

جامعة قاصدي مرباح ورقلة  
كلية العلوم والتكنولوجيا وعلوم المادة

قسم علوم المادة



مذكرة

ماستر أكاديمي

مجال: علوم المادة

فرع: كيمياء

تخصص: كيمياء مطبقة

من إعداد: كريبع لطيفة

الموضوع

التقدير المخبري للنشاطية المضادة للأكسدة والجذور الحرة  
لبعض مركبات الثنائي ثيول الحلقي و الفينولية

نوقشت يوم: 2013-6-18

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

رئيسة	أستاذة مساعدة ( )	ي زينب
	( )	زاوية
مقررا	أستاذ تعليم عالي	سعيد مختار
مؤطرة	أستاذة مساعدة (ا)	رحماني زهور

السنة الدراسية: 2012-2013

## الإهداء

اتقدم باهداء هذه الثمرة النبيلة و هذا العمل المتواضع

الى من كلله الله بالهبة و الوقار..... إلى من علمني العطاء بدون انتظار إلى  
من احمل اسمه بكل افتخار ارجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثمار قد حان  
قطافها بعد طول انتظار ستبقى كلماتك نجوم اهتدي بها اليوم و في الغد و إلى  
الأبد...والذي العزيز

الى ملاكي في الحياة.... الى معنى الحب إلى معنى الحنان إلى بسمة الحياة  
وسر الوجود الى من كان دعائها سر نجاحي و حنانها بلسم جراحي إلى اغلي  
الحبايب امي الحبيبة

إلى من بهم اكبر و عليهم اعتمد إلى شمعة متقدة تنير ظلمة حياتي إلى من  
بوجودهم اكتسب قوة و محبة لا حدود لها أخواتي و إخوتي و إلى سر سعادة بيتنا  
أبناء اخي :ايوب □ شهاب □ رضوان

الى من تقاسمت معهم الحياة الجامعية بحلوها و مرها إلى اعز ما ملكت  
في الوجود :امينة □ سارة □ سمية □ عائشة □ اسلام □ زهرة □ نسرين □ كريمة □  
وسام □ فتيحة □ عائشة ربوح □ رحمة .

الى كل من سقط من قلمي سهوا.

## لإهداء

اتقدم باهداء هذه الثمرة النبيلة و هذا العمل المتواضع

الى من كلله الله بالهبة و الوقار..... إلى من علمني العطاء بدون انتظار إلى  
من احمل اسمه بكل افتخار ارجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثمار قد حان  
قطافها بعد طول انتظار ستبقى كلماتك نجوم اهتدي بها اليوم و في الغد و إلى  
الأبد...والذي العزيز

الى ملاكي في الحياة.... الى معنى الحب إلى معنى الحنان إلى بسمة الحياة  
وسر الوجود الى من كان دعائها سر نجاحي و حنانها بلسم جراحي إلى اغلي  
الحبايب امي الحبيبة

إلى من بهم اكبر و عليهم اعتمد إلى شمعة متقدة تنير ظلمة حياتي إلى من  
بوجودهم اكتسب قوة و محبة لا حدود لها أخوتي و إخوتي و إلى سر سعادة بيتنا  
أبناء اخي :ايوب □ شهاب □ رضوان

الى من تقاسمت معهم الحياة الجامعية بحلوها و مرها إلى اعز ما ملكت  
في الوجود :امينة □ سارة □ سمية □ عائشة □ اسلام □ زهرة □ نسرين □ كريمة □  
وسام □ فتيحة □ عائشة ربوح □ رحمة .

الى كل من سقط من قلمي سهوا.



## شكـــــــــــــــــر و عرفان

قبل كل شئ, احمد الله عز و جل الذي أنعمني بنعمة العلم و وفقني إلى بلوغ هذه الدرجة و أقول.  
"اللهم لك الحمد حتى ترضى, لك الحمد إذا رضيت و لك الحمد بعد الرضا".  
بجزيل الشكر و العرفان إلى أستاذي الفاضل الدكتور السعيد مختار على قبوله الإشراف على هذه  
المذكرة أولاً, وعلى دعمه و مساعدته العلمية و المعنوية ثانياً.

كما أتقدم باسمى عبارات التقدير و الاحترام لأستاذتي رحمانى زهور المشرفة المساعدة التى لم  
تبخل عليا بتوجيهاتها القيمة و إرشاداتها الصائبة التى أنارت درب دراستي إلى كل ما بذلته من  
اجل إتمام هذا العمل . كما أتقدم بالشكر و الامتنان و التقدير و المحبة إلى الذين حملوا أقدم  
رسالة في الحياة ..... إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم و المعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل.  
كما أتوجه بالشكر إلى كل من ساعدني في انجاز هذا العمل و بالأخص : سارة رحمة مريم  
ابراهيم بلال طارق سفيان . كما لا تفوتني الفرصة أن أتقدم بجزيل الشكر إلى جميع صديقاتي  
و أصدقائي الذين رافقوني في مشوار الدراسة: عائشة زينب نور الهدى امينة سميرة خضرة  
و كل طلبة دفعتي { كمياء مطبقة } . و كامل احترامي و تشكراتي إلى الأستاذتين المناقشتين زينب  
غيابة و قندور زاوية على قبولهم مناقشة هذه المذكرة و تشريفهم على لجنة المناقشة و إثراء هذا  
العمل بوجودهم

إلى كل طلاب العلم عامة و طلاب جامعة ورقلة خاصة.

الإمتصاصية الضوئية	Abs
الجذر الحر 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl	DPPH
تركيز المستخلص الفينولي للقضاء على 50% من الجذور الحرة	Ic50
النسبة المئوية لتثبيط	I%
طول الموجة	$\lambda$
الأشعة فوق البنفسجية- المرئية	UV-Vis
حمض الأسكوربيك (الفيتامين C)	VC
Butylate hydroxy toluene	BHT
Butylate hydroxy anezole	BHA
فيتامين E	$\alpha$ توكوفيرول (V.E)
انزيم اكجعة فوق الاكاسيد	SOD
معامل التقسيم	LogP
الكمون العياري	E <sup>0</sup>
الاشعة فوق الحمراء	IR
الفعالية المضادة للاكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك	AEAC

الصفحة	المحتوى
I	الإهداء
II	تشكر و عرفان
V	قائمة الرموز
1	مقدمة
<b>الجانب النظري</b>	
الفصل الأولى :عموميات حول المركبات الثيولية و الفينولية	
3	<b>المركبات الثيولية</b>
4	1-الخواص الفيزيائي للمركبات الثيولية
4	1-1الخواص العامة
4	2-1 الخواص الطيفية
5	3-1 دراسة ذوبانية 1,2-ثنائي ثيول-3-
	ثيون
5	2- استعمالات المركبات الثيولية
5	1-2 الاستعمالات الطبية
6	2-2 الاستعمالات الصناعية
6	<b>المركبات الفينولية</b>
6	1- دور المركبات الفينولية
6	2- تصنيف المركبات الفينولية
6	أ- الفينولات البسيطة
7	ب-1 الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.
8	ب-2 الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك
9	ب-3 الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للأحماض الفينولية
9	ج- الكومارينات
9	ج-1 بنية و تصنيف الكومارينات

10	ج-2 الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للكومرينات
10	د-التانينات (العفصيات)
11	د-1 التانينات المتحللة(الذوابية).
11	د-2 التانينات المتراكمة.
12	هـ- الفلافونيدات
12	هـ-1 الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للفلافونيدات
12	هـ-2 انواع الفلافونيدات
14	3- الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية
الفصل الثاني	
الجذور الحرة و مضادات الأكسدة	
16	مقدمة
16	1-الجذور الحرة
16	2-مدة حياة الجذور الحرة
17	3-مصادر الجذور الحرة
17	3-1 المصدر الداخلي للجذور الحرة
17	3-2 المصدر الخارجي للجذور الحرة
17	3-3 الجذور الحرة في الغلاف الجوي
17	3-4 الجذور الحرة في علم الاحياء
18	4-انواع الجذور الاكسجينة الحرة
18	4-1 الايون ل فوق الاكسيد
18	4-2 فوق اكسيد الهيدروجين
19	4-3 جذور الهيدروكسيل
19	5- مضادات الاكسدة
20	5-1 مصادر مضادات الاكسدة

20	1-1-5 مضادات الاكسدة الانزيمية
20	2-1-5 مضادات الاكسدة الغير انزيمية
الجانب التطبيقي	
الفصل الثالث:تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	
23	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة
25	I-القدرة الارجاعية للمركبات الثيولية و الفينولية
26	I-1 مناقشة النتائج
29	II- اختبار تمخلب ايون الحديدوز
31	II-1 مناقشة النتائج
32	III- تحديد نشاط الجذر الهيدروكسيلي
32	III-1 تحضير المحلول الموقى الفوسفاتي(PBS PH=7.4)
33	III-2 مناقشة النتائج
34	IV- اختبار DPPH
36	IV-1 مناقشة النتائج
38	V- اختبار الجذر الانيونى فوق الأوكسيد
39	V-1 مناقشة النتائج.
44	الخاتمة
	المراجع





يعتبر الأوكسجين عنصراً أساسياً ومهماً في إنتاج الطاقة عن طريق أكسدة الغذاء، ومع ذلك فإن اختزال هذا العنصر لا يكون كاملاً، حتى تحت الظروف الطبيعية. إذ غالباً ما تنشأ مجموعات وسطية من المواد الكيميائية النشطة الطبيعية من عمليات التحول الغذائي وهي تلك التي يطلق عليها الجذور الحرة **Free radicals**. وتعمل الجذور الحرة على مهاجمة وتدمير مكونات الخلايا لتحدث بها أضراراً بالغة في مادتها الوراثية ووظائفها الخلوية المختلفة. ومع زيادة تراكم الجذور الحرة، تظهر أمراض عديدة مثل الأمراض الانحلالية وأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان والشيخوخة وغيرها [1].

والجذر الحر هو عبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي، وقد تكون تلك الشوارد عضوية أو غير عضوية، ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر.

إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو مهمة لصحة وحياة الإنسان ومع ذلك ، فإننا لا يمكن أن نعيش بدون الجذور الحرة . فالجسم يستخدمها لتحطيم الجراثيم ، و إنتاج الطاقة . فالتوازن بين كمية الجذور الحرة الناتجة عن طريق آليات داخلية أو خارجية و القدرة على تخريب الأنظمة المضادة للتأكسد يضمن التوازن الداخلي للأنسجة. و يستطيع جسم الإنسان السيطرة على هذه السلسلة من التفاعلات في الوقت المناسب، بنظام المواد المضادة للأكسدة داخل الخلايا(مضادات أكسدة انزيمية) ، و أيضا مضادات أكسدة غير انزيمية مثل الفلافونيدات وهي مضادات أكسدة فعالة خصوصاً في عمليات الأكسدة الخاصة ببعض المعادن .

في عملنا هذا قمنا بدراسة بعض المواد المضادة للأكسدة و التي تكون مصنعة ألا وهي المركبات الثيولية و التي كانت محل الدراسة في السنوات الأخيرة و كذلك مركبات متعددة الفينولات وتضمن هذا العمل جانبين جانب نظري تتطرقنا فيه إلى عموميات حول المركبات الثيولية، و متعددة الفينولات وكذلك إلى مفاهيم أساسية للجذور الحرة ومضادات الأكسدة ، و جانب تطبيقي تتطرقنا فيه إلى قدرة و المركبات الثيولية و متعدد الفينولات على تثبيط الجذر الهيدروكسيلي  $\text{OH}\cdot$  و فعاليتهم، على إرجاع ايون الحديد الثلاثي ، و تمخبل ايون الحديدوز، أيضا نشاطيتهم على إعطاء الكترولون للجذر الاكسجيني  $\text{O}_2^-$  و منحهم على إعطاء هيدروجين للجذر  $\text{DPPH}\cdot$ . ومن ثم مناقشة النتائج و التي دعمت بتفسيرات ناتجة عن الخصائص الفيزيوكيميائية مثل الذوبانية ، معامل التقسيم و الكمون العياري .



عموميات

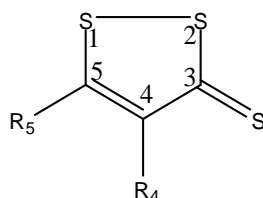
الثيولية الفينولية

نختص في دراستنا هذه كمضادات للأكسدة المركبات الثيولية و الفينولية:

## 1- المركبات الثنائي ثيول الحلقي:

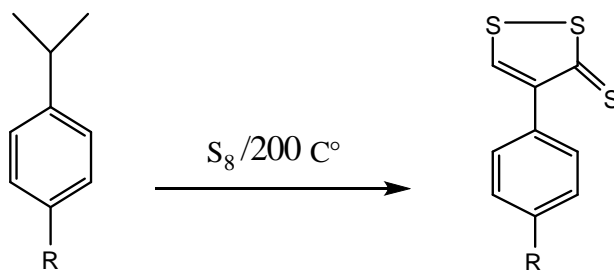
منذ سنة 1980 ، حظيت هذه المركبات باهتمام كبير من قبل الباحثين ووجدوا أن هناك فائدة عقاقيرية هامة في 1،2-ثنائي ثيول-3- ثيون مثل فعالية 4-مثيل-5-(2-بييرازينيل)-1،2-ثنائي ثيول-3- ثيون (Oltipraz) ضد مرض البلهارسيا (Bilharziosis)، هو مرض ناتج عن دودة استوائية . كذلك وجدوا أن هناك فائدة صناعية هامة في هذه المركبات ، وبالخصوص 5، 4 - ثنائي كلورو-1،2-ثنائي ثيول-3-ون كمبيد للجراثيم [2].

1،2- ثنائي ثيول-3-ثيون هي مركبات ذات حلقة خماسية تحوي ثلاث ذرات كبريت [3] لها الصيغة الكيميائية العامة الموضحة في الشكل (1) [4] .



الشكل (1)

توجد بعض مركبات ثنائي ثيول ثيون في الطبيعة بكميات ضئيلة في بعض النباتات من فصيلة crucifères وبالخصوص Brassica [5] . وعموما يمكن الحصول على 1،2- ثنائي ثيول-3- ثيون بتفاعلات الكبريتة في وجود الكبريت S أو  $P_4S_{10}$  ، والوضعيات الوحيدة المحتمل إشغالها في هذه المركبات هي الوضعية 4 والوضعية 5 كما هو موضح في المخطط (1) [6] . وقد حظيت هذه المركبات باهتمام كبير في مجالات عديدة لما لها من استعمالات مختلفة.



R = AlkyI;H

المخطط (1)



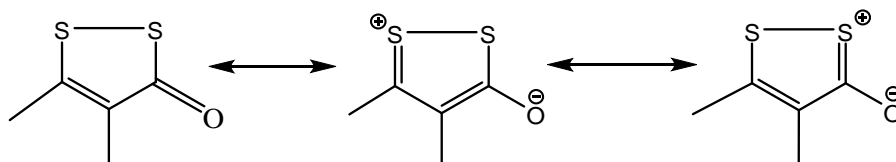
## 1-1- الخواص الفيزيائية للمركبات الثيولية:

### 1-1-1- الخواص العامة :

عدد كبير من المركبات 1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون تكون على شكل بلورات ملونة، فالتى تحتوي على مستبدلات أروماتية منها تمتاز بدرجات انصهار عالية نسبياً، وينحصر لونها من البرتقالي إلى الأحمر بخلاف المشتقات، ذات المستبدلات الأليفاتية تكون صفراء اللون، أما الألكلية منها ذات الأوزان العالية فانها تكون عبارة على زيوت، كما تمتاز هذه المركبات بثباتها الحراري مما يمكن تقطيرها دون أن يحدث لها أي تفكك و تحت الضغط الجوي، هذه المركبات عديمة الرائحة ولا تتأكسد بالهواء الجوي [7].

