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
شعبـــة: هندسة الطرائق
تخصـــص: هندسة كيميائية

مـن إعداد الطالبـات:

زعبي خولة / سويد نبيلة / عويطي صبرين

الموضوع :

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الطبيعية و الاصطناعية وتحديد معاملات الرابطة لجذر DPPH " الطريقة الطيفية و الكموركيميائية "

نوقشت في: 2020/10/01

أمام لجنة المناقشة:

د. بلغيث محمد يزيد	أستاذ محاضر (ب)	رئيسا	جامعة الوادي
أ. شعبية ناصر	أستاذ مساعد (أ)	مناقشا	جامعة الوادي
د. همامي هادية	أستاذ محاضر (ب)	مشرفة	جامعة الوادي

الموسم الجامعي:2020/2019

الإهداء

إلى الوالدين العزيزين حفظهما الله و رعاهم
أطال الله في عمرُهم و أحسن عملهم

الى شموع حياتي اخوتي

الى من علمونا حروفا وعبارات من أسمى وأجلى العبارات

أساتذتنا الكرام
الى من نسيهم القلم و لم ينساهم القلب .

شكر وعرفان

قال رسول الله صل الله عليه وسلم:

"من سلك طريق يلتمس فيه علما سهل الله له به طريقا إلى الجنة"

الحمد والشكر لله الذي من علينا من فضله و رحمته ويسر لنا أمورنا ونور دروبنا للانجاز هذا العمل المتواضع، سائلين الله أن يوفقنا ويسدد خطانا ويبسط لنا خيرات العلم ويوفقنا في ما تبقى منه راجين من الله مزيدا من النجاح و التوفيق والله سميع عليم مجيب الدعاء.

نتوجه بأسمى و أرقى عبارات الشكر والتقدير إلى أهل الفضل والعطاء و نخص بالذكر الدكتورة المشرفة همامي هادية التي اشرفت على انجاز ومتابعة هذه المذكرة وتحملت عبء هذا العمل بكل ما لديها من نصائح و إرشادات، نسال الله أن يوفقها ويسدد خطاها ويمن عليها برحمته ويعوضها بالخيرات و أجمل الملحظات على ما بذلت من مجهودات و قضائها للأوقات.

I- قائمة الرموز

الاختصار	المقصد
ΔE	الفرق بين كموني نتوء المهبطي والمصعدي
ΔG	الطاقة الحرة لترابط
ε	معامل الامتصاص المولي
α	معامل التحول
$\% I$	نسبة التثبيط المئوي للجذر
A	مساحة سطح المسرى
A_0	الامتصاصية
ACN	الأسيتونتريل
AG	حمض الغاليك
AS	حمض الأسكوربيك
BHA	Buthyl thydroscyl anizole
BHT	Buthyl thydroscyl toluene
C	التركيز
Cat	Catechin
D	معامل الانتشار
DMF	ثنائي ميثيل فورماميد
DMSO	ثنائي ميثيل سلفوكسيد
DNA	الحمض الريبي النووي منقوص الاكسجين
DPPH	ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل
DPV	فولتامتري النبضي التفاضلي
E	الكمون
E_f	الكمون النهائي
E_i	الكمون الإبتدائي
Epa	الكمون المصعدي
Epc	الكمون المهبطي
FRAP	اختبار ارجاع ايون الحديد

HPLC	الكروماتوغرافيا السائلة
Ipa	نتوء تيار الشكل المؤكسد
Ipc	نتوء تيار الشكل المرجع
K	معامل الارتباط
K_{ox}/K_{red}	نسبة ثابت الترابط
Ks	ثابت السرعة
MS	مطيافية الكتلة
Mv	ملي فولط
n	العدد الإجمالي للإلكترونات المتبادلة
NFR	أطياف الفلورسنت
nm	نانو متر
O_2	الأكسجين
$O^{-\cdot}_2$	جذر الاكسجين
Ox	العنصر المؤكسد
PH	درجة الحموضة
Que	Querstine
R	ثابت الغازات المثالية
Red	العنصر المرجع
ROS	الأنواع الأكسجينية النشطة
SWV	فولتامتري الموجه المربعة
T	درجة الحرارة بالكلفن
Toc	Tocopherol
UV/Visible	مطيافية المرئي/والفوق بنفسجي
V	سرعة المسح

فهرس الجداول

الجداول	الصفحة
الجدول (1.III) : نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة المركبات الفينولية المدروسة	54
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 ، N-(فيروسينيل ميثيل)-2, 3, 4 - نتروانيلين .	56
الجدول (3.III): يوضح المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذر DPPH مع حمض الاسكوربيك	58
الجدول (4.III) : قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الاسكوربيك	60
الجدول(5.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذرDPPH و حمض الاسكوربيك	61
الجدول (6.III): قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة مع حمض الاسكوربيك عند سرعات المسح المختلفة.	63
الجدول (7.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الاسكوربيك .	63
الجدول(8.III) :معطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل جذر DPPH مع حمض الغاليك.	64
الجدول (9.III) : قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الغاليك .	66
الجدول(10.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر DPPH حمض الغاليك	67
الجدول (11.III): قيم كثافة التيار للأكسجين بالهيئة الحرة و المرتبطة بجذر DPPH مع حمض الغاليك عند سرعات المسح المختلفة.	68
الجدول (12.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع حمض الغاليك .	69
الجدول (13.III): يوضح المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل جذر DPPH و ألفا طوكوفيرول.	70
الجدول (14.III) : قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لألفا طوكوفيرول.	71
الجدول(15.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر DPPH و ألفا طوكوفيرول.	72
الجدول (16.III): قيم كثافة التيار DPPH بالهيئة الحرة و المرتبطة مع ألفا طوكوفيرول عند سرعات المسح المختلفة.	74
الجدول (17.III) : قيم ثابت الانتشار في حالة الجذر النشط و في حالة ارتباطه مع ألفا طوكوفيرول	75

فهرس الأشكال

الشكل	الصفحة
الشكل(1.I): يوضح الصيغة الكيميائية للمركب BHA وBHT	08
الشكل(2. I): بنية الفيروسان	09
الشكل(3.I): طيف الامتصاص للأشعة المرئية وفوق البنفسجية للفيروسان مذابا في الميثانول	10
الشكل(4.I): طيف الأشعة تحت الحمراء للفيروسين	10
الشكل (5.I): أكسدة عكوسه أحادية الإلكترون للفيروسان	11
الشكل (6.I): منحنى فولطاأمبيرومتري مسجل على مسرى البلاتين في اسيتونتريل	11
الشكل(7.I): أهم تفاعلات الاستبدال للفيروسان	12
الشكل(8.I): بنية مركب فيروسيني مثبط للتآكل	13
الشكل(9.I): بنية المضاد الحيوي فيوسينيل بنسيلين	13
الشكل(10.I): الشكل الحر (المؤكسد) والمرجع للـ DPPH.	15
الشكل(11.I) : منحنى الفولطمتري الحلقي للثنائية (Ox/Red) لانتقال إلكترون واحد	18
الشكل(12.I) : منحنى الفولطامتري الحلقي لنظام عكوس	19
الشكل (13.I): منحنى الفولطامتري الحلقي لنظام غير عكوس.	20
الشكل (14.I) : منحنى الفولطامتري الحلقي لنظام نصف عكوس.	20
الشكل(1.III): التراكيب الرنينية لجزيء DPPH	50
الشكل (2.III) : طيف الامتصاص لجذر DPPH في المجال فوق البنفسجي و المرئي مذاب في الاسيتونتريل .	50
الشكل (3.III) : الفولطاموغرام الحلقي لجذر DPPH (1.0 mM) مذاب في THF	51
الشكل (4.III): تحديد الزمن الـــلازم لاستقرار التفاعل (a) حمض الاسكوربيك (b) حمض الغاليك	52
الشكل (5.III) : تحديد الزمن الـــلازم لاستقرار التفاعل 3FMNA و4FMNA	52
الشكل (6.III) : طيف الامتصاص لـــ DPPH و بعض مضادات الاكسدة الطبيعية.	53
الشكل (7.III) : طيف الامتصاص لـــ DPPH و : الفيتامينC ، الالفا – طوكوفيرول ، Acide Galliq مذابة في الاسيتونتريل و المنحنى الخطي $A_0/(A-A_0)=f(1/C)$	56
الشكل (8.III): الفولطاموغرام الحلقي في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك في ACN/ 0.1M. من (Bu4NPF6) سرعة مسح (100 mV/s)	59
الشكل (9.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك	61
الشكل (10.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH(a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الأسكوربيك (b) مذابين في ACN/ 0.1M من Bu_4NBF_4 بسرعات مسح مختلفة	62
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	63
الشكل (12.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع الـDPPH في وجود تراكيز متزايد من حمض الغاليك من	65

0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s)
الشكل (13.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك . 66
67
الشكل (14.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH(a)و منحنى في وجود (1mM) من حمض الغاليك (b) مذابين في 0.1M /ACN منBu_4NBF_4 بسرعات مسح مختلفة
الشكل (15.III) : المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله DPPH· و في حال وجود (1mM) من حمض الغاليك مذابين في 0.1M /ACN من (Bu_4NBF_4) بسرعات مسح مختلفة 68
الشكل (16.III): الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من الألفا طوكوفيرول في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s) . 70
الشكل (17.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من ألفا طوكوفيرول في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) سرعة مسح (100 mV/s). 72
الشكل (18.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH (a) و منحنى في وجود (1mM) من ألفا طوكوفيرول (b) مذابين في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة . 73
الشكل (19.III) : المنحنى الخطي لـــ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله DPPH و في حال وجود (1mM) من الفا طوكوفيرول مذابين في 0.1M /ACN من (Bu_4NPF_6) بسرعات مسح مختلفة 74

فهرس المعادلات

المعادلة	الصفحة
المعادلة (1.III): تحديد ثابت الترابط K.	48
المعادلة (2.III): طريقة Benesi–Hildebrand لتحديد ثابت الترابط.	48
المعادلة (3.III): معادلة Gibbs لحساب الطاقة الحرة لترابط ΔG.	49
المعادلة (4.III): حساب التيار.	49
المعادلة (5.III): حساب التيار لـ (Randels) و (Sevick).	49
المعادلة (6.III): الآلية العامة لاقتناص جذر الـ DPPH .	51
المعادلة (7.III) : الاكسدة و الارجاع لـجذر الـ DPPH .	51
المعادلة (8.III): تحديد نسبة الـ DPPH المتبقية بعد التفاعل.	52
المعادلة(9.III) : معادلة تحديد النسبة المئوية لتثبيط جذر الـ DPPH بعد التفاعل	54
المعادلة (10.III) : الاحتماليات الممكنة لتثبيط جذر الـ DPPH بواسطة حمض الاسكوربيك	57

