الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر -الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar –EL OUED

كلية العلوم الدقيقة

Faculté de Sciences Exactes

قسم الكيمياء

Département de Chimie

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en chimie

تخصص :كهروكيمياء تحليلية و محيط

عنوان الاطروحة :

تصنيع , تشخيص , تقدير الفعالية البيولوجية و الفعالية المضادة للطفرات لبعض مشتقات N– فيروسينيل ميثيل نتروانيلين

من اعداد الطالبة :همامي هادية

نوقشت يوم: 16 / 03 / 2017

أمام لجنة المناقشة:

أ.د. وهراني محمد رضا	أستاذ بجامعة الوادي	رئيسا
أ.د.سعيدي مختار	أستاذ بجامعة ورقلة	مناقشا
أ.د. لحرش مختار	أستاذ بجامعة الجلفة	مناقشا
أ.د. بشكي لزهر	أستاذ بجامعة ورقلة	مناقشا
أ.د. بوبكري شريفة	أستاذ بجامعة الوادي	مناقشا
أ.د.العانز التهامي	أستاذ بجامعة الوادي	مقررا

الموسم الجامعي :2017/2016

Abstract:

In this work we synthesized a series of N-(ferrocenylmethyl)nitroaniline starting from the quaternary salt ferrocenylmethyltrimethylammonium iodide and the corresponding nitoraniline, the obtained products were acylated using different acylating reagents. All obtained derivatives were characterised by usual spectroscopic and electrochemical techniques.

The antioxidant activity of synthesized compounds were evaluated using electrochemical and spectrophotochemical methods, in the former the superoxyde anion radicals were used and in the later 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl - DPPH - radicals were used.

The free bending energy between the two radicals and the studied potential antioxidant compounds were determined from electrochemical and spectrophotochemical data.

In addition the antimutagenic activity was evaluated by studding the interaction between deoxyribonucleic acid and the synthesized derivatives, also the binding parameters such as free binding energy and ratio of binding constant were calculated from electrochemical data and validated by electronic spectroscopy. The bending sites sizes of bounded derivatives with deoxyribonucleic acid were calculated from cyclic voltametry experiments.

To further confirm the interaction between deoxyribonucleic acid and the synthesized derivatives the coefficient diffusion of free and bounded forms of the compounds with deoxyribonucleic acid was calculated from electrochemical data.

Keywords: ferrocene derivatives, antioxidant activities, antimutagenic activity, superoxide anion radical, DPPH, binding parameters, cyclic voltammetry, coefficient diffusion.

الملخص:

في عملنا هذا قمنا باصطناع مشتقات N –فيروسنيل ميثيل نترو أنيلين انطلاقا من الملح الرباعي الملح الرباعي لفيروسنيل مثيل ثلاثي مثيل أمنيوم و النتروانيلين , المشتقات الناتجة لهذا التفاعل ترفق بعملية اسيلة. اذ ثم اثبات الصيغ البنيوية لهذه المركبات باعتماد التقنيات الطيفية و التقنية الكهروكيميائية .

قدرت الفعالية المضادة للاكسدة للمشتقات المصنعة باعتماد تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي و تقنية الاشعة فوق البنفسجية و المرئية باستخدام الجذرين:جذر الاكسجين النشط و جذر ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل .

الطاقة الحرة للترابط لتداخل احد الجذرين مع المشتقات المصنعة حددت انطلاقا من الطريقتين الطيفية و الكهروكيميائية .

بالاضافة الى ذلك تم تقدير الفعالية المضادة للطفرات من خلال تداخل المشتقات مع الحمض النووي منقوص الاكسجين , معاملات الارتباط , الطاقة الحرة للترابط و نسبة الترابط يمكن حسابها انطلاقا من الطريقة الكهروكيميائية لتدعم بعدها بالطريقة الطيفية . حجم موقع الرابطة للتداخل يحدد انطلاقا من البيانات او المعطيات الفولطاأمبيرومتري الحلقي .

للتحقق من حدوث التداخل يمكن حساب معامل الانتشار للهيئة الحرة و المرتبطة للمركب انطلاقا من معطيات كهروكيميائية .

