الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
كلية التكنولوجيا

مذكرة تخرج لنيل شهادة
ماستـــر أكاديمـــي

ميـــدان: العلوم والتكنولوجيا
شعبـــــة: هندسة الطرائق
تخصـــــص: هندسة كيميائية

مـن إعداد الطالبـات:

قـــنوني مـــنال / خـــــلو أمـال / عـــثماني ســـناء

الموضوع :

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الطبيعية و الاصطناعية وتحديد معاملات الرابطة لجذر DPPH و جذر O_2

نوقشت في: 2020/10/01

أمام لجنة المناقشة:

د. فضيل حنان	أستاذ محاضر (ب)	رئيسا	جامعة الوادي
أ. سالمي السعيد	أستاذ مساعد (أ)	مناقشا	جامعة الوادي
د. همامي هادية	أستاذ محاضر (ب)	مشرفا	جامعة الوادي
د. بن الصغير البشير	أستاذ	مساعد مشرف	جامعة الوادي

الموسم الجامعي:2020/2019

شكر وعرفان

﴿ وَلَقَدْ آتَيْنَا لُقْمَانَ الْحِكْمَةَ أَنِ اشْكُرْ لِلَّهِ وَمَنْ يَشْكُرْ فَإِنَّمَا يَشْكُرُ لِنَفْسِهِ وَمَنْ كَفَرَ فَإِنَّ اللَّهَ غَنِيٌّ حَمِيدٌ ﴾ ﴿ لقمان الآية ١٢﴾

الهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك ، لك الشكر والحمد حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك فالشكر أولا و آخرا لله سبحانه و تعالى على إمداده لنا بالقوة والعزيمة لإتمام وانجاز هذا العمل راجينا من المولى أن يجعل فيه نفعا للعباد .

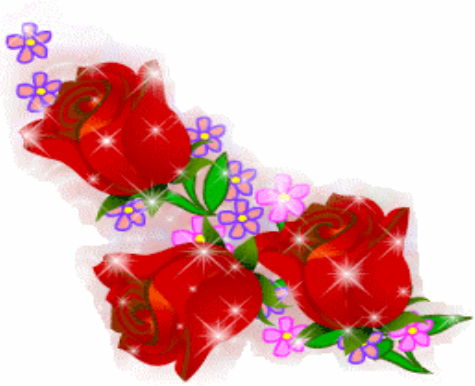
الشكر للحبيب المصطفى خاتم الأنبياء والرسل الذي بعث فينا ليخرجنا من ظلمات الجهل إلى نور العلم

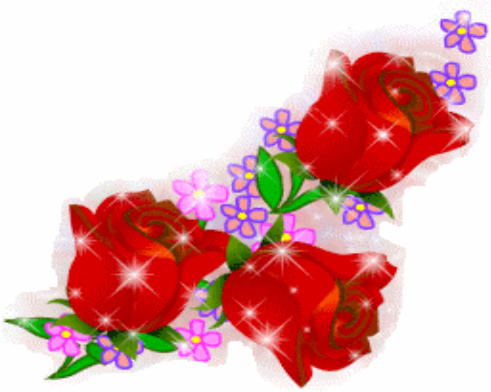
نتقدم بأخلص عبارات الشكر و أسمى عبارات العرفان والامتنان إلى الأستاذة الدكتورة المحترمة الفاضلة **همامي هادية** على قبولها وتحملها أعباء الإشراف على هذا العمل وتقديم كل التوجيهات النصائح اللازمة لإتمام هذا العمل خاصة أبجديات البحث العلمي ، كما نشكرها على المعاملة الطيبة وصبرها علينا طيلة هذه الفترة جزاك الله عنا كل الجزاء والعطاء .

كما نتوجه بالشكر إلى أعضاء لجنة المناقشة لقبولهم مناقشة وتقييم عملنا فردا فردا .

كما لا يفوتنا أن نتقدم بخالص شكرنا إلى كل الأساتذة الكرام الذين اشرفوا على تكويننا خلال مشوارنا الدراسي والى كل أساتذة كلية التكنولوجيا كما تتسع دائرة شكرنا إلى جميع موظفي وعمال المخابر على ما قدموه لنا من نصائح ومساعدات .

كما نتوجه بجزيل الشكر إلى الطالبة **بن قسوم صابرين** التي لم تبخل علينا بنصائحها وتقديم يد المساعدة والى كل من ساهم في مد يد العون والمساعدة أو تقديم الدعم لنا من قريب أو من بعيد ولو بكلمة طيبة أو دعاء .





إهـــــداء

الحمد لله دائما وأبدا و الشكر له ممدود من غير احد على أنّ وفقنا

لإتمام هذا العمل وتقديمه في أحسن حال

أهدي هذا العمل المتواضع إلى من قال فيهما الرحمن " وبالوالدين إحسانا "

أمي الغالية

أبي الغالي

إلـى مصدر قوتي إخـــوتي

إلى كل الأساتذة خاصة أساتذة الهندسة الكيميائية

الى رفقاء المشوار الدراسي زملائي .

منال - آمال - سناء

Byhanderi

قائمة الفهارس

قائمة الفهارس

قـــــائمـــــة الـــــرمـــــوز

الاختصار	المقصد
ΔE	الفرق بين كموني النتوء المصعدي و المهبطي
ΔG	الطاقة الحرة للترابط
A	الامبير
A_0	الامتصاصية
CAN	الاسيتونتريل
BHA	Buthyl hydroxyl anizole
BHT	Buthyl hydroxy toluene
C	التركيز
C_0	التركيز الابتدائي
VC	الفولطاامبيرومتري الحلقي
CV	مسرى الكاربون الزجاجي
D	معامل الانتشار
DMF	ثنائي ميثيل فورماامید
DNA	الحمض الريبي النووي منقوص الاكسجين
DPPH	ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل
E	الكمون
Epa	الكمون المصعدي
Epc	الكمون المهبطي
I%	نسبة التثبيط المئوي للجذر
IC_{50}	نسبة التثبيط المئوي النصفي للجذر
In Vitro	الاختبار المخبري
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
S	الثانية
T	درجة الحرارة
THF	رباعي هيدروفيران
UV/Visible	بنفسجي والفوق/المرئي مطيافية
υ	سرعة المسح

قـــــائمـــــــة الجداول

الجدول	العنوان	الصفحة
1.I	مصادر الجذور الحرة .	9
1.II	خصائص المميزة لجذر ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (DPPH) .	26
1.III	نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة المركبات الفينولية المدروسة .	51
2.III	قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر DPPH مع كل من حمض الأسكوربيك، الالفا – طوكوفيرول، Acide Galliq ، Rutin،BHA، Quercetin.	54
3.III	يوضح المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الاسكوربيك .	56
4.III	قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الاسكوربيك .	57
5.III	قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و حمض الاسكوربيك.	58
6.III	قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع حمض الاسكوربيك عند سرعات المسح المختلفة.	59
7.III	قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الاسكوربيك .	60
8.III	معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الغاليك.	61
9.III	قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الغاليك .	62
10.III	قيم معامل الارتباط K والطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و حمض الغاليك .	62
11.III	قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع حمض الغاليك عند سرعات المسح المختلفة.	63
12.III	قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الغاليك .	64
13.III	معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الكافييك .	65
14.III	قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الكافييك .	66
15.III	قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و حمض الكافئيك .	66
16.III	قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع حمض الكافييك عند سرعات المسح المختلفة.	67
17.III	قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الكافييك .	68
18.III	معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع الفا- طوكوفيرول .	69
19.III	قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لالفا- طوكوفيرول .	70
20.III	قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و الفا- طوكوفيرول.	70
21 .III	قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الفا- طوكوفيرول عند سرعات المسح المختلفة.	71
22.III	قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع الفا- طوكوفيرول	72
23.III	معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع الكاتيشين .	73
24.III	قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي للكاتشين .	73
25.III	قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابطΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و الكاتيشين .	74
26.III	قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الكاتيشين عند سرعات المسح المختلفة.	75
27.III	قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الكاتيشين .	76

28.III	معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع الكيرسيتين .	76
29.III	قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي الكيرسيتين .	77
30.III	قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و الكيرسيتين .	78
31.III	قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الكيرسيتين عند سرعات المسح المختلفة .	79
32.III	قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع الكيرسيتين .	80
33.III	معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع الروتين .	80
34.III	قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي الروتين .	81
35.III	قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و حمض الروتين .	82
36.III	قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الروتين عند سرعات المسح المختلفة.	83
37.III	قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الروتين .	84

قـــــائمـــــــة الاشكال

الشكل	العنوان	الصفحة
1.I	مقطع تحت المجهر للجذور الحرة .	8
2.I	رسم تخطيطي يوضح مصدر مختلف الجذور الحرة المؤكسدة وأنماط تفاعلات الأكسجين المطبقة بيولوجيا .	14
3.I	يوضح بنية فيتامين Tocotrienols tocopherols (E) .	16
4.I	يوضح بنية فيتامين Acide Ascorbique (C) .	16
5.I	يوضح بنية البيتاكاروتين .	17
6.I	يوضح بنيةBHA .	18
7.I	يوضح بنيةBHT (2,6-di-tert-butyl- 4-methylphenol) .	18
8.I	يوضح بنية لـ3,4,5-trihydroxy benzoic acid (GA) .	18
1.II	يوضح التراكيب الرنينية في جزيء DPPH .	26
2.II	تثبيط الجذر الحر DPPH في وجود مضادات الأكسدة .	26
3.II	منحنى الفولطامتري الحلقي للثنائية (OX/Red) لانتقال إلكترون واحد.	31
4.II	الخلية المستعملة في الفولطامتري الحلقي .	32
5.II	منحنى فولطامتري الحلقي لنظام السريع (عكوس) .	33
6.II	منحنيات الفولطاأمبيرومتري الحلقي لنظام عكوس ونصف عكوس وبطيء .	34
7.II	منحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي للأكسجين في 0.1M/DMF من (BU4NPF6) سرعة المسح (100Mv/s) .	36
1.III	التراكيب الرنينية لجزيء DPPH .	48
2.III	طيف الامتصاص لجذرDPPH في المجال فوق البنفسجي والمرئي مذاب في الاسيتونتريل.	48
3.III	الفولطاموغرام الحلقي لجذر DPPH (1.0 mM) مذاب في THF .	49
4.III	تحديد الزمن الـــلازم لاستقرار التفاعل (a) حمض الاسكوربيك (b) حمض الغاليك .	50
5.III	طيف الامتصاص لـــ DPPH و بعض مضادات الاكسدة الطبيعية .	50
6.III	طيف الامتصاص لـــ DPPH والفيتامينC ،الالفا – طوكوفيرول، Rutin ، Acide Galliq، Quercetin،BHA مذابة في الاسيتونتريل والمنحنى الخطي $A_0/(A-A_0)=f(1/C)$	53
7.III	الآلية العامة لتداخل جذر $O_2^{\cdot-}$ مع المركب المدروس .	56
8.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	57
9.III	المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	58
10.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الاسكوربيك (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	59
11.III	المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من حمض الاسكوربيك مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	60
12.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	61
13.III	المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	62
14.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الغاليك (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	63
15.III	المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من حمض	64

	الغاليك مذابين فيACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	
16.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الكافئيك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).	**65**
17.III	المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الكافئيك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).	**66**
18.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الكافئيك (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**67**
19.III	المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من حمض الكافئيك مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**68**
20.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الفا- طوكوفيرول في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).	**69**
21.III	المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الفا- طوكوفيرول في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	**70**
22.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الفا- طوكوفيرول (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**71**
23.III	المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من الفا- طوكوفيرول مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**72**
24.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكاتيشين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	**73**
25.III	المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكاتيشين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	**74**
26.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الكاتيشين (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة.	**75**
27.III	المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من الكاتيشين مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**75**
28.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكيرسيتين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	**77**
29.III	المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكيرسيتين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .	**78**
30.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الكيرسيتين (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**79**
31.III	المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$و في حال وجود (1mM) من الكيرسيتين مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**79**
32.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الروتين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).	**81**
33.III	المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الروتين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).	**82**
34.III	الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الروتين (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**83**
35.III	المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من الروتين مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .	**83**

قـــــائمـــــــة العلاقات والمعادلات

العلاقة	العنوان	الصفحة
1.II	قانون بير لامبرتBeer-Lambert .	26
2.II	معادلة Bencsi – Hildebrand .	28
3.II	معادلة جيبس Gibbs .	29
4.II	علاقة التيارلـ (*Randels*) و (*Sevick*) .	33
5.II	علاقة الفرق في الجهد بين النتوات الأكسدة و الإرجاع عند درجة حرارة 25° .	33
6.II	علاقة التيار للتحول الشحني البطيء.	34
7.II	علاقة التيار للتحول الشحني نصف سريع .	34
8.II	الفرق في الجهد بين منحنيات الأكسدة والإرجاع.	34
9.II	معادلة حساب ثابت الترابط *K*.	37
1.III	معادلة حساب نسبة التثبيط (I%) .	46
2.III	الآلية العامة لاقتناص جذر الـــ DPPH .	49
3.III	معادلة الاكسدة و الارجاع لـجذر الـــ DPPH .	49
4.III	معادلة تحديد نسبة الـــ DPPH المتبقية بعد التفاعل .	49
5.III	معادلة Benesi-Hildebrand .	51
6.III	معادلة Gibbs لحساب الطاقة الحرة للترابط ΔG .	51
7.III	معادلة تحديد النسبة المئوية لتثبيط جذر الـــ DPPH بعد التفاعل .	51
8.III	الاحتماليات الممكنة لتثبيط جذر الـــ DPPH بواسطة حمض الاسكوربيك .	54
9.III	معادلة Nernst لقياس الكمون .	56
10.III	معادلة حساب ثابت الرابطة K .	57
11.III	حساب التيار لـ (*Randels*) و (*Sevick*) .	59

فهرس الموضوعات

شكر و عرفان
الاهداء
فهرس الرموز أ
فهرس الجداول ت
فهرس الاشكال ج
فهرس المعادلات خ
مقدمة عامة 2

الجانب النظري للدراسة

الفصل الاول : الفعالية المضادة للأكسدة

I.1. مقدمـة 7
I.2. الجذور الحرة 7
I.2. 1. تعريف 7
I.2. 2. أنواع الجذور الحرة 8
I.2. 2. 1. الجذور الحرة حسب الاستقرار 8
a. الجذور الحرة التي لها أعمار حياة قصيرة 8
b. الجذور الحرة التي لها أعمار حياة طويلة 8
I.2. 2. 2. الجذور الحرة حسب عدد الإلكترونات 8
a. أحادية 8
b. ثنائية 9
I.2. 3. مصادر الجذور الحرة 9
I.2. 4. دور الجذور الحرة 9
I.2. 5. فعالية الجذور الحرة 9
I.2. 6. عمل الجذور الحرة 10
a. المرحلة الإبتدائية 10
b. مرحلة الإنتشار 10
c. المرحلة النهائية 10
I.2. 7. أضرار الجذور الحرة 11
I.2. 8. آلية متابعة حركية الجذور الحرة 12
I.3. الأكسدة العضوية 12
I.3.1. تفاعلات الأكسدة في النظام البيولوجي 12
I.3.2. الإجهاد التأكسدي 14
I.4. مضادات الأكسدة 14
I.4.1. تعريف 14
I.4.2. تصنيف مضادات الأكسدة 15
I.4.2.1. مضادات الأكسدة الطبيعية 15
a. فيتامين (E) Tocotrienols tocopherols 15
b. فيتامين (C) Acide Ascorbique 16
c. البيتاكاروتين 16
d. الزنــك (Zn) 17
e. السيلنيوم (Sn) 17
I.4.2.2. مضادات الأكسدة الاصطناعية 17

a. BHA 17
b. BHT 18
c. حمض الغاليك Ac.gallique والغالات Gallates 18
I.5. مصادر مضادات الأكسدة 19
I.6. أمراض شائعة ذات العلاقة بالمواد المؤكسدة 19

الفصل الثاني : طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

II. مقدمة 25
II.1. الطرق الطيفية (الكيميائية) 25
II.1.1. مطيافية الأشعة المرئية و الفوق البنفسجية 25
II.1.1.1. إختبار جذر ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل DPPH 26
II.1.1.2 . الخصائص الفيزيائية والكيميائية لجذر DPPH 26
II.1.1.3 . آلية تفاعل جذر DPPH مع مضادات الأكسدة 27
II.1.1.4 . مبدأ إختبار DPPH 27
II.1.1.5 . دراسة تداخل DPPH – مع المركبات المدروسة 28
II.2. الطرق الكهروكيميائية 29
II.2.1. العوامل التي ساعدت في ظهور هذه التقنية 29
II.2.2. المواد التي يمكن دراستها كهروكيميائيا 29
II.2.3. مزايا الطرق الكهروكيميائية التحليلية 29
II.2.4. الطرق الكهروكيميائية المستعملة 30
II.2.4.1. تقنية الفولطامتري الحلقي 30
II.2.4.1.1. تفسير منحنى الفولطامتري الحلقي 31
II.2.4.2.1. الأجهزة المستعملة في الفولطامتري الحلقي 32
II.2.4.3.1. الخصائص المميزة لمختلف الأنظمة في الفولطامتري الحلقي 33
II.2.4.4.1. مجالات استخدام تقنيات الفولطامتري الحلقي 35
II.2.4.2. إختبار جذر فوق الأكسيد O_2^- بواسطة تقنية الفولطامتري الحلقي 35
II.2.4.2.1. جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\bullet -}$) *suferax.dranion* 35
II.2.4.2.2. مبدأ الطريقة 35
II.2.4.2.3. شرح الخطوات المتبعة في العمل 36
II.2.4.2.4. النتائج التجريبية 37
II.3. المعاملات الترموديناميكية 37
II.3.1. ثابت الترابط K 37
II.3.2. الطاقة الحرة للترابط ΔG 39
II.3.3. معامل الانتشار D 39

الجانب التطبيقي للدراسة

الفصل الثالث : طريقة العمل / النتائج و مناقشتها

III. تقدير الفعالية المضادة للاكسدة 46
III.1. تقدير الفعالية المضادة للاكسدة "اختبار DPPH " 46
III.1.1. بواسطة مطيافية الاشعة المرئية و الفوق بنفسجية 46
III.1.1.2. عمليا 46
III.2. تقدير الفعالية المضادة للجذور " اختبار $O_2^{\bullet}$ " 47
III.2.1. بواسطة الطريقة الكهروكيميائية 47

2.2.III. عمليا	47
3.III. النتائج : الفعالية المضادة للأكسدة	48
1.3.III. تقدير الفعالية المضادة لجذر DPPH بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية و المرئية	48
1.1.3.III. دراسة التداخل DPPH – المركبات الفينولية المدروسة	50
2.3.III. تقدير الفعالية المضادة لجذر الاكسجين النشط بواسطة تقنية الفولطأمبيرومتري الحلقي	55
1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 - مضادات الاكسدة	55
1.1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 – حمض الاسكوربيك	55
2.1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 – حمض الغاليك	60
3.1.2.3.II. دراسة التداخل O_2 – Acide Caffeique حمض الكافئيك	64
4.1.2.3.III.دراسة التداخل O_2 – Alfa tocopherol الفا- طوكوفيرول	68
5.1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 – catechine الكاتيشين	72
6.1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 – querctine الكيرسيتين	76
7.1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 – Rutin الروتين	80
4.III. مناقشة ومقارنة النتائج	84
5.III. خاتمة الفصل	86
الخاتمة	90
الملاحق	

مقدمة عامة

مقدمة عامة :

في الآونة الأخيرة زاد اهتمام الباحثين بعلم الكيمياء النباتية و من ثم المركبات الطبيعية المستخلصة من المواد الطبيعية ، و منذ مطلع القرن العشرين ومع التغير في نمط الحياة و السلوك الغذائي ، إضافة إلى العوامل البيئية المحيطة انتشرت أمراض خطيرة ومزمنة والتي تؤدي إلى الزيادة في نسبة التعرض للمواد المسرطنة الناتجة عن التقدم التكنولوجي ، أصبح السرطان السبب الرئيسي لأغلب حالات الوفاة ليصل إلى % 70 خلال العشر سنوات القادمة هذا ما أقرته المنظمة العالمية للصحة في التقرير الذي نشر شهر فيفري 2015 [1] .

تعتبر الجذور الحرة السبب الرئيسي لظهور هذه الأمراض والتي تهاجم خلايا الجسم بشكل كبير وبصفة مستمرة ، حيث تعاني كل خلية من حوالي عشرة آلاف هجمة من الجذور الحرة في اليوم [2] بالإضافة إلى ذلك للجذور الحرة القدرة على تغيير طبيعة الحمض النووي (ADN) ، مما يؤثر على بناء البروتينات و تنبيه الانقسام غير المراقب للخلايا مما يزيد من احتمالية خطورة التطفر الذي يؤدي إلى حدوث السرطان [3] . يمكن حماية الجسم من أضرار هذه الجزيئات (الجذور الحرة) عن طريق مضادات الأكسدة ، والتي تستعمل بكثرة كإضافات في الأغذية لحمايتها من أضرار الأكسدة وتؤثر مضادات الأكسدة من خلال تثبيط الانزيمات المتدخلة في الأكسدة أو عن طريق إزاحة الجذور الحرة[4].

إن ازالة هذا الكم الهائل من الجذور الحرة يحتاج إلى مضادات الأكسدة وذلك لكسر سلسلة التفاعلات و منع الأكسدة الذاتية [2] . حيث اقترحت طرق عديدة لتحديد و تقييم الفعالية المضادة للأكسدة ، و هذا بالاعتماد على عدد من التقنيات الكيميائية و أخرى كهروكيميائية نذكر منها اختبار DPPH و اختبار O_2 [4] .

وكتكملة للأبحاث السابقة تطرقنا لدراسة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الطبيعية والاصطناعية وكذا تحديد بعض معاملات الرابطة لجذر DPPH و جذر O_2 وكذلك دراسة التداخل بين المشتقات المدروسة وجذر DPPH وجذر O_2 .

تشتمل الدراسة على الأجزاء التالية :

الجزء الأول : يختص بدراسة الجانب النظري ويحتوي على فصلين

الفصل الأول : و الذي تمحور حول الفعالية المضادة للأكسدة وكذا تصنيف مضادات الأكسدة إلى مضادات الطبيعية وأخرى اصطناعية .

الفصل الثاني : والذي يشمل طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة وذلك بالطرق الطيفية (اختبار DPPH) اعتمادا على مطيافية الأشعة المرئية و الفوق البنفسجية والطرق الكهروكيميائية (اختبار O_2) بواسطة تقنية الفولطامتري الحلقي وكذلك كيفية دراسة التداخل جذر DPPH و O_2 مع المركبات المدروسة وتحديد بعض المعاملات الترموديناميكية .

اما الجزء الثاني : تضمن الجانب التطبيقي والذي احتوى على فصل واحد نتطرق فيه الى طرق العمل والنتائج المتحصل عليها ليتم مناقشتها.

ختاما وفي خلاصة عامة حول هذه الدراسة تعرض مدى تحقيق الأهداف المرجوة من الدراسة وذلك من خلال النتائج المتحصل عليها مع بعض التوصيات.

المراجع :

1. Meijer, l. springer-verlag. (2003), 5: 311-326

2. Enrique, P.Lester. « Handbook of Antioxidants», 2eme ed, New York Basel.Marcel Dekker, Inc. 2002.

3. حني مريم ، تحضير وتشخيص وتقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للطفرات لبعض مشتقات N– فيرو سينيل ميثيل بنزونتريل ، مذكرة دكتوراه ، تخصص كهروكيمياء تحليلية ومحيط ، جامعة حمه لخضر ، الوادي ، 2017 .

4. محمد الأخضر.ب ، المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبربوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، رسالة دكتوراه، تخصص كيمياء، جامعة قصدي مرباح ، ورقلة ، 2016 .

الجانب النظري

الفصل الأول

الفعالية المضادة

للأكسدة

I. الفعالية المضادة للأكسدة :

1.I. مقدمـة :

إن كل خلية من خلايا جسم الإنسان تعاني اكثر من 10.000 هجمة من قبل الجذور الحرة في اليوم الواحد. وهذا الهجوم يتركز في الغالب على المادة الوراثية ومن إحدى نتائج هذا الهجوم زيادة معدل التطفر(حدوث طفرات) , ويتراوح معدل تكرار التطفر الخلوي لدى الأشخاص المتقدمين في السن بحوالي 9 أضعاف مقارنة بالصغار، وهذه الطفرات تزيد من خطورة حدوث السرطان للخلية بالإضافة إلى ذلك فإن الأغشية الخلوية والبروتينات والدهون تتعرض أيضاً للهجوم بواسطة الجذور الحرة وعلى مدى سبعين سنة من عمـر الإنسان ، فإن الجسم يولـد ما يعـادل حوالي سبعة عشر طنـاً (17.000 كيلوجرام) من الجذور الحرة . لذا فإن جسم الإنسان يحتاج إلى مقاومات فعالة مضادة للأكسدة في كل الأوقات [1].

إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة مهمة للغاية لصحة وحياة الكائنات الحية خاصة الإنسان ومع ذلك ، فإننا لا يمكن أن نعيش بدون الجذور الحرة . فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم ، بالإضافة إلى استخدامها لإنتاج الطاقة ، لذلك تقوم مضادات الأكسدة الغذائية بالمساعدة على إعادة التوازن.

2.I. الجذور الحرة :

1.2.I. تعريف:

الجذور الحرة هي عبارة عن ذرات أو جزيئات تمتلك إلكترونا أو أكثر حر في المدار الخارجي وجود إلكترون حر يجعلها غير مستقرة [2], في شكل أنواع أكسجينية فعالة(ROS) نشطة , نيتروجينية (RNS) أو كلورين (RCS) ومن أهمها: أنيون الأكسجين النشط ($O_2^{\bullet -}$) و جذور الهيدروكسيل ($OH^{\bullet}$), بيرهيدروكسيل ($OH_2^{\bullet -}$) , ($NO^{\bullet}$) , ($RO^{\bullet}$) , بيروكسيل ($ROO^{\bullet}$) ، ($\bullet OCl$), بيروكسيل الليبيد ($LOO^{\bullet}$) , فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2), أحادي الأكسجين ($1/2O_2$)، الأزون (O_3), حمض النتروز (HNO_2) , حمض الهيبوكلوريد ($HOCl$) , بيروكسيد الليبيد ($LOOH$) [3] [4] .

تتفاعل الجذور الحرة مع الجزيئات وذلك بإكتساب إلكترون (سلوك المؤكسد) أو تتخلى عن إلكترون (سلوك المرجع) ينتج هذا التفاعل أصناف ومركبات جديدة شديدة الفعالية [5] .

الشكل (1.I) : مقطع تحت المجهر للجذور الحرة .

2.2.I. أنواع الجذور الحرة :

تتنوع الجذور الحرة إلى نوعين أساسيين يتمثلان في الجذور الحرة حسب الإستقرار وحسب عدد الالكترونات :

1.2.2.I. الجذور الحرة حسب استقرارها :

a. الجذور الحرة التي لها أعمار حياة قصيرة :

وهي جذور غير مستقرة في الظروف العادية , لها وزن جزيئي صغير مثل العناصر: الهيدروجين , النيتروجين , الفلور , البروم و اليود , والجذور التي لها وزن جزيئي ضعيف بصفة عامة مثل الميثيل , الإيثيل , الفينيل , والهيدروكسيل , كما تقدر رتبتها بالميكرو ثانية أو البيكو ثانية (10^{-12} ثانية) وتشخص حركة تفاعلها بالطرق الطيفية الحديثة [6] .

b. الجذور الحرة التي لها أعمار حياة طويلة :

هي جذور مستقرة التي تقدر أعمارها بالثواني أو الدقائق أو الساعات وحتى الأيام , مثل جذر ثلاثي فنيل مثيل (PhsM) ذو اللون الأصفر مستقر بدرجة حرارة الغرفة لبضع ساعات , وجذر ثنائي فينيل بكريل هيدرازيل (DPPH) ذو اللون البنفسجي المسود وهو عبارة عن مادة صلبة وجذر ثنائي فنيل أكسيد النيتريك (M_2NO) ومشتقاته [7] [8] [9] .

2.2.2.I. الجذور الحرة حسب عدد الإلكترونات : والتي تنقسم إلى :

a. أحادية :

تحتوي على إلكترون أحادي ومتعادل مثل ذرة الهيدروجين , النيتروجين , الفلور, الكلور, البروم اليود و جذر المثيل(CH_3) و الإيثيل (C_2H_5) و الفنيل (C_6H_5) و الهيدروكسيل (OH) و البيروكسيد (HOO) [8] .

b.ثنائية :

تحتوي على إلكترونين أو أكثر غير مزدوج ومتعادل مثل ذرة الأكسجين وجذور (NH) وجذور الميثلين (CH_2) [10] [11] .

3.2.I. مصادر الجذور الحرة :

تعد الميتوكوندري المصدر الرئيسي لإنتاج الجذور الحرة [12] , بحيث تتكون في جسم الإنسان من مصادر داخلية وخارجية تتمثل في الجدول التالي [13] [14] :

الجدول (1.I) : مصادر الجذور الحرة .

المصادر الداخلية	المصادر الخارجية
✓ تعاطي المشروبات الكحولية	✓ التلوث البيئي (ماء , هواء , غداء)
✓ تناول الأغذية المشوية أو المحروقة أو المقلية بزيوت قديمة	✓ أشعة التأين الصادرة من الصناعة وأشعة X وأشعة الشمس ,....
✓ الأمراض المزمنة	✓ الإفراط في تناول الأدوية
✓ عمليات الأكسدة	✓ التدخين

4.2.I. دور الجذور الحرة :

تلعب الجذور الحرة دورا مزدوج إما أن تكون ضارة أو نافعة للأنظمة الحية , في الشروط المعتدلة تلعب الجذور الحرة دورا حيويا في حالة إنخفاضها وذلك :

- عن طريق تحفيز من بيروكسيد الهيدروجين يتم قتل الجراثيم باستخدام الميليوبروكسيداز [15].
- تمايز الخلايا بشكل عام تؤدي إلى ارتفاع معدلات التنفس المقاومة للسيانيد [16] [17].
- الوظائف الفسيولوجية الطبيعية للجسم تهدف أساسا للحفاظ على الجهاز المناعي , إنضاج هيكل الخلية , آليات عمل الخلايا [18] .

5.2.I. فعالية الجذور الحرة:

معظم الجذور الحرة تتميز بدرجة عالية من الفعالية وعادة لا يمكن فصلها ، وفي بعض الأحيان لابد من استخدام طرق غير مباشرة للكشف عن أحد الجذور، وطاقات التنشيط بين جذرين حرين ضئيلة للغاية تقترب من الصفر غالبا و مع ذلك فالمعدل الحقيقي للتفاعل يعتمد على سرعة تقابل الوحدتين مع بعضهما البعض. ومثل هذه التفاعلات توصف بأنها محكومة بالانتشار وتنطوي خطوة الإيقاف في كثير من التفاعلات المتسلسلة على هذا الطراز من الاتحاد بين الجذور السريعة [19] . [20]

I.6.2. عمل الجذور الحرة :

تظهر الجذور الحرة في سلسلة من التفاعلات , تؤدي إلى تجديد جذري يمكن من خلاله أن تبدأ دورة جديدة من التفاعلات المتمثلة في ثلاث مراحل : الإبتدائية, الإنتشار(التفرع), والمرحلة النهائية [18], يتم التفاعل في وجود عوامل خارجية مثل الضوء , الحرارة , أو المواد الكيميائية [20].

a. المرحلة الإبتدائية :

يتم فيها تشكيل الجذر .

حيث : LH : يمثل جزيء المادة الخاضعة للأكسدة على سبيل المثال الدهن (أكسدة الدهون)

$R^{\bullet}$: جذر بدء التأكسد . $L^{\bullet}$: المفاعل الأليلي الجذري .

b. مرحلة الإنتشار :

يتم في هذه الخطوة تجديد سلسلة من التفاعلات للجذور الحرة .

$$L^{\bullet} + O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$$

يمكن أن يتفاعل المفاعل الأليلي الجذري $L^{\bullet}$ بسرعة مع الأكسجين لتشكيل دهن جذري بيروكسيلي ($LOO^{\bullet}$) .

$$LOO^{\bullet} + LH \rightarrow LOOH + L^{\bullet}$$

جذور البيروكسيل ($LOO^{\bullet}$) هي ناقلات لسلسلة من تفاعلات مع زيادة أكسدة الدهون (LH) ينتج دهن هيدروبيروكسيد Hydroperoxide(LOOH) والذي بدوره يقوم بكسر مجموعة واسعة من المركبات [21] .

— مرحلة التفرع :

$$LOOH \rightarrow LO^{\bullet} + HO$$
$$2LOOH \rightarrow LOO^{\bullet} + LO + H_2O$$

غالبا ما يشمل كسر دهن الهيدروبيروكسيد Hydroperoxide إنتقال محفز الأيونات المعدنية في التفاعلات المماثلة لتلك التي تتضمن بيروكسيد الهيدروجين الذي ينتج دهون جذرية Alkoxyl ($LO^{\bullet}$) و Peroxyl .

c. المرحلة النهائية :

يتم في هذه المرحلة تجميع الجذور الحرة , حيث تتضمن إتحاد مجموعة من الجذور الحرة , وتنتج بشكل جذري :

$$LO^{\bullet} + LO^{\bullet}$$
$$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet}$$
$$LO^{\bullet} + LOO^{\bullet}$$

عندما تكون المواد المضادة للأكسدة الإبتدائية AH موجودة بكميات ضئيلة قد تؤخر أو تمنع بدء الخطوة نتيجة لتفاعلها مع دهن جذري $L^{\bullet}$ أو تتحول دون انتشار لتفاعلها إلى جذور Alkoxyl أو Peroxyl [22] .

$$L^{\bullet} + AH \rightarrow LH + A^{\bullet}$$
$$LOO^{\bullet} + AH \rightarrow LOOH + A^{\bullet}$$
$$LO^{\bullet} + AH \rightarrow LOH + A^{\bullet}$$
$$RC^{\bullet} = O \rightarrow R^{\bullet} + CO$$

I.7.2.أضرار الجذور الحرة :

1. إن تأثير الجذور الحرة على العديد من الجزيئات البيولوجية يؤدي هذا إلى التغير في نمو الخلايا و وظيفتها وشكلها, حيث أثبتت بعض الدراسات على أن الإجهاد التأكسدي يؤدي إلى ظهور العديد من الأمراض و يعتبر عامل محفز ورئيسي لها كالسرطان , السكري , أمراض القلب والأوعية , إلتهاب المفاصل , الحساسية .
2. الإجهاد بالسن من الأمراض المحفزة للشيخوخة كونها تخفض من الحماية المضادة لأكسدة الجذور وتزيد من إنتاج الميتوكوندري للجذور الحرة [23] [24] .
3. من أخطر الأضرار الواقعة على الدهون أو الأكسدة الفوقية للدهون يؤدي إلى زيادة سيولة الجدران الخلوية و تطفر الحمض النووي ADN ينتج عنه موت الخلايا أو أمراض المناعة [1].
4. زيادة نشاط الأنزيمات المصاحبة لإجهاد الأكسدة [25] و إستهلاك كميات كبيرة من الأكسجين [26].
5. كما تتسبب الجذور الحرة في العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان منها :

- إضطرابات الأعصاب, مثل مرض الزهايمر, مرض باركنسون , التصلب المتعدد والتصلب الجانبي الضموري , فقدان الذاكرة و الإكتئاب .
- إضطرابات الرئوية , مثل التهاب الرئة , مرض الربو , الإنسداد الرئوي المزمن وأمراض الكبد .
- إضطرابات الكلوية , مثل إلتهاب الكلية , فشل الكلوي المزمن .
- إلتهاب المفاصل الروماتيدي و البنكرياس .
- أمراض الجهاز الهضمي مثل القرحة المعدية , التهاب القولون والأمعاء .

