينة (X10000 الدقيقة)لمدة 10min، ثم استرجاع المحلول الطافي، أما الراسب فتم خلطه بـ 20ml أستون وكررت نفس العملية للحصول على محلول الطافي، للحصول في الأخير على مستخلص الميثانول ومستخلص الأسيتون.	[32]

IV-2.طرق تقدير المركبات الفينولية:

الجدول رقم IV- 2: طرق تقدير المركبات الفينولية الكلية:

الطريقة	طريقة العمل	المرجع
Folin-ciocalteu	تم أخذ 4ml من المستخلص الممدد ، نضيف لها 1.5mlمن كاشف فولين، نتركها مدة 5دقائق مع رج المزيج، ثم نضيف 0.75ml من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) ، يرج المزيج جيدا بجهاز SHAKER و يترك لمدة ساعتين في الظلام، في درجة حرارة الغرفة، نقرأ الإمتصاصية عند طول الموجة 760nm، تم استخدام حمض الغاليك كمعيار في هذه الدراسة.	[29]
Folin-ciocalteu	تم تحديد كمية المركبات الفينولية باستخدام Folin-ciocalteu بإتباع طريقة Baba & Malik، أستخدم حمض الغاليك كمعيار مرجعي، وتم التعبير عن النتائج بالميكروغرام على اساس حمض الغاليك المكافئ لكل غرام من المستخلص.	[31]
Folin-ciocalteu	أستخدم حمض الغاليك كمعيار مرجعي، تم تمديد المستخلص، ثم يضاف كاشف Folin-ciocalteu، تترك مدة 6 دقائق، بعد ذلك مباشرة يضاف محلول كربونات الصوديوم (7%)، يترك المزيج لمدة ساعة و نصف، تقرأ الإمتصاصية عند 760nm، عبر عن قيم الـ TPCبالـ mg على أساس حمض الغاليك المكافئ لكل 100 g من الوزن الجاف للعينة (mg GAE/100g dw).	[5]
Folin-ciocalteu	نضع في انبوب اختبار0.3ml من العينة، يضاف لها 1.5mlكاشف Folin-ciocalteu ، الذي تم تخفيفه سابقا بالماء المقطر بنسبة(10: 1)، تترك مدة خمس دقائق، بعد ذلك يضاف 1.2ml من محلول كربونات الصوديوم(7%)، تغطي الأنابيب بـالـ Parafilm، يترك المزيج لمدة نصف ساعة، تقرأ الإمتصاصية عند 765nm، عبر عن قيم الـ TPC بالـ mg على أساسحمض الغاليك المكافئ لكل 100 g من الوزن الجاف للعينة(mg GAE/100g dw).	[32]

IV-3. طرق تقدير الفلافونويدات:

الجدول رقم IV- 3: طرق تقدير الفلافونويدات

الطريقة	طريقة العمل	المرجع
القياس اللوني لكلوريد الألومينيوم.	أستخدم روتين كمعيار مرجعي، وتم التعبير عن النتائج بالميكروغرام على اساس الروتين المكافئ لكل غرام من المستخلص.	[31]
القيال اللوني $AlCl_3$- $NaNO_2$	تم خلط المستخلص مع الماء المقطر، ثم إضافة محلول $NaNO_2$ بعد 5min، ثم إضافة محلول $AlCl_3$ و يترك الخليط لمدة 6min، بعد ذلك تم إضافة NaOH و الماء المقطر، ثم القراءة عند 510nm.	[5]

IV-4. طريقة تقدير الأميغدالين (فيتامين B_{17}) :

الجدول رقم IV- 4 : طريقة تقدير الأميغدالين (فيتامين B_{17}).