### 1-1-2- الخواص الطيفية:

تمتص المركبات 1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون في مجال المرئي و فوق البنفسجي (UV/VIS) و تظهر لها عصابات قوية عند 335، 250، 225 و 417 (nm) [8]. أما في مطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR) فقد تمت دراسة أطياف مجموعة من مركبات 1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون وتم تحديد خمس أنواع من الامتصاصات (عصابات امتصاص)، وكذلك من نتائج هذه الأشعة تم إثبات صيغ الرنين الالكتروني للمركب 1، 2- ثنائي ثيول-3- أون بناء على امتصاص مجموعة الكربونيل وعزم ثنائي القطب المخطط (2) [7].



### المخطط (2)

من مطيافية الرنين النووي المغناطيسي البروتوني ( $^1\text{H-NMR}$ ) لم يتم التمكن من إثبات عدم أروماتية مركبات 1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون، والإزاحة الكيميائية لبروتونات مجموعة الميثيل المستبدلة في الحلقات الأروماتية، طيف المركب 4- فينيل-1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون والمركب 5- فينيل-1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون تظهر فيه أروماتية حلقة ثنائي ثيول، ففي كل من هذه المركبات (كما هو الحال في مثيلاتها من الكيتونات)، البروتونات المتصلة بحلقة الثنائي ثيول تظهر قمة في المنطقة من 6.86 إلى 8.27 (ppm) بحيث يظهر البروتون الموجود في الموضع-5 إزاحة أكبر من البروتون الموجود في الموضع-4 [9].

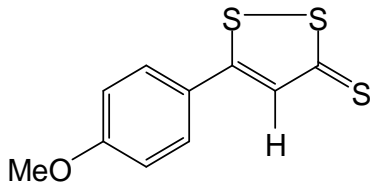
### 1-1-3-دراسة ذوبانية 1،2-ثنائي ثيول-3-ثيون:

تمتاز هذه المركبات بأنها شحيحة الذوبانية في أغلب المذيبات القطبية، قليلة الذوبان في المذيبات الأليفاتية، ذوابة في الهيدروكربونات الأروماتية كما أنها تذوب في حمض الكبريتيك المركز، و لأهمية استعمالها تمت دراسة ثبات التوزيع ( log P ) بالنسبة لهذه المركبات بين الماء ذو pH المعتدل و نظامي الاوكتانول، الذي هو مذيب غير قطبي ، وذلك بعدة طرق من أهمها UV-Vis، HPLC وغيرها [10] .

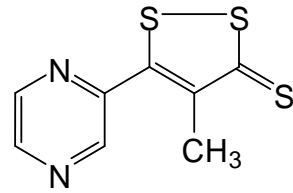
### 1-2-1-استعمالات المركبات الثيولية:

#### 1-2-1-1- الاستعمالات الطبية:

عرفت عدة مركبات من مشتقات 1،2-ثنائي ثيول-3-ثيون تداولها كبيرا في الأوساط الطبية و الصيدلانية نظرا للكثير من الخصائص العلاجية التي تتميز بها :  
الوقاية من السرطان من خلال تناول كمية من OLTIPRAZ غير المسمم هذه الجزيئات في الأصل تتطور بخصائصها الكيميائية الطبية وهي مادة لعدد الدراسات على التنشيط الكيميائي للسرطان .  
و OLTIPRAZ فعال في هذا المجال لأنه يرفع استنساخ من أنزيمات الطور 2 وهو أيضا مثبط كيميائي تجاه AFLATOSCINE (AFB1) المسببة للورم السرطاني في الطحال والكبد، و يستعمل كذلك كعامل واقى ضد العديد من السموم، مثل تسمم الكبد نتيجة تعرضها للمركبات (CCl<sub>4</sub>).  
المركب 5-بارا- ميثوكيسي فينيل 1،2-ثنائي ثيول-3-ثيون Trithioanéthole أو (Anétholetrithione sulfarlem) يستعمل لعلاج جفاف الفم عند الإنسان منذ 58 سنة [11] .  
كما أن بعض مشتقات 1،2-ثنائي ثيول-3-ثيون تمت دراسة فعاليتها في إدرار البول وتصفية الدم من المواد السامة و أعطت نتائج جيدة [8].



الشكل (3) : sulfarlem



الشكل (2) : Oltipraz

### 1-3 الاستعمالات الصناعية:

لقد استعمل المركب 4- رباعي بيوتيل-5- نيو بنتيل-1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون كمثبط لتآكل المنشآت البترولية بثاني أكسيد الكربون. كما استعملت المركبات 1، 2- ثنائي ثيول-3- ثيون و 1، 2- ثنائي ثيول-3- أون كمبيدات للحشرات وكمنظفات، وكذلك ضد العديد من الفطريات [12]. إن ثبات هذه المركبات أمام الفعل المؤكسد شجع على استخدامها كمضادات للتأكسد في وقود زيوت تشحيم المحركات ، كما تم استخدامها كمواد إضافية زيت التشحيم ونظرا لنشاطها اتجاه الأسطح المعدنية ساعد على استعمالها في اختبارات الكشف عن الشوارد التالية:  $Hg^+ Pt + Pt^{+4} Ag + Cu +$  ، وقد تم استخدامها في صناعة المطاط و البلاستيك لمنع نفوذ الأشعة فوق البنفسجية [13] .

### 2- المركبات الفينولية:

تعرف الفينولات بالمفهوم البسيط أنها مركبات ذات زمرة هيدروكسيلية مثبتة على ذرة كربون في حلقة بنزينية [14]، و تعتبر المركبات الفينولية من أهم منتجات الايض الثانوي [15] [16]. و زيادة على ذلك فإن المركبات الفينولية النباتية تعرف على أنها مشتق غير ازوتي، و يتم تكوين الحلقة او الحلقات العطرية من حمض الشيكيميك أو متعدد الاسيتات [17]. تتواجد المركبات الفينولية في جذور وسيقان الأزهار وأوراق النباتات ، كما تعد الفواكه مصدرا هاما لهذه المركبات، حيث تساهم الخضرا بحوالي نصف ما تنتجه الكائنات الأخرى . تعد الفواكه غير الناضجة غنية جدا بالأحماض الفينولية مثل (les flavonols) يمكن الحصول عليها من البصل و التفاح ، الفاصوليا الخضراء ، الكرنب غير الناضج ، نجد كذلك (flavanones) في الحمضيات و (isoflavones) في الشاي [18] .

### 2-1- دور المركبات الفينولية:

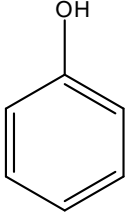
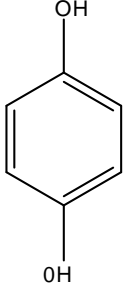
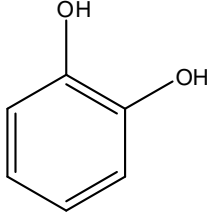
تشارك المركبات الفينولية في الدفاع ضد الأخطار البيئية ، من أجل هذا فإن نسبة 80% من هذه المركبات توجد على مستوى الأنسجة السطحية. وعموما يرجع لون النبات والثمار إلى صبغات(الخضابات) هذه المركبات، وهي المسؤولة عن ظهور الألوان ( أصفر، أخضر، برتقالي، أحمر) في النبات [18] .

### 2-2- تصنيف المركبات الفينولية : تصنف المركبات الفينولية حسب الهيكل الكربوني إلى:

#### ( الفينولات البسيطة:

وهي المركبات ذات الهيكل ( $C_6$ )، والتي تحوي حلقة بنزين مرتبطة بجموعات هيدروكسيل واحدة أو أكثر، وأهمها الفينول نفسه ، ومركبات أخرى نادرة الظهور منها :

الجدول (1): بنية الفينولات البسيطة

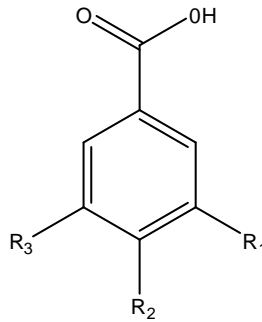
		
Phenol	Catéchol	Hydroquinone

(ب) الأحماض الفينولية: (Acides phénoliques):

هي المركبات العضوية التي يضم جزيئها على الأقل وظيفة كربوكسيلية ومجموعة هيدروكسيل فينولية القسمين الأساسيين في هذه المجموعة هما: أحماض الهيدروكسي بنزويك، وأحماض الهيدروكسي سيناميك [18].

ب-1) الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك:

هي الأحماض الفينولية ذات الهيكل (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>)، والمشتقات الهيدروكسيلية لحمض البنزويك تعد واسعة الانتشار سواء مرتبطة أو حرة أو في حالة سكريات أو أسترات [18].



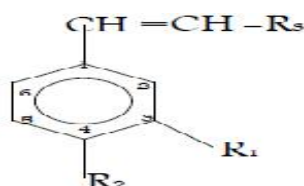
الشكل (4): الهيكل الأساسية للأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك.

**الجدول (2):** الأحماض الفينولية المشتقة من حامض البنزويك

R3	R2	R1	الاسم
H	H	H	حمض البنزويك Acide benzoïque
H	OH	H	حمض 4-هيدروكسي بنزويك Acide hydroxy-4-benzoïque
H	OCH <sub>3</sub>	H	حمض 4-ميثوكسي بنزويك Acide méthoxy-4-benzoïque
H	OH	OH	حمض بروتوكاتيشيك Acide protocatéchique
OH	OH	OH	حمض الغاليك Acide gallique
H	OH	OCH <sub>3</sub>	حمض الفانيليك Acide vanillique

**ب-2) الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك:**

أغلبية الأحماض الفينولية من الهيكل (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) وهي أحماض الكوماريك (p-acides coumarique)، الكافيينك (Caféique)، الفيريليك (ferulique) ذات الانتشار الواسع ، أما بقية الأحماض الأخرى مثل (acide 2-coumarique) تعد الأقل ظهورا ونادرا ما تكون حرة ، وهي في أغلب الأحيان أسترات مصنعة [18] .



**الشكل (5):** الهيكل الأساسية للأحماض الفينولية المشتقة من حامض السيناميك

**الجدول (3):** الأحماض الفينولية المشتقة من حامض السيناميك

R3	R2	R1	الاسم
COOH	H	H	حمض السيناميك Acide cinnamique
COOH	OH	H	حمض كوماريك Acide p-coumarique
COOH	OH	OH	حمض الكافيينك Acide caféique
COOH	OH	OCH <sub>3</sub>	حمض الفيريليك Acide Férulique
COOH	OCH <sub>3</sub>	OH	حمض ايزوفيريليك Acide Isoférulique



### ب-3) الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأحماض الفينولية :

الفينولات تنحل أساسا في المذيبات العضوية القطبية، وتذوب كذلك في محاليل هيدروكسيد الصوديوم و كربونات الصوديوم .

الأحماض الفينولية تذوب بواسطة كربونات الهيدروجين، وتستخلص بمذيبات عضوية في وسط حمضي مخفف . كذلك كل الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للمركبات الفينولية تذوب في الماء وتعد مركبات غير ثابتة .

كل الفينولات قابلة للتأكسد بسهولة خاصة في الأوساط القلوية ، حيث أن أحماض السيناميك تعطي مركبات تظهر تحت تأثير الأشعة فوق البنفسجية . عندما يتأكسد حمض السيناميك في الوضع أورثو للسلسلة الجانبية له وتكوين حلقة اللاكتون مع نزع جزيء من الماء، سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين، الذي يعتبر فسيولوجيا أنشط الفينولات فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات [18].

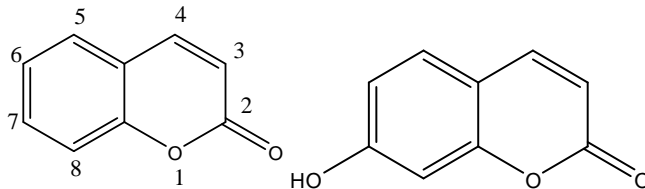
### ج) الكومارينات :

أخذ إسم الكومارينات من اللفظ (coumarou). حيث تم عزل الكومارينات في عام 1820 وتوصلوا سنة 1996 إلى اكتشاف حوالي 1300 كومارين ، وهي عبارة عن مواد فينولية مشكلة من نواة بنزينية وحلقة بيران (حلقة سداسية بها ذرة أكسجين) .

للكومارينات تأثيرات ونشاط بيولوجي، حيث تؤدي دور مضادات للاحتراق، كما أن المجمعات الطبية الدولية كانت تستعملها كثيرا، من أجل هذا فإن الكثير من الدراسات الأولية أجريت على الحيوانات، ولم يتم تعميمها على الناس، وهذا الذي حدد وحصر المنفعة للأدوية التي تحتوي على الكومارينات.

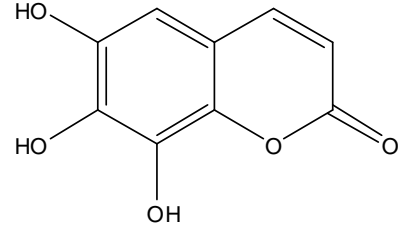
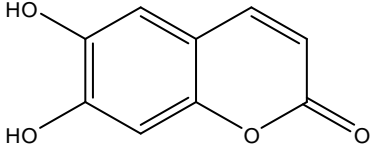
### ج-1) بنية وتصنيف الكومارينات :

في العديد من الحالات كل الكومارينات يستبدل الموقع (7) بمجموعة هيدروكسيل ، فيصبح 7-هيدروكسي كومارين والذي نسميه بالامبيليفرون (ombelliférone) حيث يعد هو المركب الاساسي للكومارينات 6،7- دي هيدروكسي كومارين و 6،7، 8- تري هيدروكسي كومارين .



الشكل (7): الكومارين (Coumarine)

الشكل (6): الأومبيليفرون (Ombelliférone)



الشكل (9) : 6,7-دي هيدروكسي كومارين

الشكل (8) : 6,7,8- تري هيدروكسي كومارين

(6,7- dihydroxycoumarine)

(6,7,8- trihydroxycoumarine)

عموما الكومارينات تقسم إلى أربعة أقسام :

- الكومارينات البسيطة : العنصر البنوي الأساسي فيها هو مجموعة الهيدروكسيل.
- الفيرانو كومارين : عناصر هذه الفئة تتشكل أساسا من حلقة خماسية غير متجانسة (furan) مرتبطة بنواة كومارين
- البيرانوكومارين: مركبات هذه المجموعة مماثلة للمجموعة الأولى ، غير أنها تتشكل من حلقة سداسية غير متجانسة (pyrane) مرتبطة بنواة كومارين .