الكلمات المفتاحية :

المشتقات الفيروسينية ,الفعالية المضادة للاكسدة ,الفعالية المضادة للتطفر , جذر الاكسجين النشط , جذر ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل الفولطاأمبيرومتري الحلقي, الطاقة الحرة للترابط ,معامل الانتشار , ثابت الترابط .

I- قـــــائمـــــة الـــــرمـــــوز

الاختصار	المقصد
ΔE	المصعدي و المهبطي النتوء كموني بين الفرق
ΔG	الطاقة الحرة للترابط
A	الامبير
A_0	الامتصاصية
ACN	الاسيتونتريل
ATP	ادينورين ثلاثي الفوسفات
BHA	Buthyl hydroxyl anizole
BHT	Buthyl hydroxy toluene
C	التركيز
C_0	التركيز الابتدائي
VC	الفولطاامبيرومتري الحلقي
CV	الزجاجي الكاربون مسرى
cyt p 450	cytochromes P450
D	معامل الانتشار
DMF	ثنائي ميثيل فورماميد
DNA	الحمض الريبي النووي منقوص الاكسجين
DPPH	ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل
E	الكمون
Epa	الكمون المصعدي
Epc	الكمون المهبطي
ECS	المشبع الكالوميل مسرى
FRAP	اختبار ارجاع ايون الحديد
HIV	فيروس فقدان المناعة المكتسبة
I%	نسبة التثبيط المئوي للجذر
IC_{50}	نسبة التثبيط المئوي النصفي للجذر
In Vitro	الاختبار المخبري
In Vivo	الاختبار الحيوي
Ipa	نتوء تيار الشكل المؤكسد
Ipc	نتوء تيار الشكل المرجع
K	معامل الارتباط
M	المولاري

mM	ميلي مول
O_2	الاكسجين
$O_2^{\cdot -}$	جذر الاكسسجين
Ox	العنصر المؤكسد
PR	اختبار القدرة الارجاعية
R	ثابت الغازات المثالية
Red	العنصر المرجع
RMN ^{13}C	الرنين النووي المغناطيسي للكربون
RMN ^{1}H	الرنين النووي المغناطيسي للهيدروجين
RNA	الحمض الريبي النووي
s	الثانية
T	درجة الحرارة
THF	رباعي هيدروفيران
UV/Visible	بنفسجي والفوق/المرئي مطيافية
υ	المسح سرعة

فهـــرس المحتـويات

المحتـــوى	الصفحة
مقدمة عامة	02
الفصل الاول : الدراسات السابقة	
تصنيع المشتقات الفيروسينية	
I. الاصطناع العضو معدني	07
1.I. الكيمياء العضومعدنية	07
2.I. الخواص الفيزيائية والكيميائية للمركبات العضوية المعدنية	07
3.I. كيمياء الفيروسان	07
1.3.I. خصائص الفيروسان	08
2.3.I. أهم تفاعلات الفيروسان	10
4.I. اهم الدراسات المقامة في التحضير العضومعدني	11
1.4.I. خصائص المشتقات الفيروسينية المدروسة	12
5.I. اهم تطبيقات الكيمياء العضومعدنية في المجال الحيوي	12
1.5.I. التأثير المضاد للسرطان	12
2.5.I. التأثير المضاد للحساسية و الإلتهاب	13
3.5.I. النشاط المضاد للفيروسات و البكتيريا	13
دراسة الفعالية البيولوجية	
II. الفعالية البيولوجية	16
1.II. الفعالية المضادة للأكسدة	16
1.1.II. تعريف الجذور الحرة	17
2.1.II. فعالية الجذور الحرة	17
3.1.II. متابعة حركية الجذور الحرة	17
4.1.II. تفاعلات الأكسدة في النظام البيولوجي	18
5.1.II. الأسباب البيئية المسببة لتكوين الجذور الحرة	18
6.1.II مضادات الأكسدة	18
7.1.II. تصنيف مضادات الأكسدة	19
1.7.1.II. مضادات الأكسدة الطبيعية	19
2.7.1.II. مضادات الأكسدة الاصطناعية	19
2.II. الفعالية المضادة للطفرات	22

