

THE.C.H. 09.56103

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:



جامعة ورقلة
كلية العلوم و العلوم الهندسية
قسم هندسة الطرائق
مذكرة

مقدمة لنيل شهادة

الماجستير

اختصاص: كيمياء عضوية

تخصص: كيمياء عضوية صناعية

من طرف: قندور الزاوية

تحت عنوان:

تحضير بعض مشتقات الكافيين
و دراسة فعاليتها البيولوجية مع بعض أنواع البكتيريا

نوقشت يوم: 15 جوان 2004 م

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

رئيسا	أستاذ محاضر بجامعة ورقلة	د.العائز التوهامي
مناقشا	أستاذ محاضر بجامعة ورقلة	د. صخري لخضر
مناقشا	أستاذ محاضر بجامعة بسكرة	د. مغزي أحمد
مشرفا	أستاذ محاضر بجامعة ورقلة	د. وهراني محمد رضا

2004-2003

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

جامعة ورقلة

كلية العلوم و العلوم الهندسية

قسم هندسة الطرائق

مذكرة

Crist fruit

مقدمة لنيل شهادة

الماجستير

اختصاص: كيمياء عضوية

تخصص: كيمياء عضوية صناعية

من طرف: قندور الزاوية

تحت عنوان:

تحضير بعض مشتقات الكافيين
و دراسة فعاليتها البيولوجية مع بعض أنواع البكتيريا

نوقشت يوم: 15 جوان 2004 م

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

رئيسا

أستاذ محاضر بجامعة ورقلة

د.العائز التوهامي

مناقشا

أستاذ محاضر بجامعة ورقلة

د. صخري لخضر

مناقشا

أستاذ محاضر بجامعة بسكرة

د. مغزي أحمد

مشرفا

أستاذ محاضر بجامعة ورقلة

د. وهراني محمد رضا

2004-2003

الشكر :

- أولا وقبل كل شيء أحمد الله تعالى و اشكره الذي وفقني و اعانني على إنجاز هذا البحث .
- يشرفني أن أتقدم بجزيل الشكر و التقدير إلى أستاذي الفاضل الدكتور محمد رضا وهراني ، أستاذ محاضر بجامعة ورقلة على توجيهاته و نصائحه و مساعدته لي خلال مراحل إنجاز هذا البحث .
- كما أوجه شكري إلى الأستاذ د . العازز توهامي ، أستاذ محاضر بجامعة ورقلة على قبوله رئاسة لجنة المناقشة و على توجيهاته و تدريسه لنا .
- كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ د . مغزي احمد أستاذ محاضر بجامعة بسكرة على قبوله المشاركة في لجنة المناقشة .
- كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ د . صخري لخضر ، أستاذ محاضر بجامعة ورقلة على تدريسه و توجيهاته قبوله المشاركة في لجنة المناقشة .
- أوجه شكري أيضا إلى الأستاذ خرافة نور الدين أستاذ مساعد مكلف بالدروس بجامعة ورقلة لي نصائحه و مساعدته و نصائحه القيمة و إلى الأستاذة سيبكر أستاذة مساعدة مكلف بالدروس بجامعة ورقلة على توجيهاتها و نصائحتها ، و الأستاذة بلعساين أستاذة مساعدة مكلف بالدروس بجامعة ورقلة على توجيهاتها و النصائح التي قدمتها لي .
- كما أقدم جزيل الشكر إلى الأستاذ د . سعدي مختار على مساعدته . و بالمثل أقدم شكري إلى الأستاذ ببة عبد الحفيظ ، الأستاذ الوناس

كما أتوجه بالشكر الخالص إلى صديقتي زينب نجابة و زوجها ياسين على مساعدتهم

لي و إلى صديقة لمياء كاتب و رشيدة و كريمة سميرة نسرین رقية ، زهور ، و

إلى كل الزملاء في دفعة الماجستير . إلى عمال مخابر الكيمياء بجامعة ورقلة خاصة

مخبر الكيمياء المعدنية و إلى عمال المكتبة الرئيسية بجامعة ورقلة .

و أقدم شكري إلى مدير مستشفى محمد بوضياف بورقلة و إلى كل عمال المخبر

المركزي بمستشفى محمد بوضياف على مساعدتهم لي لإنجاز الجزء العملي الخاص

بالفعالية البيولوجية في المستشفى خاصة السيد دادة موسى خميس . و مناد دليل

الدكتورة كريم .

- و في الأخير أشكر كل أساتذتي الكرام الذين ساهموا في تكويني ، و كل من

ساعدني .

المخلص :

الكافيين مادة قلويدية تنتمي إلى عائلة مثيل الزانثين ، يعتبر الشاي المصدر الأول لهذه المادة نتيجة احتوائه على نسبة تقارب 4 % .
و لوجود ميزتين أساسيتين في مادة الكافيين ، سهولة فصلها عن مشتقات الزانثين الأخرى تواجد وظيفتين كمائيتين (الوظيفة الايمينية و الأميدية) .
استعملناه كمادة أولية لتحضير مركبات جديدة تعرف بمشتقات للكافيين .
هي :

7,3,1 - ثلاثي مثيل ، 9,8 - ثنائي هيدرو زانثين .

7,3,1 - ثلاثي مثيل ، 9,8,6,5,4,2 - ثماني هيدرو بيورين

7,3,1 - ثلاثي مثيل ، 9,8,6,2 - سداسي هيدرو بيورين

و ذلك باستعمال الهيدريدات (LiAlH_4 و NaBH_4) كمرجعات للكافيين .
كما تمت دراسة الفعالية البيولوجية لهاته المركبات مع ثلاثة أنواع من البكتيريا هي (*Escherichia Coli* , *Entérobactérie* , *Klebseiella pneumonie*)
و مقارنتنا فعاليتها مع فعالية الكافيين .

الكلمات الدالة : الكافيين ، الإرجاع ، الهيدريدات ، البكتيريا ، الفعالية البيولوجية

Abstract :

The caffeine is derived methyl xanthine alkaloids , the tea considers Principal source of caffeine because the percentage of caffeine 4% Facility the separation the caffeine from the methyl xanthine derived Availability tow chemicals function (amide , imine) . we use such as The caffeine how in premiere gradient for preparation new chemical Compound .

*- 1,3,7,- three methyl 8,9 dihydro xanthine.

*- 1,3,7 – three methyl 2,4,5,6,8,9 octa hydro purine .

*- 1,3,7 – three methyl 2,4,6,8,9 hexa hydro purine .

use the NaBH_4 and LiAlH_4 how agent reductive , and study the biological activity to this compound with three types of bacteria's (*Escherichia Coli* , *Entérobactérie* , *Klebseiella pneumonie*) .

and comparison with biological activity the caffeine .

Key word : Caffeine , reduction , hydrides , bacteria m biological activity

قائمة المخططات

- المخطط رقم II - 1 : تحضير الایمیدازول من بارالديهيد
- المخطط رقم II - 2 : تحضير البيريميدين
- المخطط رقم II - 3 : تحضير البيورين بطريقة Traube
- المخطط رقم II - 4 : تحضير البيورين بطريقة Roosen و Benhrend
- المخطط رقم II - 5 : تحضير البيورين بطريقة Fisher
- المخطط رقم II - 6 : الاصطناع الحيوي للكافيين
- المخطط رقم II - 7 : ميثلة الثيوبرومين ب Sam
- المخطط رقم II - 8 : تحضير الكافيين من الثيوبرومين
- المخطط رقم II - 9 : تحضير الكافيين من الثيوفلين
- المخطط رقم II - 10 : تحضير الكافيين من اليوريا
- المخطط رقم II - 11 : تحضير الكافيين من حمض اليوريك
- المخطط رقم II - 12 : تحضير 8- acetoxymercuriophageine
- المخطط رقم II - 13 : تحضير 8 - يوبو كافيين
- المخطط رقم II - 14 : تحضير 8 - برومو كافيين
- المخطط رقم II - 15 : تحضير 8 - كلورو كافيين
- المخطط رقم II - 16 : تحضير 8 - فلورو كافيين
- المخطط رقم II - 17 : Halo - demercuration réactions of caffeine Mercurials
- المخطط رقم II - 18 : تحضير 8 - سيانو كافيين
- المخطط رقم II - 19 : Cyano -demercuration réactions of caffeine mercurials
- المخطط رقم II - 20 : تحضير 8- هيدروكسي كافيين ب PDP
- المخطط رقم II - 21 : تحضير 8 - هيدروكسي كافيين بجدر الهيدروكسيد و كبريتات Persulfate
- المخطط رقم III - 1 : إرجاع 16 - هيدروكسي أندولين بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم
- المخطط رقم III - 2 : إرجاع الایمیدازول بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم
- المخطط رقم III - 3 : آلية إرجاع الایمينات بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم
- المخطط رقم III - 4 : تحضير (أسيلكسي acyloxy) بوروهيدريد الصوديوم
- المخطط رقم III - 5 : إرجاع الكوينولين بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم في حمض الخل

المخطط رقم III - 6 : إرجاع الكوينولين بهيدريدات سيانو بوروهيدريد الصوديوم
المخطط رقم III - 7 : إرجاع بعض اللاكتامات بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم في حمض
الخل

المخطط رقم III - 8 : آلية إرجاع الأמיד بهيدريدات (اسيلكسي acyloxy) بورو هيدريد
الصوديوم

المخطط رقم III - 9 : إرجاع الأندولين بهيدريدات ليثيوم ألمنيوم هيدريد

المخطط رقم III - 10 : إرجاع 9-nitrodihydro(or tetrahydro)
1,5benzodiazepinone

المخطط رقم III - 11 : آلية إرجاع الأמיד بهيدريدات ليثيوم ألمنيوم هيدريد

المخطط رقم V - 1 : استخلاص الكافيين من أوراق الشاي الأخضر بطريقة المذيب

المخطط رقم VI - 1 : تحضير المركب A

المخطط رقم VI - 2 : تحضير المركب B

المخطط رقم VI - 3 : تحضير المركب C

المخطط رقم VII - 1 : تأثير الكافيين على البكتيريا عند ت = 0,0067 مول /ل

المخطط رقم VII - 2 : تأثير الكافيين على البكتيريا عند ت = 0,13 مول /ل

المخطط رقم VII - 3 : تأثير الكافيين على البكتيريا عند ت = 0,02 مول /ل

المخطط رقم VII - 4 : تأثير المركب A على البكتيريا عند ت = 0,0067 مول /ل

المخطط رقم VII - 5 : تأثير المركب A على البكتيريا عند ت = 0,013 مول /ل

المخطط رقم VII - 6 : تأثير المركب A على البكتيريا عند ت = 0,02 مول /ل

المخطط رقم VII - 7 : تأثير المركب B على البكتيريا عند ت = 0,0067 مول /ل

المخطط رقم VII - 8 : تأثير المركب B على البكتيريا عند ت = 0,013 مول /ل

المخطط رقم VII - 9 : تأثير المركب B على البكتيريا عند ت = 0,02 مول /ل

المخطط رقم VII - 10 : تأثير المركب C على البكتيريا عند ت = 0,0067 مول /ل

المخطط رقم VII - 11 : تأثير المركب C على البكتيريا عند ت = 0,013 مول /ل

المخطط رقم VII - 12 : تأثير المركب C على البكتيريا عند ت = 0,02 مول /ل

قائمة الجداول

- الجدول رقم V - 1 : المواد المستعملة لاستخلاص الكافيين
- الجدول رقم VI - 1 : المواد المستعملة لتحضير المركب A
- الجدول رقم VI - 2 : المواد المستعملة لتحضير المركب B
- الجدول رقم VI - 3 : المواد المستعملة لتحضير المركب C
- الجدول رقم VII - 1 : تغيرات قطر طبقة الكبت بتغير تركيز الكافيين
- الجدول رقم VII - 2 : تغير قطر طبقة الكبت بتغير تركيز المركب A
- الجدول رقم VII - 3 : تغير قطر طبقة الكبت بتغير تركيز المركب B
- الجدول رقم VII - 4 : تغير قطر طبقة الكبت بتغير تركيز المركب C
- الجدول رقم VII - 5 : مقارنة الفعالية البيولوجية للمركبات على أنواع البكتيريا المختارة

قائمة الأشكال

- الشكل رقم IV - 1 : شكل الخلية البكتيرية
الشكل رقم IV - 2 : طريقة قياس قطر طبقة الكبت .
الشكل رقم V - 1 طيف تحت الحمراء IR للكافيين
الشكل رقم VI - 1 طيف تحت الحمراء IR للمركب A
الشكل رقم VI - 2 طيف تحت الحمراء IR للمركب B
الشكل رقم VI - 3 طيف تحت الحمراء IR للمركب C

الفهرس :

- 1..... المقدمة
- الفصل الأول I : عموميات حول القلويدات :
- 4..... I - 1 تعريف القلويدات
- 5..... I - 2 - التسمية
- 5..... I - 3 مصادر القلويدات
- 6..... I - 4 تصنيف القلويدات
- 6..... I - 4 - 1 القلويدات الحقيقية
- 6..... I - 4 - 2 البروتو قلويد
- 6..... I - 4 - 3 البسيديو قلويد
- 7..... I - 4 - 4 قلويدات متجانسة الحلقة
- 7..... I - 4 - 5 قلويدات غير متجانسة الحلقة
- 11..... I - 5 - الخواص الفيزيائية للقلويدات
- 12..... I - 6 - الخواص الكيميائية للقلويدات
- 12..... I - 7 - الطرق الخاصة لاستخلاص و فصل القلويدات
- 12..... I - 7 - 1 . الاستخلاص بالمذيبات العضوية القطبية
- 13..... I - 7 - 2 . الاستخلاص بالمذيبات العضوية اللاقطبية
- 13..... I - 7 - 3 الاستخلاص بالماء الحمضي
- 13..... I - 8 طرق فصل و تنقية القلويدات
- 13..... I - 8 - 1 . البلورة المباشرة
- 14..... I - 8 - 2 . التقطير البخاري
- 14..... I - 9 الخصائص البيولوجية للقلويدات

II - الفصل الثاني II : دراسة نظرية حول الكافيين

- 16..... Purine 1 - II . عموميات حول البيورين
- 16..... 1 - 1 - II الخصائص الكيميائية و الفيزيائية للبيورين
- 18..... 2- 1 - II طرق تخليق البيورين
- 18..... 1 - 2 - 1 - II طريقة Traube
- 18..... 2 - 2 - 1 - II طريقة Behrend و Roosen
- 19..... 3 - 2 - 1 - II طريقة Fisher
- 20..... 2 - II . الكافيين
- 20..... 1 - 2 - II . تسمية الكافيين
- 21..... 2 - 2 - II . خصائص الكيميائية و الفيزيائية للكافيين
- 22..... 3 - 2 - II . مصادر الكافيين
- 22..... 1 - 3 - 2 - II . المصدر الطبيعي
- 23..... 2 - 3 - 2 - II . الاصطناع الحيوي للكافيين
- 24..... 2 - 3 - 2 - II . المصدر الصناعي
- 29..... 4 - 2 - II طرق تحليل الكافيين
- 29..... 1 - 4 - 2 - II الطرق المطيافية
- 30..... 2 - 4 - 2 - II الطرق الكروماتوغرافية
- 31..... 5 - 2 - II . استعمال الكافيين
- 32..... أ - المجال الطبي
- 32..... ب - المجال الزراعي
- 33..... 7 - 2 - II . مشتقات الكافيين
- 33..... 8 - acetoxymercuriocaffeine . 1 - 6 - 2 - II
- 34..... 2 - 6 - 2 - II . مركبات الهالو كافيين
- 34..... أ - 8 - يويو كافيين
- 34..... ب - 8 - برومو كافيين
- 35..... ج - 8 - كلورو كافيين
- 35..... د - 8 - فلورو كافيين
- 37..... 3 - 6 - 2 - II . 8 - سيانو كافيين
- 8 . 4 - 6 - 2 - II - هيدروكسي كافيين

الفصل الثالث III : طرق إرجاع الأميدات و الايمينات

- 41..... III - 1 . مفهوم الاختزال
- 41..... III - 2 . متركبات هيدريدات الفلزات
- 42..... III - 2 - 1 . ليثيوم ألومنيوم هيدريد
- 42 III - 2 - 2 . بوروهيدريد الصوديوم
- 42..... III - 3 . الايمينات
- 42..... III - 3 - 1 . إرجاع الايمينات بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم
- 46..... III - 3 - 2 . إرجاع الايمينات بهيدريدات ليثيوم ألومنيوم
- III - 4 . الأميدات
- 46..... III - 4 - 1 . إرجاع الأميدات بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم
- 48..... III - 4 - 2 . إرجاع الأميدات بهيدريدات ليثيوم ألومنيوم هيدريد

الفصل الرابع IV : عموميات حول البكتيريا

- 51..... IV - 1 . البكتيريا
- 51..... IV - 1 - 1 . خصائص البكتيريا
- 52..... IV - 1 - 2 . تصنيف البكتيريا
- 56..... IV - 2 . المضادات الحيوية
- 56..... IV - 1 - 2 . عمل المضادات الحيوية
- 57..... IV - 1 - 3 . أقسام المضادات الحيوية
- 57..... IV - 1 - 4 . طريقة تأثير المضاد الحيوي على البكتيريا

الفصل الخامس V : استخلاص الكافيين من أوراق الشاي الأخضر :

- 61..... V - 1 . الشاي
- 62..... V - 2 . طريقة الاستخلاص
- 69..... V - 3 . فصل و تنقية الكافيين
- 66..... V - 4 . الخصائص الفيزيائية للكافيين
- 67..... V - 5 . الخلاصة العامة

الفصل السادس VI : تحضير مشتقات الكافيين

- 70..... VI - 1 . تحضير المركب A : 7,3,1 - ثلاثي مثيل 8,7 -ثنائي هيدرو زانثين
- VI - 2 . تحضير المركب B :
- 73..... 7,3,1 - ثلاثي مثيل 8,7,6,4,2 - ثماني هيدرو بيورين

VI - 3 . تحضير المركب C :

76..... 1,3,7 - ثلاثي مثيل 2,6,7,8 - سداسي هيدرو بيورين

79 VI - 4 . الخلاصة العامة

الفصل السابع VII : دراسة الفعالية البيولوجية للمركبات على البكتيريا

81..... VII - طريقة العمل

83..... VII - النتائج

83..... VII - 2 - 1 . دراسة تأثير الكافيين

87..... VII - 2 - 2 . دراسة تأثير المركب (A)

90..... VII - 2 - 3 . دراسة تأثير المركب (B)

93..... VII - 2 - 4 . دراسة تأثير المركب (C)

96..... VII - 3 . الخلاصة العامة

98..... الخاتمة

101..... المراجع

المقدمة

المقدمة:

تعرف المركبات الحلقية غير المتجانسة الأزوتية بأنها مركبات حلقية تحتوي على الأقل ذرة واحدة من عنصر الأزوت . و لها أهمية حيوية كبيرة كغيرها من المركبات الأوكسجينية و الكبريتية ، حيث تدخل في صناعة كثير من الأدوية ، صناعة مثبطات التآكل، كما تلعب دورا مهما في بعض العمليات الحيوية .

نحصل على هذه المركبات إما عن طريق الاستخلاص من مصادر حيوانية و نباتية مثل كاستخلاص القلويدات، أو عن طريق التحضير في المختبر .

و يمكن تحضير هذه المركبات باستعمال الاستخلاص و التحضير المخبري معا . على سبيل المثال تحضير مشتقات القلويدات المستخلصة من النباتات .

كتحضير مشتقات قلويدات البيورين ، الذي يعتبر من أشهر الأنظمة الحلقية المتواجدة في الكائنات الحية . ومن أهم قلويدات البيورين مركبات مثل الزانثين التي حضرت مشتقاتها عن طريق استبدال ذرة الهيدروجين الموجودة في ذرة رقم ثمانية بعناصر أخرى أهمها الهالوجينات و قلويد الكافيين هو أحد هذه المركبات، يستخلص من مصادر نباتية أو يحضر بطريقة عملية في المختبر . يتميز كغيره من مركبات مثل الزانثين بسهولة استبدال ذرة الهيدروجين لتحضير مشتقاته .

و من ميزات الكافيين أيضا وجود مجموعتي الإيمين و الأמיד التي منها نستطيع تحضير مركبات حلقية غير متجانسة أزوتية جديدة تعرف بمشتقات الكافيين الناتجة عن طريق الإرجاع ولهذا الغرض أردنا تحضير مشتقات للكافيين بإرجاع هاتين المجموعتين باستعمال الهيدريد و دراسة مدى تأثير و الفعالية البيولوجية لهذه المركبات على البكتيريا .

لإنجاز هذا الدراسة تم تقسيم هذا البحث إلى :

- الفصل الأول: تطرقنا فيه إلى عموميات حول القلويدات
- الفصل الثاني : تضمن دراسة نظرية حول الكافيين
- الفصل الثالث :تضمن هذا الفصل طرق إرجاع الأميدات و الايمينات
- الفصل الرابع : تطرقنا في هذا الفصل إلى التحدث عن البكتيريا و طرق التخلص منها
- الفصل الخامس: تطرقنا فيه إلى استخلاص الكافيين من أوراق الشاي الأخضر .
- الفصل السادس : تطرقنا في الفصل إلى طرق تحضير مشتقات الكافيين الثلاثة :
- 7,3,1 - ثلاثي مثيل ، 8 ، 9-ثنائي هيدرو زانثين
- 7,3,1- ثلاثي مثيل ، 9,8,6,5,4,2 ثماني هيدرو بيورين
- 7,3,1 - ثلاثي مثيل ، 9,8,6,2 - سداسي هيدرو بيورين
- الفصل السابع : تضمن هذا الفصل دراسة تأثير الكافيين و مشتقاته على ثلاث أنواع من البكتيريا .

الفصل الأول I :
عموميات حول القلويدات

I . القلويدات:

مقدمة:

تعتبر خلاصة الأفيون الجافة أول عقار تم استخلاصه ودراسته. ولقد أستخدم الأفيون لقرون عديدة كمنوم ومسكن بواسطة الأطباء الشعبيين. ولقد جذب الأفيون انتباه العلماء، حيث تمكن ديرسون Derson في عام 1803م من فصل قلويد متوسط النقاوة من نبات الخشخاش (الأفيون) أطلق عليه النار كوتين (Narcotine). في عام 1805م تم اكتشاف المورفين (Morphine) بواسطة العالم سيرتيرن (Serturner) و الذي يعد أول من اكتشف الخصائص الأساسية للمورفين. وبعد استخدام طرق الفصل و التنقية الحديثة خاصة الطرق الكروماتوغرافية، تمكن العلماء من فصل العديد من القلويدات حتى بلغ عدد المفصول منها عام 1973م ما يقرب من 4959 قلويدا، في حين أمكن التعرف على التركيب الكيميائي لما يقارب من 3293 قلويدا منها، إلى أن وصل هذا العدد في عام 1978م إلى 4000 قلويدا معروف التركيب الكيميائي [1].

I-1-التعريف:

مصطلح القلويد لفظ أول مرة من طرف W. Meisner عام 1819م على مركب عضوي قاعدي له صفات القلوية ومنها اشتقت وتحولت إلى كلمة القلويد Alcaloïde [1]، [2]. وبصفة عامة القلويدات هي قواعد آزوتية معقدة البنية تحوي على وظيفة حمضية أمينية واحدة أو عدة وظائف [2].

I-2-التسمية :

يستخدم العاملون بهذا المجال نظام للترقيم يعتمد على التخليق الحيوي للقلويدات

. Biogenèses

ووفقا للقواعد الكيميائية فلقد أتفق على أن تنتهي أسماء القلويدات جميعا بالمقطع

(- ine) مثل (Caféine ، Theophiline ، Nicotine) الخ، أما الجزء الأول من اسم القلويد

فيمكن أن يشتق من اسم الجنس (Genus) النباتي الذي يستخلص منه القلويد مثل Caféine من

(Café) ، (Nicotiana) Nicotine .

كما يمكن أن يشتق اسم القلويد من اسم النوع (Species) النباتي الحامل للقلويد مثل

(Balladomine) من (Athopa Belladone) و قلويد Cocaïne من

(Erythraxylone coca) . كذلك يشتق اسم القلويد من الاسم الشائع (Commun nom)

للنبات المحتوي على القلويد مثل قلويد الأرجوتامين (Argotamine)، ويشق أيضا من خلال

التأثير الفسيولوجي للقلويد مثل Narcotine لأنه مخدر (Narcotique) [1]، [2] .

I-3-مصادر القلويدات:

تعتبر النباتات خاصة الزهرية المصدر الرئيسي للقلويدات ، إلا أنه في غضون السنوات القليلة

الماضية زاد عدد القلويدات التي أمكن فصلها من مصادر مختلفة كالحوانات و الحشرات و

الكائنات البحرية . فمثلا أمكن الحصول على قلويد المسكوبيريدين (Muscoridinepy) من

مسك الغزلان .

I-4-التصنيف :

تلجأ بعض المصادر إلى تصنيف القلويدات حسب توزيعها النباتي ، أو حسب خصائصها الصيدلانية ، تركيبها الحيوي ، أو حسب بنيتها الكيميائية .
ولقد كانت أكثر المحاولات قبولا وانتشارا هو نظام التقسيم الذي وضعه هيجانور (Hegenauer) [1] ، [2] .

I - 4 - 1 . القلويدات الحقيقية True Alkaloids :

هي قلويدات سامة لها تأثيرات فيسيولوجية متباينة ، تحوي على ذرة نتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة ، وهي مركبات تشتق من الأحماض الأمينية [1] ، [3] .

I - 4 - 2 . البروتو - قلويد : Proto-alkaloids

هذه القلويدات عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الآزوت لا تنتمي إلى النظام الحلقي بل تكون مجموعة أمينية جانبية وهي تشتق من الأحماض الأمينية [1] ، [2] .

I - 4 - 3 . البسيدو - قلويد : Pseudo-alkaloides

هي قلويدات لها نفس خصائص القلويدات الحقيقية إلا أنها لا تشتق من الأحماض الأمينية [1].

ويندرج تحت هذا القسم من القلويدات، الستيرودية، قلويدات بيورين (Purine) [1] ، [3].
كما يمكن تصنيف القلويدات حسب البنية الكيميائية إلى مركبات حلقية غير متجانسة و مركبات حلقية متجانسة .

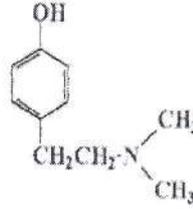
I - 4 - 4 . قلويدات متجانسة الحلقة (الأزوت خارج الحلقة)

تتقسم بدورها إلى:

I - 4 - 4 - 1 . الأمينات القلويدية : amines alcaloidiques

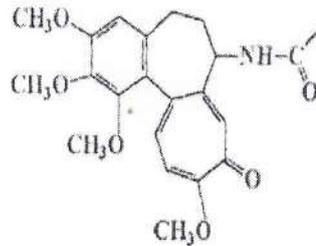
نذكر على الخصوص (هردنين) المستخرج من البتول

Hordénine (1)

I - 4 - 4 - 2 . مشتقات النواة التروبولونية: Noyau tropolone

نواتها تتشكل من ثلاث حلقات اثنان منها سباعيتان و الثالثة سداسية و الأزوت موجود خارج

النواة ، منها (الكولشيسين)



Colchicine (2)

I - 4 - 5 . قلويدات غير متجانسة الحلقة

تتقسم بدورها إلى عدة مجموعات :

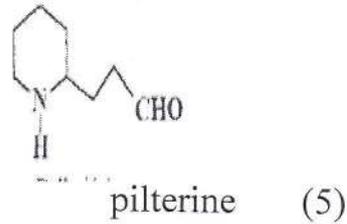
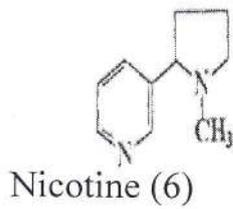
أ- مجموعة البيريدين و البيريدين

pyridine (4)

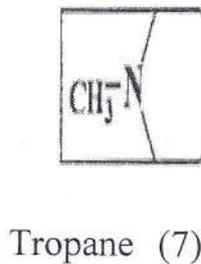


Pipéridine (3)

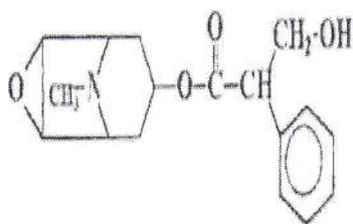
أهم القلويدات البيريدينية النيكوتين الموجود في التبغ و أهم القلويدات البيريدينية البيلتيرين الموجود في الرمان.