الطريقة	طريقة العمل	المرجع
تم تحديد محتوى فيتامين B_{17} (أميجدالين) واتباع طريقة Garcã-A et al	تم إستخلاص 2g من العينة في 100ml من الميثانول، لمدة 6 ساعات في حمام مائي (60C°)، ثم تصفيته تحت الفراغ، تم تبخير الترشيح عند 40C° تحت الفراغ،يستخدم HPLC للتحليل في الشروط التالية: مذيبA : الماء ، المذيب B: الميثانول بنسبة (35:65)	[5]

IV-5. الطرق المستعملة لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة :

الجدول رقم IV- 5: الطرق المستعملة لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة.

الطرق	طريقة العمل	المرجع
DPPH	**تم تعيين القدرة الآسرة الجذرية للمستخلصات المدروسة على الجذر المستقر الـ** DPPH **على أساس الطريقة المستخدمة من طرف** Mavi A **تم خلط** 3ml **من العينة مع** 1ml **من** DPPH **بتركيز** 0.5mM **محضر في الميثانول، بعد الحضن في الظلام لمدة30 د، تم قياس الإمتصاصية عند** 517nm**، أستخدم الـ** BHA **كشاهد في نفس التركيز, الشاهد يحتوي على** 1ml **من محلول** DPPH **و** 3ml **من الإيثانول.**	[29]
Thiocynates methode	**تم تحضير مستخلص بتركيز** 2mg/ml **وتم مزجها مع** 2.5ml **من حمض اللينوليك تركيزه** 20mM**، تم تعديل الحجم النهائي إلى** 5ml **بمحلول موقي ملحي فوسفاتي** (PH=7.4) ، **وحضن في الظلام عند** 40C° ، **التركيز النهائي للمستخلص كان** 100μg/ml ، **أستعمل الـ** BHA **كشاهد عند التركيز** 100μg/ml . **كمية البيروكسيد تم تحديده عن طريق قياس الإمتصاصية عند** 500nm **بعد التلوين باللون الأصفر مع** $FeCl_2$ **و الثيوسينات أثناء الحضن** 24 **ساعة.** **يشير الإنخفاض في الإمتصاصية إلى إرتفاع النشاط المضاد للأكسدة.**	
DPPH	**تم خلط** 50µl **من العينة بتراكيز** (20-400 mg/mL) **مع** 1.95ml **من** DPPH **بتركيز** 0.1mM **محضر في الميثانول، تم تسجيل انخفاض في الامتصاصية عند** 515 **نانومتر كل** 15 **دقيقة.**	
Superoxide radical scavaging activity	**يولد جذر فوق الأكسيد** $O^{2.-}$ **من مزيج** (1.7ml) **يحتوي على** CAPS 50mmol/l , EDTA 0.94mmol/l , NBT 0.025mmol/l **ذو** PH=10.2 **و** 50µl **من تراكيز مختلفة للمستخلص** (20-400mg/l) ، **تم قياس الإمتصاصية في البداية** (A_1) **وبعد عشر دقائق** (A_2)، **تم حساب فرق الإمتصاص** (A_2-A_1) **وترميزها بـ** P_X. **تم إضافة الفوسفات بدلا من المستخلص** (50µl) **و تم حساب** P_1 **بنفس الطريقة، تم إضافة فوسفات بدلا من المستخلص و إضافة** 250µl **من ماء مقطر بدلا من** xanthine oxidase ، **وتم حساب** P_0. **تم حساب نسبة تثبيط** $O^{2.-}$ **بالعلاقة التالية:** Unscavenged $O_2^{-}=P_X-P_0/P_1-P_0 \times 100$	[30]
DPPH	**تم اضافة** 2ml **من** DPPH (0.1Mm) **الى** 2ml **من المستخلص من كل**	[5]