II.2.1. مقدمة	22
II.2.2. بنية الحمض الريبي النووي منقوص الاكسجين	22
II.2.3.وظيفة الحمض النووي منقوص الاكسجين	24
II.2.4. الطفرة الوراثية	24
II.2.5. أنواع الطفرات الوراثية	25
II.2.5.1. الطفرة النقطية	25
II.2.5.2. الطفرة العكسية	25
II.2.5.3. الطفرات التي تخص قطع DNA الطويلة	26
II.2.6. أهمية الطفرة	26
II.2.7.المطفرات	26
II.2.7.1. آليات استحداث الطفرات	26
II.2.7.2. تلف الحمض النووي و تشكل الاورام	27
II.2.7.3.العوامل " طفرات "المؤدية لحدوث السرطان	27
II.2.7.3.1. تماكب القواعد الأزوتية	27
II.2.7.3.2. العوامل الفيزيائية	28
II.2.8.العلاج الكيميائي	30
II.2.9.آلية العلاج الكيميائي	32
تقنيات تقدير الفاعلية البيولوجية	
III. تقدير الفاعلية البيولوجية	34
III.1. التقنيات الطيفية	34
III.1.1. .مطيافية الأشعة المرئية و الفوق بنفسجية	34
III.2. تقنيات التحليل الكهروكيميائي	35
III.2.1. التقنية الفولطاأمبيرومترية الحلقية	35
III.2.2. تفسير منحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي	36
III.2.3. العبارات الرياضية لشدة التيار وكمون النتؤات في حالة انتقال الشحنة	37
III.2.3.1. نظام نصف سريع (نصف عكوس)	37
III.2.3.2. نظام بطيء (غير عكوس)	38
III.2.3. 3. نظام سريع (عكوس)	38
III.3. الخصائص المميزة لمختلف انظمة انتقال الشحنة	39
III.4. التقنية الفولطاأمبيرومترية لدراسة مضادات الأكسدة	40
III.4.1 . مبدأ الطريقة	40

III.2.4. الية تفاعل مضادات الاكسدة مع الجذور الحرة 41

الفصل الثاني : مناقشة النتائج

تصنيع المشتقات الفيروسينية

I.1. تصنيع المشتقات الفيروسينية 48

I.2. مبدأ العمل 48

I.3. تصنيع المركبات الأمينية 49

I.1.3. تصنيع الملح اليودي لفيروسينيل ميثيل ثلاثي ميثيل أمونيوم 49

I.1.1.3. تحضير ميثيلين ثنائي –(ثنائي ميثيل امين) " كاشف مانيش " 49

I.2.1.3. تحضير N –ثنائي ميثيل أمينو ميثيل فيروسان 50

I.3.1.3. تحضير يوديد ميثيل فيروسينيل – ثلاثي ميثيل امونيوم 50

I.2.3. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)-,2, 3, 4 - نتروانيلين 52

I.1.2.3. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل) 2- نتروانيلين 52

I.2.2.3. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل) 3- نتروانيلين 53

I.3.2.3. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)- 4- نتروانيلين 54

I.4. تصنيع المركبات الأميدية 56

I.1.4. تصنيع N-(2- نتروفينيل) N- (فيروسينيل ميثيل) أستاميد 56

I.2.4. تصنيع N-(3- نتروفينيل) N- (فيروسينيل ميثيل) أستاميد 57

I.3.4. تصنيع N-(4- نتروفينيل) N- (فيروسينيل ميثيل) أستاميد 58

دراسة الفعالية البيولوجية

II.2.دراسة الفعالية البيولوجية 60

II.1.2. الفعالية المضادة للأكسدة 62

II.1.1.2. تقدير الفعالية المضادة لجذر DPPH بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية و المرئية 62

II.1.1.1.2.دراسة التداخل DPPH –معقد 65

II.2.1.2. تقدير الفعالية المضادة لجذر الاكسجين النشط بواسطة تقنية الفولطامبيرومتري الحلقي 69