فهرس محتويات المذكرة

العنوان	الصفحة
مقدمة عامة	02
الدراسة النظرية	
الفصل الاول: الفعالية المضادة للأكسدة وطرق تقديرها	
I.1. التأكسد	06
I.2. الإجهاد التأكسدي	06
I.3. الجذور الحرة	06
I.1.3.تعريفها	06
I.2.3.أنواع الجذور الحرة	06
I.1.2.3حسب عدد الالكترونات	06
I.2.2.3.حسب الاستقرار	06
I.3.3. آلية تشكل الجذور الحرة	06
I.4.3.متابعة حركية الجذور الحرة	06
I.4.تفاعلات الأكسدة في النظام البيولوجي	07
I.5. مضادات الأكسدة	07
I.1.5. تعريفها	07
I.2.5.مصادرها	07
I.1.2.5.الكيمياء العضو معدنية	08
I.2.2.5.بنية الفيروسان	09
I.3.2.5.خصائص الفيروسان	09
I..1.3.2.5.خصائص فيزيائية	09
I.2.3.2.5.خصائص الطيفية	09
I.3.3.2.5.خصائص الكهروكيميائية	10
I.4.2.5. أهم تفاعلات الفيروسان	11
I.5.2.5. بعض استخدامات الفيروسان ومشتقاته	12
I.3.5.الية تفاعل المواد المضادة للأكسدة	13
I.4.5.طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	15
I.1.4.5.الطرق الطيفة	15
I..1.1.4.5.مطيافية الأشعة المرئية والفوق بنفسجية	16
I.2.4.5.الطرق الكهروكيميائية	16
I.1.2.4.5.تقنية الفولطا متري الحلقي	17
I.2.2.4.5.الخصائص الحلقي المميزة لمختلف الانظمة الفولطاأمبيرومتري	18
I.3.2.4.5.مجالات استخدام تقنيات الفولطاامبيرومتري	20

I.4.2.4.5.تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة بتقنية الحلقية	**21**
الفصل الثاني: الدراسات السابقة	
II.1.الدراسة الأولى : Development of spectrophotometrical assay for the study of the interaction of antioxidant standards with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radicals	**26**
II.2.الدراسة الثانية : Development of cyclic voltammetric method for the study of the interaction of antioxidant standards with superoxide anion radicals case of α-tocopherol	**26**
II.3.الدراسة الثالثة : spectrophotometrical study of antioxidant standards interacting with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical	**27**
II.4.الدراسة الرابعة : determination of binding parameters of 2-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile and 3-(ferrocenylmethylamino)benzonitrile with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical	**28**
II.5.الدراسة الخامسة : chemical composition and antioxidant activity of apis mellifera bee pollen from northwest algeria	**29**
II.6.الدراسة السادسة : Antioxidant activity and superoxide anion radical interaction with 2 (ferrocenylmethylamino) benzonitrile and 3 (ferrocenylmethylamino) benzonitrile	**29**
II.7.الدراسة السابعة : Evaluation of total antioxidant capacity and free radicals scavenging of 2 and 4- Nitrophenylferrocene by electrochemical and chemical assays	**30**
II.8.الدراسة الثامنة : Validation of a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids	**30**
II.9.الدراسةالتاسعة : Activities of N-ferrocenylmethyl-2- and -3-nitroaniline and Determination of their Binding Parameters with Superoxide Anio Radicals	**31**
II.10.الدراسة العاشرة : In vitro assays of the antioxidant activities of ferrocene derivatives bearing Amine, amide or hydrazine groups	**32**
II.11.الدراسة الحادية عشر: spectroscopic and electrochemical studies on the binding mechanism of dna with an anthraquinone biological dye , nuclear fast nuclear fast red	**33**
II.12.الدراسة الثانية عشر : synthesis of ferrocene-based polythiophenes and their application	**34**
II.13.الدراسة الثالثة عشر: the use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity	**34**
II.14.الدراسة الرابعة عشر: cyclic voltammetric studies of ferrocene in nonaqueous solvents in the temperature range from 248 .15 to 298.15k	**35**

II.15.الدراسة الخامسة عشر: voltammetric determination of antioxidant character in berberis lycium royel , zanthoxylum armatum and morus nigra linn plants	**35**
II.16.الدراسة السادسة عشر : Voltammetric determination of antioxidant character in Berberis	**36**
II.17.الدراسة السابعة عشر : Evaluation of the antioxidant activity of potatoes by radical scavenging activity Using O_2^- and DPPH	**37**
II.18.الدراسة الثامنة عشر: phenolic constituents , antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic(allium roseum var odoratissimum)	**37**
II.19.الدراسة التاسعة عشر : synthesis, chemical characterization , DNA binding and antioxidant studies of ferrocene incorporated selenoure	**38**
II.20.الدراسة العشرون: docking of ethanamine schiff base imines & metal(II) complexes cytotoxicity & DNA interaction studie	**39**
II.21.الدراسة واحد وعشرون: electrochemical DNA biosensors-useful diagnostic tools for the detection of damage to dna caused by organic xenobiotic (a review)	**39**
II.22.الدراسة ثانية وعشرون: Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with ds DNA by electrochemical and spectroscopic techniques .	**40**
II.23.الدراسة الثالثة والعشرون: naked eye dna detection: synthesis, characterization and dna binding studies of a novel azo-guanidine	**41**
الدراسة التجريبية	
الفصل الثالث : طرق العمل/ النتائج و مناقشتها	
III.1.تصنيع المشتقات الفيروسينية	**46**
III.1.1.الأجهزة المستعملة	**46**
III.1.2. المتفاعلات و المواد المستعملة	**46**
III.1.3. الشروط العامة لإجراء التفاعلات	**46**
III.2. تقدير الفاعلية البيولوجية :	**46**
III.2.1.تقدير الفعالية المضادة للاكسدة :	**47**
III.2.1.1 تقدير الفعالية المضادة للاكسدة "اختبار DPPH ":	**47**
III.2.1.2. المعاملات الترموديناميكية المدروسة:	**47**
III.2.1.2.1. ثابت الترابط k:	**47**
III.2.1.2.2. الطاقة الحرة الترابط ΔG :	**48**
III.2.1.2.3. معامل الانتشارD	**49**
III.2.1.3. تقدير الفعالية المضادة لجذر DPPH بواسطة مطيافية الأشعة الفوق البنفسجية والمرئية	**50**

III.1.3.1.2. دراسة التداخل DPPH – المركبات الفينولية المدروسة	**53**
III.2.2. تقدير الفعالية المضادة لجذر DPPH بواسطة تقنية الفولطامبيري الحلقي:	**57**
III.1.2.2. دراسة التداخل DPPH- مضاد الاكسدة :	**58**
III.1.1.2.2 دراسة التداخل DPPH-حمض الأسكوربيك:	**58**
III.2.1.2.2 دراسة التداخل DPPH-حمض الغاليك:	**64**
III.3.1.2.2 دراسة التداخل DPPH-ألفا طوكوفيرول:	**69**
III.4.1.2.2 مناقشة ومقارنة النتائج	**76**
الخاتمة العامة	**80**

المقدمة العامة

مقدمة عامة :

ترتبط وظائف الجسم بتفاعلات الأكسدة والإرجاع التي تؤدي إلى إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة أثناء تعرض الجسم للإصابة , فالتوزان بين إنتاج هذه الجزيئات والتخلص منها يضمن الحفاظ على الوظائف الفيزيولوجية الطبيعية للجسم , حيث يمكن حماية الجسم من أضرار هذه الجزيئات عن طريق مضادات الأكسدة والتي تستعمل بكثرة كإضافات في الأغذية أو أشكال صيدلانية مختلفة , تؤثر مضادات الأكسدة من خلال تثبيط الانزيمات المتدخلة و/أو إزاحة الجذور الحرة الناتجة واستخلاب المعادن وتحفيز الأنظمة الانزيمية المضادة للأكسدة مؤدية بذلك إلى التخفيض من الأضرار الناتجة . [1]

والجدير بالذكر أن الجذور الحرة تتشكل باستمرار في العضوية بمختلف الآليات الفسيولوجية سواء كانت إنزيمية خاصة على مستوى المصورات الحيوية , كريات الدم البيضاء أو لا إنزيمية حيث أنها ضرورية للعضوية بجرعات معقولة لكونها تساهم في مراقبة انتقال الإشارات الخلوية , غير أن الإنتاج الفائض وتراكم الجذور يؤدي إلى تطوير العديد من الأمراض خاصة السرطان , مرض القلب , داء السكري وذلك باستخدام اختبارات مثل اختبار DPPH واختبار FRAP , خاصة بعد الاكتشافات التي توصلت إلى أن الجذور الحرة والمتمثلة في أنواع الاكسجين النشط (ROS) هي المسؤولة عن تلف المواد الغذائية , مما تطلب البحث عن طرق تحليلية جديدة دقيقة وسهلة للتقدير السريع لمضادات الأكسدة من أجل ذلك توسعت دائرة الأبحاث لتشمل طرق وتقنيات مثل الطرق الكهروكيميائية . [2] [3]

قمنا على ضوء ذلك بهذا العمل الذي يهدف إلى تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الطبيعية و الاصطناعية وتحديد معاملات الرابطة لجذر DPPH " اعتمادا الى الطريقة الطيفية و الكهروكيميائية باعتبارها من أحسن الطرق الكهروكيميائية الحديثة لما تميزت به من مصداقية ودقة في العمل , ذلك بناءا على دراسات سابقة التي أكدت أن أغلب المشتقات الفيروسينية لها قدرة كمضادات للأكسدة و مقارنتها بمجموعة من المركبات القياسية . [4]

حيث قسمت هذه الدراسة إلى جزئين :

الجزء النظري : ضم هذا الجزء إلى فصلين هما

- الفصل الأول : الفعالية المضادة للأكسدة وطرق تقديرها
- الفصل الثاني : تطرقنا فيه الى الدراسات السابقة حول الموضوع

الجزء العملي : ويضم الفصل الثالث : احتوى الى طرق العمل , نتائج و مناقشتها.

مراجع المقدمة العامة

المراجع الاجنبية

[2] B.J.B. Dodet, La chasse aux radicaux libres oxygénés, (1991) 23-34.

[3] K.H. Al-Gubory, P.A. Fowler, C.J.T.i.j.o.b. Garrel, c. biology, The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes, 42 (2010) 1634-1650.

[4] A.S. Hassan, T.S.J.J.A.P.S. Hafez, Antimicrobial activities of ferrocenyl complexes: a review, 8 (2018) 156-165.

[5] S. Benabdesselam, T.J.J.o.C. Lanez, P. Research, Evaluation of total antioxidant capacity and free radicals scavenging of 2 and 4-Nitrophenylferrocene by electrochemical and chemical assays, 7 (2015) 825-831.

المراجع العربية

[1] ب. ســـلامة, ع. الرحيم, النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق*Hertia cheirifolia L.* , جامعة فرحات عباس سطيف (2012)

الفصل الأول

الفعالية المضادة للأكسدة وطرق تقديرها

I.1.الأكســـدة :

تعرف الأكسدة بأنها عملية فقدان الإلكترونات من قبل الذرات، أو الأيونات، تنتج عنها زيادة في الشحنة الموجبة، أو نقصان في الشحنة السالبة.

I.2.الإجهاد التأكسدي :

يُعرف الإجهاد التأكسدي(oxidative stress) في النظام البيولوجي على أنه اختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة، هذا الاختلال راجع إلى الإنتاج المفرط لمولدات الأكسدة أو نقص في مضادات الأكسدة. [1]

I.3.الجذور الحرة:

I.1.3.تعريفها : هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية متعادلة مشحونة بشحنة سالبة أو شحنة موجبة ،تحتوي في تركيبها الإلكتروني على إلكترون واحد غير مزدوج أو أكثر ووجود إلكترون حر يجعل هذه الأنواع غير مستقرة ،وذلك باكتساب إلكترون أو فقدانه ويؤدي هذا التفاعل إلى ظهور مركبات جديدة وسيطيه شديدة الفعالية وتنتهي بنهايتها . [2, 3]

I.2.3. أنواع الجذور الحرة :

I.1.2.3. حسب عدد الإلكترونات:

- ✓ **الأحادية :** هي تلك التي تحتوي على الكترون أحادي ومتعادل الشحنة مثل :

درة الهيدروجين (H•) والنيتروجين (N•) وجدور المثيل (C•H3).