ب - مجموعة التروبان:

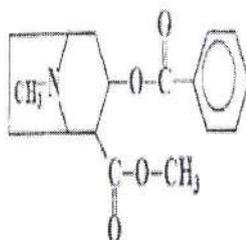


السوكوبولامين (الهيوسين) (scopolamine) (hyoscyne) الموجود في نبات السكران و البلادونا .



Scopolamine (8)

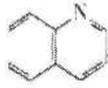
كذلك الكوكايين المستخرج من أوراق الكوكا (Coca)



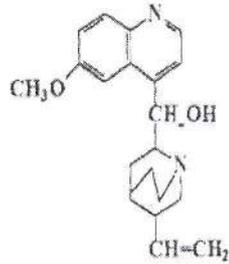
(9) Cocaine

ج - مجموعة الكينوليين

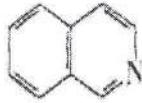
أهم قلويداتها الكينين المستخرج من نبات الكينا



Quinoléine (11)

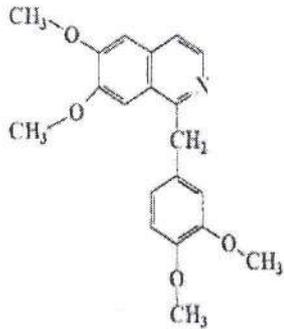


Quinine(10)

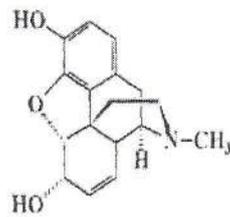
د - مجموعة الأيزوكينولين

Isoquinoline(12)

أهم قلويداتها البابافيرين و المورفين المستخرجان من نبات الخشخاش (Pavot)



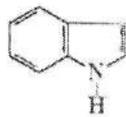
(14)



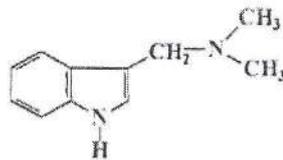
(13)

ه - مجموعة الأندول

من قلويداتها الجرمنين المستخرج من الشعير



(16) Indole



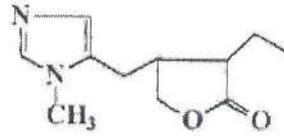
(15) Gramine

و - مجموعة الإيميدازول:

أهم قلويداتها البيلوكاربين المستخرج من أوراق الجابورندي (jaborandi)



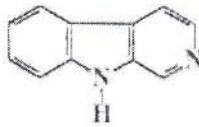
(18) Imidazole



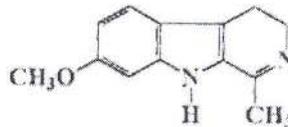
(17) Pilocarpine

ل - مجموعة الكاربولين:

أهم قلويداتها الحرملين المستخرج من نبات الحرم



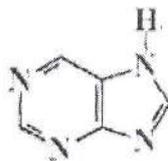
Carbaline (20)



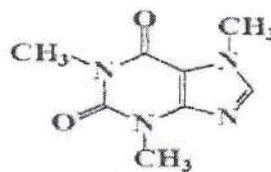
(19) Harmaline

ي - مجموعة البيورين:

من قلويداتها الكافيين الموجودة في أوراق الشاي .



Purine



Caffeine

I - 5. الخواص الفيزيائية للقلويدات :

الكتلة المولية للقلويدات تتراوح من 100 إلى 900 غ/مول إن معظم القلويدات وأملاحها

في الحالة النقية تتواجد في صورة بلورية صلبة وذات درجات انصهارها محددة [1] .

-معظم القلويدات هي مركبات عديمة اللون والرائحة [1] ، [2] .

-القلويدات السائلة المتطايرة قليلة وذات رائحة مميزة مثل النكوتين [1] ، [4] .

-القلويدات مرة الطعم هي قلويدات غير متطايرة. [1] ، [21] ، [4] .

-تعتبر ذوبانية القلويدات أهم خاصية فيزيائية وذلك لأنها باختلاف درجة ذوبانها يعطي الفرصة

لفصلها عن بعضها البعض [1] ، [2] .

-القلويدات الحرة عادة ما تذوب في المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم و الايثير أو المذيبات

غير القطبية نسبيا و لكنها لا تذوب في الماء عدا القليل جدا منها مثل الكافيين [1] ، [9] .

-أملاح القلويدات بصفة عامة تذوب في الماء و بدرجة أقل في الكحول ، و لا تذوب في

المذيبات العضوية و مثال عن ذلك فإن كبريتات الأتروبين تذوب في الماء بينما قلويد الأتروبين

لا يذوب في الماء .وأن كانت هذه هي القاعدة العامة إلا هناك بعض الإستثناءات وهي:

أ-قليل من القلويدات الحرة لا تذوب في المذيبات العضوية مثل : Narcine ، وبعضها شحيح

الذوبان في المذيبات العضوية مثل Morphine [1] ، [2]

ب-قليل من القلويدات الحرة تذوب في الماء مثل : (Colchicine) ، كذلك الكافيين يمكن

استخلاصه من أوراق الشاي أو بذور البن بالماء [1] ، [2] ، [4] ، [6] ، [7] .

ج- بعض أملاح القلويدات قليلة (شحيحة) الذوبان في الماء مثل كبريتات الكينين

[1] (Quinine Sulfate) .

د-القليل من أملاح القلويدات تذوب في المذيبات العضوية مثل كلوريد اللوبيلين الذي يذوب في

الكلوروفورم [1] ، [2] .

6-I. الخواص الكيميائية للقلويدات :

للقلويدات العديد من الخصائص الكيميائية منها :

- القلويدات تترسب مع بعض الكواشف الخاصة تسمى بكواشف القلويدات وتوجد عدة أنواع منها، الكواشف اليودية. [1] ، [3] .

❖ كاشف ماير (Réactif de Mayer) : هو عبارة عن محلول كلور الزئبق و يود يد

الذي تاسبه م الذي يعطي راسب أنضر / مصفر ، و نعتبر أكثر المرسبات شبه عا .

❖ كاشف دار جندروف (Réactif de dragendorff): محلول نترات البسموت و يوديد

البوتاسيوم الذي يعطي راسب أحمر برتقالي.

❖ كاشف بوشردا (Réactif Bouchardat): محلول يوديد البوتاسيوم واليود الذي يعطي

راسب بني.

7-I. -الطرق الخاصة لاستخلاص و فصل القلويدات :

إن استخلاص القلويدات يعتمد على اختلاف ذوبانيتها في الوسط الحمضي و القاعدي.

توجد ثلاث طرق لاستخلاص القلويدات [1] ، [2] .

1- 7- I. الاستخلاص بالمذيبات العضوية القطبي : يكون الاستخلاص بمعالجة مسحوق

النبات بالكحول ثم يبخر و النتائج يذاب في محلول حمضي مدد، أو يعالج بمحلول كحول - ماء

حمضي بعدها يبخر الكحول و الناتج يمدد بمحلول حمضي مخفف.

أما التنقية فتكون باستخلاص المحلول الحمضي الناتج بمذيب عضوي لا قطبي بعد

التبخير نتحصل على راسب القلويدات الكلية.

I - 8 - 2 .التقطير البخاري :

معظم القلويدات والتي تتميز بوزن جزيئي كبير لا يمكن فصلها بطريقة التقطير البخاري ، لكن بعض الشواذ من القلويدات البسيطة ذات الوزن الجزيئي المنخفض مثل النيكوتين ، الكونيين و الأسمارتبين يمكن فصلها بهذه الطريقة [1] .

I - 9 . الخصائص البيولوجية للقلويدات

بعض القلويدات هي أدوية معروفة بفعاليتها العلاجية المؤكدة مثل الفينبلاستين (Vinblastine) الذي يستخلص من نبات (Catharanthus . Rosrus) يستعمل لمعالجة أنواع أمراض السرطان ، البعض منها يؤثر مباشرة على الجسم حيث تساعد على تخفيف التشنج و تسكين الآلام . والبعض من هذه المركبات تؤثر في مستوى النظام العصبي المركزي كمنبهات مثل (الكافيين) [1] ، [6] .

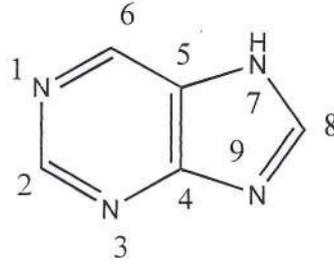
الفصل الثاني II :
دراسة نظرية حول الكافيين

II - 1. عموميات حول البيورين Purine:**مقدمة:**

يعتبر النظام الحلقي للبيورين Purine واحد من أهم الأنظمة الحلقية المتواجدة في الكائنات الحية . حيث تتواجد حلقة البيورين في العديد من الأنزيمات ، حمض اليوريك ، مشتقات الزانثين (الكافيين ، الثيوبرومين ، الثيوفيلين) ... الخ. [1] ، [3] ، [6] .

II - 1-1 . الخصائص الكيميائية و الفيزيائية للبيورين :

البيورين مركب عديم اللون درجة انصهاره 212 م° ، شديد الذوبان في الماء ، لكنه قليل الذوبان في المذيبات العضوية [3] ، [5] .
بنيته الجزيئية تم استنتاجها من دراسة تشتت أشعة X . كما تبين من قياسات المسافات بين الذرات إن حلقة البيورين حلقة أروماتية . يمكن اشتقاق البيورين سوريا بالتحام حلقتي البيريميدين و الايميدازول [5].



بيورين (23)

1 - الاميدازول :

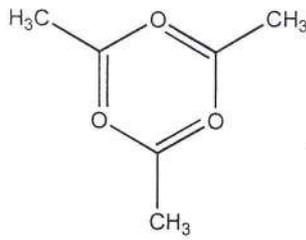
هو عبارة عن مركب صلب ينصهر عند درجة 70 م° ، شديد الذوبان في الماء [2]، لكن لا يذوب في اثير البترول يتميز بوجود الوظيفة الامينية يمكن تحضيره بطرق عديدة من بينها .

الفصل الثاني دراسة نظرية حول الكافيين

تحضير الايميدازول من البارالدهيد حيث إنه يتفاعل مع البروم في وجود إيثيلين جليكول و

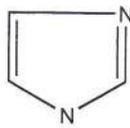
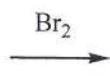
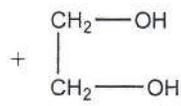
يتحول إلى أسيتات حلقي من برومواسيتالدهيد و هذا عند تسخينه مع الفورماميد في وجود

الأمونيا يتحول إلى ايميدازول .



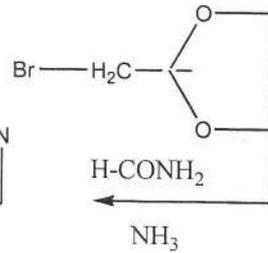
Paraldehyde

(25)



Imidazole

(24)



المخطط رقم - II . 1

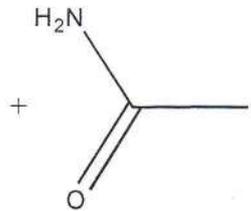
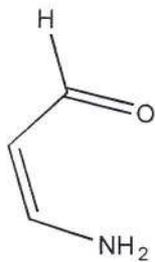
تحضير الايميدازول من البارالدهيد

ب - البيريميدين :

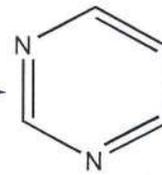
يعتبر البيريميدين من أهم المركبات سداسية الحلقة التي تحتوي على ذرتين غير متجانستين و

هو ينصهر عند درجة حرارة 22,5 م° و يغلي عند درجة حرارة 124 م° [10] ، [11] .

و يحضر البيريميدين من تكاثف أية مادة تمتلك التركيب العام N-C-N



Piperidine Acetate



perimidine

(26)

المخطط رقم - II . 2

تحضير البيريميدين

II - 1- 2 . طرق تحضير البيورين :

لقد تم تحضير حلقة البيورين بعدة طرق مختلفة و كان الهدف من أغلبها تحضير مشتقات

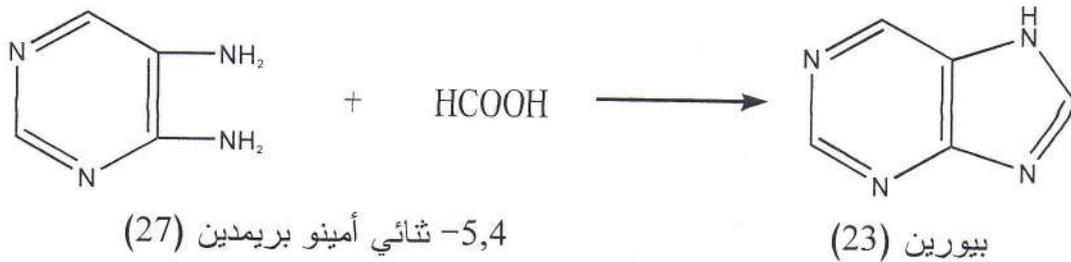
بيورينية كحمض اليوريك مثلا [3] ، [5]. وأهم هذه الطرق مايلي .

II - 1- 2 - 1 . طريقة تراوبي Traube :

إن أهم طريقة لتحضير البيورين هي ل Traube سنة 1890 ، الذي بين أنه يمكن حولقة

5,4 - ثنائي أمينو بريمدين إلى البيورين ، باستعمال حمض الفورميك أو مشتقاته . حسب

المخطط التالي .

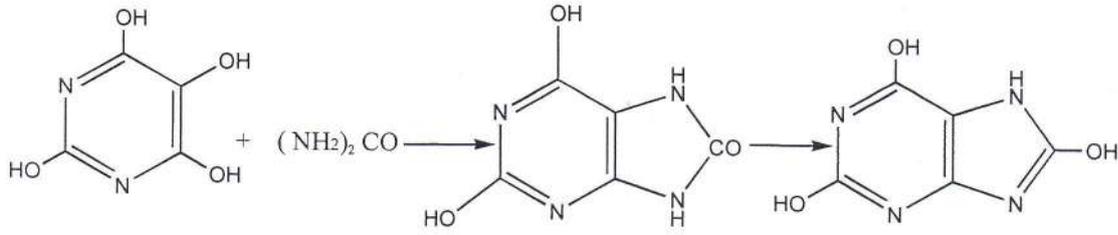
المخطط رقم II - 3 .

تحضير البيورين بطريقة Traube

II - 1- 2 - 2 . طريقة Behrend و Roosen :

تم هذا التخليق سنة 1888 م و كان الهدف منه هو تحضير حمض اليوريك انطلاقا من 5,4 -

ثنائي هيدروكسي بريمدين و اليوريا حسب المخطط التالي .



ثنائي هيدروكسي بريمدين 6، 5، 4، 2 -

(28)

ثلاثي هيدروكسي بيورين

(29)

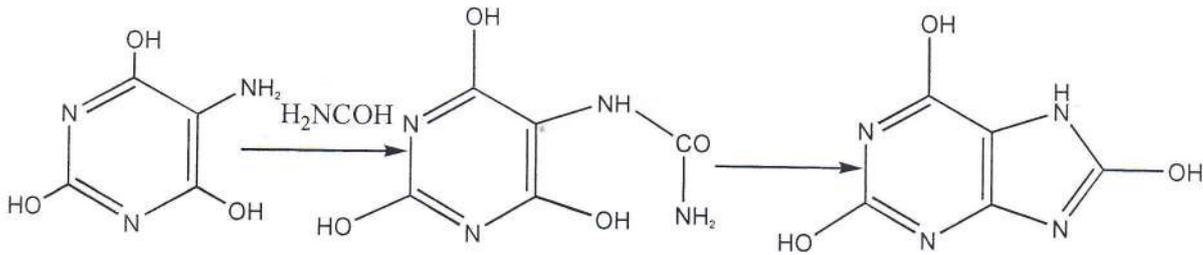
المخطط رقم II - 4 .

تحضير البيورين بطريقة Roosen و Behrend

II - 1 - 2 - 3 . طريقة Fisher :

قام فيشر Fisher بتخليق حمض اليوريك (29) من معالجة 5-أمينو 6، 4، 2 - هيدروكسي

بريمدين بفورماميد حسب مخطط رقم (4) .



5 - أمينو 6، 4، 2 - هيدروكسي بريمدين

(29)

المخطط رقم II - 5 .

تحضير البيورين بطريقة Fisher

II - 2 . الكافيين :

مقدمة :

يستمتع الإنسان بمادة الكافيين منذ القدم يرجع إلى عام 2700 قبل الميلاد عندما قام الإمبراطور الصيني (شين نونج) يشرب الشاي الساخن المتخمر أما القهوة فترجع إلى عام 575 قبل الميلاد حيث كانت تستخدم حبيباتها في نظام المقايضة .

II - 2 - 1 . تسمية الكافيين :

اكتشف الكافيين في القهوة سنة 1820م F.Runge [6] ، [7] ، [9] . وفي سنة 1827 استخلص من الشاي من طرف Owdry و سمي بالشايين [8] ، [9].
- أثبت Mulder و Jobet سنة 1838 م أن كل من الشايين و الكافيين هما عبارة عن مركب واحد [10] ، [11] ، [12] .

للكافيين أسماء عديدة من بينها :

- * -Methyl Theobromine
- * - Methyl theophiline
- * - 1,3,7- trimethyl 2-6-dioxopurine
- * - 1,3,7-trimethylxanthine

II - 2 - 2 . خصائص الكيميائية و الفيزيائية للكافيين :

الكافيين مادة طبيعية تنتمي إلى قلويدات فئة المثيل زانثين ، التي تحتوي بالإضافة إلى الكافيين على كل من الثيوفلين و الثيوبرومين . ولهذه المركبات خواص مشتركة أهمها :

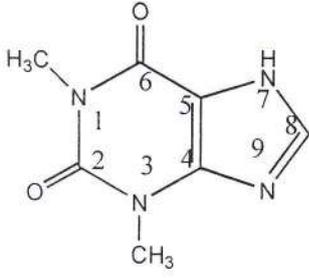
1- تعتبر مواد سامة في الحالة النقية [1] ، [2] ، [9] .

2- مواد غير ملونة [1] ، [2] ، [6] ، [9] .

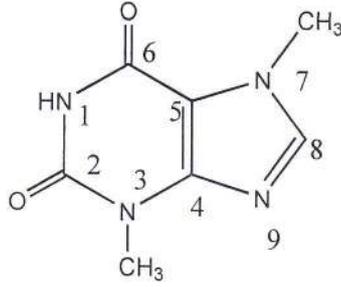
3- غير متطايرة طعمها مر [1] ، [2] ، [6] ، [9] .

4- يسهل فصلها عن بعضها عن طريق البلورة [2] ، [4] ، [6].

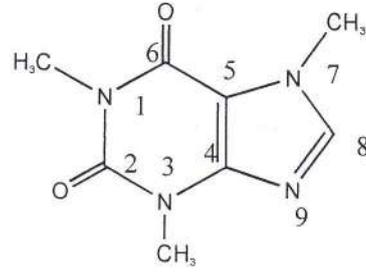
5- هي مركبات تذوب بسهولة في الماء الساخن و المذيبات الكلورية [2] ، [6] .



الثيوفلين (31)



الثيوبرومين (30)



الكافيين (22)

اقترح Adolf strecher سنة 1861 م بشكل صحيح الصيغة الجزيئية للكافيين ($C_8H_{10}N_4O_2$)

[9] ، [10] ، [11] .

- يذوب الكافيين في الماء المغلي، و في مجموعة كبيرة من المذيبات العضوية

مثل المذيبات الكلورية (كلورو فورم ، ثنائي كلورو ميثان) [4] ، [6]

.الأسيتون ، بنزين ، استات الاثيل ميثانول ، إيثانول ، رباعي هيدروفوران

[11] و قليل الذوبان في اتر البترول [9].

- كتلته المولية تقدر ب 194.19 غ /مول [1] ، [4] ، [6] ، [8] .

- درجة انصهاره 238 م° [4] ، [6] .

II - 2 - 3 . مصادر الكافيين :

للكافيين مصدرين أساسيين هما المصدر الطبيعي (النباتات) و المصدر الصناعي (التخليق)
[4] ، [6] ، [9] ، [10] ، [11] .

II - 2 - 3 - 1 . المصدر الطبيعي :

يتواجد الكافيين في أوراق النباتات أو بذورها أو حتى في الفاكهة ، ويصل عدد النباتات إلى ما يزيد عن 60 نوعا في جميع أنحاء العالم أشهرها الشاي ، القهوة ، الكاكاو [6] . ويحتل الشاي المرتبة الأولى من حيث نسبة الكافيين المتواجدة فيه و التي تصل إلى 4% [4] ، [6] ، [10] . ويتم الحصول على الكافيين من النباتات عن طريق الاستخلاص .

II - 2 - 3 - 1 - 1 . الاستخلاص الكافيين من النباتات :

مقدمة :

الاستخلاص هو طريقة تسمح بفصل مادة عن أخرى باستعمال مذيبات ، فهذه المادة يمكن أن تكون في حالة سائلة أو في حالة صلبة [17] .
- الحالة الأولى : (استخلاص سائل - سائل)
- الحالة الثانية : (استخلاص صلب - سائل)
هناك طريقتين أساسيتين لاستخلاص الكافيين

1 - طريقة الاستخلاص بالماء :

طريقة تجارية الهدف الأساسي منها هو الحصول على قهوة منزوعة الكافيين [4]، [7]، [9] . يتم ذلك بتنقيع البن في الماء لمدة طويلة ثم يرشح ، الطور السائل يعالج بالكربون الفعال (carbone actif) لامتصاص الكافيين أما البن يجفف لنتحصل في الأخير على بن منزوع الكافيين coffee decaféne .

ب - طريقة الاستخلاص بالمذيب :

طريقة سهلة يتم فيها الحصول على الكافيين بنسبة معتبرة حيث أعتدها العديد من الباحثين في

استخلاص الكافيين من الشاي و القهوة . [2] ، [4] ، [6] ، [7] ، [9] ، [12] ، [18] .

ويتم الاستخلاص بالطريقة التالية :

تذاب كمية من كربونات الصوديوم أو الكالسيوم في الماء المقطر ثم يضاف إليها النبات

ويترك الخليط في حالة تسخين و ارتداد مدة معتبرة ، يرشح ويستخلص المحلل المائي بمذيب

كلوري ، يجفف باستعمال كبريتات الصوديوم أو المغنيزيوم ، يبخر المذيب نتحصل على راسب

لخليط من القلويدات .

تنقية الكافيين وفصله تكون باستعمال طريقة البلورة المباشرة .

II - 2 - 3 - 1 - 2 . الاصطناع الحيوي للكافيين :

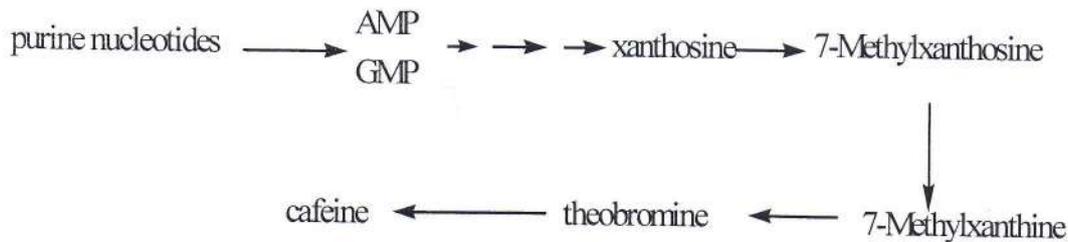
يتم التصنيع الحيوي للكافيين بتشكيل الزانثوسين من (adénosine mono APM phosphate)

(phosphate) و (GMP (guanosine mono phosphate) . الذي يتحول إلى

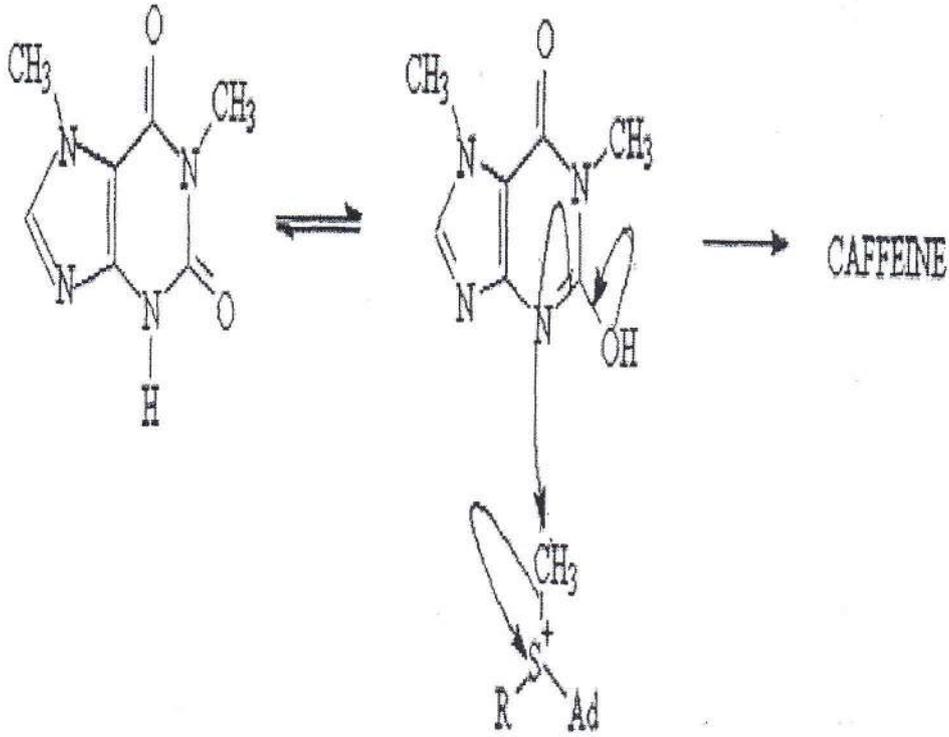
الكافيين في ثلاثة خطوات أساسية خاصة بالميثلة methylation .

المرحلة الأخيرة يتم فيها التحويل من الثيوبرومين إلى الكافيين بوجود عنصر الميثلة

Methylation (Sadenosyl méthionine) و تدعى Sam [19] ، [20] .



المخطط رقم II - 6 . الاصطناع الحيوي للكافيين



المخطط رقم (7)

المخطط رقم II - 7 . ميثلة الثيوبورومين ب Sam

2-II - 3 - 2 . المصدر الصناعي :

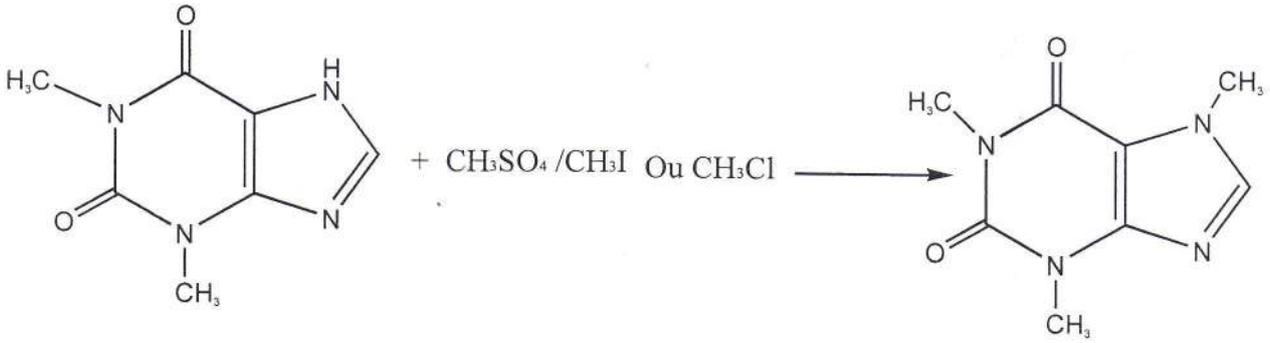
حضر الكافيين بطرق عديدة أهمها :

1- تحضير الكافيين من الثيوبورومين و الثيوفلين :

- ميثلة الثيوبورومين أو الثيوفلين ويتم ذلك بمعالجة الثيوفلين أو الثيوبورومين بكبريتات المثل

. sulfate de méthyle

أو يوديد المثل ، كلوريد المثل [6] ، [9] ، [21] ، [22] . لاحظ المخطط التالي .