### ج-2) الخصائص الفيزيائية والكيميائية للكومارينات :

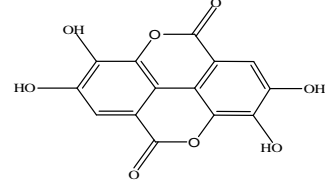
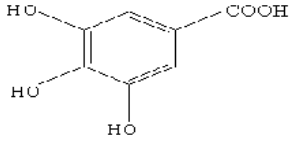
الكومارينات الحرة تذوب في الكحولات والمذيبات العضوية ، كما هو الحال في مجموعات (dioxides d'éthyles) أو المذيبات المحتوية على الكلور. الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للكومارينات تنحل بسهولة في الماء . الفحص بالأشعة فوق البنفسجية أو كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) للكومارينات يمثل ببقعة ملونة تزداد وضوحا بوجود الأمونياك . يتأثر طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) بشدة بطبيعة موقع المستبدلات [18] .

### د)التانينات (العفصيات) :

هي مركبات ضخمة عديدة الجزيئات عادة ما تستخدم في الدباغة ، ولها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ولها مذاق غير مستساغ ، وقد تعرف بتكوينها لمركبات فينولية ذات أوزان جزيئية كبيرة تتراوح بين (500 – 3000) ، ولها القدرة على ترسيب القلويدات والبروتينات الأخرى. تنقسم التانينات إلى قسمين رئيسيين هما [19] .

د-1) التانينات المتحللة (الذوابة):

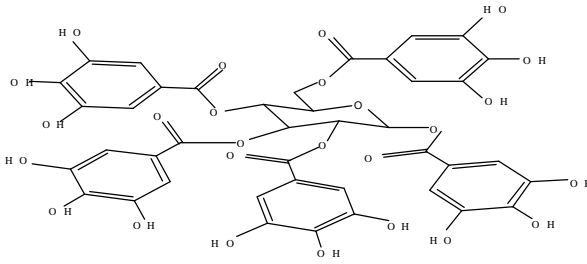
هي عبارة عن جزيئات معقدة أسترات لسكر (عديد الهيدروكسي) وعدد متغير من حمض الفينول ، تحللها ينتج شفا سكريا في أغلب الأحيان يكون الغلوكوز, وشفا فينوليا مشكلا أساسا من حمض الغاليك، أو من حمض الايلاجيك [19].



الشكل (11): حمض الغاليك

الشكل (10): حمض الإيلاجيك

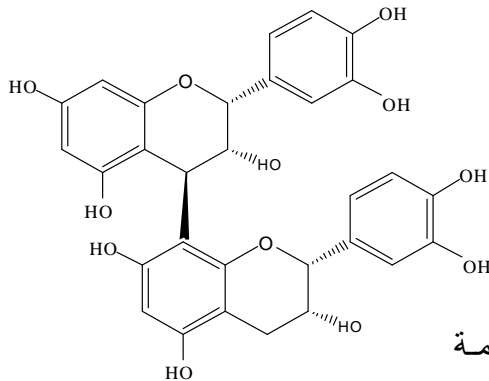
(acide gallique)



الشكل (12): التانينات المتحللة

د-2) التانينات المتراكمة:

وهي الأكثر انتشارا، وهي ناتجة من البلمرة لجزيئات أولية تمتلك البنية العامة للفلافونويدات ويعد catechines (flavan-3-ols) أو coanhtocyanidine (flavan-3,4-diols) الأكثر أهمية وترتبط فيما بينها بروابط كربونية، وفي أغلب الأحيان تكون بين المواقع (4,8) أو (4,6)[19]. ترجع خواص التانينات المتراكمة إلى طبيعة الجزيئات الأولية الداخلة في تركيبها، وخاصة الوزن الجزيئي. حيث أن الخواص الطبيعية لعينة ما، أي قابليتها للارتباط بالبروتين تزداد من (bimère - decamère) وتنقص بعدها ، فيمكن للجزيئات الكبيرة أن تكون عديمة الذوبان .



الشكل (13): التانينات المتراكمة

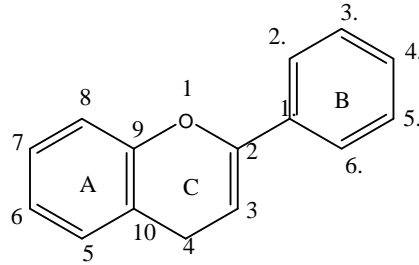
## هـ) الفلافونويدات :

عرف مصطلح (flavonoide) منذ 1952 من طرف العالمان (hinreiner ، geissman) ، حيث تم تعيين كل الأصباغ التي تمتلك الهيكل (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) ، وهي مشتقة من الكلمة اللاتينية (flavus) بمعنى الأصفر ، والفلافونويدات تمثل القسم البالغ الأهمية من عمليات الايض الثانوية، التي تحدث في جميع أنسجة وخلايا النباتات. وإلى حد الآن تم سرد 4000 فلافونويد في المملكة النباتية ، وهي تصنف وفق أكسدتها إلى 6 مجموعات [19].

( الفلافونات ، الفلافونولات ، الفلافونونات ، الإيزوفلافونات ، الشالكونات ، الأورونات )

( flavones , flavonols , flavonones , isoflavones , chalcones , )

(auroness



الشكل (14): الهيكل الأساسي للفلافونويدات

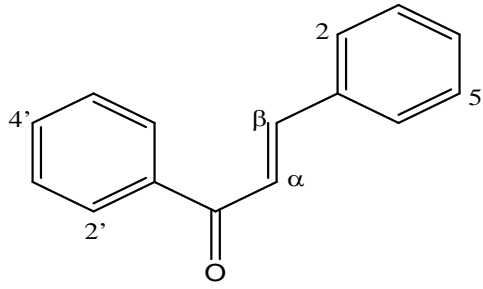
## هـ-1) الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفلافونويدات :

الفلافونويدات مركبات ملونة ، وهي تتواجد في جميع أجزاء النباتات الراقية حيث تتواجد بكثرة في الجزء الهوائي وخاصة الأوراق والأزهار إذ تسبب تلوين هذه الأخيرة. تعتبر الفلافونويدات مركبات ذات صفة حامضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم .

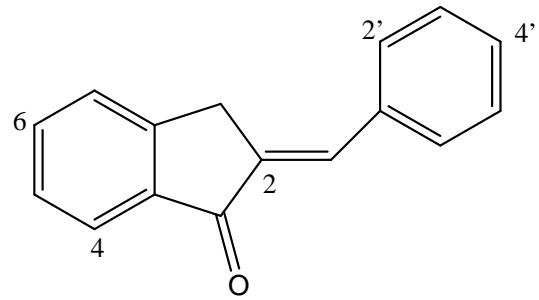
المركبات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات والفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجاميع الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الايثر [19] .

## هـ-2) أنواع الفلافونويدات:

تنقسم الفلافونويدات إلى عدة أنواع وذلك تبعا لعدد المستبدلات ، موضعها وطبيعتها التي تكون في جل الأحيان مجموعة ميثوكسيل أو جليكوزيل، وتبعا لمستوى الأكسدة للحلقة غير المتجانسة ، ومن أنواع الفلافونويدات نذكر [21].



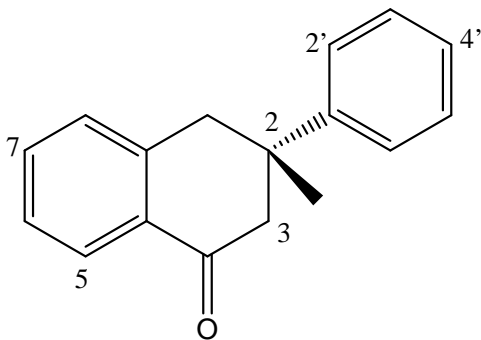
**Chalcones**



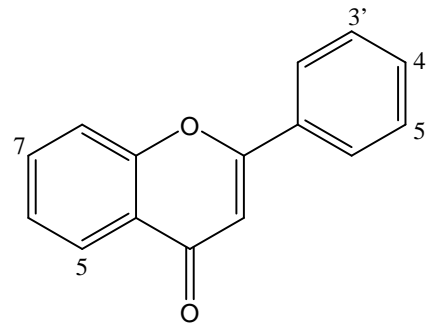
**Aurones**

Flavonoide	Substution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Daidzeine			OH		OH	
Génisteine	OH		OH		OH	

Flavonoide	Substution					
	4	6	7	3'	4'	5'
Leptosidine		OH	OMe	OH	OH	
Maritiméine		OH	OH	OH	OH	



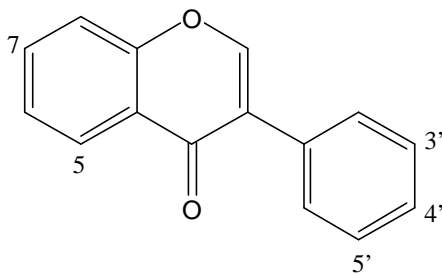
**Flavanones**



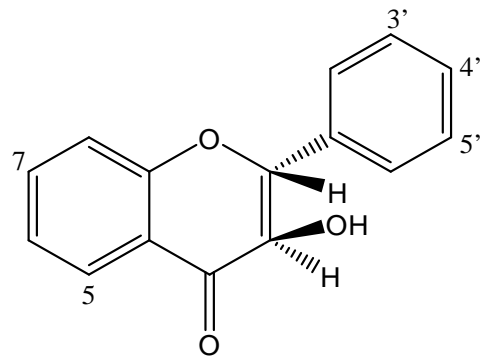
**Flavones**

Flavonoide	Substution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Eriodictyol	OH		OH	OH	OH	
Hesperitine	OH		OH	OH	OMe	
Naringénine	OH		OH		OH	

Flavonoide	Substution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Apigénine	OH		OH		OH	
Chryisine			OH			
Lutéoline	OH		OH	OH	OH	



**Isoflavones**



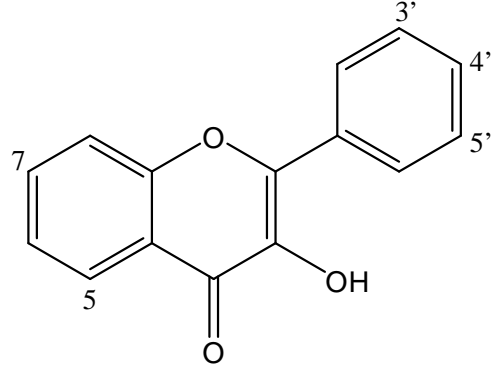
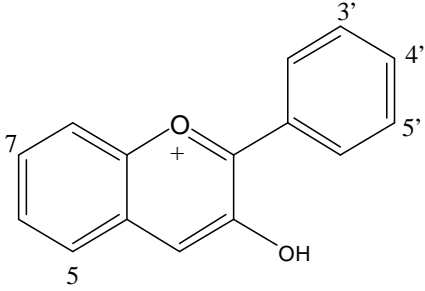
**Dihydroflavonols**



## الثيولية الفينولية فعاليتها

Flavonoide	Substution					
	2'	3'	4'	5'	6'	4
Davidigénine	OH	OH				OH
Asebogénine	OH	OMe		OH		OH

Flavonoide	Substution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Taxifoline	OH		OH	OH	OH	
Fusetine			OH	OH	OH	

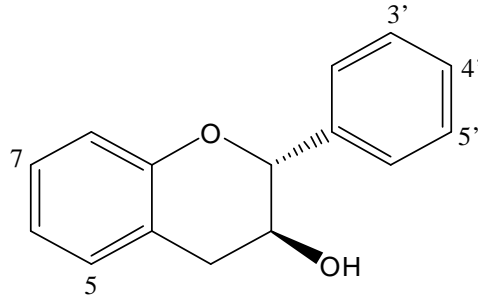


### Anthocyanes

Flavonoide	Substution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Pelargonidine	OH	OH	OH		OH	
Cyanidine	OH	OH	OH	OH	OH	
Delphinidine	OH	OH	OH	OH	OH	OH

### Flavonols

Flavonoide	Substution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Kamphérole	OH		OH		OH	
Myricétine	OH		OH	OH	OH	OH
Quercétine	OH		OH	OH	OH	



### Flavanols

Flavonoide	Substution					
	5	6	7	3'	4'	5'
Catéchine	OH		OH	OH	OH	
Gallacatéchine	OH		OH	OH	OH	OH

### 3-الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية :

أكدت الدراسات العلمية الحالية الخصائص الطبية التي ترجع إلى المركبات الفينولية ، ومن بين هذه الخصائص : النشاط المضادة للالتهاب ، المضادة للفيروسات ، المضادة للحساسية... إلخ .

يتم إمتصاص المركبات الفينولية من خلال الجدار المعوي، ومن ثم الوصول إلى الأنسجة المستهدفة حيث يمكن أن تؤدي إلى وقاية الجسم من تعرضه للأكسدة ، والأمراض المختلفة (أمراض القلب والسرطان وأمراض الأعصاب...).

تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة، قادرة على، قنص الجذور الحرة الناجمة عن (التدخين والتلوث ) ، و التي تشكل خطرا كبيرا على الحياة والبيئة [20].



## مقدمة:

إن كل خلية من خلايا جسم الإنسان الذي يتكون من حوالي تريليون خلية تعاني من حوالي 10000 هجمة من الجذور الحرة في اليوم الواحد ، وهذا الهجوم يتركز في الغالب على المادة الوراثية والأغشية الخلوية والبروتينات والدهون، الشيء الذي يعزى إليه زيادة معدل التطفر الذي يتضاعف لدى المتقدمين في السن مقارنة بالأطفال، وهذه الطفرات تزيد من خطورة الإصابة بالسرطان.

على مدى سبعين سنة اعتيادية من عمر الإنسان، فإن الجسم يولد ما يعادل سبعة عشر طنا من الجذور الحرة لذا فإن جسم الإنسان يحتاج إلى دفعات فعالة مضادة للأكسدة في كل الأوقات، إذ تعمل مضادات الأكسدة على منع تكوين الجذور الحرة أو الحد من تأثيرها داخل الجسم [1].

## 1- الجذور الحرة :

يطلق عليها أيضا اسم العوامل المؤكسدة وهي عبارة عن أصناف كيميائية فقدت إلكترون أو أكثر من المدار الخارجي، إذ تكون الإلكترونات في الحالة العادية مزدوجة وعند فقدان أحدها فإن المركب يفقد استقراره ويصبح مؤذ للجزيئات المجاورة، حيث أن الإلكترون المنفرد في المدار الخارجي يبقى نشط يبحث عن الإلكترون المفقود ليكون زوجا مستقرا وهذا ما يجعله ينتزع من أحد الجزيئات المجاورة مما يسبب إتلاف جزيئات الخلية الطبيعية، وبالرغم من قصر مدة حياة الجذور الحرة والتي لا تتجاوز أجزاء من الثانية إلا أن جذرا حرا واحدا قد يسبب حالة من الفوضى وعدم الاستقرار وبالتالي نشوء المرض.[1].

الجذور الحرة تنتج من التفكك أو التحلل المتجانس (homolysis) للجزيئة بفعل الحرارة أو التيار الكهربائي أو الأشعة الكهرومغناطيسية والدقائق الإشعاعية الأخرى، أو التحلل المتجانس لحالة إثارة الجزيئة عند وصولها إلى حالة منفردة كالآتي:

## 2- مدة حياة الجذور الحرة :

فترة عمر الجذور الانيونية لفوق الأكسيد، فوق البيروكسيد ، جذور الهيدروكسيل ، جذور الكوكسيل و جذور البيروكسيل في وسط مائي هي  $10^{-6}$  ،  $10^{-9}$  ،  $10^{-12}$  ثانية بالترتيب. تتشكل باستمرار أثناء الاستقلاب العادي في خلايا الكائنات الهوائية [23].