- الصدمات النفسية و إرتفاع ضغط الدم .
- الإيدز والأورام السرطانية , مثل سرطان الرئة , سرطان الدم , سرطان المستقيم , سرطان المبيض , سرطان الثدي , تثبيط المناعة و العقم .
- أمراض القلب والأوعية الدموية , مثل تصلب الشرايين [27] [28] [29] [30] .

I.8.2. آلية متابعة حركية الجذور الحرة:

إن الجذور الحرة إما أن تكون ذات أعمار طويلة أو قصيرة ، القصيرة منها لا يمكن متابعة حركية تفاعلاتها إلا بالطرق الطيفية السريعة مثل أطياف الكتلة و أطياف الرنين النووي المغناطيسي ، أما الجذور المستقرة نسبيا فيمكن متابعة حركية تفاعلاتها بالطرق التقليدية مثل قياس التغير بالتوصيلة الكهربائية بدلالة الزمن ، أو التغير بالتركيز المولاري بدلالة الزمن ، أو التغير بحجم الغاز عن طريق المعايرة (حمض/ قاعدة) ولكن أدق هذه الطرق هي قياس تغير كثافة الضوء الممتص بدلالة الزمن بواسطة أجهزة قياس أطياف الأشعة فوق البنفسجية – المرئية (UV-Vis) شرط أن يمتص الجذر الحر الضوء بمنطقة تختلف عن منطقة امتصاص المادة الناتجة فمثلا يمتص الجذر ثلاثي فينيل المثيل ($Ph_3C^{\bullet}$) الضوء عند 345nm و عند 510nm بينما يمتص ثلاثي فينيل ميثان (Ph_3CH) الضوء عند 262nm فقط [26] .

I.3. الأكسدة العضوية :

الأكسدة العضوية هي تحويل المركبات في وجود أكسجين الهواء والعوامل المساعدة على الأكسدة، وجود كميات ضئيلة من بادئات الجذور الحرة الموجودة في الهواء ومدى حساسية المركبات للضوء[25] [26] [27] .

ويعتبر فساد الأطعمة من نتائج الأكسدة الذاتية ، فالسلاسل غير المشبعة في الأحماض الذهنية تتأكسد إلى أحماض كربوكسيلية ذات أوزان جزئية أقل ، معظمها ذات رائحة كريهة جدا .

ويعتبر تلف معظم المواد العضوية عند تعرضها للهواء والضوء كجفاف الطلاءات ، وتغير تركيبة اللدائن و المطاط و تحول المذيبات إلى بروكسيدات أحد نواتج عملية الأكسدة [25] .

I.1.3. تفاعلات الأكسدة في النظام البيولوجي:

تعتبر التفاعلات الجذرية المساهم الأول في نمو الإنسان والحفاظ عليه ، ولهذا تعتبر هذه التفاعلات من أدوار مهمة في العملية البيولوجية [28] حيث أن الخلايا تحتوي على الجذور الحرة

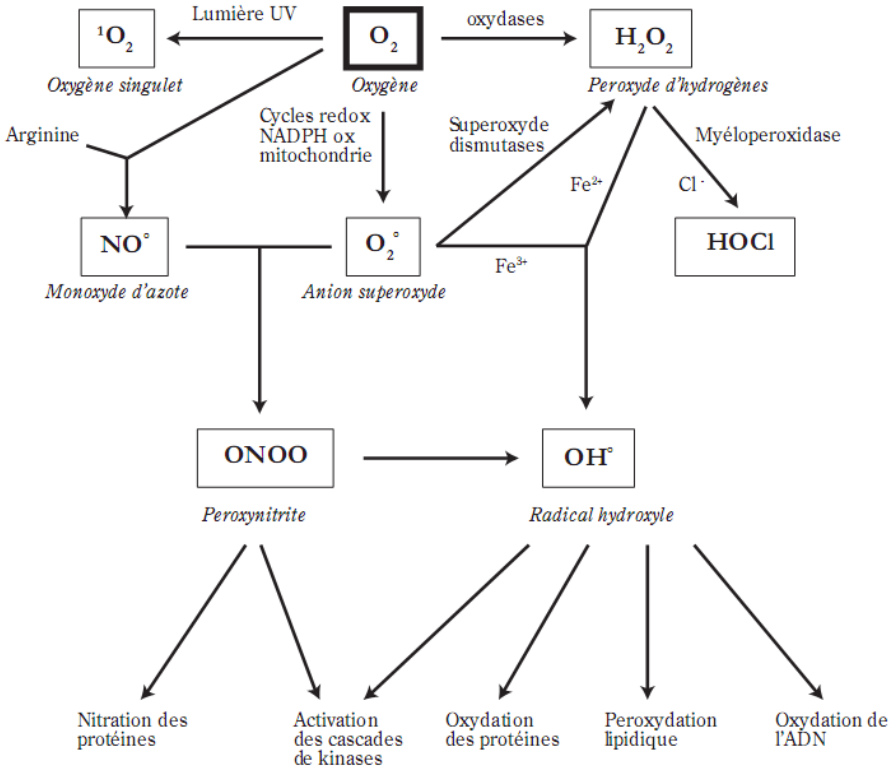
لاسيما في مرحلة التصنيع الحيوي للمركبات الفعالة أو في عمليات الهدم العادية للمركبات الفعالة [26].

الأكسجين هو العنصر الأساسي للخلايا التي تتم فيها عملية الإحراق وهي عبارة عن تفاعل بين مركب عضوي و أكسجين الهواء، وأهم نواتج هذا التفاعل هي الطاقة التي تدخل في تصنيع العديد من المركبات منها المواد الخلوية، بالإضافة إلى القيام بنشاطات وظيفية معقدة مثل الحركة ،النمو، الإفرازات والامتصاص [26], حيث إذا تمت هذه التفاعلات بطريقة عشوائية وغير مسيطر عليها فإنها تتسبب في تمزيق أغشية البلازما للخلايا وتغيير وظائفها، كما قد تؤدي إلى طفرات جينية وربما إلى موت الخلايا.

كما تؤدي الجذور الحرة إلى إتلاف الأغشية الحيوية الأخرى كأغشية الميتوكوندريا، وتؤثر على الدهون غير المشبعة كالدهون الفوسفاتية وتؤدي إلى تصلب الأغشية، ونقص نشاط الارتباط الإنزيمي بها كنقص نشاط مضخات الصوديوم . كما تؤثر الجذور الحرة كذلك على نشاط المستقبلات الغشائية وعلى نفاذية الأغشية أو ربما تؤدي إلى السرطان من خلال تدميرها (ADN)، أو إلى أمراض أخرى كأمراض القلب والتهاب المفاصل [25].

مثلا : سلاسل نقل الإلكترود بروكسيد (Electrode peroxide) ونظام السيتوكروم (cytochrome) هذه الجذور تكون مسؤولة عن فساد (ADN) للخلايا المسنة، والتي هي أساس منشأ بعض الأمراض الشكل (2.I) مثل: السرطان، مرض الشلل الاهتزازي، مرض التصلب العضلي[31].

يستطيع جسم الإنسان السيطرة على هذه السلسلة من التفاعلات في الوقت المناسب، عن طريق نظام يدعى بنظام المواد المضادة للأكسدة داخل الخلايا والذي يوجد أيضاً في بعض الفيتامينات والأملاح التي تعمل كآليات حماية ضد التأثيرات الضارة للجذور الحرة.



الشكل (2.I): رسم تخطيطي يوضح مصدر مختلف الجذور الحرة المؤكسدة وأنماط تفاعلات الأكسجين المطبقة بيولوجيا[32]

2.3.I . الإجهاد التأكسدي :

هو عبارة عن إختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة (الجذور الحرة) , وهذا كنتيجة الزيادة المفرطة لمولدات الأكسدة أو النقص في مضادات الأكسدة , يؤدي هذا إلى العديد من الأضرار التي تتسبب في فقدان التكامل الوظيفي و حتى موت الخلايا [33] .

4.I. مضادات الأكسدة :

1.4 .I. تعريف :

مضادات الأكسدة مصطلح يطلق على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الإجهاد التأكسدي حيث يعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة , تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بطرق تتمثل في تثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع إنتشارها أو هدمها [34][35], تتواجد مضادات الأكسدة في جسم الكائنات الحية بصورة أنزيمات أو مرافقات أنزيمية أو مركبات تحتوي على عنصر الكبريت المختزل مثل الجلوتاثيون [35], وبصورة طبيعية تكون في الخضروات أو الحبوب أو النباتات الطبية .

وفي السنوات الأخيرة زاد الإهتمام بمضادات الأكسدة بفضل قدرتها على تحصين الجسم ضد الجراثيم , و وقاية الجسم من أمراض العصر الشائعة [36] , تعتبر مضادات الأكسدة عبارة عن مواد مانحة لذرة هيدروجين أو تتحد مع الجذر لتتحول إلى مركب مستقر , كما هو موضح في المعادلة التالية [37] :

الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة تفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة الذاتية والتي تستطيع أن تصلح أو تعدل الضرر الذي تسببه الجذور الحرة [38] .

2.4.I . تصنيف مضادات الأكسدة :

تصنف مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى مصادر طبيعية حيث تعمل على كسر سلسلة تفاعلات المواد المضادة للأكسدة , وأخرى إصطناعية والتي تعتبر وقائية [39] .

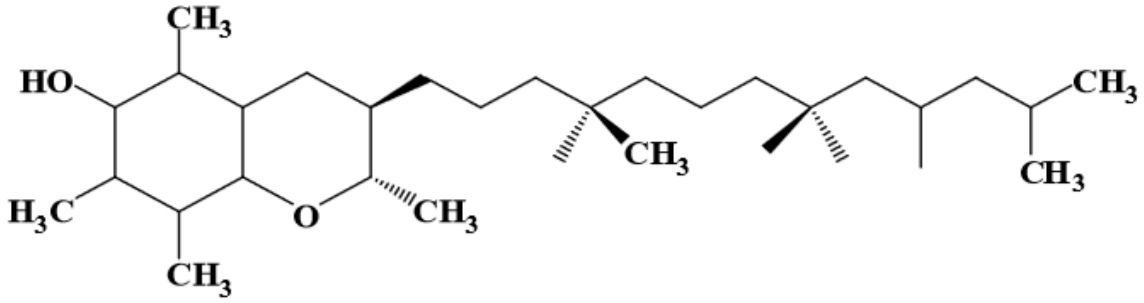
1.2.4.I. مضادات الأكسدة الطبيعية :

في الآونة الأخيرة عرفت مضادات الأكسدة إهتماما متزايدا نظرا لأهميتها , فمنها المصنعة من قبل الجسم البشري وهي مواد ذات مصدر داخلي مثل انزيمات , بروتينات ومواد ذات مصدر خارجي والتي يتم الحصول عليها من المواد الغذائية التي نتناولها مثل فيتامينات , كاروتينات , فلافونويدات هدفها إصلاح الضرر الذي تسببه الجذور الحرة , حماية الجسم من الأمراض المزمنة وأكسدة الدهون التي تنتج من زنخ الأطعمة [40] [41] [42] .

ومن مضادات الأكسدة التي يمكن أن تكون في متناول اليد في غذائنا اليومي مثل الفيتامينات من أصل البيتاكاروتين وفيتامين (C) وفيتامين (E) ومن المعادن الزنك (Zn) والسيلنيوم (Sn).

a. فيتامين (E) Tocotrienols tocopherols :

إسمه العلمي توكوفيرول (Tocopherol), من العناصر الغذائية الهامة يذوب في الدهون والمذيبات العضوية , يؤدي نقصه إلى فقر الدم الإنحلالي , التهاب الشبكية , يتم الحصول عليه من النباتات والزيوت النباتية , البذور , القمح , الدهون , يضاف في الأغذية بكميات ppm 500– ppm 300 وصيغته موضحة في الشكل (3.I) [43] [44] .

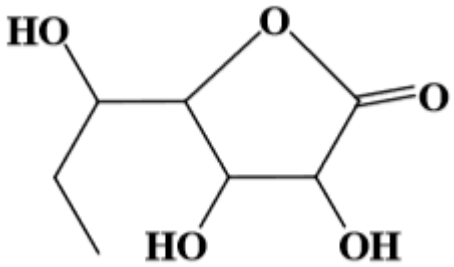


الشكل (3.I) : يوضح بنية فيتامين Tocotrienols tocopherols (E) .

b. فيتامين Acide Ascorbique (C) :

هـو عبارة عن مادة بلوريـة لا يذوب في الدهون , كما لا يمكن تصنيـعه من قبل الجسم البشري (مصدر خارجي) , يؤدي نقصه إلى داء الإسقربوط (التهاب اللثة) , تلف الأوعية الدموية , تورم العظام (المفاصل) , ويتواجد في الحمضيات , الفلفل , البقدونس , الفواكه وخاصة التوت , وصيغته ممثلة في الشكل (4.I) [45] [46] .

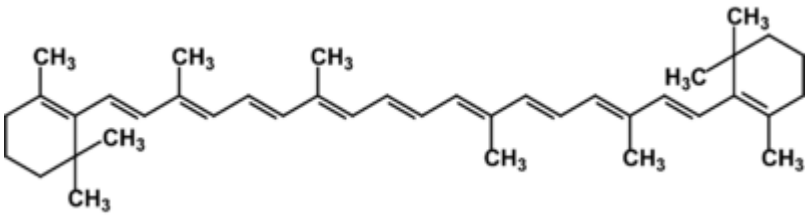
يساعد هذا الفيتامين على امتصاص الحديد الضروري لتكوين كريات الدم الحمراء ويدخل ضمن تكوين بعض الأنزيمات ويعتبر عامل مساعد لحفظ الخلايا ويساعد في الوقاية من الأمراض ومن أهم مصادره الحمضيات والخضروات الطازجة [45].



الشكل (4.I) : يوضح بنية فيتامين Acide Ascorbique (C) .

c. البيتاكاروتين:

هي واحدة من حوالي 400 من الكاروتينات وهي عبارة عن صبغة صفراء أو حمراء طبيعية توجد في بعض الأطعمة النباتية ، وتتحول داخل جسم الإنسان إلى فيتامين A ويعتمد الامتصاص على كمية الفيتامين التي يحتاجها الجسم والباقي يخزن بصورة بيتاكاروتين في الكبد وأنسجة الجسم الدهنية المختلفة. و من أهم مصادره النباتية الجزر والبطاطا الحلوة والخضروات الداكنة والفواكه الصفراء والبرتقالية مثل المشمش والمانجو [35].



الشكل (5.I) : يوضح بنية البيتاكاروتين

d. الزنــك (Zn):

من العناصر المعدنية الضرورية لجسم الإنسان ويدخل الزنك في تركيب كثير من الإنزيمات الضرورية للتمثيل الغذائي للبروتينات والكربوهيدرات والدهون وهو يدخل ضمن مركبات وجدار خلايا الجسم، كما أن نقص الزنك ضمن الطعام المتناول يؤدي الى قصور في النمو[35].

e. السيلنيوم (Sn):

يعتبر من العناصر المعدنية التي يحتاج إليها جسم الإنسان بكميات ضئيلة، ومن أهم فوائده المعروفة حتى الآن أنه يدخل في تركيب أنزيم peroxyda Glutathione و فائدة هذا الأنزيم أنه مع فيتامين (E) يكونان مضادات أكسدة دفاعية تقلل من الإصابة من الأمراض كالسرطان وتقلل فعالية المواد السامة والضارة في الجسم [35].

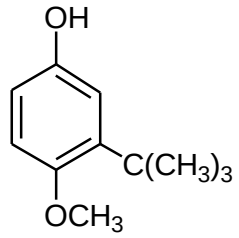
2.2.4.I. مضادات الأكسدة الاصطناعية :

تعتبر مضادات الأكسدة الإصطناعية من المركبات الأكثر إستعمالا خاصة في الصناعة الغذائية , وذلك للتقليل من إتلافها وسرعة تأكسدها , كما أنها قليلة التكلفة مقارنة مع مضادات الأكسدة الطبيعية [47] , ومؤخرا إزداد الإهتمام بمضادات الأكسدة الإصطناعية ,حيث تعتبر علاجية ووقائية تستعمل في صناعة الأدوية ومستحضرات التجميل لمنع أكسدة الدهون . وهناك أربع مضادات للأكسدة الإصطناعية تستخدم على نطاق واسع في الأطعمة وهي BHA , BHT, TBHQ , PG [48] [37] [38] .

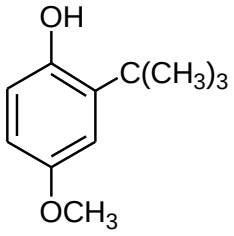
a. BHA : (Buthyl hydroxyl anizole**)**

لا يوجد هذا المركب في الطبيعة ولكنه يصنع بطريقة Butylation للمركب paramethoxyphenol ، ولـ BHA صيغتين، ولكليهما رائحة الفينول ويذوبان بشكل جيد في الدهون ومن أهم خواص هذين المركبين هو قدرتهما على المحافظة على قابليتهما كمواد مضادة

للأكسدة في الغذاء أثناء التسخين كالقلي مثلا [25]، وفي بعض الدول يسمح بإضافته بتركيز لا يزيد عن 200 ppm [36] وله الصيغ التالية :



3-tert-butyl- 4-methoxyphenol



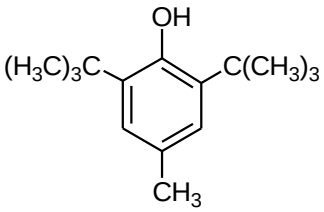
2-tert-butyl- 4-methoxyphenol

شكل (6.I) : يوضح بنيةBHA .

b. BHT : (Buthyl hydroxy toluéne**) :**

يعتبر مركب BHT من مضادات الأكسدة التي تصنع تجاريا لاستعماله في المنتجات البترولية والمطاط واستعمل بعد ذلك في منتجات الأغذية ، المركب النقي ذو لون أبيض وهو مادة متبلورة عديم الرائحة ، لا يذوب في الماء لكنه يذوب في المذيبات العضوية والدهون [25] .

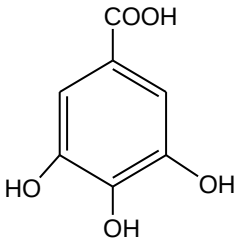
في بعض الدول يسمح بإضافته بتركيز لا يزيد عن 200 ppm للاغذية [37] وفيما يلي صيغته:



شكل (7.I): يوضح بنيةBHT (2,6-di-tert-butyl- 4-methylphenol))

c. حمض الغاليك Ac.gallique والغالات Gallates :

يذوب حمض الغاليك في الماء ولكنه قليل الذوبان في الزيوت



شكل (8.I): يوضح بنية لـ3,4,5-trihydroxy benzoic acid (GA)

و لأجل السماح باستعمال هذه المواد في الأغذية، يجب أن تكون ذات درجة سمية ضعيفة وأن تكون فعالة بتراكيز منخفضة وفي أنواع عديدة من الدهون و أن لا تضيف نكهة أو رائحة أو لونا غير مرغوب فيه للمنتوج [37].

وقد وضعت عدة نظريات لتفسير آلية عمل المواد المضادة للأكسدة منها [26]:

- **إعطاء ذرة هيدروجين أو مستقبلة للجذور:**

$$ROO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\bullet}$$

$$ROO^{\bullet} + AH^{\bullet} \longrightarrow \text{نواتج مستقرة}$$

$$AH^{\bullet} + AH^{\bullet} \longrightarrow A + AH_2$$

- **تكوين معقد:**

$$ROO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow (ROO\ AH_2)^{\bullet}$$

$$ROO^{\bullet} + (ROO\ AH_2)^{\bullet} \longrightarrow \text{نواتج مستقرة}$$

حيث AH_2 : مركب مضاد للاكسدة.

5.I. مصادر مضادات الأكسدة:

إن جميع الأغذية النباتية من خضروات وثمار وفاكهة ومعظم الأعشاب الطبية تحتوي على نوع أو أكثر من مضادات الأكسدة، ولكن بكميات متفاوتة وقد يقوم مضاد أكسدة معين بعدة وظائف، وقد تشترك عدة مضادات أكسدة أخرى بمهمة واحدة . إذ أن كل شعوب العالم عرفت بفطرتها تارة وبخبرتها تارة أخرى عددا من الأغذية التي تتميز بقدرتها على تقوية الجسم وحفظ الشباب ومداواة الأمراض، فعلى سبيل المثال استعمل الناس زيت الزيتون لمعالجة التسمم الناتج عن تناول الأغذية الفاسدة أو الناتج عن عضة الأفعى. واكتشفوا قدرة الرمان والزبيب على منح الجسم القوة والحيوية وإكساب الوجه نضارة وجمالا، والقائمة طويلة للاغذية التي عرفها الناس منذ القدم واكتشفوا قيمتها واستعمالاتها الطبية[25].

6.I. أمراض شائعة ذات العلاقة بالمواد المؤكسدة:

عند ازدياد تعرض دفاعات الجسم إلى العوامل المؤكسدة تصبح غير قادرة على معادلتها يطلق على هذه الحالة الإجهاد التأكسدي ، وهي عبارة عن حالة من عدم التوازن بين العوامل المحثة للتأكسد (العوامل المؤكسدة) و العوامل المضادة للأكسدة . وفي الحالة الطبيعية ، تكون العوامل

المؤكسدة مثبطة بتأثير الدفاعات ضد الأكسدة ، أما في حالة إنتاج المواد المؤكسدة أو النقص في النظام الدفاعي فيمكن أن يختل هذا الاتزان ، مسبباً إجهاداً تأكسدياً و هذا ما يؤدي الى ظهور أمراض عديدة مثل أمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان والشيخوخة وغيرها [36] .

المراجـع

1. Enrique, P.Lester. « Handbook of Antioxidants», 2eme ed, New York Basel.Marcel Dekker, Inc. 2002.

2. Halliwell B. and Whiteman M.(2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? Br J Pharmacol. 142: 231- 255.

3. T. Finkel, & N. J. Holbrook, Nature. 408 (2000) 239 .

4. E. I. Korotkova, Y. A. Karbainov, O. A. Avramchik, Anal. Bioanal. Chem. 375 (2003) 465.

5. Jomova K., Vondrakova D., Lawson M. and Valko M.(2010). Metals, oxidative stress a neurodegenerative disorders. Mol Cell Biochem. 345: 91-104.

6. Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C., Free radicals, antioxidants in disease and health. Int. J. Biomed. Sci, (2008), 4: 89-96.

7. Medow M. S., Bamji N, Clarke D., Ocon A. J. and Stewart J. M.(2011). Reactive oxygen species (ROS) from NADPH and xanthine oxidase modulate the cutaneous local heating response in healthy humans. J Appl Physiol. 301: R763-R768.

8. Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed., Oxford University Press: New York, USA, (1999), pp 10-121.

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

10. Yakhlef G., Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de thymus vulgarisl.et laurusnobilisl. Mémoire de Magister. Université Hadj Lakhdar Batna. 2010.

11. Poulose S, Harris E, Patil B, citrus limonoids induce apoptos is in humaine neuroplastoma cells and have radical scarenging activity, J Nut Val,135,pp:870- 879, 2005.

12. Thomas.S, and Balasubramanian.K.A, Role of intestine in postsurgical complications: involvement of free radicals. Free Radic Biol Med, 2004. **36**(6): p. 745-56.

13. Sohal.R, Allen.R, and Nations C, Oxygen free radicals play a role in cellular differentiation: an hypothesis. Journal of free radicals in biology & medicine, 1986. **2**(3): p. 175-181.

14. Bazsó-Dombi.E, Oravecz.K, Jeney.F, Nagy.K, and Nagy.I.Z, On the useful role of OH free radicals in differentiation of cultured human fibroblasts. Archives of gerontology and geriatrics, 2000. 31(3): p. 233-242

15. Mazumder.P.M, Rathinavelusamy.P, and Sasmal.D, Role of antioxidants in phytomedicine with special reference to antidiabetic herbs. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2012. **2**: p. 969-979.

16. Antolovic M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S and Robards K (2002) Methods for testing antioxidant activity. Analyst 127: 183–198.

17. Kanner J, German JB and Kinsella JE (1987) Initiation of lipid peroxidation in biological systems. Crit Rev Food Sci Nutr 25: 317-364.

18. Cheeseman KH and Slater TF (1993) An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 49: 481-493.

19. Madhavi DL, Deshpande SS and Salunkhe DK (1996) Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. Marcel Dekker, New York.

20. J.B.RORSSELL., Measurement of racidity. In : rancidity in foods.J.C.Allen and R.J Hamilton (eds) Elsevier. Amsterdan, (1989) 23,25.
21. C.Quettier-Deleu, *journal of Ethnopharmacology*, 72 (2000) 35-42.
22. N.J. TURRO., A. MASAYUKI., L.R.GOULD., *J.AM.Chem.Soc*, 104 (1982) 856-858.
23. P.C.VOLLHARDT.K., Schore .N. E, « Traité de la chimie organique » traduction 3em ed, 1999. De Boeck et larcier.s.a.
24. G.DOMINIQUE., « Etude de nouvelles réactions radicalaires applications à la Synthèse d'alcoloides », Thèse de Doctorat, Ecole Polytechnique, 2004.
25. G.OLIVE. « Synthèse de nouvelles nitrones du Type Pyrroline-N- Oxide et leur utilisation en spin-trapping», Thèse de doctorate, université d'Aix – Marseille III, 1998.
26. FAVIER, « le stressoxydant : Intérêt conceptuel et expérimenta dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique l'actualité chimique 2003.
27. L.M. Magalhaes, M.A. Segundo, S. Reis, J.L.F.C. Lima. *Anal. Chim. Acta*. 613(2008)1–19.
28. V.Bondet,; W.Brand-Williams, C. Berset, *Lebensm. Wiss. Technol*., 30(**1997)**609-615.
29. P.Molyneux, *song klana Karin J. sci technol.,* 26 (2004) 211-219.
30. W. Brand Williams., C.Berset., M.E.Cuvelier. *Wissen.U.Tech,* 28(1995) 25-30.
31. BLOIS, Détermination antioxydants de M.S. par l'utilisation d'un radical libre stable nature, 181(1958) 1199-2000.
32. M.Uchiyama, Y.Suzuki., K.fukuzawa, Etude biochimiques de la fonction physiologique du tcopherolactome. *Yakgaku Zasshi* 88(1968) 680, 683.
33. I.F.F BENZIE, J.J. STAIN. *Anal Biochen*. 239(1996) 70-76.
34. M.Oyaizu; *Japanese Journal of Nutrition*, 44(1986)307–315,
35. S .Yuanxia; H.Shigeru; O.Masahiro; I.Ken , *Food Control*,18(2007)220–227.
36. J.F.LESGERDS. Contribution à l'étude du statut antioxydant de l'homme aspects chimiques et biochimiques (thèse de doctorat) Université d'Aix Marseille,e Septembre 2000.
37. Bera.D, Lahiri.D, and Nag.A, Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. Journal of Food Engineering, 2006. 74(4): p. 542-545.
38. Biparva.P, Ehsani.M, and Hadjmohammadi.M.R, Dispersive liquid–liquid microextraction using extraction solvents lighter than water combined with high performance liquid chromatography for determination of synthetic antioxidants in fruit juice samples. Journal of Food Composition and Analysis, 2012. **27**(1): p. 87-94.
39. Bhardwaj.V, Sharma.P, Chauhan.M, and Chauhan.S, Micellization, interaction and thermodynamic study of butylated hydroxyanisole (synthetic antioxidant) and sodium dodecyl sulfate in aqueousethanol solution at 25, 30 and 35 °C. Journal of Saudi Chemical Society, 2016. 20: p. 109-114.
40. Jayathilakan.K, Sharma.G, Radhakrishna.K, and Bawa.A, Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavour in different species of meat. Food Chemistry, 2007. 105(3): p. 908-916.
41. Fritsche. K, and McGuire.S, The use of dietary synthetic antioxidants at recommended levels does not alter rat immune cell eicosanoid production or hepatic vitamin E concentration. Nutrition Research, 1997. 17(8): p. 1311-1319.

42. Carocho.M, and Ferreira.I.C, A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology, 2013. 51: p. 15-25.

43. Pokorn.J, Yanishlieva.N, and Gordon.M, Antioxidants in food : Practical applications, C.W.P. 2001: New York

44. Jacobi.H, Eicke.B, and Witte.I, DNA strand break induction and enhanced cytotoxicity of propyl gallate in the presence of copper (II). Free Radical Biology and Medicine, 1998. 24(6): p. 972-978.

45. Tayama.S, and Nakagawa.Y, Cytogenetic effects of propyl gallate in CHO-K1 cells. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2001. 498(1): p. 117-127.

46. Mukaiyama, T. Sato, T. Hanna, J. Chem. Lett. 1973, 1041-1044.

47. WANGL.L, JUI-HUNGYENI, LINGLIANG3. H, JIUAN. WU1. M ,«Antioxidant Effect of Methanol Extracts from lotus Plumule and Blossom (Nelumbo nucifera Gertn). Journal of food and Drug Analysis», Vol 11, No. 1,(2003).

48. Xiu-Qin.L, Chao.J, Yan-Yan.S, Min-Li.Y, and Xiao-Gang.C, Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. Food Chemistry, 2009. 113(2): p. 692-700.

طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

II. مقدمة :

على مدى السنوات الماضية أقترحت العديد من الطرق التي تهدف إلى تحديد الفاعلية المضادة للأكسدة ، حيث تكمن فاعليتها في قياس قدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة حيث يمكن تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة بواسطة عدة تقنيات التحليل الكلاسيكي منها : التحليل الطيفي ،التحليل اللوني ، الكروماتوغرافيا ، مطيافية الكتلة ،الأشعة تحت الحمراء أو بتقنيات حديثة كالتحليل الكهربائي مثل طرق القياس البولاروغرافي ، الفولطامتري ، الفولطامتري النبضي التفاضلي ، الفولطامتري الحلقي ، الفولطامتري الترددي ، الأمبيرومترية [1] .

نشرت العديد من الدراسات الحديثة في هذا الميدان ، حيث أعتمدت فيها طرق كيميائية و كهروكيميائية لتحديد الفاعلية المضادة للأكسدة ، تبنى هذه على القياس المباشر أو القياس الغير مباشر لسرعة التفاعل ونسبته , هناك ثلاث أنواع رئيسية لأساليب قياس الفعالية المضادة للأكسدة وهي :

- ✧قياس الأكسجين المستهلك .
- ✧قياس المادة المتأكسدة الناتجة .
- ✧قياس إمتصاص الجذور الحرة أو إرتباطها [2] .

1.II. الطرق الطيفية (الكيميائية) :

تعتمد التقنيات الطيفية على التفاعلات الجذرية ، تفاعل الجذر مع الكاتيون ، أو المعقدات مع الجزيئات المضادة للأكسدة والتي لها القدرة على منح ذرة هيدروجين إذا تعتمد على التلوين و نزع التلوين في طول موجي معين ومن أهم هذه الإختبارات إختبار DPPH ، إختبار FRAP ، إختبار ABTS ، إختبارTRAP , إختبار القدرة الإرجاعية PR , و في الدراسة سنتطرق إلى إختبار DPPH قليلا [3] [4] .

1.1.II. مطيافية الأشعة المرئية و الفوق البنفسجية :

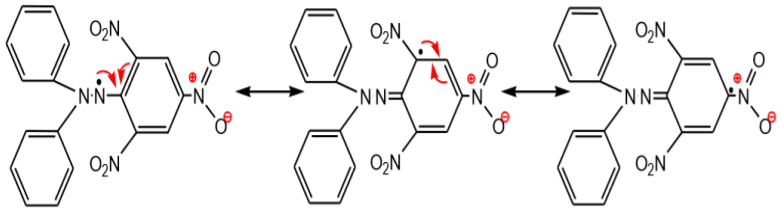
تعرف هذه الطريقة بالطريقة اللونية , استعملت لأول مرة في تقدير تركيز مجهول وذلك من خلال مقارنة لون المجهول مع ألوان المحاليل القياسية لنفس المادة , ترتكز على إمتصاص الأشعة المرئية و الفوق البنفسجية وجزيئات المادة في المحلول, يتناسب هذا الإمتصاص طردا مع التركيز حسب قانون بير لامبرت Beer-Lambert [5] .

$$A = \varepsilon . l . C$$

المعادلة (1.II) : قانون بير لامبرت Beer-Lambert.

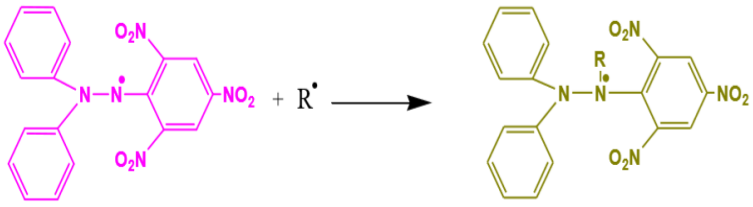
1.1.1.II. إختبار جذر ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل DPPH :

في سنة 1958 عرف العالم Blois اختبار DPPH على أنه إختبار مضاد للجذور الحرة بجامعة ستانفورد [6], يمتاز اختبار DPPH بتشكيل الجذر الحر والمستقر للمركب الآزوتي الآروماتي Picrylhydrazyl Diphényle (DPPH•) ، ناتج عن هذا الإستقرار تمركز الإلكترون الحر على مستوى الجزيء , يرتكز هذا الإختبار على نسبة إرجاع الجذر DPPH• في وجود مركب مضاد للأكسدة قادر على منح إلكترون أو جذر هيدروجينيا [7] , وتشمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيء .



الشكل (1.II) : يوضح التراكيب الرنينية في جزيء DPPH .

DPPH ثنائي فينيل بكريل هيدرازيل (diphenylpicrylhydrazyl) هي مادة صلبة لونها بنفسجي مسود (داكن)، يشتق هذا الجذر من جزيئة (DPPH-H) ثنائي فنيل بكريل هايدرازين (diphenylpicrylhydrazine) وهي مادة صلبة غير جذرية لونها أصفر، لها القدرة على إختزال جذر DPPH بقياس الإنخفاض في الإمتصاص على طول موجي517 نانومتر ، يمكن ملاحظة ذلك بالعين إثر تحول اللون البنفسجي إلى الأصفر [8].

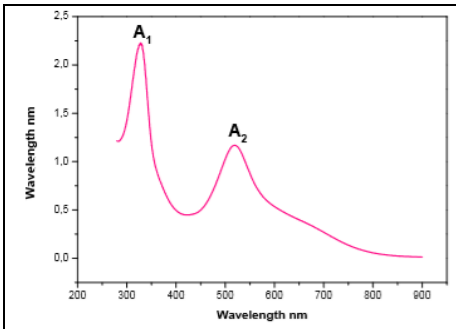
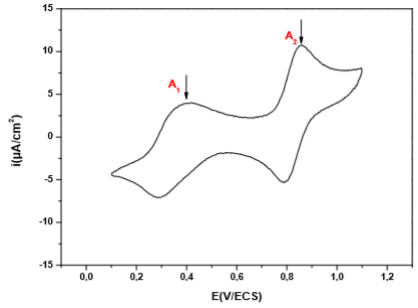


الشكل (2.II) : تثبيط الجذر الحر DPPH في وجود مضادات الأكسدة .

2.1.1.II. الخصائص الفيزيائية والكيميائية لجذر DPPH :

الجدول (1.II) : خصائص المميزة لجذر ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (DPPH) [3] .