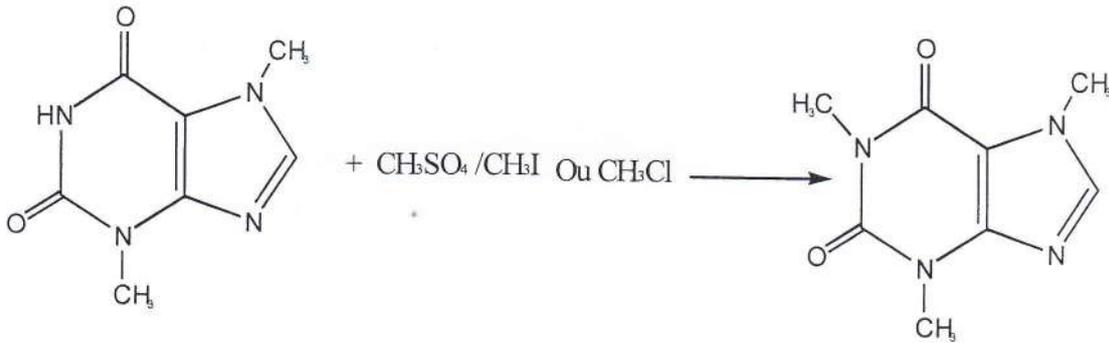


الثيوبرومين (30)

الكافيين (22)

المخطط II - 8 .

تحضير الكافيين من الثيوبرومين



الثيوفلين (31)

الكافيين (22)

المخطط رقم II - 9 .

تحضير الكافيين من الثيوفلين

ب - تحضير الكافيين من اليوريا :

يحضر الكافيين أيضا انطلاقا من اليوريا $Urée$: [6]

1-اليوري (l'urée) (32) يتكاثف مع أستر السيانسيتيك (cyanacétique) (33) ، يعطي

سيانستيلوري (cyanacétylurée) (34) ، الذي يحلق في وسط قلوي alcalin إلى

(imino-4-dioxy-2,6-pyrimidine) (35) .و بتأثير حمض النترو (acide nitreux) نحصل

على (l'acide imino-6-dioxy-2,6-violurique) (36 و 36) الذي يرجع بالزنك و حمض

الفوسفريك H_2SO_4 إلى 5,4-ثنائي أمين يوراسيل (diamino-4,5-uracil) (37).

انطلاقا من حمض فرميك مركز نحصل مباشرة على مشتق أحادي فورميل (38) الذي يحلق

في وسط قلوي إلى الزانتين (xanthine) (39) .

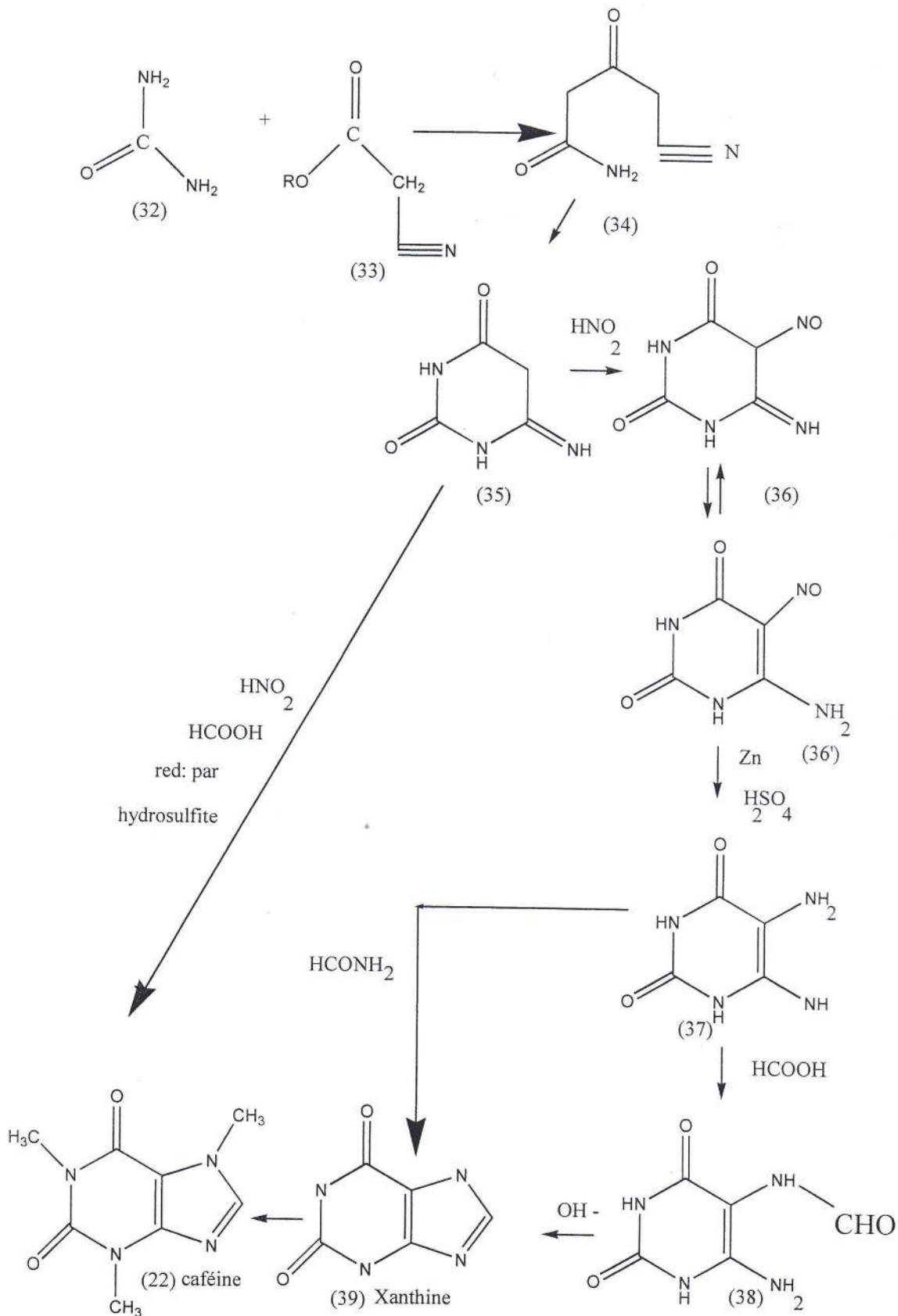
- عند استبدال حمض الفورميك (l'acide formique) بالفورماميد (formamide) فإن ثنائي

أمينو بيريميدين (37) يعطي مباشرة الزانتين (la xanthine) .

الزانتين (xanthine) يعالج بكبريتات المثل (Sulfate de Méthyle) (CH_3SO_4) عند pH (9-8) وعند درجة حرارة 30-35 م° نحصل على الكافيين (22) بمردود 90% .

- الكافيين يحصل عليه أيضا مباشرة بتأثير سولفات المثل في وسط قلوي على مشتق أحادي

فورميل (38) dérive monoformyle. لاحظ المخطط التالي .



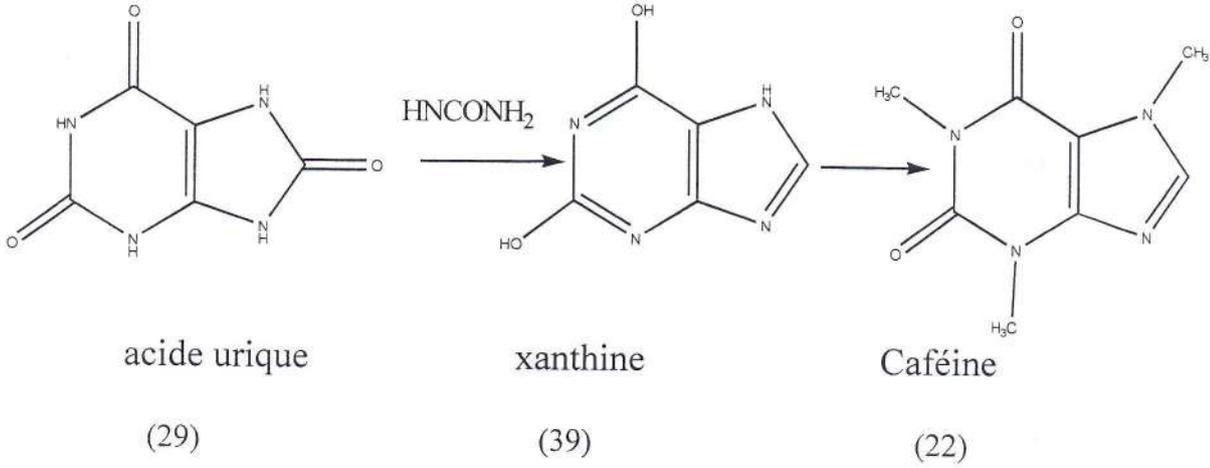
المخطط رقم II - 10 .

تحضير الكافيين انطلاقاً من اليوريا

ج - تحضير الكافيين انطلاقا من حمض اليوريك :

يتم ذلك بتسخين حمض اليوريك مع الفورماميد ليعطي الزانثين الذي يميل methylation

ليعطي الكافيين حسب المخطط التالي [6] .



المخطط رقم II - 11 .

تحضير الكافيين انطلاقا من حمض اليوريك.

II-2-4 . طرق تحليل الكافيين :

فصل الكافيين و تحليله تم بطرق عديدة أهمها :

II-2-4-1 . الطرق المطيافية :

هي طرق فيزيائية تعتمد على دراسة التجاذبات بين المواد المدروسة و الأشعة

الالكتر ومغناطيسية [17] .

استعملت أغلب تقنياتها في تحليل الكافيين من بينها :

ا - مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV:

حتى وسط سنة 1970 كانت التقنية الأكثر استعمالا لتحليل الكافيين .

- سنة 1953 م Axelrod و Reichenthal استعمالا هذه التقنية لتحديد الكافيين في السوائل

البيولوجية [23] .

- سنة 1969 م Routh و al قاما باستخدام هذه التقنية لتعيين الكافيين في البول [24] .

ب - مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR :

طريقة اعتمدها حديثا الباحثين في تحليل الكافيين

- سنة 1996 م قام Adams بتحليل الكافيين المستخلص من الشاي الأخضر [25]

ج- مطيافية الرنين المغناطيسي (RMN) :

استعملت من طرف أيضا Adams في تحليل الكافيين، [25] . وكانت نتائج التحليل على

النحو التالي:

* - $\delta = 8,55$ ppm تدل على بروتون الموجود في الذرة رقم 8 في الحلقة العطرية

الخماسية

* - $\delta = 4$ ppm تدل على بروتونات المثيل الموجودة على الذرة رقم 9 في الحلقة العطرية

الخماسية

الفصل الثاني دراسة نظرية حول الكافيين
 * - $\delta = 3,55$ و $3,35$ يدل هذين الرقمين على بروتونات مجموعتي المثيل الموجودتين على

الذرتين رقم 1 و 3 في الحلقة السداسية

II - 2 - 5 - 2 . الطرق الكروماتوغرافية:

من بين الطرق الكروماتوغرافية المطبقة لتحليل و فصل الكافيين :

ا- كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة CCM:

طريقة كروماتوغرافيا يكون فيها حامل هو طبقات تحوي المادة الممتزة و تسمى CCM

وهي أول طريقة كروماتوغرافية تستعمل لتحليل وفصل الكافيين [26] .

- سنة 1977 م Welch و al استعاننا بهذه التقنية لفصل الكافيين عن بعض الهيدروكربونات

في بعض الاختبارات على الفئران [26].

- سنة 1978 م Riechert استخدم هذه التقنية بهدف تعيين الكافيين و الثيوفلين و فصلهما من

السوائل البيولوجية [27] .

- سنة 1979 م Bradbrook و al قاما بتحليل و فصل الكافيين بهذه الطريقة ومقارنتها

بنتائج التحليل باستعمال كروماتوغرافيا الغاز [28] .

ب - كروماتوغرافيا الطور الغاز CPG:

استعملت هذه التقنية لأول مرة سنة 1968 م من طرف Grab و Reichstein بهدف

تعيين الكافيين في البلازما [29].

- سنة 1977 م Demas و statland استخدموا هذه التقنية لتحديد نصف عمر مصل

من الكافيين في مرضى مصابين بعجز كبدي [30] .

ج - كروماتوغرافيا الغاز المرفقة بمطيافية الكتلة GC/MS:

- سنة 1978 م Marriman و al استعمال هذه التقنية لتعيين الكافيين وفصله عن مواد أخرى في الدم [31].

- سنة 1997 M.L. Orton , M.J. Yang استعمال هذه التقنية لتعيين كمية الكافيين في المشروبات [32].

د - كروماتوغرافيا ذو الكفاءة العالية HPLC :

كروماتوغرافيا العمود ذات الكفاءة العالية (HPLC) هي تقنية متطورة تطبق في الدراسات التحليلية للجزيئات غير القابلة للتبخر ذات القطبية العالية تمتاز هذه التقنية بعدة إيجابيات أهمها السرعة و الدقة ، استخدمت مؤخرا في تحليل الكافيين و فصله عن مشتقات الزانثين الأخرى من طرف العديد من الباحثين [33]، [34] .

سنة 1997 م Jaoa P. Telo و Abel J. S. C. Vieira استخدموا هذه الطريقة من أجل مقارنة بين الكافيين و ثلاثي مثيل حمض اليوريك [21] ، [22] .

II - 2 - 5 . استعمالات الكافيين :

حوالي (80-90 %) من الكافيين يستعمل في صناعة الأشربة [33] . و كمادة منكهة في بعض المواد الغذائية ، مثل الخبز حلويات ، حلوة طرية [33] ، [34] .

أما (10 - 20 %) من الكافيين المتبقية تستعمل في المجال الطبي و الزراعي [33]

أ . المجال الطبي :

يتميز الكافيين بعدة خصائص طبية جعلت منه موضع لأبحاث عدة و من بين الاستعمالات الطبية مايلي :

*- يعتبر الكافيين من اشهر المواد المنبهة للمراكز العصبية ونتيجة لهذه الخاصية استعمال

كعقار طبي " منبه" لمرضى الأعصاب . [35] ، [36] .

- * عقار لعلاج الام الصداع عند خلطه مع الأسبيرين (Aspirine) [34].
- * عقار لعلاج الصداع النصفي [34].
- * يستعمل لمعالجة الاختناق أو انقطاع التنفس لدى الرضع [35] ، [36].
- * عقار ضد انخفاض ضغط الدم [36] ، [37] ، [38].
- * عقار لتخلص من البدانة [39] ، [40].
- * لعلاج داء الربو إذا أعطي عن طريق الاستنشاق [35] ، [36].
- * أساسا لعقار جديد لمحاربة داء سرطان الثدي وسرطان الدم [41] ، [42] ، [43] ، [44].
- * يستعمل الكافيين أيضا لعلاج أمراض القلب ، الالتهابات [45] ، [46] ، [47].
- * يساعد على التخلص من مرض البر اكسون ، [48] ، [49].
- * يستعمل الكافيين كمادة للقضاء على عصى الكلى [47].

إلا أن الكافيين كغيره من المركبات الكيميائية لا يخلو من التأثيرات الجانبية و صفة التسمم حيث حدد علماء الصحة أن 7-14 فنجال من الشاي يوميا يؤدي إلى صداع واضطراب ضربات القلب أما الكمية اللازمة لقتل إنسان تقدر بـ 155 فنجال في اليوم أي ما يعادل 10 غ

ب. المجال الزراعي:

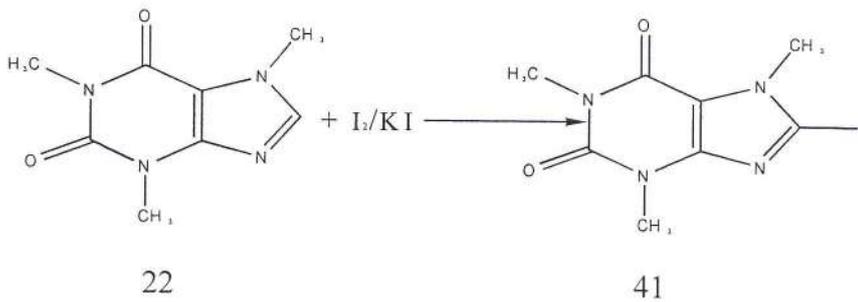
- * استعمل الكافيين كمبيد لبعض الحشرات مثل حشرة البزاقة «نوع من الرخويات» و مبيد لذبابة (Drosophila) [50] ، [51].
- * استعمل الكافيين أيضا كمبيد للفئران [51].
- * قام مركز أبحاث وزارة الزراعة الأميركية بدراسة مدى تأثير الكافيين على الحشرات. وكانت نتيجة الدراسات على النحو التالي . أن محلولاً يحتوي على ما بين واحد واثنين في المائة من مادة الكافيين يقتل الديدان والقواقع الصغيرة وأن محلولاً يحتوي على 0.01 في المائة

II - 2 - 6 - 2. مركبات الهالو كافيين :1. 8 - iodocaffeine يودوا كافيين

- سنة 1892 Gomberg حضر (8-iodocaffeine) (41) أول مرة بمعالجة الكافيين

باليود

في الكلوروفورم [56]. حسب المخطط التالي :

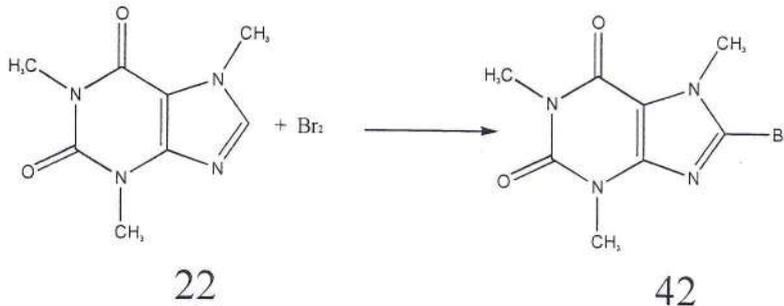
المخطط رقم II - 13 .

تحضير 8 - يودو كافيين

2. 8-Bromo caféine : برومو كافيين

سنة 1867 Fischer و Liebig قاما بتحضير (8-Bromo caféine) (42)

بتفاعل الكافيين مع البرومور Br₂ [56]. حسب المخطط التالي :

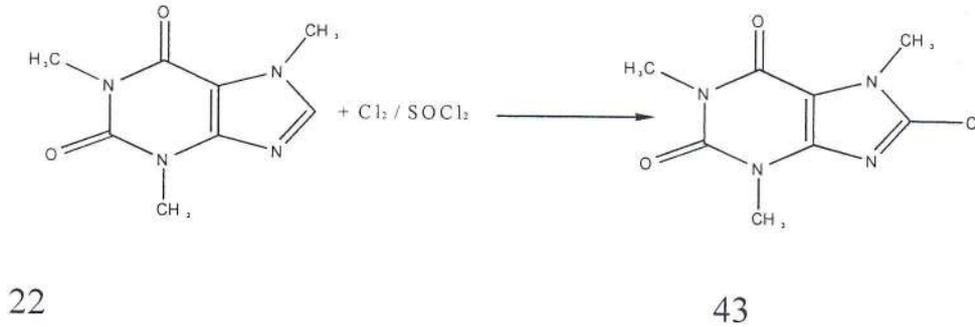
المخطط رقم II - 14 .

تحضير 8 - برومو كافيين

3 . 8-كلورو كافيين (8-chloro caffeine):

سنة 1850 م حضر Rechertt كافيين (8-chloro caffeine) (43) بتفاعل الكافيين مع

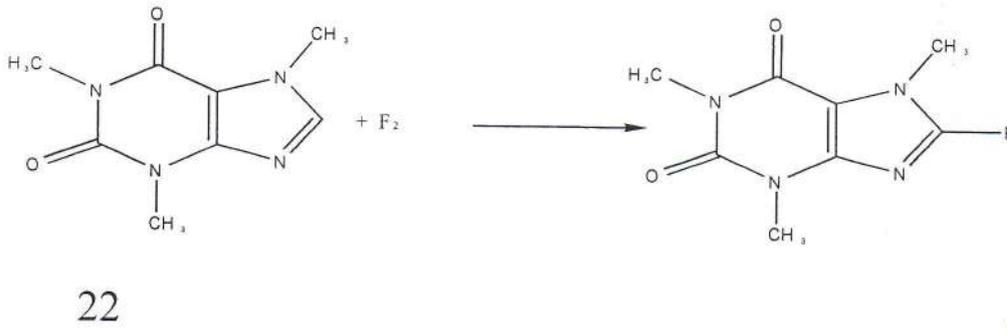
الكلور Cl_2 [57]. حسب المخطط التالي .

**المخطط رقم II - 15 .**

تحضير 8 - كلورو كافيين

4 . 8- فلورو كافيين (8- fluoro caffeine):

سنة 1982 Wroczynski و Skulski قاما بتحضير (8- fluoro caffeine) (44) بتفاعل الكافيين مع الفلور F_2 [57] ، [58] .

**المخطط رقم II - 16 .**

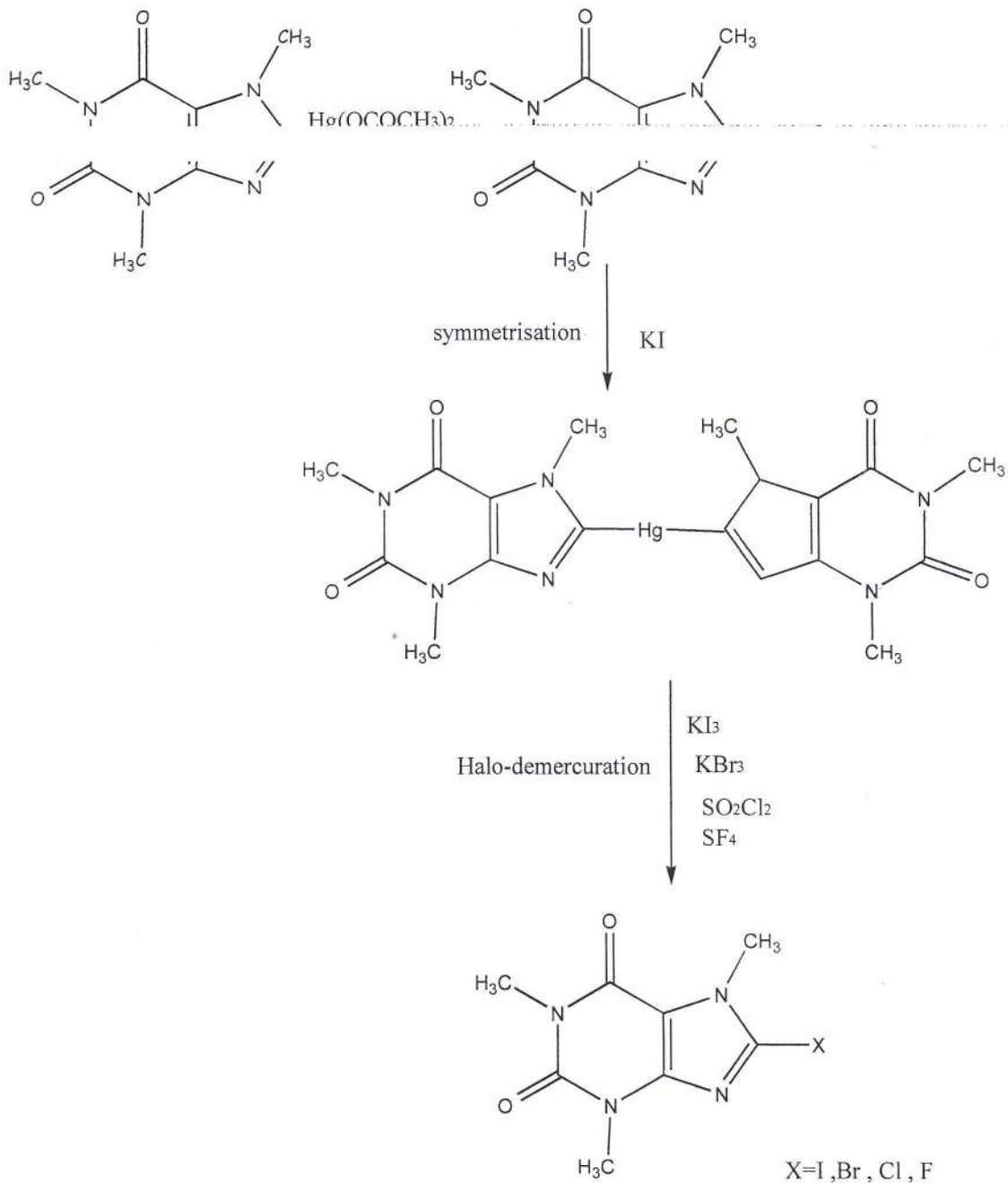
تحضير 8- فلورو كافيين

حديثا استعملت طريقة جديدة لتحضير مشتقات الكافيين الهالوجينية انطلاقا من

Halo - demercuration (8-acetoxymercuriocaffeine) و تدعى هذه الطريقة بـ

[59] ، [58] ، [57] réactions of caféine Mercurials .

ويكون ذلك حسب المخطط التالي.



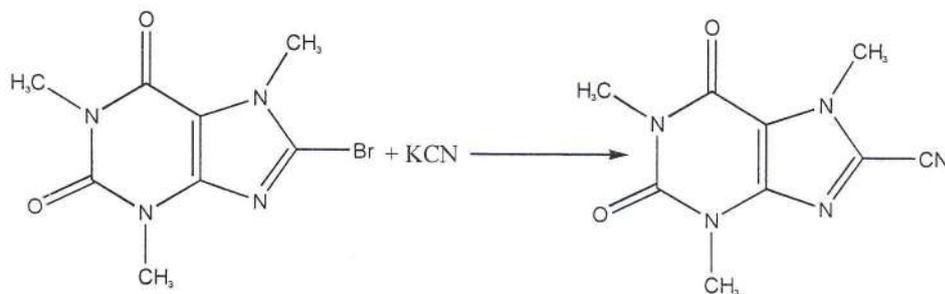
المخطط رقم II - 17 .

Halo - demercuration réactions of caféine Mercurials

II - 2 - 6 - 3 - 8 - سيانو كافيين 8-cyano cafféine :

- سنة 1895 قام Gomberg بتحضير (8-cyano cafféine) (45) بتفاعل برومو كافيين

مع KCN [57] ، [59] .



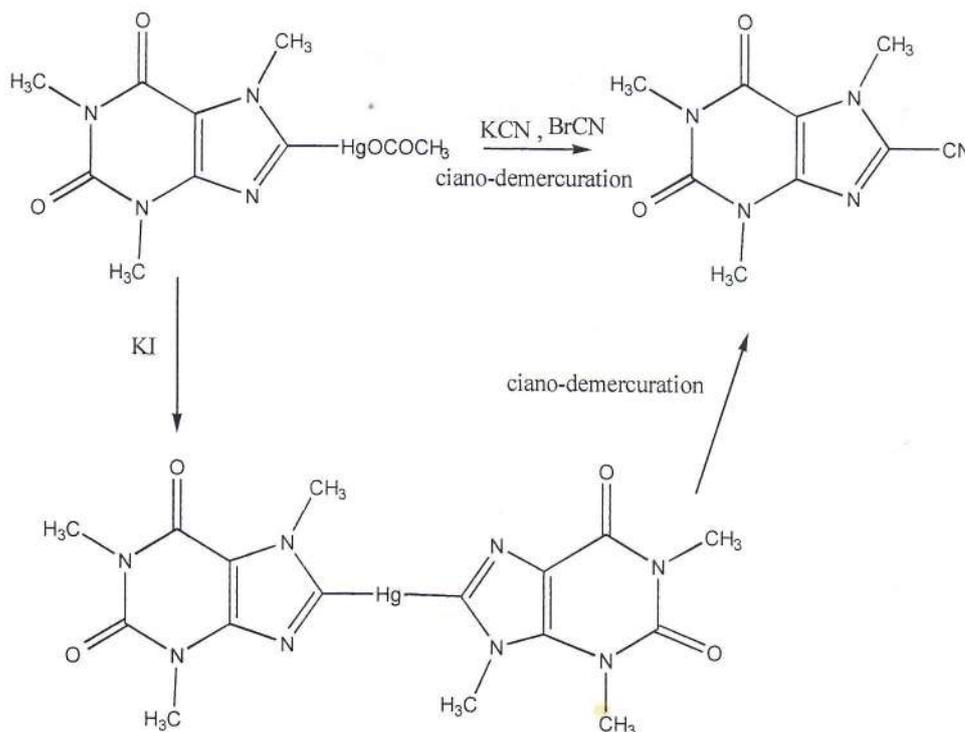
42

45

المخطط رقم II - 18 تحضير 8 - سيانو كافيين

سنة 1982 م قاما Wroczynski و Skulski بتحضير (8-ciano cafféine) بطريقة

Cyano- demercuration réaction حسب المخطط التالي. [57] ، [59] .