	تركيز ، تم الحضن في الظلام لمدة 30min في درجة حرارة الغرفة. تم قياس الإمتصاصية عند 517nm.	
ABTS	1.75ml من Potassium per-sulphate بتركيز (2.45mM) مع 100ml من ABTS تركيزه (7Mm) ، تم إعداد محلول العمل بتخفيف محلول المستخلص بإستخدام محلول الفوسفات (0.05M , PH=7.4) ، حتى تمت قراءة الإمتصاصية0.70±0.02 عند 734nm .تم مزج التراكيز المحضرة للمستخلصات مع محلول جذر الـ ABTS بنسبة (19:1) تم الحضن في الظلام ، و درجة حرارة الغرفة، لمدة 10min مقابل الإيثانول. تمت قراءة الإمتصاصية عند 734nm.	
FRAP	تم خلط 75µl من المستخلص مع 225µl من الماء المقطر ، ثم إضافتها إلى 2.25ml من إختبار FRAP محضر طازجا، (10 أجزاء من300mM من أسيتات الصوديوم عند PH=3.6 ، جزء واحد من 10Mm من أسيتات الصوديوم عند PH=3.6 ، جزء من واحد من10mM من محلول TPTZ وجزء واحد من20Mm من $FeCl_2.6H_2O$) ، تم حضن خليط التفاعل لمدة 30min ، تم قياس الإمتصاصية عند 593nm ، تم تحديد إمكانية مستخلص	[32]
DPPH	تم خلط 0.2ml من المستخلص القطبي للبذور المحبة للماء وغير القطبي مع 4ml من DPPH بتركيز 0.1mM محضر فالميثانول، تم حضن الخليط في درجة حرارة الغرفة لمدة 30min ، تم قياس الإمتصاصية عند 517nm.	

IV –6. نتائج تقدير المركبات الفينولية:

الجدول رقم IV- 6:**نتائج تقدير المركبات الفينولية.**

العينات	كمية الـ **TFC** (µgGAE/gDW)	المرجع
المستخلص المائي للنواة المرة .	(100µg/ml) 0.4±0.1	[29]
المستخلص المائي للنواة الحلوة.	(100µg/ml) 7.9±0.2	
المستخلص الميثانولي للنواة المرة.	(100µg/ml)0.5±0.0	
المستخلص الميثانولي للنواة الحلوة.	(100µg/ml)5.7±0.3	
مستخلص الإيثانولي70%	179.4	[31]
مستخلص الإيثانولي99.9%	191.2	
المستخلص الأسيتوني	209.4±0.91mg GAE/100gDW	[5]
مستخلص الميثانولي للمركبات القطبية	65.5±2.19	[32]
المستخلص الأسيتوني للمركبات غير قطبية.	96.6±3.03	
المستخلص الأسيتوني + المستخلص الميثانولي	162.1±5.02	

IV–7. نتائج تقدير الفلافونيدات

الجدول رقم IV- 7: نتائج تقدير الفلافونيدات

العينات	كمية TFC	المرجع
مستخلص الإيثانولي 70%	226.18µg rutine E/Gdw	[28]
مستخلص الإيثانولي99.9%	509.34µg rutinE/gDW	
المستخلص الأسيتوني	182.6±1.04mg CE/100 gDW	[5]

IV–8. نتائج تقدير الأميغدالين(فيتامين B_{17})

الجدول رقم IV- 8نتائج تقدير الأميغدالين(فيتامين B_{17}).

العينات	كمية الأميغدالين mg/100 g DW	المرجع
المستخلص الميثانولي	172,2±6,13	[5]

IV–9. نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

الجدول رقم IV- 9: نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.

الطرق	العينات	نسبة التثبيط	المرجع
DPPH	مستخلص الماء بذور حلوة	89.9% (100-300µg/ml)	[29]
	مستخلص الميثانول للبذور الحلوة	92.2% (300µg/ml) 87.7%(100µg/ml)	
	مستخلص الماء والميثانول للبذور المرة	لم يكن هناك أي نشاط يمكن ملاحظته.	
	BHA	≈ 81% (100-300µg/ml)	
	العينات	قيمة EC_{50}	
DPPH	المستخلص	0mg/ml	[30]
	BHT	195mg/ml	
	المستخلص الأسيتوني	1.52±0.02 mg/ml	[5]
	المستخلص الأسيتوني و الميثانولي	46.3±2.48 mg/ml	[32]
FRAP	مستخلص الميثانولي للمركبات القطبية	74.4±1.95µg/ml	[32]
	المستخلص الأسيتوني للمركبات غير قطبية.	119.0±4.30µg/ml	