- ✓ **الثنائية:** تحتوي على إلكترونين أو أكثر غير مزدوج ومتعادل مثل:

درة الأكسجين (:o:) وجدور الميثيلين($CH_2^{\bullet\bullet}$) . [4]

I.2.2.3. حسب الاستقرار :

- ✓ **الجدور الحرة الغير مستقرة :** لها أعمار حياة قصيرة جدا تتراوح إلى المايكرو ثانية أو أقل وتصل حتى البيكوثانية (10^{-12} ثانية) غير مستقرة في الظروف الاعتيادية مثل الهيدروجين، الكلور، الفلور و الجذور التي لها وزن جزيئي منخفض .
- ✓ **الجدور الحرة المستقرة :** وهي التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو الدقائق أو الساعات و حتى بالأيام مثل *DPPH*. **[5,6]**

I.3.3.آلية تشكل الجذور الحرة:

الجذور الحرة يمكن أن تتشكل كما يلي:

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

✓ إضافة إلكترون منفرد لجزيء طبيعي

4.3.I.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، و لكن أدق هذه الطرق هي قياس تغير كثافة الضوء الممتص بدلالة الزمن بواسطة أجهزة قياس أطياف الأشعة فوق البنفسجة –المرئية.

4.I. تفاعلات الأكسدة في النظام البيولوجي:

الأكسجين هو العنصر الأساسي للخلايا التي تتم فيها عملية الاحتراق وهي عبارة عن تفاعل جذري 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 كالحركة, النمو, الإفرازات والامتصاص.

إن التأثيرات التي تحدثها الجذور الحرة على العديد من الجزيئات البيولوجية يمكن أن تؤدي إلى تغيرات في شكل وظيفة ونمو الخلية . [7]

5.I. مضادات الأكسدة:

1.5.I. تعريفها :

هي عناصر ومركبات تعمل كنظام دفاعي ضد الضغط التي تسببه ذرات الأكسجين وإبطاء عملية الأكسدة ،وتعمل مضادات الأكسدة كمانحات للهيدروجين أو مستقبلات للجدور الحرة وعليه فإن الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر تفاعل السلسلة للأكسدة الذاتية ودلك بالتفاعل مع الجذور. [8،9،10]

2.5.I. مصادر مضادات الأكسدة:

تصنف مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى صنفين هي:

مضادات الأكسدة الطبيعية:

عند الحالة الفيزيولوجية العادية فإن تركيز الجذور الحرة مثل :

$HO^{\bullet}$ ، $HOO^{\bullet}$، $O_2^{\bullet\bullet}$

يكون مراقب من طرف الخلايا التي تستعمل العديد من الاستراتيجيات المضادة للأكسدة ,وعليه فإن مضادات الأكسدة الطبيعية تحمي الجسم من الجذور الحرة وذلك باستعمال وسائل دفاع طبيعية ذاتية داخلية مثل إنزيمات وعوامل مضادة للأكسدة والتي تستخرج من الغذاء (مضادات خارجية) كالفيتامين *c* (*Acide Ascorbique*).

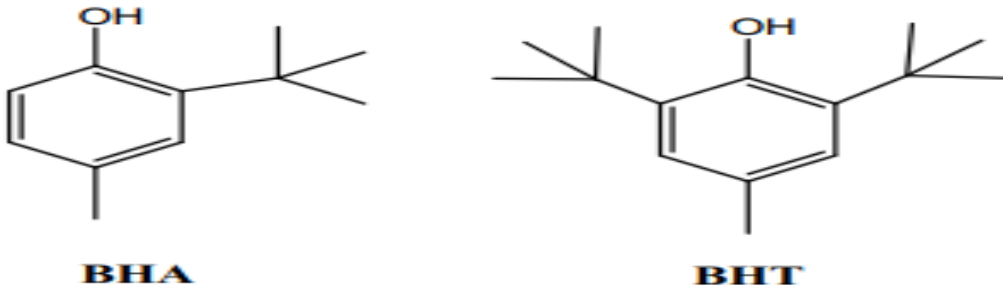
مضادات الأكسدة

المصنعة:

تستخدم مضادات الأكسدة المصنعة على نطاق واسع كمضافات غذائية نظرا لأدائها العالي وذلك لتأكسدها قبل غيرها مثل :

BHA : Butythdroscyamisole

BHT : Butythdroscytoluene



الشكل (1.I) : يوضح الصيغة الكيميائية للمركب BHA وBHT .

هذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية, بحيث أنها فعالة ومنخفضة التكلفة ومؤخرا زاد الاهتمام بمضادات الأكسدة المصنعة لأن هذه المغذيات تعتبر علاجية ووقائية. [11]

وفي دراستنا هذه سنقوم بدراسة مشتقات الفيروسان لذا سنفصل فيها قليلا:

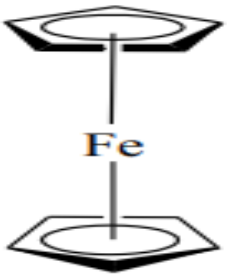
1.2.5.I.الكيمياء العضو معدنية:

في عام 1853 و بعد العديد من الدراسات والجهود المبتذلة توصل الباحث الإنجليزي فرانكلاند إلى أول اكتشاف حول نظرية التكافؤ في المركبات العضوية المعدنية، و ذلك بعدما اقترح أن كل معدن يملك استطاعة اتحادية محددة، اعتمادا على تعريف المركبات العضوية المعدنية على أنها الجزيئات التي تكون فيها رابطة واحدة على الأقل بين معدن وكربون موجود في زمرة عضوية، و من هذا المنطلق توالت الأبحاث حتى منتصف القرن العشرين لتصفر عن مركب الفيروسان، وهذا المركب الذي أسهم إسهاما

كبيرا في فهم طبيعة الرابطةC .M، وقد ساعدت الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للفيروسان على تصنيع مشتقات أخرى ذات أهمية بيولوجية وصناعية عظمى .[12]

I.2.2.5. بنية الفيروسان:

الفيروسان (2)هو مركب عضوي معدني صيغته العامة هي $Fe(C5H5)_2$ مكون من حلقتي بنتان (C5H5) متواضعتان بالتوازي أحداهما فوق الأخرى توسطهم ذرة الحديد، لذلك أطلق على هذا الشكل اسم السندويتش. يتبلور الفيروسان في درجة حرارة ملائمة بحيث يأخذ اللون البرتقالي المصفر وله رائحة الكافور، له الإمكانية في أن يتحول إلى أيون فيروسينيوم في المحاليل الحمضية بوجود غاز ثنائي أكسجين. كيميائيا، يعتبر الفيروسان مستقر ولا يتفاعل مع الأحماض والقواعد. [13]



(2)

الشكل (I.2): بنية الفيروسان.

I.2.2.5.3.خصائص الفيروسان

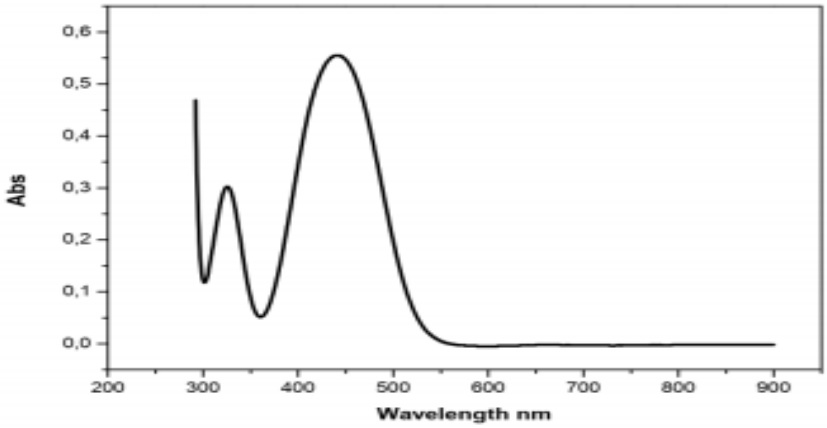
I.2.2.5.1.3.الخصائص الفيزيائية:

الفيروسان هو عبارة عن مادة بلورية صلبة, حيث ينصهر في درجة حرارة محصورة بين174/173 ,ويتم غليانه عند درجة حرارة 249, ذو كتلة مولية 186.04مول/غرام, وغير قابل للتفكك عند درجات حرارة أقل من 400.

تقدر ذوبانية الفيروسان في الماء عند درجة 21 ب 0.1 ميلغرام/مليلتر، وفي تقدر ب 100مول/غرام عند درجة حرارة 19.5، إضافة إلى ذلك فهو في معظم المذيبات العضوية مثل الإيثر والبنزن. [13]

I.2.2.5.2.3.الخصائص الطيفية:

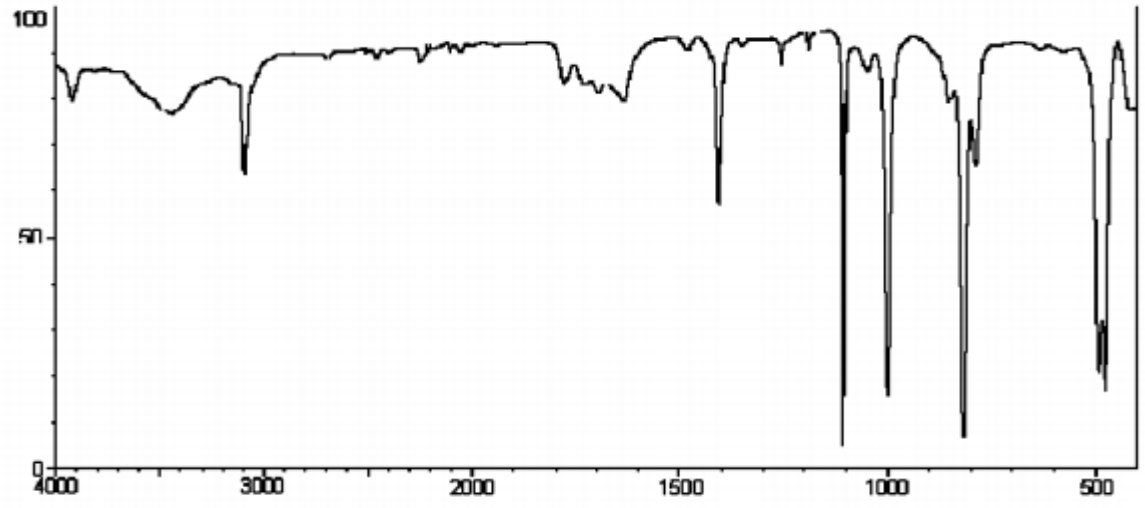
الطيف الإلكتروني للفيروسين مذاب في الميثانول موضح في الشكل الآتي:



الشكل(3.I): طيف الامتصاص للأشعة المرئية وفوق البنفسجية للفيروسان مذابا في الميثانول.

من خلال الطيف الإلكتروني للفيروسين نلاحظ وجود قيمتين واضحتين للطول الموجي عند 441 ومنه نوع الانتقال ($\pi \rightarrow \pi^*$) .