المخطط رقم II - 19 .

cyano- demercuration réactions of cafféine Mercurials

II - 2 - 6 - 4 - 8 - هيدروكسي كافيين 8-hydroxycafféine :

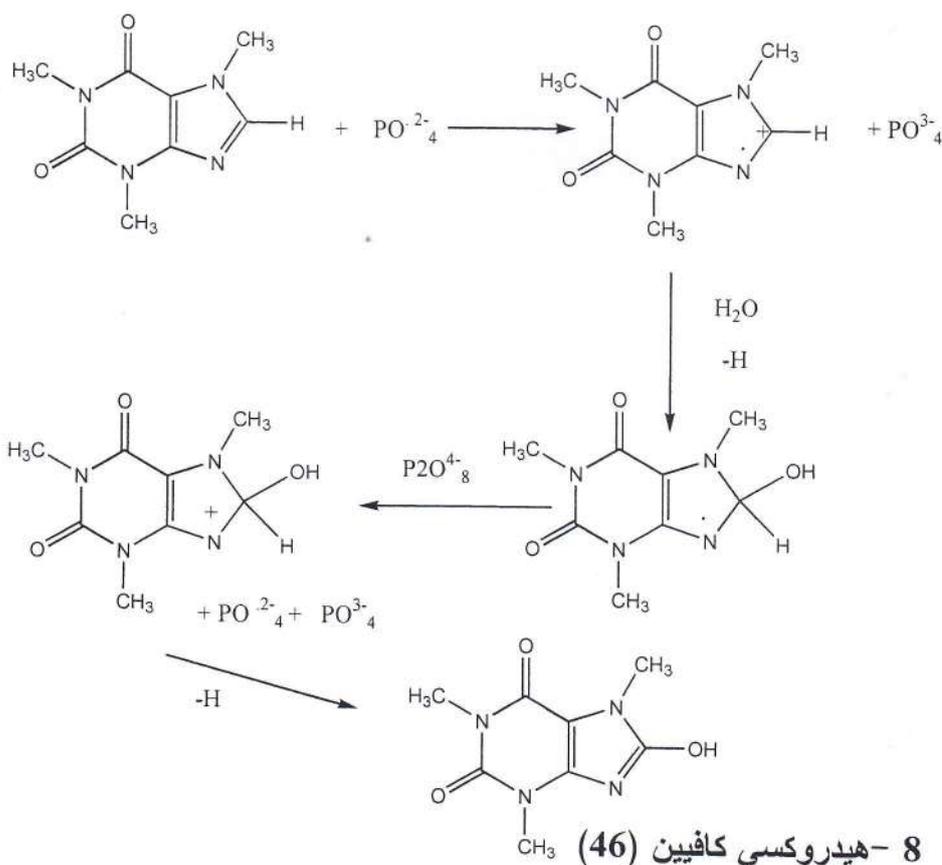
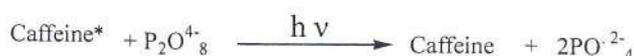
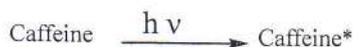
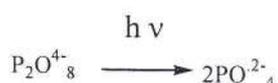
يعرف أيضا ب (1,3,7 thrimethylacide urique) , (8-oxocaféine) (46).

يحضر هذا المركب عن طريق أكسدة الكافيين فوتوكيميائيا photooxidation .

- سنة 1992 قاما MUNDRA ADINARAYANA MARAM RAVI KUMAR

بتحضير (46) باستعمال (PDP) peroxydiphosphate [21] .

يكون التفاعل حسب المخطط التالي :

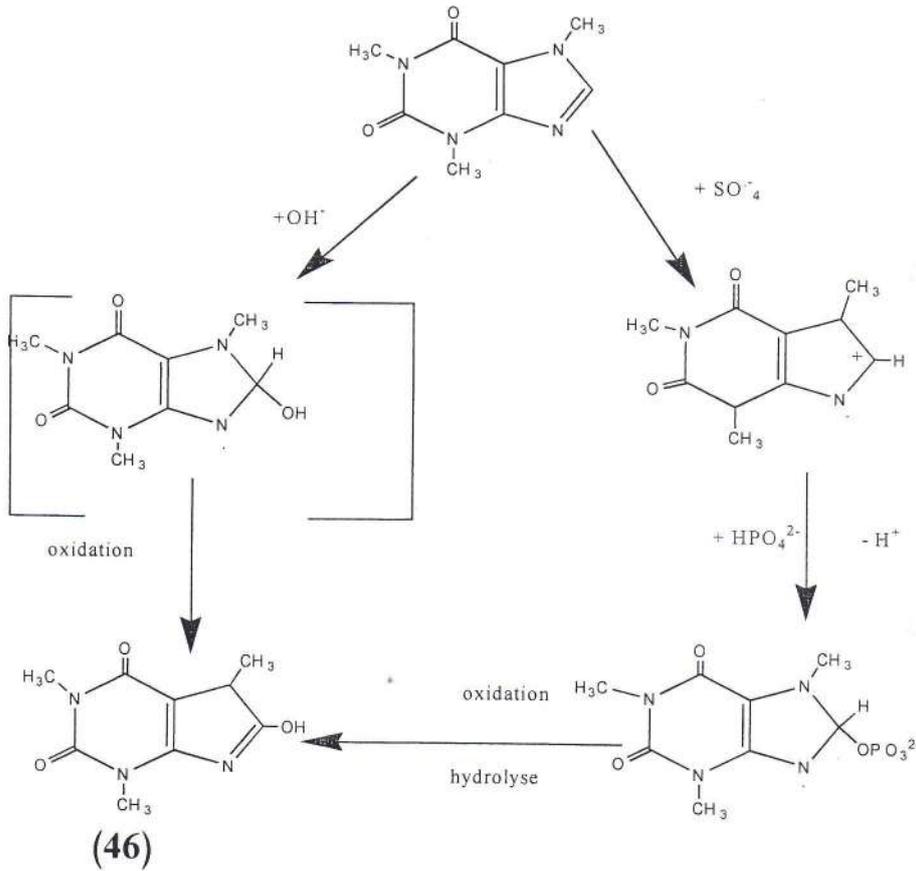


مخطط رقم II - 20 . تحضير 8-هيدروكسي كافيين ب(PDP)

- سنة 1996 م قام p-Telo, Abel- J بتحضير المركب (46) يكون باستعمال جذر

الهيدروكسيد و كبريتات persulfate [22]

ويكون التفاعل حسب المخطط التالي :



8- هيدروكسي كافيين

المخطط رقم II - 21 .

تحضير 8- هيدروكسي كافيين بجذر الهيدروكسيد و كبريتات persulfate

الفصل الثالث III :

إرجاع اليمينات و الأמידات

مقدمة :

تفاعلات الإرجاع من أشهر الطرق الكيميائية التي يتم من خلالها تخليق مركبات من أخرى ، يستعمل فيها عوامل خاصة تعرف بجواهر الاختزال مثل متركبات هيدريدات الفلزات . و المركبات الحلقية غير المتجانسة الأزوتية التي تتواجد بها وظائف كيميائية (الایمینیة ، الأمیدیة) تعتبر كمواد أولية لتحضير مركبات أخرى .

III - 1 . مفهوم الاختزال (الإرجاع) réduction :

تفاعلات الاختزال شائعة الحدوث في الكيمياء العضوية خصوصا في المركبات المحتوية على روابط مزدوجة أو ثلاثية سواء متجانسة مثل الالكينات أو مثل الالكينات أو غير متجانسة مثل الألدیهيدات و الكیتونات ، (الأحماض الكربوكسيلية و مشتقاتها) . و يعرف تفاعل الاختزال بأنه التفاعل الذي يتم فيه إضافة هيدروجين إلى المركب العضوي و الناتج في هذه الحالة هو ناتج اختزال ، و هذا الأخير يتوقف على طبيعة المركب الذي بدأ به التفاعل ، كما يتوقف على الجوهر المستخدم في إحداث الاختزال [60] ، [61] .

فمثلا :

- الألدیهيدات و الكیتونات تعطي كحولات .
- الأمیدات و الایمینیات تعطي الأمینیات .

III - 2 متركبات هيدريدات الفلزات :

هناك مجموعة هامة جدا من الكواشف المفيدة متاحة للكيميائيين ، تعرف باسم متركبات هيدريدات الفلزات و هذه الكواشف و لو أنها باهضة الثمن إلا أنها مصدر فعال للهيدريدات و من أهمها هيدريدات ليثيوم ألومنيوم ، بوروهيدريد الصوديوم ، و هما يستخدمان بصورة عامة في التخليق العضوي [61] ، [62] ، [63] .

III - 2 - 1 . لیثیوم أومنیوم هیدرید :

عامل قوي قادر على اختزال العديد من المجموعات الوظيفية المختلفة و تجري التفاعلات عادة في مذيب إثري مثل ثنائي اثيل ایثر، رباعي هیدرو فوران . [61] ، [63] .
ومن الضروري أن یجرى التفاعل في ظروف لامائية لأن هیدرید لیثیوم أومنیوم يتفاعل بشدة مع الماء لتطلق الهیدروجين و تكفي حرارة التفاعل لاشتعال غاز الهیدروجين المتصاعد [60] ، [64]

III - 2 - 2 . بوروهیدرید الصودیوم :

هو عامل اقل فعالية و أكثر انتقائية من هیدرید لیثیوم أومنیوم وله القدرة على اختزال العديد من الوظائف مثل إيمين ، الألدیهید ، الكیتون . [60] ، [64] .

كما یمكن تحضير مركبات أخرى انطلاقا من بوروهیدرید الصودیوم ، مثل

$NaBH(OCOR)_3$ triacyloxyborohydride ، $NaBH_3OCOR$ acyloxybohydride

$NaBH_3CN$ cyanobohydride [64] ، [65] .

III - 3 . الایمینات :

الایمینات مركبات آزوتية تنتج من تفاعل الأمینات الأولية مع الألدیهيدات و الكیتونات ، و تكوين الإيمين شبيه من الناحية الميكانيكية بتفاعل آدول أي إضافة يتلوها انتزاع الماء [61] .

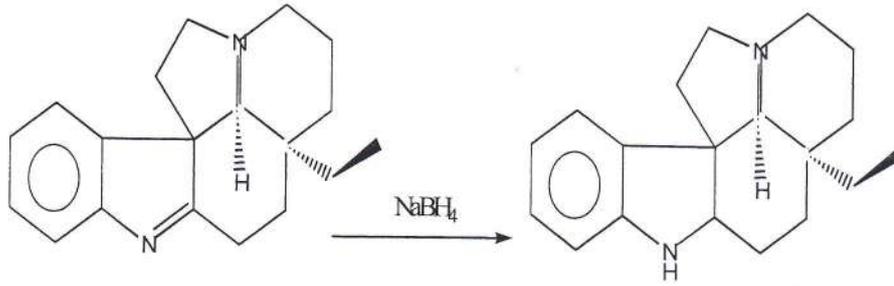
III - 3 - 1 . إرجاع الایمینات بهیدریدات بوروهیدرید الصودیوم :

استعملت طريقة إرجاع الایمینات سواء الالیفاتية أو الحلقية بهیدریدات بوروهیدرید الصودیوم كوسيلة لتحضير مركبات من أخرى ، و ذلك لسهولة حدوث هذا التفاعل [62] ، [66] .

مثلا : B , Abdelhamid , B .Fatiha . استعمال هذه الطريقة لتحضير

16 - Oxoaspidospermidine من 16- Hydroxundolenine [66] ، [67] . حسب

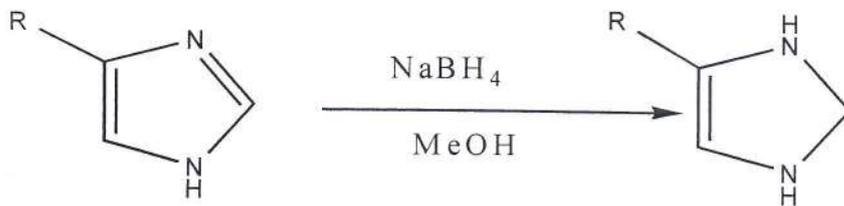
المخطط التالي :



المخطط رقم III - 1 .

إرجاع 16 - هيدروكسي أندولين بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم

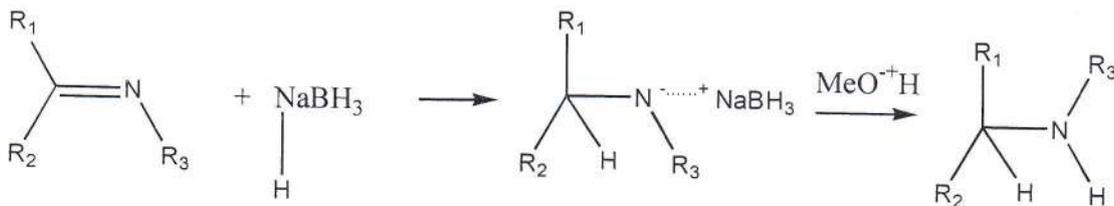
أرجع الاليميدازول بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم في الايثانول [68] حسب المخطط التالي :



المخطط رقم III - 2 .

إرجاع الاليميدازول بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم

أما آلية التفاعل فتتم على النحو التالي [60] ، [61] :

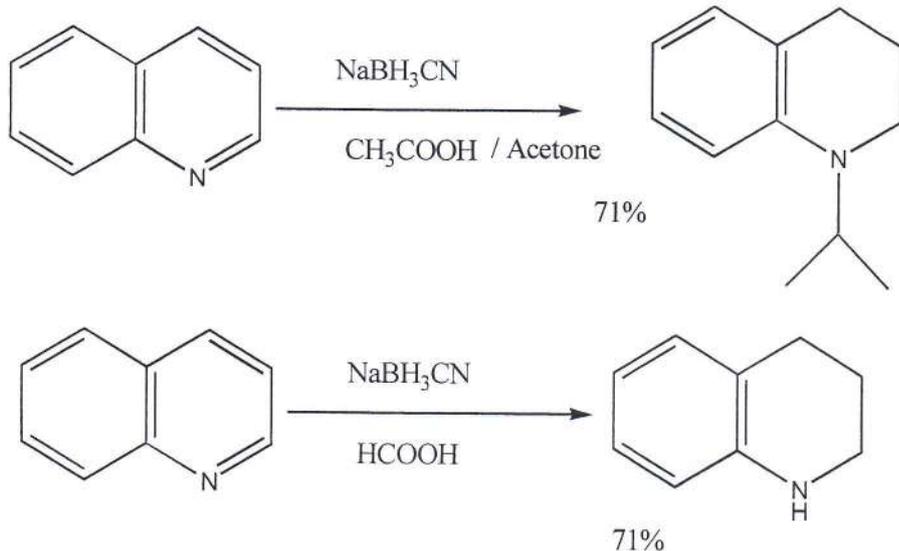


المخطط رقم III - 3 .

آلية إرجاع الاليمينات بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم .

وترجع اليمينات أيضا بسيانوبور هيدريد الصوديوم NaBH_3CN حيث يعتبر عامل اختزال أقوى من NaBH_4 و يحضر بثلاث طرق من بينها طريقة استعمال بوروهيدريد الصوديوم في رباعي هيدرو فوران مع سيانيد الهيدروجين [69] ، [71] ، [72] .

هذه الطريقة استعملها أيضا Gordon W . Gribble [71] لإرجاع الكوينولين ، في وجود حمض الخل و حمض النمل . حسب المخطط التالي :



المخطط رقم III - 6 . : إرجاع الكوينولين بهيدريدات سيانو بوروهيدريد الصوديوم

- أما الآلية فهي مشابهة لآلية الإرجاع بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم [69] .

III - 3 - 2 . إرجاع اليمينات بهيدريدات ليثيوم ألومنيوم هيدريد :

اليمينات ترجع عادة بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم إلا أنها ترجع بهيدريدات ليثيوم ألومنيوم في حالة ما كان المركب متعدد الوظائف المرغوب في إرجاعها . و آلية التفاعل مشابهة

أيضا للآلية السابقة [73] ، [74] ، [75] .

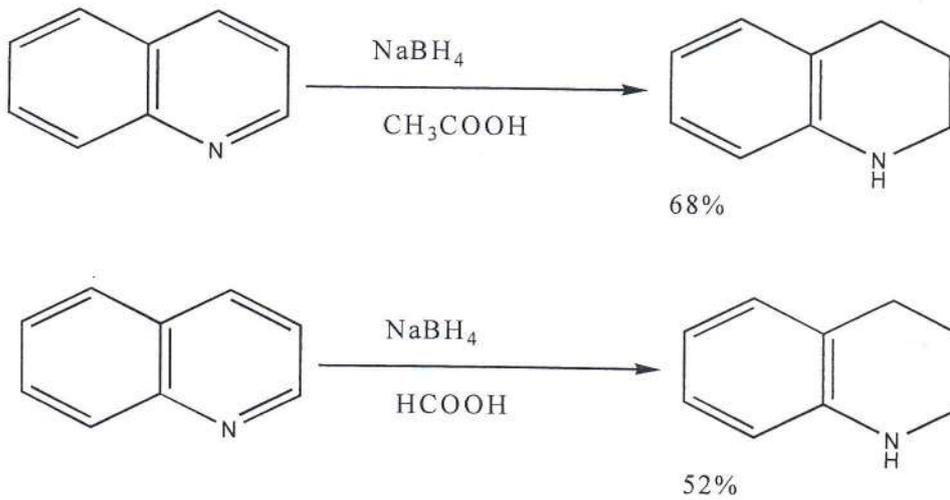
و ترجع الایمینات بهیدریدات بوروهیدرید الصودیوم فی وجود حمض کربوکسیلی و هی طريقة استعمالها Gordon W . Gribble من أجل تحضير مرکبات طبیعیة حلقیة غیر متجانسة أو تحضير مرکبات جدیدة من مرکبات طبیعیة حیث یتم بهذه الطريقة إرجاع الرابطة الثنائیة کربون - کربون أيضا . مثل إرجاعه للکوینولین . quinoline [69] ، [70] .
فی حمض الخل و فی حمض النمل .

حیث یتم تشکیل عامل اختزال جدید أكثر نکلیوفیلیة من بوروهیدرید الصودیوم [69] ، [70] .



المخطط رقم III - 4 .

تحضير (اسیلکسی acyloxy) بوروهیدرید الصودیوم



المخطط رقم III - 5 . إرجاع الكوینولین بهیدریدات بوروهیدرید الصودیوم فی حمض

کربوکسیلی

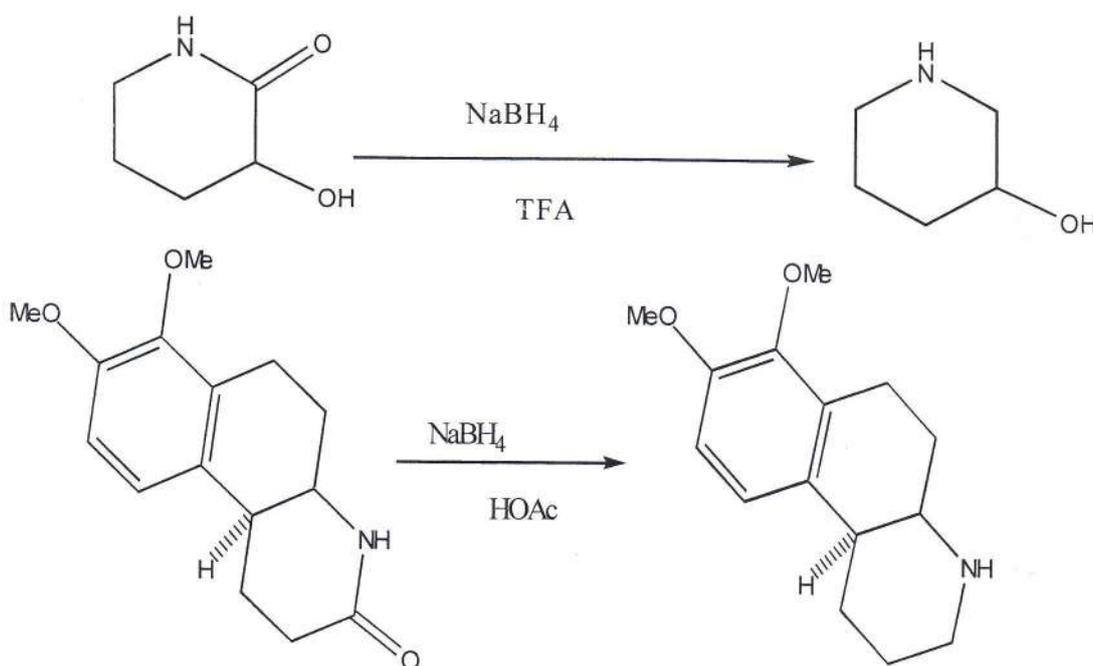
III - 4 . الأميدات :

الأميدات من مشتقات الأحماض الكربوكسيلية يتم تحضيرها من تفاعلات هاليدات الأسيل مع الأمونيا أو الأيمينات . أما الأميدات الحلقية (اللاكتامات) خماسية الحلقة أو السداسية يسهل تكوينها من مركبات تحتوي على مجموعة أمينو و مجموعة كربوكسيلات [62]. أهم تفاعلات الأميدات خاصة الحلقية هي تفاعلات الإرجاع ، أشهرها طرق الإرجاع بالهيدريدات [60] ،

[61]

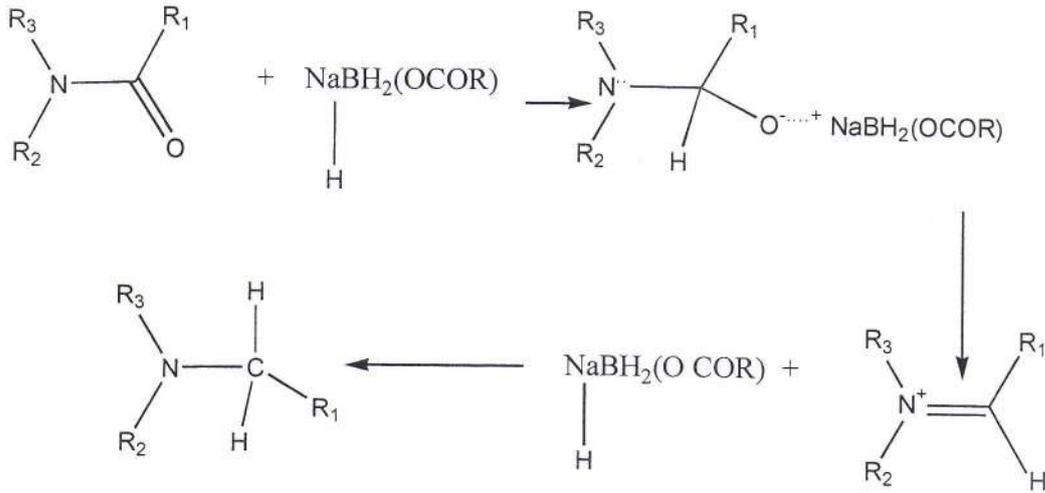
III - 4 - 1 . إرجاع الأميدات بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم :

الأميدات بنوعها لا ترجع بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم إلا في وجود حمض كربوكسيلي حيث يتشكل عامل اختزال جديد ، ناتج من تفاعل بوروهيدريد الصوديوم مع الحمض الكربوكسيلي . و قد استعمل هذه الطريقة كل من A. Padwa , S.R.Harring سنة 1998 م لإرجاع مجموعة كبيرة من اللاكتامات من بينها [76] ، [77] ، [78] . حسب المخطط التالي .

**المخطط رقم III - 7 .**

إرجاع بعض اللاكتامات بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم في حمض كربوكسيلتي

وآلية التفاعل تكون على المخطط التالي [72] . :



المخطط رقم III - 8 .

آلية إرجاع الأميد بهيدريدات (اسيلكسي acyloxy) بوروهيدريد الصوديوم

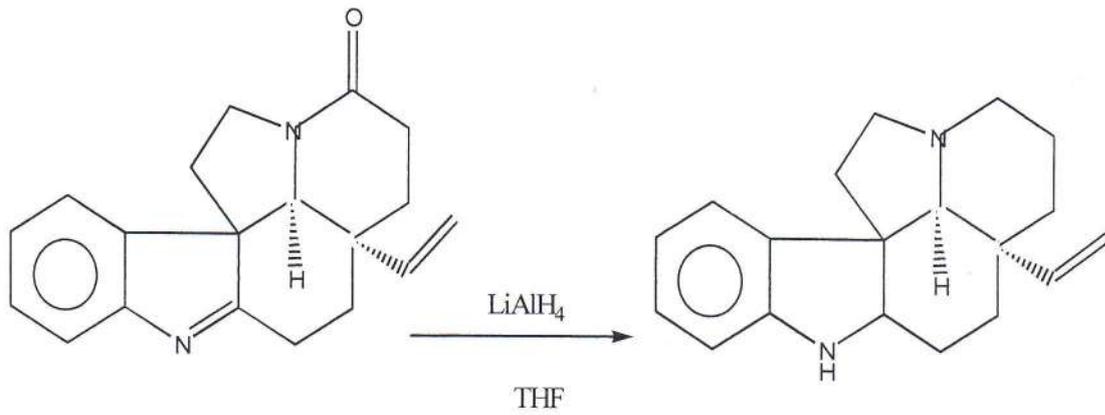
III - 3 - 2 . إرجاع الأميدات بهيدريدات ألنيوم ليثيوم هيدريد :

اشهر الطرق الخاصة بإرجاع الوظيفة الأميدية سواء كانت أليفاتية أو حلقية.

جرت العادة أن يتم هذا التفاعل تحت النتروجين أو الأرجون Argon في وسط اثيري.

D . M . R . Ouahrani سنة 1988 استعمل هذه الطريقة لإرجاع كل من الوظيفة الاليمينية و

الأميدية لتحضير (indoline) من (Indolénines) [73] . حسب المخطط التالي :

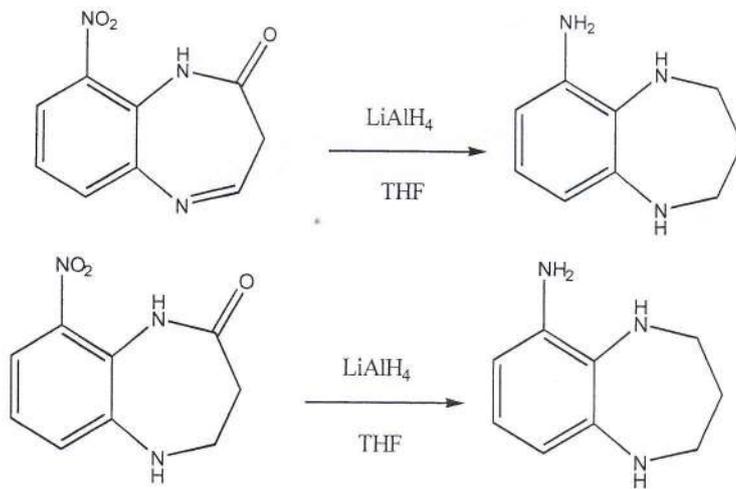


المخطط رقم III - 9 .