الصيغة الكيميائية	$C_{18}H_{12}N_5O_6$
الكتلة المولية	394.32 g/mol
درجة الانصهار	135°C
الكثافة	1.4 g/cm^3

طيف الامتصاص لجذرDPPHفي المجال فوق البنفسجي و المرئي المذاب في الاسيتونتريل يتميز بامتصاص (A_1 ، A_2) حيث : $(A_1)\lambda_{max1} = 330nm: (n \rightarrow \pi^*)$ $(A_2)\ \lambda_{max2} = 517nm: (n \rightarrow \pi^*)$	
المنحني الفولطامبيرومتري الحلقي لـ DPPH مذاب في الاسيتونتريل عند سرعة مسح mV/s100 (باستعمال قطب الكربون $Bu_4^nNBF_4$) ، تركيز 0.5×10^{-3} M (Ag/AgC) . $i_{pa1} = 6.853\mu A \quad E_{pa1} = 0.406V$ $i_{pa2} = 8.519\mu A \quad E_{pa2} = 0.857V$ $i_{pc1} = -7.09\mu A \quad E_{pc1} = 0.288V$ $i_{pc2} = -8.98\mu A \quad E_{pc2} = 0.789V$	

3.1.1.II. آلية تفاعل جذر DPPH مع مضادات الأكسدة :

يعتبر جذر DPPH جذر حر قادر على قبول إلكترون أو ذرة هيدروجين , ليصبح جزئية مستقرة إذ يستعمل جذر DPPH لتقييم النشاط المضاد للأكسدة ، تلعب مضادات الأكسدة دورا في اقتناص جذر DPPH إلى قدرتها على إعطاء ذرة هيدروجين.

تقتنص مضادات الأكسدة الجذور الحرة حيث تعتمد على آليتين للتفاعل :

1. الآلية الأولى : ترتكز على تحرير ذرة هيدروجين النيكليوفيلي (حركية سريعة لبعض الأحماض) .

2. الآلية الثانية : ترتكز على تحرير إلكترون (حركية بطيئة لمشتقات العضوية) [9] [10] .

الآلية الأساسية تعتمد على محاصرة الجذور الحرة من خلال نقل ذرة الهيدروجين على $DPPH^{\bullet}$ ثم تحويلها إلى جزيء مستقر . $DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH + A^{\bullet}$

تشكل مركبات أكثر إستقرارا من خلال عدة تفاعلات ممكنة : $A^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow A - A$

$$DPPH^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow A - DPPH\ H$$

4.1.1.II. مبدأ إختبار DPPH :

يعتمد إختبار جذر ثنائي فنيل بيكريل هيدرازيل DPPH على مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية , حيث أنه لكل مادة كيميائية طول موجي تمتص عنده الأشعة في مجال المرئي , وتحدث إنتقالات إلكترونية من الحالة الأساسية إلى الحالة المثارة نتيجة تأثير الإشعاع الكهرومغناطيسي [11]

إختبار جذر DPPH يقوم بتحديد قدرة مضادات الجذور الحرة , بعبارة كمية حسابية إنطلاقا من نسب التثبيط المئوي بدلالة تركيز المحلول و النتيجة نعبر عنها بـ IC_{50} , والتي تعرف بأنها الكمية اللازمة لتثبيط 50% من الجذر الحر DPPH [12] [13] عكسيا مع كمية مضادات الأكسدة أي أن إنخفاض قيمة IC_{50} يشير إلى نشاط أعلى لمضادات الأكسدة [14] [15] , يدل نقصان الإمتصاصية على زيادة في تثبيط الجذر الحر (الكبح العالي للجذر الحر) والعكس صحيح [16] .

يستعمل إختبار DPPH بكثرة وهذا راجع للخصائص التي يتميز بها : سريعة , سهلة , غير مكلفة , وتكون نواتجه أخف لونا بكثير من لون الجذر , لمتابعة حركية هذا التفاعل يستعمل جهاز (UV-Vis) ، كما تلاحظ فيه تغيرات مختلفة لمضادات الأكسدة تبعا لطبيعتها , منها الحركية السريعة , المتوسطة أو البطيئة حسب الزمن اللازم للوصول إلى النتيجة , تحسب قدرة مضاد الجذور انطلاقا من نسبة DPPH المتبقية في نهاية الوقت المحدد للتفاعل [17] [18] .

5.1.1.II. دراسة تداخل DPPH – مع المركبات المدروسة :

لتثبيط الجذور الحرة نعتمد على إختبار DPPH في وجود المشتقات المدروسة ، كما نعلم أن جذر DPPH مستقر نسبيا ، يتفاعل مع جزيئات المضادة للجذور ليتحول إلى (DPPH-H) مع نقصان الإمتصاصية وذلك بزيادة التركيز عند طول الموجة الأعظمي λ_{max} = 517nm ، لهذا الإختبار القدرة على حساب النسبة المئوية (I%) لتثبيط الجذور الحرة و مقارنة مدى فعالية هذه المركبات بمركبات قياسية ، مع إمكانية حساب بعض المعاملات الترموديناميكية كحساب الطاقة الحرة للترابط ΔG لجذر DPPH مع المركبات المدروسة [4] :

و ذلك بالإعتماد على معادلة **Bencsi – Hildebrand**

$$\frac{\boldsymbol{A}}{\mathbf{A}-\mathbf{A}_{\circ}} = \frac{\boldsymbol{\varepsilon_G}}{\boldsymbol{\varepsilon_{H-G}}-\boldsymbol{\varepsilon_G}} + \frac{\boldsymbol{\varepsilon_G}}{\boldsymbol{\varepsilon_{H-G}}-\boldsymbol{\varepsilon_G}}\frac{\mathbf{1}}{\mathbf{K}[\boldsymbol{DF}]}$$

المعادلة(2.II) : معادلة Bencsi – Hildebrand .

حيث : A_0 . A : شدتي الإمتصاص عند غياب ووجود المشتق على التوالي .

ε_{H-G} . ε_G : معاملي الإمتصاص قبل وبعد التداخل (الإرتباط) مع الجذر .

$[DF]$: تركيز المركب القياسي.

بعد حساب معامل الإرتباط K انطلاقا من المنحنى $\mathbf{A_0/(A-A_0)=f(1/C)}$ يمكن حساب الطاقة الحرة للترابط ΔG استنادا لمعادلة جيبس .

$$\Delta G = -RTLnK$$

المعادلة(3.II) : معادلة جيبس Gibbs .

حيث : R : ثابت الغازات المثالية ، T: درجة الحرارة بالكلفن .

2.II. الطرق الكهروكيميائية :

تعتبر الطرق الكهروكيميائية من أكثر الطرق التحليلية الآلية التي استعملت في تحديد الفعالية المضادة للأكسدة , حيث استخدمت فيها التقنيات الأمبيرومترية البيامبيرومترية و الفولطامترية حيث تتميز هذه التقنيات بالمصداقية والدقة في العمل [19] , وبشكل عام تتميز الطرق الكهروكيميائية بحساسية و إنتقالية عاليتين وسريعة , تعطي كما هائلا من المعلومات وهذا راجع إلى الخصائص الكهروكيميائية والعوامل الأساسية التي تم توظيفها لتقدير القدرة الإرجاعية أو الفعالية المضادة للأكسدة لكون كمون الأكسدة الكهربائية له علاقة بمفهوم القدرة الإرجاعية [20][21] .

1.2.II. العوامل التي ساعدت في ظهور هذه التقنية :

هناك العديد من العوامل التي ساهمت في إستعمال الطرق الكهروكيميائية كبديل لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة , وذلك لمواجهة النقائص وسلبيات الطرق الطيفية و المزايا التي تتمتع بها الطرق الكهروكيميائية التحليلية [22] .

2.2.II. المواد التي يمكن دراستها كهروكيميائيا :

- ✧ المنتجات الغذائية و الصيدلانية .
- ✧ المنتجات المستخدمة في مستحضرات التجميل .
- ✧ المستخلصات النباتية و المواد المضافة النشطة بيولوجيا .
- ✧ المواد البيولوجية مثل مصل الدم البشري والحيواني [23] .

3.2.II. مزايا الطرق الكهروكيميائية التحليلية :

للطرق الكيميائية العديد من المزايا و الجوانب الإيجابية ، هذا ما جعلها تتصدر طرق التحليل الكيفي أو الكمي ، هذه الطرق مقترحة كبديل للطرق الطيفية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة نذكر منها ما يلي [24] :

- ✓ هي طريقة يمكنها تحليل أي مادة و مهما كانت طبيعتها و في أي وسط مختار (مائي/ضوئي) (حمضي/ قاعدي) .
- ✓ تعتبر من أدق طرق التحليل و تتميز بحساسية عالية ، و إنخفاض تكاليفها .
- ✓ معظم العمليات الكيميائية والحيوية بما في ذلك عملية الإرجاع ,تتم وفق آليات كهروكيميائية.
- ✓ لا تتطلب إلا كمية محدودة من المادة المدروسة .
- ✓ طريقة لا تتطلب كواشف أو مواد كيميائية ما عدا الالكتروليت المساعد .
- ✓ يمكن بهذه الطريقة تقييم النشاط المضاد للأكسدة في وسط ذو قيم PH مختلفة .
- ✓ تسمح لنا بدراسة تأثير العديد من العوامل على نشاط مضادات الأكسدة : كدرجة الحموضة طبيعة الالكتروليت والمذبيات وغيرها .
- ✓ طريقة تتيح إمكانيات للبحث في مجالات لا حصر لها مثل الكيمياء والبيولوجيا والطب خاصة وأنها تظهر تأثيرات الأدوية ومضادات الأكسدة .

II.4.2. الطرق الكهروكيميائية المستعملة :

II.4.2.1. تقنية الفولطامتري الحلقي :

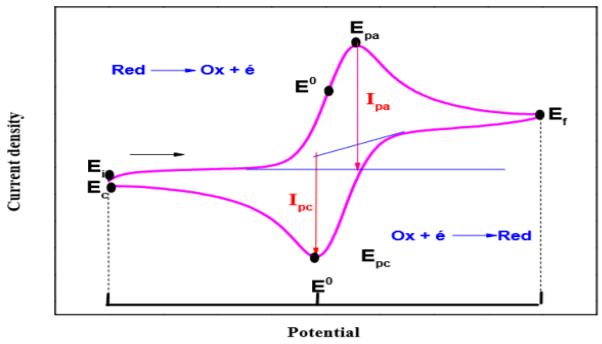
تعتبر طريقة الفولطامترية الحلقية من أهم طرق التحليل الكهروكيميائي ، تقاس فيها منحنيات التيار الجهد (التوتر) ، تتم على قطب صلب ساكن مثل البلاتين [1] ، هذه الطريقة تسمح بتحديد الشروط التي يحضر فيها تفاعل الأكسدة و الإرجاع و كذالك تقدير درجة عكوسية جملة (أكسدة – إرجاع) ، تسمح كذالك في بعض الأحيان بتحديد آلية التفاعل عند المسرى (الإلكترود) خاصتا عندما تشترك بتفاعلات كيميائية في نقل الإلكترونات حسب الآليات (الكتروكيميائي – الكتروكيميائي EE ، الكتروكيميائي – كيميائي – الكتروكيميائي ECE ، الكتروكيميائي – كيميائي EC) [25] . وكذالك تحديد ثوابت السرعة لتفاعلات الكهروكيميائية السريعة [26] , تعتمد تقنية الفولطامتري الحلقي على قياس التيار بدلالة فرق الكمون المتغير المطبق بين مسرى العمل و المسرى المرجعي ، يتغير هذا الكمون بصورة خطية بين قيمتين حديتين E_i و E_f .

حيث :

E_i: الكمون الإبتدائي .

E_f: الكمون النهائي .

تعتبر طريقة الفولطامتري واحدة من أكثر الوسائل الحديثة المستعملة لقياس نشاط مضادات الأكسدة[27] ، و يظهر مخطط الفولطامتري الحلقي على هيئة قمم (نتوءات) مصعديه و مهبطيه متعاكسة و التي تمثل عمليتي الأكسدة والإرجاع [28] .



الشكل (3.II) : منحنى الفولطامتري الحلقي للثنائية (OX/Red) لانتقال إلكترون واحد [29].

حيث :

I_{pa} و I_{PC} : على التوالي هما قمم التيار المصعدي و التيار المهبطي .

E_{Pa} و E_{PC} : يمثلان كمونات القمم المصعدية و المهبطية .

ΔE_P : تمثل التغيرات في الكمونات E_{Pa} , E_{PC} أو I_{pa} , I_{PC} .

1.1.4.2.II. تفسير منحنى الفولطامتري الحلقي :

عند إجراء تفاعل أكسدة إرجاع ، يتم الحصول على المنحنى الفولطا امبيرومتري الحلقي الشكل (4.II) ، إذ تفسر الظواهر التي تحدث عند كل مرحلة من مراحل الإستجابة بين المادة المدروسة و التيار كالتالي :

- عند فرق كمون E_i : ليس هناك آية مادة كهروفعالة و يكون تركيز المادة المتفاعلة مساويا C_0 ، في المحلول و كذلك عند المسرى ، أما تركيز ناتج التفاعل فمن البديهي أن يكون مساويا للصفر .

- عند فرق كمون E^0 : تكون المادة الكهروفعالة عند المسرى في تناقص ، بينما المادة الناتجة تزداد .

- عند فرق كمون E_{pa} : يتناهى تركيز المادة المتفاعلة عند الصفر في جوار المسرى ، في حين أن تركيز المادة الناتجة يؤول إلى C_0. وهو ما نفسره بظاهرة استهلاك المادة الكهروفعالة في جوار المسرى نتيجة لسرعة المسح العالية .

- عند فرق كمون E_f : يزداد سمك طبقة الانتشار لأن المادة الناتجة تنتشر في المحلول و يتناقص مقدار التركيز إلى أن يتناهى مقدار ثابت ، ثم يعكس اتجاه المسح لفرق الكمونات .

- عند فرق الكمون E_{pc} : في هذه الحالة فان المادة الناتجة الكهروفعالة هي التي تكون موجودة عند المسرى ، و هي التي تخضع للإستهلاك فيتناقص تركيزها عند المسرى متناهيا إلى الصفر , في حين أن تركيز المادة الفعالة يقترب مرة أخرى من C_0 و نعود من جديد إلى فرق الكمون الإبتدائي .

يرتكز شكل المنحنى الفولطمتري الحلقي على طبيعة وسرعة النظام الكهروكيميائي , ففي حالة نظام سريع علاقة نرنست كافية لتفسير مختلف الظواهر ذات صلة ، أما في حالة نظام بطيء تأخذ سرعة التفاعلات على سطح المسرى لتفسر الظواهر ، و ذلك باستخدام علاقة باتلر فولمر (*Butler - Volmer*) بدلا من علاقة نرنست [30] [31] .

II.2.1.4.2. الأجهزة المستعملة في الفولطامتري الحلقي :

إن دراسة السلوك الكهروكيميائي يتم داخل خلية زجاجية مزدوجة الجدار غطائها يحتوي على خمس ثقب ، ثلاثة منها تسمح بالدخول :

1. **إلكترود العمل :**

هو عبارة عن إسطوانة من الكربون الزجاجي أو البلاتين ، وهو الذي تتم فيه عمليات الأكسدة والإرجاع .

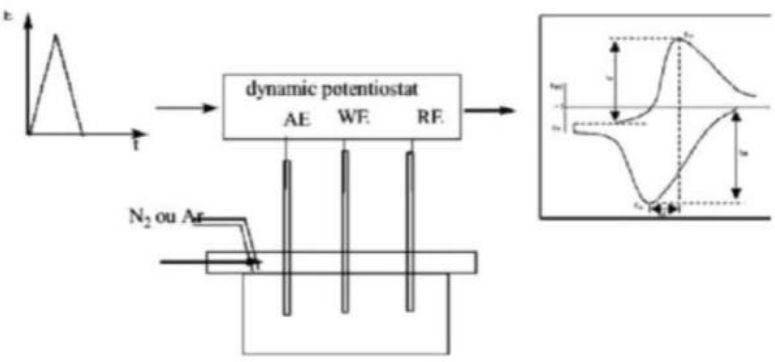
2. **إلكترود المرجع :**

عبارة عن إلكترود من الكالومال المشبع KCL .

3. **إلكترود المساعد :**

عبارة عن إلكترود مصنوع من بلاتين يضمن مرور تيار الكهربائي .

أما بالنسبة للفتحتان الاخرتان على غطاء الخلية فتسمح احداهما بتزويد الوسط بالآزوت الذي يعمل على طرد الأكسجين ويمكن أن يكون نشط كهربائيا ، و تسمح الأخرى بإضافة المواد المدروسة والشكل (4.II) يوضح ذلك [25] :



الشكل (4.II) : الخلية المستعملة في الفولطامتري الحلقي .

II.3.1.4.2. الخصائص المميزة لمختلف الأنظمة في الفولطامتري الحلقي :

تتميز أنظمة جمل التحول حسب نوع الإنتقال الإلكتروني في التفاعل الكهروكيميائي إلى ثلاث أنظمة أساسية مختلفة لمنحنى الفولطامتري الحلقي [32] .

- **التحول الشحني السريع (نظام عكوس) :**

هو نظام سريع تحدث فيه عملية نقل شحنة بين قطب العمل و العناصر الكهروفعالة ، وهي أسرع بكثير من عملية نقل العناصر داخل المحلول نحو سطح قطب العمل يعبر عن علاقة التيار لراندالس (Rendels) و سيفيك (Sevik) لنظام عكوس بالعلاقة التالية [3] :

$$Ip = \left(2.69 \times 10^{5}\right) \mathrm{n}^{\frac{3}{2}} A D^{\frac{1}{2}} V^{\frac{1}{2}} \mathrm{C}$$

المعادلة(4.II) : علاقة التيارلـ (*Randels*) و (*Sevick*) .

الأنواع الكيميائية التي حدثت لها الأكسدة خلال المسح ذهابا يتم إرجاعها في الاتجاه العكسي ، يكون الفرق في الكمون بين المكونات لقمم النتوءات مستقل عن سرعة المسح ، وبذلك يكون النظام سريع وعكوس [33] .

الفرق في الجهد بين النتوءات الأكسدة و الإرجاع عند درجة حرارة 25° تعطى بالعلاقة التالية :

$$\Delta \mathrm{Ep} = \mathrm{Epa} - \mathrm{Epc} = \frac{59}{\mathrm{n}} (mV)$$

المعادلة(5.II) : علاقة الفرق في الجهد بين النتوءات الأكسدة و الإرجاع عند درجة حرارة 25°.

النسبة بين شدة التيار المصعدي وشدة التيار المهبطي هي :

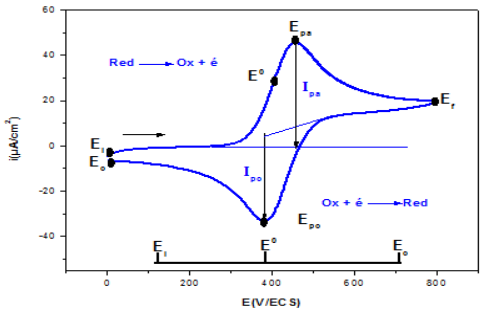
$$\mathrm{I_a} / \mathrm{I_c} = 1$$

I_P : شدة التيار (A)، **n** :عدد الإكترونات المتبادلة, **A** : سطح الكترود العمل(Cm^2), **D**: معامل الانتشار(Cm^2/S), **V** : سرعة المسح $(V.s^{-1})$، **C** : تركيز العينة المدروسة ($mol.cm^{-3}$) .

Ipa ، Ipc : شدتي التيار المهبطي و المصعدي .

Epa ، Epc : كموني التيار ألمصعدي ولمهبطي [34] .

ويتم تمثيل الفولطاموغرام لهذه الحالة كمايلي:



الشكل(5.II) : منحنى فولطامتري الحلقي لنظام السريع (عكوس).

- **التحول الشحني البطيء (نظام غير عكوس) :**

هو نظام غير عكوس لان سرعة نقل الشحنة ضعيفة جدا مقارنة مع سرعة نقل المادة ، يتناسب التيار المتبقي مع التركيز والجذر التربيعي لسرعة المسح ، لكنه ضعيف بسبب حركية النقل الإلكتروني , يعبر عن هذه الحركية بمعامل النقل (α) يعبر عن علاقة التيار للتحول الشحني البطيء (غير عكوس) بالعلاقة التالية :

$$\boldsymbol{Ip = (2.99 \times 10^5) a^{1/2} n^{3/2} AD^{1/2} V^{1/2} C}$$

المعادلة(6.II) : علاقة التيار للتحول الشحني البطيء.

النسبة بين التيار المصعدي و المهبطي تعطى بالعلاقة التالية :

$$Ipa/Ipc \neq 1$$

- **التحول الشحني نصف سريع (نصف عكوس) :**

هو نظام نصف عكوس تكون سرعة نقل الشحنة بطيئة ، ويكون فيه تفاعل عكوس ، ويجدر الإشارة إلى أن شدة التيار لا تتناسب خطيا مع الجذر التربيعي لسرعة المسح يعبر عن علاقة التيار للتحول الشحني نصف سريع (نصف عكوس) بالعلاقة التالية :

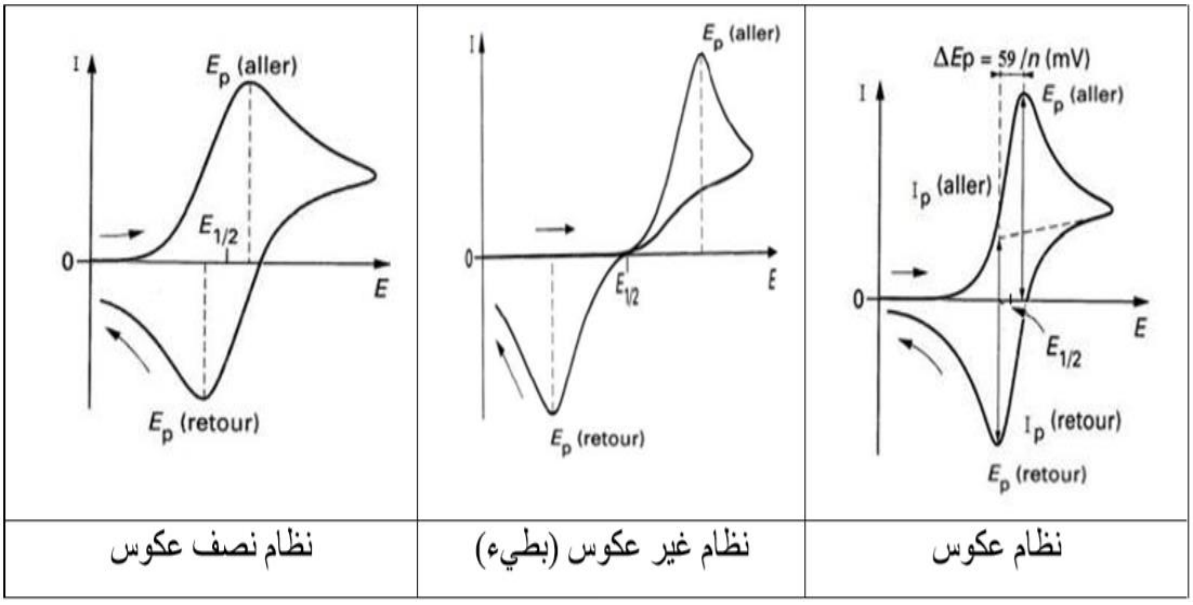
$$\boldsymbol{Ip = \left(2.99 \times 10^5\right) n^{\frac{3}{2}} AD^{\frac{1}{2}} V^{\frac{1}{2}} C}$$

المعادلة(7.II) : علاقة التيار للتحول الشحني نصف سريع .

يعطى الفرق في الجهد بين منحنيات الأكسدة والإرجاع بالعلاقة التالية :

$$\boldsymbol{\Delta E = Epa - Epc > \frac{59}{n} (mv)}$$

المعادلة(8.II) : الفرق في الجهد بين منحنيات الأكسدة والإرجاع.



نظام عكوس	نظام غير عكوس (بطيء)	نظام نصف عكوس

الشكل (6.II) : منحنيات الفولطاأمبيرومتري الحلقي لنظام عكوس ونصف عكوس وبطيء .

II.4.1.4.2. مجالات استخدام تقنيات الفولطامتري الحلقي :

تتعدد استخدامات التقنيات الفولطامتري الحلقي في مختلف المجالات البحث العلمي و خاصة في مجال الكيمياء الكهربائية وتفاعلاتها و استخداماتها [35] [36] .

- البحث عن المواد المقاومة للصدأ(التآكل يكون نتيجة لسلسلة من التفاعلات الكهربائية و الكيميائية) .
- إنتاج أنواع جديدة من البطاريات التي يمكنها تخزين كميات كبيرة من الطاقة .
- التحليل الكمي لآثار المعادن مثل الذهب من أكسدة و إرجاع هذه المواد كيميائية .
- إستخدمت مؤخرا في تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة ، وذلك لما تملكه هذه الأخيرة من أهمية بالغة في المجال الحيوي .

II.2.4.2. إختبار جذر فوق الأكسيد O_2^- بواسطة تقنية الفولطامتري الحلقي :

في الأنظمة البيولوجية يؤدي الإجهاد التاكسدي إلى موت الخلايا و ظهور العديد من الأمراض مثل الشيخوخة المبكرة و السرطان والقلب ... [37] ، حيث تعتبر الجذور الحرة هي المتسبب الرئيسي في ظهور هذه الأمراض , أستعملت عدة طرق للتخلص من الجذور وذالك من خلال نقل الهيدروجين (HAT) ونقل إلكترون (ET) التي تقيس القدرة المضادة للأكسدة ومن الجذور التي تشارك في هاتين الطريقتين $ABTS^+$، $ROO^\bullet$ ،$DPPH$، في دراستنا سنهتم بجذر فوق الأكسيد $O_2^{\bullet-}$ [38] [39] .

II.1.2.4.2. جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\bullet-}$) suferax.dranion :

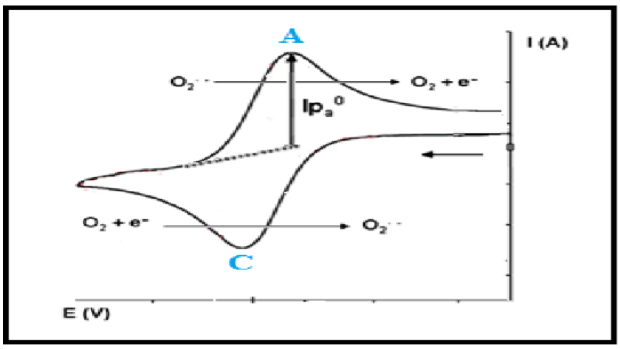
عبارة عن جذر أحادي مشحون سالبا ، وهو أول عملية تأكسدية داخل الخلية ، ينتج هذا الجذر عن الإرجاع الأحادي لجزئية الأكسجين عند إستقبالها إلكترون ، يعتبر أيون فوق الأكسيد قليل التفاعل ، ينتشر بسهولة في جسم الإنسان ، يتفاعل في وجود SOD(*superoxide dismutase*) مع H^+ معطيا بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و O_2 .

$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$$

II.2.2.4.2. مبدأ الطريقة :

يستعمل اختبار $O_2^{\bullet-}$ جذر فوق الأكسيد كنموذج ممتاز لما يحدث في خلايا الكائنات الحية و المواد الطبيعية و الصناعية [40]، تم حديثا استخدام تقنية الفولطامترية لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة ، هذه الطريقة مبنية على حركية التفاعل بين الأكسجين النشط ($O_2^{\bullet-}$) و المواد المضادة للأكسدة ،كما تستخدم هذه التقنية لإنتاج الأكسجين النشط ($O_2^{\bullet-}$) و ذلك بإرجاع أكسجين في الأوساط

الغير مانحة للبروتون (aprotique) خلال طبقة الانتشار على مسرى الكربون الزجاجي ، حيث يكتسب الأكسجين إلكترون فيصبح جذر $(O_2^{\bullet -})$ حسب الشكل (7.II) .



الشكل (7.II) : منحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي للأكسجين في 0.1M/DMF من (BU4NPF6) سرعة المسح (100Mv/s) . [41]

في القمة C يكون الأكسجين النشط $(O_2^{\bullet -})$ طويل العمر في هذه الأوساط [42] وجود جذر حر $(O_2^{\bullet -})$ سهل الكشف عنه بواسطة التيار المصعدي المقاس على نفس المسرى خلال المسح العكسي كما هو موضح في الشكل(7.II) القمة A . نعلم إن إرجاع $(O_2^{\bullet -})$ هو تفاعل عكوس كما أن جذر حر $(O_2^{\bullet -})$ مستقر في الأوساط الغير مبرتنة (aprotiaque) ، وبالتالي تعتبر هذه الطريقة من أسهل الطرق لتوليد جذر حر $(O_2^{\bullet -})$ بدون أن نحتاج إلى أنظمة آنزيمية من اجل دراسة تفاعلاته مع الجزيئات ، وعليه يرجع النشاط المضاد للمشتقات المدروسة إلى قدرتها لمنح هيدروجين أو إلكترون ومن خلال الدراسة الكهروكيميائية للمشتقات في الأوساط العضوية التي تعتبر معط جيد للالكترونات بالإضافة إلى كونها غير نشطة في مجال كمون إرجاع الأكسجين وهذا كي لا يحدث أي تداخل أو تعقيد يحول دون تفسير النتائج .

إن للمشتقات المدروسة عوامل مرجعة إلا أن أكسدتها تتم في المجال الموجب للكمون أي بعيدا عن مجال أكسدة إرجاع الزوج $(O_2^{\bullet -}/O_2)$ و الذي يتم إرجاعه في المجال السالب [41] .

بعد عمليات إحصائية اعتمدت الطريقة الفولطامترية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات المصنعة و الطبيعية مقارنة بمركبات قياسية الارتباطات الخطية بين التيار المصعدي للأكسجين النشط $(O_2^{\bullet -})$ و تراكيز المواد المضادة للأكسدة مكنتها من وضع دليل إحصائي لقيم مضادة للأكسدة لتثبيط 30% و50% من الأكسجين النشط $(O_2^{\bullet -})$ وهي I_{C50} وI_{C30} .

3.2.4.2.II. شرح الخطوات المتبعة في العمل :

1. **الخطوة الأولى :** تحضير خلية تحتوي على مذيب مناسب فائق النقاوة بها 0.12M من الإلكتروليت المساعد ، تشبع المحتوى بالهواء الجاف لمدة 15min دقيقة في هذه الشروط

ذوبانية الأكسجين تقدر ب $0.94 \times 10^{-3}M$ هذه القيمة متعلقة بالضغط $0.2bar$ ، سرعة المسح $100mv/s$، مجال مسح الكمون E من $[0 - ،1500-]$ نرسم المنحنى الفولطاامبيرومتري .

2. **الخطوة الثانية :** تحضير محلول يحتوي على مذيب مناسب و تركيز معين للمادة المراد دراستها ، ترسم المنحنيات الفولطاأمبيرومترية المتعلقة بكل التراكيز بسرعة مسح $100mv/s$ مكررة ثلاث مرات .

4.2.4.2.II. النتائج التجريبية :

- كلما كانت قيمة IC_{50} أكبر كانت فعالية المركب أضعف .
- كلما كانت قيمة $\frac{I_0 - I_S}{I_0 - I_{RES}} \times 100$ أكبر كانت الفعالية للمركب أكبر.

يمكن من خلال هذه القيمة وضع سلم لتزايد الفعالية للمركبات القياسية و الصناعية .

3.II. المعاملات الترموديناميكية :

تتمثل في ثابت الترابط و الطاقة الحرة لجيبس و معامل الإنتشار والتي سيتم توضيحها فيما يلي:

1.3.II. ثابت الترابط K :

هو حالة خاصة من ثابت الاتزان K وهو حالة اتزان الترابط الجزئي ، بمعنى التوازن بين عمليات الاتحاد و التفكك بعد وقت لا نهائي من التفاعل , تتحول المكونات A وB إلى نواتج C .

$$A + B \leftrightarrow C$$

حيث أن ثابت الترابط متعلق بطاقة جيبس الحرة وذلك لتحديد ثابت إنحلال الرابطة ، نستخدم الاتجاه المعاكس عندما يكون الناتج أو المتشكل من الدرجة الأولى تأخذ الوحدات بالمول (mol) أو مول لكل لتر (mol/l) دائما .

- **طريقة تحديد ثابت الترابط عند إستخدام تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي :**

بالاعتماد على الشروط المبنية في الطريقة الكهروكيميائية و باستخدام تقنية الفولطاأمبيرومتري تتحصل على المنحنيات الفولطاأمبيرومترية في وجود و غياب مضاد للأكسدة ومنه نرسم $\log I/C$ بدلالة $log\frac{i}{i_\circ - i}$ حسب المعادلة التالية [42] .

$$\boldsymbol{log\frac{1}{c} = logK + log\frac{i}{i_\circ - i}}$$

المعادلة(9.II) : معادلة حساب ثابت الترابط K.

حيث:

C: تركيز المضاد التأكسدي ب (mol/l) . k : ثابت الترابط (l/mol) .

i ، i_0 : على التوالي هما كثافة التيار في وجود وغياب المضاد التأكسدي .

نستطيع إيجاد قيمة K من خلال المعادلة المرسومة و بأخذ اللوغاريتم العشري لقيمة تقاطع المستقيم مع محور Y .

- **طريقة Benesi Hildebrand لتحديد ثابت الترابط :**

لتحديد ثابت الترابط هناك طريقة رياضية تستخدم في الكيمياء الفيزيائية و تطبق عادة في تفاعلات المعقدات معطي و مكتسب (host–guest) الجزئية [43] تسمح أطياف الامتصاص الالكترونية قبل و بعد حدوث التفاعل بتحديد ثابت الترابط k ، بالافتراض بأن أحد المتفاعلات يكون بكمية زائدة عن المتفاعلات الأخرى عن طريق المعادلة التالية :

$$H + G \underset{}{\overset{K}{\rightleftharpoons}} HG$$

لدينا :

$$K = \frac{[HG]}{[H]+[G]}$$

$$[H]_0 = [H] + [HG]$$

$$[G]_0 = [G] + [HG]$$

بتعويض قيم $[H]_0$ و $[G]_0$ في المعادلة نجد :

$$K = \frac{[HG]}{\{[H]_0 - [HG]\}\{[G]_0 - [HG]\}}$$

وبإعتبار أن $[G]_0$ $\ggg$ $[H]_0$ و منه $([G]_0 - [HG]) \approx [G]_0$

$$K = \frac{[HG]}{([H]_0 - [HG])[G]_0}$$

إعادة الترتيب تعطي : $[HG] = K\,[G]_0\,[H]_0 / 1 + K$

لدينا الامتصاصية قبل و بعد حدوث التفاعل تعطى كما يلي :

$$\Delta A = A - A_0$$

بتطبيق قانون بيير لامبير و بإعتبار l = 1 cm نجد :

$$\Delta A = \varepsilon_{HG}[HG] + \varepsilon_G[G] - \varepsilon_G[G]_0$$

بعد إعادة ترتيب نجد :

$$\frac{\boldsymbol{A}}{\mathbf{A} - \mathbf{A_0}} = \frac{\boldsymbol{\varepsilon_G}}{\boldsymbol{\varepsilon_{HG}} - \boldsymbol{\varepsilon_G}} + \frac{\boldsymbol{\varepsilon_G}}{\boldsymbol{\varepsilon_{HG}} - \boldsymbol{\varepsilon_G}} \frac{\mathbf{1}}{\mathbf{K}\,[\boldsymbol{HG}]}$$

المعادلة(2.II) : معادلة Benesi - Hildebrand لتحديد ثابت الترابط .

يمكن تحديد قيمة ثابت الترابط انطلاقا من رسم المنحني [HG] /1 بدلالة $A/A-A_0$ حيث تقدر قيمة ثابت الترابط بنسبة الميل على التقاطع .