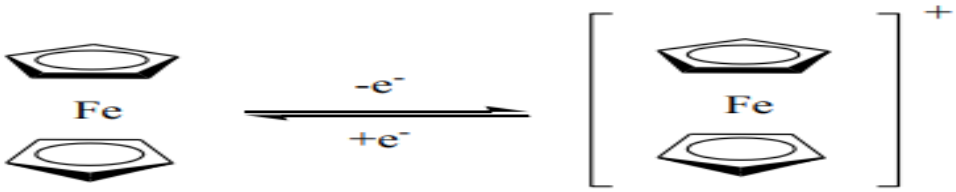
يعتبر التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء للفيروسين بسيطا نسبيا بسبب تركيبته المتماثلة. لديه شريط امتصاص في 3075 سم−1 أي ما يعادل استطالة الرابطة C−H العطرية .لا يوجد سوى أربعة نطاقات ظاهرة اثنان في 811 و 1002 سم−1 يعادلان الاهتزاز الالتوائية لـ C−H ، والآخر عند 1108 $سم^{-1}$ يعادل الاهتزاز غير المتماثل لحلقة بنتاديل. إن نطاق الامتصاص عند 1411 سم−1 مكافئ لعمليات الاهتزاز غير المتماثلة لـ C−C للسيكلوبنتادين غير المستبدل .[14]



الشكل(4.I) : طيف الأشعة تحت الحمراء للفيروسين.

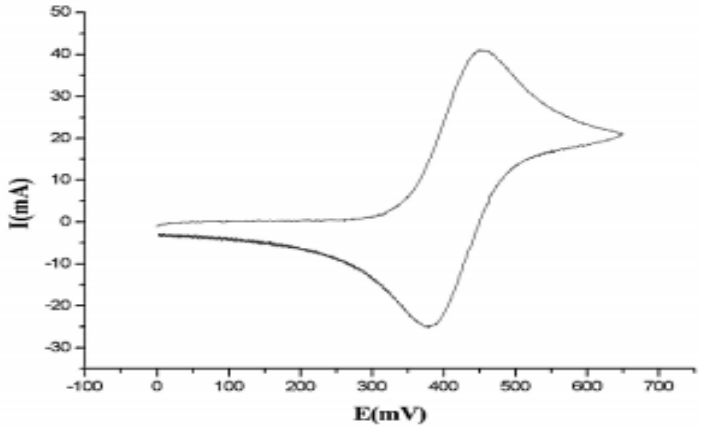
3.3.2.5.I. الخصائص الكهروكيميائية:

أجريت العديد من الدراسات والتحاليل بالطرق الكهروكيميائية على خصائص الأكسدة الإرجاعية للفيروسان بشكل عام، إن سلوك الفيروسان المهبطي في وسط عضوي مثل اسيتونتريل وDMF يكون تفاعل إرجاع عكوس للإلكترون مما يؤدي إلى تشكل أيون فيروسينيوم.



الشكل(I.5): أكسدة عكوسه أحادية الإلكترون للفيروسان.

انعكاسية تفاعل الأكسدة الإرجاعية تظهر بواسطة الفولطاأمبيرومتري الحلقي، المعطيات الكهروكيميائية تستخرج من منحنى فولطاأمبيرومتري الحلقي للفيروسان، وتوضح عملية الأكسدة الإرجاعية بشكل سريع وعكوس، أحادي الإلكترون.[13]

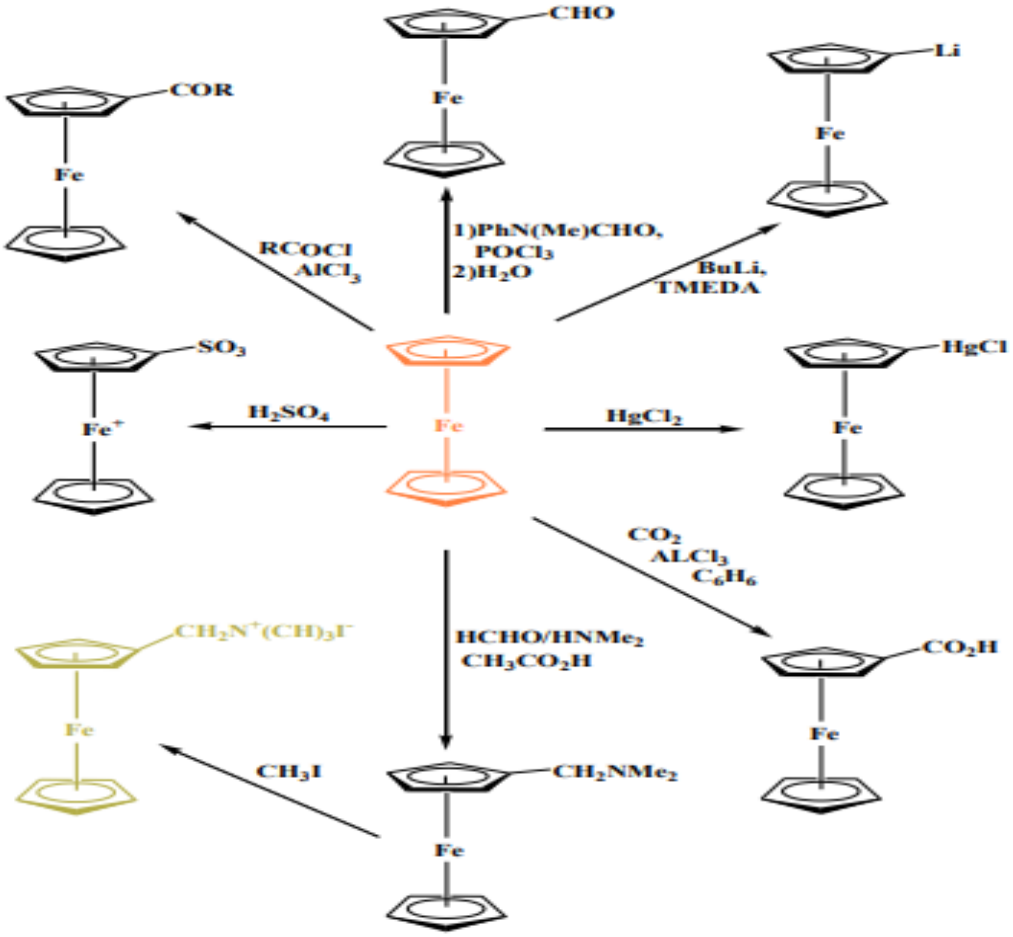


الشكل(I.6): منحنى فولطاأمبيرومتري مسجل على مسرى البلاتين في اسيتونتريل.

I.4.2.5.أهم تفاعلات الفيروسان:

تعتبر تفاعلات الاستبدال من أهم تفاعلات الفيروسان حيث أن الفيروسينات المستبدلة يمكن تحضيرها بطرق مباشرة أو غير مباشرة، فالفيروسان هو مركب من أجل تحضير مختلف المشتقات الفيروسينية في حالة التحضير الغير مباشر، أما الاصطناع المباشر فالفيروسان المستبدل يحضر بتفاعلات حلقي بنتاديل المستبدلة مع الحديد بطرق بسيطة مثل تفاعلات كواشف Grinard المركبات 6العضو معدنية، كواشف الليثيوم أو الصوديوم. [11]

يعتبر يوديد فيروسنيل ميثيل أمنيوم النواة الأساسية لتفاعلات الاستبدال حيث أنه سهل الاستبدال النيكليوفيلي من بينها أيون الألكوسيد، سيانير، كواشف Grinard كواشف كربونيك, الأمينات [15] [17] [18] [19] .



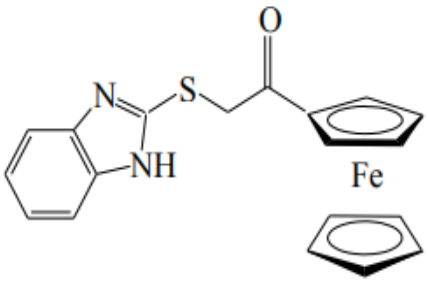
الشكل(I.7): أهم تفاعلات الاستبدال للفيروسان.

I.5.2.5. بعض استخدامات الفيروسان و مشتقاته:

يعتبر الفيروسان أحد أهم المركبات العضوية المعدنية، حيث جذب هذا المركب اهتمام العديد من الباحثين والكيميائيين لما تملكه بنيته الفريدة من خصائص مثالية، وهذا ما أدى إلى تواصل البحوث والدراسات حول الفيروسان و مشتقاته وما حفزهم على ذلك نجاح تطبيقاته في مجالات شتى، فالفيروسان له عدة استخدامات منذ أن تم اكتشافه، نلخص بعضها في ما يلي:

يستعمل الفيروسان و مشتقاته كمثبطات للتآكل مثل:

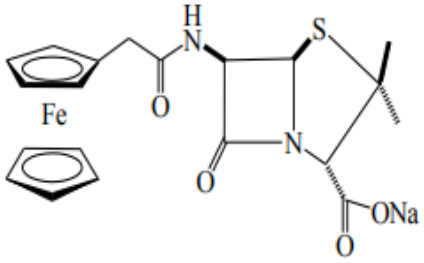
2-benzimidazolylthioacetylferrocene



الشكل(8.I): بنية مركب فيروسيني مثبط للتآكل.

أستخدم الفيروسان في التطبيقات الطبية، حيث ثبت حسب دراسات علمية وبحثية سابقة أن لمشتقات الفيروسات فاعلية في الأجسام الحية ضد أمراض متعددة مثل السرطان والملاريا. كما تم استخدامه على شكل مضاد حيوي حيث تم تصنيع سلسة من المضادات الحيوية مترافقة بالفيروسان مثل

(Ferrocenyl–penicillin) فيروسينيل بنسيلين



الشكل(9.I): بنية المضاد الحيوي فيوسينيل بنسيلين.

- بعض مشتقات الفيروسان تستعمل كمبيد للحشرات.

- يستعمل الفيروسان في معالجة الغلوكوز في الدم وذلك لمراقبة الداء السكري، حيث يتم استعمال شاردة الفيرونيوم وشاردة 1–1– ثنائي ميثيل الفيروسنيوم في تصنيع أنزيم غلوكوز أكسيداز الذي بدوره يقدر نسبة الغلوكوز في الدم.

- تستعمل بعض مشتقات الفيروسان في حماية الطبقات الرقيقة للأقطاب الكهروكيميائية الضوئية.

-الفيروسان يستعمل كمادة تضاف في مختلف أنواع الاحتراق لدوره المعتبر في تخفيض الدخان و مراقبة التلوث. [13]

I.3.5. آلية تفاعل المواد المضادة للأكسدة:

المراحل الأساسية للأكسدة عن طريق الجذور الحرة تظهر على شكل سلسلة التفاعلات المتمثلة في المرحلة: الابتدائية، الانتشار، التفرع، والمرحلة النهائية. وتتم هذه التفاعلات في عوامل خارجية مثل الضوء والحرارة أو المواد الكيميائية. [15،16]

✓ **المرحلة الابتدائية:**

حيث LH يمثل جزئ المادة الخاضعة للأكسدة على سبيل المثال دهن ،مع $R^{\bullet}$ جذر بدء التأكسد ، أكسدة الدهون تولد بشدة المفاعل الاليلي الجذري ($L^{\bullet}$) الذي يمكن أن يتفاعل بسرعة مع الأكسجين لتشكيل دهن ذري بيروكسيلي ($LOO^{\bullet}$).