### 3- مصادر الجذور الحرة:

في الواقع الحياة الخلوية عبارة عن مصدر مستمر لإنتاج مختلف أنواع الجذور الحرة حيث تكون المركبات الخلوية الأساسية مستهدفة باستمرار من طرف هذه الجذور الحرة، منها المرتبطة بعوامل داخلية و منها خارجية المنشأ.

#### 3-1 المصدر الداخلي للجذور الحرة:

إن نشاط وحركية انتقال الإلكترونات يعتبر من أساسيات توليد الطاقة في التفاعلات الحيوية كالفسفرة التأكسدية على مستوى الميتوكوندري عن طريق اختزال الأوكسجين الجزيئي خلال التنفس الخلوي، وتشكيل ال ATP على مستوى الميتوكوندري وخلال النقل الإلكتروني، ينتج أنيون فوق الأوكسيد الذي يتحول فيما بعد إلى  $H_2O_2$  أو  $OH^-$  حيث يمكن أن يؤدي التسرب في الإلكترونات خلال تفاعلات نقلها إلى أكسدة الأوكسجين الجزيئي [24].

#### 3-2 المصدر الخارجي للجذور الحرة:

يمكن أن تنتج الجذور الحرة النشطة عند التعرض لمختلف العوامل البيئية الفيزيائية و الكيميائية منها، الإشعاعات فوق البنفسجية و تحت الحمراء و الحرارة و الموجات فوق الصوتية وبعض المعادن مثل الحديد و التدخين.... [25].

#### 3-3 الجذور الحرة في الغلاف الجوي :

في الغلاف الجوي العلوي تنتج الجذور عن طريق تفكك الجزيئات ، وخاصة تفكك الكلور والفلور و الكربون غير النشط بواسطة الأشعة فوق البنفسجية الصادرة من الشمس أو كنتاج للتفاعل مع محتويات الغلاف الجوي الأخرى . تتفاعل هذه الجذور بعد ذلك مع الأوزون في تفاعل سلسلي مما يؤدي لتكسر الأوزون ، وتكوين مزيد من الجذور الحرة التي تساهم في مزيد من التفاعلات. ومثل هذه التفاعلات يعتقد أنها السبب في استنزاف طبقة الأوزون . ولذلك تم منع استخدام الكلور و الفلور و الكربون كمواد تبريد [25].

#### 3-4 الجذور الحرة في علم الأحياء:

توجد الجذور الحرة داخل الكائن الحي في شكل صور أكسيجينية نشطة ومن أهمها: أنيون فوق الأوكسيد ( $O_2^-$ ) وجذور الهيدروكسيل ( $OH\cdot$ )، وفوق أكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ )، وجذور البيروكسيل

(ROO<sup>·</sup>). ومن المحتمل أن تكون جذور الهيدروكسيل هي الأكثر تأثيرًا بين هذه الجذور، بالإضافة إلى الجذور الحرة الناتجة عن أكسدة الدهون ، كما أن بعض العناصر مثل الحديد والنحاس تدخل في تفاعلات كيميائية حيوية داخل الجسم تعرف بتفاعلات fenton.

كما تلعب الجذور الحرة دورا مهما في كثير من العمليات الحيوية ، وبعضها في غاية الأهمية للحياة ، مثل قتل البكتريا داخل الخلايا. وأهم الجذور التي لها مركز أكسجيني هي الأكاسيد الفائقة والجذور الهيدروكسيلية. ويتم الحصول عليها من الأوكسجين العادي بتعريضه لظروف اختزالية. وعموما فإنه نظرا لنشاطها فإن الجذور يمكن أن تساهم في تفاعلات جانبية أخرى تدمر الخلية [25].

#### 4-أنواع الجذور الاكسجينية الحرة:

يتم إنتاج العديد من المواد المؤكسدة القوية خلال عمليات الأيض في كل من الخلايا الدموية الحمراء ومعظم خلايا الجسم الأخرى. وهذه المواد المؤكسدة تتضمن جذر فوق الأكسيد Superoxide وفوق أكسيد الهيدروجين (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) وجذور Radical pyroxy (ROO<sup>·</sup>) وجذر الهيدروكسيل Radical hydroxyl (OH<sup>·</sup>) [26].

#### 4-1 الانيون فوق الأكسيد: Anion Superoxide:

عبارة عن جذر أحادي (Mono radical) مشحون سلبا، يتكون نتيجة لاختزال الأوكسجين الجزيئي الذي يستقبل إلكترونات خلال تفاعل يتطلب طاقة:



يكون هذا الأنيون نشطا إلى حد ما حيث يعتبر اقل نشاطا من جذر هيدروكسيل (OH<sup>·</sup>)، لكن بإمكانه أن ينتشر بشكل كبير داخل العضوية [26].

#### 4-2 فوق أكسيد الهيدروجين :

يتكون H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ابتداء من جذر O<sub>2</sub><sup>·-</sup> في وجود إنزيم SOD كما يمكنه أن ينتج من طرق أخرى بواسطة إنزيمات (Monooxygenase). لا يعتبر H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> جذرا حرا ولكنه جد نشط وله قدرة كبيرة على الأكسدة يتحول بيروكسيد الهيدروجين H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> في وجود إنزيم Catalase إلى H<sub>2</sub>O جزيئة

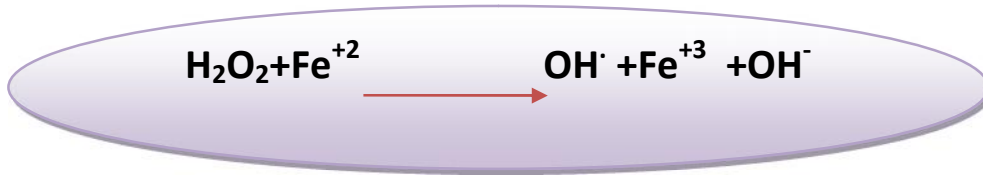
أكسجين:



تتفاعل العديد من الأملاح المعدنية الانتقالية مع  $H_2O_2$  لتعطي جذر الهيدروكسيل ( $OH\cdot$ )، حيث في وجود ايون الحديدوز  $Fe^{+2}$  يتحول المركب حسب تفاعل Fenton ليعطي ايون  $OH^-$  وجذر الهيدروكسيل  $OH\cdot$  [26].

### 3-4 جذور الهيدروكسيل ( $OH\cdot$ ) :

يمكن أن تتكون من  $H_2O_2$  في تفاعل غير انزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديدوز ( $Fe^{+2}$ )، ويسمى هذا التفاعل بتفاعل Fenton. إن جذر  $OH\cdot$  هو جزيء نشط جدا ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية و الليبيدات وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها اويسبب تلفا للأنسجة [26].



### 5- مضادات الأكسدة:

هي تلك المواد الكيميائية التي لها القدرة على مقاومة فعالية العوامل المؤكسدة أو لها إمكانية اقتناص الجذور الحرة فتعيق نشاطها أو تمنع تشكلها أصلاً. كما أن القليل من جزيئات مضادات الأكسدة داخل جسم الإنسان مثل بعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماماً ، لذلك فإن الأطعمة المحتوية على مضادات الأكسدة تكون مهمة في الحفاظ على الصحة. وقد أثبتت العديد من الدراسات أن بعض العناصر الغذائية لها أهمية كمضادات للأكسدة مثل فيتامين (C) (E) و الكاروتينيدات والفلافونويدات وصبغات النبات الأخرى. كما وجد أن بعض مضادات الأكسدة يمكن أن تظهر تأثيراتها المفيدة خارج الجسم أيضاً مثل ما يحدث في عملية حفظ الأطعمة [27].

## 5-1 مصادر مضادات الأكسدة :

### 5-1-1 مضادات الأكسدة الإنزيمية:

وتلعب دوراً هاماً وأساسياً في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي، مثل:

#### ❖ الكاتالاز:

يوجد في الأجسام البيروكسوية Peroxisomes في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدماغ ونخاع العظام والأغشية المخاطية والكلية والكبد. كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو الأكسيداز Oxidase. فبينما يعمل الأكسيداز على تكوين  $H_2O_2$  يقوم الكاتالاز بتكسيده وتحويله إلى ماء وأكسجين حسب التفاعل التالي [20].

#### ❖ جلوتاثيون بيروكسيداز :

يوجد هذا الإنزيم في خلايا الدم الحمراء والأنسجة الأخرى . ويقوم هذا الإنزيم بتحفيز تكسير  $H_2O_2$  و Hydroperoxides اللبيدات بواسطة الجلوتاثيون المختزل (GSH) و  $H_2O_2$  ليعطي الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) والماء ، كما هو موضح في المعادلة التالية [15].

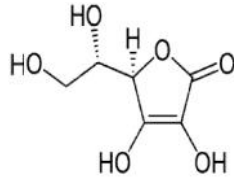
يقوم الجلوتاثيون بيروكسيداز بحماية دهون الأغشية الحيوية والهيموجلوبين ضد الأكسدة بواسطة Peroxides التي يمكن أن يستخدمها كركائز أخرى.

### 5-1-2 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:

#### ❖ فيتامين . ج Vitamin-C :

يسمى كذلك بحمض الأسكوربيك acide Ascorbique هو مضاد أكسدة يذوب في الماء ويعمل داخل الخلايا ويستطيع إختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها ، كما يعمل على مساندة النظام الدفاعي للجسم ويستخدم أيضاً ضمن آليات الجسم لإزالة سمية بعض المواد الكيميائية وله دور هام في عملية الأكسدة والاختزال في الجسم. كما أن لهذا الفيتامين دوراً مضاداً للموت الخلوي ، ويؤثر أيضاً على بعض المواد المضادة للتكاثر. و لأن جسم الإنسان لا يستطيع إنتاج هذا الفيتامين، فإنه يمكنه تأمينه عن طريق تناول الأطعمة التي تحتوي عليه كالحمضيات [20].



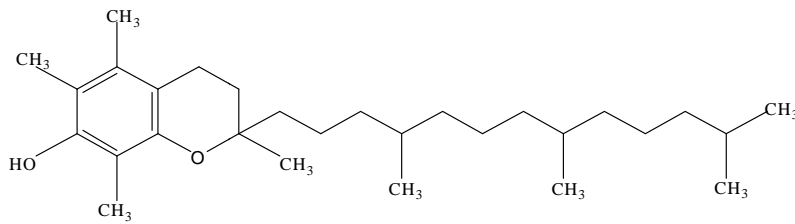


الشكل (15) : بنية حمض الأسكوربيك (V.C)

### ❖ فيتامين . هـ : Vitamin-E

يعتبر فيتامين - هـ من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون وتعرف مركباته بالتوكوفيرولات Tocopherols والتوكوترينولات من أهمها مركب ألفاتوكوفيرول الذي يلعب دوراً حيوياً في حماية الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي وبالتالي منع الكولسترول من الالتصاق بجدران الشرايين حيث إن هذا الفيتامين يقوم باقتناص الجذور البيروكسيلية في الأغشية الخلوية ولذلك يطلق عليه " كاسح الجذور". كما يعادل تأثير بعض الجذور الحرة الأخرى وبالتالي يعمل على الوقاية من بعض الأمراض. كما تعمل مركبات فيتامين - هـ على منع أكسدة بعض العناصر الغذائية وإعاقة سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون والزيوت [20].

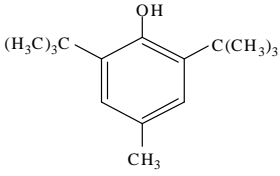
إكتسب فيتامين - هـ - أهمية بالغة بعد أن عرف دوره كمضاد للأكسدة وإطالة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الأمراض كتقليل نسبة حدوث الإصابة بالجلطات القلبية وتصلب الشرايين ، كما أن لهذا الفيتامين دور في وقاية الجينات من التطفر. ومن المصادر الغنية بهذا الفيتامين زيت النخيل والذرة والفاول السوداني.



الشكل (16) : بنية α-توكوفيرول (V.E)

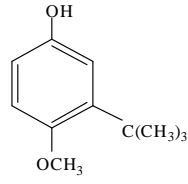
إن مضادات الأكسدة التي تتكون طبيعياً داخل الخلايا تعد غير كافية ، مما أدى إلى تصنيع مجموعة من المركبات التي تعمل كمضادات للتأكسد أطلق عليها إسم مضادات الأكسدة المصنعة والتي يضاف بعضها إلى الأطعمة لمنع أكسدة مكوناتها من الدهون والسكريات والبروتينات. ومن هذه المركبات مادة Butylated hydroxy (BHA) و Butylated hydroxy toluene (BHT) و anizole التي استخدمت في الدراسات الحالية.

## الثيولية الفينولية فعاليتها



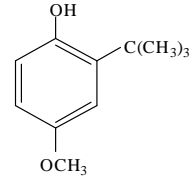
BHT

2,6-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene



BHA

3-tert-butyl-4-methoxyphenol



BHA

2-tert-butyl-methoxyphenol

الشكل (17): بنية BHT - BHA

التطبيقي

تقدير الفعالية

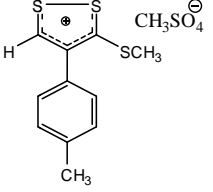
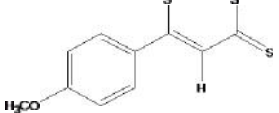
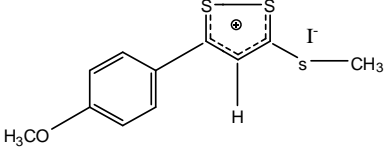
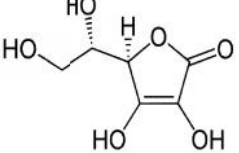
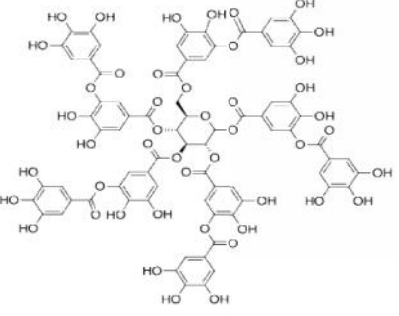
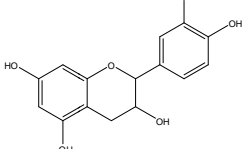
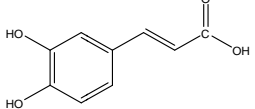
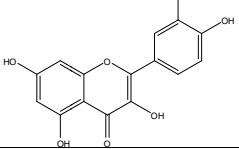
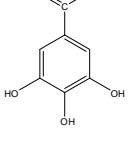
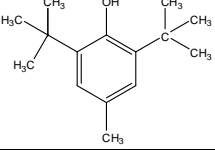
## تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

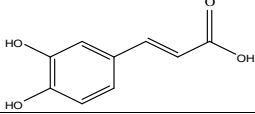
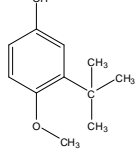
هي قياس قدرة مركب ما على تثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة, حيث تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: اختبار DPPH - ABTS - FRAP - طريقة تثبيط نشاط بيروكسيد الهيدروجين و الجذر الهيدروكسيلي و نشاطية التمثل.