	المستخلص الأسيتوني + المستخلص الميثانولي	193.1±24.30µg/ml	
ABTS	المستخلص الأسيتوني	8.91±0.21 mg/ml	[5]
	العينة	نسبة التثبيط	المرجع
Thiocynate method	مستخلص الميثانولي للبذور الحلوة.	68.6% (100µg/ml)	[29]
	مستخلص المائي للبذور الحلوة.	66.3% (100µg/ml)	
	مستخلص الميثانولي للبذور المرة.	3.7% (100µg/ml)	
	مستخلص المائي للبذور المرة.	20.2% (100µg/ml)	
الطريقة	العينة	نسبة تثبيط O_2^-	
Superoxide radical scavaging	المستخلص الإيثانولي.	EC_{50}=156 mg/ml	[30]

IV–10. مناقشة النتائج :

حسب نتائج المقال[29], كانت أعلى نسبة تثبيط لأكسدة لليبيدات في مستخلصات الميثانول من النواة الحلوة (Hasanbey) بنسبة 68.6%/100 µg solid. ويليه المستخلص المائي من نفس الصنف الذي أظهر تثبيط 66.3%. وتم الكشف عن أقل نسبة تثبيط في المستخلصات الميثانولية والمستخلصات المائية للنواة المرة.

يوضح الشكل (VI) نسبة تثبيط جذر DPPH لمستخلصات الماء والميثانول من أصناف المشمش. وبتركيز 100 µg/mL ، أظهرت مستخلصات الماء والميثانول في النواة الحلوة نسبة تثبيط 89.9 و 87.7% على التوالي. وبتركيز 300 µg/mL، كانت نسبة التثبيط 89.9 و 92.2% على التوالي. ومنه نستنتج أنه تركيز المستخلص لم يكن له تأثير ملحوظ. بينما لم يكن هناك نشاط تثبيطي يمكن اكتشافه في مستخلصات النواة المرة بالتركيزات المدروسة (100-300 µg/mL)

تم الكشف عن أعلى محتوى فينولي (7.9 ± 0.2 µg/ml) في المستخلص المائي لنواة المشمش الحلو، بينما كان أقل محتوى فينولي 0.4 ± 0.1 µg/mL في مستخلص الماء لنواة المشمش المر.

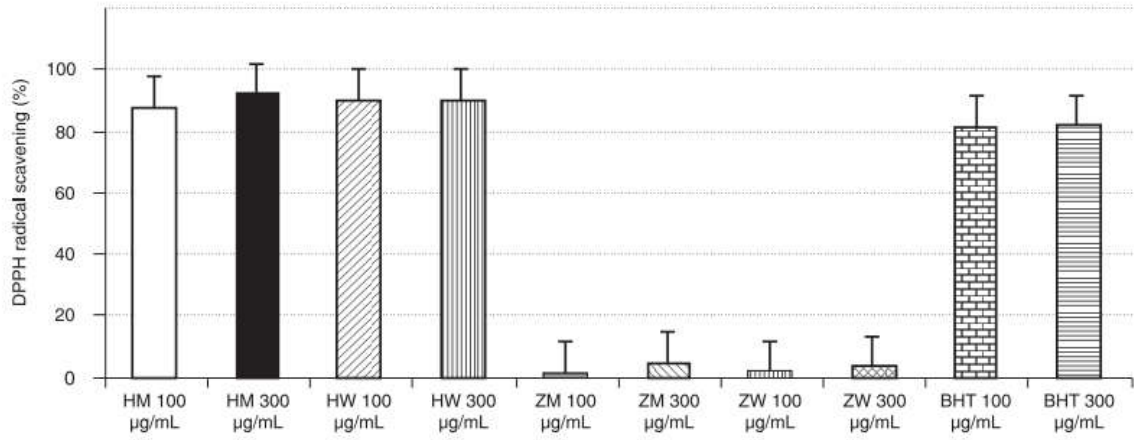


Figure 1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. H = Hasanbey apricot cultivar; Z = Zerdali apricot cultivar; M = methanol extract; W = water extract; BHT = butylated hydroxytoluene.