✓ **مرحلة الانتشار:**

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

جذور البيروكسيل هي ناقلات لسلسة التفاعل ، وكذلك يمكن زيادة أكسدة الدهون ، وإنتاج دهن Hydroperoxide هيدروبيروكسيد (LOOH) ، والذي بدوره يقوم بكسر لمجموعة واسعة من المركبات ، بما في ذلك الكحول ، والكيتونات والهيدروكربونات ، والجذور ، بما في ذلك جذر ($LO^{\bullet}$) alkoxyl.

✓ **مرحلة التفرع:**

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

كسر دهن الهيدروبيروكسيد hydroperoxides غالبا ما يشمل انتقال محفز الأيونات المعدنية في التفاعلات المماثلة لتلك التي تتضمن بيروكسيد الهيدروجين ، الذي ينتج الدهون الجذرية alkoxyl و peroxyl .

✓ **المرحلة النهائية:**

نهاية التفاعل تتضمن اتحاد مجموعة من الجذور الحرة، وتنتج بشكل غير جذري.

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

المواد المضادة للأكسدة الابتدائية AH ، عندما تكون موجودة بكميات قليلة ، قد تؤخر أو تمنع بدء الخطوة نتيجة لتفاعلها مع دهن جذري أو تتحول دون انتشار لتفاعلها إلى جذور alkoxyl أو peroxyl.

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

$$LO^{\bullet} + AH \rightarrow A^{\bullet} + LOH$$

المواد المضادة للأكسدة الثانوية وقائية أو هي المركبات التي تؤخر معدل الأكسدة ، ويمكن تحقيق هذا في العديد من الطرق التي تعمل على تثبيط الأوكسجين للمادة الخاضعة للأكسدة .

I.4.5. طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة :

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة هي اختبار العلاقة بين مضادات الأكسدة لقياس قدرة المستخلص أو مركب لتثبيط الجذر الحر، وقد وضعت في الآونة الأخيرة العديد من الطرق التحليلية لقياس قدرة مضادات الأكسدة ، حيث تختلف في آلية توليد أنواع الجذور والجزيئات المستهدفة ، تقدر هذه الأخيرة بعدة طرق نذكر منها :

I.1.4.5.الطرق الطيفية:

التقنيات الطيفية تعتمد على التفاعلات الجذرية ، تفاعل الجذر مع الكاتيون ، أو المعقدات مع الجزيئات المضادة للأكسدة والتي لها القدرة على منح ذرة هيدروجين ومن أهمها : اختبار(DPPH)، وتعتمد هذه الطرق على التلوين ونزع التلوين في طول موجي معين . [17،18]

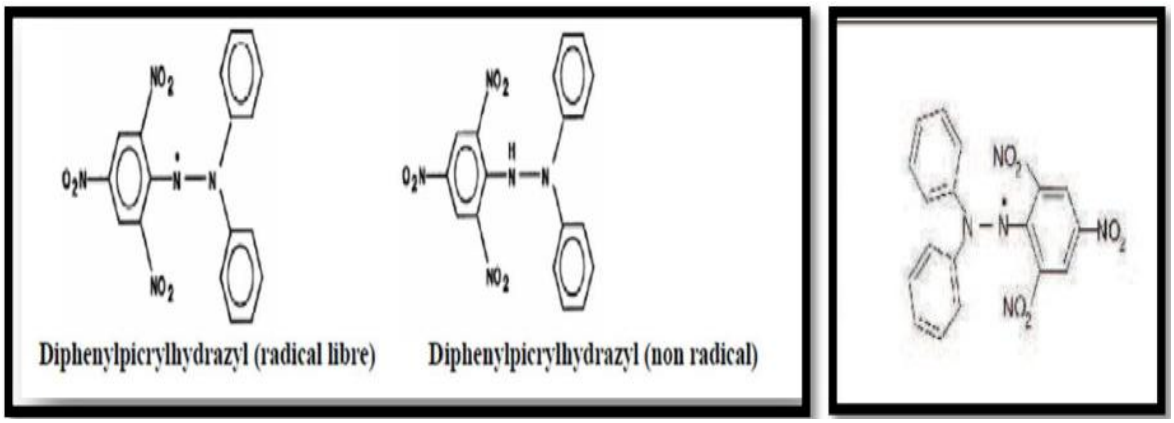
وفي دراستنا هذه سنقوم باختبار (DPPH) لذا سنفصل فيه قليلا:

الجذر $DP^{\bullet}$:

المركب الكيميائي 2،2–Picryldiphenyl1–1–hydrazyle أول جذر حر أستخدم لدراسة علاقة النشاط التأكسدي للمركبات الفينولية.

إختبار الجذرDPPH

يعتبر الطريقة الأكثر استعمالا لإختبار الفعالية المضادة للأكسدة و هذا بسبب استقراره وبساطة تفاعله الذي ينطوي بين الجذر و المضاد للأكسدة ، حيث عند إرجاع الجذر يتغير لونه من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر، تقرأ عند الطول الموجي من (520nm–515nm) . [19]



الشكل (I.10) : الشكل الحر (المؤكسد) والمرجع لـ DPPH.

✓ **آلية تفاعل جذر DPPH مع مضادات الأكسدة :**

يستعمل جذر DPPH لتقييم النشاط المضادة للأكسدة، يرجع دور مضادات الأكسدة في اقتناص جذر DPPH إلى قدرتها على إعطاء ذرة هيدروجين، إذ يعتبر **DPPH** جذر حر قادر على قبول إلكترون أو ذرة هيدروجين ليصبح جزيئه مستقرة. [11]

إن اقتناص الجذور الحرة من طرف مضادات الأكسدة تعتمد على آليتين للتفاعل:

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

الآلية الثانية: تعتمد على تحرير إلكترون (حركية بطيئة لمشتقات العضوية).

I.1.1.4.5. مطيافية الأشعة المرئية و الفوق بنفسجية:

مطيافية الأشعة فوق بنفسجية و المرئية و هي نوع من أنواع المطيافيات والتي تصنف تحت مطيافية الامتصاص، والذي يحدث في مجال الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، هذا يعني أن هذه المطيافية تستخدم الضوء في المجالين المرئي وفوق البنفسجية، حيث يتم امتصاص بواسطة جزيئات المادة في المحلول, يتناسب هذا الامتصاص طردا مع التركيز حسب قانون بيرلامبرت : $\boldsymbol{A = \varepsilon . I . C}$ لكل مادة كيميائية طول موجي تمتص عنده الأشعة في المجال المرئي ، حيث تحدث انتقالات إلكترونية من الحالة الأساسية إلى الحالة المثارة نتيجة تأثير الإشعاع الكهرومغناطيسي. [20]

I.2.4.5.الطريقة الكهروكيميائية :

التقنيات الكهروكيميائية هي إحدى الطرق التحليلية الأكثر شيوعا ،التي طبقت لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة وتتميز بحساسية وانتقائية عاليتين لدراسة التفاعلات التي تشمل انتقال الإلكترونات وتسمح بالحصول على عناصر مؤكسدة أو مرجعة دون إضافة عامل مؤكسد أو مرجع .

إذ تعتمد على القياسات الكهروكيميائية التي تشمل التيار والمقاومة والجهد ، ومن التقنيات المستخدمة في التحليل الكهروكيميائي تقنية الامبيرومترية ، البيامبيرومترية ، والتقنيات الفولطامترية التي تعتمد على قياس تدفق تيار الانتشار الناتج من تفاعل الأكسدة أو الإرجاع للعناصر المراد تحليلها . [11]

من بين طرق نقل المادة التي تسمح بدراسة حركة مركب كيميائي في المحلول هي ثلاث :

الحمـــــــــل الحـــــــــراري Convection:

تتم حركة الجزيئات حراريا بمعزل عن عملية تفريغ الشحنة بسبب وجود درجة حرارة أو كثافة متغيرة ،في هذه الحالة حركة جزيئات (المذيب أو المذاب) تكون مع الحركة الأكثر أو الأقل اضطرابا، يجب أن تكون طبقـــة المحلـــول قريبـــة مـــن ســـطح قطـــب العمـــل لتصـــبح أقـــل اضـــطرابا.

الهجرة Migration :

الهجرة هي الحركة الناتجة من المجال الكهربائي الذي تولده قوى التجاذب بين القطب وأي شاردة لديها شحنة مضادة ، أيضا بسبب قوى التنافر بين الشوارد التي تحمل نفس الشحنة على سطح القطب .

الانتشار Diffusion :

الانتشار هو حركة تلقائية أو طبيعية للمركبات الكيميائية التي يحدث ليا تغير في التركيز، الذي يعبر عن الحالة التي تكون فيها منطقة من المحلول أقل تركيز من الأخرى ، خلال عملية تفريغ الشحنة ، يصبح المحلول القريب من القطب أقل تركيز بالنسبة للمحلول البعيد عن القطب ، ويصبح التركيز في الخلية غير منتظم ، زيادة الفرق في التركيز يتطلب مركب فعال كهربائيا آخر في محاول غير مستقر. تتناسب سرعة الانتشار طرديا مع الفرق في التركيز للمادة الفعالة كهربائيا في المحلول.

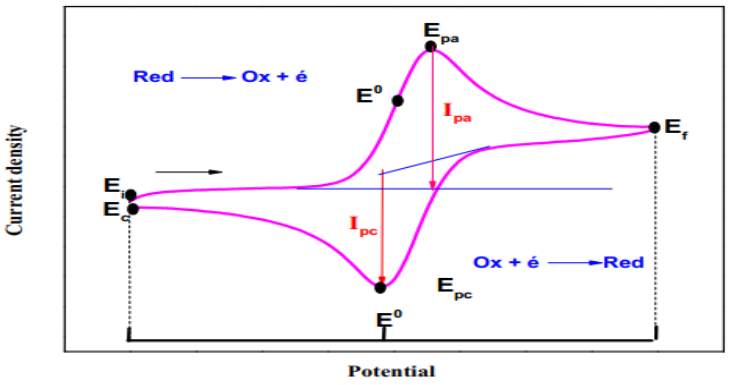
1.2.4.5.I. تقنية الفولطامتري الحلقي :

إن الطريقة الفولطاأمبيرومترية الحلقي هي واحدة من طرق التحليل الكهروكيميائي، وفيها يطبق فرق الكمون المتغير على مسرى العمل بالنسبة لمسرى المرجعي، تسمح هذه الطريقة على الخصوص بتحديد الشروط التي تنجز فيها تفاعل الأكسدة والإرجاع ، وكذا تقدير درجة عكوسيه جملة (أكسدة–إرجاع)،كما تسمح أحيانا بتحديد آلية التفاعل عند المسرى خاصة عندما تشترك تفاعلات كيميائية في نقل الإلكترونات وكذلك تحديد ثوابت السرعة للتفاعلات الكهروكيميائية السريعة .

تعتمد تقنية الفولط متري الحلقي على قياس التيار بدلالة فرق الكمون المتغير المطبق بين مسرى العمل والمسرى المرجعي, هذا الكمون يتغير بصفة خطية بين قيمتين حديتين Ei (كمون ابتدائي)وEf (كمون نهائي).

يتم مسح الكمونات في هذه الطريقة بصورة حلقية, فبعد إجراء المسح مثلا باتجاه فرق الكمونات المصعدية وإنجاز تفاعل أكسدة, يتم عكس اتجاه تغيرات فرق الكمون لإجراء مسح في اتجاه فرق الكمونات المهبطية.

حسب المنحنى الفولط متري المحصل عليه في حالة نظام عكوس ، ipa و ipc وهما على التوالي تيار النتوء المصعدي وتيار النتوء المهبطي ، كما أن EPC وEPa كمونات النتوءات المصعدية والمهبطية على الترتيب.