في دراستنا هذه قمنا باختبار القدرة الارجاعية لايون الحديد الثلاثي ، نشاطية تمثل ايون الحديدوز ،تثبيط الجذر الهيدروكسيلي واختبار DPPH، والجذر الانينيوني فوق الأوكسيد وفي دراستنا هذه تناولنا اختبارين القدرة الارجاعية للحديد الثلاثي و اختبار DPPH لبعض مركبات الثنائي الثيول الحلقي و الفينولية و ثلاث اختبارات نشاطية التمثل و تثبيط الجذر الهيدروكسيلي و الجذر الانينيوني ل فوق الاكسيد لبعض المركبات الفينولية و الجدول التالي يوضح لنا صيغ المركبات المدروسة في هذا العمل

**جدول(4):** يمثل المركبات الثنائي الثيول الحلقي (الثيولية) و الفينولية المدروسة في هذا العمل

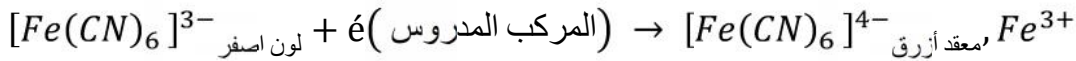
المركبات	الاسم العلمي
	4-phényle-1,2-dithiole-3-thione (A)
	3-Méthylthio-4-Phényle-1, 2-Dithiolylium contre ion (I) (A1)
	3-Méthylthio-4-Phényle-1, 2-Dithiolylium contre ion (CH <sub>3</sub> SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) (A2)
	4-Tolyle-1,2-dithiole-3-thione (B)
	3-Méthylthio-4p-Tolyle-1, 2-Dithiolylium contre ion (I) (B1)

<p>3-Méthylthio-4p-Tolyle-1, 2-Dithiolylium contre ion (CH<sub>3</sub>SO<sub>4</sub><sup>-</sup>) (B2)</p>	
<p>5-(4-methoxyphenyl)-1,2-dithiolane-3-thione (C)</p>	
<p>3-Méthylthio-5p-méthoxyphényl-1, 2-Dithiolylium contre ion (Γ) (C1)</p>	
<p>Vitamine C (acide ascorbique)</p>	
<p>Acide tannique</p>	
<p>E-p-catéchine</p>	
<p>Acide caféique</p>	
<p>Quercétine رستين</p>	
<p>Acide gallique حمض الغاليك</p>	
<p>BHT (Butylated hydroxytoluene)</p>	

acide p-coumarique حمض الكوماريك	
BHA( Butylhydroxyanisole)	

## I - القدرة الارجاعية للمركبات الثنائي الثيول الحلقي و الفينولية:

يعتبر اختبار أو كفاءة الارجاعية لثيوسيانات الحديدك مباشرا و سريعا و هو يستعمل أساسا لقياس مدى قدرة مضادات الأكسدة غير الانزيمية، يستعمل هذا الاختبار لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات المدروسة في وسط متعادل يعتمد على إرجاع والذي يعطي في وجود الحديد الثلاثي لون ازرق بروسيا يمكن قياس الامتصاصية بجهاز UV عند طول موجة 700nm.



تم تحديد اختبار القدرة الارجاعية في سنة 1986 من طرف Oyaizu [28].

حيث يتم قياس الفعالية المضادة للأكسدة وفق مقدار جديد يدعى AEAC.

(Ascorbic acid Equivalent Antioxydant Capacity)

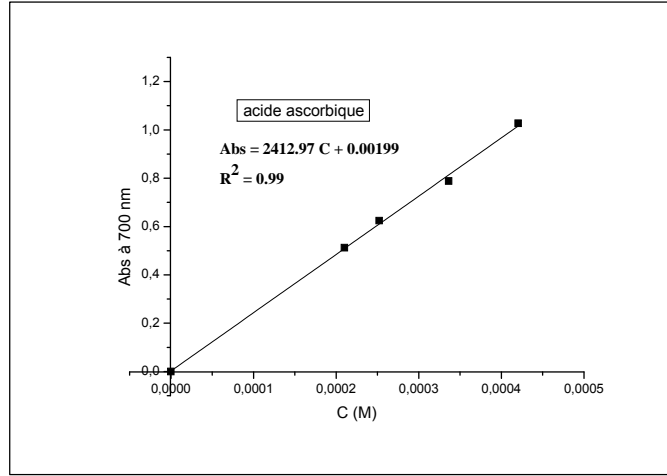
وهو يمثل الفعالية المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك من طرف مضادات الاكسدة المدروسة حددت الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الثنائي الثيول الحلقي و الفينولية بالنسبة لحمض الاسكوربيك (V.C) لذلك يستلزم رسم منحي قياسي لهذا المركب المرجعي.

### المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك:

و يتم ذلك عمليا بتحضير محاليل ذات تراكيز مختلفة لحمض الاسكوربيك محصورة ما بين (0.0001-5E-4M)

في أنبوب اختبار نأخذ 2.5mL من المحاليل الممددة ثم نضيف 2.5 mL من المحلول  $K_3Fe(CN)_6$  تركيزه 1%، ثم نضيف 2.5 mL من المحلول الفوسفاتي الموقى (tampon phosphatée) (0.2M -6.6=PH) بعدها نضع المحاليل في حمام مائي لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة  $50\text{ }^\circ\text{C}$ ، و نضيف 2.5 mL من حمض ثلاثي كلورور اسيتيك (10% TCA) ثم نأخذ 2.5 mL من المحلول المحضر نضيف لها 2.5 mL من الماء المقطر و 0.5 mL من  $FeCl_3$  (0.1%) نسجل الامتصاصية بجهاز UV-Vis عند طول موجة 700 nm [29].

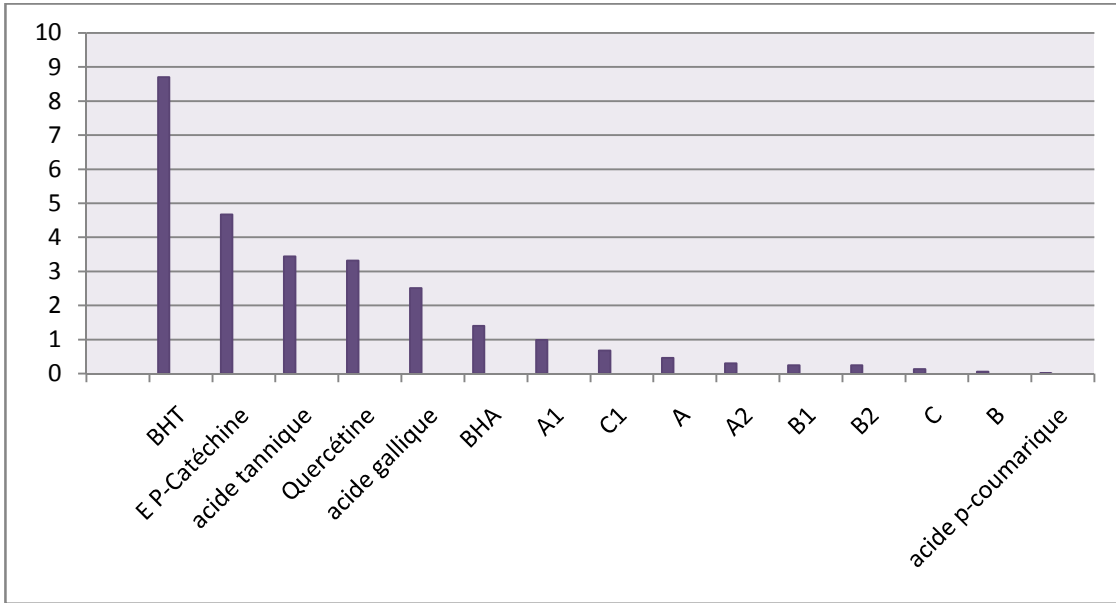
نرسم المنحنى القياسي لحمض الاسكوريك: الكثافة الضوئية بدلالة التركيز



نقوم بتحضير تراكيز مختلفة للمركبات الفينولية و الثنائي الثيول الحلقي و نعاملها نفس معاملة

حمض الاسكوريك ونسجل التغير في قيم الكثافة الضوئية بدلالة التركيز و منها قيم AEAC :

**مخطط (3):** يمثل قيم AEAC للمركبات الثنائي الثيول الحلقي و الفينولية



### 1- مناقشة النتائج:

كملاحظة أولى نرى انه كلما زاد تركيز المرجع كلما زادت الامتصاصية أي إرجاع ايونات الحديد الثلاثي  $Fe^{+3}$  و من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول يتبين أن هذه المركبات المدروسة لها فعالية ارجاعية متفاوتة ،حيث نجد أن قيم AEAC محصورة بين [0.0313 mM ,8.701 mM] حيث يكون ترتيبها كالتالي:



BHT > catéchine > acide tannique > quercétine > acide gallique > acide cafféique > BHA > A1 > C > A > B2 > A2 > B1 > C1 > B > acide p – coumarique

من خلال هذا الترتيب نلاحظ أن BHT له قدرة ارجاعية اكبر من المركب المرجعي VC و المركبات الأخرى حيث قدرة قيمة AEAC له ب(8.701 mM).

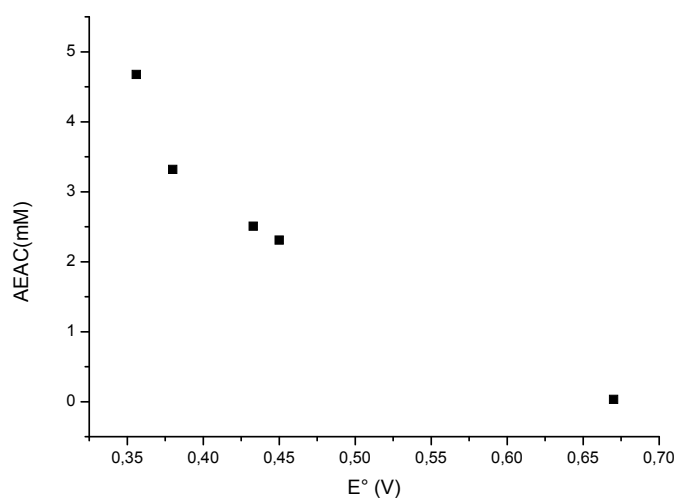
كما نجد أيضا كل من ال catéchine و acide tannique يمتلكان قدرة ارجاعية معتبرة مقارنة بالمركبات الأخرى حيث كانت قيمة AEAC لهما على الترتيب (3.4393mM و 4.674 mM).

بالإضافة إلى ذلك نجد ان حمض الكوماريك coumarique سجل اقل قيمة ارجاعية حيث كانت AEAC له (0.0313 mM)

على العموم نفس هذا التباين أو الاختلاف بين المركبات إلى الكمون العياري لكل مركب ،حيث وجدنا علاقة عكسية بين قيمة القدرة الارجاعية AEAC و كمون الأوكسدة لهذه المركبات، فعلى سبيل المثال نجد أن قيمة AEAC للكاتشين catéchine قدرت ب 4.674mM و الكمون العياري له  $E_0=0.316$ ، فيما نجد أن قيمة AEAC للكرستين quercétine قدرت ب3.319Mm.والكمون العياري له  $E^0=0.35$  (v). (انظر الجدول 5).

جدول (5): يمثل قيم كمون بعض المركبات المدروسة  $E_0$

المركبات	الكمون ( $E^0$ (v))
VC	1.020 [32]
P-coummaric acide	0.670 [30]
Acide caffiec	0.450 [30]
Quercetin	0.380 [31]
E-p-catchine	0.356[31]
Acide gallique	0.433 [31]
A	-0.240 [35]
C	-0.480 [35]



**الشكل (19):** المنحنى تغيرات القدرة الارجاعية بدلالة كمون الأوكسدة للمركبات الفينولية

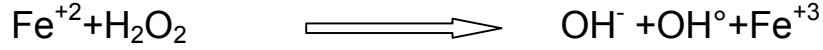
أما بالنسبة للمركبات الثنائي الثيول الحلقي فنجد أن المركب الثيولي (A1) له أكبر قدرة ارجاعية، بينما سجل المركب 4- توليل ثنائي ثيول ثيون أقل قدرة ارجاعية يمكن أن نرجع هذا إلى الفرق في الذوبانية حيث الأملاح دائما تذوب بكمية أكبر من المركبات الأصلية التابعة لها، وبصفة عامة نجد أن الأملاح أعطت قدرة ارجاعية أعلى من المركبات الأصلية، ونفسر هذا كذلك بصغر كمون الأوكسدة للأملاح مقارنة مع المركبات المتعادلة المرافقة لها [35].

## II- اختبار تمخّلب ايون الحديد $Fe^{2+}$ :

ايونات الحديد أو ايونات النحاس ضرورية لعدة وظائف فسيولوجية إذ أنها تدخل في تكوين مركبات انزيمات الدم و الانزيمات المساعدة لنظام الدفاع المضاد للأكسدة.

و لكن أيضا مسؤولة عن إنتاج جذور الهيدروكسيل بإرجاع بيروكسيد الهيدروجين حسب

تفاعل fenton



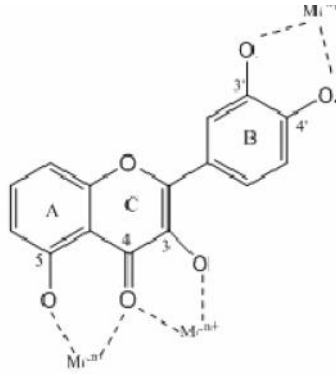
بالإضافة للأكسدة الذاتية  $Fe^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  هي مصدر فوق الاكسيد و بيروكسيد الهيدروجين ,

ولهذا ايونات الحديد و النحاس تحدد الشكل الذي يعيق نشاطية و آلية عمل مضادات الأكسدة .

وفرة الفينولات في مختلف النباتات و الأغذية تعتبر مملّبات جيدة للايونات المعدنية.

دراسات van acker ومساعديه على تمخّلب ايونات الحديد لبعض الفلافونيدات توضح

المواقع الأساسية لتمخّلب ايونات المعادن الشكل (20) [36]



الشكل (20) :يمثل مواقع تمخّلب ايون الحديدوز مع مركب فينولي

طريقة العمل:

نحضر محاليل المركبات المراد دراستها و التي تكون ذائبة في الايثانول بتراكيز مختلفة نأخذ حجم 1مل من المحاليل المحضرة و نضيف لها 168 µl من المحلول المنظم tris-HCl تركيزه 0.1 M ذو (PH=7.4), 218 µl من ملح NaCl تركيزه (0.9%), 150 µl من FeSO<sub>4</sub> تركيزه 1mM و 13 µl من phénanthroline تركيزه (0.25%) ونغلق الأنابيب بإحكام ثم نتركها لمدة 5 دقائق و نقرأ الامتصاصية عند 510 nm [37].