الشكل VI : نتائج نسبة تثبيط جذر DPPH.

حسب نتائج مقال [31] تناولت هذه الدراسة النشاط الكيميائي النباتي والسمي وبعض النشاط الدوائي لمستخلصات بذور المشمش. اشتمل الفحص الكيميائي النباتي على تحديد إجمالي الفينولات والفلافونيدات الكلية في كل من % 70 و % 99.9 من المستخلصات الإيثانولية للمشمش الأرميني.

كان إجمالي المحتوى الفينولي للمستخلصات الإيثانولية ، المحسوب من منحنى المعايرة (R2= 0.9978)، 191.2، 179.4µg GAE/g DE في كل من % 70 و % 99.9 من المستخلصات الإيثانولية على التوالي ، إجمالي محتويات الفلافونويد (R2= 0.9959) كانت 226.18 و 509.34 µg rutin equivalents/g مستخلص جاف في كل من المستخلصات الإيثانولية% 70 و % 99.9 على التوالي.

المركبات الفينولية لها خصائص الأكسدة والاختزال ، لذلك يمكن أن تعمل كمضادات للأكسدة وتعمل كمنهي للجذور الحرة ، لديهم القدرة على إزالة الجذور الحرة التي يتم تسهيلها من خلال مجموعات الهيدروكسيل الخاصة بهم ، ويمكن استخدام التركيز الكلي للفينول كمؤشر للفحص السريع للقدرة الكلية المضادة للأكسدة في المستخلص.

لقد تم الاعتراف بأن مركبات الفلافونويد تظهر نشاطًا مضادًا للأكسدة ويجب مراعاة آثارها على تغذية الإنسان وصحته.

خاتمة

خاتمة:

من خلال تلخيصنا للمقالات العلمية العملية المدروسة في العمل أستنتج ما يلي:

–تعتبر بذور نبات المشمش من النباتات الطبية وهو علاج شهير ضد السرطان.

–لقد تم في هذه المقالات دراسة إستخلاص الفينولات، الفلافونيدات و الأميغدالين من بذور نبات المشمش لمناطق مختلفة من تركيا مصر وشمال باكستان .

–أستخلصت بذور نبات المشمش بعدة طرق أهمها سوكسلي، أستخدمت عدة مذيبات منها الأسيتون، الميثانول والإيثانول

- **تم كشف الفيتوكيميائي للمركبات الكيميائية و استخلاص و تقدير المركبات الفيتولية الكلية و الفلافونيدات و الأميغدالين ، حيث أظهرت النتائج أن بذور نبات المشمش غنية بهذه المركبات الكيميائية الكيميائية ، كما تم مقارنة البذور الحلوة بالبذور المرة ، حيث أظهرت النتائج أن البذور الحلوة تحتوي على كمية أكبر من الفينولات و الفلافونيدات مقارنة بالبذور المرة .**
- **قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الفينولية كمضادات أكسدة طبيعية بإستعمال إختبار DPPH ،إختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP ، و بينت النتائج أن هذه المستخلصات لها قدرة عالية في تثبيط الجذور حيث وصلت أكبر نسبة إلى 92.2% عند التركيز 100µg/ml .**
- **كما أظهرت النتائج تقدير القدرة الإرجاعية لمختلف المستخلصات بطريقة FRAP ان لهذه المستخلصات القدرة على الإرجاع .,**
- **– و بما أن مستخلصات بذور المشمش تحتوي على كميات عالية من المركبات الفيتولية الكلية ، و تمتلك فعالية قوية معتادة للأكسدة ، فيمكن استعمالها كأدوية لعلاج الأمراض المزمنة و المستعصية المختلفة النتاتجة عن تأثير الجذور الحرة .**