الشكل (11.I) : منحنى الفولطمتري الحلقي للثنائية (Ox/Red) لانتقال إلكترون واحد.

I.2.2.4.5.الخصائص الحلقي المميزة لمختلف الأنظمة في الفولطأمبيرومتري :

حسب نوع الانتقال الالكتروني في التفاعل الكهروكيميائي نميز إثنان من أنظمة جملة التحول :

- ✓ التحول الشحني السريع (نظام عكوس).
- ✓ التحول الشحني البطيء (نظام غير عكوس).

ومن الواضح أن هناك حالة وسطية تدعى بنظام نصف عكوس (نصف سريع). [14]

التحول الشحني السريع(نظام عكوس) :

في هذه الحالة الأنواع الكيميائية التي حدثت لها أكسدة خلال المسح ذهابا يتم إرجاعها في الاتجاه العكسي، ويكون الفرق بين كمونات قمم النتوءات مستقل عن سرعة المسح، وبذلك يكون نظام سريع وعكوس، و أهم القيم المميزة لهذا النظام هي :

$$Ox + né \rightarrow Red$$

يعبرعن علاقة التيار بالعلاقة التالية :

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

و الجهد يعطى بالعلاقة التالية :

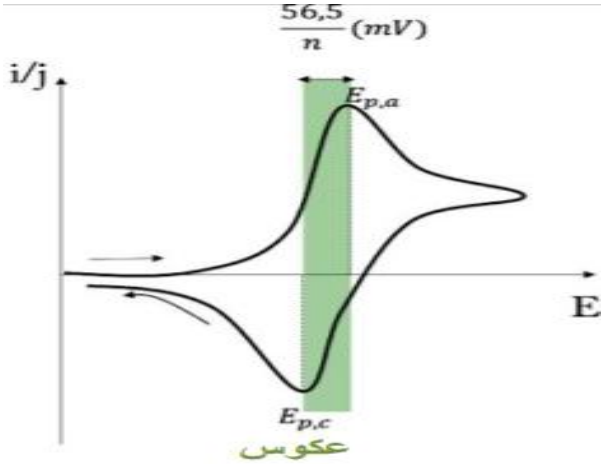
$$E_P = \frac{E_P}{2} + \frac{0.029}{n} \qquad (mV)$$

الفرق في الجهد بين منحنيات الأكسدة و الإرجاع بالعلاقة التالية :

$$\Delta E_P = E_{Pa} - E_{PC} = \frac{0.059}{n} \qquad (V) \qquad \text{عند } 25C^\circ$$

لنسبة بين شدة التيار المصعدي و شدة التيار المهبطي هي :

$$\left| i_{pa} / i_{pc} \right| = 1$$



الشكل (12.I) : منحنى الفولطامتري الحلقي لنظام عكوس.

التحول الشحني البطيء (نظام غير عكوس) :

سرعة نقل الشحنة للنظام غير العكوس ضعيفة جدا مقارنة مع سرعة نقل المادة، و بالتالي يكون النظام غير عكوس . و يكون التيار المتبقي يتناسب مع التركيز والجذر التربيعي لسرعة المسح لكنه ضعيف بسبب حركية النقل الإلكتروني . ويعبر عن هذه الحركية بمعامل النقل(α)

يعبر عن علاقة التيار لنظام بطيء (غير عكوس) بالعلاقة التالية :

$$I_P = (2.99 \times 10^5)\alpha^{1/2}\, n^{3/2} A D^{1/2}\, v^{1/2} K_S C$$

النسبة بين التيار المصعدي والمهبطي تعطى بالعلاقة التالية :

$$\left| i_{pa} \,/\, i_{pc} \right| \neq 1$$

يعطى الفرق في الجهد بين منحنيات الأكسدة والإرجاع بالعلاقة التالية :

$$\Delta E_P = E_{Pa} - E_{PC} \gg 0.059 \,/\, n$$

α :معامل التحول.

D :معامل الانتشار بوحدة (cm^2/s).

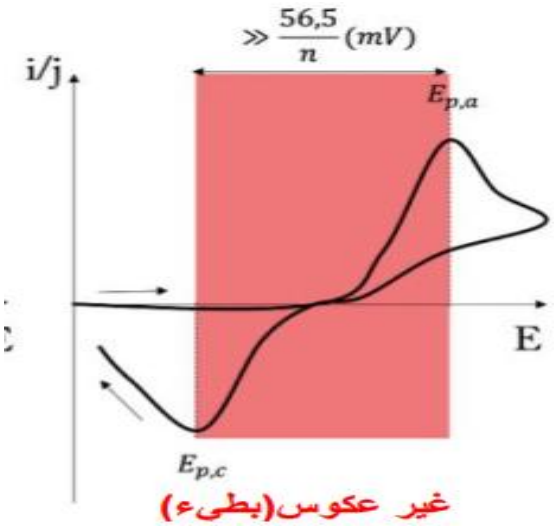
C : تركيز العناصر المتفاعلة بوحدة (mol/cm^3).

V :سرعة المسح (V/s).

A :مساحة سطح المسرى (cm^2).

n :العدد الإجمالي للإلكترونات المتبادلة.

Ks:ثابت السرعة.



الشكل (13.I) : منحنى الفولطامتري الحلقي لنظام غير عكوس.

التحول الشحني نصف سريع (نصف عكوس):

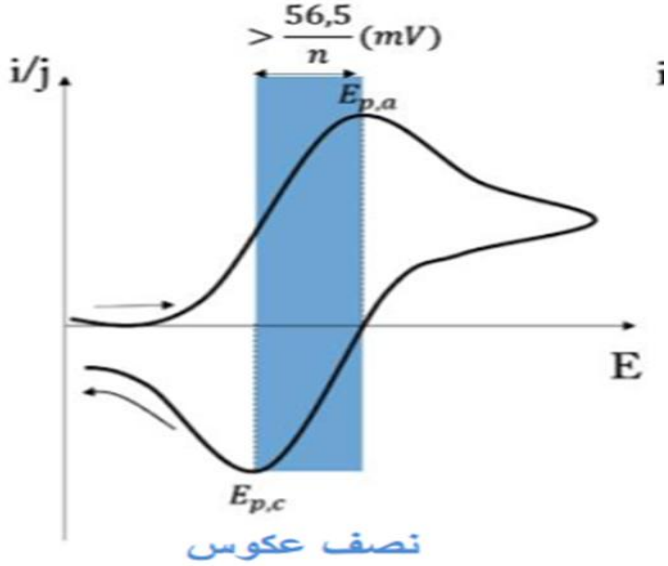
في النظام النصف عكوس تكون سرعة نقل الشحنة بطيئة، ومع ذلك يكون التفاعل عكوس، ويجدر الإشارة هنا إلى أن شدة التيار لا تتناسب خطيا مع الجذر التربيعي لسرعة المسح .

التيار يعطى بالعلاقة التالية :

$$I_P = (2.99 \times 10^5)\, n^{3/2} A D^{1/2}\, v^{1/2} K_S C$$

يعطى الفرق في الجهد بين منحنيات الأكسدة والإرجاع بالعلاقة التالية :

$$\Delta E_P = E_{Pa} - E_{PC} > 0.059 / n$$



الشكل (14.I) : منحنى الفولطامتري الحلقي لنظام نصف عكوس.

3.2.4.5.I. مجالات استخدام تقنيات الفولطاأمبيرومتري :

التقنيات الفولطاأمبيرومترية متعددة الاستخدامات في مختلف مجالات البحث العلمي وخاصة في مجال الكيمياء الكهربائية وتفاعلاتها ومن بين استخداماتها : [14]

- ✓ البحث عن المواد المقاومة للصدأ (التآكل يكون نتيجة لسلسلة من التفاعلات الكهربائية والكيميائية).
- ✓ إنتاج أنواع جديدة من البطاريات التي يمكن تخزين كميات كبيرة من الطاقة .
- ✓ التحليل الكمي لآثار المعادن مثل الذهب من أكسدة وإرجاع هذه المواد الكيميائية .
- ✓ استخدمت مؤخرا في تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة ,وذلك لما تملكه هذه الأخيرة من أهمية بالغة في المجال الحيوي ,وعلى ضوء ذلك نتطرق للتعريف بها ومعرفة دورها .

I.4.2.4.5. تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة بتقنية الفولطاأمبيرومترية الحلقية :

الفولطاأمبيرومترية الحلقية هي طريقة من طرق القياس الكهروكيميائي ،وهي تقنية مختصه لدراسة المادة المحللة كفيا ولدراسة عكسية التفاعل الحاصل عند قطب العمل ، وقد استخدمت في تقييم القدرة الكلية لمضادات الأكسدة .

إن تحليل الفولطاأمبيرومتري ذو حساسية عالية لتقدير المواد المضادة للأكسدة ويعتمد في ذلك على قطب عمل الكربون الزجاجي .

فاعلية مضادات الأكسدة تكمن في أنها عوامل مرجعة تميل إلى التأكسد بسهولة على الأقطاب الخاملة ,هذا ما جعلها تكون محل دراسات كهروكيميائية مكنت من استنتاج علاقة مهمة بين السلوك الكهروكيميائي والقدرة الإرجاعية .

المعلومات التي يمكن استخلاصها من المنحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي للمركب المدروس يتم مقارنتها بمركب آخر كحمض الغاليك أو الأسكروبيك حيث يلعب دور المركب القياسي الذي يفضله أغلب الباحثين والذي منه يمكن استخلاص القدرة الإرجاعية المكافئة. [11]

مراجع الفصل الاول

المراجع الاجنبية

[1]F. Sánchez-López, I. Tasset, E. Agüera, M. Feijóo, R. Fernández-Bolaños, F.M. Sánchez, M.C. Ruiz, A.H. Cruz, F. Gascón, I.J.N.r. Túnez, Oxidative stress and inflammation biomarkers in the blood of patients with Huntington's disease, 34(7) (2012) 721-7.24

[2]K. Jomova, D. Vondrakova, M. Lawson, M.J.M. Valko, c. biochemistry, Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders, 345(1-2) (2010) 91-104.

[3]M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur, J.J.T.i.j.o.b. Telser, c. biology , Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, 39(1) (2007) 44-84.

[4]B. Halliwell, J.M. Gutteridge, Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, USA2015.

[5]L.A. Pham-Huy, H. He, C.J.I.j.o.b.s.I .Pham-Huy, Free radicals, antioxidants in disease and health, 4(2) (2008) 89.

[6]M.S. Medow, N. Bamji, D. Clarke, A.J. Ocon, J.M.J.J.o.a.p. Stewart, Reactive oxygen species (ROS) from NADPH and xanthine oxidase modulate the cutaneous local heating response in healthy humans, 111(1) (2011) 20-26.

[7]G.J.E.j.o.m.c. Roman, Mannich bases in medicinal chemistry and drug design, 89 (2015) 743-816.

[10]C.Enrique, P.Lester, Handbook of Antioxidants, 2eme ed, New York, Basel.Marcel Dekker, Inc (2002).

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

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

[17] Giardi MT, Rea G, Berra B (2010) Bio Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors. Landes Bioscience and Springer Science+Business Media.

[18] Chong PL, Olsher M (2007) Fluorometric assay for detection of sterol oxidation in liposomal membranes. Methods Mol Biol 400: 145-158.