2.3.II. الطاقة الحرة للترابط ΔG :

هي عبارة عن طاقة كيميائية لجهد أو كمون مادة كيميائية للقيام بتفاعل كيميائي أو لتحول مواد أخرى ، لتكوين روابط كيميائية أو فكها يحتاج إلى طاقة و التي يمكن أن تمتص أو تصدر من نظام كيميائي، كما تحتوي دالة جيبس لنظام كبير على عدة متغيرات $[N_i]$ تؤثر على طاقة الحرة ΔG و هي تصف لتركيب الكيميائي و كميات المواد، ويعبر عنها بأعداد الجزيئات الموجودة في التفاعل .

يمكن حساب قيمة الطاقة الحرة ΔG حسب المعادلة التالية :

$$\Delta G = -RTLn\ K$$

المعادلة(3.II) : معادلة جيبس Gibbs.

حيث :

R: ثابت الغازات المثالية بالوحدة $(J.K^{-1}.mol)$.

T: درجة الحرارة بالكلفن .

K : ثابت الترابط بالوحدة (L/mol) .

3.3.II. معامل الإنتشار D :

يعرف الإنتشار (diffusion) فيزيائيا وكيميائيا على أنه عملية توزيع جزيئات أو حبيبات بشكل متساوي في فراغ أو في حيز متاح ، و يتم الإنتشار بإنتقال الجزيئات أو الذرات من أعلى تركيز إلى أقل تركيز حتى يتساوى تركيز الجزيئات في المنطقتين بسبب الحركة الحرارية العشوائية لجزيئات المادة التي تنشأ هذه الظاهرة ، التي تصطدم مع بعضها البعض و تتباعد لتشغل جميع الحيز المتاح لها .

كثافة التيار لا تتعلق فقط بالتركيز و خصائص الإنتشار للمواد الفعالة كهربائيا بل بسرعة المسح ففي الفولطاأمبيرومتري الحلقي توضح المعادلة (Rendles-sevcik) تأثير سرعة المسح على كثافة التيار من أجل أكسدة بسيطة كمثال ذلك زوج الفيروسان (ferrocene/Ferroceniun) [45] .

$$i_p = 0.4463nFAC\ [\frac{\mathrm{nFvD}}{\mathrm{RT}}]^{1/2}$$

يمكن كتابة المعادلة في درجة حرارة 25 °C بالشكل التالي :

$$\boldsymbol{i_p = 2.69 \cdot 10^5 n^{3/2} ACD^{1/2}\ v^{1/2}}$$

المعادلة(4.II) : معادلة Rendles-sevcik .

حيث : i_p : كثافة التيار القصوى بالأمبير .

n : عدد الالكترونات المنتقلة عند الاكسدة .

A : مساحة سطح الكترود العمل (cm^2) .

c : تركيز المادة النشطة كهربائيا .

D : معامل الإنتشار (cm^2/s) .

v: سرعة مسح (v/s) .

R: ثابت الغازات المثالية بالوحدة $(J.K^{-1}.mol^{-1})$.

T: درجة الحرارة بالكلفن .

لتحديد قيمة معامل الإنتشار نقوم برسم قيم كثافة التيار بدلالة جذر سرعة المسح .

المراجع بالعربية :

1. غيابة زينب , دراسة التحليلية للبيدات والفينولات ومكونات أخر لبعض أصناف التمر المحلية , رسالة دكتوراه , جامعة قصدي مرباح , ورقلة , 2015 , ص 40 ,106, 113, 120 .

3. حني مريم , تحضير وتشخيص وتقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للطفرات لبعض مشتقات N- فيرو سينيل ميثيل بنزونتريل , مذكرة دكتوراه , تخصص كهروكيمياء تحليلية ومحيط , جامعة حمه لخضر , الوادي , 2017 ص 42 .

4. همامي هادية, تصنيع تشخيص تقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للطفرات لبعض مشتقات N- فيروسينيل ميثيل نتروانيلين, تخصص كهروكيمياء تحليلية ومحيط ,جامعة حمه لخضر , الوادي ,2017 , ص 34 .

22. ربيعي.ع.ك, تقدير محتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكيميائية , رسالة دوكتوراه , تخصص كيمياء , جامعة قصدي مرباح , ورقلة , 2016 .

23. محمد الأخضر.ب , المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبربوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية, رسالة دكتوراه, تخصص كيمياء, جامعة قصدي مرباح , ورقلة , 2016 .

25. سهيلة.ل, تحضير ودراسة الكتروكيميائية وبنيوية للأمينات (فيروسينيل ميثيل أمين -2-3-4- نتروبنزين) مذكرة ماجستير جامعة قصدي مرباح , ورقلة , 2008 , ص24-30 .

32. إيمان.ب , Détermination de quelques paramètres électrochimique de trois amides ferrocenique تحديد بعض الثوابت الكهروكيميائية لثلاثة أميدات فيروسينية , مذكرة ماستر, تخصص كيمياء عضوية , جامعة حمه لخضر, الوادي, 2015 .

مراجع بالغة الأجنبية :

2. Yashin, Y. I., Nemzer, B.V. Ryzhnev, V.Y., Yashin, A. Y., Chernousova, N. I., & Fedina, P. A.(2010). Creation of a databank for content of antioxidants in food products by an amperometric method. Molecules, 15(10), 7450-7466.

5. J.S. Fritz & G.H. Schenk, Quantitative Chemistry, Fourth edition, Allyn Bacon, Boston, 1979.

6. Molyneux.P, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity .Songklanakarin J. Sci. Technol, 2004. **26**(2): p. 211-219.

7. Sharma.O.P, and Bhat.T.K, DPPH antioxidant assay revisited. Food chemistry, 2009. 113(4): p. 1202-1205.

8. BLOIS, Détermination antioxydants de M.S. par l'utilisation d'un radical libre stable nature, 181(1958) 1199-2000.

9. Pisoschi AM, Cheregi MC and Danet AF (2009) Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. Molecules 14: 480-493.

10.Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L and Byrne DH (2006) Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis 19: 669–675.

11. V.Bondet,; W.Brand-Williams, C. Berset, Lebensm. Wiss. Technol., 30(**1997)**609-615.

12. Lim.Y.Y, Lim.T.T, and Tee.J.J, Antioxidant properties of guava fruit: comparison with some local fruits. Sunway Academic Journal, 2006 3: p. 9-20
13. James.D, Sheneni.V, Kadejo.A, and Yatai.K, Phytochemical screening, and in-vitro activities in different solvent extracts of Vitex doniana leaves, stem bark and root bark. American Journal of Biomedical and Life Sciences, 2014. 2(1): p. 22-27.
14. Banani.M, Kameshwari.M.S, and Shubarani.R, Antioxidant Activity in two Species of Urginea Steinhill.Hyacinthaceae.International Journal of Recent Scientific Research, 2015.**6**(5):p.3807-3811.
15. Ramesh.C, Raghu.K, Jamuna.K, Joyce.G.S, Mala. R.-S.V, and BR.V.A, Comparative evaluation of antioxidant property in methanol extracts of some common vegetables of India. Annals of Biological Research, 2011. **2** (2): p. 86-94.
16. Sinha.R.P, Stability, Antioxidative and Pharmaceutical Potentials of Porphyra-334 Isolated From a Hot-Spring Cyanobacterium Nostocsp. Strain HKAR-2. international journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 2015.**3**(1):p.94-111.
17. R. Trivedi, S.B. Deepthi, L. Giribabu, B. Sridhar, P. Sujitha, C.G. Kumar, K.V.S. Ramakrishna, Eur. J. Inorg. Chem. (2012). doi: 10.1002/ejic.201200038.
18. W.B. Wang, D. Liu, D.W. Pi, Q.B. Liao, M.G. Liu, Adv. Mater. Res. (2013). doi:10.4028/www.scientiic.net/AMR.781-784.1085.
19. M.d.S.Raymundo, M.M.da Silva Paula, C. Franco, R.Fett, LWT 40 (2007) 1133–1139.
20. L.M. Magalhaes, M.A. Segundo, S. Reis, J.L.F.C. Lima. Anal. Chim. Acta. 613 (2008) 1–19.
21. E.N. Frankel, Food Chem. 57 (1996) 51.
24. Galato, D., Ckless, K., Susin, M. F., Giacomelli, C., Ribeiro-do-Valle, R. M., & Spinelli, A. (2001). Antioxidant capacity of phenolic and related compounds:correlation among electrochemical, visible spectroscopy methods and structure–antioxidant activity. Redox Report, 6(4), 243-250 .
26. J.Barek, A. G. Fogg, A. Muck and J. Zima, Crit. Rev. Anal. Chem, 31, 291(2001)
27. N.MOUATS.Etude électrochimique des dérives de l acide 2-Nitrophenyl sulfonyl Acétique. Mémoire de Magister. Skikda : Université De 20 Aout 1955,2010, P 20.
28. Chevion S, Roberts MA, Chevion M (2000) The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity. Free Radic Biol Med 28: 860-870.
29. Joseph Wang, Analytical electrochemistry ,2nd ED, A johen Wiley & Sons, INC, Publication , NEW YORK , (2001)1-100.
30. Bar, A.J., Faulkner, L.R. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, 2nd Edition, John Wiley and Sons Publishers (2001) .
31. Bedioui, F. Voltampérométrie. Théorie et mise en œuvre expérimentale, technique de l'ingénieur, réf : P2126.
33. Mohamed khaled Bechki, Etude du comportement électrochimique de (ferrocenyl) ethanol et nitrophenyleferrocenes, Mémoire de Magister, université Kasdi Merbah-Ouargla, 2012
34. Allen. J.Bard. Larry. R. Faulkner, «electrochimie principe, methode et application» .EDMasson, (1983), 318-323.
35. J. C. Vire, J. M. Kauffmann and G. J. Patriarche, J. Pharm. Biomed. Anal,7,1323.
36. R. Kalvoda and M. Kopanica, Pure Appl. Ch,61,97(1987) .

37. J.L. Mark, Science 238 (1987) 1352–1353.
38. C. Santos-Buelga, G. Williamson, Methods in Polyphenol Analysis, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2003.
39. Antioxidant measurement and applications, ACS Symposium Series 956, in: F. Shahidi, C.-T. Ho (Eds.), Oxford University Press (2007).
40. C. Le Bourvellec, D.Hauchard, A.Darchen, J.L.Burgot, M.L.Abasq .Talanta 75 (2008) 1098– 1103
41. Carine Le Bourvellec et al. Validation of a new method using the reactivity of electrogeneratedsuperoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoid, Ecole Nationale Superieure de Chimie de Rennes, France(2008) .
42. Sawyer,D.T. Oxygen Chemistry, Oxford University Press, Oxford, 1991,p. 27.
43. G.C. Zhao, J.J. Zhu, J.J. Zhang, H.Y. Chen. Anal. Chim. Acta 394, 337 (1999) .
44. Benesi H A, Hildebrand J H. Journal of the American Chemical Society, 1949, (71), 2703- 2707. Doi : 10.1021/ja01176a030
45. J.Barek, A. G. Fogg, A. Muck and J. Zima, Crit. Rev. Anal. Chem, 31, 291(2001) .

الجانب التطبيقي

طريقة العمل

النتائج و مناقشتها

III. تقدير الفعالية المضادة للاكسدة :

III .1. تقدير الفعالية المضادة للاكسدة "اختبار DPPH ":

1.1.III. بواسطة مطيافية الاشعة المرئية و الفوق بنفسجية :

اختبارDPPH هو اختبار مضاد للجذور الحرة عرف من طرف Bouloiz, حيث يعتمد على ارجاع جذر •DPPH المتميز باللون البنفسجي المسود ليرجع الى DPPH-H و هو مركب غير جذري ذو اللون الاصفر الترابي [1] .

يتم تتبع هذا التفاعل بواسطة جهاز(UV-Vis), اذ يترك هذا التفاعل في الظلام لمدة 30 دقيقة مع محلول مضاد الاكسدة .

2.1.III.عمليا :

أجريت الطريقة الطيفية باستخدام أشعة فوق البنفسجية و المرئية(UV-Vis spectrometer Shimadzu 1800) و باستعمال خلايا الكوارتز ذات سعة 5 مل .

تم الحصول على البيانات بواسطة برنامج (Pentium IV (CPU4.0GHz and RAM 2Gb و باستخدام برنامج تابع للكمبيوتر(UV probe software version 2.34 (Shimadzu و تمت معالجة المعطيات (الرسومات البيانية) بواسطة برنامج version2.0 (Integral Software, OriginLab software (France .

يتم تحضير محلول من(DPPH) بتركيز 0.1 mM مذاب في الاسيتونتريل ثم تراكيز مختلفة من المركبات المدروسة المخففة في الاسيتونتريل من كل تركيز نأخذ 1 ml نضيف لها 2 ml من (DPPH) نجانس المحلول، و نتركه 30 دقيقة في الظلام (يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذور الحرة بواسطة مضادات الجذور، إذ يترك مدة زمنية لاستقرار التفاعل، مع العلم أن الجذر (DPPH) مستقر نسبيا يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور ليتحول إلى (DPPH-H) بعدها يتم رسم منحنى الامتصاص لتراكيز المحضره في جهازUV-Vis على المجال(nm 200–900) عند الطول الموجي517 نانومتر [2] [3].

استنادا للنتائج يمكن حساب نسبة التثبيط (I%)[4] [5] و ذلك اعتمادا على العلاقة التالية :

$$\mathbf{I\%} = \frac{\mathbf{A_0 - A_I}}{\mathbf{A_0}} \times \mathbf{100}$$

المعادلة (1.III) : معادلة حساب نسبة التثبيط (I%)

حيث أن:

A_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المركب المدروس .

Ai: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + المركب المدروس) بعد مرور 30 دقيقة.

نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز انطلاقا من هذا الاخير نحصل على التركيز المناسب لتثبيط **50%** من الجذور الحرة لكل من المركبات المدروسة, كما يمكن ايضا حساب **K (L/mol)** و **ΔG (KJ/mol)** انطلاقا من مختلف التراكيز بالنسبة المركبات المدروسة يرسم **$A_0/(A-A_0)=f(1/C)$** [6].

2.III. تقدير الفعالية المضادة للجذور " اختبار $O_2^{\bullet}$ ":

1.2.III. بواسطة الطريقة الكهروكيميائية :

اقترحت الطرق الكهروكيميائية وتم تجريبها و أعطت نتائج جد ايجابية في روسيا في العقد الأخير أي في بداية عام 2000, إذ أن الطريقة الفولطاأمبيرومترية من طرف الباحث **(Korotkova)**, وقد تطرق لها الباحثان **(S.Chevio)** و **(R.kohen)** لأول مرة في بداية ابحاثهما حول دراسة خصائص و آليات تفاعل مضادات الأكسدة داخل جسم الكائن الحي, اعتمد الباحثان هذه الطريقة لحل إشكالية ظهور العكارة و الكثافة الضوئية التي تعيق عملية تقدير الفعالية المضادة للأكسدة في بلازما الدم و الانسجة الحية **[7] [8].**

2.2.III. عمليا :

يتم تحضير خلية كهروكيميائية مغلقة تحتوي على **25** مل **(ACN)** فائق النقاوة بها **0.1M** من الكهروليت المساعد (فلورورباعي) امونيوم (بيوتيل رباعي) بورات**(Bu_4NBF_4)**, يشبع محتوى الخلية الكهروكيميائية بغاز الازوت لمدة **10** دقائق, يرسم المنحنى الفولطاأمبيرومتري في هذه الشروط للتأكد من أن المذيب مادة غير فعالة في مجال الدراسة, ثم لتشبع الخلية الكهروكيميائية بغاز الاكسجين تعتمد سرعات المسح التالية **: (500,400,300,200,100 mV/s)** على مسرى عمل ثابت الفحم الزجاجي, مجال مسح الكمون**(E)** من (**0 a-1600 mV**), يرسم المنحنى الفولطاأمبيرومتري في هذه الشروط **[9].**

ثم يحضر محلول يحوي على **(1.0×10^{-3} M)** من مضاد الأكسدة المدروس مذاب في**ACN** يتم الإضافة تدريجيا للخلية الكهروكيميائية, نرسم المنحنيات الفولطاأمبيرومترية المتعلقة بكل تركيز بسرعة مسح سابقة الذكر.

استنادا للنتائج يمكن حساب النسبة المئوية للتثبيط (I%) و ذلك اعتمادا على العلاقة **(1.III)** نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز انطلاقامن هذا الاخير نحصل على التركيز المناسب لتثبيط 50% من الجذور الحرة لكل من المركبات المدروسة **[10].**

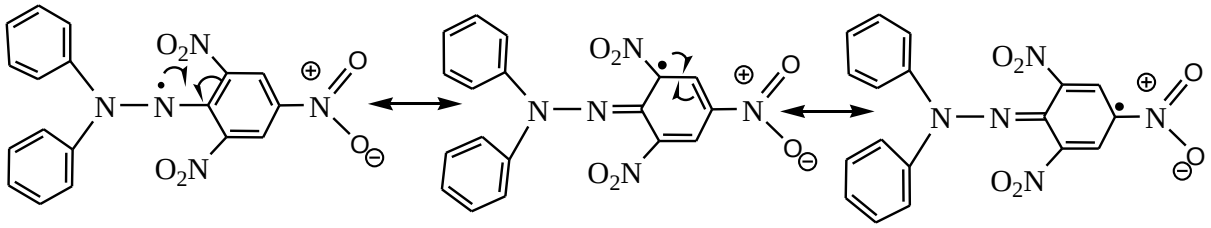
كما يمكن ايضاحساب**ΔG (KJ/mol) ,K (L/mol)** انطلاقا من مختلف التراكيز بالنسبة للمركبات المدروسة حيث يرسم: **Log(1/C) =Log I/ (I₀-I),** ايضا حساب معامل الانتشار **D** **[11] [12].**

3.III. النتائج : الفعالية المضادة للأكسدة

1.3.III. تقدير الفعالية المضادة لجذر DPPH بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية و المرئية:

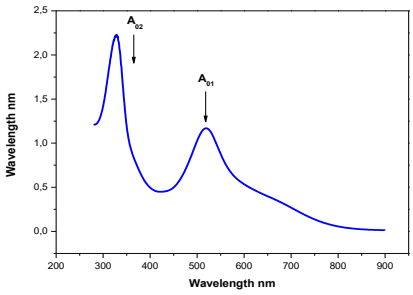
يعد اختبار DPPH من اهم الاختبارات المعتمدة في تقييم قدرة المركبات الاصطناعية و المستخلصات النباتية على اسر و التقاط الجذور الحرة بالطريقة اللونية . و ذلك باستعمال الجذر الحر الثابت 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl و هو من الجذور الأروماتية التي تشتمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيئي و التي تكون مستقرة في أغلب الأحيان**[13]** .

ان استقرار هذا النوع من الجذور يعود اساسا لعدم تمركز الإلكترون المنفرد بموقع معين في تركيب الجذر. اذ بإمكان هذا الجذر ان يتحد على الفور مع جميع أنواع الجذور الحرة أو مضادات الجذور الحرة (يكتسب الكترونا او جذرا هيدروجينيا حرا) ليصبح بذلك جزيئة مستقرة ,حسب الشكل (1.III).



الشكل(1.III): التراكيب الرنينية لجزيء DPPH

طيف الامتصاص العملي لجذرDPPH في المجال فوق البنفسجي و المرئي المذاب في الاسيتونتريل يوضحه الشكل (2.III)



الشكل (2.III) : طيف الامتصاص لجذر DPPH في المجال فوق البنفسجي و المرئي مذاب في الاسيتونتريل .

يمكن وضع آلية لجذر DPPH مكتسبا هيدروجين وفقا لما يلي :

$$(DPPH^{\circ}) + HO\text{-}R\text{-}OH \longrightarrow (DPPH)\text{:}\ H + HO\text{-}R\text{-}O^{\circ} \quad (1)$$

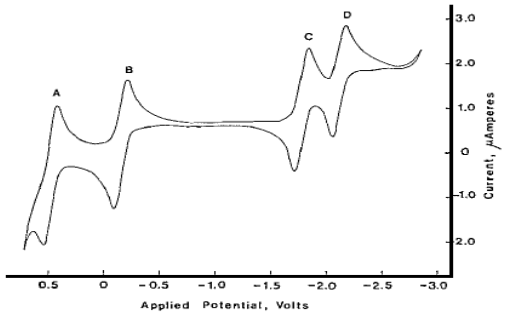
$$HO\text{-}R\text{-}O^{\circ} + (DPPH) \longrightarrow (DPPH)\text{:}\ H^{\circ} + O = R = O \quad (2)$$

$$(DPPH^{\circ}) + Fc\text{-}H \longrightarrow (DPPH)\text{:}\ H + Fc^{\circ} \quad (3)$$

$$Fc^{\circ} + (DPPH) \longrightarrow (DPPH)\text{:}\ H^{\circ} + Fc \quad (4)$$

المعادلة (2.III) : الآلية العامة لاقتناص جذر الـــ DPPH .

كهروكيميائيا . يمكن وضع تفسير لآلية التفاعل انطلاقا من الفولطاموغرام العملي للجذر DPPH مذاب في THF بتركيز (1.0 mM) و كهروليت مساعد (NBu_4ClO_4,0.10 M) بسرعة مسح 70 ملي فولط و الموضح بالشكل (3.III)



الشكل (3.III) : الفولطاموغرام الحلقي لجذر DPPH (1.0 mM) مذاب في THF[14] .

السلوك الكهروكيميائي لجذر DPPH° في المذيب العضوي يمكن ان يفسر من خلال معادلة الأكسدة الارجاعية التالية :

$$DPPH^{+} \underset{-é}{\overset{+é}{\rightleftarrows}} DPPH^{\bullet} \underset{-é}{\overset{+é}{\rightleftarrows}} DPP\bar{H} \underset{-é}{\overset{+é}{\rightleftarrows}} D\bar{P}\bar{P}H^{\bullet} \underset{-é}{\overset{+é}{\rightleftarrows}} D\bar{P}\bar{P}\bar{H}$$

Process A Process B Process C Process D

المعادلة (3.III) : معادلة الاكسدة و الارجاع لـجذر الـــ DPPH [14] .

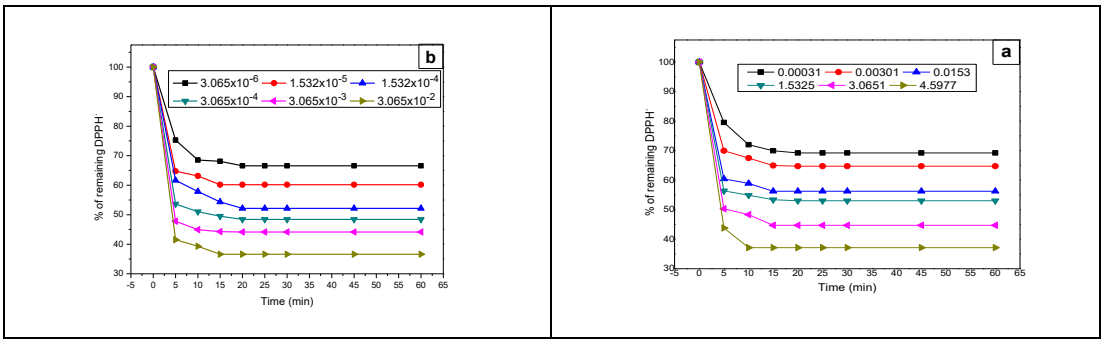
في اختبار(DPPH) نلاحظ تغيرات مختلفة لمضادات الأكسدة تبعا لطبيعتها, من بينها الحركية السريعة, المتوسطة أو البطيئة وفقا للزمن اللازم بغية الوصول إلى النتيجة المنشودة , و قدرة مضاد الجذور تحسب انطلاقا من نسبة (DPPH) المتبقية في نهاية الوقت المحدد للتفاعل بحسب المعادلة التالية :

$$100 - \left(\frac{(A_0 - A)}{A_0} \text{ x } 100\right)$$

المعادلة (4.III): معادلة تحديد نسبة الـــ DPPH المتبقية بعد التفاعل [15] .

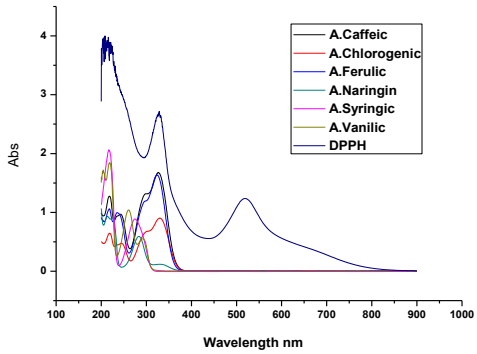
حيث : A_0 . A: شدتي الامتصاص عند غياب و وجود المركبات المدروسة على التوالي.

بناءا الى المعطيات النظرية , و نظرا لجهلنا لخصائص المركبات المدروسة فانه يتعين علينا اولا تحديد الزمن اللازم لاستقرار التفاعل الشكل (4.III):



الشكل (4.III): تحديد الزمن الـــلازم لاستقرار التفاعل (a) حمض الاسكوربيك (b) حمض الغاليك .

من خلال دراسة حركية المركبات المدروسة وباعتبارها مضادات للأكسدة وفقا لزمن منح البروتون يتضح انها ذات حركية متوسطة الى سريعة وان الزمن 15 دقيقة عموما كاف للوصول الى نقطة استقرار التفاعل, اضافة الى انه و انطلاقا من طيف الامتصاص للمشتقات المدروسة و DPPH في المجال المرئي و فوق البنفسجي وجود اختلاف لقيم الامتصاص الاعظمي مما يلغي احتمالية وجود تداخل خصوصا ان هذه المشتقات تتميز بتلونها كما هي موضحة بالشكل (5.III).



الشكل (5.III) : طيف الامتصاص لـــ DPPH و بعض مضادات الاكسدة الطبيعية .

1.3.1.III. دراسة التداخل DPPH – المركبات الفينولية المدروسة :

يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذور الحرة بوجود المركبات المدروسة, مع العلم أن الجذر (DPPH) مستقر نسبيا يتفاعل مع جزيئات مضادة للجذور ليتحول إلى (DPPH-H) مع نقصان الامتصاصية بزيادة التركيز عند طول الموجة الأعظمي في المجال المرئي λ_{max}=517nm الشكل (6.III), يثمن هذا الاختبار زيادة على القدرة لحساب النسبة المئوية (I%) لتثبيط الجذور الحرة و مقارنة مدى فاعلية هذه المركبات بمركبات قياسية بإمكانية حساب بعض المعاملات الترموديناميكية

كحساب الطاقة الحرة للترابط ΔG للجذر DPPH مع مشتقات فينولية و ذلك باعتماد معادلة ***Benesi-Hildebrand*** :

$$\frac{A}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G}\frac{1}{K[DF]}$$

المعادلة (5.III) : معادلة Benesi-Hildebrand.

حيث : A_0 . A: شدتي الامتصاص عند غياب و وجود المركبات المدروسة على التوالي .

ε_{H-G} . ε_G : معاملي الامتصاص قبل و بعد التداخل (الارتباط) مع الجذر,[DF] : تركيز المركب القياسي او مشتق الفيروسان .

بعد حساب معامل الارتباط K انطلاقا من المنحنى $A_0/(A-A_0)=f(1/C)$ يمكن حساب الطاقة الحرة للترابط ΔG استنادا للمعادلة النظرية لجيبس:

$$\Delta G = -RT\ Ln\ K = -8.32 \times 0.001 \times 298 \times Ln\ K \quad (kJ/mol)$$

المعادلة (6.III) : معادلة Gibbs لحساب الطاقة الحرة للترابط ΔG .

حيث: R : ثابت الغازات المثالية ,T: درجة الحرارة بالكلفن .

انطلاقا من اعتماد تراكيز ممددة للمركبات الفينولية المدروسة و تركيز معلوم لـ DPPH (0.1 ملي مول) مذابا في الاسيتونتريل , يمكننا اولا حساب النسبة المئوية (I%) لتثبيط الجذور الحرة بناءا على المعادلة التالية :

$$\%DPPH\ radical\ scavenging\ activity = \frac{i_0 - i_s}{i_0} \times 100$$

المعادلة (7.III) : معادلة تحديد النسبة المئوية لتثبيط جذر الـــ DPPH بعد التفاعل [16] [17] .

نتائج اختبار DPPH مع المركبات الفينولية المدروسة موضحة في الجدول (1.III) .

الجدول (1.III) : نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة المركبات الفينولية المدروسة .

Adduct	Equation	R^2	IC_{50} (mg/mL)
DPPH-As.A	y = 18189x + 11.606	0.972	0.002
DPPH-TOC	y = 124.93x + 34.965	0.922	0.1200
AG	y = 8102,x + 39,93	0,863	$1{,}24.10^{-3}$
BHA	y = 17238x + 14,66	0,912	$2{,}24.10^{-3}$

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول الذي يوضح فعالية المضادة للأكسدة في أسر والتقاط الجذور الحرة , حيث قدر تأثير الأسر لجذر DPPH بنسب معتبرة , ويرجع هذا التأثير إلى الخصائص الكيميائية لهذه المركبات.

نلاحظ عند مقارنة فعالية المضادة للأكسدة (**حمض الأسكوربيك "الفيتامين C" , الالفا – طوكوفيرول , حمض الغاليك و** BHA), حيث تعتبر بأنها اشهر مضادات الأكسدة فقد ابدى الفيتامين C

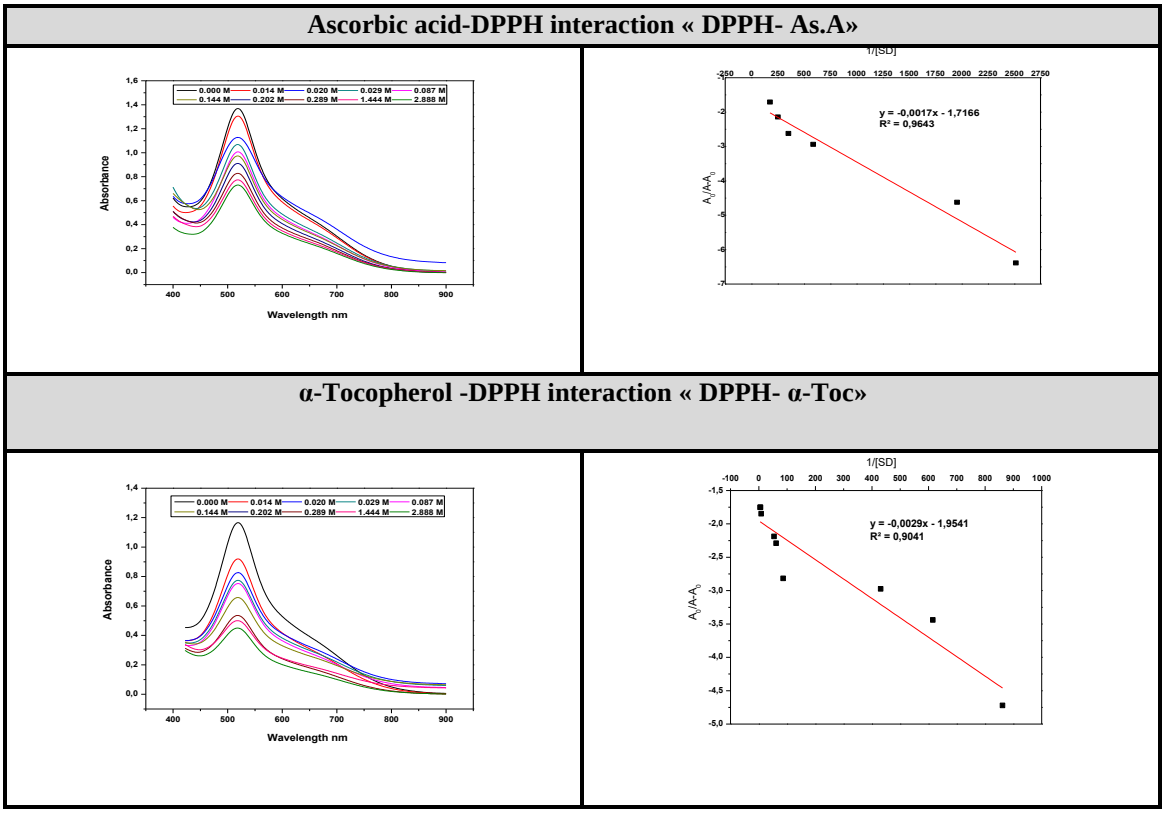
قدرة عالية على اقتناص جذر DPPH (IC_{50} =0.002mg/mL) , ايضا قدرت قيمة اقتناص جذر DPPH للالفا – طوكوفيرول (IC_{50} = 0.120 mg/mL)

ولقد بينت النتائج أن لهذه المركبات تأثير واضح على اقتناص الجذور الحرة حيث يزداد النشاط المضاد للأكسدة بزيادة تركيز .

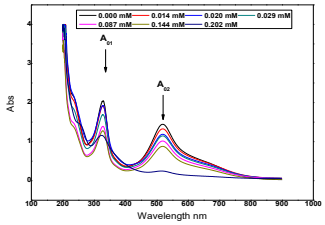
ودلت بعض الدراسات أن التداخل بين القدرة المانعة للتأكسد مع الجذر DPPH° يتوقف على عدد جزيئات DPPH التي يمكنها ان ترتبط بالمجاميع النكليوفيلية المانحة للبروتون الحامضي حيث اقترح بأن DPPH° يمكنه ان يقتنص هيدروجين للجزيئة المانحة للالكترون بحسب المعادلات المذكورة سالفا(1.III) و (2.III).

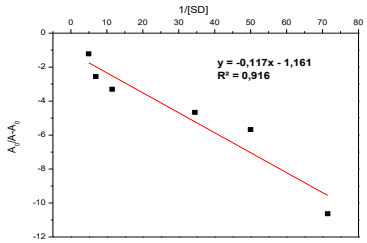
و بناءا على ما اشارت اليه الدراسات السابقة و التي تمحورت حول الفعل المانع للاكسدة ان التداخل البنيوي و الوظيفي كذلك الدور(Red / Ox) المحدود يعزز كثيرا عملية التثبيط الجذري اذ ان الاختزال الجذري يؤمنه المنح الهيدروجيني.

انطلاقا من طيف الامتصاص لـ DPPH و الفيتامينC و الالفا – طوكوفيرول وحمض الغاليك و الكاتشين و الروتين مذابة في الاسيتونتريل والمنحنى الخطي $A_0/(A-A_0)=f(1/C)$ و الموضحة بالشكل (6.III)

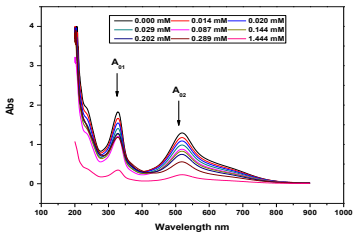


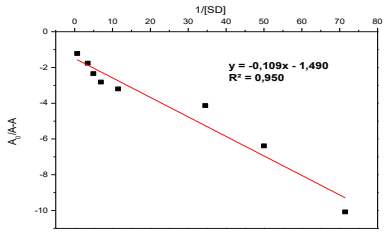
Acide Gallique -DPPH interaction « DPPH- A.G»



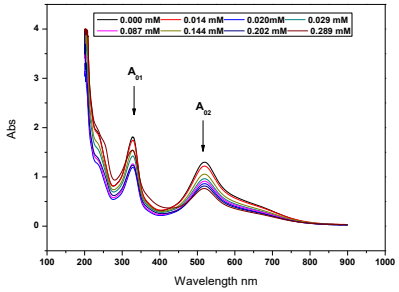


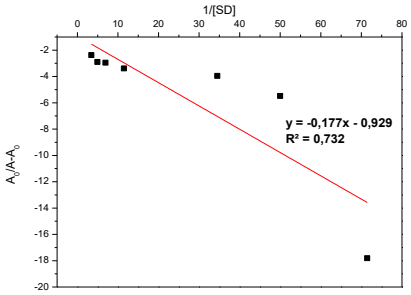
Quercetin -DPPH interaction « DPPH- Que»



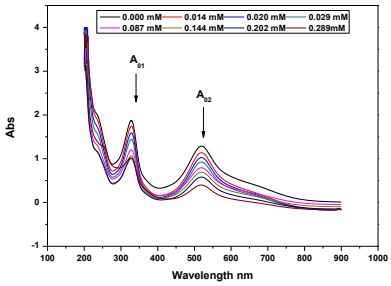


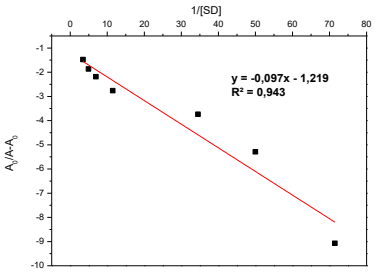
BHA -DPPH interaction« DPPH- BHA »





Rutin -DPPH interaction« DPPH- Rutin»





الشكل (6.III) : طيف الامتصاص لـــ DPPH و : الفيتامينC ، الالفا – طوكوفيرول ، Acide Galliq ، Rutin ، BHA ، Quercetin مذابة في الاسيتونتريل و المنحنى الخطي $A_0/(A-A_0)=f(1/C)$

و تدعيما لنتائج اختبار DPPH و باعتماد معادلة *Benesi-Hildebrand* تم حساب الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل DPPH مع العينات المدروسة و كانت النتائج كما هي موضحة في الجدول (2.III) .