ومن اجل هذا يجب :

- **إجراء دراسات حول فعالية مستخلصات نبات *pronus arminica* ضد الفيروسات المرضية و الخلايا السرطانية ، و كذلك دراسة أثر هذه المستخلصات على الكائنات الحية من خلال استخدام الحيوانات المخبرية (داخل الجسم الحي)**
- **عزل المركبات الكيميائية الفعالة من المستخلصات التي أظهرت فعالية عالية مضادة للأكسدة .**

قائمة المراجع

قائمة المراجع:

بالعربية:

[1] : محمد بوعبد الله سعاد–دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia Sinensis* على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا–شهادة ماجستير–قسنطينة–2011–92صفحة.

[2] : زردومي سليمان–*Artemisia campestrist* في منطقة آريس، دراسة تشريحية ودراسة النشاطية ضد بكتيرية والضد تأكسدية لزيتها الأساسي–شهادة ماجستير–سطيف–2015–46 صفحة.

[3] : عبد الرحيم بن سلامة–النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة لإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *Hertia cheirifolia.L* –شهادة ماجستير–سطيف-2012-78صفحة.

[4] : الدراجي الهادف–المساهة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية والمستخلصات العضوية لأوراق نبات *Origanum* و *Cymbopogon schoenauthus* -أطروحة دوكتوراه–2017–.

[10] : جابر بن سالم القحطاني، السموم داء و دواء،الطبعة الأولى، المملكة السعودية، 2019

[14] : آمال بن بوحا،مطبوعة من دروس: الجزيئات الحيوية عند حقيقيات النوا، جامعة أم البواقي،2017.

[16] : مخلوفي الهاني، دراسة فيتوكيميائية لنوعين من النباتات الطبية ذات الأصل الجزائري من العائلة الخيمية مع دراسة فعاليتها البيولوجية (*Reutera lutea(Apiaceae* و *Doucus aureus* ، أطروحة دوكتوراه،قسنطينة،جامعة قسنطينة1– 2014.

[18] : جيدل صليحة، تقدير المحتوى الفينولي و التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات *Pistacia PentiscusL*، و *Artemisia compertis.L* و *Argania spinosa.L* ، أطروحة دوكتوراه، سطيف، جامعة فرحات عباس، 2015.

[19] : علاوي مسعودة، مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث (*Haloxylin scoparium*)، مذكرة ماجستير، ورقلة، كلية العلوم والعلوم الهندية، 2003.

[20] : أحلام بوسملة، دراسة نواتج الأيض الثانوي والفعالية البيولوجية للنبتتين *Binium incrassatum Bois* و *Foeniculum vulgare*، أطروحة دوكتوراه، قسنطينة، جامعة قسنطينة1، 2014.

[21] : زعيتر لحسن، تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم و الزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة *Compositae* و *Cistaceae*،قسنطينة،جامعة منتوري قسنطينة.

[22] : شروانة سهيلة، فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتة*Lycium arbicum*، مذكرة ماجستير، قسنطينة، جامعة قسنطينة، 2007.

[23] : شربي رقية، Etude de l'activité antioxidant des fractions lipidiques et phénoliques des feuilles et des grains de *Lawsonia* inermisd'Algérie،أطروحة دوكتوراه، ورقلة، جامعة قاصدي مرباح،2017.

[24] : بلقاسم عبد الوهاب , دراسة الزيوت الأساسية , المركبات الفينولية وفعاليتها البيولوجية في بعض الأنواع التابعة للفصيلتين السذبية *Rutaceae* و المركبة *compositae*, أطروحة دكتوراء 2017 , جامعة العربي بن مهيدي , أم البواقي – الجزائر .