[20] V.Bondet, W.Brand-Williams, C. Berset, Lebensm. Wiss. Technol, 30(1997)609-615

المراجع العربية

[9]م . بوقوادة ، دراسة فيتوكيميائية لليبيدات والفينولات في بعض نوى التمر المحلي ، مذكرة ماجستير جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2008)

[8] عواوة آمنة ، دراسة كمية اللبيدات والفينولات وكمية الفلافونويدات و دراسة الزيوت الأساسية والفعالية المضادة للأكسدة لنبتتين طبيتين Rosmarinus officinalis و Cotula cinerea لمنطقة وادي سوف ، مذكرة شهادة ماستر أكاديمي جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي (2017)

[11] حنى مريم ، تحضير وتشخيص وتقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للطفرات لبعض مشتقات N–فيروسينيل ميثيل بنزونتريل ،مذكرة جامعة الشهيد حمه لخضر(2017)

[12] همامي هادية ، تصنيع ، تشخيص ، تقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للطفريات لبعض مشتقات N– فيروسينيل ميثيل نتروانيلين ،أطروحة شهادة الدكتوراء جامعة حمه لخضر (2017)

[13] بشير ايمان ، تحديد بعض الثوابت الكهروكيميائية لثلاث أميدات فيروسينية ،مذكرة شهادة ماستر جامعة الشهيد حمه لخضر (2015)

[14] دقاشي نور الهدى ، نصيرة سارة ، تصنيع ودراسة الخصائص الطيفية والكهروكيميائية لـ ن– فيروسينيل ميثيل 2– هيدروكسي أنيلين ، شهادة ماستر جامعة الشهيد حمه لخضر (2019)

[19] سامية عيشاوي ،شهرزاد قانة ،المساهمة في التعرف على منتجات الأيض الثانوي ودراسة الفعالية البيولوجية لنبتتين من منطقة بشار ،مذكرة شهادة ماستر أكاديمي جامعة قاصدي مرباح (2018)

الفصل الثاني

الدراسات السابقة

II.1.الدراسة الاولى :

استنادا الى 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 الى الطرق الطيفية " طيف الاشعة فوق البنفسجية و المرئية

" UV-Visible " لتحديد معاملات الارتباط و الطاقة الحرة للترابط بين المؤكسد " الجذور الحرة : جذر(DPPH) " و مضادات الاكسدة " المركبات الفينولية : حمض الأسكوربيك ، حمض الغاليك ، روتين و حمض الكافييك" و من ثم تحديد طبيعة الرابطة و نوع هذا التفاعل ما ان كان فيزيائيا او كيميائيا .

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

خلصت هذه الدراسة الى ما يلي :

- كان ترتيب المركبات المدروسة بحسب الفعالية المضادة للاكسدة كالاتي : حمض الأسكوربيك يليه حمض الغاليك يليه روتين الاقل في الفعالية المضادة للاكسدة من بين هذه المركبات : حمض الكافييك يرجح الباحثان السبب الرئيسي لهذا هو الكتلة المولية بدرجة اولى 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 الى مجال قيم ΔG فان طبيعة التداخل فيزيائي و طبيعة الرابطة كهربائية (electrostatic binding), و وفقا لمجال ΔG فإن طبيعة التداخل تداخل فيزيائي . [01]

II.2.الدراسة الثانية :

بالاستناد الى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور: العانز التهامي , 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 انجزت 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 الى الفولطاموغرام الحلقي للتقنية الكهروكيميائية للمركب الفينولي المدروس في غياب و وجود الجذر"المؤكسد" ($O_2^{\cdot -}$).

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 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 .
- معامل الانتشار اقل في حال ارتباط α–tocopherol 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. [02]

3.II.الدراسة الثالثة :

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور: العانز التهامي و الدكتورة: حني مريم و الذي جاء بعنوان :

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

يهدف هذا العمل دراسة أربعة من مضادات الأكسدة مع الجذر (DPPH) تم استخدام تقنية التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية حيث تسمح هذه الطريقة بتقدير فعالية مضادات الأكسدة ودراسة التداخل الجذر(DPPH) المذاب في الاسيتونتريل في وجود تراكيز مختلفة من مضادات الاكسدة: tocopherol (Toc), catechin (Cat) hydroxyanisole butylated (BHA) ، querstine (Que) و من ثم تحديد طبيعة الرابطة و نوع هذا التفاعل ما ان كان فيزيائيا او كيميائيا .

حيث اعتمدت هذه الدراسة على الطريقة الرياضية Benesi–Hildebrand تستخدم في الكيمياء الفيزيائية لتحديد ثابت التوازن و العناصر المتفاعلة في التفاعلات غير رابطة.

وخلصت هذه الدراسة الى :

من خلال القيم المسجلة نلاحظ أن المركب القياسي BHA ذا اكبر قيمة لثابت الترابط الذي يدل أن طبيعة التفاعل بينه وبين الجذر (DPPH) كيميائي ، في حين سجلت المركبات Que ،Toc، Cat ترابط صغير الذي يدل على طبيعة التفاعل بين الجذر(DPPH) والمركبات فيزيائي ألكتروستاتيك .

القيمة السالبة للطاقة الحرة للترابط الناتجة عن التداخل المتشكل بين جذر DPPH و المركبات تدل على تلقائية التفاعل . [03]

4.II.الدراسة الرابعة :

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور: العانز التهامي و الدكتورة: حني مريم و الذي جاء بعنوان :

DETERMINATION OF BINDING PARAMETERS OF 2-(FERROCENYLMETHYLAMINO) BENZONITRILE AND 3-(FERROCENYLMETHYLAMINO)BENZONITRILE WITH 1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL FREE RADICAL

كان الهدف من هذه الدراسة لتحديد معاملات الارتباط و الطاقة الحرة للترابط تم استخدام تقنية التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية " UV–Visible " بين : جذر(DPPH) " و المشتقات الفيروسينية : حمض الأسكوربيك و 2FMAB و 3FMAB .

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة الرياضية لـ: Benesi–Hildebrand

من خلال هذه الدراسة تم استنتاج :

القيم المسجلة تبين المركبDPPH–3FMAB ذا اكبر قيمة لثابت الترابط الذي يدل أن طبيعة التفاعل كيميائي ، ثوابت DPPH–AA و DPPH–2FMAB تدل على التفاعل الكهروستاتيكي .

القيمة السالبة للطاقة الحرة للترابط الناتجة عن التداخل المتشكل بين جذر DPPH و المركبات تدل على تلقائية التفاعل . [04]

II.5.الدراسة الخامسة :

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور: العانز التهامي و الدكتور: ربيعي عبد الكريم و الذي جاء بعنوان :

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF APIS MELLIFERA BEE POLLEN FROM NORTHWEST ALGERIA

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التكوين الغذائي ونشاط الكسح وDPPH تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لقاح النحل المنتج في المنطقة الشمالية الغربية من الجزائر بالطريقة الطيفية .حيث اعتمدت على إستخلاص وتقدير المحتوي الفينولي و الفلافونويدي للعينات .

استنتاجات :

في هذه الدراسة وجد أن مستخلص حبوب لقاح الجزائر يحتوي على الميثانول كمية كبيرة من الفينولات والفلافونيدات وهي مدى الفينولات الموجودة في هذا مستخلص كونه مسؤولاً عن نشاطه المضاد للأكسدة الملحوظ.

أظهرت النتائج أن لقاح النحل له نشاط مضاد للأكسدة بالمقارنة مع مركبات مضادات الأكسدة القياسية مثل BHA ، وحمض الأسكوربيك ، ومضادات الأكسدة الطبيعية. وبالتالي فإنه يمكن استنتاج أن مستخلص الميثانول من لقاح النحل يمكن استخدامه كمصدر يمكن الوصول إليه مضادات الأكسدة الطبيعية مع الفوائد الصحية المترتبة على ذلك. [05]

II.6.الدراسة السادسة :

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور: العانز التهامي و الدكتورة: حني مريم و الذي جاء بعنوان :

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

الهدف من هذا العمل هوتقييم النشاط المضادة للأكسدة (2FMAB; 3FMAB) بطريقة الكيروكيميائية باستعمال تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي لجذر فوق الأكسدة($O_2^{\cdot-}$) Superoxide anion.

لهذا العمل تطلب عديد طرق للحساب وهي :

حساب نسبة مقدار تثبيط $\%O_2^{\cdot-}$ حسب المعادلة التالية :

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

حساب نسبة ثابت الترابط(Kox/Kred) وذلك بتطبيق علاقة نرنست :

حساب ثابت الترابط K و الطاقة الحرةΔG

من خلال هذا العمل نستنتج :

كانت النتيجة أن الفعالية المضادة للأكسدة لمركب 3FMAB هي الأكبر من المركب2FMAB ، أما من جيهة دراسة التفاعل بين مركبين والجذر(O_2^{-}) فكان نوع التفاعل تلقائي ذو طبيعة الكهروستاتيكي. [06]

II.7.الدراسة السابعة :

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور: العانز التهامي و الدكتور: عبد السلام و الذي جاء بعنوان :

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

في هذا العمل قمنا بدراسة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لاثنين من مشتقات الفيروسين:. 2- نيتروفينيل الفيروسين و 4- نيتروفينيل الفيروكسين ، تم فحص النشاط المضاد للأكسدة لهذه المركبات بواسطة الكهروكيميائية باستخدام تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقية .

لهذا العمل تطلب عديد طرق للحساب وهي :

- تحديد الأنشطة المضادة للأكسدة
- نشاط الكسح الجذري لـ DPPH:

DPPH radical scavenging activ t $\frac{A_S - A_i}{A_S} \times 100$

من خلال هذا العمل نستنتج :

تم تقييم تثبيط DPPH عن طريق كسح جذري و تم تصنيع مشتقين من الفيروسين بنجاح ودرس نشاطهما المضاد للأكسدة باستخدام المقايسات الطيفية والكهروكيميائية. وظهر2- نيتروفينيل الفيروسيين نشاطًا مضادًا للأكسدة أعلى حتى من مستوى مضادات الأكسدة ألفا توكوفيرول. [07]

II.8.الدراسة الثامنة:

بالإستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف الباحثين : Carine Le Bouevellec , Didier Hauchard , Andre Darchen , Jean –Louis Burgot , Marie –Laurence Abasq والذي جاء بعنوان :

Validation af a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids

الهدف من هذا العمل هو توضح طريقة جديدة لقياس القدرة المضادة للأكسدة لبعض مركبات الفلافونويد. وتستند المنهجية التي تم تطويرها على حركية تفاعل المواد المضادة للأكسدة القياسية: الترولوكس وحمض الأسكوربيك والفلوروغلوسينول مع جذر الأكسيد الفائق ($O_2^{\cdot -}$) تم استخدام تقنية الفوط ميتر الحلقي لتوليد ($O_2^{\cdot -}$) بالاختزال من الأكسجين الجزيئي في الوسائط المثار. قياس التيار الدوري للأكسجين

وتمحورت هذه الدراسة حول اعتماد المعادلات التالية :

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

$$AH + O_2 \rightarrow H_2O^- + A^{\cdot}$$

والتي تستند إلى قياس الفوليميتر الدوري للأوكسجين في وجود الركيزة المضادة للأكسدة

خلصت هذه الدراسة إلى مايلي :

- نلاحظ عند الفرق الكمون E تكون المادة الكهروفعالة عند قطب العمل في تناقص بينما المادة الناتجة تزداد .
- عند الفرق الكمون e_{pa} تنتهي تركيز المادة المتفاعلة للصفر بجوار قطب العمل لسرعة المسح العالية .
- انخفاض الأوكسجين بمعدل المسح 0,1 v/s
- نلاحظ أن O_2 وركيزة البوليفينول تتفاعل بشكل لا رجعة فيه مع I_s .
- نلاحظ قيم الدقة ل AI_{50} و AI_{30} ونسبة قيم المردود المضادة للأكسدة نلاحظ أنها تقريبا متقاربة لبعضها البعض. [8]

II.9.الدراسة التاسعة :

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

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

تهدف هذه الدراسة على قياس الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الطيفية استنادا إلى تقنية التحليل الطيفي للأشعة الفوق بنفسجية و المرئية لتحديد معاملات الارتباط و الطاقة الحرة للترابط بين المؤكسد :N-(فيروسينيل ميثيل)- 2- نتروانيلين N-(فيروسينيل ميثيل)- 3-نتروانيلين وقدرة الفعالية المضادة للاكسدة الدراسة

الفولطامبيرومترية لمتداخل المتشكل بين الجذر و المضاد التاكسدي بدراسة التفاعل بين المشتقات الفيروسينية و جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\cdot-}$) و تحديد بعض المعاملات الترموديناميكية و حركية بطريقة الكيروكيميائية.