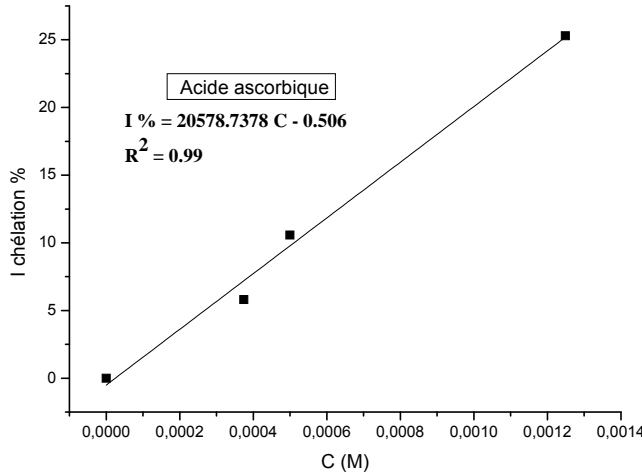
فيما يلي منحنيات التمثل و التي تعبر عن نسبة التمثل بدلالة تراكيز المثل حيث:

$$I(\%) = \frac{A_C - A_S}{A_C} \cdot 100$$

: نسبة التمثل

$A_C$  : امتصاصية المزيج في عدم وجود المركب المضاد للأكسدة

$A_S$  : امتصاصية المزيج في وجود المركب المضاد للأكسدة



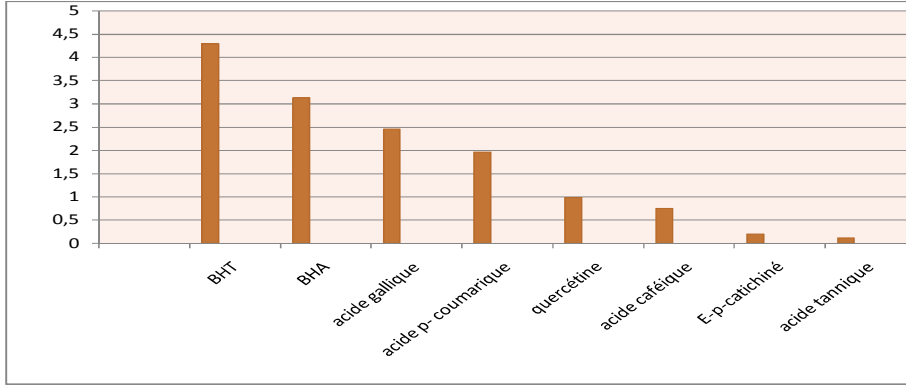
الشكل (21): منحنى تمثل ايون الحديد الحديدوز لحمض الاسكوربيك

من خلال المنحنيات السابقة نحصل على التركيز المناسب لاقتناص 50% من هذا الايون من

طرف المركبات الفينولية IC<sub>50</sub> بوحدة (mM)

اعتماد على العلاقة العكسية بين IC<sub>50</sub> و نسبة التثبيط تدون النتائج المتحصل عليها لقيم IC<sub>50</sub>

في الجدول (6)



#### مخطط (4): يمثل قيم IC<sub>50</sub> لاختبار تمخبل ايون الحديدوز Fe<sup>+2</sup>

#### II- 1 مناقشة النتائج : في هذه النشاطية نلاحظ وجود تنافس بين المركبات الفينولية

و phénanthroline على تمخبل ايون الحديدوز Fe<sup>+2</sup> حيث كانت نشاطية التمخبل لحمض التانيك و acide Tannique جيدة مقارنة بالمركبات الأخرى كما نجد أن حمض الكافيك acide caféique, catéchine سجلا قيم IC<sub>50</sub> (mM0.749 - mM0.196) على الترتيب, وهذا راجع لوجود مجموعة هيدوكسيل المحتوية على أزواج حرة قادرة على اقتناص ايون الحديدوز Fe<sup>+2</sup> لتشكيل معقد (مركب فينولي-حديد<sup>+2</sup>).

ينطبق هذا الكلام على المركبين BHT و BHA حيث الفرق بينهما في وجود عدد ذرات الاكسجين , فالنسبة ل BHA له ذرتين اكسجينتين و BHT له ذرة واحدة فبهذا كان تركيزهما على الترتيب (3.125mM - 4.3mM), بالإضافة إلى ذلك فان البنية الفراغية ل BHT نجد أن مجموعة الهيدروكسيل محصورة بين مجموعتي ترسيوبيوتيل, مما يؤدي إلى إعاقة فراغية في التمخبل مع ايون الحديدوز Fe<sup>+2</sup>. على العكس من ذلك لاحظنا أن حمض بارا كوماريك Acide p-commarique أعطى نتيجة أحسن من حمض الغاليك acide gallique على الرغم من أن حمض الغاليك له مجموعات هيدروكسيل أكثر من حمض بارا كوماريك و هذا راجع لمجموعة الكربوكسيل الساحبة جدا, مما تنقص الكثافة الالكترونية حول مجموعات الهيدروكسيل المرتبطة بحلقة الفينيل و التي يقل سحبها في حمض بارا كوما ريك مقارنة مع الحمض السابق.

### III- تثبيط الجذور الهيدروكسيلية : ( Radicaux des hydroxyles )

يمكن أن تتكون من  $H_2O_2$  في تفاعل غير إنزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديدوز ( $Fe^{+2}$ )، ويسمى هذا التفاعل بتفاعل Fenton. إن جذر الهيدروكسيل  $OH\cdot$  هو جزيء نشط جداً ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية والليبيدات وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلفاً للأنسجة [1].



### III-1 تحضير المحلول الموقفي الفوسفاتي (PBS PH=7.4)

حسب طريقة *J. Sambrook et al.* [3] نحضر هذا المحلول وذلك بمزج 16غ من ملح كلور الصوديوم

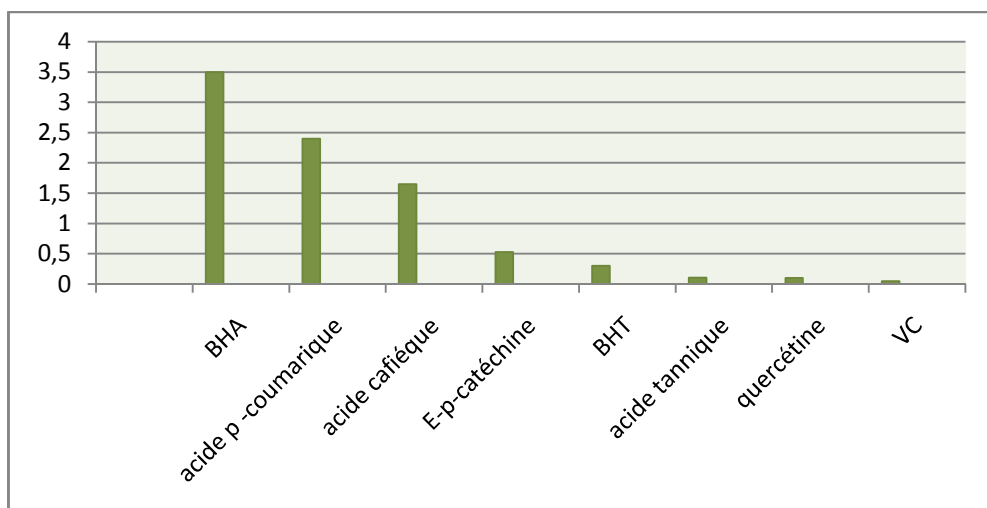
(NaCl) و 0.4غ من ملح كلور البوتاسيوم (KCl) 5.792g من ملح ( $HPO_4 \cdot 12H_2O$ ) و 0.48g من ملح ( $KH_2PO_4$ ) في 1 L من الماء المقطر ( $H_2O$ ).

لإجراء هذا الاختبار نأخذ حجم 1mL من المركبات المدروسة ذات تراكيز مختلفة و نقوم بتمديدها في المحلول المذابة فيه (PBS)، ثم نضيف 1mL من محلول phénanthroline تركيزه ( $1.865E-3M$ )، 2ml من المحلول الموقفي الفوسفاتي PBS تركيزه ( $0.2M$  PH=7.4)، تضاف داخل أنبوب ذو غطاء و يمزج جيدا . بعدها نضيف 1مل من المحلول ( $FeSO_4$  بتركيز  $1.865 \cdot 10^{-3}M$ )، التفاعل يبدأ عند إضافة ( $H_2O_2$  (0.03%) و يحضن المزيج عند درجة حرارة  $37^\circ C$  لمدة 60 دقيقة في حمام مائي و نسجل امتصاصية الخليط عند 536nm. [38] تحدد قدرة التثبيط بواسطة معامل  $IC_{50}$  و الذي هو مقدار يمثل التركيز اللازم من المركب (مضاد الأكسدة) لتثبيط أو كسح 50% من الجذور الحرة و التي يمكن حسابه من خلال المنحنيات تغير نسبة التثبيط % بدلالة تركيز المركبات المدروسة حيث تحسب نسبة التثبيط وفق العلاقة التالية :

$$I\% = \frac{A_s - A_n}{A_b - A_n} \cdot 100$$

حيث:

$A_s$ : تمثل الامتصاصية في وجود المركب  
 $A_n$ : تمثل الامتصاصية في عدم وجود المركب (الشاهد)  
 $A_b$ : تمثل الامتصاصية بدون  $H_2O_2$



مخطط (5): يمثل قيم  $IC_{50}$ ات الفينولية لتثبيط الجذر الهيدروكسيلي  $OH$

### 2-III مناقشة النتائج :

الجذر الهيدروكسيلية هو مركب جزيئي يتكون من هيدروجين و أكسجين يمتلك إلكترون حر على مداره الخارجي .على عكس الايونات. الجذور الهيدروكسيلية تنتج انطلاقا من فصل متجانس للرابطة التكافئية، هذه الميزة تعطيه خاصية القطبية العالية و نتيجة لهذه القطبية فانه جد تفاعلي تجاه العديد من المركبات العضوية (العطرية، و الاليفاتية )، غير العضوية و البكتيريا .

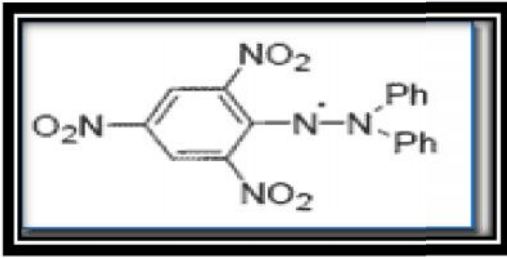
فمن خلال عملنا هذا و العلاقة العكسية بين القدرة التثبيطية لهذا الجذر و  $IC_{50}$  حيث أن المركب فيتامين C له قدرة تثبيطية جيدة مقارنة بالمركبات الأخرى حيث قدر،  $IC_{50}$  له  $0.05 \text{ mM}$  في دراستنا هذه وجدنا توافق كبير بين القدرة التثبيطية لهذا الجذر و المعبر عنها  $IC_{50}$  ومعامل التقسيم اکتانول /ماء  $\text{Log P}$  . حيث كانت العلاقة على العموم طردية بينهما فعلى سبيل المثال فيتامين C كانت  $IC_{50} = 0.05 \text{ mM}$  و معامل التقسيم له  $-2.048$  ، أي جد هيدروفيلي ،بينما BHA كان له اقل تثبيطية  $IC_{50} = 3.5 \text{ mM}$  و قيمة  $\text{Log P}$  عالية أي انه مركب هيدروفوبي له ذوبانية ضعيفة جدا في الماء انظر الجدول (7).

### الجدول (7): قيم $\text{Log P}$ لمركبات الفينولية

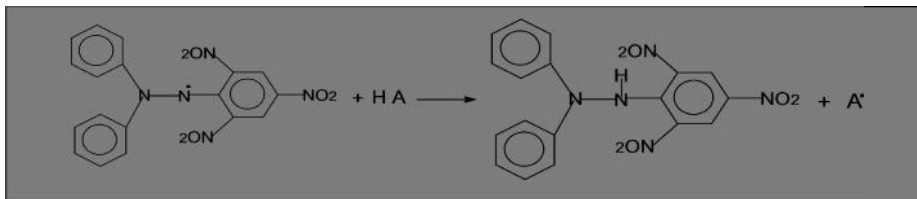
Log p	المركبات الفينولية
-2.048[33]	V.C
-0.790[33]	Acide tannique
1.1750[34]	E-p-Catéchine
1.290[41]	Acide Caféique
1.600[39]	Acide p- coumarique
5.100[40]	BHT
3.500[40]	BHA

IV- اختبار DPPH<sup>•</sup> :

جذر DPPH<sup>•</sup> مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود حيث يمتلك هذا الجذر خاصية الاستقرار لعدة أيام و هو يمتص في المجال المرئي عند طول موجة 517nm.  
 و اختبار DPPH<sup>•</sup> هو اختبار مضاد للجذور الحرة. سبق تعريفه من 50 سنة ماضية من طرف Blois سنة 1958 [19]. هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر DPPH<sup>•</sup> وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المركبات ( مضادات الأكسدة ) لذرة الهيدروجين. حيث يمكن تتبع عملية إرجاع جذر DPPH<sup>•</sup> لونها باستعمال جهاز طيف اللوني و ذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية، هذا الانخفاض في الامتصاصية يمكننا من معرفة قدرة و كفاءة المركبات من تثبيط الجذور.  
 حيث يعتمد على تثبيط الجذر بعد مدة زمنية قدرها 30 دقيقة في وجود المركب المضاد للأكسدة وتحدد القدرة المضادة للأكسدة بتحديد معامل IC50.