[25] : بلفار آسيا , دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتاكل للمستخلصات الفينولية لنبات *Limoniastrum guyonianum (Dur)* , رسالة دكتوراء 2018 , جامعة قاصدي مرباح , ورقلة – الجزائر

بالأجنبية:

[5] : youngsheng chen, phytovhemical profiling, antioxidant and HepG2 cancer cells antiproliferation potential in the kernels of apricot cultivars, journal of biological science, 2020, vol27, pp.163-172.

[6] : Frédéric Dupont, Jean-Louis Guignard, botanique: la familles de plantes, 15é édition, Espagne par Grafos, 2012.

[7] : GRIMPLET J, Génomique fonctionnelle et marqueurs de qualité chez l'abricot. Thése doctorat, I.N.P Toulousse, 2004.

[8] : Flora of northa america, FNA.9, Sp.1753, 474:1.

[9] : Got.N, L'Abricotier, 3ème edition, La maison rustique, Paris, 1958.

[11] : BELHADJ Amina, Contribution à une caractérisation numérique chez les espèces fruitières cas de l'abricotier «Prunus armeniaca L.», Thése de Magistère, BISKRA, 2016.

[12] : CHOUAKI S, Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétique. INRAA. Alger, Juin 2006.

[13] : Bretaudeau J, Atlas d'arboriculture fruitière , 3ème edition, J.B Baillière. Paris, 1979.

[15] : Wilfred Vermerris and Ralph Nicholson,Phenolic compound Biochemistry, springer, USA,2006.

[17] : Alan Crozier, plant secondary Metabolites(Occurrence,structure and role in the human diet),Blackwell Publishing Ltd,2006.

[26] : Kumar, S., Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. Advances in Applied Science Research, 2011. 2 (1): p. 129-135

[28] : Wanasundara.P, and Shahidi.F, Antioxidants: Science,Technology, and Applications. Bailey's industrial oil and fat products, 2005

[29] : D.Yigit,N,Yigit and A.Mavi,Antioxidant and antimicrobial activities of bitter and sweet apricot (pronus armeniacaL) kernels,journal of medical and biological research,2009,vol(42), pp-346-352.

[30]:I.Orhan,A.Aydin,Free Radical scavenging activities of some edible fruit seeds, journal of pharmaceutical biology,2003, vol41(3), pp, 163-165.

[31]:Ramdan A,Gehan Kamel,Phytochemical screening, acute toxicity, analgesic and anti-inflammatory effects of effects of apricot seeds ethanolic extracts, 2018, vol3(1), pp.26-33.

[32]:Ginish Korekar, Antioxidant capacity and phenolics as a function of genotype, journal of plant foods hum nutr, 2011, vol 66, pp.376-383.

ملخص:

نتيجة للظروف التي شهدتها البلاد والعالم كله، تعذر علينا القيام بالجانب التجريبي في المخبر، بدلا من ذلك قمنا بدراسة خمسة مقالات علمية عالمية، حيث تتضمن هذه المقالات دراسة النبتة التي كنا بصدد دراستها.

من خلال هذه المقالات تمكنا من معرفة طرق الإستخلاص ومختلف المذيبات المستخدمة، أهمها الإستخلاص بواسطة سوكسلي، والنقع في الميثانول أو الإيثانول ثم الترشيح ،من خلال دراسة هذه المقالات تأكدنا أن نواة المشمش *Pronus armeniaca* **غنية بالبوليفونولات، الفلافونيدات و الأميغدالين، حيث تم تقدير فينولات بواسطة إختبار** Folin Ciocalteu **، حيث كانت أكبر نسبة فينولات في نبات** *Pronus armeniaca* **من منطقة شمال باكستان بقيمة** 191.2µg GAE/gDW **والتي تم إستخلاصها بواسطة الأسيتون، كما لاحظنا أن النواة الحلوة تحتوي على مركبات فينولية أكثر من النواة المرة، أما الفلافونيدات تم تقديرها ا بواسطة القياس اللوني لكلوريد الألمنيوم، حيث كان أكبر محتوى فلافونيدي في مستخلص الإيثانول** 99.9% **بقيمة** 504.34µg rutin E/gDW **، تعود هذه النتيجة لنواة المشمش من منطقة الإسكندرية بمصر. تم التأكد أيضا من وجود الأميغدالين (فيتامين** B_{17} **) بنسبة** 172±6.13mg/100gdw **من منطقة شمال باكستان.**