الجدول (2.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر DPPH مع كل من حمض الأسكوربيك، الالفا – طوكوفيرول، Acide Galliq ، Rutin ،BHA ،Quercetin .

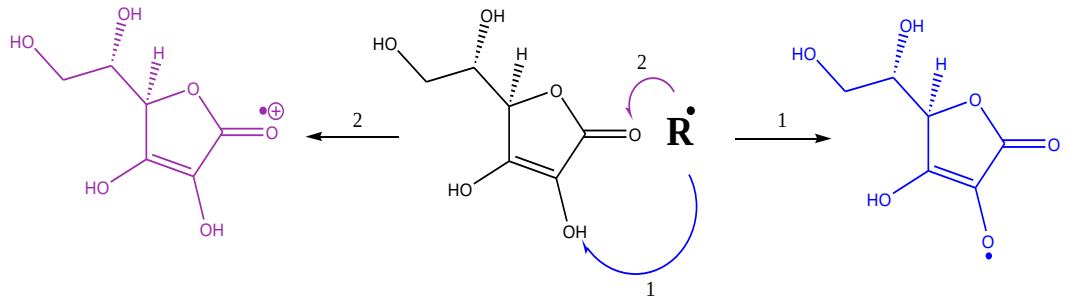
Compound	Equation	R^2	K (L/mol)	ΔG(KJ/mol)
DPPH-AsA	y = -0.0017x – 1.7166	0.9643	1010	-17.2
DPPH-TOC	y = -0. 0029x – 1.9541	0.9041	674	-16.1
DPPH-AG	y = -0,117x - 1,161	0.916	9,92	-5,69
DPPH- Quercetin	y = -0,109x - 1,490	0.95	13,7	-6,48
DPPH- BHA	y = -0,177x - 0,929	0.732	5,25	-4,11
DPPH- Rutin	y = -0,097x - 1,219	0,943	12,6	-6,28

من خلال طيف الامتصاص لـ DPPH و الفيتامين C و الالفا – طوكوفيرول, يلاحظ تناقص قيم الامتصاصية و التي يتبين من خلالها انه كلما كانت قدرة المركب على منح البروتون (تشكيل رابطة مع الجذر الحر) كلما كانت قدرته على تثبيط الجذر الحر .

من خلال طيف الامتصاص لـ DPPH و (كاتشين , روتين , حمض الغاليك و BHA) يلاحظ تناقص قيم الامتصاصية والتي يتبين ذلك من خلالها انه كلما كانت قدرة المركب على منح بروتون (تشكيل رابطة مع الجذر الحر) كلما كانت قدرته على تثبيط الجذر الحر .

انطلاقا من قيم الطاقة الحرة للترابط يمكن التاكد من وجود تداخل تلقائي بين الفيتامينC , الالفا – طوكوفيرول مع جذر DPPH , و بناءا على مجال قيم ΔG فان طبيعة التداخل فيزيائي و طبيعة الرابطة كهربائية (electrostatic binding), كما أن هناك تداخل تلقائي مع جذر DPPH للمركبات الطبيعية حمض الغاليك , كاتشين وروتين و المركبات الاصطناعية BHA , وبناءا على مجال ΔG فإن طبيعة التداخل تداخل فيزيائي .

من خلال النتائج المتوصل اليها و التي اثبتت مدى فعالية المركبات الطبيعية في تثبيط الجذر الحر يمكن وضع الآلية المحتملة لتثبيط المشتقات لجذر الـ DPPH .



المعادلة (8.III) : الاحتماليات الممكنة لتثبيط جذر الـــ DPPH بواسطة حمض الاسكوربيك .

2.3.III. تقدير الفعالية المضادة لجذر الاكسجين النشط بواسطة تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي:

لهذا الجذر قدرة عالية على التفاعل, اذ يمكنه اختراق الاغشية الخلوية بسهولة في مواقع نوعية و يتفاعل مع معظم الجزيئات الحيوية خاصة الاحماض الامينية , الليبيدات و النكليوتيدات مما يسبب اضرار نسيجية (سرطان خلوي) و من ثم الموت الخلوي يتم انتاج هذا الجذر بطرق مختلفة في العضوية.

التقنية الفولطاأمبيرومترية الحلقية استخدمت لإنتاج الأكسجين النشط ($O_2^{\cdot -}$) و ذلك بإرجاع جزيئات الأكسجين المذاب في محلول (ACN) او (DMF) خلال طبقة الانتشار على مسرى الكربون الزجاجي, حيث يكتسب الأكسجين إلكترونا فيصبح جذر ($O_2^{\cdot -}$) .

وجود جذر ($O_2^{\cdot -}$) سهل الكشف عنه بواسطة التيار المصعدي المقاس على نفس المسرى خلال المسح العكسي. نعلم أن إرجاع (O_2) هو تفاعل عكوس كما نعلم أيضا أن الجذر ($O_2^{\cdot -}$) جذر مستقر في الأوساط غير المانحة للبروتونات (aprotique) وهي الاوساط العضوية وبالتالي فتعتبر هذه الطريقة من أسهل الطرق لتوليد جذر ($O_2^{\cdot -}$) بدون أن نحتاج إلى أنظمة إنزيمية من اجل دراسة تفاعلاته مع الجزيئات .

عموما يرجع النشاط المضاد للمشتقات المدروسة الى قدرتها لمنح هيدروجين او الكترون, فمن خلال الدراسة الكهروكيميائية للمشتقات في الاوساط العضوية المختلفة تعتبر معط جيد للالكترونات اضافة الى كونها غير نشطة في مجال كمون إرجاع الأكسجين لكي لا يحدث أي تداخل أو تعقيد يحول دون تفسير النتائج.

1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 - مضادات الاكسدة :

يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذور الحرة بوجود المشتقات المدروسة, مع العلم أن الجذر ($O_2^{\cdot -}$) مستقر نسبيا يتفاعل مع جزيئات مضادة للجذور ليتحول إلى (O_2) مع نقصان شدة التيار بزيادة التركيز عند كمون الزوج ($O_2^{\cdot -}$ /O_2) عند [0.8V, 1.0-], يمكن من خلال هذا الاختبار زيادة على القدرة لحساب النسبة المئوية لتثبيط الجذور الحرة (I%) و مقارنة مدى فاعلية هذه المركبات بمركبات قياسية وحساب بعض المعاملات الترموديناميكية كحساب الطاقة الحرة للترابط ΔG للجذر $O_2^{\cdot -}$ مع المشتقات المدروسة.

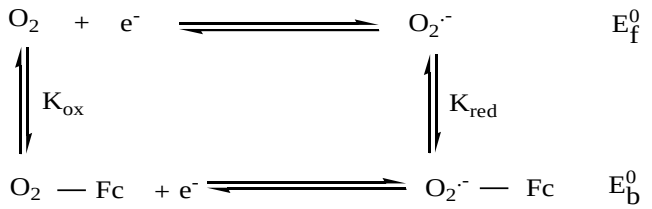
1.2.3.1.III. دراسة التداخل O_2 – حمض الاسكوربيك :

النتائج المتحصل عليها انطلاقا من تقنية الفولطامتري الحلقي تسمح بتحديد الشروط التي يتم فيها تفاعل الاكسدة والارجاع للمركب المدروس اضافة الى تحديد آلية تفاعل المركب على سطح الالكترود

بغية تحديد آلية التفاعل و بعض المتغيرات الترموديناميكية الناتجة عن تداخل الجذر و المركب المدروس, يتم تحضير ملي مول واحد من المركب (**الفيتامينC، الالفا – طوكوفيرول، حمض الكافئيك, الكاتشين, Acide Galliq، Rutin، Quercetin**) مذاب في الاسيتونتريل و في خلية كهروكيميائية معزولة مشبعة بغاز الاكسجين التجاري و باعتمادالكهروليت المساعد (Bu_4NBF_4) بغرض عزل ظاهرة الهجرة الكهربائية و جعل ظاهرة الانتشار هي المسؤولة فقط عن انتقال المواد الفعالة .

1. تحديد نسبة ثابت الترابط (K_{ox}/K_{red}) :

ان المبدأ الذي يعتمد عليه التداخل بين مضادات الاكسدة و الجذر النشط , هو ان كمون الاكسدة يميل بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة مضاد الاكسدة ذلك ان ارجاع جذر الاكسجين اسهل منه عند اكسدته , آلية التداخل بين حمض الاسكوربيك و جذر $O_2^{\cdot-}$ موضحة بالشكل (7.III) .



الشكل (7.III) : الآلية العامة لتداخل جذر $O_2^{\cdot-}$ مع المركب المدروس .

يعتمد تفسير الآلية الموضحة بالشكل (7.III) على المعادلة التالية :

$$E_b^0 - E_f^0 = 0.059\ log\ \frac{K_{red}}{K_{ox}}$$

المعادلة (9.III) : معادلة Nernst لقياس الكمون[16] .

حيث: **Fc**:المركب المدروس , E_b^0, E_f^0 كمون الزوج ($O_2^{\cdot-}/O_2$) قبل و بعد التداخل على التوالي .

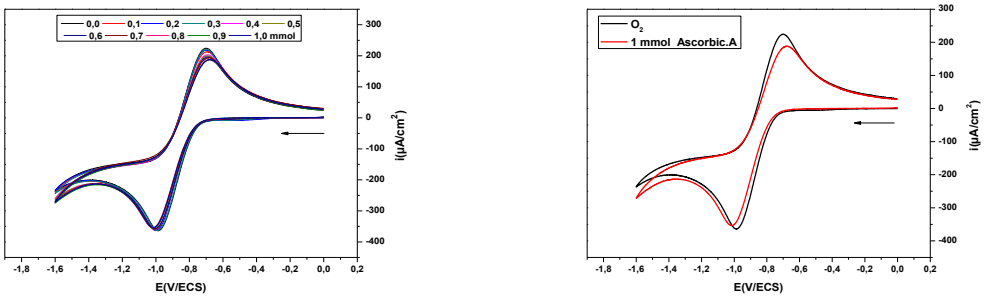
الجدول (3.III): يوضح المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الاسكوربيك .

Adduct	i_{pa} (μA)	i_{pc} (μA)	E_{pa}(V)	E_{pc}(V)	E^0(V)	ΔE^0 (mV)	Δip_a%	K_{ox}/K_{red}
$O_2^{\circ-}$	335.57	-363.81	-0.7108	-1.014	-0.8624	–	–	–
- As. $AO_2^{\circ-}$	295.433	-355.88	-0.6905	-1.002	-0.84625	-2.016	11.961	0.5324

2. تحديد ثابت الترابط :

عند اضافة 0.1 مل (1 ملي مول) من حمض الاسكوربيك المذاب في الاسيتونتريل داخل خلية مشبعة بالاكسجين و المحتوية على الكهروليت المساعد مذاب في نفس المذيب , يرسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (حمض الاسكوربيك), ليتم تقييم الفعالية المضادة

للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع ($O_2^{\cdot-}$), الزيادة في تركيز حمض الاسكوربيك يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي(I_{Pa}) لـ $O_2^{\cdot-}$ (تصل الى35 %), بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (8.III).



الشكل (8.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

التناقص في التيار المصعدي لـ($O_2^{\cdot-}$) يدل على أن حمض الاسكوربيك تفاعل مع ($O_2^{\cdot-}$) بشكل غير عكوس.

من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج , انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) و بالتالي فعالية مضادة أكبر.

ان التناقص للزوج ($O_2^{\cdot-}$ / O_2) في شدة التيار بواسطة اضافة مضاد الاكسدة يسمح بحساب معامل الترابط و ذلك بتطبيق العلاقة :

$$log\frac{1}{[As.A]} = \log k + \log\frac{i}{i_0 - i}$$

المعادلة (10.III) : معادلة حساب ثابت الرابطة K [16] .

حيث :$[As.A]$: تركيز حمض الاسكوربيك.,i_0 i: شدة التيار عند غياب ووجود حمض الاسكوربيك .

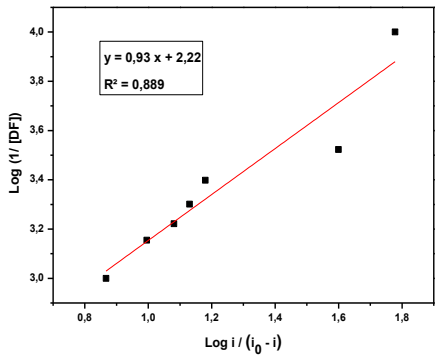
انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل (8.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية والمبينة بالجدول(4.III) .

الجدول (4.III) : قيم Log1/C و Log i/i₀-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الاسكوربيك .

Compound	C (mM)	Log (1/ C)	i(μA)	Log i / (i_0 – i)	Equation	R^2
As. A	0. 000	//		//	y = 0. 93 x + 2. 22	0. 889
	0. 0001	4	330. 07	1. 7782		
	0. 0003	3. 5229	327. 338	1. 5995		
	0. 0004	3. 3979	314. 779	1. 1801		
	0. 0005	3. 3010	312. 418	1. 1301		
	0. 0006	3. 2218	309. 86	1. 0811		

	0. 0007	3. 1549	304. 758	0. 9952		
	0. 001	3. 0000	295. 433	0. 8669		

يمثل الشكل (9.III) المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك .



الشكل (9.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي يتم حسابها عن طريق اعتماد المعادلة (6.III) موضحة في الجدول (5.III) .

الجدول(5.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و حمض الاسكوربيك .

Adduct	Equation	R^2	$K(L.mol^{-1})$	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
- As. $AO_2^{\circ-}$	y = 0.93 x + 2.22	0.889	165.959	-12.674

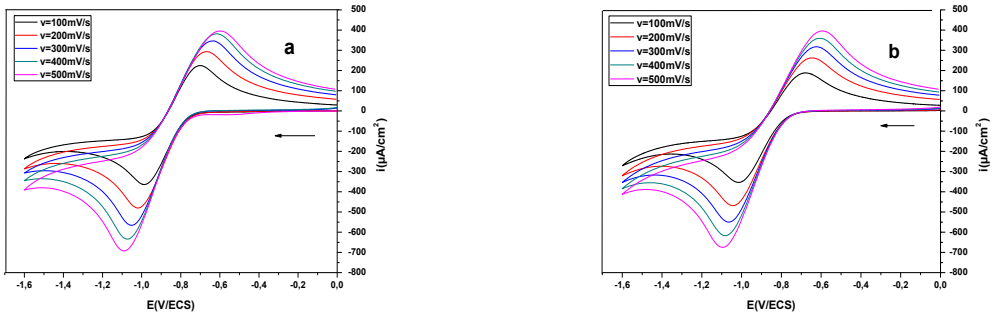
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك الموضحة بالشكل (8.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي .

3. معامل الانتشار:

من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي وحركية جذر الاكسجين النشط بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة ونأخذ التيار المصعدي(I_{Pa}) كتيار لأكسدة ($O_2^{\cdot-}$).

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز ($O_2^{\cdot-}$) على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة (الشكل **III . 10.a**)

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي , يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود واحد ملي مول من حمض الاسكوربيك الشكل (الشكل **III . 10. b**) .



الشكل (10.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الاسكوربيك (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

يعبر على التيار بالعلاقة (***Randels***) و (***Sevick***) اذ حدد ذلك انطلاقا من الفولطاموغرام الحلقي (الشكل**III. 10**) يتضح جليا من خلاله عكوسية النظام .

لهذا فانه يعبر عن علاقة التيار لـ(***Randels***) و (***Sevick***) بالعلاقة التالية :

$$Ip = (2.69 \times 10^5)\, n^{3/2}\, A\, D^{1/2}\, v^{1/2}\, C$$

المعادلة (11.III) : حساب التيار لـ (*Randels*) و (*Sevick*) [16].

حيث :

I_p: شدة التيار (A) , n : عدد الكترونات المتبادلة , A : مساحة سطح الكترود العمل (cm^2)

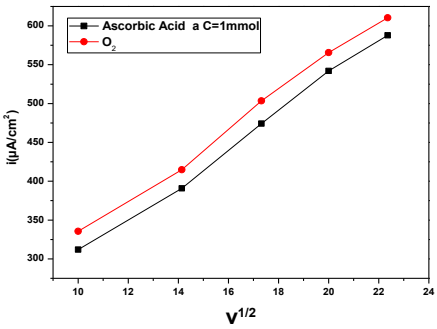
D: معامل الانتشار (cm^2/s), v: سرعة المسح ($V.s^{-1}$), C: تركيز العينة المدروسة ($mol.cm^{-3}$)

باعتماد نفس الشروط التجريبية , يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية استنادا للمنحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي الموضح بالشكل (10.III) مدونة في الجدول (6.III) .

الجدول (6.III): قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع حمض الاسكوربيك عند سرعات المسح المختلفة.

Compound	v (mV/s)	$\sqrt{v}$	i(μA)Free	i(μA) Banding
As.A	**100**	10 .00	335. 571	311. 93
	200	14.14	414. 79	390. 771
	300	17.32	503. 453	474. 11
	400	20.00	565. 625	541. 948
	500	22.36	610. 37	587. 87

حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذر الاكسجين النشط يمكن أن تستخرج من ميل المنحنى الخطي للشكل (11.III).



الشكل (11.III) : المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من حمض الاسكوربيك مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

بالمطابقة بين علاقة التيار لـ(***Randels***) و (***Sevick***) و معادلة المنحنيين في الحالتين سابقتي الذكر يمكن ايجاد قيم ثابت الانتشار و الموضحة بالجدول (7.III) .

الجدول (7.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الاسكوربيك .

Adduct	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
$O_2^{\circ-}$	y = 22.88x + 102.3	0.995	$8.066.10^{-6}$
- As. $AO_2^{\circ-}$	y = 22.92x + 76.97	0.996	$8.038.10^{-6}$

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (7.III) أنه تم حدوث تداخل بين الجذر النشط و المركب القياسي انطلاقا من قيم معامل الانتشار, حيث انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) كانت الفعالية المضادة للأكسدة أكبر .

معامل الانتشار اقل في حال ارتباط حمض الاسكوربيك مع الجذر النشط $O_2^{\cdot-}$ منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج و التي تعيق حركة انتشار الجذر في جوار سطح الالكترود.

2.1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 – حمض الغاليك :

بغية معرفة مدى قدرة حمض الغاليك على تثبيط جذر الاكسجين النشط و تحديد المعاملات الترموديناميكية الناتجة عن هذا التداخل , تم تحضير ملي مول واحد من حمض الغاليك مذاب في الاسيتونتريل يضاف تدريجيا في خلية كهروكيميائية معزولة مشبعة بغاز الاكسجين التجاري وباعتماد الكهروليت المساعد (Bu_4NBF_4) .

1. تحديد نسبة ثابت الترابط (K_{ox}/K_{red}) :

كمون الاكسدة يميل بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة حمض الغاليك ذلك ما يوافق مبدأ التقنية و الذي يعتمد على ارجاع جذر الاكسجين , يعتمد تفسيرالية التداخل بين حمض الغاليك و جذر $O_2^{\cdot-}$ على الشكل (7.III) ، وعلى معادلة ***Nernst*** (9.III), تدون النتائج في الجدول (8.III) الذي يوضح بعض المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الغاليك.

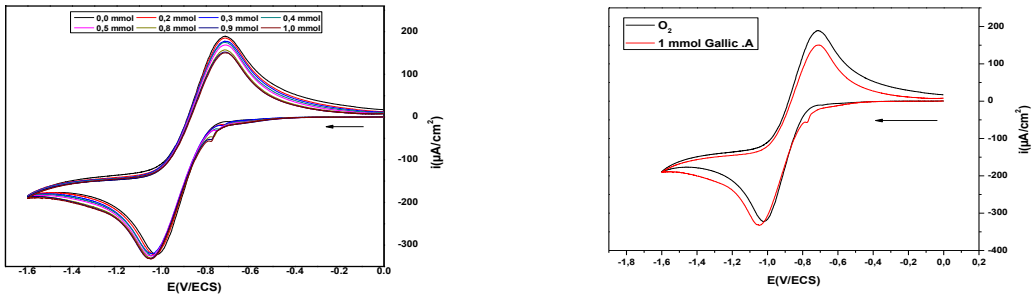
الجدول (8.III) : معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الغاليك.

Adduct	i_{pa}(μA)	i_{pc} (μA)	E_{pa}(V)	E_{pc}(V)	E^0(V)	ΔE^0 (mV)	Δip_a%	K_{ox}/K_{red}
$O_2^{\circ-}$	308.759	-323.293	-0.7108	-1.017	-0.8639	_	_	_
Gall-$AO_2^{\circ-}$	273.152	-328.833	-0.7094	-1.048	-0.8787	-2.065	11.532	1.7817

2. تحديد ثابت الترابط :

عند اضافة 0.1 مل (1 ملي مول) من حمض الغاليك داخل خلية كهروكيميائية و باعتماد نفس الشروط سابقة الذكر, يرسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (حمض الغاليك), ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع ($O_2^{\cdot-}$) . الزيادة في تركيز حمض الغاليك يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي (I_{Pa}) لـ ($O_2^{\cdot-}$) تصل الى 08 % , بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (12.III).

التناقص في التيار المصعدي لـ($O_2^{\cdot-}$) يدل على أن حمض الغاليك تفاعل مع ($O_2^{\cdot-}$) بشكل غير عكوس.



الشكل (12.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

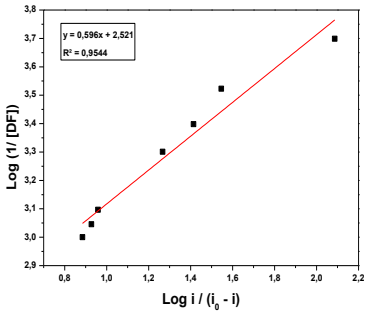
من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) و بالتالي فعالية مضادة للأكسدة أكبر.

ان التناقص في شدة التيار للزوج (O_2 / $O_2^{\cdot -}$) بواسطة اضافة مضاد الاكسدة يسمح بحساب معامل الترابط و ذلك بتطبيق العلاقة (10.III), انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل(12.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية و المبينة بالجدول (9.III) .

الجدول (9.III): قيم Log1/C و Log i/i₀-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الغاليك .

Compound	C (mM)	Log (1/ C)	i(μA)	Log i / (i_0 – i)	Equation	R^2
Gall-A	0. 000	//		//	y = 0. 596x + 2. 52	0. 954
	0. 0002	3. 5229	300. 224	1. 5462		
	0. 0003	3. 3979	297. 302	1. 4141		
	0. 0004	3. 3010	292. 91	1. 2667		
	0. 0005	3. 0969	278. 167	0. 9587		
	0. 0008	3. 0458	276. 144	0. 9277		
	0. 0009	3. 0000	273. 152	0. 8849		
	0. 001	3. 6990	306. 251	2. 0867		

يمثل الشكل (13.III) المنحنى الخطي$i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك .



الشكل (13.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك في ACN /0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي يتم حسابها عن طريق اعتماد المعادلة (6.III) موضحة في الجدول (10.III).

الجدول (10.III): قيم معامل الارتباط K والطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot -}$) و حمض الغاليك

Adduct	Equation	R^2	K($L.mol^{-1}$)	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
- Gall .$AO_2^{\circ -}$	y = 0.596 x + 2.521	0.954	331.894	-14.392

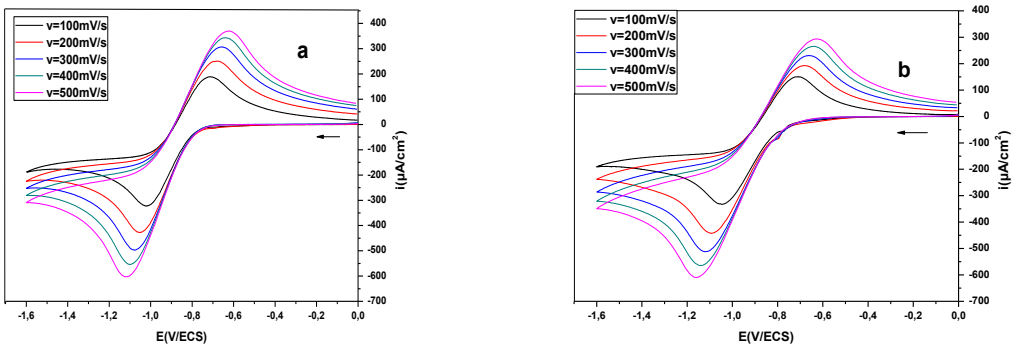
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك الموضحة بالشكل (12.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا والتي

تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي .

1. معامل الانتشار :

من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي و حركية جذر الاكسجين النشط بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة و نأخذ التيار المصعدي (I_{Pa}) كتيار لأكسدة ($O_2^{\cdot-}$) , (I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز ($O_2^{\cdot-}$) على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة حيث انه من المهم ان تكون قيمة التيار في حالتي الاكسدة و الارجاع ثابت تقريبا في ظل نفس الشروط (الشكل III.14 . a)

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية والسلوك الكهروكيميائي يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود 1 ملي مول من حمض الغاليك (الشكل III . 14. b) .



الشكل (14.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الغاليك (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

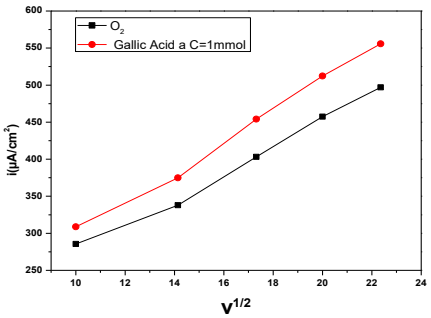
من خلال الفولطاموغرام الحلقي الشكل (14.III) يتضح جليا ان النظام عكوس. لهذا فانه يعبر عن علاقة التيار لـ(***Randels***) و (***Sevick***).

استنادا للمنحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي الموضح بالشكل(14.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية.

الجدول (11.III) :قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع حمض الغاليك عند سرعات المسح المختلفة.

Compound	v (mV/s)	$\sqrt{v}$	i(μA)Free	i(μA) Banding
Gall-A	**100**	10 .00	308.759	285.633
	200	14.14	374.794	337.967
	300	17.32	454.099	403.127
	400	20.00	512.266	457. 479
	500	22.36	555.741	496.91

حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذر الاكسجين النشط يمكن أن تستخرج من ميل المنحنى الخطي للشكل (15.III).



الشكل (15.III): المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من حمض الغاليك مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

بالمطابقة بين العلاقة (11.III) و معادلة المنحنيين في الحالتين سابقتي الذكر يمكن ايجاد قيم ثابت الانتشار و الموضحة بالجدول (12.III) .

الجدول (12.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الغاليك .

Adduct	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
$O_2^{\circ-}$	y = 20.56x + 96.35	0.994	$6.49.10^{-6}$
- Gall .$AO_2^{\circ-}$	y = 17.59x + 101.3	0.991	$4.75.10^{-6}$

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (12.III) , أنه تم حدوث تداخل بين الجذر النشط و حمض الغاليك انطلاقا من قيم معامل الانتشار, حيث ان معامل الانتشار اقل في حال ارتباط حمض الغاليك مع الجذر النشط $O_2^{\cdot-}$ منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتلة المولية للمعقد الناتج ايضا البنية الفراغية للمعقد الناتج هي احدى العوامل المساعدة على تثبيط انتشار الجذر النشط .

3.2.3.1.III. دراسة التداخل O_2 – Acide Caffeique حمض الكافييك:

لمعرفة مدى قدرة حمض الكافييك على تثبيط جذر الاكسجين النشط و تحديد المعاملات الترموديناميكية الناتجة عن هذا التداخل , تم تحضير ملي مول واحد من حمض الكافييك مذاب في الاسيتونتريل ليضاف تدريجيا في خلية كهروكيميائية معزولة مشبعة بغاز الاكسجين التجاري وباعتماد الكهروليت المساعد (Bu_4NBF_4) .

1. تحديد نسبة ثابت الترابط (K_{ox}/K_{red}):

عند اضافة حمض الكافئيك يميل كمون الاكسدة بالاتجاه الاكثر ايجابا ذلك ما يوافق مبدأ التقنية و الذي يعتمد على ارجاع جذر الاكسجين , آلية التداخل بين حمض الكافييك و جذر $O_2^{\cdot-}$ موضحة

بالشكل (7.III)، ولتفسير الآلية يعتمد على معادلة ***Nernst*** (9.III). والتي من خلالها يمكن الحصول على بعض المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الكافييك الموضحة في الجدول (13.III).

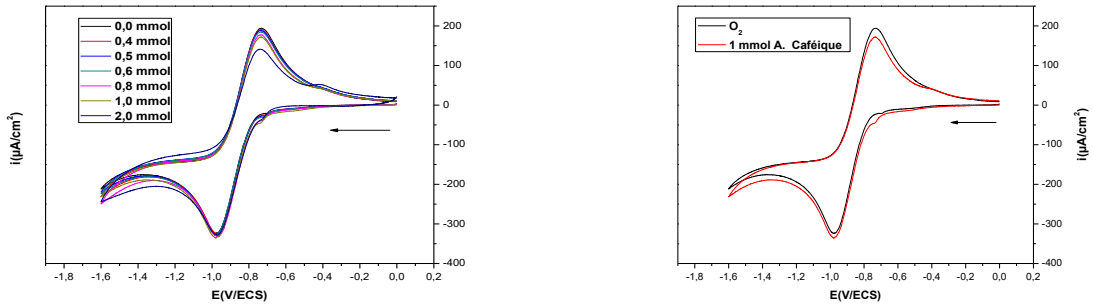
الجدول (13.III): معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع حمض الكافييك .

Adduct	i_{pa} (μA)	i_{pc} (μA)	E_{pa}(V)	E_{pc}(V)	E^0(V)	ΔE^0 (mV)	Δip_a%	K_{ox}/K_{red}
$O_2^{\circ-}$	340,12	-341,96	-0,7311	-0,975	-0,8529	_	_	_
-A.Caff$O_2^{\circ-}$	291,79	-333,557	-0,7324	-0,976	-0,8542	-1,95	14,21	1,052

2. تحديد ثابت الترابط :

يضاف 0.1 مل (1 ملي مول) من حمض الكافييك داخل خلية كهروكيميائية وبإعتماد نفس الشروط السابقة , يرسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (حمض الكافييك), ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع ($O_2^{\cdot-}$). ان الزيادة في تركيز حمض الكافييك يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي (I_{Pa}) لـ ($O_2^{\cdot-}$) تصل الى 04 % , بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (16.III).

التناقص في التيار المصعدي لـ($O_2^{\cdot-}$) يدل على أن حمض الكافييك تفاعل مع ($O_2^{\cdot-}$) بشكل غير عكوس .



الشكل (16.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الكافئيك في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).

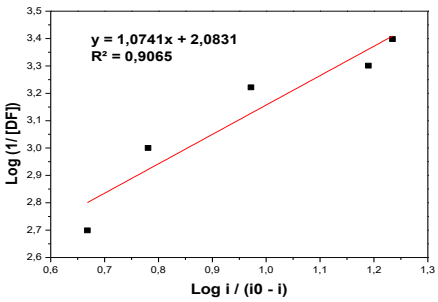
من خلال هذه النتائج نستنتج انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) وبالتالي تكون فعالية مضادة للأكسدة أكبر .

ان التناقص في شدة التيار للزوج ($O_2^{\cdot-}$ / O_2) بواسطة اضافة مضاد الاكسدة يسمح بحساب معامل الترابط و ذلك بتطبيق العلاقة (10.III) , انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل(16.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية و المبينة بالجدول (14.III) .

الجدول (14.III) : قيم Log1/C و Log i/i₀-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الكافييك .

Compound	C (mM)	Log (1/ C)	i(μA)	Log i / (i₀ – i)	Equation	R^2
A.Caff	0,4	3,3979	218,469	1,2345	y = 0,843x + 1,6673	0,9065
	0,5	3,301	217,029	1,1897		
	0,6	3,2218	214,56	0,9719		
	1	3,00	212,9079	0,7809		
	2	2,699	174,308	0,6682		

يمثل الشكل (17.III) المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الكافييك .



الشكل (17.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الكافئيك في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).

معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي يتم حسابها عن طريق اعتماد المعادلة (6.III) موضحة في الجدول (15.III).

الجدول (15.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و حمض الكافئيك .

Adduct	Equation	R^2	K(L.mol⁻¹)	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
-A.Caff$O_2^{\circ-}$	y = 0,843x + 1,6673	0,9065	11,860418	-6,132

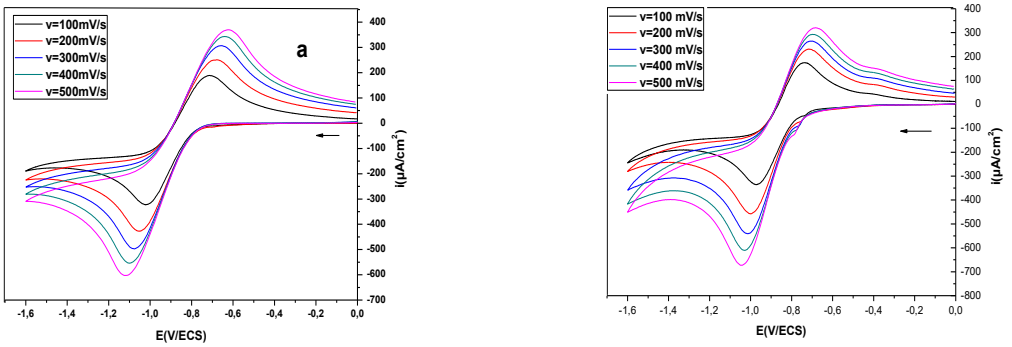
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من حمض الكافييك الموضحة بالشكل(16.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي .

3. معامل الانتشار :

لمعرفة السلوك الكهروكيميائي و حركية جذر الاكسجين النشط بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة و نأخذ التيار المصعدي (I_{Pa}) كتيار لأكسدة

($O_2^{\cdot-}$) الذي يتعلق مباشرة بتركيز ($O_2^{\cdot-}$) على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة حيث انه من المهم ان تكون قيمة التيار في حالتي الاكسدة و الارجاع ثابت تقريبا في ظل نفس الشروط (الشكل III. 18. a) .

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود 1 ملي مول من حمض الكافييك (الشكل III. 18. b) .