الشكل (23): البني التركيبية لـ DPPH<sup>•</sup>



شكل (24): يوضح آلية عمل (تثبيط) العامل المضاد للأكسدة للجذر الحر DPPH<sup>•</sup>



اختبار DPPH للمركبات الثيولية و الفينولية :

عمليا يتم القيام باختبار DPPH وذلك ب :

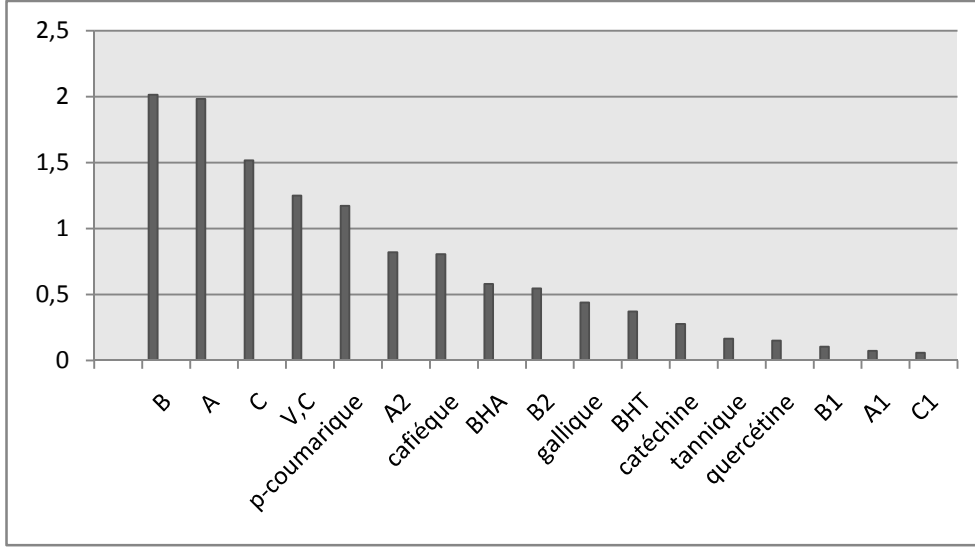
- تحضير محلول DPPH تركيزه (500µM) محضر في الايثانول.
  - تحضير محاليل مخففة من المركبات الثيولية و الفينولية لممددة في محلول Tris المنظم (tampon) (pH=7.4) تركيزه (100mM)
  - نأخذ 1 مل من المحاليل المخففة حيث أن هذا المزيج يحتوي على مركبات المدروسة ذات التراكيز المختلفة ، ثم نضيف للمزيج 1 مل من محلول DPPH.
  - نضع المحاليل في مكان مظلم لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. ثم نقيس الامتصاصية بجهاز UV عند 517 nm [19].
- نرسم منحنيات تغيير نسبة التثبيط% بدلالة تراكيز المركبات المدروسة حيث تحسب نسبة التثبيط وفق العلاقة التالية :

$$I\% = (A_0 - A_i / A_0) * 100$$

$A_0$ : امتصاصية DPPH في عدم وجود المثبط عند (517 nm)

$A_i$ : امتصاصية DPPH في وجود المثبط عند (517 nm)

I% : نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة

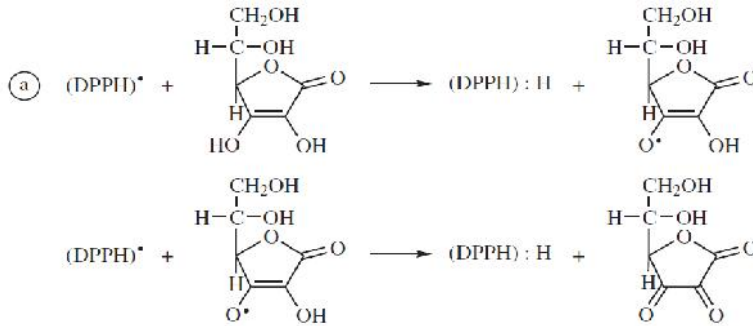


المخطط (6): يمثل قيم IC<sub>50</sub> للمركبات الثيولية و الفينولية في اختبار DPPH

#### 1-IV مناقشة النتائج:

اعتمادا على النتائج و على العلاقة العكسية بين قيمة IC<sub>50</sub> و الفعالية المضادة للأكسدة ، فيتضح لنا أن المركب المرجعي VC هو اقل فعالية مقارنة بالمركبات التي تحوي مجموعات هيدروكسيل. فبالنسبة للمركبات الفينولية نجد quercetine أعطى فعالية جيدة حيث قدرت له IC<sub>50</sub> له ب(0.151 mM).

و يليه حمض التانيك حيث كان تركيزه المثبط عند 50 بالمئة 0.165mM. نفسر هذا للبنية الفراغية لهذه المركبات بوجود عدد مجموعات الهيدروكسيل و مواضعها على الحلقات الفينيلية مما يسمح باستقرار الجذر الفينولي بعد نزع جذر الهيدروجين حسب الآلية الموضحة في الشكل (26) .



الشكل (26): يمثل آلية نزع هيدروجين من المركب المرجعي فيتامين (V.C) [45].

فعلى سبيل المثال نجد أن quercétine سجل قيمة  $IC_{50}$  اقل من E-p-catéchine وهذا راجع إلى وجود الرابطة الثنائية في quercétine التي تجعله أكثر استقراراً من E-p-catéchine بعد فقدانه جذر هيدروجيني.

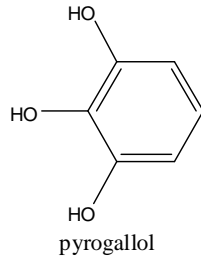
كذلك نجد أن BHT سجل فعالية أكبر من الغاليك acid gallique رغم وجود ثلاثة مجموعات هيدروكسيل فيه و هذا راجع إلى المجموعة الكربوكسيلية الساحبة التي تجعل الجذر اقل استقراراً. أما بالنسبة للمركبات الثنائي الثيول الحلقي فالأملاح أعطت نتائج أحسن من المركبات الأصلية الغير الأيونية و هذا راجع إلى استقرار الجذر الثيولي الناتج بعد منح جذر هيدروجيني بفضل وجود الايون المضاد اليود  $I^-$  و مجموعة مثيل سلفات  $CH_3SO_4^-$  و كذلك ذوبانية الأملاح المعتبرة حيث كان ترتيبهم حسب  $IC_{50}$  كالتالي :

$$C1 < A1 < B1 < B2 < A2 < C < A < B$$

و عند مقارنة الأملاح فيما بينها نجد أن ملح سلفارلام اليود **C1** أعطى أحسن قدرة تثبيطية حيث نتوقع أن يمنح الجذر الهيدروجيني من الوضعية 4 على مستوى الحلقة الثيولية و التي يزيد استقرارها بفضل مجموعة الميثوكسي فينيل المتوضعة في الموقع 5 بالنسبة للحلقة الثيولية حيث تزيد من الكثافة الالكترونية على شكل فعل ميزوميري مانح. و بخصوص الأملاح المستبدلة بمجموعة فينيل أو طوليل في الوضعية 4 نجد أن الأملاح التي فيها الايون المضاد اليود أعطت قدرات تثبيط أحسن من الأملاح التي بها الايون المضاد مثيل سلفات  $CH_3SO_4^-$  و هذا راجع إلى الفرق في الايون المضاد فإذا كان اليود  $I^-$  يكون له الفعل الساحب اقل من مثيل سلفات مما يزيد من استقرار الجذر الثيولي الناتج بعد نزع ذرة هيدروجين.

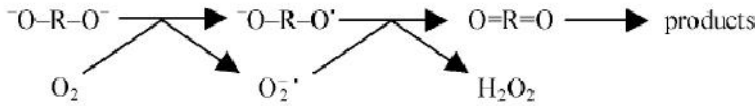
## V-الجذر الانبوني فوق الأكسيد $O_2^{\cdot -}$ :

البيروغالول (1.2.3-benzènetriol) معروف منذ زمن بأنه سريع الأكسدة الذاتية، خصوصا في الوسط القاعدي و التفاعل يستعمل لأجل نزع الأكسجين من الغازات .مجموعة من الوظائف الاختيارية تأتي من إنزيم اكجعة فوق الأكسيد SOD في تثبيط الأكسدة الذاتية لمركبات catéchol مثل الأدرينالين، 6-هيدروكسي دوبامين أو البيرغالول . حيث ايوناتها الفينولية في الوسط القاعدي تتأكسد إلى نواتج الكينون المرافقة ،باستهلاك الأكسجين [42] .



### الشكل (27): الهيكل الأساسي للبيروغالول

تفاعل الأكسدة الذاتية يمكن أن يمثل بانتقال إلكترونين من اكسي-انيون للأكسجين الجزيئي وذلك في مرحلتين انظر الشكل(20)



### الشكل ( 28 ) : تفاعل البيروغالول مع الاكسجين

#### طريقة العمل لتثبيط الجذر انيون فوق الاكسيد $O_2^{\cdot -}$ :

نسبة الأكسدة الذاتية للبيروغالول pyrogallol قيست حسب المرجع[43].تقدير نسبة الأكسدة الذاتية لأجل عينات مركبات فينولية ،كانت وفق الطريقة التالية :

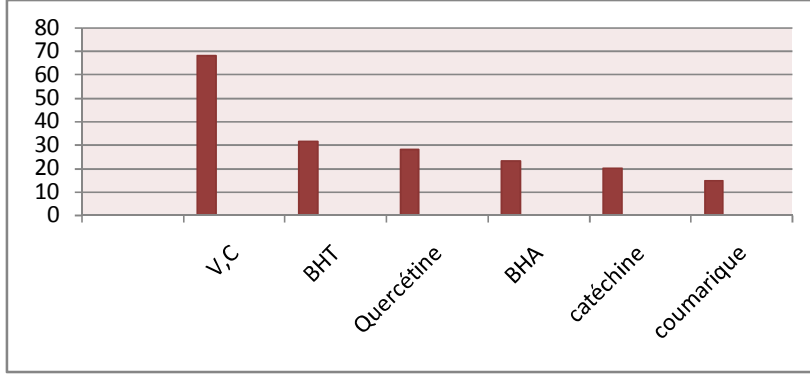
نأخذ 10 µl من pyrogallol تركيزه 45 mM تمزج مع 4.5mL من المحلول المنظم tris-HCl مع 0.5mL من المركب المثبط تركيزه 4.8495E-4 M . الامتصاصية تسجل عند طول موجي 320 نانومتر للمزيج كل 30 ثانية مدة 4 دقائق

سرعة تثبيط الأكسدة الذاتية للpyrogallol حسب استعمال العلاقة التالية :

$$I\% = (\Delta A_0 - \Delta A_1) / \Delta A_0 * 100$$

حيث :

أ: هي نسبة التثبيط و  $\Delta A_0, \Delta A_1$  هي سرعات الأكسدة الذاتية لـ pyrogallol في وجود و عدم وجود المركبات الفينولية على الترتيب.



مخطط (7): يمثل النسب المئوية للمركبات الفينولية لتثبيط الجذر الاينيون

## V-1 مناقشة النتائج:

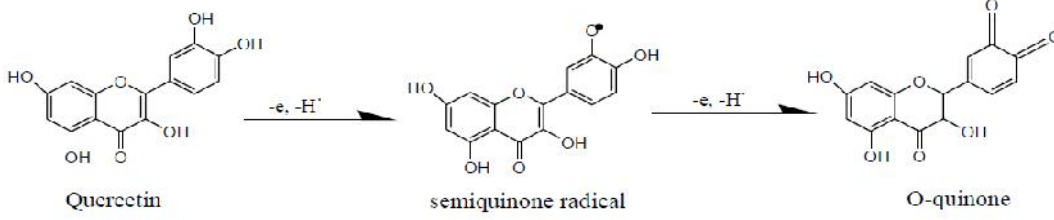
فعالية مضادات الأكسدة تتأثر بالخصائص الكيميائية للمركبات و من بين هذه الخصائص طاقة الرابطة الهيدروجينية ، الرنين ، وقابلية الأكسدة الذاتية قابلية مضادات الأكسدة لإعطاء ذرة هيدروجين حر هي المطلب الأساسي .

الجزئيات المستبدلة بمجموعات مانحة للاكترون تزيد من النشاطية المضادة للأكسدة بالأثر التحريضي . الاستبدال بمجموعة متفرعة في الوضعية ارثو تعطي قابلية للمركب ليشكل بنية ذات رنين مستقر و هذا الكلام ينطبق على مركب BHA .

حسب [44]Chimi et al وجود  $CH=CH-COOH$  تعطي نشاطية مضادات للأكسدة اكبر من مجموعة  $COOH$  وذلك لان مشاركة الرابطة  $C=C$  تكون جد مهمة في استقرار الجذر المضاد للأكسدة بالرنين.

النشاطية المضادة للأكسدة للأحماض الفينولية تعتمد على عدد مجموعة الهيدروكسيل في الجزيئ إدخال مجموعة هيدروكسيل ثانية في الوضعية ارثو أو بارا تزيد في النشاطية المضادة للأكسدة . لأجل ذلك الأحماض المستبدلة في الوضعية ارثو (مثل حمض الكافيك ) تكون اكبر من الأحماض أحادية الاستبدال مثل حمض بارا كوماريك .

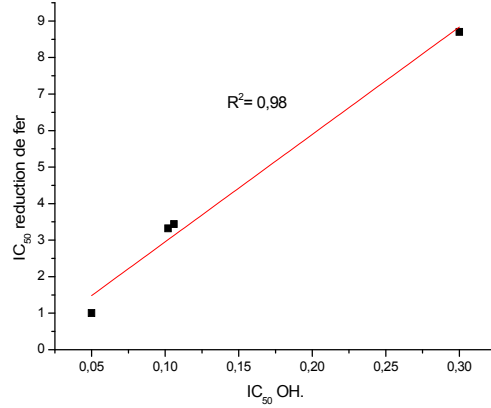
كما نجد أن نسبة تثبيط  $O_2^-$  في وجود الكرسيتين Quercétine أعلى من نسبة تثبيط E-p-catéchine، وذلك لاستقرار جذر الكرسيتين Quercétine بفضل وجود الرابطة المضاعفة في الحلقة C مما يزيد في الرنين.



**الشكل (30):** آلية نزع الكترون أو هيدروجين من الكرسيتين [22].

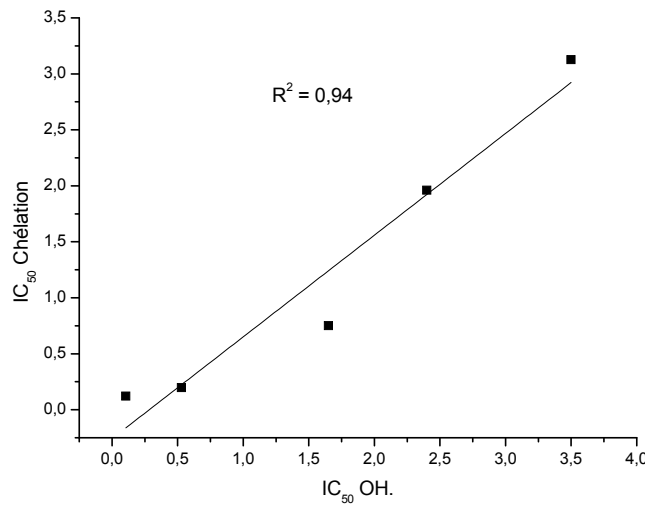
أخيرا نجد أن V.C سجل أعلى نسبة تثبيط بلغت 68.11%، و نفس هذا بقدرته على منح هيدروجين أو الكترون بسهولة حسب كمون الأكسدة مثلما ذكرنا سابقا (القدرة الارجاعية للحديد الثلاثي  $Fe^{+3}$ ).

و في الأخير تم إيجاد علاقة ايجابية عموما بين طرق التثبيط المدروسة حيث كانت العلاقة بين القدرة الارجاعية للحديد الثلاثي لبعض المركبات (BHT،acide tanique،Quercétine،vc) و النشاطية التثبيطية للجذر الهيدروكسيلي بمعامل ارتباط  $R^2 = 0.98$  و المنحنى الموالي يوضح ذلك



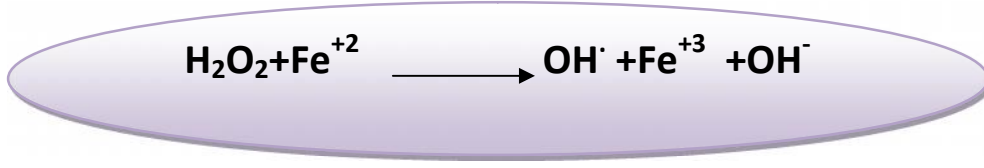
**الشكل (31):** علاقة ارتباط بين القدرة الارجاعية و الجذر الهيدروكسيلي

نفس ذلك باتباع نفس آلية التثبيط في كلتا النشاطيتين و ذلك بمنح الكترولون سواء للحديد الثلاثي لإرجاعه إلى ايونات الحديدوز أو للجذر الهيدروكسيلي OH<sup>-</sup> حتى يتحول إلى انيون الهيدروكسيل. وجدنا كذلك علاقة أخرى بين النشاطية التثبيطية للجذر الهيدروكسيلي و نشاطية تمخلب الحديد الثنائي للمركبات (E-p catéchine، acide tanique، acide cafféique، acide p-coumarique) بمعامل ارتباط  $R^2 = 0.94$  كما يشير إليه المنحنى رقم (32).