إرجاع الأدولين بليثيوم ألنيوم هيدريد

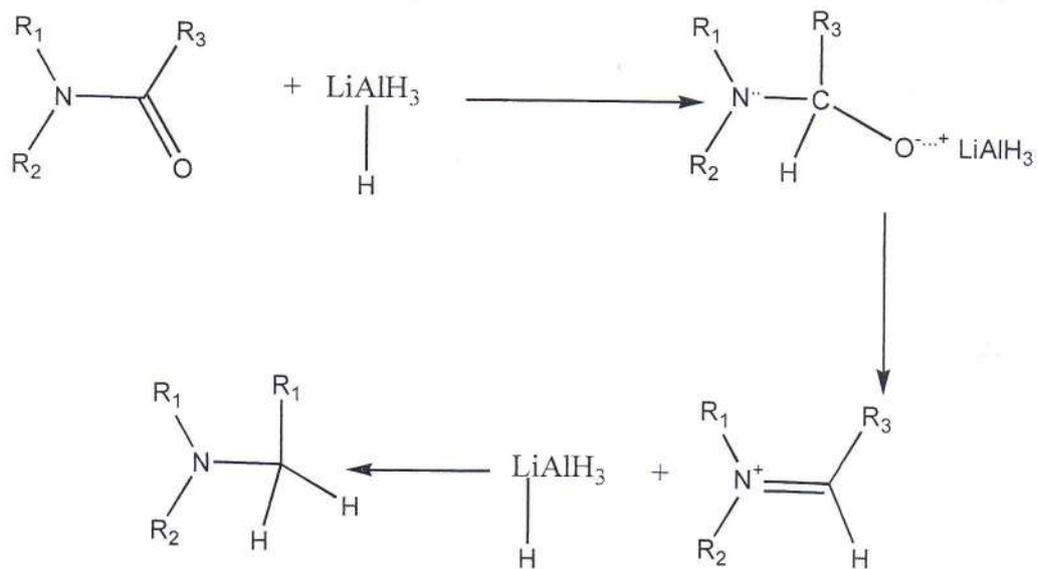
لكن قام Dr.Habil. Benedikta سنة 2000 م بإرجاع الوظيفة الأميدية و الأيمينية و

النتر و دون استعمال النتروجين أو الأرجو [75] . حسب المخطط التالي :



المخطط رقم III - 11 . إرجاع 9-nitrodihydro(or tetrahydro)-1,5-benzodiazepinone

و آلية إرجاع الوظيفة الأميدية تكون على النحو التالي [60]، [61]، [74] :



المخطط III - 12 .

آلية إرجاع الأميد بهيدريدات ليثيوم ألومنيوم هيدريد

الفصل الرابع IV :
عموميات حول البكتيريا

مقدمة :

الميكروبات هي كائنات حية دقيقة (فطريات، بكتيريا، فيروسات ...) تتواجد في كل مكان من المحيط الذي نعيش فيه ، منها الفطريات التي تتجمع في عدة أجناس و أنواع ، فالبعض منها نافع في الصناعة الصيدلانية و في الصناعة الزراعية الغذائية و البعض الآخر ضار يسبب أتلاف المواد الغذائية وتلوث الجو ، مما ينتج عنه عدة أمراض في العالم الحيواني (الحساسية ، التسمم ...) و في العلم النباتي أيضا (مرض العفونة) ، و من أنواع الفطريات على سبيل المثال نذكر : (*saccharomyces cereviceae candida albicans*) و من الأجناس الميكروبية الأكثر انتشارا أيضا نذكر البكتيريا [79] .

IV - 1 . مفهوم البكتيريا :

البكتيريا كائنات دقيقة لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة وهي موجودة في كل مكان حولنا في الماء والطعام والتربة والهواء لاحظ الرقم (1) [80] ، [81]

IV - 1 - 1 . خصائص البكتيريا :

شكل الخلية البكتيرية ، كروي ، عصوي أو حلزوني

- يقدر طولها ب 1 إلى 2 μm و الحد الأقصى يصل إلى بضع عشرات من الميكرونات

[81] .

تتميز ببساطة التركيب :

إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموسوماً حلقياً واحد

DNA ولا يحتوي على بروتين الهستون وقد يحتوي على واحد أو أكثر من جزيئات DNA

على شكل دوائر صغيرة تسمى البلازميدات وتتكاثر بصورة مستقلة عن الكروموسوم ،

والرايبوسومات وبعض الأجسام التخزينية لاحظ الشكل رقم (1) ، [81] .

- غلاف الخلية البكتيرية يكون عادة سميك نوعا ما و بفضلُه تحافظ الخلية على شكلها الثابت ويحميها من أي هجوم من الأجسام الخارجية [81] . وفي بعض الأنواع تحاط الخلية بمحفظة خارجية تدعى capsule حول غلاف الخلية .

- إن صغر الخلايا البكتيرية يجعل من الصعب دراستها ، و لهذا فإن معظم الأبحاث تجري عن طريق استعمال المجهر الإلكتروني، أو الضوئي .

- إن دورة حياة الخلية البكتيرية تنحصر في استمرارية انقسامها بواسطة الانتشار الثنائي (Binary fission) إذ تتكاثر معظم الأجناس بهذه الطريقة .

- تعتبر درجات الحرارة التي تتراوح ما بين 37م - 45م درجات حرارة ملائمة لتكاثر البكتيريا ومن المعروف أن البكتيريا الواحدة تنقسم كل 15 دقيقة إلى اثنتين وتصل إلى ملايين الخلايا خلال ساعات قليلة [80] ، [81] .

IV-1-2 . تصنيف البكتيريا :

يصنف العلماء البكتيريا عدة تصنيفات من بينها

IV-1-2-1 . تصنيف البكتيريا حسب الشكل :

تأخذ البكتيريا أحد الأشكال الثلاثة ، شكل عصي و تسمى عصيات (bacille) ، شكل

كروي و تسمى البكتيريا الكروية (cocci) شكل لولبي وتدعى البكتيريا الحلزونية (spirille)

[80] ، [83] .

IV - 1 - 2 - 1 . بكتيريا هوائية ولاهوائية :

صنف العلماء البكتيريا إلى:

هوائية و هي بكتيريا تحتاج إلى أوكسجين و أخرى لا تحتاج إلى أوكسجين وتدعى بكتيريا لا هوائية و هذه الأخيرة تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية [83] .

IV - 2 - 1 - 2 . بكتيريا ذاتية التغذية و عضوية التغذية :

بكتيريا ذاتية التغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون من اجل النمو، التكاثر ... الخ من ثاني أكسيد الكربون .

بكتيريا عضوية التغذية : تتحصل على الكربون من تحليل المواد المغذية مثل السكر [83] .

IV - 2 - 1 - 3 . بكتيريا الغرام الإيجابي و الغرام السلبي :

نظام آخر لتصنيف البكتيريا و ذلك باستعمال الاختلافات الموجودة في تركيب جدران الخلية و يوضح هذا الاختلاف حسب التقنية المسماة (grams stain) نسبة على العالم البلجيكي H , J GRAM C , J المخترعة سنة 1884 و التي تعرف بها البكتيريا ب:

بكتيريا (gram positive) ، بكتيريا (gram négative) .

عند تلوين بكتيريا (gram positive) تمتص اللون وتظهر أرجوانية أما البكتيريا (gram négative) تفر صبغ و تظهر حمراء . جدران خلية البكتيريا (Gram positive) اسمك

من جدران خلية البكتيريا Gram négative [84] .

إن معرفة إذا ما كانت البكتيريا (gram positive) أو (gram négative) هي المسببة

للمرض يتيح للطبيب معرفة المضاد الحيوي المناسب .

كما يمكن تصنيف البكتيريا إلى بكتيريا ضارة بصحة الإنسان و أخرى نافعة.

IV-1-2-4 . البكتيريا النافعة :

ولقد ارتبط اسم البكتيريا كثيراً بالأمراض التي تسببها للإنسان ولكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دوراً هاماً في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه العادمة والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان [85]. كما تعمل البكتيريا في جسم الإنسان على حمايته من الكائنات الحية الأخرى المسببة للأمراض.

IV-1-2-4 . البكتيريا الضارة (المسببة للأمراض) :

في معظم حالات الأمراض البكتيرية الدخيلة على الجسم هي المسؤولة على ذلك وتعرف بالبكتيريا (Pathogène) ، وهي تنتقل عن طريق العدوى من الأشخاص المرضى ، الحيوانات و تلوث الماء الغذاء . كما يمكن حدوث مرض بكتيري بعد عملية جراحية ، حوادث مؤدية إلى ضعف جهاز المناعة [85] .

من بين البكتيريا المسببة للأمراض ما يلي [85]:

1- ستافيلوكوكوز أروز (St. Aureus) : Staphylococcus Aureus

هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) أو الكوك (coque) تنتمي إلى عائلة (Micoccacea) ، تكون في شكل أكوام أو عناقيد ، عديمة الحركة تتواجد في الطبيعة (المرء ، الهواء، التربة) و عند الإنسان في الأمعاء ، في الجهاز التناسلي و في الجلد ، تتواجد أيضا على الوجه ، الأنف و بصفة خاصة في مناطق الأكثر لمسا باليد و في الغدد العرقية و الدهنية ، هي بكتيريا لا هوائية ذات لون أصفر أو ذهبي ، مصدر هذه البكتيريا هو الزكام ، التعفن التهاب

البلعوم ، الأمراض الجلدية المعدية و في حب الشباب هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد (التقيح) لهذا أطلق عليها اسم بكتيريا الصديد و تسبب تسمم الغذاء .

2 - كلبسولا بنوموني : : Klebsiella Pneumonie

هنالك عدة أنواع من هذه الجرثومة ، تتميز بألوان متغيرة مشعة تحت جهاز (UV) و بسبب هذه الميزة يمكن تقسيمها إلى صنفين بكتيريا ملونة ، وبكتيريا غير ملونة ، مصدر هذه البكتيريا هو الماء أو الجهاز الهضمي للإنسان و الحيوان تتواجد في الاستشفائية ، تسبب عدة أمراض و تعمل على الإلتلاف السطحي للأغذية المبردة .

3- اشيرشيا كولي : Escherichia coli E -coli

هذه البكتيريا تنتمي إلى عائلة (Entrebactériaceae) تعيش في الجهاز الهضمي للإنسان و الحيوان و كذلك في التراب الماء و النبات ، تكون في شكل عصيات متحركة ، تسبب عدة أمراض نذكر منها : الإسهال الطفيلي ، أمراض الجهاز البولي ، تسبب تسمم الدم والتهاب السحايا للرضع .

4 - انتروبيكتيريا : Entérobactérie

هي نوع جرثومي لا هوائي ، تعرف ببكتيريا الجهاز الهضمي تعمل على تخمر الجليكوز مع أو بدون إنتاج الغاز ، حساسة للحرارة ، توأجدها على سطح الأطعمة الناضجة أو في محتواها يدل على إلتافها .

إن لعلاج من الأمراض البكتيريا يكون إما عن طريق التطعيم أو استعمال المضادات الحيوية التطعيم : التلقيح (التطعيم) يعرض الإنسان ، الحيوان إلى بكتيريا مسببة للمرض أو سموم بدون تسبب للمرض ، كنتيجة لهذا التعرض الجسم يشكل أجسام مضادة إلى البكتيريا المحددة . هذه الأجسام المضادة تبقى مستعدة لأي هجوم بكتيري في المستقبل .

IV - 2 . المضادات الحيوية :

مواد اكتشفت أصلاً في العضويان الدقيقة ، إلا إنها أصبحت اليوم تنتج تركيبياً على نطاق واسع لاستخدامها في عضويان دقيقة أخرى أو وقف نموها . و يستفاد من هذه المضادات في معالجة الالتهابات الجرثومية أو الفطرية . و كان باستور Pasteur قد لاحظ تأثير هذه المضادات ، في حين اثبت الكسندر فليمينغ Fleming Alexander لأول مرة في عام 1929 أن عفن

(Penicillium notatum) ينتج مادة البنسلين القادرة على القضاء على بعض أنواع الجراثيم . وفي عام 1940 تمكن العالمان فلوري Florey و شاين Chain من صنع كميات كافية من البنسلين . و يعتبر عزل الستربتوميسين من قبل واكسمان Waksman و الغراميسيدين من قبل دوبوس Dubos و عزل السيفالوسبورين ، من أهم الاكتشافات المبكرة للمضادات الحيوية المفيدة في معالجة الالتهاب التي تصيب الإنسان . و هناك العديد من أنواع المضادات الحيوية ، و البحث ما زال مستمرا لاكتشاف المزيد منها . و قد ساهمت المضادات الحيوية شبه التركيبية ، حيث الجزيء الأساسي معدل كيميائياً ، في زيادة مدى المواد الموجودة طبيعياً [86] ، [87] .

IV - 2 - 1 . عمل المضادات الحيوية :

عرف علماء البكتيريا عمل المضاد الحيوي بأنه ذلك التأثير أو الفعالية البيولوجية التي تعمل على قتل أو قتل البكتيريا [88] .
تختلف المضادات الحيوية في طرق عملها و تأثيرها داخل الجسم فهي تنقسم إلى ثلاث طرق تبعاً لكيفية تأثيرها على البكتيريا [86] .

1. مضادات تعمل على الغلاف الخارجي للبكتيريا :

و هي مضادات تؤثر و تعيق عمل الخلية البكتيرية و بالتالي إيقاف عملها و نموها و مثل

ذلك البنسيلين (Pénicilline) ، سيفلوسبورين (Cephalasporine) ، فانكوميسين .

. (Vanacomicine) ، سيكلوسيرين (Ciclosporine) .

2. مضادات تعمل على الغلاف الداخلي للبكتيريا

هناك مضادات حيوية توصف لإذابة الأغشية الخلفية البكتيرية مثل نيساتين (Nistatin)

3. مضادات لإيقاف صناعة البروتين :

هي مضادات حيوية توقف و تعيق ، تؤثر على تخليق و تكوين و تصنيع بروتين الخلية مثل

- سبترين (Septtrin) .

IV - 2 - 3 . أقسام المضادات الحيوية :

كما تنقسم المضادات الحيوية إلى

1 . مضادات حيوية قاتلة للبكتيريا Bactericidal :

مثل أمبسلين ، جنتاميسين ، بنسيلين

2 . مضادات حيوية كابحة البكتيريا Bacteriosttic :

نوع يوقف نمو البكتيريا، مثل : سلفوناميد ، كلورام فينكول

IV - 3 . طريقة تأثير المضاد الحيوي على البكتيريا :

توجد طرق عديدة لمعرفة تأثير المضاد الحيوي على البكتيريا و التي تعرف ب

(antibiogramme) ، أشهرها طريقة الانتشار (Méthodes de diffusion) وهي الطريقة

الأكثر استعمالا في مستشفيات تشخيص الأمراض [87] ، و التي تتم في وسط جيلوز ومن أهم

هذه الأوساط وسط (Mueller Hinton) : وسط حضر سنة 1941 من طرف Mueller Hinton من اجل تحديد مقاومة أو حساسية بعض الأجناس المضرة من المضادات الحيوية [86] ، [88] .

و الهدف من هذا التحليل هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي و تحديد التركيز الأدنى لهذا المضاد المؤثر على البكتيريا و الذي يعرف ب(CMI) ، [87] و يتم التحليل باتباع الخطوات التالية :

1- تحضير الوسط الزراعي :

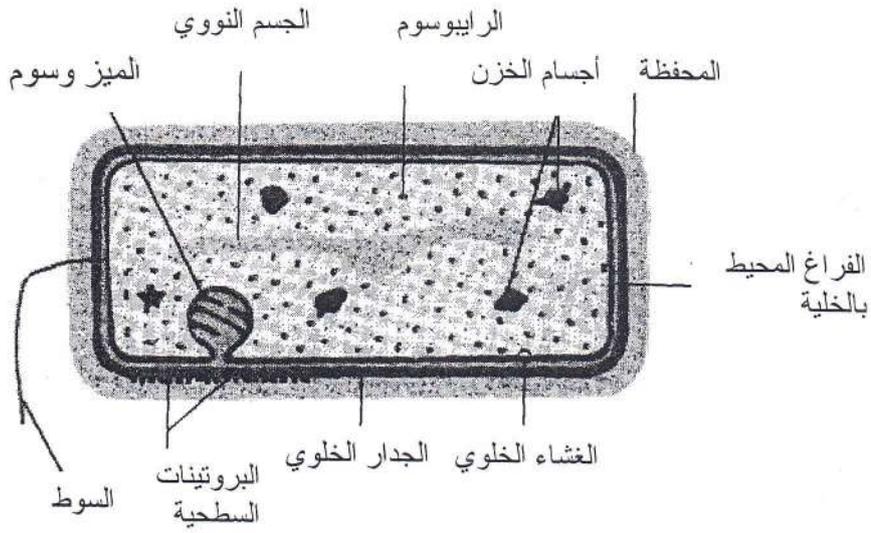
2- تحضير المعلق الميكروبي :

3- الزرع و الحضان :

4 - القياس :

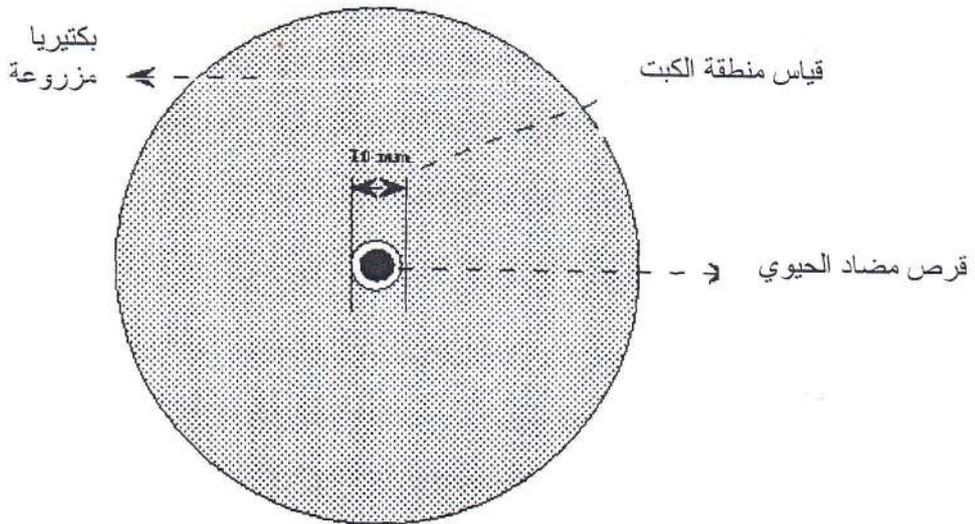
تقدر حساسية البكتيريا بقياس قطر طبقات الكبت للتطور البكتيري حول الأقراص الموضوعة لاحظ الشكل رقم (2) [87] ، [88] .

متفق على أن تكون بالمصطلحات التالية (حساس ، وسطي ، مقاوم) [86] ، [87] .



الشكل رقم (1 - IV)

شكل الخلية البكتيرية

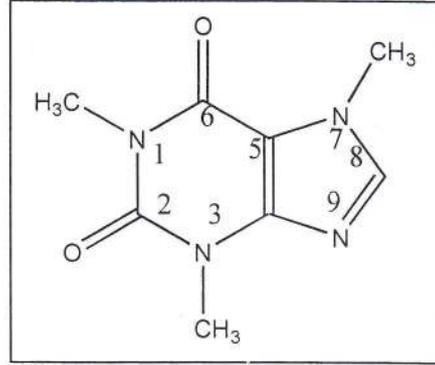


الشكل رقم (3)

الشكل رقم (2 - IV) طريقة قياس قطر الكبت

الفصل الخامس V :
استخلاص الكافيين من أوراق الشاي الأخضر

V - استخلاص الكافيين من الشاي :



نحصل الكافيين من أوراق الشاي الأخضر بطريقة الاستخلاص بالمذيب .

1- V . الشاي :

1-1-1-V . وصف النبات:

نبات الشاي شجيري معمر و قد يصل ارتفاع شجرته إلى 10 أمتار و الجزء المستعمل هو الأوراق الصغيرة دائمة الخضرة التي تجمع ثلاث مرات في العام وورقة الشاي تصل إلى 30سم طولاً كلما كانت الورقة صغيرة زادت جودتها و قلت أليافها وموطن الشاي حالياً هو الصين و الهند و كينيا . [1] ، [2] .

2-1-1-V . التركيب الكيميائي :

تحتوي أوراق الشاي على مواد فعالة مثل الثيوفلين، الفيتامينات ، مواد ملونة و زيوت طيارة المسؤولة عن الرائحة و الطعم ، و أهم مكونات الشاي هو الكافيين بحيث يحتل المرتبة الأولى من حيث النسبة و التي تقدر ب2.5 إلى 4 % [1] ، [16] ، [18] .

3-1-1-V . الاستعمال الطبي :

الشاي منبه للجهاز العصبي و خاصة في حالات الإغماء و يساعد أيضا على التركيز، كما يؤدي إلى زيادة نشاط الكلى فيساعده على التخلص من الماء الزائد و كذلك الأملاح الضارة.

V - 2 . طريقة الاستخلاص:

V - 2 - 1 . المواد المستعملة :

اسم المادة	الكتلة المولية غ/مول	درجة الانصهار/ درجة التبخر C°	النقاوة %	الكثافة
الشاي				
ثنائي كلور المثان	84,93	40	99	1,33
الهكسان	86,18	70	98	0,672
الطوليين	92,14	44	92,14	0,865

الجدول رقم (V - 1)

V - 2 - 2 . طريقه العمل : لاحظ المحطظ رقم (V - 1)

نضع 250 غ من الشاي الأخضر في حوالة (2 ل) و نضيف 125 غ من كربونات

الصوديوم و 1,5 ل من الماء المقطر و نسخن الخليط مع التحريك باستعمال جهاز الرج

المغناطيسي و مكثف لمدة ساعتين .

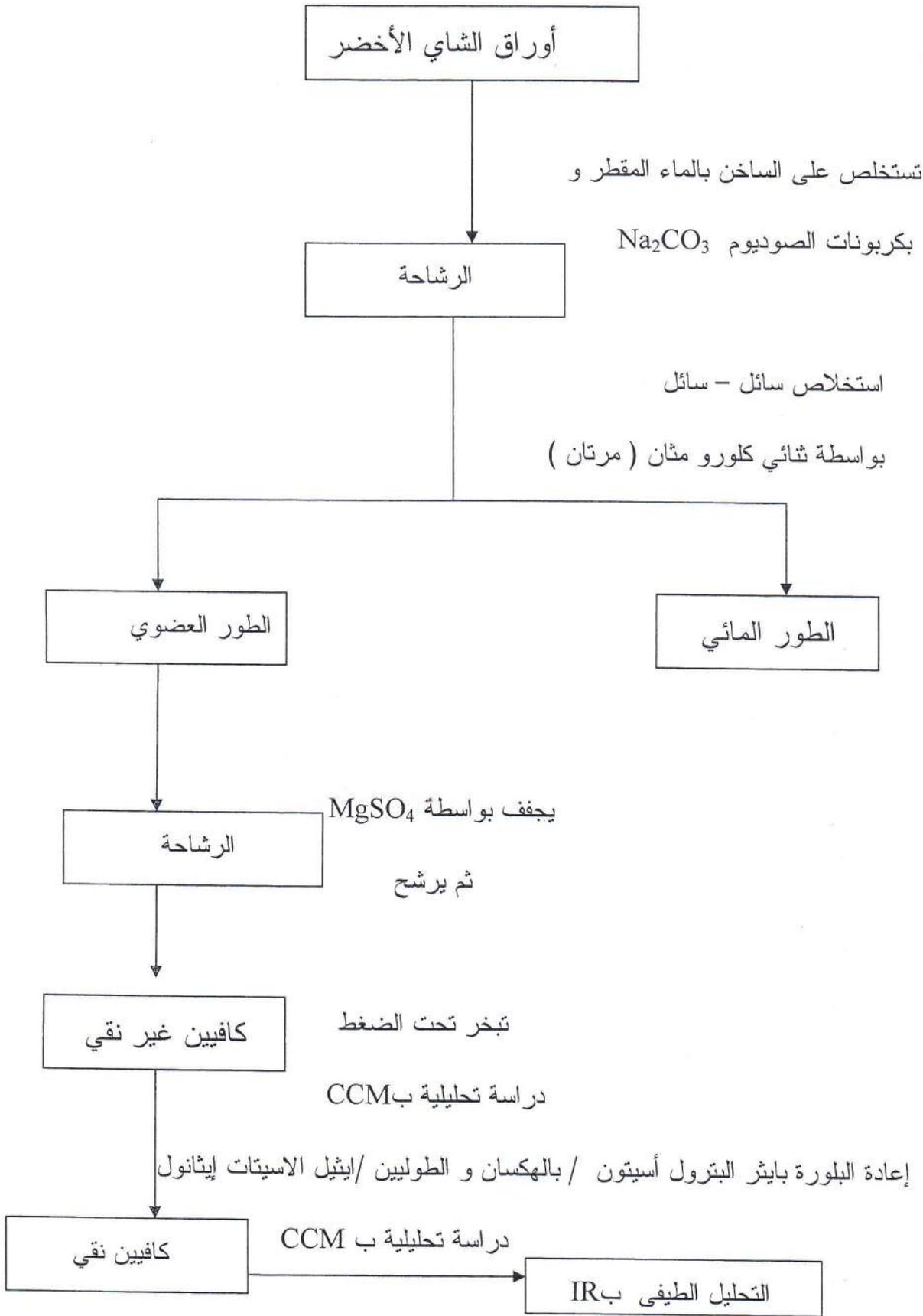
بعد تبريد الخليط نقوم بالترشيح ثم الاستخلاص بقمع الفصل (2 ل) باستعمال المذيب العضوي

(ثنائي كلور المثان) مرتان (160 مل) . الكافيين ينتقل إلى الطور العضوي ، نجفف

هذا الأخير بكبريتات المغنيزيوم ($MgSO_4$) ، نبخر المذيب نتحصل على راسب أبيض مصفر

قليل . نأخذ كمية من هذا الراسب و نذيبها في خليط من مثنول كلوروفورم (60+40) من أجل

دراستها كروماتوغرافيا ب CCM .



المخطط رقم (1- V): استخلاص الكافيين من أوراق الشاي الأخضر بطريقة المذيب

V - فصل وتنقية الكافيين :

V - 3 - 1 . فصل الكافيين بكروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة :

V - 3 - 1 - 1 . طريقة الفصل :

تعد كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة من اسهل ، و ابسط و أسرع الطرق الكروماتوغرافية المستعملة في فصل المركبات الطبيعية .

الدراسة التحليلية لمشتقات مثيل الزانثين بواسطة CCM تتطلب طور ثابت مثل السليكاجال ، أما الطور المتحرك هو عبارة عن مذيب كحولي (يستعمل الكحول الإيثيلي 99%) زائد مذيب عديم القطبية (كلوروفورم 1%) [4] .

يتم فصل هذه المركبات وفق ظاهرة الادمصاص و الذوبانية التي هي محل تنافس بين الطور الثابت و الطور المتحرك التي تتحكم فيها عدة عوامل منها عامل القطبية ، و من العوامل المحددة لعملية الفصل نذكر ثابت الاحتجاز R_f الذي تحسب قيمته وفق العلاقة التالية : [89] .

$$R_f = \frac{\text{المسافة المقطوعة من طرف المركب انطلاقا من نقطة البداية}}{\text{المسافة المقطوعة من طرف المذيب انطلاقا من نقطة البداية}}$$

V - 3 - 1 - 2 - النتائج :

النتائج المتحصل عليها من التحليل الكروماتوغرافي ب CCM أعطى النتائج التالية :

- وجدنا ثلاث بقع مختلفة الألوان

- بقعة ذات لون أحمر أجوري $R_f = 0,67$

- بقعة ذات لون أزرق يميل إلى اللون البنفسجي $R_f = 0,24$

- بقعة ذات لون بنفسجي $R_f = 0,1$

V - 3 - 1 - 3 . تفسير النتائج :

عند مقارنة النتائج التي تحصلنا عليها مع النتائج المرجعية وجدنا أن البقعة الأولى دلالة على

الكافيين ، حيث وجدنا $Rf = 0,67$ أما القيمة المرجعية هي $0,66$ [4] .

البقعة الثانية تدل على الثيوبرومين $Rf = 0,24$ القيمة المرجعية $0,24$ [4] .

البقعة الثالثة تدل على الثيوفلين $Rf = 0,1$ القيمة المرجعية $0,12$ [4] .