نواة المشمش تمتلك فعالية مضادة للأكسدة، حيث كانت أكبر نسبة في مستخلص الميثانول للبذور الحلوة بنسبة 92.2% **عند التركيز** 100 µg/ml **، قطفت هذه البذور من تركيا.**

الكلمات الدالة: نواة المشمش، الفينولات، الفلافونيدات، الأميغدالين، الفعالية المضادة للأكسدة, *Pronus armeniaca*.

Summary :

As a result of the conditions that the country and the whole world witnessed, we were unable to do the experimental side in the laboratory. Instead, we studied five international scientific articles, as these articles include the study of the plant that we were about to study. Through these articles, we were able to know the methods of extraction and the various solvents used, the most important of which are extraction by Soxley, soaking in methanol or ethanol and then filtration, by studying these articles we made sure that the apricot kernel Pronus armeniaca is rich in polyphenols, Flavonoids and amygdalin, where the phenols were determined by the Folin Ciocalteu test, where the largest concentration of phenols in Pronus armeniaca from North Pakistan, with a value of 191.2µgGAE / gDW, which was extracted by acetone, We also noticed that the sweet nucleus contains more phenolic compounds than the bitter nucleus, while the flavonoids were determined by aluminum chloride chromatography.

The largest flavonide content in the ethanol extract was 99.9% with a value of 504.34µg rutinE / gDW, This result is due to the apricot kernel from Alexandria, Egypt. Amygdalin (Vitamin B17) was also confirmed at 172 ± 6.13mg / 100gdw from North Pakistan region.

Apricot kernel possesses antioxidant efficacy, as the highest percentage in methanol extract for sweet seeds was 92.2% at a concentration of 100µg / ml. These seeds were picked from Turkey.

Key words : Apricot kernel, phenols, flavonoids, amygdalin, antioxidant activity, *Pronus armeniaca.*

Résumé :

En raison des conditions dont le pays et le monde entier ont été témoins, nous n'avons pas pu faire le côté expérimental en laboratoire. Au lieu de cela, nous avons étudié cinq articles scientifiques internationaux, car ces articles incluent l'étude de la plante que nous allions étudier. A travers ces articles, nous avons pu connaître les méthodes d'extraction et les différents solvants utilisés, dont les plus importants sont l'extraction par Soxley, le trempage dans du méthanol ou de l'éthanol puis la filtration, en étudiant ces articles nous nous sommes assurés que le noyau d'abricot Pronus armeniaca est riche en polyphénols, flavonoïdes et amygdaline, où les phénols ont été déterminés par le test de Folin Ciocalteu, où la plus grande concentration de phénols dans Pronus armeniaca du nord du Pakistan, avec une valeur de 191,2µgGAE / gDW, qui a été extrait par l'acétone, nous a également remarqué que le noyau doux contient plus de composés phénoliques que le noyau amer, tandis que les flavonoïdes ont été déterminés par chromatographie sur chlorure d'aluminium.

La plus grande teneur en flavonides dans l'extrait à l'éthanol était de 99,9% avec une valeur de 504,34 µg de rutine E / gDW. Ce résultat est dû au noyau d'abricot d'Alexandrie, en Egypte. L'amygdaline (vitamine B17) a également été confirmée à 172 ± 6,13 mg / 100 gdw dans la région du nord du Pakistan.

Le noyau d'abricot possède une efficacité antioxydante, car le pourcentage le plus élevé d'extrait de méthanol pour les graines sucrées était de 92,2% à une concentration de 100 µg / ml. Ces graines ont été cueillies en Turquie.

Mots clés : Noyau d'abricot, phénols, flavonoïdes, amygdaline, activité antioxydante, *Pronus armeniaca*.