الشكل (18.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الكافنيك (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

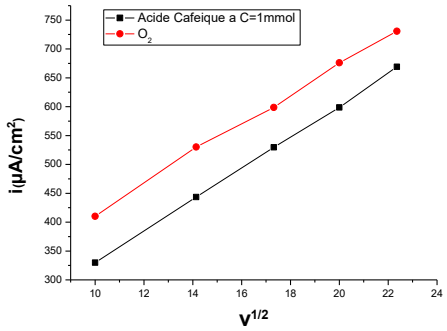
من خلال الفولطاموغرام الحلقي (الشكل 18.III) يتضح جليا ان النظام عكوس. لهذا فانه يعبر عن علاقة التيار لـ(***Randels***) و (***Sevick***) .

و استنادا للمنحنى الفولطأمبيرومتري الحلقي الموضح بالشكل (18.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية الموضحة في الجدول (16.III).

الجدول (16.III) : قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع حمض الكافييك عند سرعات المسح المختلفة.

Compound	v (mV/s)	$\sqrt{v}$	i(μA) Banding	i(μA) Free
A.Caff	**100**	10 .00	**329,92**	**340,12**
	200	14.14	**443,43**	**530,052**
	300	17.32	**529, 51**	**598,83**
	400	20.00	**598,61**	**676,09**
	500	22.36	**669,09**	**730,76**

تستخرج حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذر الاكسجين النشط من ميل المنحنى الخطي للشكل(19.III).



الشكل (19.III) : المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من حمض الكافئيك مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

بالمطابقة بين العلاقة (11.III) و معادلة المنحنيين في الحالتين سابقتي الذكر يمكن ايجاد قيم ثابت الانتشار و الموضحة بالجدول (17.III) .

الجدول (17.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الكافييك .

Adduct	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
$O_2^{\circ-}$	y = 25,81x + 156,4	0,997	$1{,}022.10^{-5}$
-A.Caff$O_2^{\circ-}$	y = 0,843x + 1,6673	0,9065	$1{,}7715.10^{-8}$

من خلال نتائج الجدول (17.III) يمكن أن نستنتج , أنه تم حدوث تداخل بين الجذر النشط و حمض الكافييك انطلاقا من قيم معامل الانتشار , حيث ان معامل الانتشار اقل في حال ارتباط حمض الكافييك مع الجذر النشط $O_2^{\cdot-}$ منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج ايضا البنية الفراغية للمعقد الناتج هي احدى العوامل المساعدة على تثبيط انتشار الجذر النشط .

4.2.3.1.III. دراسة التداخل O_2 – Alfa tocopherol الفا- طوكوفيرول :

تم تحضير ملي مول واحد من الفا- طوكوفيرول مذاب في الاسيتونتريل ليضاف تدريجيا في خلية كهروكيميائية معزولة , مشبعة بغاز الاكسجين التجاري و بإعتماد الكهروليت المساعد (Bu_4NBF_4) من اجل معرفة مدى قدرة الفا- طوكوفيرول على تثبيط جذر الاكسجين النشط و تحديد بعض المعاملات الترموديناميكية الناتجة عن هذا التداخل .

1. تحديد نسبة ثابت الترابط (K_{ox}/K_{red}):

كمون الاكسدة يميل بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة الفا- طوكوفيرول ذلك ما يوافق مبدأ التقنية و الذي يعتمد على ارجاع جذر الاكسجين , الية التداخل بين الفا- طوكوفيرول و جذر $O_2^{\cdot-}$ موضحة بالشكل (7.III)، ولتفسير هذه الآلية يتم الاعتماد على معادلة ***Nernst*** (9.III). تدون

النتائج في الجدول (18.III) الذي يوضح بعض المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot -}$ مع الفا– طوكوفيرول.

الجدول (18.III) : معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot -}$ مع الفا- طوكوفيرول .

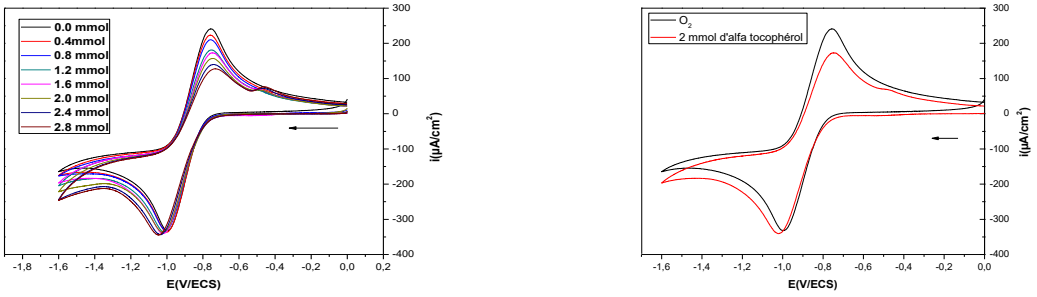
Adduct	i_{pa}(μA)	i_{pc} (μA)	E_{pa}(V)	E_{pc}(V)	E^0(V)	ΔE^0 (mV)	Δip_a%	K_{ox}/K_{red}
$O_2^{\circ -}$	333,354	-331,947	-0,7554	-0,9951	-0,87525	_	_	_
- $TOCO_2^{\circ -}$	252,864	-335,094	-0,7473	-1,019	-0,88315	-2,014	24,146	1,361

2. **تحديد ثابت الترابط :**

تم تحضير 0.1 مل (1 ملي مول) من الفا– طوكوفيرول مذاب في الاسيتونيتريل يضاف تدريجيا داخل خلية كهروكيميائية معزولة , مشبعة بغاز الاكسجين التجاري و بالاعتماد على نفس الشروط سابقة الذكر, يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (الفا– طوكوفيرول), ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع ($O_2^{\cdot -}$) .

الزيادة في تركيز الفا– طوكوفيرول يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي (I_{Pa}) لـ ($O_2^{\cdot -}$) تصل الى 3 % , بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (20.III).

التناقص في التيار المصعدي لـ($O_2^{\cdot -}$) يدل على أن الفا– طوكوفيرول تفاعل مع ($O_2^{\cdot -}$) بشكل غير عكوس.



الشكل (20.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الفا- طوكوفيرول في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).

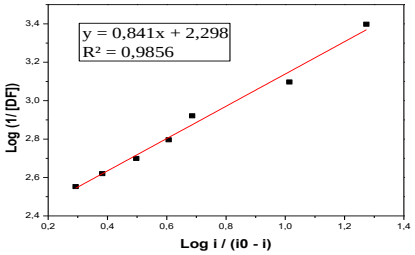
من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot -}$) و بالتالي تكون فعالية مضادة للأكسدة أكبر.

ان التناقص في شدة التيار للزوج ($O_2^{\cdot -}$ / O_2) بواسطة اضافة مضاد الاكسدة يسمح بحساب معامل الترابط و ذلك بتطبيق العلاقة (10.III) , انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل (20.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية و المبينة بالجدول (19.III) .

الجدول (19.III): قيم Log1/C و Log i/i₀-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لالفا- طوكوفيرول .

Compound	C (mM)	Log (1/ C)	i(μA)	Log i / (i_0 – i)	Equation	R^2
TOC	0,0004	3,3979	316,506	1,2738	y=0,841x + 2,298	0,9856
	0,0008	3,0969	303,918	1,0139		
	0,0012	2,9208	276,368	0,6857		
	0,0016	2,7959	267,24	0,6066		
	0,002	2,6990	252,864	0,4971		
	0,0024	2,6198	235,669	0,3825		
	0,0028	2,5528	220,833	0,2928		

الشكل (21.III) يمثل المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الفا– طوكوفيرول .



الشكل (21.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الفا- طوكوفيرول في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

يتم حساب معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG عن طريق اعتماد المعادلة (6.III) , توضح القيم في الجدول (20.III).

الجدول (20.III) : قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و الفا- طوكوفيرول .

Adduct	Equation	R^2	K(L.mol^{-1})	ΔG ($KJ.mol^{-1}$)
- $TOCO_2^{\circ-}$	y=0,841x + 2,298	0,9856	198,609	-13,11

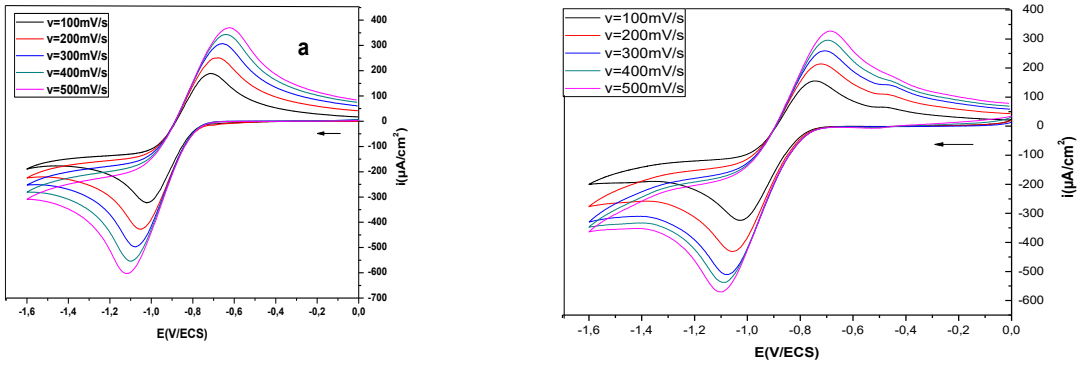
من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الفا–طوكوفيرول الموضحة بالشكل (20.III) يلاحظ ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التداخل و ان طبيعة التداخل تداخل فيزيائي .

3. معامل الانتشار :

لمعرفة السلوك الكهروكيميائي و حركية جذر الاكسجين النشط بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة , نأخذ التيار المصعدي(I_{Pa}) كتيار لأكسدة ($O_2^{\cdot-}$) .

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز ($O_2^{\cdot-}$) على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة حيث انه من المهم ان تكون قيمة التيار في حالتي الاكسدة و الارجاع ثابت تقريبا في ظل نفس الشروط (الشكل III. 22 . a)

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود 1 ملي مول من الفا– طوكوفيرول (الشكل III.22. b) .



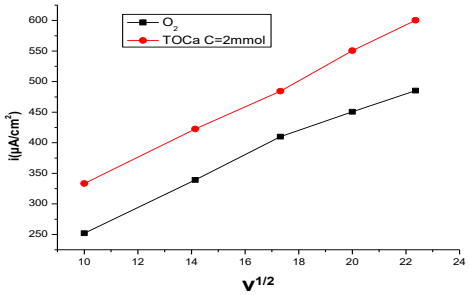
الشكل (22.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الفا- طوكوفيرول (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

استنادا للمنحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي الموضح بالشكل(22.III) يتضح جليا ان النظام عكوس.لهذا فانه يعبر عن علاقة التيار لـ(***Randels***) و (***Sevick***). وبالاعتماد على الشكل(III .22) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية الموضحة في الجدول (21.III) .

الجدول (21.III): قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الفا- طوكوفيرول عند سرعات المسح المختلفة.

Compound	v (mV/s)	$\sqrt{v}$	i(μA) Banding	i(μA) Free
TOC	**100**	10 .00	172,967	250,292
	200	14.14	219,845	308,28
	300	17.32	261,556	353,314
	400	20.00	291,733	392,55
	500	22.36	316,063	417,399

تستخرج حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذر الاكسجين النشط من ميل المنحنى الخطي للشكل (23.III).



الشكل (23. III) : المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من الفا-طوكوفيرول مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

يمكن ايجاد قيم ثابت الانتشار بالمطابقة بين العلاقة (11.III) و معادلة المنحنيين في الحالتين سابقتي الذكر والتي توضح في الجدول(22. III) .

الجدول (22.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع الفا- طوكوفيرول .

Adduct	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
$O_2^{\circ-}$	y = 22,04x + 110,8	0,997	$1,86.10^{-6}$
- $TOCO_2^{\circ-}$	y = 19,07x + 67,63	0,992	$1,39.10^{-6}$

من خلال نتائج الجدول (22.III) وانطلاقا من قيم معامل الانتشار يمكن ان نستنتج , أنه تم حدوث تداخل بين الجذر النشط و الفا – طوكوفيرول, حيث ان معامل الانتشار اقل في حال ارتباط الفا– طوكوفيرول مع الجذر النشط $O_2^{\cdot-}$ منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج ايضا البنية الفراغية للمعقد الناتج هي احدى العوامل المساعدة على تثبيط انتشار الجذر النشط.

5.1.2.3.III. دراسة التداخل O_2 – catechine الكاتيشين :

يتم تحضير ملي مول واحد من الكاتيشين مذاب في الاسيتونتريل يضاف تدريجيا في خلية كهروكيميائية معزولة مشبعة بغاز الاكسجين التجاري و باعتماد الكهروليت المساعد (Bu_4NBF_4), وذلك لمعرفة مدى قدرة الكاتيشين على تثبيط جذر الاكسجين النشط و تحديد المعاملات الترموديناميكية الناتجة عن هذا التداخل .

1. تحديد نسبة ثابت الترابط (K_{ox}/K_{red}):

الية التداخل بين الكاتيشين و جذر $O_2^{\cdot-}$ موضحة بالشكل(7.III)، يعتمد تفسير آلية التداخل بين الكاتشين مع جذر $O_2^{\cdot-}$ و الموضحة بالشكل(7.III) على معادلة ***Nernst*** (9.III), والتي من خلالها يتم الحصول على نسبة ثابت الترابط والجدول(23.III) يوضح بعض المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot-}$ مع الكاتيشين.

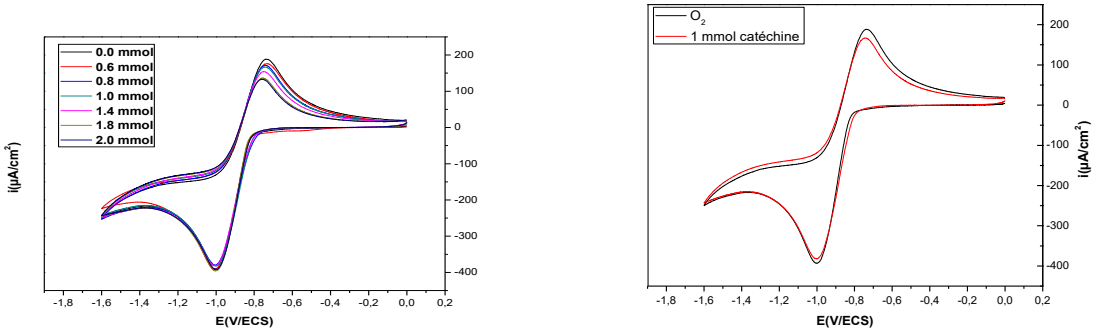
الجدول (23.III) : معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot -}$ مع الكاتيشين .

Adduct	i_{pa} (μA)	i_{pc} (μA)	E_{pa}(V)	E_{pc}(V)	E^0(V)	ΔE^0 (mV)	Δip_a%	K_{ox}/K_{red}
$O_2^{\circ -}$	318,404	-394,14	-0,7297	-0,9964	-0,86305	_	_	_
- $CatO_2^{\circ -}$	296,769	-383,717	-0,7433	-1,002	-0,87265	-1,9984	6,795	1,454

2. تحديد ثابت الترابط :

عند اضافة 0.1 مل (1 ملي مول) من الكاتيشين داخل خلية مشبعة بالاكسجين و المحتوية على الكهروليت المساعد المذاب في نفس المذيب , يرسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (الكاتيشين), ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع ($O_2^{\cdot -}$) . الزيادة في تركيز الكاتيشين يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي (I_{Pa}) لـ ($O_2^{\cdot -}$) تصل الى 05 % , بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (24.III).

التناقص في التيار المصعدي لـ($O_2^{\cdot -}$) يدل على أن الكاتيشين تفاعل مع ($O_2^{\cdot -}$) بشكل غير عكوس.



الشكل (24.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكاتيشين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

يمكن ان نستنتج من خلال هذه النتائج انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot -}$) كلما كانت فعالية مضادة للأكسدة أكبر .

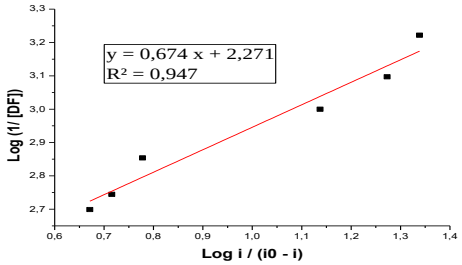
ان التناقص في شدة التيار للزوج ($O_2^{\cdot -}$ / O_2) بواسطة اضافة مضاد الاكسدة يسمح بحساب معامل الترابط و ذلك بتطبيق العلاقة(10.III), انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل(24.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية و المبينة بالجدول (24.III) .

الجدول (24.III) : قيم Log1/C و Log i/i₀-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي للكاتشين .

Compound	C (mM)	Log (1/ C)	i(μA)	Log i / (i_0 – i)	Equation	R^2
Cat	0,0006	1666,666	304,44	1,3385	y = 0,674 x + 2,271	0,947
	0,0008	1250	302,276	1,2728		
	0,001	1000	296,769	1,1373		

	0,0014	714,285	272,889	0,7778		
	0,0018	555,555	266,999	0,7155		
	0,002	500	262,433	0,6711		

الشكل (25.III) يمثل المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكاتيشين .



الشكل (25.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكاتيشين في $0.1M$ /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي يتم حسابها عن طريق اعتماد المعادلة (6.III) موضحة في الجدول (25.III).

الجدول (25.III) : قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابطΔG الناتجة عن تداخل جذر$(O_2^{\cdot-})$ و الكاتيشين .

Adduct	Equation	R^2	K(L.mol^{-1})	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
- $CatO_2^{\circ-}$	y = 0,674 x + 2,271	0,947	186,637	-12,964

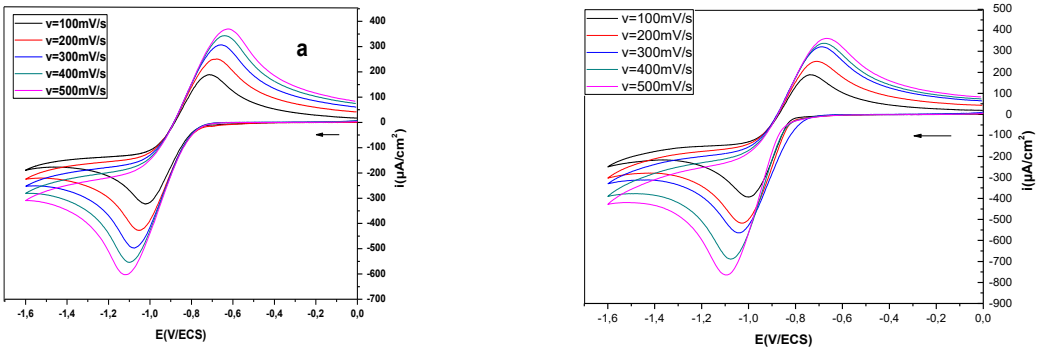
من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين و في وجود تراكيز متزايدة من الكاتيشين الموضحة بالشكل (24.III) يلاحظ جليا ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعة التداخل تداخل فيزيائي .

3. معامل الانتشار :

يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة عند سرع مسح مختلفة من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي و حركية جذر الاكسجين النشط بمفرده نأخذ التيار المصعدي (I_{Pa}) كتيار لأكسدة $(O_2^{\cdot-})$.

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز $(O_2^{\cdot-})$ على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة حيث انه من المهم ان تكون قيم التيار في حالتي الاكسدة و الارجاع ثابت تقريبا في ظل نفس الشروط (الشكلIII. 26.a) .

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود 1 ملي مول من الكاتيشين (الشكلIII. 26. b) .



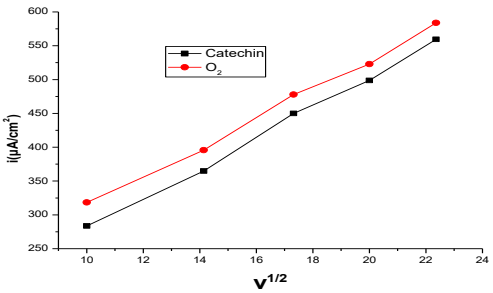
الشكل (26.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الكاتيشين (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

استنادا للمنحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي الموضح بالشكل(26.III) يتضح جليا أن النظام عكوس اذ يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية المدونة في الجدول (26.III). اعتمادا على علاقة التيار(11.III) لـــ(***Randels***) و (***Sevick***).

الجدول (26.III) : قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الكاتيشين عند سرعات المسح المختلفة.

Compound	v (mV/s)	$\sqrt{v}$	i(μA) Banding	i(μA) Free
Cat	**100**	10 .00	283,652	318,404
	200	14.14	364,783	395,683
	300	17.32	450,04	477,863
	400	20.00	498,829	522,961
	500	22.36	559,494	583,803

يمكن تحديد حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذر الاكسجين النشط من ميل المنحنى الخطي للشكل (27.III).



الشكل (27.III) : المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من الكاتيشين مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

يمكن ايجاد قيم ثابت الانتشار وذلك بالمطابقة بين العلاقة (11.III) و معادلة المنحنيين في الحالتين سابقتي الذكر و الموضحة بالجدول(27.III) .

الجدول (27.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الكاتيشين .

Adduct	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
$O_2^{\circ -}$	y = 21,46x + 99,95	0,996	$7{,}071.10^{-6}$
- $CatO_2^{\circ -}$	y = 22,37x + 56,25	0,996	$7{,}684.10^{-6}$

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (27.III) , أنه تم حدوث تداخل بين الجذر النشط و الكاتيشين انطلاقا من قيم معامل الانتشار , حيث ان معامل الانتشار اقل في حال ارتباط الكاتيشين مع الجذر النشط $O_2^{\cdot -}$ منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج ايضا البنية الفراغية للمعقد الناتج هي احدى العوامل المساعدة على تثبيط انتشار الجذر النشط .

6.2.3.1.III. دراسة التداخل O_2 – querctine الكيرسيتين :

تم تحضير ملي مول واحد من الكيرسيتين مذاب في الاسيتونتريل يضاف تدريجيا في خلية كهروكيميائية معزولة مشبعة بغاز الاكسجين التجاري و باعتماد الكهروليت المساعد (Bu_4NBF_4) و من اجل معرفة مدى قدرة الكيرسيتين على تثبيط جذر الاكسجين النشط وتحديد المعاملات الترمدديناميكية الناتجة عن هذا التداخل .

1. تحديد نسبة ثابت الترابط (K_{ox}/K_{red}):

كمون الاكسدة يميل بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة الكيرسيتين ذلك ما يوافق مبدأ التقنية و الذي يعتمد ارجاع جذر الاكسجين , الية التداخل بين الكيرسيتين و جذر $O_2^{\cdot -}$ موضحة بالشكل (III .7)، يعتمد تفسير الآلية الموضحة بالشكل (7.III) على معادلة ***Nernst*** (9.III) , الجدول (III .28) يوضح بعض المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot -}$ مع الكيرسيتين .

الجدول (28.III): معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot -}$ مع الكيرسيتين .

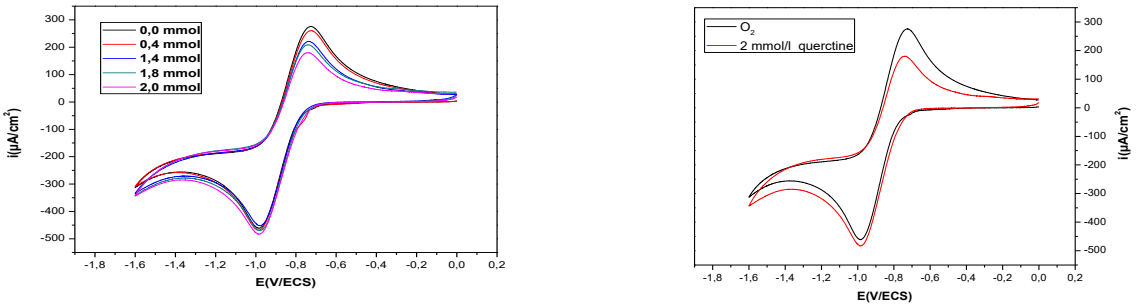
Adduct	$i_{pa}(\mu A)$	$i_{pc}(\mu A)$	$E_{pa}(V)$	$E_{pc}(V)$	$E^0(V)$	ΔE^0 (mV)	$\Delta ip_a\%$	K_{ox}/K_{red}
$O_2^{\circ -}$	440,093	-462,75	-0,7252	-0,9832	-0,8542	_	_	_
- querctine$O_2^{\circ -}$	339,239	-480,239	-0,7401	-0,9819	-0,861	-1,9651	22,917	1,303

2. تحديد ثابت الترابط :

يضاف0.1 مل (1ملي مول) من الكيرسيتين داخل خلية كهروكيميائية و باعتماد نفس الشروط سابقة الذكر, يرسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (الكيرسيتين), ليتم

تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجريئة تبعا لتفاعلها مع ($O_2^{\cdot-}$) . الزيادة في تركيز الكيرسيتين يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي (I_{Pa}) لـ ($O_2^{\cdot-}$) تصل الى 07 % , بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل(28.III).

التناقص في التيار المصعدي لـ($O_2^{\cdot-}$) يدل على أن الكيرسيتين تفاعل مع ($O_2^{\cdot-}$) بشكل غير عكوس.



الشكل (28.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكيرسيتين **في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .**

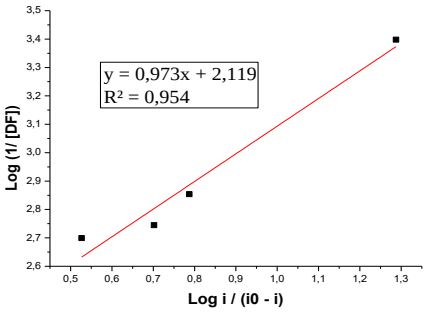
من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) و بالتالي فعالية مضادة للأكسدة أكبر.

ان التناقص في شدة التيار للزوج ($O_2^{\cdot-}$ / O_2) بواسطة اضافة مضاد الاكسدة يسمح بحساب معامل الترابط و ذلك بتطبيق العلاقة (10.III), انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل(28.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية و المبينة بالجدول (29.III) .

الجدول (29.III): قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي الكيرسيتين .

Compound	C (mM)	Log (1/ C)	i(μA)	Log i / (i_0 – i)	Equation	R^2
querctine	0,0004	3,3979	418,503	1,2874	y = 0,973 x + 2,119	0,954
	0,0014	2,8539	378,379	0,7875		
	0,0018	2,7447	367,154	0,7019		
	0,002	2,6990	339,239	0,5268		

يمثل الشكل (29.III) المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكيرسيتين .



الشكل (29.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكيرسيتين في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) .

معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي يتم حسابها عن طريق اعتماد المعادلة (6.III) موضحة في الجدول (30.III).

الجدول (30.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و الكيرسيتين .

Adduct	Equation	R^2	K(L.mol^{-1})	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
- querctine$O_2^{\circ-}$	y = 0,973 x + 2,119	0,954	131,522	-12,097

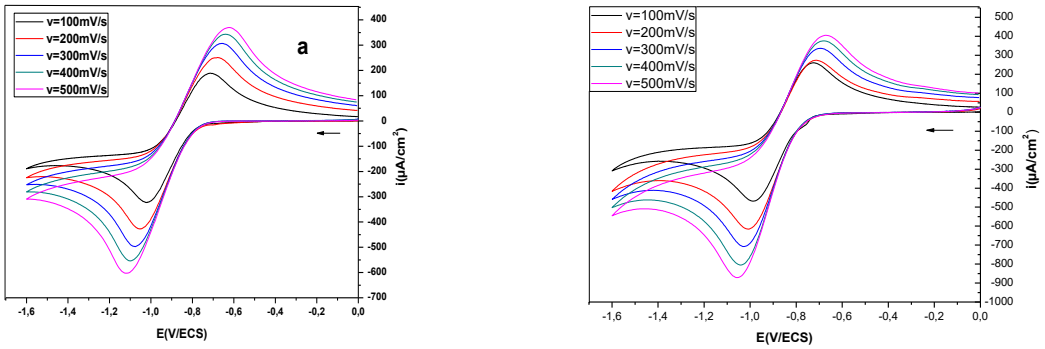
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الكيرسيتين الموضحة بالشكل (28.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي .

3. معامل الانتشار :

من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي و حركية جذر الاكسجين النشط بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة و نأخذ التيار المصعدي(I_{Pa}) كتيار لأكسدة ($O_2^{\cdot-}$) .

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز ($O_2^{\cdot-}$) على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة حيث انه من المهم ان تكون قيمة التيار في حالتي الاكسدة و الارجاع ثابت تقريبا في ظل نفس الشروط (الشكل III.30 .a) .

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود 1 ملي مول من الكيرسيتين (الشكل III.30 .b) .



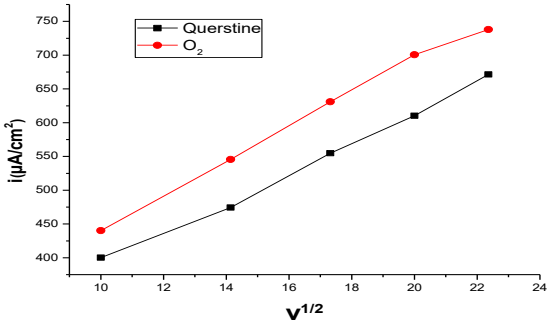
الشكل (30.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الكيرسيتين **(b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .**

من خلال الفولطاموغرام الحلقي(الشكل 30.III) يتضح جليا ان النظام عكوس. لهذا فانه يعبر عن علاقة التيار لـ(***Randels***) و (***Sevick***).وعليه يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية مدونة في الجدول .

الجدول (31.III) : قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الكيرسيتين عند سرعات المسح المختلفة .

Compound	v (mV/s)	$\sqrt{v}$	i(μA) Banding	i(μA) Free
querctine	**100**	10 .00	172,967	303,661
	200	14.14	219,845	384,616
	300	17.32	261,556	437,406
	400	20.00	291,733	476,472
	500	22.36	316,063	498,419

حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذر الاكسجين النشط يمكن أن تستخرج من ميل المنحنى الخطي للشكل (31.III).



الشكل (31.III) : المنحنى الخطي لـــ ($Ipa=f(\sqrt{v})$) في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من الكيرسيتين مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

بالمطابقة بين العلاقة (11.III) و معادلة المنحنيين في الحالتين سابقتي الذكر يمكن ايجاد قيم ثابت الانتشار و الموضحة بالجدول(32.III) .

الجدول (32.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع الكيرسيتين .

Adduct	Equation	R^2	D(cm^2/s)
$O_2^{\circ -}$	y = 24,51x + 199,8	0,99	$2{,}306.10^{-6}$
- querctine$O_2^{\circ -}$	y = 20,73x + 196,4	0,979	$1{,}649.10^{-6}$

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (32.III) , أنه تم حدوث تداخل بين الجذر النشط و الكيرسيتين انطلاقا من قيم معامل الانتشار , حيث ان معامل الانتشار اقل في حال ارتباط الكيرسيتين مع الجذر النشط $O_2^{\cdot -}$ منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج ايضا البنية الفراغية للمعقد الناتج هي احدى العوامل المساعدة على تثبيط انتشار الجذر النشط .

7.2.3.1.III. دراسة التداخل O_2 – Rutin الروتين:

لمعرفة مدى قدرة الروتين على تثبيط جذر الاكسجين النشط و تحديد المعاملات الترموديناميكية الناتجة عن هذا التداخل, تم تحضير ملي مول واحد من روتين مذاب في الاسيتونتريل يضاف تدريجيا في خلية كهروكيميائية معزولة مشبعة بغاز الاكسجين التجاري وباعتماد الكهروليت المساعد (Bu_4NBF_4) .

1. تحديد نسبة ثابت الترابط (K_{ox}/K_{red}):

يميل كمون الاكسدة بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة الروتين ذلك ما يوافق مبدأ التقنية و الذي يعتمد على ارجاع جذر الاكسجين , الية التداخل بين الروتين و جذر $O_2^{\cdot -}$ موضحة بالشكل (7.III)، والذي يعتمد عليه لتفسير الآلية و على معادلة ***Nernst*** (9.III) كذلك , الجدول (33.III) يوضح بعض المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن هذا التداخل .

الجدول (33.III) : معطيات كهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر $O_2^{\cdot -}$ مع الروتين .

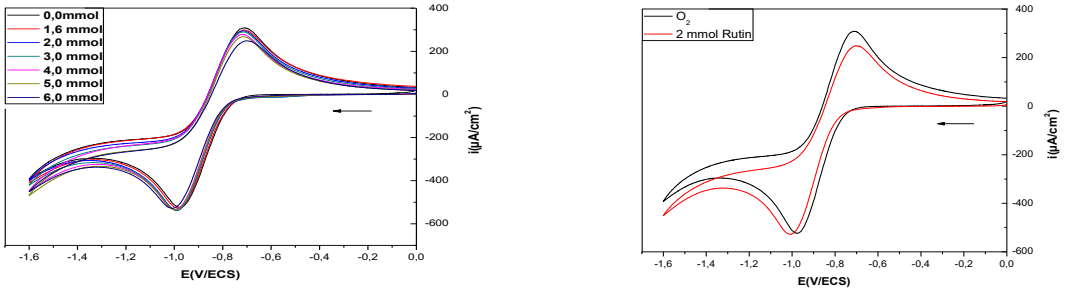
Adduct	i_{pa}(μA)	i_{pc} (μA)	E_{pa}(V)	E_{pc}(V)	E^0(V)	ΔE^0 (mV)	Δip_a%	K_{ox}/K_{red}
$O_2^{\circ -}$	480,384	-523,57	-0,7081	-0,976	-0,8421	_	_	_
- Rut$O_2^{\circ -}$	420,519	-526,38	-0,7026	-1,009	-0,8558	-1,9851	12,462	1,7068

2. تحديد ثابت الترابط :

عند اضافة 0.1 مل (1 ملي مول) من الروتين داخل خلية كهروكيميائية و باعتماد نفس الشروط سابقة الذكر, يرسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (الروتين), ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجريئة تبعا لتفاعلها مع ($O_2^{\cdot -}$). الزيادة في تركيز الروتين يؤدي إلى نقصان

في شدة التيار المصعدي (I_{Pa}) لـ ($O_2^{\cdot-}$) تصل الى 06 % , بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (32.III).

التناقص في التيار المصعدي لـ($O_2^{\cdot-}$) يدل على أن روتين تفاعل مع ($O_2^{\cdot-}$) بشكل غير عكوس.



الشكل (32.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الروتين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).

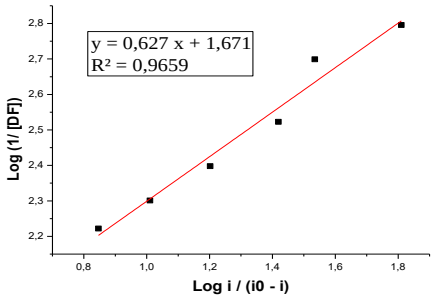
من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) و بالتالي فعالية مضادة للأكسدة أكبر.

ان التناقص في شدة التيار للزوج ($O_2^{\cdot-}$ / O_2) بواسطة اضافة مضاد الاكسدة يسمح بحساب معامل الترابط و ذلك بتطبيق العلاقة (10.III) , انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل(32.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية و المبينة بالجدول (34.III) .

الجدول (34.III) : قيم Log1/C و Log i/i₀-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي الروتين .

Compound	C (mM)	Log (1/ C)	i(μA)	Log i / (i_0 – i)	Equation	R^2
Rut	0,0016	2,7959	473,062	1,8103	y = 0,627 x + 1,671	0,9659
	0,002	2,6990	466,768	1,5351		
	0,003	2,5229	462,75	1,4190		
	0,004	2,3979	451,989	1,2019		
	0,005	2,3010	437,659	1,0105		
	0,006	2,2218	420,5198	0,8466		

يمثل الشكل (33.III) المنحنى الخطي$i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الروتين .



الشكل (33.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الروتين في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s).

معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي يتم حسابها عن طريق اعتماد المعادلة (6.III) موضحة في الجدول (35.III).

الجدول (35.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر($O_2^{\cdot-}$) و الروتين .

Adduct	Equation	R^2	K(L.mol^{-1})	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
- Rut$O_2^{\circ-}$	y = 0,627 x + 1,671	0,9659	46,881	-9,539

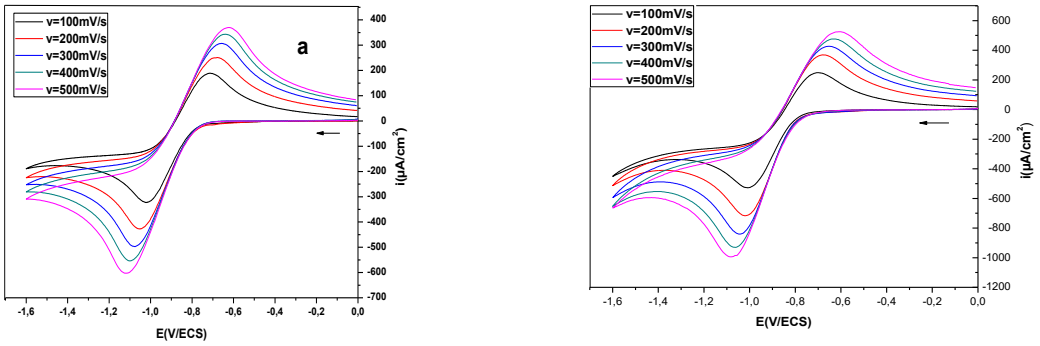
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين في وجود تراكيز متزايدة من الروتين الموضحة بالشكل (32.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي .

3. معامل الانتشار :

من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي و حركية جذر الاكسجين النشط بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة و نأخذ التيار المصعدي (I_{Pa}) كتيار لأكسدة ($O_2^{\cdot-}$)

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز ($O_2^{\cdot-}$) على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة حيث انه من المهم ان تكون قيمة التيار في حالتي الاكسدة و الارجاع ثابت تقريبا في ظل نفس الشروط (الشكل III. 34 . a)

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (O_2) في وجود1 ملي مول من روتين (الشكل III. 34 . b) .



الشكل (34.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الأكسجين (a)و منحنى في وجود (1mM) من الروتين (b) مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

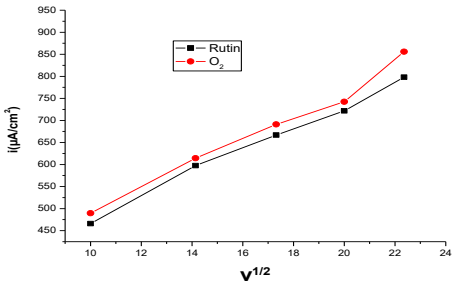
من خلال الفولطاموغرام الحلقي(الشكل III. 34) يتضح جليا ان النظام عكوس. لهذا فانه يعبر عن علاقة التيار لــ(***Randels***) و (***Sevick***).

استنادا للمنحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي الموضح بالشكل(34.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية.

الجدول (36.III) : قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع الروتين عند سرعات المسح المختلفة.

Compound	v (mV/s)	$\sqrt{v}$	i(μA) Banding	i(μA) Free
Rut	**100**	10 .00	465,903	489,5
	200	14.14	597,585	614,374
	300	17.32	666,786	690,93
	400	20.00	721,761	742,492
	500	22.36	798,079	855,963

حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذر الاكسجين النشط يمكن أن تستخرج من ميل المنحنى الخطي للشكل (35.III).



الشكل (35.III) : المنحنى الخطي لـــ Ipa=f($\sqrt{v}$) في حاله $O_2^{\cdot-}$ و في حال وجود (1mM) من الروتين مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة .

بالمطابقة بين العلاقة (11.III) و معادلة المنحنيين في الحالتين سابقتي الذكر يمكن ايجاد قيم ثابت الانتشار و الموضحة بالجدول(37.III) .

الجدول (37.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع الروتين .

Adduct	Equation	R^2	D(cm^2/s)
$O_2^{\circ-}$	y = 28,01x + 209,0	0,983	$1{,}204.10^{-5}$
- Rut$O_2^{\circ-}$	y = 25,89x + 215,9	0,992	$1{,}029.10^{-5}$

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (37.III) , أنه تم حدوث تداخل بين الجذر النشط و روتين انطلاقا من قيم معامل الانتشار, حيث ان معامل الانتشار اقل في حال ارتباط روتين مع الجذر النشط $O_2^{\cdot-}$ منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج ايضا البنية الفراغية للمعقد الناتج هي احدى العوامل المساعدة على تثبيط انتشار الجذر النشط .

4.III. مناقشة ومقارنة النتائج :

يعتبر اختبار DPPH من اهم الطرق الكيميائية المستعملة لتقدير الفعالية المضادة للجذور وذلك من خلال تتبع هذا التفاعل بواسطة جهاز (UV-Vis) .

الواضح بان قيمةIC_{50} كلما ازدادت نقصت الفاعلية المضادة للأكسدة ذلك لوجود العلاقة العكسية بينهما انظر النتائج الموضحة في الجدول **(1.III)** , حيث يمكن المقارنة بين حمض الأسكوربيك التي قدرت قيمته بـ (IC_{50}=0.002mg/mL) مع الالفا– طوكوفيرول, نجد بأن الفاعلية المضادة للأكسدة للألفا– طوكوفيرول كانت اقل بكثير من فاعلية حمض الأسكوربيك والتي قدرت فاعليتها بـ (IC_{50}=0.120mg/mL) حيث تعتبر فاعلية حمض الأسكوربيك هي المثل مقارنة مع الالفا – طوكوفيرول .

من خلال طيف الامتصاص لـ DPPH و الفيتامين C و الالفا– طوكوفيرول وحمض الغاليك و الكاتشين و الروتين مذابة في الاسيتونتريل والمنحنى الخطي $A_0/(A-A_0) = f(1/C)$ و الموضحة بالشكل (6.III) , وهو عبارة عن منحنيين منحنى الأول يمثل طيف الامتصاص لكل مركب ومنحنى الثانية قيم الامتصاصية وتركيز لكل مادة حيث يمكن تحديد قيمة ثابت الرابطة وذلك من خلال رسم منحنى f(1/C) بدلالة $A_0/(A-A_0)$, حيث تقدر قيمة ثابت الترابط بنسبة للمنحنى هي نقطة التقاطع مع المحور y . من خلال المعادلة المنحنى الخطي f(1/C) بدلالة $A_0/(A-A_0)$ بأخذ اللوغريتم العشري لقيمة تقاطع المستقيم مع محور y نستطيع إيجاد قيمة K ومنها حساب قيمة الطاقة الحرة للترابط حسب المعادلة المذكورة :

$$\Delta G = -RT\ Ln\ K = -8.32 \times 0.001 \times 298 \times Ln\ K \quad (kJ/mol)$$

نلاحظ من خلال الجدول (2.III) أن قيمة ثابت الترابط للحمض الأسكوربيك ولألفا– طوكوفيرول ذو اكبر قيمة مقارنة بالمركبات الأخرى ويدل هدا على أن المركبين لهم طبيعة التفاعل بينهم وبين DPPH كيميائية , أما المركبات الأخرى فإن طبيعة التفاعل فيزيائي .

في حين تمثل قيم السالبة لطاقة الحرة للترابط إلى تداخل بين المركبات الفينولية مع جذر DPPH والتي تدل على عفوية أو تلقائية التفاعل .

كما يعتبر اختبار $O_2^{\circ-}$ من اهم الطرق الكهروكيميائية المستعملة لتقدير الفعالية المضادة للجذور وذلك بالاعتماد على تقنية الفولطاامبيرومتري الحلقي حيث يتم تتبع هذا التفاعل بواسطة جهاز الفولطاامبيرومتري .

من خلال منحنيات الفولطاامبيرومتري الحلقي للاكسجين في غياب ووجود المركبات المدروسة واستنادا للنتائج المتحصل عليها انطلاقا من تقنية الفولطامتري الحلقي والتي تسمح بتحديد الشروط التي يتم فيها تفاعل الأكسدة و الارجاع للمركبات المدروسة وحساب النسبة المئوية للتثبيط كما يمكن كذلك حساب K و ΔG انطلاقا من مختلف التراكيز بالنسبة للمركبات المدروسة وايضا حساب معامل الانتشار D .

من خلال تفسير النتائج المتحصل عليها حول دراسة تداخل الجذر $O_2^{\circ-}$ مع مضادات الأكسدة الذي يعتمد على تثبيط الجذور الحرة وبوجود المركبات المدروسة ومقارنة مدى فاعلية هذه المركبات وحساب بعض المعاملات الترموديناميكية كحساب الطاقة الحرة للترابط ΔG للجذر $O_2^{\circ-}$ مع المركبات المدروسة نتحصل على القيم المدونة في الجدول التالي :

Adduct	Equation	R^2	$K(L.mol^{-1})$	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$	$D(cm^2/s)$
- As. $AO_2^{\circ-}$	y = 0.93 x + 2.22	0.889	165.959	-12.674	$8.038.10^{-6}$
- Gall .$AO_2^{\circ-}$	y = 0.596 x + 2.521	0.954	331.894	-14.392	$4.75.10^{-6}$
- A.Caff$O_2^{\circ-}$	y = 0,843x + 1,6673	0,9065	11,860418	-6,132	$1,7715 .10^{-8}$
- TOC$O_2^{\circ-}$	y =0,841x + 2,298	0,9856	198,609	-13,11	$1,39.10^{-6}$
- Cat$O_2^{\circ-}$	y = 0,674 x + 2,271	0,947	186,637	-12,964	$7,684.10^{-6}$
- querctine$O_2^{\circ-}$	y = 0,973 x + 2,119	0,954	131,522	-12,097	$1,649.10^{-6}$
- Rut$O_2^{\circ-}$	y = 0,627 x + 1,671	0,9659	46,881	-9,539	$1,029.10^{-5}$

من خلال النتائج المدونة في الجدول يمكن القول بانه حدث تداخل بين الجذر $O_2^{\circ-}$ والمركبات المدروسة (**الفيتامينC ، الالفا – طوكوفيرول ، حمض الكافئيك , الكاتشين , Acide Galliq ، Quercetin ، Rutin**)

يتضح من خلال قيم K والطاقة الحرة للترابط ΔG المدونة في الجدول اعلاه أن قيمة ΔG لحمض الغالييك بلغت (ΔG = -14.392 **$KJ.mol^{-1}$**) و أن كمون الأكسدة يميل إلى القيم الاكثر ايجابا والتي

تاكدت من خلال قيم ΔG للمركب حمض الغالييك و التي تدل على أن الفعالية المضادة للاكسدة للمركب افضل مقارنة مع المركبات الاخرى المدروسة وانه حدث تداخل وان طبيعة التداخل تداخل فزيائي و أن التفاعل تلقائي, كما نلاحظ بان كمون الأكسدة لحمض الكافئيك يميل إلى قيم سالبة وذلك من خلال الطاقة الحرة للترابط والتي بلغت ($\mathbf{KJ.mol^{-1}}$) ΔG = -6,132 حيث يبين أن طبيعة التفاعل تلقائي وان التداخل تداخل كيميائي .

يرتبط السلوك الكهروكيميائي للجذر $O_2^{\circ-}$ المرتبط بمختلف المركبات المدروسة و من خلال منحنيات الفولطاامبيرومتري الحلقي تبين أن النظام مستقر وعكوس و ان ظاهرة الانتشار هي المسؤولة عن عملية الارجاع وعليه تم تحديد معامل الانتشار D وفقا للمعادلة (11.III) واستنادا على قيم الجدول اعلاه نلاحظ أن قيمة معامل الانتشار لحمض الاسكروبيك هي اعلى قيمة ويفسر ذلك بانه اقل وزن جزيئي من بين المركبات المدروسة يليه مركب الكاتشين لانه اكبر وزن من حمض الاسكروبيك ثم بقية المركبات الاخرى

5.III. خاتمة الفصل :

تم في هذا الفصل اعتماد طريقتين لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الفينولية (حمض الأسكوربيك ولألفا – توكوفيرول , حمض الغاليك الكاتشين والروتين وBHA) , وذلك لدراسة التداخل بين المركبات الفينولية مع جذر الأكسجين وDPPH , ويتم هذا من خلال استخراج المعاملات الترموديناميكية (ثابت الترابط والطاقة الحرة للترابط ومعامل الانتشار) .

تمثلت الطريقة الأولى في طريقة الطيفية اختبارDPPH وشملت أولا دراسة المنحنى الحركي لجذر DPPH في وجود مضاد الأكسدة و اتضح أن الزمن 15 دقيقة عموما كاف للوصول إلى نقطة استقرار التفاعل ، كما قمنا بدراسة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لمركبات فينولية و القياسية (BHAو حمض الغاليك و الكاتشين والروتين) و حيث اتضح أن المركبين (حمض الأسكوربيك ولألفا– طوكوفيرول ذو فعالية أقوى أما المركبات القياسية فهي الأضعف . أما فيما يخص دراسة التداخل بين المركبات الفينولية و الجذر DPPH فإن نوع التفاعل تلقائي,فيما يخص المركبين حمض الأسكوربيك ولألفا– طوكوفيرول فإن طبيعة تفاعل كيميائي أما المركبات القياسية فإن طبيعة فيزيائية.

وتمثلت الطريقة الثانية في طريقة الكهروكيميائية وذلك باستخدام تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي لجذر فوق الأكسيد $O_2^{\circ-}$ و كانت الفعالية المضادة للأكسدة لمركب حمض الغالييك أفضل مقارنة مع المركبات الأخرى فهي أضعف وذلك من خلال كمون الأكسدة الذي يميل إلى أكثر ايجابيا وهذا ما تدل عليه الطاقة الحرة للترابط والتي تمثل طبيعة التداخل فيزيائي وتفاعل تلقائي , كما نلاحظ بان

كمون الأكسدة لحمض الكافئيك يميل إلى قيم سالبة وذلك من خلال الطاقة الحرة للترابط حيث يبين أن طبيعة التفاعل تلقائي وتداخل كيميائي .

كما أشارت الدراسة الكهروكيميائية أن ظاهرة الانتشار مسؤولة حركيا عن عملية الإرجاع، ولقد تم تحديد معامل الانتشار وفقا لمعادلة Randles–Sevcik ويكون في الحالة الحرة اكبر قيمة من الحالة المرتبطة مع المركبات المدروسة المضادة للأكسدة ، حيث فسر هذا النقص في معامل الانتشار في حالة الارتباط إلى الكتلة الجزيئية حيث نلاحظ ان حمض الاسكروبيك يمثل اكبر قيمة لمعامل الانتشار وهدا راجع لكتلته الجزيئية فهو اقل كتلة بالمقارنة مع المركبات الأخرى .

المراجع :

1. V.Bondet, W.Brand-Williams, C. Berset, Lebensm. Wiss. Technol, 30(1997) 609-615.
2. P.Molyneux, song klana Karin J. sci technol, 26 (2004) 211-219.
3. T. Lanez and Hemmami H. Scientific Study & ResearchChemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry . 2015, 16 (3), pp. 237 – 243.
4. Blois, Détermination antioxydants de M.S. par l'utilisation d'un radical libre stable nature, 181(1958) 1199-2000.
5. M.Uchiyama, Y.Suzuki., K.fukuzawa. Yakgaku Zasshi 88(1968) 680, 683.
6. M. Jamil et al. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 105 (2013) 165–170.
7. E.I. Korotkova, Y.A. Karbainov, A.V. Shevchuk. Journal of Electroanalytical Chemistry 518 (2002) 56–60.
8. L. Barros, S. Falcao, P. Baptista, C. Freire, M. Vilas-Boas, I.C.F.R. Ferreira, Food Chem. 111 (2008) 61–66.
9. C. Le Bourvellec, D.Hauchard, A.Darchen, J.L.Burgot, M.L.Abasq .Talanta 75 (2008) 1098–1103.
10. Z. Ghiaba et al. Int. J. Electrochem. Sci., 9 (2014) 909 – 920.
11. T. Lanez, M. Henni, and H. Hemmami. St. Cerc. St. CICBIA, 2015, 16 (2), 161-168.
12. T. Lanez, M. Henni. J IRAN CHEM SOC (2016) 13:1741–1748.
13. TURRO.N.J, MASAYUKI. A, GOULD. L.R, « J.AM.Chem.Soc, 1982. 104 856-858.
14. B. Lionelf unt' and derekg . gray . Canadian Journal of Chemistry(1968), 46, 1337 .
15. W. Brand Williams., C.Berset., M.E.Cuvelier. Wissen.U.Tech, 28(1995)25-30.
16. Blois, Détermination antioxydants de M.S. par l'utilisation d'un radical libre stable nature, 181(1958) 1199-2000.
17. M.Uchiyama, Y.Suzuki., K.fukuzawa, Etude biochimiques de la fonction physiologique du tcopherolactome. Yakgaku Zasshi 88(1968) 680, 683.
18. T. Lanez and all, St. Cerc. St. Cicbia. 16(2), 161 (2015).

خاتمة عامة

الخـاتـمة :

إن المركبات القياسية ذات فعالية مضادة للأكسدة عالية لكونها عبارة عن مركبات فينولية والتي بدورها مسؤولة عن تثبيط الجذور الحرة حيث تعتبر هي المسؤولة عن الفعالية المضادة للأكسدة. لمواكبة الاهتمام المتزايد حول دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الفينولية المدروسة والتي تتمتع بالقدرة على إزاحة الجذور الحرة .

تركزت الدراسة الحالية حول الطرق الاكثر نجاعة لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الفينولية (طبيعية واصطناعية) وتحديد بعض المعاملات الترموديناميكية لجذر DPPH و جذر $O_2^{\cdot -}$ ودراسة التداخل بين هذه المركبات وجذر DPPH و جذر $O_2^{\cdot -}$.

وكمرحلة أولى للدراسة تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة وذلك بواسطة طريقتين : الطريقة الكيميائية من خلال تثبيط الجذر الحر DPPH حيث تم تتبع هذا التفاعل بواسطة جهاز (UV- Vis) و الطريقة الكهروكيميائية من خلال تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بتقنية الفولطاامبيرومتري الحلقي وكذا اختبار قدرتها على تثبيط الجذر الحر للاكسجين النشط ($O_2^{\cdot -}$). حيث تبين انه من خلال الطريقتين المعتمدتين للدراسة أن جميع المركبات المدروسة تمتلك فعالية معتبرة .

بالنسبة لنتائج اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH والتي اظهرت قدرة المركبات المدروسة للفعالية مضادة للأكسدة من خلال حساب قيم IC_{50} الذي يمثل تثبيط نسبة % 50 من DPPH . وبالاعتماد على نتائج المتحصل عليها في دراسة قدرة المركبات المدروسة على تثبيط الجذر $O_2^{\cdot -}$ النشط ومع مقارنتها مع حمض الاسكروبيك الذي يعتبر مركب قياسي ذو فعالية مضادة للأكسدة وبعد حساب قيمة IC_{50} اتضح أن المركبات المدروسة تملك قدرة عالية تثبيطية اتجاه الجذر $O_2^{\cdot -}$.

أما المرحلة الثانية تمثلت في حساب وتحديد معاملات الترموديناميكية للارتباط و الطاقة الحرة للترابط ومعامل الانتشار بين المؤكسد " الجذور الحرة " و مضادات الأكسدة " المركبات الفينولية" (حمض الأسكوربيك ، حمض الغاليك ، روتين و حمض الكافييك ....) الاصطناعية و من ثم تحديد طبيعة الرابطة و نوع هذا التفاعل ما إن كان فيزيائيا أو كيميائيا وتحديد تلقائية التداخل .

انطلاقا من النتائج المتحصل عليها من خلال حساب قيم الطاقة الحرة للترابط والتي اثبتت تلقائية التفاعل وعليه تم التأكد من وجود تداخل تلقائي بين المركبات الفينولية و جذر DPPH ، و بناءا الى مجال قيم معامل الانتشار ΔG والذي اثبت ارتباط الجذر مع المشتقات المدروسة فان طبيعة التداخل فيزيائي و طبيعة الرابطة كهربائية.

كمون الأكسدة يميل الى القيم الأكثر ايجابا اثبتت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل أو التداخل و أن طبيعته تداخل فيزيائي والذي يؤكد انه كلما كانت قيم هذا الأخير صغيرة كلما كانت امكانية التداخل اكبر وبهذا تم التوصل الى أن لهذه المركبات قدرة عالية على كبح وتثبيط الجذور الحرة .

اما بالنسبة للنتائج المتحصل عليها من خلال الدراسة الكهروكيميائية باستعمال تقنية الفولطامتري الحلقي لجذر فوق الأكسيد ($O_2^{\cdot -}$) و حساب معاملات الارتباط : ثابت الارتباط ونسبة الارتباط والطاقة الحرة للترابط لجذر الأكسجين و مضادات الأكسدة (المركبات الفينولية المدروسة)، وباعتماد العلاقة الرياضية لـ: Randles-Sevcik و التي تستند الى الفولطاموغرام الحلقي للتقنية الكهروكيميائية للمركبات الفينولية المدروسة في غياب و وجود الجذر"المؤكسد" ($O_2^{\cdot -}$) تبين أن التناقص في التيار المصعدي لـ ($O_2^{\cdot -}$) يدل على أن المركبات تتفاعل مع $O_2^{\cdot -}$ بشكل غير عكوس.

اما من جهة دراسة تداخل المركبات المدروسة وجذر($O_2^{\cdot -}$) كان نوع التفاعل تلقائي ذو طبيعة فزيائية و الذي يتضح من خلال نتائج كمون الاكسدة الذي يميل الى القيم الاكثر ايجابا والتي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل أو التداخل و أن طبيعته تداخل فيزيائي في جميع الحالات ماعدا المركب BHA و الذي كان نوع تفاعله كيميائي .

تم تحديد معامل الانتشار D وفقا لمعادلة Randles-Sevcik لوحظ أن قيمة معامل الانتشار اقل في حال ارتباط مضادات الاكسدة للمركبات المدروسة مع الجذر النشط $O_2^{\cdot -}$ منه في حال الجذر بمفرده أي ان قيمة معامل الانتشار في الحالة الحرة يكون اكبر ، يفسر ذلك بزيادة الكتلة المولية للمعقد الناتج و التي تعيق حركة انتشار الجذر في جوار سطح الالكترود.

يفسر النقص في معامل الانتشار في حالة الارتباط الى الوزن الجزئي للمضاد الأكسدة فكان لحمض الاسكروبيك أعلى قيمة لأنه اقل وزن جزيئي من بين المركبات المدروسة .

الملاحق

1. الدراسة الأولى :

استنادا إلى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور: العانز التهامي و الدكتورة: همامي هادية و الذي جاء بعنوان :

Development of spectrophotometrical assay for the study of the interaction of antioxidant standards with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radicals

كان الهدف من هذه الدراسة هو تطوير اختبار يستند إلى الطرق الطيفية " طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية " UV-Visible " لتحديد معاملات الارتباط و الطاقة الحرة للترابط بين المؤكسد " الجذور الحرة : جذر(DPPH) و" مضادات الأكسدة " المركبات الفينولية : حمض الأسكوربيك حمض الغاليك ، روتين و حمض الكافييك و من ثم تحديد طبيعة الرابطة و نوع هذا التفاعل ما أن كان فيزيائيا أو كيميائيا .

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة : $\frac{A}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G}\frac{1}{K[DF]}$ والتي تستند إلى طيف الامتصاص للمجال المرئي و الفوق بنفسجي للمركبات الفينولية المدروسة في وجود الجذر أو ما يعرف بالمؤكسد.

لخصت هذه الدراسة إلى ما يلي :

— كان ترتيب المركبات المدروسة بحسب الفعالية المضادة للأكسدة كالأتي : حمض الأسكوربيك يليه حمض الغاليك يليه روتين الأقل في الفعالية المضادة للأكسدة من بين هذه المركبات : حمض الكافييك يرجح الباحثان السبب الرئيسي لهذا هو الكتلة المولية بدرجة أولى البنية الفراغية لهذه المركبات بدرجة ثانية .

— انطلاقا من قيم الطاقة الحرة للترابط تم التأكد من وجود تداخل تلقائي بين المركبات الفينولية و جذر DPPH , و بناءا إلى مجال قيم ΔG فان طبيعة التداخل فيزيائي و طبيعة الرابطة كهربائية (electrostatic binding), و وفقا لمجال ΔG فإن طبيعة التداخل تداخل فيزيائي [01] .

2. الدراسة الثانية :

بالاستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور: العانز التهامي , و الدكتورة : حني مريم و الدكتورة : همامي هادية و الذي جاء بعنوان :

Development of cyclic voltammetric method for the study of the interaction of antioxidant standards with superoxide anion radicals case of α-tocopherol

حيث أنجزت هذه الدراسة بمخبر ترقية و تثمين الموارد الصحراوية VTRS بجامعة الوادي و تم نشرها بتاريخ 30 جوان 2015.

يهدف هذا العمل إلى تطوير اختبار يعتمد على قياس الفولتامترية الحلقية و حساب معاملات الارتباط : ثابت الارتباط ونسبة الارتباط والطاقة الحرة للترابط لجذر الاكسجين و مضاد الأكسدة الالفا– توكوفيرول .

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة الرياضية لـ: Randles-Sevcik و التي تستند إلى الفولطاموغرام الحلقي للتقنية الكهروكيميائية للمركب الفينولي المدروس في غياب ووجودالجذر المؤكسد

استنتاجات الدراسة :

— التناقص في التيار المصعدي لـ ($O_2^{\cdot-}$) يدل على أن α-tocopherol تفاعل مع ($O_2^{\cdot-}$) بشكل غير عكوس.

— كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) كانت الفعالية المضادة للأكسدة أكبر.

— كمون الأكسدة يميل إلى القيم الأكثر إيجابا والتي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط و التي تدل على تلقائية التفاعل أو التداخل و أن طبيعته تداخل فيزيائي .

— معامل الانتشار اقل في حال ارتباط α-tocopherol مع الجذر النشط ($O_2^{\cdot-}$) منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتلة المولية للمعقد الناتج و التي تعيق حركة انتشار الجذر في جوار سطح الالكترود [02] .

3. الدراسة الثالثة :

بالاستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور: العانز التهامي , و الدكتورة : حني مريم و الذي جاء بعنوان :

SPECTROPHOTOMETRICAL STUDY OF ANTIOXIDANT STANDARDS INTERACTING WITH 2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL RADICAL

حيث أنجزت هذه الدراسة بمخبر ترقية و تثمين الموارد الصحراوية VTRS بجامعة الوادي و تم نشرها بتاريخ 14 سبتمبر 2015 .

يهدف هذا العمل إلى دراسة تفاعل أربعة معايير مضادات الأكسدة المعروفة مع 2،2–ثنائي الفينيل –1 جذر بيكريل الهيدرازيل بواسطة قياس الطيف الضوئي , و تحديد معاملات الارتباط مثل ثابت الارتباط و الطاقة الحرة للترابط تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة.

$$\%\textbf{DPPH radical scavenging activity} = \frac{\mathbf{i_0 - i_s}}{\mathbf{i_0}} \times \mathbf{100}$$

و التي تستند إلى طيف الامتصاص الإلكتروني لمحلول أسيتونتريل DPPH في وجود كمية متزايدة من مضادات الأكسدة .

استنتاجات الدراسة :

— كان ترتيب المركبات المدروسة بحسب الفعالية المضادة للأكسدة كالأتي : الالفا- توكوفيرول يليه الكاتشين يليه BHA الأقل في الفعالية المضادة للأكسدة من بين هذه المركبات : حمض الكافييك يرجح الباحثان السبب الرئيسي لهذا هو الكتلة المولية بدرجة أولى و البنية الفراغية لهذه المركبات بدرجة ثانية .

— انطلاقا من قيم الطاقة الحرة للترابط تم التأكد من وجود تداخل تلقائي بين المركبات الفينولية وجذر DPPH و بناءا إلى مجال قيم ΔG فان طبيعة التداخل فيزيائي وطبيعة الرابطة كهربائية (electrostatic binding) لبعض المركبات وهي الالفا- توكوفيرول و حمض الكافييك, ووفقا لمجال ΔG فإن طبيعة التداخل تداخل فيزيائي

— بالمقابل فان المركبات الكاتشين و BHA طبيعة التداخل كيميائي [3] .

4. الدراسة الرابعة :

بالاستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف : R. Mehrotra*, D. K. Jangir, S. Agarwal, B. Ray, P. Singh and A. K. Srivastava و الذي جاء عنوان :

Interaction Studies of Anticancer Drug Lomustine with Calf Thymus DNA using Surface Enhanced Raman Spectroscopy

يهدف هذا العمل إلي دراسة تفاعل لموستين المضاد للسرطان مع الغدة الصعترية الحمض النووي باستخدام مطيافية رامان السطحية المحسنة (SERS) , وتتم دراسة النسب المولية لتحديد مواقع الارتباط وطريقة ربط اللوموستين مع الحمض النووي , تشير النتائج إلى الربط من lomustine مع قواعد النيتروجين للجوانين والسيتوزين وكذلك تفاعل ضعيف مع الهيكل العظمي للسكر والفوسفات DNA .

استنتاجات الدراسة :

— دراسة التفاعل بين الدواء والحمض النووي دورًا مهمًا في فهم عمل الدواء على المستوى الجزيئي وبالتالي تصميم الدواء.

— لموستين دواء يستخدم على نطاق واسع لعلاج أورام المخ وسرطان الخلايا الرئوية الصغيرة ومرض هودجكين المقاوم أو المنتكس ، سرطان الجلد الخبيث والأورام الليمفاوية والأورام الصلبة المختلفة كما يمكن لـ Lomustine علاج أورام الدماغ بشكل فعال بسبب تقاربه الفسيولوجي للدهون .

— يعتبر lomustine أنه مضاد لسرطان لأنه ينطوي على تثبيط نسخ الحمض النووي ،النسخ

والترجمة عن طريق ألكلة الحمض النووي , بالإضافة إلى ذلك يؤثر lomustine أيضًا على مجموعة من إجراءات الخلايا الحيوية مثل العلاج بالبلازما النووية الرسول والريبوسوم RNA ، تعديل الحمض النووي قواعد النيتروجين ونشاط بلمرة الـــDNA .

— تشير النتائج الطيفية إلى أن التفاعل اللومستين يحدث عبر الجوانين(N7، O6) والسيتوزين (C4) ومع رابطة تكافؤية مع الهيكل الرئيسي للحمض النووي ، من خلال هذه النتائج يمكن فهم شامل لالية تفاعل الـ lomustine على المستوى الجزيئي [4] .

5. الدراسة الخامسة :

بالاستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف : Afzal Shah, Muhammad Zaheer, Rumana Qureshi, Zareen Akhter, Muhammad Faizan Nazar تحت عنوان :

Voltammetric and spectroscopic investigations of 4-nitrophenylferrocene interacting with DNA

الهدف من هذا العمل هو التحقق من دواء مضاد للسرطان : دراسة تفاعل 4- نيتروفينيل الفيروكسين مع الحمض النووي , وذلك باستخدام الطرق الطيفية " طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية " UV-Visible " وطرق قياس الجهد " الفولطامتري الحلقي" , لتحديد معاملات الربط : ثابت الترابط ونسبة الترابط والطاقة الحرة للترابط لأشكال الحرة المرتبطة بالحمض النووي للدواء .

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد على العلاقة $\frac{A}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G}\frac{1}{K[DF]}$ و التي تستند إلى طيف الامتصاص للمجال المرئي و الفوق بنفسجي لـ NFC معDNA .

توصلت الدراسة الى ما يلي :

— الاختلاف في سلوك الأكسدة للدواء في حالة الغياب ووجود الحمض النووي، بما في ذلك التغيرات في الإمكانات الرسمية لكمون الأكسدة والانخفاض في تيار الذروة بسبب انخفاض ملحوظ في معامل الانتشار بعد الارتباط بـ NFC .

— بواسطة الأكسدة الذاتية ل NFC-DNA تم تحديد بأن طبيعة التفاعل تفاعل كهروستاتيكي كما كانت طريقة التفاعل مدعومة بنتائج التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والفلورة واللزوجة [5].

6. الدراسة السادسة :

استنادا إلى المقال العلمي منجز من طرف البروفيسور : العانز التهامي و الدكتورة : همامي هادية تحت عنوان :

Antioxidant Activities of N-ferrocenylmethyl-2- and -3-nitroaniline and Determination of their Binding Parameters with Superoxide Anion Radicals

أنجزت هذه الدراسة بمخبر ترقية و تثمين الموارد الصحراوية VTRS بجامعة الوادي و تم نشرها بتاريخ 13 أكتوبر 2015.

الغرض من هذه الدراسة هو قياس نشاط المضاد للأكسدة لنوعين من مضادات الأكسدة (2FMNA) و (3FMN) باستخدام تقنيات التحليل الطيفي الالكتروني وقياس الجهد الدوري لتحديد المعاملات الارتباط: ثابت الترابط والطاقة الحرة للترابط ومن ثم تحديدنسبة الارتباط مع جذر الأكسجين تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة : $\%\textbf{DPPH radical scavenging activity} = \frac{\mathbf{i_0 - i_s}}{\mathbf{i_0}} \times \mathbf{100}$

$$\%\mathbf{O_2^-\ radical\ scavenging\ activity} = \frac{\mathbf{i_0 - i_s}}{\mathbf{i_0}} \times \mathbf{100}$$

استنتاجات الدراسة :

- التوصل الى ان مشتقات الفيروسان التي تحتوي على ذرات نيتروجين تميزت بقدرتها على التخلص من الجذور الحرة و نشاطها العالي المضاد للأكسدة.
- تم استخدام طريقتين لقياس النشاط المضاد للأكسدة لـ (2FMNA) و (3FMN)، نشاط تثبيط الجذور الحرة DPPH و O_2 , من أجل الوصول إلى قيم IC_{50} وتشير أن 2FMNA أعلى نشاط مضاد للأكسدة يليه مضاد الأكسدة القياسية الالفا- توكوفيرول يليه مركب الأخير 3FMNA .
- معامل انتشار جذر الأكسجين اكبر من 3FMNA و 2FMNA, لأن لديهم نفس الوزن الجزيئي الفرق طفيف ويرجع ذلك إلى موقع NO_2 في الجزيئات .
- قيم الطاقة الحرة تتفاوتان بنفس الترتيب للمركبين 2FMNA و 3FMNA , والتي تشير إلى تلقائية التفاعل [6].

7. الدراسة السابعة :

استنادا إلى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور : العانز التهامي و الدكتورة : همامي هادية تحت عنوان :

Antioxidant activity and superoxide anion radical interaction with 2-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile and 3-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة لمركبين هما (2FMAB) و (3FMAB) ومضاد الأكسدة حمض الاسكروبيك باستخدام طريقة الطيفية وذلك باستعمال اختبار DPPH وطريقة الكهروكيميائية وذلك باستعمال اختبار O_2 بغرض تحديد المعاملات الارتباط ثابت الارتباط نسبة الارتباط و طاقة الحرة الارتباط .

تمحورت الدراسة حول استخدام العلاقتين :

$$\%\textbf{DPPH radical scavenging activity} = \frac{\mathbf{i_0 - i_s}}{\mathbf{i_0}} \times \mathbf{100}$$

$$\%\mathbf{O_2^{\cdot-}\ radical\ scavenging\ activity} = \frac{\mathbf{i_0 - i_s}}{\mathbf{i_0}} \times \mathbf{100}$$

بالإضافة إلى المعادلة الرياضية لـ: Randles-Sevcik و التي تستند إلى الفولطاموغرام الحلقي للتقنية الكهروكيميائية للمركبات المدروس في غياب و وجود الجذر"المؤكسد" ($O_2^{\cdot-}$).