V - 3 - 2 . فصل وتنقية الكافيين بطريقة البلورة :

V - 3 - 2 - 1 . طريق الفصل :

تعتبر طريقة البلورة من اشهر واهم الطرق المستعملة لفصل الكافيين عن مشتقات مثيل

الزانتين الأخرى و ذلك راجع إلى كمية الكافيين المتواجدة في الخليط ، و يتم ذلك باختيار

المذيبات المناسبة . استعملنا ثلاث طرق لبلورة للكافيين حيث أخذنا كل مرة كمية من الراسب

تقدر ب 2 غ .

* - الطريقة الأولى استعمالنا مزيج من الإثر البترؤل و الأسيتون (1/1) ثم قمنا بتحليل

كروماتوغرافي CCM (باتباع الخطوات السابقة) [4] ، [26]

* - الطريقة الثانية استعملنا مزيج من الطولين و الهكسان بعدها قمنا بتحليل

الكروماتوغرافي CCM (1/1) [25] .

* - الطريقة الثالثة : استعملنا مزيج من ايثيل الاسيتات و الايثانول (1 / 1) ثم استعملنا

CCM [4] ، [27] .

V - 3 - 2 - 2 . النتائج :

في الحالة الأولى تحصلنا على بقعة واحدة $Rf = 0,67$ أما كمية المركب هي 1 غ
في الحالة الثانية أثبتت ال CCM وجود مركب واحد $Rf = 0,67$ الكمية و المتحصل عليها
بعد البلورة 1,75 غ .

في الحالة الثالثة : بقعة واحدة $Rf = 0,67$ الكمية المتحصل عليها 0,85 غ

V - 3 - 2 - 3 . تفسير النتائج :

نفسر وجود بقعة واحدة في كل حالة من الحالات الثلاثة المستعملة أن الكافيين نقي ولا
وجود لمشتقات مثل الزانثين الأخرى (الثيوبرومين و الثيوفيلين) .
لكن تعتبر الطريقة الثانية احسن الطرق لإعادة بلورة للكافيين انطلاقا من نتائج الكمية
المتحصل عليها .

V - 4 . الخصائص الفيزيائية للكافيين :

بعد تنقية الكافيين وفصله قيست درجة حرارة انصهاره وتم تحليله بمطيافية تحت الحمراء
وكانت النتائج على النحو التالي .

* - درجة انصهاره 238 م°

* - أعطى التحليل المطيافي للكافيين بمطيافية تحت الحمراء IR باستعمال أقراص KBr

النتائج التالية (الاعداد الموجية)

* - 3112 سم⁻¹ تمدد الرابطة C-H الأروماتية .

* - 2954 سم⁻¹ تمدد الرابطة C-H المثل .

* - 1701 سم⁻¹ تمدد الرابطة C=O الأמיד .

* - 1654 سم⁻¹ تمدد الرابطة C=O الأמיד

* - 1548 سم⁻¹ تمتد الرابطة C=C الأروماتية .

V - 5. الخلاصة العامة :

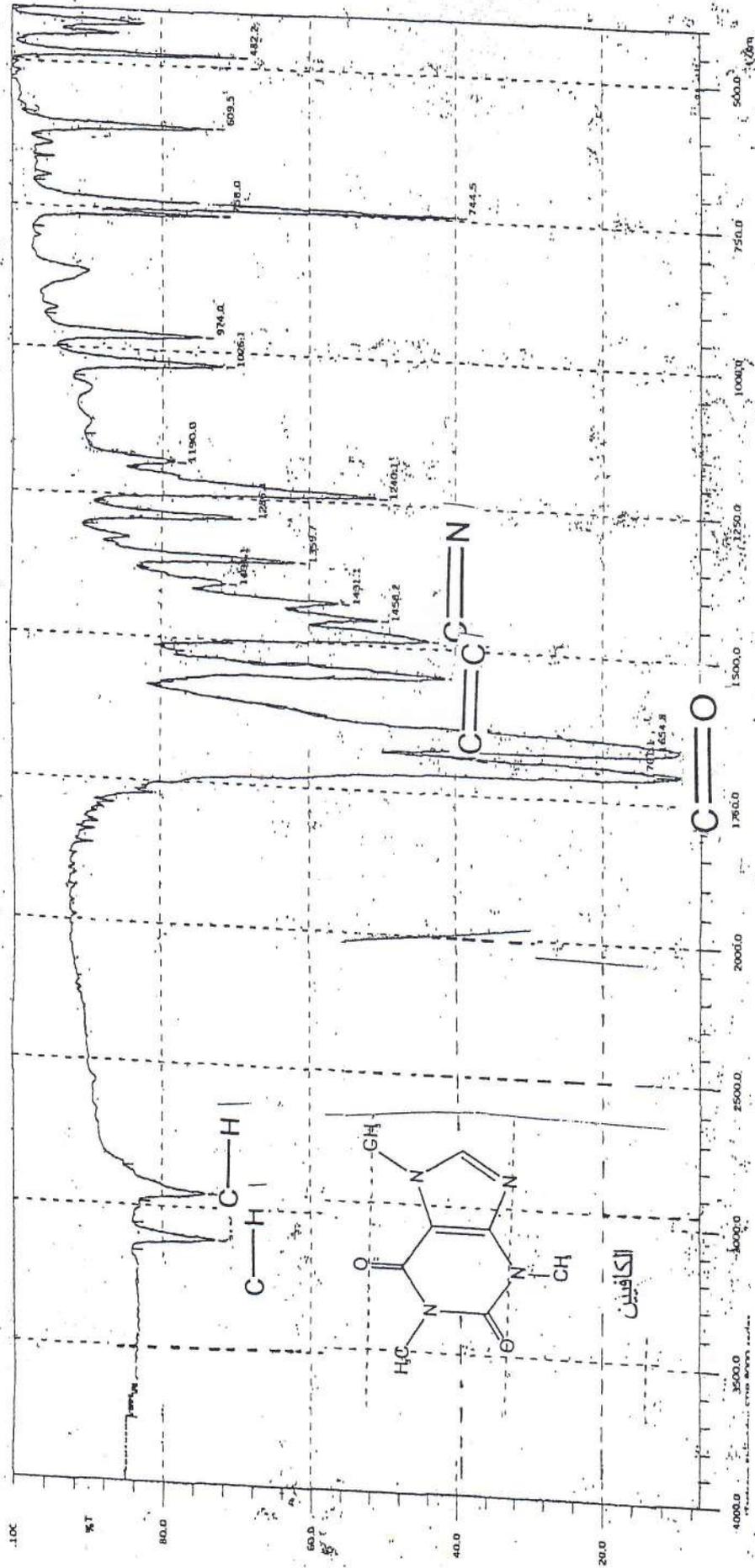
نلاحظ من النتائج الكلية المتحصل عليها لاستخلاص الكافيين من أوراق الشاي الأخضر بأن طريقة الاستخلاص باستعمال المذيب خاصة المذيبات الكلورية ، تعتبر الطريقة الأسهل والأفضل لذلك . و هذا ما أثبتته كل من درجة الانصهار ونتائج التحليل المطيافي IR ، عند مقارنتها بالنتائج المرجعية .

درجة الانصهار 238 م° [4] ، [6] .

2980 سم⁻¹: تمتد الرابطة C-H المثل ، 1720 سم⁻¹ تمتد الرابطة C=O الأמיד ،

1680 سم⁻¹ تمتد الرابطة C=O الأמיד ، 1486 سم⁻¹ تمتد الرابطة C=N ايمين

[25].

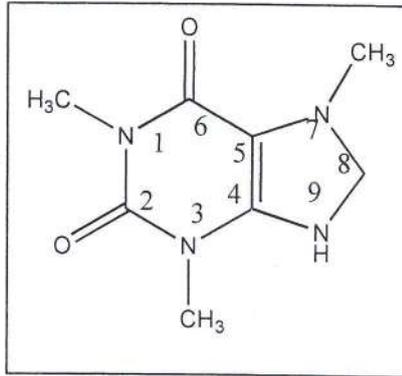


الشكل رقم 1 - V طيف تحت الحمراء IR للكاfeين

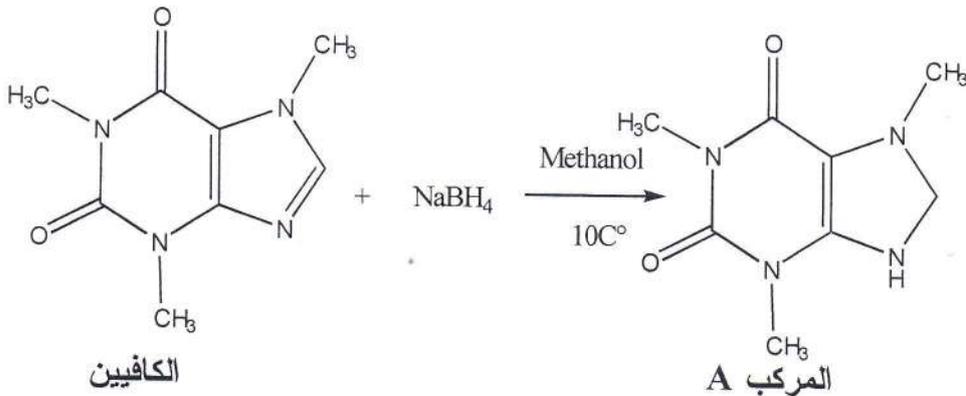
الفصل السادس VI :
تحضير مشتقات الكافيين

VI - 1 . تحضير المركب A : 1 ، 3 ، 7 - ثلاثي مثيل 9,8 - ثنائي هيدرو

زانتين :



يحضر المركب (A) بإرجاع الوظيفة الإيمينية الموجودة في الحلقة الخماسية للكافيين بهيدريدات بورو هيدريد الصوديوم في الميثانول . حسب المخطط التالي :



المخطط رقم (1 - V)

تحضير المركب A

VI - 1-1 . المواد المستعملة : الجدول (رقم 2 - V)

المادة	الكتلة المولية غ/مول	درجة الانصهار/ درجة التجمد	النقاوة %	الكثافة
الكافيين	194,14	238		
الميثانول	46.06	65	97	0.81
بورو هيدريد الصوديوم	38		99,5	

VI -1- 2 طريقة العمل:

نأخذ 01 غ من الكافيين و نذيبها في 20 مل من الميثانول في حوجلة (100 مل) و نضيف

(0,2 غ - 0.0052 مول) من بوروهيدريد الصوديوم ($NABH_4$) و نضعها في حمام

(ماء-جليد) عند درجة حرارة 10 م° مع الخلط لمدة 2 سا ، بالاستعانة بجهاز الرج

المغناطيسي .

نبخر المذيب . نتحصل على راسب أبيض .

أثبتت CCM وجود مركب واحد فقط .

و بتقنية المركب بإعادة البلورة باستعمال الميثانول ، نتحصل على بلورات بيضاء على شكل إبر

قدرت كتلتها ب 0,76 غ أي بمردود 75 %

VI -1- 3 . الخصائص الفيزيائية للمركب:

- درجة انصهاره : 175 م°

- أعطى التحليل الطيفي للمركب بمطيافية تحت الحمراء IR باستعمال أقراص KBr النتائج

التالية (الأعداد الموجية) :

* - 3367 تدل على تمدد الرابطة N-H

* - 2952 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C-H المثل

* - 2854 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C-H الحلقة الخماسية

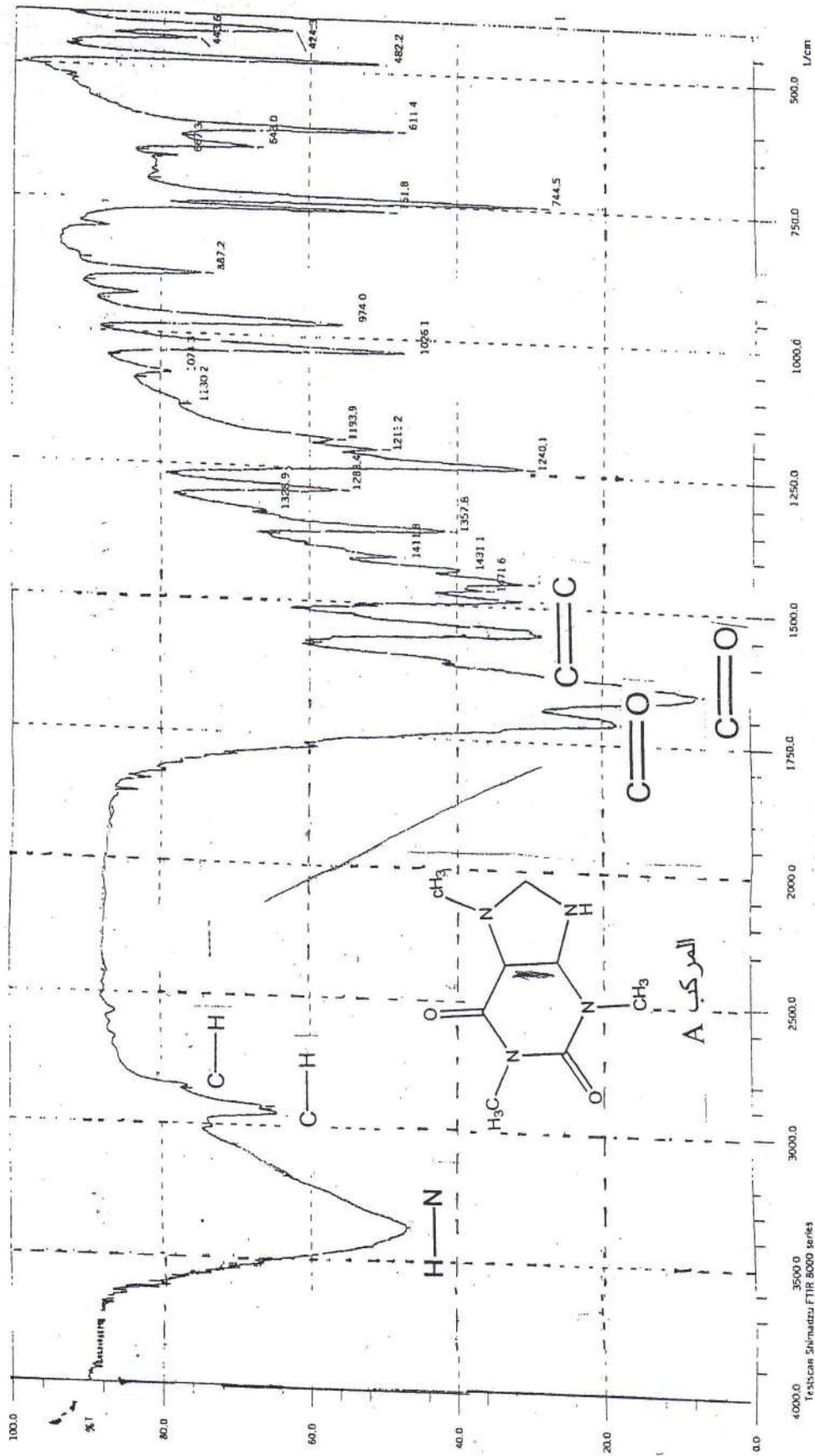
* - 1712 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C=O (الوظيفة الأميدية)

* - 1654 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C=O (الوظيفة الأميدية)

* - 1550 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C=C

لقد أثبتت نتائج التحليل الطيفي للمركب غياب الشريط الخاص بالوظيفة الایمینیة و ظهور آخر

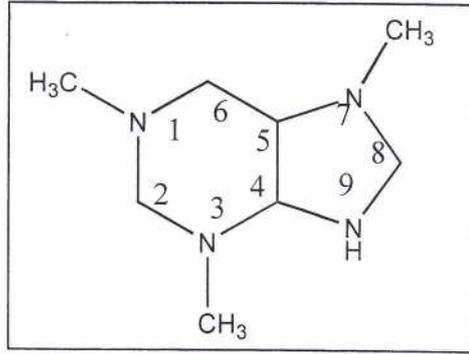
خاص بالأمین دلالة على إرجاع المجموعة الایمینیة .



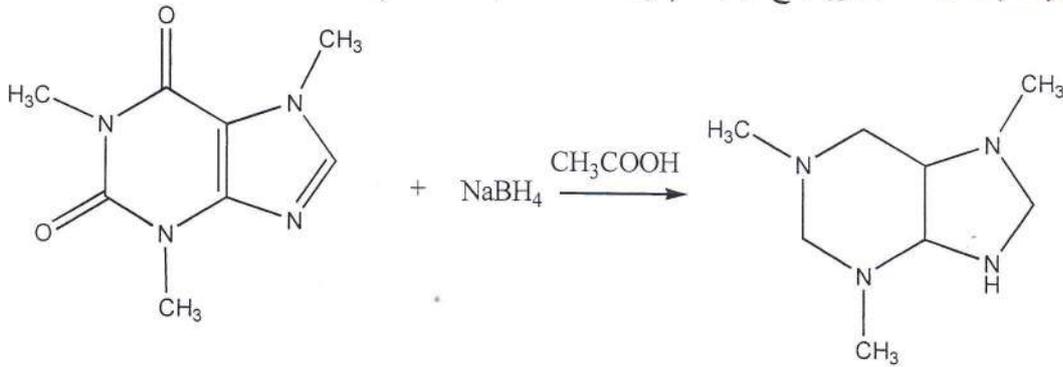
الشكل رقم 1- VI طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب A

2-VI. تحضير المركب B : 1 ، 3 ، 7 - ثلاثي مثيل - 2 ، 4 ، 5 ، 6 ، 8 ، 9

- ثماني هيدرو بيورين :



يحضر المركب (B) من تفاعل الكافيين مع هيدريدات بوروهيدريد الصوديوم في حمض الخل حيث يتشكل عامل إرجاع جديد ($\text{NaBH}_3(\text{OCOCH}_3)$) .



الكافيين

المركب B

المخطط : (رقم 2 - V)

تحضير المركب B

VI - 2 - 1. المواد المستعملة : الجدول رقم (V)

المادة	الكتلة المولية غ/مول	درجة الانصهار/ درجة التبخر	النقاوة %	الكثافة
الكافيين	194.19	238		
حمض الخل الجليدي	60	118	97	1.084
بوروهيدريد الصوديوم	38		99,5	

VI - 2-2 طريقة العمل :

نضع (03 غ - 0,015 مول) من الكافيين في إرلينة ذات حجم (100 مل) و نضيف إليها 75 مل من حمض الخل الجليدي .

نضيف (1,7 غ - 0,045 مول) من بوروهيدريد الصوديوم المذاب في حمض الخل و نترك المزيج في حالة خلط لمدة ساعتين و نصف ، في وسط (ماء - جليد) بالاستعانة بجهاز الرج المغنطيسي عند درجة حرارة 15 م ° .

- نبخر المذيب نتحصل على راسب أبيض ، تطبيق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

أثبت وجود مركب بواحد . بعد تنقية المركب باعادة البلورة باستعمال الايثانول

تحصلناى على بلورات بيضاء .

قدرت كتلته 1,44 غ أي بمردود 45 % .

VI - 2-3 الخصائص الفيزيائية للمركب B :

- درجة الانصهار : 95 م ° .

بتحليل المركب بمطيافية الاشعة تحت الحمراء باستعمال أقراص KBr تحصلنا على النتائج

التالية (الاعداد الموجية) :

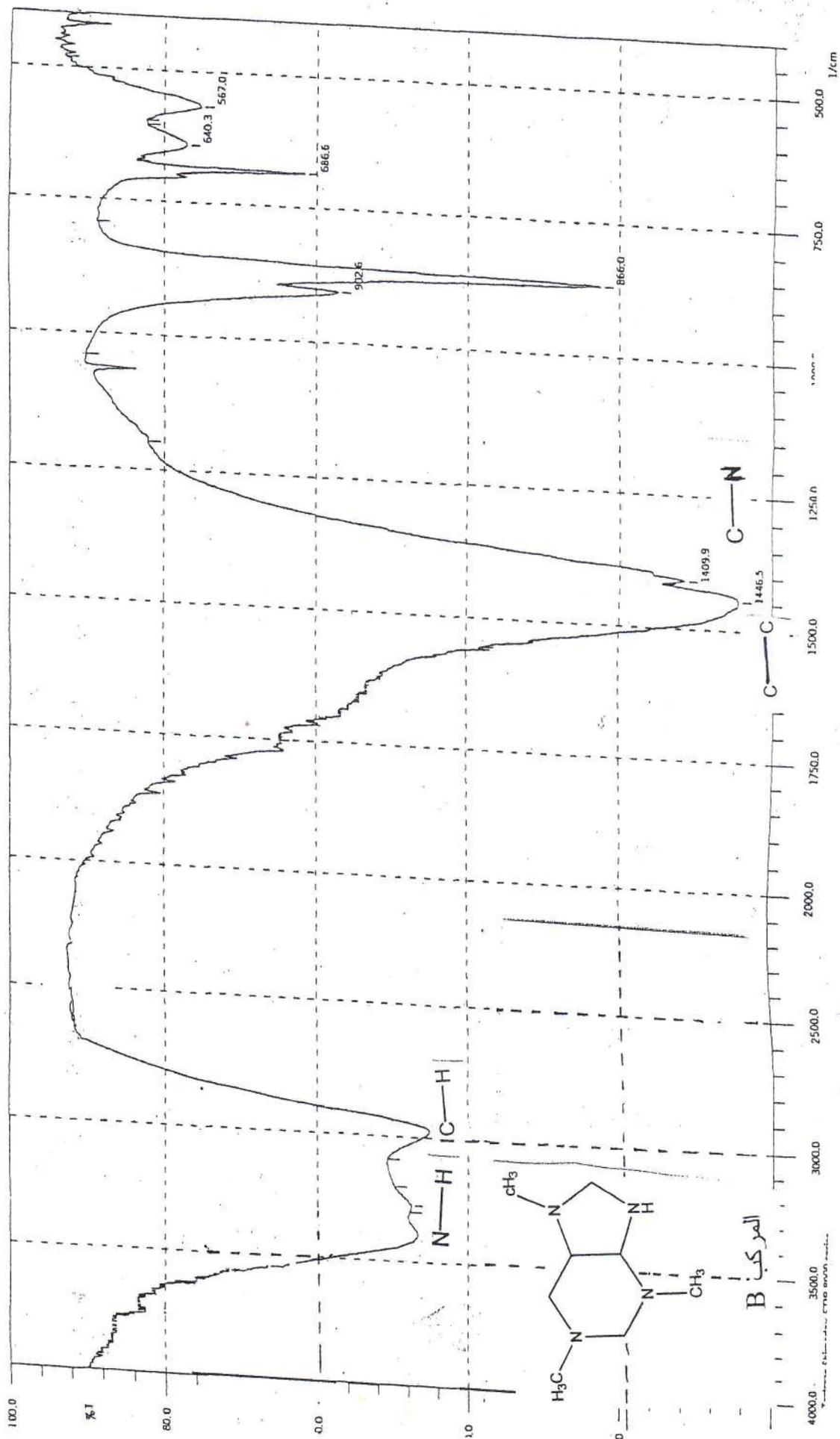
* - 3276 سم⁻¹ تدل على تمدد N-H الأمين الحلقي .

* - 2979 سم⁻¹ تدل على تمدد C-H . المثل

و C-H الحلقة الخماسية .

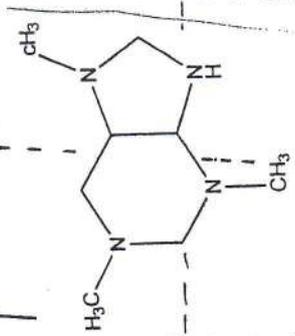
نفسر نتائج التحليل الطيفي للمركب بأن جميع الوظائف الكميائية الموجودة في الكافيين (الأמיד ،

الايمنية ، الرابطة الثنائية كربون - كربون) قد ارجعت .

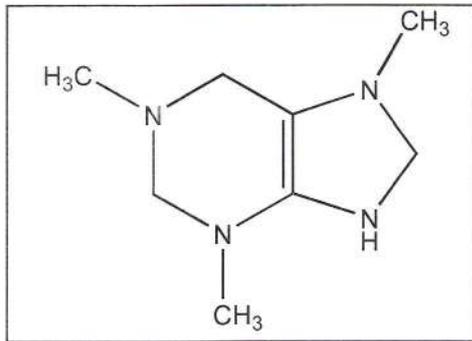


الشكل رقم 2 - VI . طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب B

المركب B



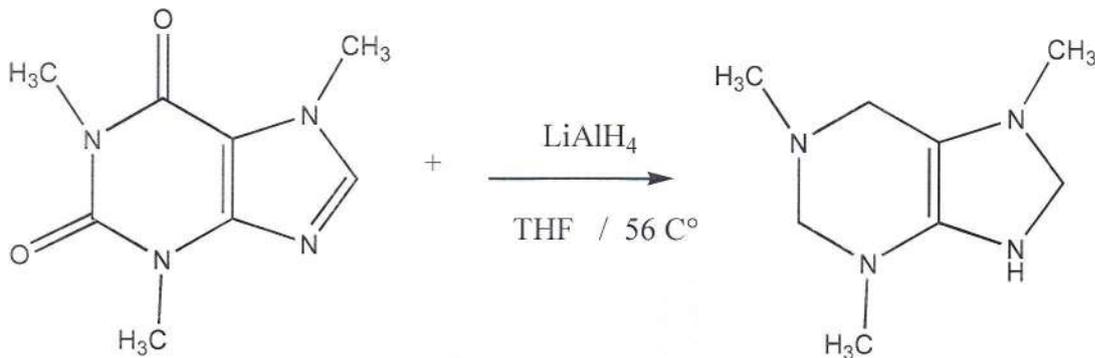
VI - 3 - 4 . تحضير المركب C : 7,3,1 - ثلاثي مثيل 8,9,6,2 - سداسي



هيدرو بيورين :

يحضر هذا المركب من تفاعل الكافيين مع ليثيوم ألومنيوم هيدريد في رباعي هيدرو فوران

حسب المخطط التالي :



المخطط: (رقم V - 3)

تحضير المركب C

VI - 3 - 1 . المواد المستعملة : الجدول: (رقم V - 4)

المواد المستعملة	الكتلة المولية غ/مول	درجة الانصهار /درجة التبخر	النقاوة %	الكثافة
الكافيين	194.19	238		
ر . هيدرو فوران	72	67	99.5	0.985
ل ألومنيوم هيدريد	38			

VI - 3 - 2 . طريقة العمل :

نأخذ (1غ - 0,0052 مول) من الكافيين و نذيبها في 30 مل من THf نضعها في حوجة (10مل) ، ونترك الخليط في حالة ارتداد باستعمال مكثف و جهاز الرج المغنطيسي تحت درجة حرارة 56 م ° .

نضع (0,5 غ - 0,013 مول) من ليثيوم ألمنيوم هيدريد في كمية قليلة من THf ، و نضيفه قطرة قطرة إلى الخليط لمدة ساعتين . ثم نضيف كمية من الماء المحمض مع بقاء الخليط في حالة ارتداد لمدة نصف ساعة . نبخر المذيب نتحصل على راسب ابيض . أثبتت ال CCM وجود مركب واحد .