II.1.2.1.2.دراسة التداخل O_2 - مضاد الاكسدة 70

II.2.2.1.2.دراسة التداخل O_2 – حمض الاسكوربيك 70

II.3.2.1.2.دراسة التداخل O_2 –حمض الغاليك 75

II.4.2.1.2.دراسة التداخل O_2 –2FMNA 79

II.5.2.1.2. دراسة التداخل O_2 –3FMNA 80

II.6.2.1.2.دراسة التداخل O_2 –4FMNA 86

II.7.2.1.2.دراسة التداخل O_2 -3FMNAc و O_2 –4FMNAc 90

II.2.2. الفعالية المضادة للطفرات 97

II.2.2. 1. دراسة التداخل DNA –فيروسان بواسطة الفولطامبيرومتري الحلقي 98

II.2.2. 1.1. دراسة التداخل DNA– 2FMNA 99

II.2.2. 2.1.دراسة التداخل DNA– 3FMNA 106

II.2.2. 3.1.دراسة التداخل DNA– 4FMNA 112

II.2.2. 4.1. دراسة التداخل DNA– 3FMNAc 118

II.2.2. 5.1.دراسة التداخل DNA– 4FMNAc 124

II.2.2. 2.دراسة التداخل DNA –معقد بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية و المرئية 130

II.2.2. 1.2..دراسة التداخل DNA –فيروسان بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية و المرئية 131

II.2.2. 2.2. دراسة التداخل DNA– 2FMNA 131

II.2.2. 3.2. دراسة التداخل DNA– 3FMNA 134

II.2.2. 4.2. دراسة التداخل DNA– 4FMNA 136

II.2.2. 5.2.دراسة التداخل DNA- 3FMNAc و DNA– 4FMNAc 138

II.2.2. 6.2. مناقشة النتائج 143

الفصل الثالث : الدراسة التجريبية

تصنيع المشتقات الفيروسينية

I.1. تصنيع المشتقات الفيروسينية 148

I.1.1. الأجهزة المستعملة 148

I.2.1. المتفاعلات و المواد المستعملة 149

I.3.1. الشروط العامة لإجراء التفاعلات 149

I.4.1. تصنيع الملح اليودي لفيروسينيل ميثيل ثلاثي ميثيل أمونيوم 149

I.4.1. 1. تحضير ميثيلين ثنائي –(ثنائي ميثيل امين) 149

I.4.1. 2. تحضير ن،ن- ثنائي مثيل امينو مثيل فيروسان 150

I.4.1. 3. تحضير يوديد ميثيل فيروسينيل – ثلاثي ميثيل امونيوم 150

I.5.1. تصنيع الأمينات الفيروسينية 151

I.5.1. 1. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)-2- نتروانيلين 151

I.5.1. 2. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)-3- نتروانيلين 152

I.5.1. 3. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)-4- نتروانيلين 153

I.6.1. تصنيع الأميدات الفيروسينية 154

I.6.1. 1. تصنيع N-(3- نتروفينيل) N- (فيروسينيل ميثيل) أستاميد 154

I.6.1. 2. تصنيع N-(4- نتروفينيل) N- (فيروسينيل ميثيل) أستاميد 155

II. 1. تقدير الفعالية البيولوجية 158
II.1.1.تقدير الفعالية المضادة للاكسدة 158
II.1.1. 1. تقدير الفعالية المضادة للاكسدة "اختبار DPPH " 158
II.1.1. 2. تقدير الفعالية المضادة للجذور " اختبار $O_2^{\bullet}$ ": 159
II.2. تقدير الفعالية المضادة للطفرات 161
II.1.2 الشروط العامة لإجراء التفاعلات 161
II.2.2. المحاليل المعتمدة لاستخلاص الحمض النووي منقوص الاكسجين 161
II.3.2. استخلاص استخلاص الحمض النووي انطلاقا من دم الدجاج 161
II.2. 3. 1. تجميع الدم 161
II.2. 3. 2.انحلال الدم 162
II.2. 3. 3.خطوات استخلاص الحمض النووي 163
II.2. 3. 4.تقدير الفعالية المضادة للطفرات 165
II.3.2. 4. 1.بواسطة الطريقة الكهروكيميائية 165
II.3.2. 4. 2.بواسطة مطيافية الاشعة المرئية و الفوق بنفسجية 165
الخاتمة العامة 169