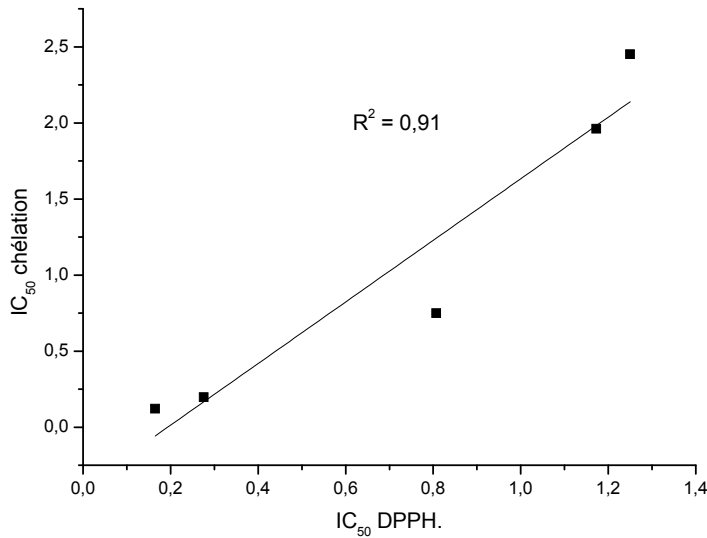
**الشكل (32):** ارتباط نشاطية تمخلب الحديد الثنائي مع الجذر الهيدروكسيلي

من هذه النتيجة الأخيرة يمكننا القول أن كلما زاد اقتناص ايون الثنائي ( تمخلب الحديدوز) يقل تركيز جذور الهيدروكسيل مما يزيد في قدرة تثبيط هذا الأخير حسب علاقة fonton



إضافة إلى ذلك كانت العلاقة ايجابية بين نشاطية تمخلب الحديد الثنائي و قدرة تثبيط الجذر DPPH للمركبات الاتية:

(acide p-coumarique ،acide tanique ،acide cafféique، E-pcatéchine،VC) حيث سجلنا معامل ارتباط  $R^2 = 0.91$  يظهر هذا في المنحنى رقم (33).

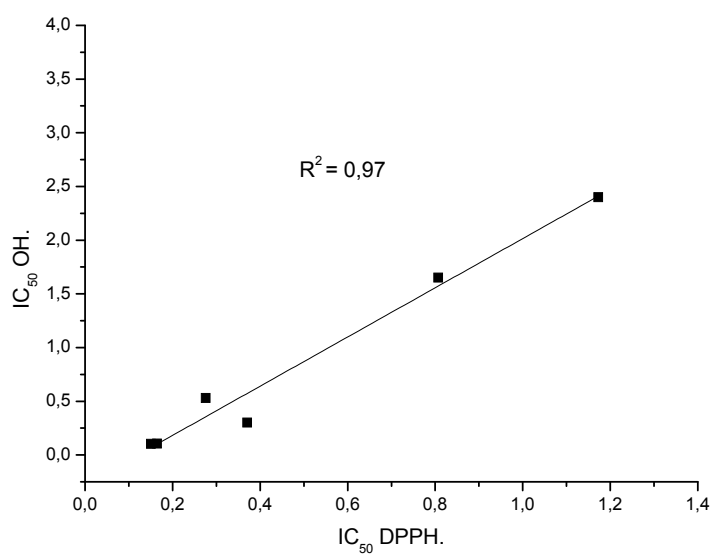


**الشكل (33):** ارتباط نشاطية تمخلب الحديد الثنائي مع الجذر DPPH

في الأخير رسمنا العلاقة بين الجذر DPPH و الجذر الهيدروكسيلي OH<sup>·</sup> (acide tanique ،acide cafféique ،E-pcatéchine ،Quercétine، BHT) (acide p-coumarique

للمركبات و كان معامل الارتباط  $R^2 = 0.97$  نلاحظ ذلك في المنحنى التالي:





**الشكل (34):** ارتباط نشاطية تثبيط الجذر الهيدروكسيلي و تثبيط جذر DPPH

لتفسير هذا المنحنى نتوقع أن هذه المركبات قادرة على منح الكترولون أو جذر هيدروجين كما في الشكل (30).



في عملنا هذا قمنا بدراسة المركبات الثنائي ثيول الحلقي و الفينولية كمضادات أكسدة للجذور الحرة بعدة طرق وهي: اختبار **DPPH** ، تثبيط الجذر الهيدروكسيلي ، وكذلك الجذر الانيونى ل فوق الاكسيد ، و قدرة هذه المركبات على إرجاع الحديد الثلاثي وكذلك قدرتها على اقتناص الحديد الثنائي كمخربات . بداية في طريقة قدرة المركبات الثنائي ثيول الحلقي و الفينولية في إرجاع الحديد الثلاثي تحصلنا على أنا اكبر قيمة لل **AEAC** كانت للمركب الفينولي **BHT** حيث قدرت قيمة **AEAC** له  $8.07 \text{ mM}$  على غرار دراسة الأثر التثبيطي للجذر الهيدروكسيلي حيث وجدنا أن أحسن مثبط لهذا الجذر هو فيتامين C إذ قدر تركيزه عند قيمة التثبيط 50 % ب  $0.05$  ملي مولاري أما بالنسبة للنشاطية الثانية و هي نشاطية تمخبل ايون الحديدوز فكان حمض التانيك هو أحسن مخلب و هذا راجع لبنيته التي تحوي مجموعات كبيرة من ذرات الأكسجين ذات الأزواج الحرة القادرة على التمخبل حيث عند نفس قيمة النشاطية أي 50% كان التركيز  $0.12 \text{ mM}$  .

أما فيما يخص دراسة المركبات الثيولية و الفينولية على تثبيط جذر **DPPH** فوجدنا أن المركب الثيولي C1 أحسن مثبط بالنسبة لجميع المركبات بما فيه المركبات الفينولية حيث قدر تركيزه للقضاء على 50 % من هذا الجذر  $0.059 \text{ mM}$  .

وعند دراسة تثبيط الجذر الانيونى ل فوق الاكسيد فمن خلال النسب المئوية المتحصل عليها بالنسبة للمركبات الفينولية وجدنا أن **VC** له اكبر نسبة مئوية حيث قدرت ب  $68.11\%$  .

و في الأخير تم إيجاد علاقة ايجابية عموما بين جميع طرق التثبيط المدروسة . كما خلصت الدراسة إلى أن من خلال طرق التثبيط عموما نجد أن المركبات الفينولية أحسن من المركبات الثنائي ثيول الحلقي في تثبيط هذه الجذور المدروسة، و يمكن أن نرجع السبب إلى عدة عوامل منها الذوبانية ،معامل التقسيم ،الكمون العياري ،البنية .

- [1] M.A. Soobrattee et al.; *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 579(1) pp. 200-213(2005).
- [3] M. P. Somashekarappa, J. Keshavayya et S. Sampath .; *Pure Appl. Chem.* 1609(2002 ).
- [4] P. K. Whitcraft.; *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 1 (2003).
- [5] G. Vastag, E. Szöcs, A. Shaban et E. Kálmán.; *Pure Appl. Chem.* 1861 (2001).
- [6] M. A. Quraishi and Jaya rawat; *Materials Performance* 42 (2001).
- [7] P. Landis.; *Chem.Rev.* 65 (1965).
- [9] A. R. Katritzky.; *Advances in heterocyclic Chemistry, Academie Press*, 63 (1982 ).
- [10] M. Bona ; thèse de doctorat, université de Renne, (1995).
- [11] Sylvain Gargadenec, Gwenola Burgot, Jean-Louis Burgot, Raimund Mannhold, and Roelof F.Rekker.; *pharmaceutical Research* 875 (2005) .
- [15] K.MI-Yeon , I.KUnihisa. , M.Hajime; *journal of food composition and Analysis* 18 pp 789-802 (2005).
- [16] J.Harbone ; biochemistry of phenolic compound, Academic press, london and Newyork (1964).
- [17] J. Bruneton; pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, 3<sup>eme</sup> édition, technique et Documentations, paris, (1999).
- [21] Latifa CHEBIL, Acylation des flavonoides par les lipases de *Candida Antarctica* et de *Pseudomonas cepacia*: études cinétique, structurale et conformationnelle, these de doctorat, université de l'institut national polytechnique de Lorraine, (2006).
- [23] G. K. Ziyatdinova, D. M. Gil'metdinova, and G. K. Budnikov.; *journal of Analytical Chemistry* 49 (2005).
- [25] Cohen. M.; *Phytothérapie européenne* 6 (18) (2002).
- [26] Lehucher-michel, M.P., lesgars, J.F., Dlubac, O., Stocker, P., Durant, P., prost, M.; *press médicale*. 30 pp 1076 (2001).
- [27] Zehour Rahmani, mémoire de magister, université de Ouargla, (2005).
- [30] Aleksandra Simi et al.; *Molecules* 12 pp 2327-2340 (2007).
- [31] Nathan R. Perron et al.; *inorg. Chem.* 47 pp 6155(2008).
- [32] R. Keyrouz et al.; *Food Chemistry* 126 pp: 831–836 (2011).
- [33] Fiche de données de sécurité Acide Ascorbique, Poudre Fine, *the chemical company BASF* (2012).

- [34] Avat (Aman) Taherpourl et al.; Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection ISBN 978-953-307-393-4 (2011).
- [35] Saidi Mokhtar, thèse de doctorat, université de Renne, (1988).
- [36] Ez-zohra NKHILI; thèse de doctorat, université CADI AYYAD – faculté des sciences semlalia- Marrakech université D'avignon et des pays de vaucluse école doctorale 306 – SPSA, MONTPELLIER, (2009).
- [37] Omotade Oloyede et al.; *Journal of Life Sciences* 6 pp 41-47(2012).
- [38] Jin M, Cai YX, Li JR, Zhao H; *Prog Biochem. Biophys.*, 23 pp 553–555(1996).
- [39] M.A. Eastwood; *Q. J. Med.*, 92 pp 527-530 (1999).
- [40] Pauline W anger; *ChemID plus Advanced on toxnet* (2005).
- [41] A. Noubigh et al.; *J. Iran. Chem. Soc.*, Vol. 6(1) pp 168-176 (2009).
- [42] Marklund, S. and Marklund, G.; *Eur. J. Biochem.*, 47 pp 469–474 (1974).
- [43] Hong-Mei Li et al.; *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 47 pp 169–174(2007).
- [44] H. Chimi, A. Sadik, B. Le Tutor, and M. Rahmani; *R. Fr. Des Crops Grass.*, 35 pp 339 (1988).

### المراجع بالعربية:

- [2] غياية زينب، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ، (2004).
- [8] علاوي عبد الفتاح، مذكرة ماجستير ،المركز الجامعي ورقلة ،(2001).
- [12] شربي رقية، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، (2005).
- [13] مقدم خضرة ، مذكرة ماجستير ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ، (2005).
- [14] د. صلاح يحيياوي، الكيمياء العضوية، ديوان المطبوعات الجامعية الجزائرية، ص 217 (1983).
- [18] بن عشورة صبرينة البتول، مذكرة ماجستير في الهندسة الكيميائية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة،(2007).
- [19] مصطفى بوقوادة ، مذكرة ماجستير ، جامعة ورقلة ،(2007).
- [20] الصديق قمولي ، مذكرة ماجستير،جامعة قاصدي مرباح ورقلة،(2011).
- [22] امداح سعاد ،اطروحة دكتوراة دولة ، جامعة قسنطينة ، (2006).
- [24] د. علي عبد الحسن سعيد، كيمياء الجذور الحرة، دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة الأولى (2001).

## ملخص:

إن الهدف من بحثنا هذا هو تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الثيولية و الفينولية مخبريا. فالمركبات الثيولية عبارة عن مركبات حلقيه ذات ذرات متغايرة كبريتية المعروفة بقدرتها المضادة للأكسدة و بدوبانيتها الضعيفة في الطور المائي، أما المركبات الفينولية فهي تعرف بالمفهوم البسيط أنها مركبات ذات زمرة هيدروكسيلية مثبتة على ذرة كربون في حلقة بنزينية وهي معروفة بدوبانيتها الجيدة في الماء عموما . حيث قدرت نشاطية التثبيط بثلاث طرق بالنسبة للمركبات الفينولية و طريقتين بالنسبة للمركبات الثيولية و الفينولية:

✚ طريقة إرجاع الحديد الثلاثي و التي بينت النتائج أن المركب الفينولي BHT أحسن مرجع حيث قدرت قيمة AEAC له ب 8.701mM.

✚ طريقة تمخبل ايون الحديد الثنائي حيث أثبتت النتائج أن مركب حمض التانيك أحسن ممخبل لهذا الايون حيث قدر تركيزه عند قيمة النشاطية 50% ب 0.12 mM.

✚ طريقة تثبيط الجذر الهيدروكسيلي حيث اظهر المركب فيتامين C اقل تركيز عند نفس قيمة التثبيط 50% ب 0.05 mM.

✚ اختبار DPPH· و الذي اثبت أن المركب الثيولي C1 سجل تركيز اقل حيث قدر تركيزه ب 0.059 M.

✚ طريقة تثبيط الجذر الانيونني ل فوق الاكسيد و التي بينت النتائج أن مركب V.C سجل أعلى نسبة مئوية قدرت ب 68.11%

و في الأخير تم إيجاد علاقة ارتباط لبعض المركبات بين مختلف طرق التثبيط المدروسة عموما بمعامل ارتباط  $R^2$  يتراوح بين 0.91 و 0.98.

**الكلمات الدالة:** ثنائي ثيول ثيون ، متعددة الفينولات، النشاطية المضادة للأكسدة ، التمخبل .

## Abstract:

The objective of our work is to determine the antioxidant activity of some 1,2-dithiole-3-thione and phenolic compound in vitro. The dithiolethiones are sulfur heterocycles that are known by their antioxidant capacity and lower solubility in aqueous phase. However, the polyphenols are known of compounds which have hydroxylic group fixed at ring benzenic and have high solubility in aqueous phase a general.

We Can determine the capacity of the inhibition for this compound by 5 tests:

- ✚ The reduction of ferric ion shows that the BHT is the best inhibitor with AEAC= 8.701 mM.
- ✚ The activity of chelation of the ion  $Fe^{+2}$  shows that the tannic acid is the best chelator with  $CI_{50} = 0.12$  mM .
- ✚ The inhibition of the  $OH\cdot$  shows that the vitamin C has lower concentration at the percent of 50 % of inhibition ( 0.05 Mm).
- ✚ Scavenging DPPH· has proved that the compound dithiolic C1 is the best inhibitor with  $CI_{50} = 0.059$  mM.
- ✚ Another test for scavenging activity is inhibition of the anion super oxide  $O_2^-$  that shows the phenolic compound "V.C" which has high percent of scavenging reach 68.11%.
- ✚ Finally, we have found a relation of correlation of some compounds between the results of the different test with correlation coefficient  $R^2$  between (0.91-0.98).

**Keyword:** dithiolethiones, antioxidant activity, polyphenols, chelation.