بعد تنقية المركب بإعادة البلورة باستعمال الايثانول تحصلنا على بلورات بيضاء زجاجية بكتلة قدرت ب 0,48 غ أي بمرود 55 %

VI - 3 - 3 . الخصائص الفيزيائية للمركب C:

درجة الانصهار : 135 م °

- أعطى التحليل الطيفي بمطيافية الأشعة تحت الحمراء باستعمال أقراص KBR النتائج التالية (الأعداد الموجية):

* - 3367 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة N-H

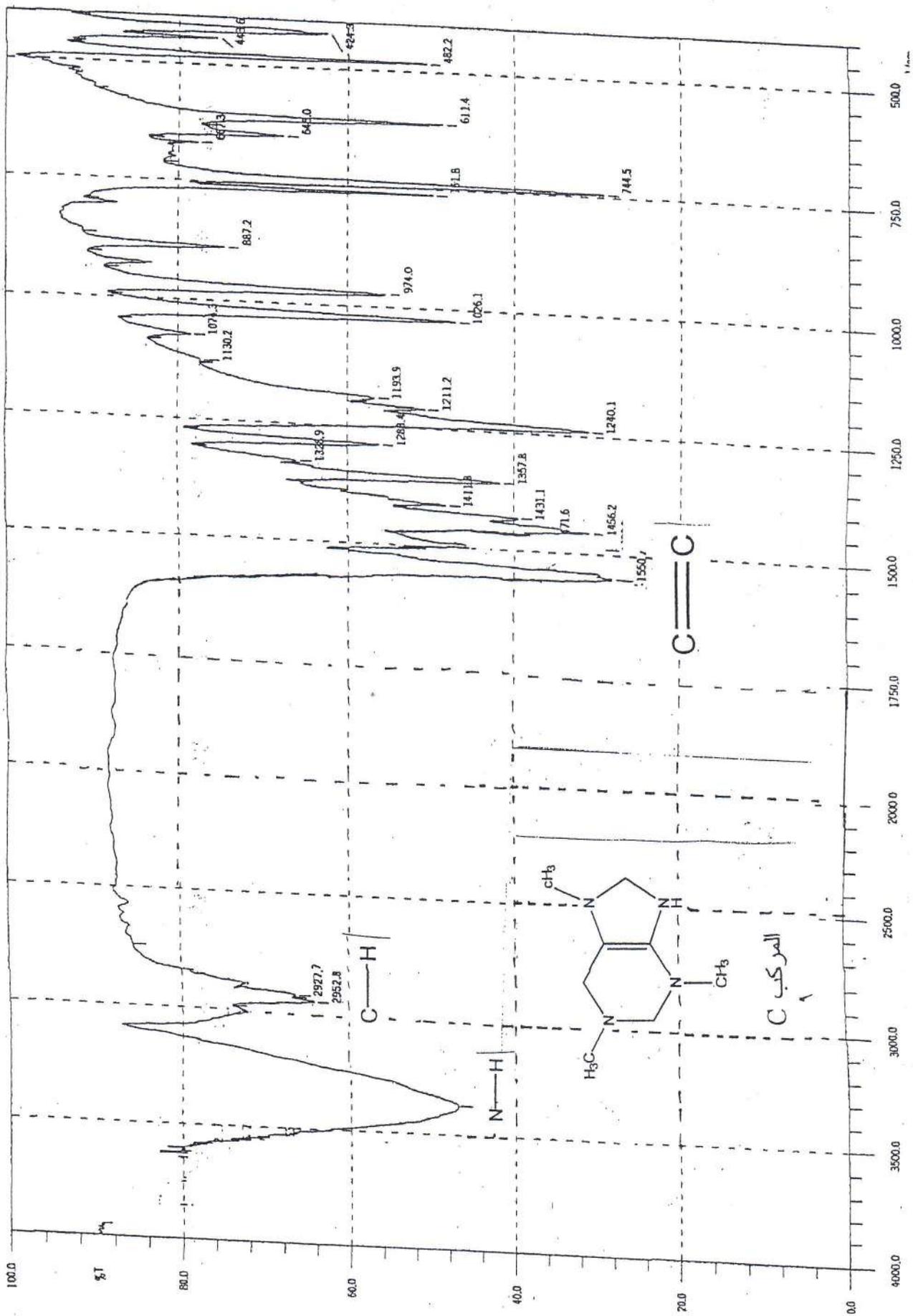
* - 2952 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C-H المثل

* - 2927 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C-H الحلقة الخماسية

* - 1550 سم⁻¹ تدل على تمدد الرابطة C=C

نفسر نتائج التحليل الطيفي المتحصل عليها بعدم ظهور كل من شريط المجموعة الايمينية و

الأميدية دلالة على إرجاع هاتين الوظيفتين . و بالتالي الحصول على المركب C



الشكل رقم 3 - VI . طيف الأشعة تحت الحمراء IR للمركب C

IV - 4. الخلاصة العامة :

إن إرجاع الكافيين بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم في المثنول أرجعت الوظيفة الایمینیة فقط و لم تتأثر كل من الرابطة الثنائية كربون - كربون و مجموعتي الأמיד المتواجدة في الحلقة السادسة . ومنه كان الحصول على المركب A بمرود جيد ، عكس ما نجده في حالة استعمال حمض الخل أي أن الهيدريدات قامت بإرجاع كل من (الوظيفة الایمینیة ، الرابطة المزدوجة كربون - كربون ، الوظيفة الأמידية) بمرود متوسط .

أما في حالة استعمال هيدريدات ليثيوم ألنيوم هيدريد أرجعت كل من الوظيفة الایمینیة و الأמידية فقط .

الفصل السابع VII:
دراسة الفعالية البيولوجية للمركبات على البكتيريا

VII. دراسة الفعالية البيولوجية للمركبات على البكتيريا

مقدمة :

بعد تحضير مشتقات الكافيين عن طريق الإرجاع بالهيدريد ، أردنا معرفة بعض الخصائص والميزات البيولوجية التي يمكن أن تحملها هذه المركبات . لدى قمنا بدراسة تأثير الكافيين وهذه المركبات على ثلاث أنواع من البكتيريا المضرة بصحة الإنسان، و ذلك بمساعدة مخبر مستشفى محمد بوضياف بورقلة .

البكتيريا المستعملة :

لقد استعملنا ثلاث أنواع من البكتيريا و هي .

(-Klebseiella pneumonie Entérobactérie - -Escherichia Coli)

VII - 1 . طريقة العمل :

VI - 1 - 1 . البحث عن المذيب المشترك :

لتطبيق هذه الاختبارات قمنا أولا بالبحث على المذيب المشترك للمركبات الأربعة . وجدنا أن الايثانول ، الأسيتون هما المذيبان المشتركان للمركبات و التي تنوب فيهما بسرعة، فقمنا باختبار بيولوجي للأسيتون مع الأنواع الثلاثة للبكتيريا المستعملة فوجدنا أن الفعالية كانت ضعيفة حيث كان قطر طبقة الكبت مساويا إلى 10,5 مم ، أما الايثانول فكانت فعاليته قوية حيث قدر قطر طبقة الكبت ب30 مم .

فكان اختيارنا للأسيتون .

VII - 1 - 2 . تحضير المحاليل :

قمنا بأخذ ثلاث محاليل مختلفة التركيز لكل مركب، حجم كل محلول 10 مل

VII - 1 - 3 . تحضير الأقراص :

نقص أوراق الترشيح (N^o3) على شكل أقراص ذات أقطار 5 مم ، ثم نضعها في أنبوب

اختبار للتعقيم داخل الفرن في درجة حرارة 130 م° لمدة زمنية معينة قدرها 45 دقيقة

VII - 1 - 4 . تحضير الوسط الزراعي :

نسكب كميات محددة من وسط Mueller Hinton بمقدار 20 مل /علبة ، ثم يترك حتى التصلب

. يجفف في الفرن لمدة 20د لإزالة الرطوبة المتبقية .

VII - 1 - 5 . تحضير المعلق الميكروبي :

نأخذ كل مرة جذمة من إحدى الأنواع الثلاثة للبكتريا و نضعها في أنبوب اختبار يحوي كمية

محدودة من الماء المقطر (10مل) ، ثم نرج الأنبوب جيدا نسكب كمية معينة من المعلق

الميكروبي في علب بتري التي تحوي الوسط الزراعي و تترك لمدة وجيزة ثم تفرغ العلب من

المعلق و تجفف داخل الفرن (37م°) لمدة 10د.

VII - 1 - 6 . - الزرع و الحضان :

نبلل الأقراص بمختلف المحاليل ونتركها لمدة زمنية وجيزة ، بعدها نضعها داخل علب بتري ،

مع ترك مسافات منظمة بين هذه الأقراص توضع في الفرن لمدة 24 سا بشكل مقلوب .

VII - 2 . النتائج:

قراءة النتائج تتم بقياس قطر دائرة التثبيط (الكبت) حول هذه الأقراص .

نلخص النتائج المتحصل عليها لكل مركب فيما يلي .

VII - 2 - 1 . دراسة تأثير الكافيين:

نقوم كل مرة بتغيير تركيز الكافيين و نتبع خطوات تحضير antibiogramme ثم نقوم

بقياس قطر طبقة الكبت المتواجد في علبه بتري ، نأخذ في كل مرة القيمة الوسطية . و النتائج

المتحصل عليها مدونة في الجدول التالي .

قطر طبقة الكبت بمم			
بكتيريا Klebseiella pneumonie	بكتيريا Entérobactérie	بكتيريا Escherichia Coli	تركيز الكافيين مول/ل
15	20	35	0,0067
12	12	15	0,013
0	0	12	0,02

الجدول رقم (VII - 1) :

تغيرات قطر طبقة الكبت بتغيير تركيز الكافيين

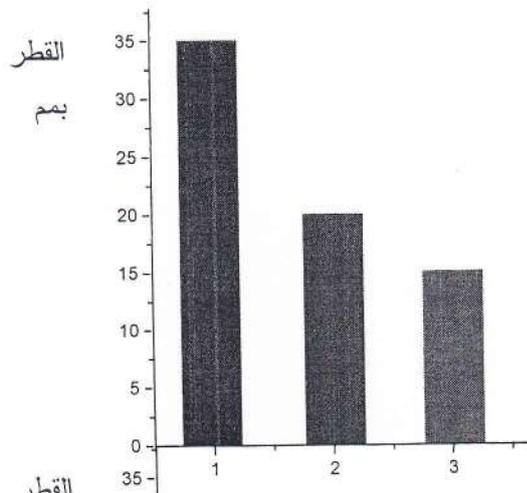
- نقوم برسم تغير قطر طبقة الكبت لكل بكتيريا بدلالة تغير تركيز الكافيين حيث

رقم 1 ■ (بكتيريا Escherichia Coli)

رقم 2 ■ (Entérobactérie)

رقم 3 ■ (Klebseiella pneumonie)

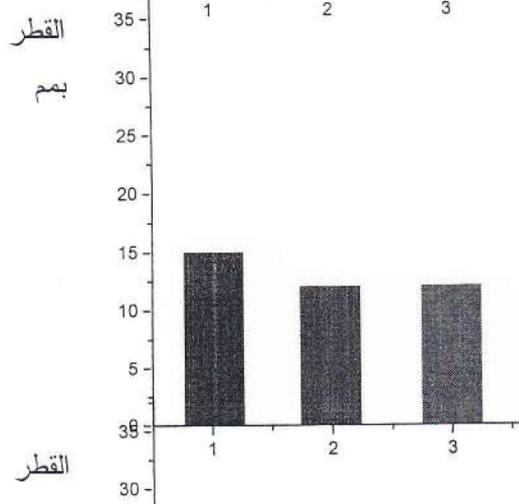
أ- رسم المخططات :



المخطط رقم (1- VII)

تأثير الكافيين على البكتيريا

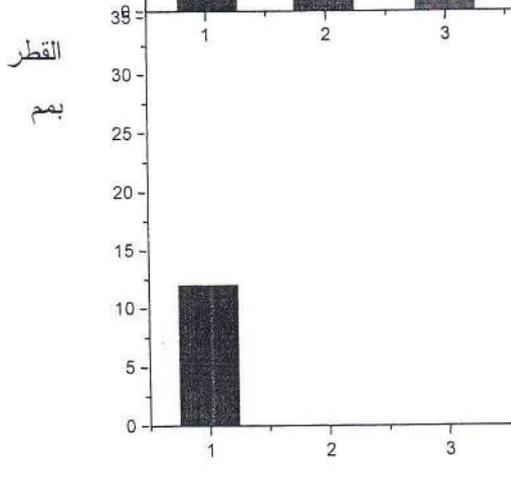
عند ت = 0,0067 مول/ل



المخطط رقم (2 - VII)

تأثير الكافيين على البكتيريا

عند ت = 0,013 مول/ل



المخطط رقم (3 - VII)

تأثير الكافيين على البكتيريا

عند ت = 0,02 مول/ل

ب- تفسير النتائج :

1 - البكتيريا: Escherichia Coli

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل نجد أن (البكتيريا Escherichia Coli) حساسة تجاه الكافيين حيث نجد أن قطر طبقة الكبت كان مساويا إلى 35مم.

* - عند تركيز 0,013 مول/ل كانت حساسيتها متوسطة تجاه الكافيين حيث قدر قطر طبقة الكبت ب15 مم .

* - عند تركيز 0,02 مول/ل كان للبكتيريا (Escherichia Coli) حساسية ضعيفة للكافيين. حيث قدر قطر طبقة الكبت ب12 مم .

2 - البكتيريا: Entérobactérie

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل انطلقا من قطر طبقة الكبت التي حدد في علبة بتري و الذي عادل 20 مم نستطيع القول بان البكتيريا Entérobactérie ذات حساسية متوسطة تجاه الكافيين .

* - عند تركيز 0,013 مول /ل حدد قطر طبقة الكبت ب12 مم و بهذا نستطيع القول بأن البكتيريا (Entérobactérie) كانت لها حساسية ضعيفة تجاه الكافيين .

* - عند التركيز 0,02 مول/ل البكتيريا Entérobactérie لم تبدي أي حساسية تجاه الكافيين حيث كان قطر طبقة الكبت مساويا إلى الصفر أي أنها مقاومة للكافيين .

3 - البكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

- * - عند التركيز 0,0067 مول/ل كان قطر طبقة الكبت على علبة بتري مساويا إلى 15 مم و منه نستطيع القول بان للبكتيريا *Klebsiella pneumoniae* حساسية متوسطة تجاه الكافيين
- * - عند التركيز 0,013 مول/ل كانت حساسية البكتيريا *Klebsiella pneumoniae* ضعيفة حيث قدر قطر طبقة الكبت ب 12 مم .
- * - عند التركيز 0,02 مول /ل لم يحصل أي كبت يعني أن البكتيريا *Klebsiella pneumoniae* قاومت للكافيين ولم تبدي أي حساسية تجاهه.

VII - 2 - 2 . دراسة تأثير المركب (A) 7,3,1 - ثلاثي مثيل 8 ، 9 - ثنائي

هيدرو زانتين:

نفس الخطوات السابقة .

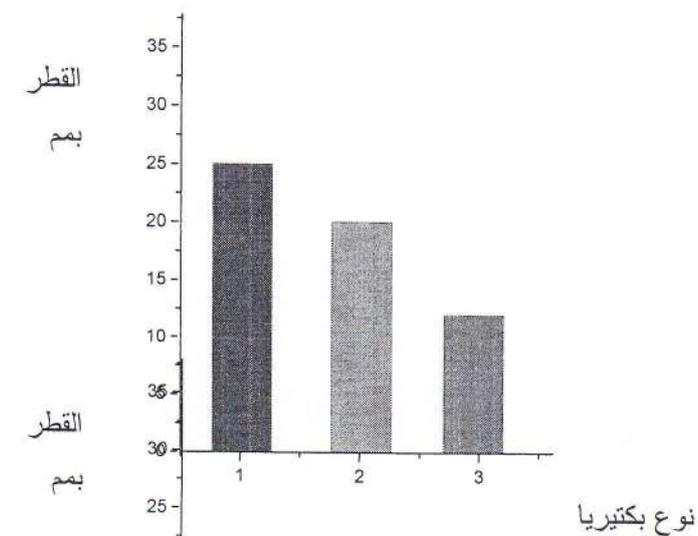
قطر طبقة الكبت بمم			
تركيز المركب A مول/ل	بكتيريا Escherichia Coli	بكتيريا: Entérobactérie	بكتيريا Klebseiella pneumonie
0,0067	25	20	12
0,013	15	12	12
0,02	12	12	0

الجدول رقم (VII - 2):

تغيرات قطر طبقة الكبت بتغير تركيز المركب (A)

- نقوم برسم تغير قطر طبقة الكبت بدلالة تغير تركيز المركب A حيث تمثل :
- الرقم 1 ■ (بكتيريا Escherichia Coli)
- الرقم 2 ■ (Entérobactérie)
- الرقم 3 ■ (Klebseiella pneumonie)

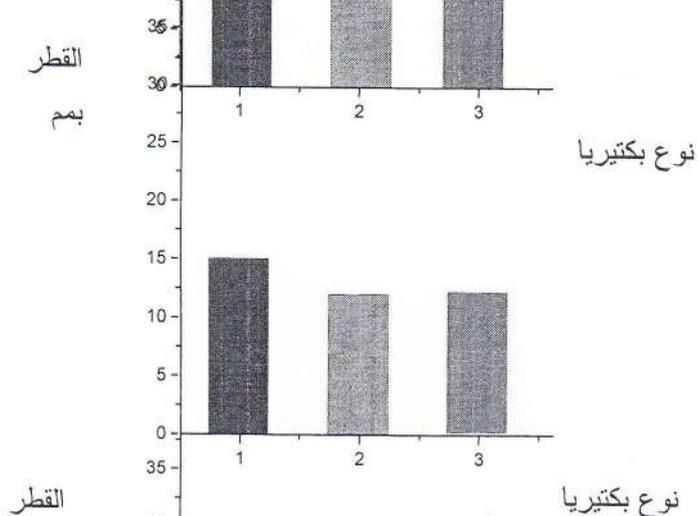
أ- رسم المخططات :



المخطط رقم (4 - VII)

تأثير المركب A على البكتيريا

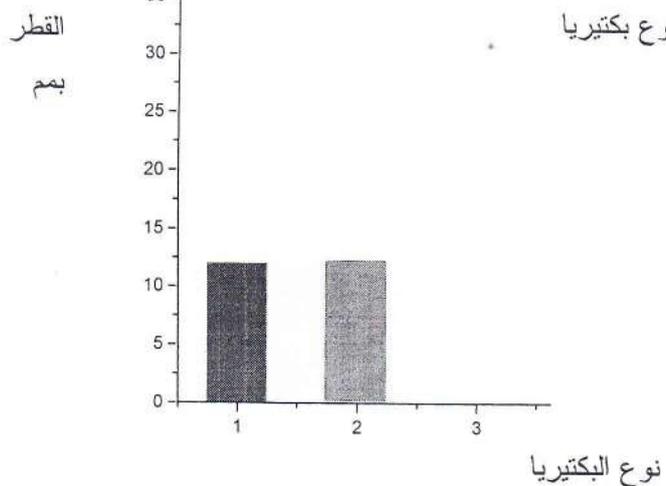
عند ت = 0,0067 مول/ل



المخطط رقم (5 - VII)

تأثير المركب A على البكتيريا

عند ت = 0,013 مول/ل



المخطط رقم (6 - VII)

تأثير المركب A على البكتيريا

عند ت = 0,02 مول/ل

ب- تفسير النتائج :

1 - البكتيريا: Escherichia Coli

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل قطر الكبت 25 مم ومنه نستطيع القول بان البكتيريا

Escherichia Coli حساسة تجاه المركب A

* - عند تركيز 0,013 مول/ قطر الكبت كان 15مم أي أن البكتيريا Escherichia Coli

حساسيتها تجاه المركب A متوسطة .

* - عند تركيز 0,02 مول/ل قطر الكبت المحدد على علبة بتري كان 12 مم و نتيجة لذلك

نقول أن البكتيريا Escherichia Coli ضعيفة الحساسية .

2 - البكتيريا: Entérobactérie

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل كانت البكتيريا Entérobactérie ضعيفة الحساسية حيث

قدر قطر طبقة الكبت ب12 مم.

* - عند تركيز 0,013 مول / ل قطر طبقة الكبت 12 مم أي أن البكتيريا ضعيفة الحساسية.

* - عند التركيز 0,02 مول/ل قطر طبقة الكبت الملاحظ في الحالة السابقة لم يتغير (12مم)

ومنه نستطيع القول أن البكتيريا Entérobactérie ضعيفة الحساسية

3 - البكتيريا بكتيريا Klebsiella pneumoni

* - عند التركيز 0,0067 مول/ل قطر طبقة الكبت المحدد على علبة بتري هو 12 مم و منه

نستطيع القول أن البكتيريا Klebsiella pneumonie لها حساسية متوسطة تجاه المركب (A)

* - عند التركيز 0,013 مول/ل نلاحظ بقاء قطر طبقة الكبت مساويا إلى 12مم أي أن

حساسية البكتيريا لم تتغير في هذه الحالة بتغير التركيز .

* - عند التركيز 0,02 مول /ل البكتيريا Klebsiella pneumonie كانت مقاومة للمركب (A)

VII - 2 - 3 . دراسة تأثير المركب B : - 7,3,1 - ثلاثي مثيل 9,8,6,5,4,2 -

ثمانى هيدرو بيورين :

نفس الخطوات السابقة و النتائج مدونة في الجدول الآتي:

قطر طبقة الكبت			
تركيز المركب B	بكتيريا	بكتيريا	بكتيريا Klebsiella pneumoniae
مول / ل	Escherichia Coli	Entérobactérie	
0,0067	20	15	0
0,013	15	12	0
0,02	12	0	0

الجدول رقم (VII 3) :

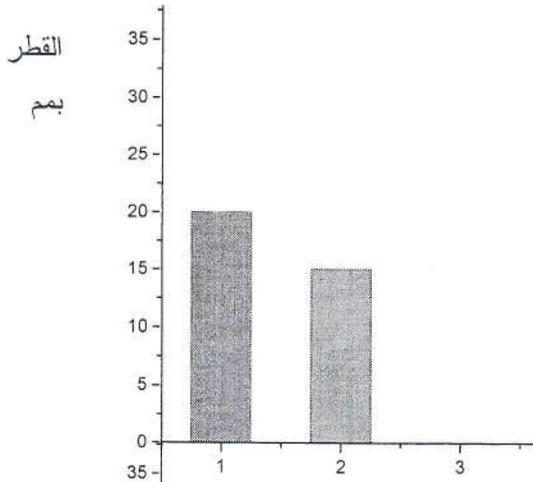
تغيرات قطر طبقة الكبت بتغير تركيز المركب (B)

- نقوم برسم تغير قطر طبقة الكبت بدلالة تغير تركيز المركب B حيث تمثل :

- الرقم 1 ■ (بكتيريا Escherichia Coli)

- الرقم 2 ■ (Entérobactérie)

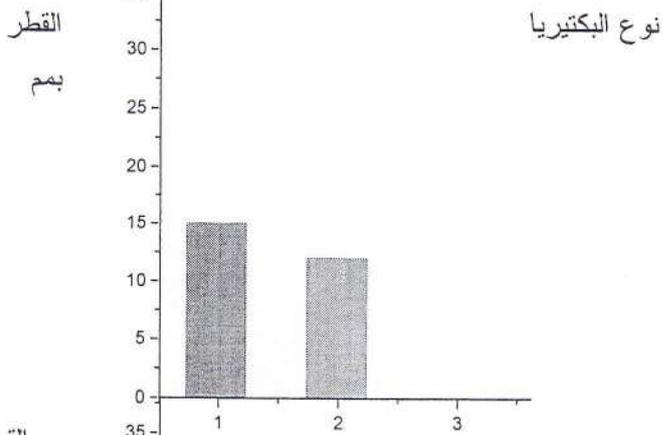
أ - رسم المخططات:



المخطط رقم (VII - 7)

تأثير المركب B على البكتيريا

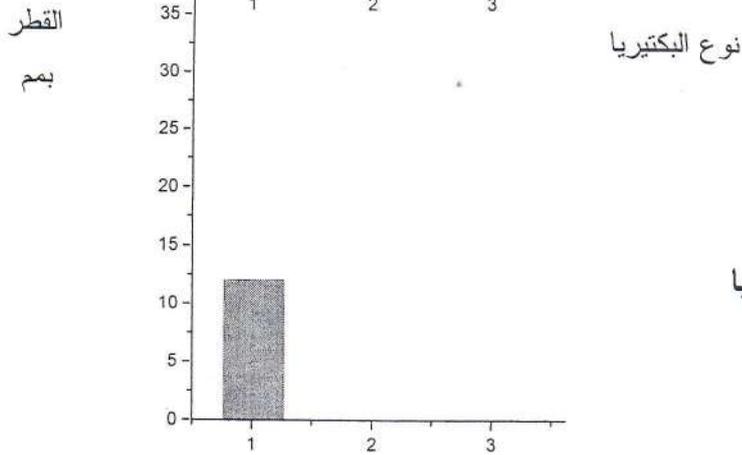
عند ت = 0,0067 مول/ل



المخطط رقم (VII - 8)

تأثير المركب B على البكتيريا

عند ت = 0,013 مول /ل



المخطط رقم (VII - 9)

تأثير المركب B على البكتيريا

عند ت = 0,02 مول / ل

نوع البكتيريا

ب- تفسير النتائج :**1 - البكتيريا Escherichia Coli :**

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل البكتيريا كانت حساسة تجاه المركب B حيث نجد قطر طبقة الكبت المحدد على علبه بتري مساويا إلى 25 مم .

* - عند تركيز 0,013 مول/ل كان تأثير المركب B في هذا التركيز على البكتيريا Escherichia Coli ضعيف و نلاحظ ذلك من قطر طبقة الكبت 15 مم ومنه نستطيع القول بأن هذه البكتيريا متوسطة الحساسية تجاه هذا المركب .

* - عند تركيز 0,02 مول/ل قطر طبقة الكبت مساويا إلى 12 مم أي أن تأثير المركب B على البكتيريا ضعيف جدا و نستنتج من ذلك أن البكتيريا ذات حساسية ضعيفة .

2 - البكتيريا Entérobactérie :

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل البكتيريا Entérobactérie كانت متوسطة الحساسية حيث أن قطر طبقة الكبت كان مساويا إلى 15 مم

* - عند تركيز 0,013 مول/ل في هذه الحالة البكتيريا ضعيفة الحساسية تجاه المركب B قطر طبقة الكبت 12 مم .

* - عند التركيز 0,02 مول/ل البكتيريا قاومت تأثير المركب B حيث قطر طبقة الكبت منعدم أي أن الحساسية منعدمة .

3 - البكتيريا Klebsiella pneumonie :

* - عند التركيز 0,0067 مول/ل البكتيريا Klebsiella pneumonie مقاومة للمركب B لا يوجد أي تأثير ظاهر في علبه بتري أي أن حساسية البكتيريا تجاه المركب منعدمة .

* - عند التركيز 0,013 مول/ل و 0,02 مول/ل نفس النتائج المتحصل عليها سابقا .

VII - 2 - 4 . دراسة تأثير المركب (C) - 7,3,1 - ثلاثي مثيل ، 9,8,6,2 -

سداسي هيدرو بيورين :

نفس الخطوات المتبعة سابقا .