كانت نتائج الدراسة كالآتي :

- كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) كانت الفعالية المضادة للأكسدة أكبر.
- من خلال اختبار(DPPH و $O_2^{\cdot-}$) نستنتج بان مركب (3FMAB) (0.0090 mg/mL)هو أعلى فعالية مقارنة بالمركب القياسي حمض الاسكروبيك فهو يمثل نصفه (0.0041 mg/mL) وذلك من خلال قيمة IC_{50} .
- من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تشير إلي عفوية أو تلقائية التفاعل و أن طبيعة تداخل فيزيائي وهذا ما يدل على أن كمون الأكسدة يميل إلى القيم الأكثر إيجابا .
- معامل الانتشار اقل في حال ارتباط 3FMAB مع الجذر النشط ($O_2^{\cdot-}$) منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الوزن الجزيئي للمعقد الناتج و التي تعيق حركة انتشار الجذر في جوار سطح الالكترود [7] .

8. الدراسة الثامنة :

استنادا إلى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور :

Vlastimil Vyskočil1*, Marta Blašková1, Andrea Hájková1, Eva Horáková1, Zuzana Krejčová1, Klára Stávková1, and Joseph Wang2

والذي جاء تحت عنوان :

Electrochemical DNA Biosensors – Useful Diagnostic Tools for the Detection of Damage to DNA Caused by Organic Xenobiotics (A Review)

الغرض من هذه الدراسة هو الكشف عن تلف الحمض النووي الناجم عن العضوية Xenobiotics بواسطة أجهزة استشعار الكهروكيميائية للـــDNA و الأقطاب الكهربائية المعدلة بواسطة DNA – بالتناوب ، تمثل المستشعرات الكهروكيميائية للحمض النووي DNA فعّالة جدًا وفي الوقت نفسه بسيطة ،أجهزة تحليل سريعة وغير مكلفة ومنمذجة, ومنتجة بالجملة , وتصنيف أنماط تأثير السمي الجيني لمختلف المركبات العضوية الحيوية (على سبيل المثال ، المواد الكيميائية المسرطنة ، والأصباغ ، والمبيدات الحشرية أو المواد الكيميائية الصناعية المختلفة) ، وكذلك الاختيار المسبق للمستحضرات الصيدلانية والأدوية الجديدة أو مختلف المواد الكيميائية المركبة حديثًا. بالإضافة إلى ذلك ،تقييم القدرة ممكنة لحماية الحمض النووي بمختلف المنتجات الطبيعية

والاصطناعية "المواد الكيميائية" (مضادات الأكسدة) أيضًا باستخدام الكشف عن تلف الحمض النووي التي تسببها المؤكسدات , يمكن توقع في المستقبل القريب استخدام طبقات معقدة من التعرف البيولوجي سيتم اقتراح العديد من التفاعلات فوق الجزيئية للكشف عن المركبات الخطرة المحتملة .

أفاق الدراسة :

مواصلة تحسين قدرات أجهزة الاستشعار البيولوجي على الكشف عن تلف الحمض النووي. المستوى المتقدم لتشخيص الطبي والسريري إلى حد كبير يعتمد على التطور الناجح وتنفيذ مواد وتقنيات جديدة، وبالتالي تصور تصنيع أجهزة الاستشعار الحيوية المتقدمة , وبالتالي فإن الخصائص الجذابة للأجهزة الكهروكيميائية شديدة للغاية واعد لتحسين فعالية الفحص البيئي والاختبار التشخيصي و المراقبة العلاجية [8] .

9. الدراسة التاسعة :

استنادا إلى المقال العلمي المنجز من طرف : S. Sujarani, A. Ramu تحت عنوان :

Docking of ethanamine Schiff base imines & metal (II) complexes, cytotoxicity & DNA interaction studies

تناولت هذه الدراسة سلسلة من التحولات الجديدة المهمة بيولوجيًا لمعقدات شيف " قاعدة شيف". تم تصنيع أيونات Cu (II) و Co (II) و Mn (II) و Ni (II) التي تحتوي على مجمعات باستخدام ثنائي فينيل إيثانامين و 2-هيدروكسي / 2 ، 4-ديهيدروكسي / 2-هيدروكسي-4-ميثوكسي بنزالدهيدات. تم تمييز المعقدات باستخدام التحليل الجزئي ، IR ، NMR ، ESI-Mass ، UV تقنيات قياس الجهد المرئية والدورية وتقنيات التحليل الطيفي EPR . أثبتت البيانات الطيفية العمل لمعقدات شيف المتعادلة ، التنسيق من خلال النيتروجين والأكسجين أزومثين مجموعة الهيدروكسيل كشفت الدراسة التفاعل عن خاصية السمية وطبيعة التداخل بين المعقدات و الـDNA.

نتائج الدراسة

أظهرت معقدات المعادن المخلبية التسمم الخلوي ضد الخلايا السرطانية , كما تم تأكيد الارتباط القوي لمعقدات الإيمين والمعدن من خلال الالتحام الجزيئي [9] .

10. الدراسة العاشرة :

استنادا المقال العلمي المنجز من طرف :

Rukhsana Gul ,Azim Khan, Muhammad Nawaz Tahir, Muhammad Khawar Rauf, Amin Badshah et Syed Sikander Azam

تحت عنوان :

Ferrocene-based guanidine derivatives: In vitro antimicrobial, DNA binding and docking supported urease inhibition studies

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة مشتقات الجوانيدين القائمة على الفيروسين كمضادات الميكروبات في المختبر، و دراسات تثبيطه DNA .

استنتاجات الدراسة :

— آلية التفاعل المركب ADN بالمعدن ، وهو شرط أساسي لتصميم مضاد للسرطان الجديد وفهم الأساس الجزيئي لعملهم , تم فحص المركبات e81 لفاعلية تثبيطها المضادة للبكتيريا والفطريات واليورياز.

— يطبق على جزء الفيروسين المشبع بقوام الجوانيدين e81 للتعرف على معظم المركبات النشطة تثبيط نشاط اليورياز (pdb id 3LA4). تم العثور على معظم المركبات كمثبطات قوية ليتم العثور على اليوريس والمركب 1 ليكون الأكثر نشاطًا مع IC_{50} من 16.83 ± 0.03 ملم.

— تتوافق الدرجات بشكل وثيق مع قيم المثبطات التي تم الحصول عليها في المختبر من مثبطات e81.

— تم توليف سلسلة من e81 fenocenyl guanidines بنجاح ولقد تتميزت بمردود جيد , كانت هذه المركبات نقية للغاية تتميز بتقنيات التحليل الطيفي المختلفة في الحالة الصلبة وكذلك في الحالة المذابة , وجود غير تساهمي أثرت تفاعلات قوية بين الجزيئات للدراسة إمكاناتها لأهداف بيولوجية مختلفة , كمضاد للجراثيم.

— و أظهرت الدراسات المضادة للأكسدة أن هذه المركبات معتدلة و نشطة .

— كما أظهرت المركبات e31 نشاطًا كبيرًا ضد A. flavus ووجدت نشطة معتدلة ضد F. moniliforme و A. fumigatus نشاط المركبات e31 مقابل تم العثور على A. flavus قابلة للمقارنة مع الدواء القياسي المستخدم (تيربينافين) , بيانات الفحص الأولية المضادة للفطريات لهذه المركبات، ضد A. flavus إظهارهذه المركبات القدرة للسيطرة الفعالة على مسببات الأمراض [10] .

11. الدراسة الحادية عشر :

استنادا إلى المقال العلمي المنجز من طرف : **S. Benabdesselam and T. Lanez** والذي جاء بعنوان :

Evaluation of total antioxidant capacity and free radicals scavenging of 2 and 4-Nitrophenylferrocene by electrochemical and chemical assays

حيث أنجزت هذه الدراسة بمخبر VPRS جامعة ورقلة و مخبر ترقية و تثمين الموارد الصحراوية VTRS بجامعة الوادي و تم نشرها بتاريخ 06 جويلية 2015 .

يهدف هذا العمل إلى فحص النشاط المضاد للأكسدة في المختبر لمشتقين من الفيروسين: 2- نيتروفينيل الفيروسين و4- nitrophenylferrocene باستخدام اختبارات مختلفة، بما في ذلك فحص DPPH الجذري، فوسفوموليبدينوم اختبار الحد وجذر أنيون فوق أكسيد .

اعتمدت الدراسة على علاقتين: $\frac{A}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G}\frac{1}{K[DF]}$ و

$$\%\textbf{DPPH radical scavenging activity} = \frac{i_0 - i_s}{i_0} \times 100$$

وعلاقة لحساب انخفاض ذروة الأكسدة الحالية للأكسجين

$$\%TAC \textbf{ Total antioxidant capacity} = \frac{ip_0 - i_p}{ip_0 - ip_{res}} \times 100$$

على طريقة بروفيسور العانز التهامي والدكتور ربيعي عبد الكريم في تقدير النشاط الكلي لمضادات الأكسدة لمشتقات الفيروسين المدروسة .

نتائج الدراسة :

— تم تصنيع مشتقين من الفيروسين بنجاح ودرس نشاطهما المضاد للأكسدة باستخدام مقاييس الطيفية الكهروكيميائية , لكلا الاختبارين لكشف عن نشاط مضاد للأكسدة , تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن نشاط الكسح للمركبين المدروسين تدريجياً بطريقة تعتمد زيادة في التركيز .

— أشارت النتائج إلى أن 2–نيتروفينيل الفيروسين هو الأكثر نسبة من كسح DPPH مع IC_{50}=0.48 مجم/مل، IC_{50} من إجمالي القدرة المضادة للأكسدة(TAC) بتقييم مقايسة الفوسفوموليبدينوم 26.323 ملغم/ مل ، 4–نيتروفينيل الفيروسين لديه أعلى TAC المقدرة بواسطة انخفاض الكثافة الحالية لقمة الأكسجين الأنودية مع 10.907 وأعلى نشاط كسح جذر الأكسيد الفائق مع IC_{50} =1.16 ملغم / مل. كما يظهر 2– نيتروفينيل الفيروسين نشاطًا مضادًا للأكسدة أعلى حتى من مستوى مضادات الأكسدةα-tocopherol [11].

12.الدراسة الثانية عشر :

استنادا الي المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور : Burcu Dogan-Topal, Burcin Bozal-Palabiyik, Sibel A. Ozkan, Bengi Uslu والذي جاء تحت عنوان :

Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with dsDNA by electrochemical and spectroscopic techniques

كان الهدف من هذه الدراسة هو التحقق في الأدوية المضادة للسرطان Lapatinib و تفاعلها مع DNA من خلال التقنيات الكهروكيميائية و الطيفية , حيث تمت دراسة آلية الأكسدة الكهروكيميائية لـ

LPT بالتفصيل بطرقCV وDPV وSWV ضمن نطاق الأس الهيدروجيني الواسع بين(0.30 و 10.00)، تم تحقيق طرق الأكسدة الذاتية بمعدلات مسح مختلفة لفهم آلية LPT .

استنتاجات الدراسة :

— أظهر LPT ثلاثة قمم أنودية عند 0.76 فولت و 0.95 فولت و 1.22 فولت بواسطة قياس نبض مختلف الأقطاب وتم نقل إلكترونين لكل ذروة , يمكن تفسير آلية الأكسدة للقمم الأنودية الأول والثاني على أنها (methylsulfonylethylamino-2) تحويل الميثيل إلى الكحول و4-methoxyaniline تحويل كينون imine ،على التوالي , قد تفسر الذروة الثالثة عن أكسدة ميثوكسي بنزين الذي حدث بعد ذلك تفاعل أكسدة LPT .

— ثم تم تصميم المستشعر الكهروكيميائي للعمل المشترك بين ct-dsDNA و LPT بواسطة DPV (جهاز الاستشعار الكهروكيميائي) فهو فعال من حيث التكلفة ويوفر الكشف السريع , حيث تم فهم التفاعل الداخلي بناءً على التغييرات في LPT و ct-dsDNAsignal .

— إن فائدة الطرق الفولتميترية للدواء تفاعلات DNA , حيث ستمكن من اكتشاف آليات غير معروفة لتفاعلات DNA وهذه النتائج تساهم في فهم النشاط المضاد للسرطان للأدوية المضادة للسرطان , من شأنها تحقيق في تفاعل الدواء – ct-dsDNA أن تقدم مركبات جديدة يتم اختبارها للتأثير على الهدف البيوكيميائي ، لتصميم أجهزة الاستشعار الحيوية للحمض النووي ، والتي ستصبح أيضًا أنظمة الرقائق الدقيقة للحمض النووي.

— تم إجراء تحليل dsDNA بدراسات طيفية حيث تم حساب ثابت الارتباط (K) بين LPT و DNA لجميع الطرق. استنادًا إلى طرق التحليل الكهروكيميائية والطيفية ، تم التأكيد في جميع الدراسات المذكورة أعلاه على أن LPT يمكن أن يتقاطع مع حلزون dsDNA [12] .

13.الدراسة الثالثة عشر :

استنادا المقال العلمي المنجز من طرف: Raja Azadar Hussain a,1, Amin Badshah a Manzar Sohail b, Bhajan Lal a,c, Kamran Akbar a تحت عنوان :

Synthesis, chemical characterization, DNA binding and antioxidant studies of ferrocene incorporated selenoure

الهدف من هذه الدراسة هو التوليف والتوصيف الكيميائي (مع بلورةXRD مفردة،عنصري التحليل FTIR و مطيافية الرنين النووي المتعدد النوى) وربط الحمض النووي(مع قياس الفولتية الدورية الأشعة فوق البنفسجية– الطيفي ،أنشطة الإرساء الجزيئي وقياس اللزوجة) ومضادات الأكسدة (1،1-

diphenyl-2-picrylhydrazyl الكسح) 1- (2-ميثيل بنزيل) -3- (3-فيروزينيل فينيل) سيلينوريا (MOT) .

استنتاجات الدراسة :

- 1 - (2-ميثيل بنزويل) -3- (3-فيروكينيل فينيل) سيلينوريا (MOT) تم تصنيعه بمردود جيد يتفاعل كهروكيميائيا مع الحمض النووي الذي تم تقييمه بواسطة طرق التحليل الطيفية "الأشعة فوق البنفسجية" و طريقة الالتحام الجزيئي وقياس اللزوجة.
- هذا المركب يتفاعل إلكتروستاتكيًا مع الحمض النووي وله قيمة ثابتة ثابتة تبلغ 1.703104 م
- قيمة معامل الانتشار لمعامل(1.35×10^{6} cm2 s1) MOT-DNA نسبة إلىMOT الحر (1.66×10^{6} cm2 s1) في قياس الفولتية الحلقية (CV) إلى ارتباط المركب مع DNA.
- أصغر قيمة حجم موقع الارتباط (0.88 زوج أساسي).
- طاقة تجريبية ملزمة (5.77 كيلو كالورى مول 1) والمحاكاة (5.86 كيلو كالورى مول 1) تتوافق بشكل وثيق مع بعضها البعض.
- IC_{50} هي قيمة MOT لمسح 1.1 -diphenyl-2-picrylhydrazyl $27\mu M$
- العمل التجريبي والمحاكاة النظرية يكمل كل منهما الاخر و يظهر MOT أيضا كسح جيد لـ DPPH نسبة إلى حمض الاسكروبيك [13] .

14.الدراسة الرابعة عشر :

استنادا إلى المقال العلمي المنجز من طرف: Muhammad Jamil, Ataf Ali Altaf, Amin Badshah, Shafiqullah, Ibrar Ahmad, Muhammad Zubair, Saqib Kemal, Muhammad Irshad Ali تحت عنوان :

Naked Eye DNA detection: Synthesis, characterization and DNA binding studies of a novel azo-guanidine

الهدف من هذه الدراسة هي كشف عن الحمض النووي بالعين المجردة وتوليف وتوصيف وربط الحمض النووي وذلك من خلال مركبات 2 -(2- hydroxyphenyl)-1- azo-guanidine (phenylamino)-3-(phenylimino)guanidine (AG) ,تم تصنيعها وتميزها بشكل جيد باستخدام تقنيات تحليلية مختلفة مثل التحليل الأولي و FTIR و H^1 1 و $NMRC^{13}$ ، UV – التحليل الطيفي المرئي و قياس الفولتية الدورية. تم العثور على المركب الجديد يتفاعل مع الحمض النووي ويظهر تغير واضح في اللون , كان مجمع AG - DNA نوعيا وكميا تتميز بالأشعة فوق

البنفسجية – التحليل الطيفي المرئي و قياس الفولتية الدورية. طريقة التفاعل الكهروستاتيكي ، يشير تغير اللون الواضح وثابت الارتباط المعتدل ($Kb = 10^4$) إلى استخدامه المحتمل كحمض نووي.

ولقد استخدمت العلاقة : $\frac{A}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G}\frac{1}{K[DF]}$ بغرض حساب ثابت الارتباط التفاعل

نتائج الدراسة هي :

— تشير البيانات إلى أن AG قد تكون كذلك عامل تلطيخ أفضل على EtB المستخدم عادة بسبب ضعف قدرة الربط وتغيير اللون الواضح , علاوة على ذلك ، فإن لا يمكن استخدام عوامل تلطيخ الحمض النووي مثل EtB للكشف عن الحمض النووي في محلول الإيثانول في حين أن الرواية AG سوف يحتمل أن تؤدي هذه المهمة , كما أن AG ستكون مفيدة في التحديد الكمي من الحمض النووي ، كما هو الحال في البروتوكولات المستخدمة لاستخراج الحمض النووي .

آفاق الدراسة

في المستقبل يهتم الباحثون بدراسة السمية التجريبية وتفاعل البروتين والتطورات الأخرى المتعلقة باستخدام AG كبديل لـ EtB [14] .

15.الدراسة الخامسة عشر :

استنادا إلى المقال العلمي المنجز من طرف : Shweta Agarwal1, Deepak Kumar Jangir1, Ranjana Mehrotra1*, Neelam Lohani2, M. R. Rajeswari2 تحت عنوان :

A Structural Insight into Major Groove Directed Binding of Nitrosourea Derivative Nimustine with DNA: A Spectroscopic Study

الهدف من هذه الدراسة هو فهم تفاعل النيموستين مع الحمض النووي لتحديد آليته الجزيئية المستوي , تم استخدام انعكاس إجمالي مخفف – فوريه تحويل الأشعة تحت الحمراء (ATR-FTIR) لتحديد مواقع الربط من nimustine على الحمض النووي , تم استخدام التحليل الطيفي الديكروية الدائرية (CD) لتأكيد الاختلافات المطابقة في الحمض النووي جزيء على التفاعل nimustine الحمض النووي. تم حساب المعاملات الحرارية لرد فعل DNA nimustine- من قبلisothermal قياس السعرات الحرارية .

نتائج هذه الدراسة هي :

— هذه الدراسة تثبت أن nimustine ليست بسيطة عامل alkylating بالأحرى يسبّب كبريات بستان–يوجّه–ألكيليت , تشير البيانات الطيفية إلى ربط النيموستين بالقواعد النيتروجينية جوانين ($C_6 = O_6$) والثيمين ($C_4 = O_4$) في الأخدود الرئيسي الحمض النووي .

— تشير النتائج الطيفية إلى تغييرات ربط قاعدة وتغيرات تشكيلية محلية في الحمض النووي عند التفاعل النيموستين

التحقيق في تفاعل المخدرات والحمض النووي هو جزء أساسي من تصميم المخدرات الرشيدة التي توفر أيضا معلومات حول عمل الدواء على المستوى الجزيئي , النتائج التي أظهرت قد تسهم في تطوير نيتروصوريا جديدة لعلاجات مع فعالية أفضل وآثار جانبية أقل [15] .

16.الدراسة السادسة عشر :

استناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف: Shweta Agarwal, Deepak Kumar Jangir, Parul Singh, Ranjana Mehrotra تحت عنوان :

Spectroscopic analysis of the interaction of lomustine with calf thymus DNA

الهدف من هذه الدراسة هو التحقق من التأثيرات المطابقة للهيكلة للوموستين على الحمض النووي , باستخدام طرق طيفية مختلفة يتم تحليل النسب المختلفة للدواء و الحمض النووي لتحديد مواقع الربط وطريقة ربط lomustine مع DNA و التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء فوريه (FTIR) .

استنتاجات الدراسة :

— تشير النتائج إلى ارتباط lomustine مع القواعد النيتروجينية guanine و cytosine و التفاعل ضعيف مع العمود الفقري للسكر الفوسفات للحمض النووي , تظهر نتائج التحليل الطيفي للانبعاثات الدائرية (CD) اضطراب في التشكيل المحلي للحمض النووي عند ربط لوموستين مع حلزون الحمض النووي.

— قد تعمل التغييرات المطابقة كموقع التعرف على إنزيمات الألكلة التي تسبب الألكلة من الحمض النووي , تؤكد النتائج الطيفية على تكوين المرحلة الوسيطة من الحمض النووي التي تحدث خلال انتقال من الشكل B إلى الشكل A .

— يمكننا أن نستنتج أن دراسة التفاعل تسمح بالتعرف الجزيئي بشكل عام وربط الحمض النووي بشكل خاص [16] .

17.الدراسة السابعة عشر :

استناد الى المقال العلمي المنجز من طرف :

Piyal Das, Chetan Kumar Jain,bd Sanjoy K. Dey, Rajat Saha, Abhishek Dutta Chowdhury,a Susanta Roychoudhury,b Sanjay Kumar,c Hemanta Kumar Majumderd and SaurabhDa

تحت عنوان :

Synthesis, crystal structure, DNA interaction and in vitro anticancer activity of a Cu(II) complex of purpurin: dual poison for human DNA topoisomerase I and II

الهدف من هذه الدراسة هو انتاج أنواع الأكسجين النشطة عن طريق الأدوية المضادة للسرطان"أنثراسايكلين" للأنها ضرورية للنشاط المضاد للورم ، يجعل هذه الأدوية سامة ,للقلب المعادن–أنثراسيكلينات تولد نسبياً عدد أقل من ROS (هي عوامل فعالة مضادة للأورام) Purpurin (LH3) هيدروكسي–10,9–أنثراكينون دواء أنثراسايكلين ثابت , تم اختيار هذا الجزيء لدراسة مدى فعالية أبسط نظائر , تم تصنيع مركب Cu (II) من LH3 [Cu (II) - (LH2) 2] لتقليد معقدات معدنية أنثراسايكلين , تم تحديد البنية البلورية لـ [Cu (II) - (LH2) 2] بواسطة صقل ريتفيلد بيانات (PXRD) باستخدام نموذج هيكلي مناسب تم تطويره على أساس البيانات الطيفية , و هذا يمثل التقرير الأول عن التركيب البلوري للهيدروكسي 10,9أنثراكينون مع أيون معدن ثلاثي الأبعاد أطوال الرابطة وزوايا الرابطة التي تم الحصول عليها عن طريق التحسين الهيكلي تلك المحسوبة بطريقة DFT , كان ربط الحمض النووي للمعقد أفضل قليلا من البروبورين و الأهم من ذلك كان عكس purpurin ، لم تنخفض القيم الثابتة مع زيادة الرقم الهيدروجيني للوسط تظهر فحوصات استرخاء الحمض النووي أن Cu (II) - (LH2) 2 كمثبط مزدوج فعال جديد .

18.الدراسة الثامنة عشر :

استناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور : العانز التهامي والدكتورة : حنى مريم , الذي حاء تحت عنوان :

Determination of binding parameters of 2(ferrocenylmethylamino)benzonitrile and 3-(ferrocenylmethylamino)benzonitrile with 1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl free radical

أنجزت هذه الدراسة بمخبر ترقية و تثمين الموارد الصحراوية VTRS بجامعة الوادي و تم نشرها بتاريخ 25 سبتمبر 2015.

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة لنوعين من مشتقات الفيروسين (2FMAB) و (3FMAB) ومضاد الأكسدة القياسي حمض الاسكروبيك مع 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) وذلك باستعمال تقنيات الطيفية لتحديد المعاملات الارتباط ثابت الترابط والطاقة الحرة للترابط .

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة : $\frac{A}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G}\frac{1}{K[DF]}$ و التي تستند إلى طيف الامتصاص للمجال المرئي و الفوق بنفسجي للمركبات المدروسة في وجود الجذر أو ما يعرف بالمؤكسد.

استنتاجات الدراسة :

- لحساب ثابت الارتباط والطاقة الحرة للترابط (2FMAB –DPPH) و(3FMAB–DPPH)

تأثير تركيز مختلفFMAB2 و FMAB3 على طيف الامتصاص الإلكتروني لمحلول$M\ 10^{-4}$ من DPPH المذاب يظهر acetonitrile اذ لوحظ أن DPPH لديه ذروة امتصاص واحدة قوية عند518 نانومتر, بعد التفاعل مع كمية متزايدة من(2FMAB) و(3FMAB)، هذه الذروة تنخفض تدريجيا, تم اختيار تركيزات(2FMAB) و(3FMAB)على أساس الاستجابة المثلى في طيف الامتصاص الإلكتروني .

— تم حساب ثابت الارتباط و الطاقة الحرة على أساس الانخفاض في الامتصاص باستخدام معادلة (Benesi-Hildebrand)،تم تلخيص النتائج في الجدول لمعاملات التفاعل مع حمض الأسكوربيك القياسي مع DPPH

— ثوابت DPPH-AA و DPPH-2FMAB تدل على التفاعل الكهروستاتيكي، لكن القيم الأعلى لثوابت الربط لـ DPPH-3FMAB تدل على المادة الكيميائية تفاعل , القيم السلبية لتغير الطاقة جيبس تدل على عفوية التفاعلات [18] .

19.الدراسة التاسعة عشر :

استنادا إلى المقال العلمي المنجز من طرف:Safeer Ahmed and Faria Shakeel والذي جاء تحت عنوان :

Voltammetric determination of antioxidant character in Berberis lycium Royel, Zanthoxylum armatum and Morus nigra Linn plants

الغرض من هذه الدراسة هو فحص إمكانيات النشاط المضاد للأكسدة لثلاثة مستخلصات نباتية مختلفة ضد أنيون الأكسيد الفائق جذري للنباتات بربارس ثانوية Royle و موروس نيجرا لين و تم اختيار Zanthoxylum armatum و بسبب استخدامها في الطب التقليدي و تم اختيار هذه النباتات الثلاثة للدراسة الحالية بسبب استخدامها على نطاق واسع كـ " أدوية محلية " لعدة أمراض مثل مشكلة الهضم والإصابات الداخلية (قرحة)، ألم الحلق... إلخ, و ذلك باستخدام التقنيات الفولطمترية الحلقية لتحديد معاملات الارتباط ثابت الترابط وطاقة الحرة للترابط.

ولقد تم اعتماد على العلاقة التالية: $\boldsymbol{log\frac{1}{[AO]} = \log k + \log\frac{i}{i_0 - i}}$

نتائج الدراسة :

— من خلال النتائج المتوصل اليها والتي تشير إلى قيمة عالية لثابت الارتباط يظهر تفاعل قوي مع$O_2^{\bullet -}$, وعليه فإن النسبة المئوية لانخفاض التيار الأنودي جذري أنيون فوق أكسيد وقيم ثابت

(Kb) تتبع الترتيب التالي: Sumble < Toot < الأخشاب وهي تمثل اختصارالعلمي لهذه النباتات .

- قيم (Kb) التي تم الحصول عليها أعلى من المستخلصات الفلافونيدات الاصطناعية المستخدمة في دراسة مماثلة التي تؤكد الانتماء القوي للمركبات الموجودة في مقتطفات(جزيئات المأخوذة منها) مع الجذور و تشير إلى احتمالية عالية لوجود أكثر من مركب واحد في المستخلص, و سلبية كبيرة لقيمة ΔG لا تشير فقط إلى تلقائية التفاعل المضاد للأكسدة ولكن تشير أيضا إلى استقرار الأنواع المشكلة ،والتي بدورها دليل قوي على الفعالية العالية للمستخلصات النباتية المدروسة ضد الجذور الحرة [19] .

المراجع :

1. Touhami Lanez , Hadia Hemmami , Development of spectrophotometrical assay for the study of the interaction of antioxidant standards with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radicals , ORIGINAL RESEARCH PAPER, 2015, 16 (2) : pp161 – 168 .

2. Touhami Lanez, Meriem Henni, Hadia Hemmami , Development of cyclic voltammetric method for the study of the interaction of antioxidant standards with superoxide anion radicals case of α-tocopherol , ORIGINAL RESEARCH PAPER , 2015, 16 (2) : pp161 – 168 .

3. Touhami Lanez and Meriem Henni , SPECTROPHOTOMETRICAL STUDY OF ANTIOXIDANT STANDARDS INTERACTING WITH 2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL RADICAL , CHEMISTRY & CHEMICAL TECHNOLOGY , Vol. 10, No. 3, 2016 .

4. R. Mehrotra, D. K. Jangir, S. Agarwal, B. Ray, P. Singh and A. K. Srivastava Interaction Studies of Anticancer Drug Lomustine with Calf Thymus DNA using Surface Enhanced Raman Spectroscopy , ARTICLE MAPAN-JOURNAL OF METROLOGY SOCIETY OF INDIA·DECEMBER2013.

5. Safeer Ahmed and Faria Shakeel , Interaction Studies of Anticancer Drug Lomustine withCalfThymus DNA using Surface Enhanced Raman Spectroscopy Department of Chemistry, Quaid-i-Azam University, Islamabad, Pakistan, Vol.25, No.3, July 2012, pp.501-507.

6. Afzal Shah, Muhammad Zaheer, Rumana Qureshi ∗, Zareen Akhter, Muhammad Faizan Nazar, Voltammetric and spectroscopic investigations of 4- nitrophenylferrocene interacting with DNA, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 75 (2010) 1082–1087 .

7. T. Lanez & M. Henni , Antioxidant activity and superoxide anion radical interaction with 2-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile and3-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile Journal of the Iranian Chemical Society J IRAN CHEM SOC (2016) 13:1741-1748 .

8. Vlastimil Vyskočil1, Marta Blašková1, Andrea Hájková1, Eva Horáková1, Zuzana Krejčová1, Klára Stávková1, and Joseph Wang2 , Electrochemical DNA Biosensors – Useful Diagnostic Tools for the Detection of Damage to DNA Caused by Organic Xenobiotics (A Review) , Vol. 7 (K. Kalcher, R. Metelka, I. Švancara, K. Vytřas; Eds.), pp. 141−162. 2012 .

9. S. Sujarani, A. Ramu, Docking of ethanamine Schiff base imines & metal (II) complexes, cytotoxicity & DNA interaction studies, Journal of Molecular Structure 1079 (2015) 353–362 .

10. Rukhsana Gul, Muhammad Khawar Rauf, Amin Badshah, Syed Sikander Azam, Muhammad Nawaz Tahir, Azim Khan Ferrocene-based guanidine derivatives: In vitro antimicrobial, DNA binding and docking supported urease inhibition studies , European Journal of Medicinal Chemistry 85 (2014) 438 – 449 .

11. S. Benabdesselam and T. Lanez , Evaluation of total antioxidant capacity and free radicals scavenging of 2 and

4- Nitrophenylferrocene by electrochemical and chemical assays , Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015, 7(6):825-831 .

12. Burcu Dogan-Topal, Burcin Bozal-Palabiyik, Sibel A. Ozkan, Bengi Uslu , Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with dsDNA by electrochemical and spectroscopic techniques , Sensors and Actuators B 194 (2014) 185–194 .

13. Raja Azadar Hussain, Amin Badshah, Manzar Sohail, Bhajan Lal, Kamran Akbar , Synthesis, chemical characterization, DNA binding and antioxidant studies of ferrocene incorporated selenoure, Journal of Molecular Structure 1048 (2013) 367–374

14. Muhammad Jamil, Ataf Ali Altaf, Amin Badshah, Shafiqullah, Ibrar Ahmad, Muhammad Zubair, Saqib Kemal, Muhammad Irshad Ali , Naked Eye DNA detection: Synthesis, characterization and DNA binding studies of a novel azo-guanidine , Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 105 (2013) 165–170

15. Shweta Agarwal, Deepak Kumar Jangir, Ranjana Mehrotra, Neelam Lohani, M. R. Rajeswari, A Structural Insight into Major Groove Directed Binding of Nitrosourea Derivative Nimustine with DNA: A Spectroscopic Study, ARTICLE PLOS ONE · AUGUST 2014 .

16. Shweta Agarwal, Deepak Kumar Jangir, Parul Singh, Ranjana Mehrotra , Spectroscopic analysis of the interaction of lomustine with calf thymus DNA, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 130 (2014) 281–286 .

17. Piyal Das, Chetan Kumar Jain, Sanjoy K. Dey, Rajat Saha, Abhishek Dutta Chowdhury, Susanta Roychoudhury, Sanjay Kumar, Hemanta Kumar Majumderd and Saurabh Das, Synthesis, crystal structure, DNA interaction and in vitro anticancer activity of a Cu(II) complex of purpurin: dual poison for human DNA topoisomerase I and II , ARTICLE RSC ADVANCES · OCTOBER 2014.

18. T. Lanez and M. Henni , DETERMINATION OF BINDING PARAMETERS OF 2(FERROCENYLMETHYLAMINO)BENZONITRILE AND 3-(FERROCENYLMETHYLAMINO)BENZONITRILE WITH 1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL FREE RADICAL, Journal of Fundamental and Applied Sciences, *2016, 8(1), 176-181.*

19. Safeer Ahmed and Faria Shakeel, Voltammetric determination of antioxidant character in Berberis lycium Royel, Zanthoxylum armatum and Morus nigra Linn plants, Pak. J. Pharm. Sci., Vol.25, No.3, July 2012, pp.501-507.

الملخص :

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الطبيعية والاصطناعية ، حيث قدرت الفعالية المضادة للأكسدة بطرقتين وذلك بإتباع الاختبارات الكيميائية (جذر DPPH " جذر ثنائي فينيل بكريل هايدارزيل ") و الكهروكيميائية (تقنية الفولطامتري الحلقي وقدرة تثبيط الجذر الحر لأكسجين النشط $O_2^{\cdot -}$ " جذر فوق الاكسيد ").

بالنسبة للاختبارين المدروسين كل النتائج كانت ايجابية حيث أبدت جميع المركبات الفينولية المدروسة فعالية مضادة للأكسدة معتبرة وذلك من خلال قدرتها على تثبيط الجذور الحرة وحساب قيم IC_{50} ، كما تم تحديد وحساب بعض المعاملات الترموديناميكية للترابط كتحديد الطاقة الحرة للترابط ΔG و حساب معامل الانتشار D بين الجذور الحرة ومضادات الأكسدة والتي تدل على تلقائية التفاعل.

الكلمات المفتاحية :

الفعالية المضادة للأكسدة ، الفولطامتري الحلقي ، الطاقة الحرة للترابط ، معامل الانتشار ، الجذور الحرة ، المركبات الفينولية .

Résumé

L'objectif principal de cette étude était l’évaluation de l'activité antioxydante de certains composés naturels et synthétiques, où l'activité antioxydante a été estimée de deux manières en suivant des tests chimiques (teste DPPH (" radical diphénylique hydrazyl") et électrochimique (technique voltmetrie cyclique et la capacité d'inhiber les radicaux libres d'$O_2^{\cdot -}$) "radical super oxyde") .

En ce qui concerne deux études examinées, tous les résultats étaient positifs, car tous les composés phénoliques étudiés ont montré une efficacité antioxydante significative grâce à leur capacité à inhiber les radicaux libres et à calculer les valeurs IC_{50}. De plus, certains facteurs thermodynamiques de corrélation ont été identifiés et calculés, tels que la détermination de l'énergie libre pour la corrélation ΔG et le calcul du coefficient de diffusion D entre les radicaux libres et les antioxydante, qui indique, ces réactions sont spontanée.

Mots clés :

Activité antioxydante, voltmetrie cyclique, énergie de liaison libre, coefficient de diffusion, radicaux libres, composés phénoliques