قطر طبقة الكبت بم			
بكتيريا	بكتيريا	بكتيريا	تركيز المركب (C) مول/ل
Klebseiella pneumonie	Entérobactérie	Escherichia Coli	
12	15	20	0,0067
0	12	12	0,013
0	12	0	0,02

الجدول (رقم VII - 4) :

تغيرات قطر طبقة الكبت بتغير تركيز المركب (C)

رقم 1 ■ (بكتيريا Escherichia Coli)

رقم 2 ■ (Entérobactérie)

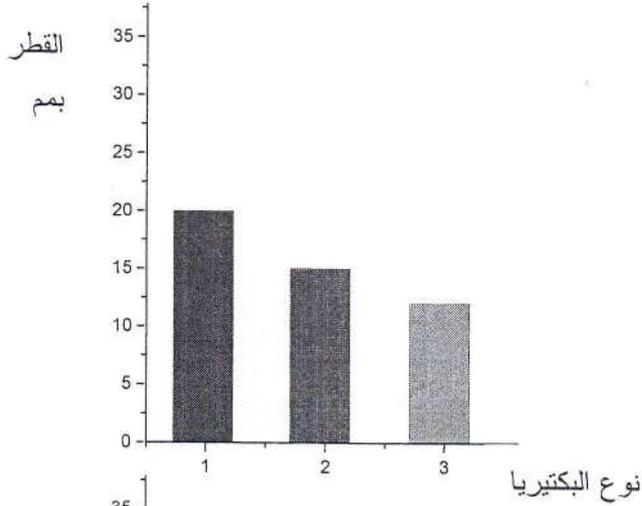
رقم 3 ■ (Klebseiella pneumonie)

أ - رسم المخططات :

المخطط رقم (VII - 10)

تأثير المركب C على البكتيريا

عند ت = 0,0067 مول / ل

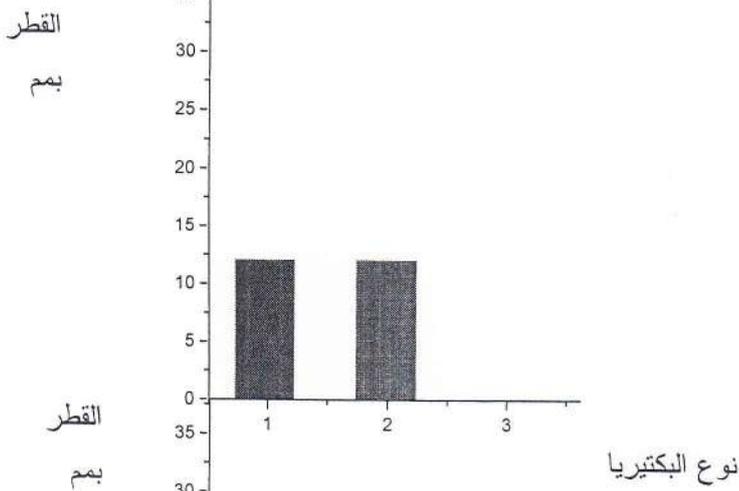


المخطط رقم (VII - 11)

تأثير المركب C على

البكتيريا

عند ت = 0,013 مول / ل

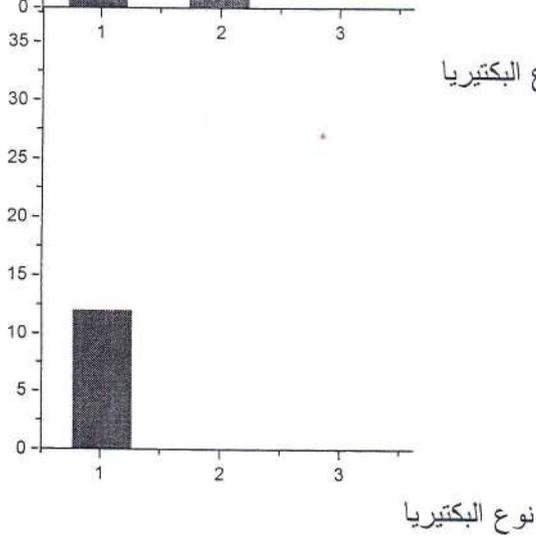


المخطط رقم (VII - 12)

تأثير المركب C على

البكتيريا

عند ت = 0,02 مول / ل



ب - تفسير النتائج :

2 - البكتيريا Escherichia Coli :

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل قطر طبقة الكبت الظاهر في علبه بتري 20 مم أي أن البكتيريا متوسطة الحساسية تجاه المركب (C) .

* - عند تركيز 0,013 مول/ل من قطر طبقة الكبت المساوي ل12 مم نستطيع القول أن البكتيريا Escherichia Coli ضعيفة الحساسية تجاه المركب (C) .

* - عند تركيز 0,02 مول/ل لم يظهر أي تأثير للمركب على البكتيريا حيث نجد قطر الكبت منعدم أي البكتيريا قاومت المركب (C) .

2 - البكتيريا Entérobactérie :

* - عند تركيز 0,0067 مول/ل البكتيريا أظهرت حساسية متوسطة حيث كان قطر الكبت مساويا إلى 15 مم .

* - عند تركيز 0,013 مول/ل قطر طبقة الكبت 12مم أي أن البكتيريا Entérobactérie ضعيفة الحساسية.

* - عند التركيز 0,02 مول/ل البكتيريا أظهرت حساسية ضعيفة حيث قدر قطر طبقة الكبت ب 12مم .

3 - البكتيريا Klebseiella pneumonie :

* - عند التركيز 0,0067 مول/ل يمكن القول انطلاقا من قطر طبقة الكبت المحصل عليه 12مم أن البكتيريا Klebseiella pneumonie ضعيفة الحساسية .

- عند التركيز 0,013 مول/ل، التركيز 0,02 مول/ل البكتيريا Klebseiella

pneumonie لم تظهر أي حساسية اتجاه المركب (C) أي أنها مقاومة لهذا المركب.

VII - 3 . الخلاصة العامة :

انطلاقاً من النتائج المتحصل عليها من دراسة تأثير المركبات على الأنواع الثلاثة للبكتيريا في تراكيز مختلفة نستطيع تحديد حساسية كل نوع من البكتيريا تجاه كل مركب و مقارنة فعالية كل مركب مع فعالية الكافيين . نلخص ذلك في الجدول التالي:

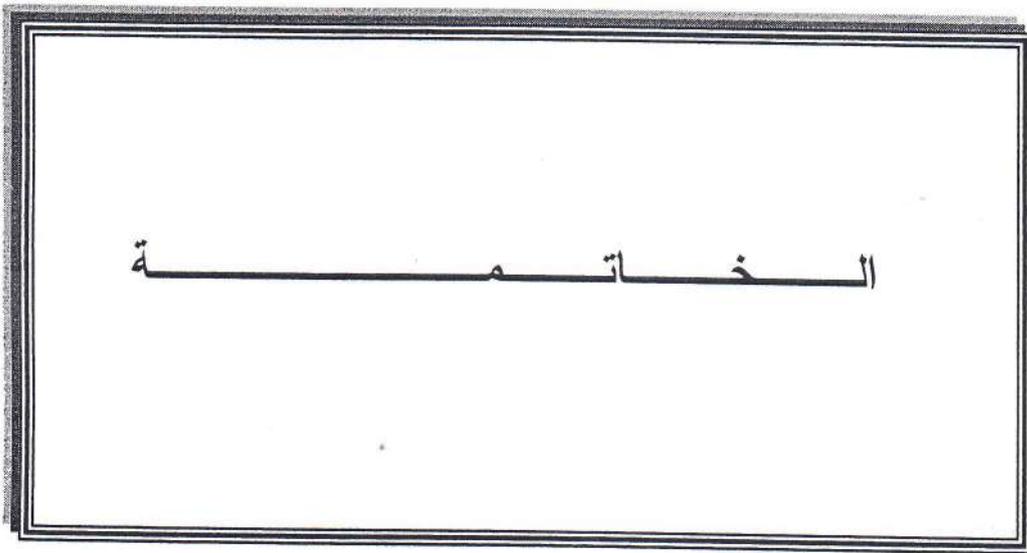
أنواع البكتيريا			
Klebseiella Pneumonie	Escherichia Coli	Entérobactérie	المركبات المستعملة
و	و	ح	الكافيين
و	و	و	المركب A
م	و	و	المركب B
م	و	و	المركب C

المخطط (رقم VI - 5)

مقارنة الفعالية البيولوجية للمركبات على أنواع البكتيريا المختارة

ح: حساس م: مقاوم و: وسطي

و بالتالي نستطيع ترتيب هذه المركبات من حيث تزايد التأثير أو الفعالية البيولوجية اتجاه الأنواع البكتيرية المختارة 1 - المركب B ، 2 - المركب C ، 3 - المركب A ، 4 - الكافيين و كنتيجة نهائية يمكن القول أن الكافيين و مشتقاته لهم تأثير متوسط على الأنواع الثلاثة المستعملة من البكتيريا.



الخاتمة

هدف هذا العمل هو المساهمة في تحضير مشتقات جديدة للكافيين الذي يستخلص من الشاي الأخضر ، باستعمال هيدريدات LiAlH_4 و NaBH_4 في أوساط مختلفة ودراسة فعاليتها البيولوجية اتجاه بعض أنواع البكتيريا و على ضوء النتائج المتحصل عليها يمكننا أن نستنبط النقاط التالية .

1- تحصلنا على الكافيين من أوراق الشاي الأخضر بطريقة الاستخلاص بالمذيب و بعد محاولات عديدة تمكنا من فصله عن المركبات الأخرى و تنقيته باستعمال إعادة البلورة وهذا ما أثبتته التحليل الطيفي باستعمال مطيافية تحت الحمراء، و ذلك بمقارنة النتائج التي تحصلنا عليها مع النتائج المتحصل عليها من قبل الكثير من الباحثين . كما أن كمية الكافيين التي تحصلنا عليها عادت 2,6 % من كتلة الشاي المستعملة.

2- إرجاع الكافيين بـ NaBH_4 في الميثانول تحت الشروط المستعملة أدى إلى إرجاع المجموعة الأيمينية الموجودة في الحلقة الخماسية العطرية في الكافيين ، و بقاء كل من الرابطة الثنائية كربون - كربون و المجموعة الأميدية . هذا ما أثبتته النتائج المتحصل عليها من التحليل الطيفي بمطيافية تحت الحمراء (عدم تواجد شريط المجموعة الأيمينية و ظهور شريط المجموعة الأيمينية) . ومنه الحصول على المركب (7,3,1 - ثلاثي مثيل ، 8 ، 9 -ثنائي هيدرو زانتين) .

3 - إرجاع الكافيين بهيدريدات بوروهيدريد الصوديوم في حمض الخل في الشروط المستعملة أدى على اختزال جميع الوظائف الموجودة في الحلقتين الخماسية و السداسية للكافيين (الوظيفة الأيمينية و مجموعتي الأמיד ، الرابطة الثنائية كربون - كربون) ، و بالتالي الحصول على المركب . 1 ، 3 ، 7 - ثلاثي مثيل ، 2,4,5,6,8,9 - ثماني هيدرو بيورين .

4- بعد عدة محاولات تمكنا من إيجاد الشروط الملائمة لتحضير المركب

1,3,7 - ثلاثي مثيل 2,6,8,9 - سداسي هيدرو بيورين من إرجاع الكافيين باستعمال

هيدريدات ليثيوم ألنيوم هيدريد بطريقة بسيطة و بمرود لبأس به . حيث قمنا بإرجاع كل من

الايمن الموجود في الحلقة الخماسية و مجموعتي الأمد في الحلقة السداسية ، و هذا ما أثبتته

التحليل الطيفي بمطيافية تحت الحمراء للمركب الناتج و ذلك بظهور شريط خاص بالوظيفة

الأمينية و اختفاء كل من شريط الوظيفة الايمينية و شريطي مجموعتي الأمد .

كما تطرقنا إلى دراسة تأثير و فعالية الكافيين و مشتقاته على ثلاث أنواع من البكتيريا مختارة

كعينة ميكروبية من مستشفى محمد بوضياف بورقلة .

فكانت النتائج على النحو التالي :

- الأنواع البكتيرية الثلاثة المختارة بصفة عامة ، كانت حساسة تجاه الكافيين لكن كانت

متوسطة الحساسية بالنسبة للمركب A و C و B

و من النتائج المتحصل عليها استطعنا تقدير فعالية الكافيين و مشتقاته على الميكروبات المختارة

بأنها ذات فعالية متوسطة .

و أخيرا لتأكيد النتائج المحصل عليها لابد من تطبيق طرق أخرى لتحليل نتائج التخليق (تحديد

صيغ المركبات) ، و دراسة الفاعلية البيولوجية للكافيين و مشتقاته مع أنواع أخرى من البكتيريا

و الكائنات الحية الأخرى مثل الفيروسات و الفطريات . وانطلاق من الميزة الأساسية للكافيين ألا

و هي التنبيه العصبي فيمكن دراسة مدى تأثير هذه المركبات على المراكز العصبية و مقارنتها

مع تأثير الكافيين بعد معرفة نسبة قدرة هذه المركبات على التسمم .

و دراسة مدى تأثير هذه المركبات على المراكز العصبية

المراجع

المراجع الأجنبية

- [2] – J . Bruneton . Pharmacognosie . (1999) . 3eme edition . Ed . Tec et .
Doc . pp **783-1086** .
- [4] – E . Stahl . (1975) . Analyse Chromatographique et microscopique
des drogues . Ed . Tec et Doc . Paris . pp **90-125 , 219-222** .
- [6] – Lespagnoi . A . (1975) . Chimie des médicaments . Tome 2 . Ed : tec
et Doc . Paris .pp **411-418** .
- [7] -Reid , S.J . and Good , T. J . (1982) . Use of chromatographic mode
sequencing for sample preparation in the analysis of caffeine and
Theobromine from beverages . J . Agri .F ..Chem . **30: 775-778** .
- [8] –Gilbert, R.M., Marshman, J.A., Schweider, M., Berg, R. (1976).
Caffeine content of beverages as consumed.. Canadian Medical
Association Journal, **114 : 205-211** .
- [9] - Groisser, D.S. (1978). A study of caffeine in tea. American Journal
of Clinical Nutrition. **31:1727-1732**.
- [10] - Bunker, M.L. and McWilliams, M. (1979). Caffeine content of
common beverages. Journal of American Dietetic Association .
74:23-81.
- [11] -Galasko, G.T.F., Furman, K.I. and Alberts, E. (1989). The caffeine
contents of non-alcoholic beverages. Fd Chem. Toxic.. **27: 49-51**.
- [12] – Roland . R ., Ellem . M . (2000) .Is caffeine a flavoring agent in cola
soft drinks . Arch . Fam . Med . **9: 727-734** .

- [13] – M. Porta, J. Vioque, D. Ayude, J. Alguacil, M. Jaridol, L. Ruizl .
J.A. Murillo. (2003) . Coffee drinking: The rationale for treating it as
a potential .effect modifier of carcinogenic exposures . European
Journal of Epidemiology . **18: 289–298** .
- [14] - Yang M, Kawamoto T, Katoh T, Mastuno K. (1998).
Effects of lifestyle and genetic polymorphisms on consumption
of coffee or black tea and urinary caffeine levels. Biomarkers
3: 367–377.
- [15] – Massey . LK. (1998) .Caffeine and the elderly.. Drugs Aging .
13: 43–50.
- [16] – Shao, W.-F., Powell, C., Clifford, M. N. (1995). The analysis by
HPLC of green tea, black tea and Puer teas produced in Yuanan.
Journal of the Science of Food and Agriculture. **69: 535-540**.
- [18] – Yeo, S. G., Park, Y. B., Kim, I. S., Kim, S. B., & Park, Y. H. (1995).
Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea,
oolong tea and black tea. Journal of the Korean Society of Food and
Nutrition. **24(1) : 154-159**.
- [19]- Somorin .O .(1974) .Caffeine distribution in .acuminata. T. cacao.
And C. arabica . J .Fd .Sci .**39:1055-1056** .
- [20] – T.E .Graham , E.Hibbert ., P.Sthasivan . (19888) . Metabolic and and
exercice endurance effects of coffee and caffeine ingestion
J.Appl .Physiol . **85:883-889**.

- [21] - Joao P. Telo ., Abel J. S ., C. Vieira . (1997) . Mechanism of free radical oxidation of caffeine in aqueous solution . J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. (9): **1755 – 1758** .
- [22] – Maram Ravi Kumar ., Mundra Adinarayana . (2000) . Oxidation of caffeine by phosphate radical anion in aqueous solution under anoxic conditions . Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.). **112(5) : 551–557** .
- [23] - Axelrod, J., J. Reichenbath .(1953) . The fate of caffeine in man and a method for its estimation in biological material. J. Pharmacol. Exp. Ther. **107:519-523** .
- [24] – Routh . J .I ., N .A . Shame . E.G. Arrendond., W . D . Paul . (1969) Determination of caffeine serum and urine . Clin . Chem . **15:661-668**
- [25] – Adam . D.J ., Mainwaring J . Quigley M . N . (1996) . Extraction of caffeine from Beverage plants . J . Chem. Educ . **73: 1171**.
- [26] – Welch . R.M ., S-Y. Hsu ., DeAnglis . (1977) . Effect arochlor Phenobarbital , and polycyclic aromatic hydrocarbons on the plasma clearance of caffeine in rats . Clin Pharm . ther . **22:791-798** .
- [27] - Reichert, M. (1978) . Micromethod for the determination of caffeine and theophylline allowing direct application of biological fluids to thin-layer chromatography plates. J. Chromatogr. **146:175-180**.
- [28] - Bradbrook, I. D., C. A. James, P. J. Morrison, and H. J. Rogers. (1979) . Comparison of thin-layer and gas chromatographic assays for caffeine in plasma. J. Chromatogr. **163:118-122**.

- [29] - Grab, F. L., and J. A. Reinstein. (1968). Determination of caffeine in plasma by gas chromatography. *J. Pharm. Sci.* **57:1703-1706** .
- [30] - Demas, T., and B. E. Statland. (1977). Prolonged half-life of serum caffeine in patients with hepatic insufficiency. *Clin. Chem.* **23:1156**.
- [31] - Merriman, R. L., A. Swanson, M. W. Anders, and M. E. Sladek. (1978). Micro-determination of caffeine in blood by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **146:85-90**.
- [32] – Yang M , J., Orton M.L . et Pawliszyn . J (1997). Quantitative determination of caffeine in beverages using a combined SPME-GC/ MS method – *J . Chem . Ed .* , **74:1130-1132** .
- [33] - Blauch, J.L. and Tarka, Jr., S.M. (1983). HPLC determination of caffeine and theobromine in coffee, tea an instant hot cocoa mixes. *Journal of Food Science.* **48:745-750**.
- [34] – Terada, H. and Sakabe, Y. (1984). High-performance liquid chromatographic determination of theobromine, theophylline and caffeine in food products. *Journal of Chromatography.* **291: 453-459**.
- [35] - Gray J . (1998). Caffeine, coffee and health. *Nutrition and Food Science .* **6:314-319** .
- [36] - Barone . J.J ., al . (1996) Caffeine consumption. *Food and Chemical Toxicology .* **34:119-129** .
- [37] - Stavric, B. (1988). Methylxanthines: Toxicity to humans. 2. Caffeine. *Fd. Chem. Toxicol.* **26:645-662**.

- [38] - pagano, R ., E. Negri , A . Decarli. (1988) . Coffe drinking and prevalence of bronchial asthma . Arch . Fam . Med . **3: 317-322**.
- [39] - Ahmad, R. A ., R. D. Watson. (1990) . Treatment of postural hypotension: A review. Drugs . **39:74-85**.
- [40] - Hestline, D., M. Kakkak, K. Woodhouse, I. A. MacDonald, and J. F. Potter. (1991) .The effect of caffeine on postprandial hypotension in the elderly. J. Am Geriatr. Soc. **39:160-164**.
- [41] - Dulloo, A., C. Geissler, T. Horton, A. Collins ., D. Miller. (1989). Normal caffeine consumption: Influences on thermogenesis and daily energy expenditures in lean and post-obese human volunteers. Am. J. Clin. Nutr. **49:44-50**.
- [42] - Lamarine, R. J. (1994). Selected health and behavioral effects related to the use of caffeine. J.Commun. Health . **19(6):449-466**.
- [43] -. Rosenberg L. (1990). Coffee and tea consumption in relation to the risk of large bowel cancer. A Review of Epidemiological Studies. Cancer Letters . **52:163-171**.
- [44] - Jacobsen BK., al . (1986). Coffee drinking, Mortality and Cancer Incidence: Results from a Norwegian prospective study. Journal of the National Cancer Institute . **76:823-831**.
- [45] - Gordis, L (1990). Consumption of methylxanthine-containing beverages and risk of pancreatic cancer. Cancer Letters.**52:1-12** .
- [46] - Lubin F ., al. (1990) Consumption of methylxanthine-containing beverages and the risk of breast cancer. Cancer Letters. **53:81-90** .

- [47] - Grobbee, DE, et al (1990). Coffee, caffeine and cardiovascular disease in men. The New England Journal of Medicine .
323:1026-1032 .
- [48] - Woodward M ., al . (1999). Coffee and tea consumption in the Scottish Heart Health Study follow-up: conflicting relations with coronary risk factors, coronary disease and all-cause mortality. J.Epidemiology and Community Health. **53: 481-487** .
- [49] - Ross G ., al (2000). Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson Disease. JAM .**283:2674-2679** .
- [50] - Ascherio A ., al (2001). Prospective study of caffeine consumption and risk of Parkinson's disease in men and women. Ann Neurol .
50(1):56-63 .
- [51] - Sharkarnis, V. F. (1970). A comparative study on the action of caffeine on the X-chromosome nondisjunction and recessive sex-linked lethal mutation of different *Drosophila melanogaster* stocks (Russ.).Genetica . **6:83-87**.
- [52] - Clark , A . M . ., E. G . Clark. (1998) . The genetic effects of caffeine in *Drosophila melanogaster* . Mutat . Res. **6:27-234** .
- [53] – Walton , H.M. ., Eiceman .G.A ., otto .J.L. (1979) .
Chromathography of xanthines on ion-exchange rasins.
J. Chromatogr . **180:145-156**.
- [55] - Niemyjska, M.. Skulski, L.. Zdrojewska, H. .(1990) Direct aromatic mercuration by means of mercury(II) trichloroacetate prepared *in situ*. Bull. Polish Acad. Sci., Chem. **38: 41-46**.

- [56] -Skulęski, L.; Wrochinęski, P.(1983) . Bromo- and iodo-demercuration reactions of 8-acetoxymercurio derivatives of theophylline and Theobromine , caffeine . (in Russian). *Khim. Geterotsykl. Soed.* **15:543-546**.
- [57] – Lech Skulski ., Piotr Wroczynski (2001) . Some Heteroaromatic Organomercurials, !their synthses and reaction : A reviews of our Research (1980-2000) . *Molecules*. **6:927-958** .
- [58] - Skulski, L.; Kujawa, A.; Wroczynski, P. (1991) Fluoro-demercuration of some symmetric organomercurials by means of the liquefied, neat sulfur tetrafluoride. *Bull. Polish Acad. Sci., Chem.* **39: 23-28**.
- [59] - Skulski, L.; Wroczynski, P.(1982) . Some new halo- and cyano-demercuration reactions of 8-acetoxymercurio- and 8,8' - mercuriobis-caffeines. *Polish J Chem.* **56: 975-982**.
- [62] – Yoon . N.M. (1996) . Selective reduction of organic compounds with aluminum and borohydride . *Pure . Appl . Chem* . **68: 843** .
- [63] -.R.D. Barnes. (1974) . Synthesis of ¹⁴C-Diethylamine and ¹⁴C-Lysergic Acid Diethylamide . *J. Lab. Comp. Radiopharm* **10(2) : 207** .
- [64] - D. A. Evans, K. T. Chapman, E. M. Carreira . (1988) . Directed reduction of .beta.-hydroxy ketones employing tetramethylammonium triacetoxyborohydride . *J. Am. Chem. Soc.* **110(11); 3560-3578**.

- [65] - . Cossy, J.; Belotti, D.; (1997). Synthesis of ML-3000, an Inhibitor of Cyclooxygenase and 5-Lipoxygenase . J. Org. Chem .
62(23) : 7900-7901 .
- [66] - Fatiha Belferdi . Abdelhamid Belattar .(2001) . Synthesis of the Aspidosperma Alkaloid Na-Formyl-16- α - Hydroxyaspidospermidine Molecules . **6 :803-814 .**
- [67] –Reinhard Bruckner . (1996) . Mécanismes Réactionnels en chimie organique . 1^{ème} éd . Spektrum akademischer Verlag .
- [68] - Godefroi, E. F. (1999). The reductive ring cleavage of 1,3-disubstituted imidazolium iodides by sodium borohydride, J. Org. Chem. . **33(2): 860.**
- [69] - Gordon W. Gribble . (1998) . Sodium borohydride in carboxylic acid media: a phenomenal reduction system . Chem Soc Rev.
27 : 395-404 .
- [70] – Gordon W. Gribble, Mark G. Saulnier, Mukund P. Sibi, Judy A. Obaza-Nutaitis . (1984) . Synthesis and Diels-Alder reactions of 1,3-dimethyl-4-(phenylsulfonyl)-4H-furo[3,4-b]indole. A new annulation strategy for the construction of ellipticine and isoellipticine . J. Org. Chem . **49(23) : 4518-4523 .**
- [71] - James A. Marshall, William S. Johnson . (1998) . Reduction of Steroidal Enamines . J. Org. Chem . **28(2) : 421-423 .**
- [72] – Jao .K .(2000) .Reduction the imidazoline by borohydride sodium . Science . in China (series B) . **43:69-75.**
- [73] – D . R . Ouahrani . (1988) . Synthésés totales d'alcaloides indolique en serie : aspidosperma . these de docteur université de reims .p **59**

- [74] - Downs . A.J . , Pulham . C .R . (1994) . the hydrides of aluminum , gallium , Indium, and thallium – A Reevaluation . Chem. Soc . Rev **23:175**.
- [75] – Dr.Habil. Benedikta D. Puodziunaite ., Dr. Regina Janciene, Dr. Lidija Kosychova ., Dr. Zita Stumbreviciute . (2000). On the synthetic way to novel peri-annelated imidazo[1,5]benzodiazepinones as the potent non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Arkivoc . **1: 521-522** .
- [76] – Padwa, A., Harring., S. R. Semones, M. A . (1988) . Cycloaddition Reaction of Mesoionic Betaines as an Approach toward Trialkylindoline Alkaloids . J. Org. Chem . **63(1) :44-54** .
- [77] - Ahmed F. Abdel-Magid., Kenneth G. Carson ., Bruce D. Harris., Cynthia A. Maryanoff., Rekha D. Shah . (1996) . Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures . J. Org. Chem. **61 : 3849-3862** .
- [78] – J. Malek .(1988) . reduction by metal alkoxyluminuim hydride . carboxylic acids and derivatives , nitrogen compound , and sulfur compound . org. React . **36: 249-590** .
- [79] – Larpent . J. P ., Gougaud . m .L . (1990) . Mémento Tethnique de microbiologie . 2éme Ed . Tec. Doc. –Lavoisier **p 75-203** .
- [81] – Rozier .J. Bolnot. F., Carlier . V . (1985) Bases Microbiologique de l'Hygiene des Aliments . Maisson Alfort Pairs. **P 18 –115** .
- [82] - Sirot . J.(1990) : Evaluation de l'activité antibactérienne des antibiotiques *in vitro*. In : L. LE MINOR et M. VÉRON : Bactériologie médicale . 2^{ème} éd., Flammarion, Paris . **pp. 297-315**.
- [83] – Courvalin .P .(1992). Interpretative reading of antimicrobial susceptibility tests. ASM News . **58:368-375**.

- [84] - Jorgensen . J.H., Ferraro .M. J .(1998). Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices. Clin. Infect. Dis . **26** : 973-980.
- [85] - Robert- Dermnet . S . (1995) . Antibiotiques et antibiogrammes. Décarie Vigot, Montréal . **p 322**.
- [86] - Ericsson .H . M . O Sherris .J .C . (1971).Antibiotic Sensitivity Testing.Report of an International Collaborative Study. – Actes .path. microbiol. scand., B Suppl. **pp . 90 ,217**.
- [87] - Baurer . A , W ., Kirry . W.M.M ., Sherris.J.C.A ., Turch .M (1966) .Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. - Amer. J. Clin. Pathol., **45: 493-496**.
- [88] - Guerin- Faublée . V., Carret .C. (1999) . L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales GTV-INRA . **pp .5-12**.

المراجع العربية

- [1]- الدكتور م . هيكل و الدكتور ع . عبد الرزاق عمر . (1993) . النباتات الطبية العطرية . الطبعة الثانية . الناشر منشأة المعارف بالإسكندرية . ص 121 ، 123 ، 125
- [3] - الدكتور حمد بن عبد الله اللحيدان . الدكتور محمد بن إبراهيم الحسن . سالم سليم الذياب (1996) . الطبعة الثانية مطابع جامعة الملك سعود . ص 120 ، 129 .
- [5] - ستانلى ه . باين . جيمس ب . هندريكسون . دونالدو ج . كرام جوريس . هانموند ترجمة أحمد عبد العزيز ياسين . جمال حسن تمام . (1983) . الدار الدولية للنشر و التوزيع . المجلد الثاني . ص . 385-840 .
- [17] - الدكتور ح . وفائي و الدكتور ي . قدسي . الكيمياء العضوية المطيافية العضوية و الاصطناع الكيماوي . ديوان المطبوعات الجامعية . بن عكنون . ص 173-176
- [54] - الخياط عبد العزيز . شحاتة عيسى . مرسينحيفة . غيد اللطيف عبد الرزاق . (1981) علو الأدوية و السموم البيطرية . وزارة التعليم العالي . بغداد . ص 88 ، 90 .
- [60] - ستانلى ه . باين . جيمس ب . هندريكسون . دونالدو ج . كرام جوريس . هانموند ترجمة أحمد عبد العزيز ياسين . جمال حسن تمام . (1983) . الدار الدولية للنشر و التوزيع . المجلد الأول . ص . 540 - 555 .
- [80] - د . محمد عبد المحسن معارج . (1995) . وراثه الاحياء الدقيقة . شركة الشهاب للنشر و التوزيع . ص . 18 - 20 .