لهذه الدراسة تطلت العديد من طرق للحساب وهي:

$$\text{DPPH radical scavenging activ t } \frac{A_S - A_i}{A_S} \times 100$$

حساب نسبة ثابت الترابط(Kox/Kred) وذلك بتطبيق علاقة نرنست :

يسمح لنا بحساب نسبة ثابت الترابط و يمكن استغلال هذه القيمية لتحديد نوعية التفاعل الحاصل بين الجذر و المضاد التأكسدي

حساب نسبة مقدار تثبيط $O_2^{\cdot-}\%$ حسب المعادلة التالية :

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

معامل الانتشار:

معاملات انتشار الجذور الحرة $O_2^{\cdot-}$ من معادلة Randles–Sevcik التالية :

خلصت هذه الدراسة إلى مايلي :

النشاط المضادة للأكسدة ل N –(فيروسينيل ميثيل)– 2– نتروانيلين ، N–(فيروسينيل ميثيل)– 3–نتروانيلين كان قياسا وتم تقييم أنشطتها المضادة للأكسدة بواسطة فحوصات كهروكيميائية وطيفية. كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع ($O_2^{\cdot-}$) ومنه فعالية مضادة للأكسدة أكبر فان معامل الانتشار اقل في حال ارتباط –(Nفيروسينيل ميثيل)– 2– نتروانيلين ، N–(فيروسينيل ميثيل)– 3–نتروانيلين مع الجذر النشط ($O_2^{\cdot-}$) . يشير حجم الطاقة الحرة المحسوبة إلى تفاعل إلكتروستاتيكي لجذر الأنيون فوق الأكسيد ($O_2^{\cdot-}$) . [09]

10.II.الدراسة العاشرة :

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور: العانز التهامي و الدكتور: عبد الحميد خلف و الذي جاء بعنوان :

In vitro assays of the antioxidant activities of ferrocene derivatives bearing Amine, amide or hydrazine groups

في هذه الدراسة ، تم عمل على ثلاث من مشتقات الفيروسين تحمل مجموعات مشتقات الأمينات والأميدات والهيدرازينات المستبدلة بمعدن فيروزينيل وتقييم نشاطهم مضادات الأكسدة باستخدام المقايسات الطيفية والكهروكيميائية تم استخدام ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO)

من خلال هذه الدراسة تم استنتاج :

تشير نتائجنا بوضوح إلى أن الثلاثة تمتلك مشتقات الفيروسين المدروسة قدرة عالية على المسح الجذر DPPH يمكننا أن نستنتج أن الحل الإيثانولي لمشتقات الفيروسين أظهر أفضل الأنشطة المضادة للأكسدة مع مقايسة كهروكيميائية. من بين جميع المركبات المختبرة. [10]

II.11.الدراسة الحادية عشر :

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثان: الدكتور : تهامي العانز ، الدكتور : عبد الكريم ربيعي

Development of an electrochemical method for the measurement of antioxidant capacity of pure compounds and natural substances extracts

يهدف هذا العمل تطوير طريقة جديدة لقياس النشاط الكلي لمضادات الأكسدة في الأطعمة والمواد الطبيعية بدون استخدام مضادات الأكسدة القياسية وبدون استخدام منحنيات المعايرة التخطيط .يعتمد على قياس تيار ذروة الأكسدة لجذر الأنيون الفائق يتم توليدها كهروكيميائيًا عن طريق تقليل الأكسجين الجزيئي التجاري في ثنائي ميثيل فورماميد. تم التحقق من صحة هذه الطريقة باستخدام 7 مضادات أكسدة معيارية معروفة هي : DMF،TBFP ، DPPH ، موليبدات الأمونيوم ، فوسفات الصوديوم ، حمض الكبريتيك ، بناءً على الكشف الجذري لأنيون الفائق باستخدام تقنيات voltammety.

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد على مقايسة تخفيض أيون الموليبداتمن خلاله تم تقييم السعة الإجمالية لمضادات الأكسدة لسبعة مضادات الأكسدة القياسية من قبل طريقة بريبتو ، قياس نشاط الكسح الجذري DPPHوتحديد نشاط إزالة الجذور الحرة لمضادات الأكسدة القياسية السبعة

$$\text{DPPH radical scavenging activ t}\ \frac{A_S - A_i}{A_S} \times 100$$

الارتباط بين القدرات المقاسة لمضادات الأكسدة باستخدام طريقتنا وتلك التي تم قياسها باستخدام مقايسات DPPHو Molybdate للحد من أيونات السبعة المدروس.

وكانت النتائج مقارنة مع تلك التي تم الحصول عليها من قبل مقايسات DPPH وخفض أيون الموليبدات .تقاس

ارتبطت القدرات المضادة للأكسدة ارتباطًا وثيقًا بتلك التي تم الحصول عليها باستخدام DPPH (r 2 = 0.549) ومقايسة اختزال أيونات الموليبدات(r 2 = 0.434) تقنيات voltammety أظهر جذري الأنيون الفائق الأكسيد عملية واحدة قابلة للانعكاس للإلكترون بعد تطويرها وأكسدة واضحة واختزال مع ذروة فصل (ΔEp)بقيمة 66 ± 3 mV ، .ارتفاع كثافة تيار الذروة الأنودية توافق voltammogram الذي تم الحصول عليه مع تركيز جذري أنيون فوق أكسيد. [11]

II.12.الدراسةالثانية عشر:

استنادا الى العمل المنجز من طرف الباحثين : Qingxiang Wang, Xueling Wang, Zhanglong Yu, Xianlong Yuan, and Kui Jiao و الذي جاء بعنوان :

Mechanism of DNA With an Spectroscopic and Electrochemical Studies on The Binding Nuclear Fast Red Anthraquinone Biological Dye,

كان الهدف من هذه الدراسة هو دراسة الحمض النووي مع أطياف الفلورسنتNFR وأطياف الأشعة فوق البنفسجية .

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة :$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}$ [DNA] والتي تستند الى طيف الإمتصاص الإلكتروني للتفاعل مع تركيزات مختلفة من الحمض النووي.

خلصت هذه الدراسة الى ما يلي :

تمت دراسة تفاعل صبغة أنثراكينون , أحمر نووي سريع NFR مع الحمض النووي للحيوانات المنوية من خلال قياس الطيف و قياس اللزوجة والطرق الكهروكيميائية كالاتي : كان تأثير ناقص اللون ضعيف ولوحظ لقمم الإمتصاص المميزة لNFR ,وتم تتغير أطوال موجاته في وجود الحمض النووي مما يدل على طريقة الربط الخارجية ل NFR إلى DNA و تم تطبيق الطريقة الكروكيميائية لدراسة التفاعل بين NFR وتم تحديد DNA وثابت الإرتباط K . [12]

II.13.الدراسةالثالثة عشر:

بالإستناد الى المقال العلمي المنجز من طرف : Hamad Khalid, Haojie Yu, Li Wang, Wael A. Amer, Muhammad Akram, Nasir M. Abbasi, Zain ul-Abdin and Muhammad Saleem و الذي جاء بعنوان :

polythiophenes and their applications Synthesis of ferrocene-based

كان الهدف من هذه الدراسة هو تطبيق بلمرة الثيوفين ومشتقاته عن الفيروسين وتطوير التركيز الذي تم إجراؤه على تخزين المعلومات ومواد الإستشعار الكيميائية التي تستخدم البوليثوفينات القائمة على الفيروسين.

تمحورت هذه الدراسة حول تعديل معادلات الثيوفين مع الفيروسين قبل البلمرة وتنشيط ثلاث مشتقات ثيوفين مختلفة وهي عبارة عن مجموعات أستر مرتبطة تساهمية بحلقة الثيوفين الخطي.

استنتاجات الدراسة :

- إستخراج ثوكسليت بإستخدام الميثانول .
- تفاعل اقتران بواسطة النيكل بعد تكاثف فوزوكي (2.5−) ديدروموبيثيو .
- من خلال المخطط رقم 4 تم تصنيع بوليمر قابل لذوبان .
- كلما زادت كمية المؤكسد كان طول السلسلة أطول بإستخدام البلمرة المؤكسدة البسيطة .
- إن بلمرة الثيوفين سهلة لغاية لتحقيق تكلفة منخفظة مع ذاكرة عالية الكثافة .
- الوزن الجزيئي لبولمير يتناسب طرديا مع كمية الأكسدة ووقت ردة الفعل. [13]

II.14.الدراسة الرابعة عشر:

إستنادا إلى العمل المنجز من طرف الباحث : البروفيسور : Philip Molyneux والذي جاء بعنوان :

The use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl lpicryl (DPPH) for estimating antioxidant activity .

كان الهدف من هذه الدراسة هو إستخدام (DPPH) ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل لتقدير النشاط المضاد للأكسدة وتشكيل جذور حرة مستقرة أثناء التفاعل ومضادات الأكسدة .

تمحورت هذه الدراسة حول إعتماد علاقة بير لامبرت : $A = \varepsilon cl$ و $\mathbb{Q} = 100\ (A_{0-A_c})/\ A_0$ والتي تستند إلى قياس الطيف الضوئي والطول الموجي λ وقياس الإمتصاصية ودرجة الحموضة .

خلصت هذه الدراسة إلى مايلي :

- تم إستخلاص الإستنتاجات بأن TDB لديه نشاط مضاد للأكسدة , أعلى بالمقارنة كان قويا TDB مع حمض الأسكروبيك
- إنخفاض كمية الإختزال $\mathbb{Q}$ مع السيستين *DPPH* عند إضافة المعايرة اللونية .
- نلاحظ تناقص تدريجي معتبر في منحنى كمية الإمتصاص عند النقطة 0.6 nm ليصل إلى قيمة 230 nmol وبعدها يبدأ بالثبات إلى أن ينعدم . [14]

II.15.الدراسة الخامسة عشر:

بالإستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور : Nikos G. Tsierkezos والذي جاء بعنوان:

Cyclic Voltammetric Studies of Ferrocene in Nonaqueousin Solvents in the Temperature Range from 248.15 to 298.15 K .

يهدف هذا العمل إلى تطوير دراسة وقياس الفولتميتر الحلقية للفيروسين وقياس الجهد الدوري المذيبة في درجة حرارة من 248.15 إلى 298.15 كلفن , وحساب معامل اللإنتشار D واللزوجة .

تمحورت هذه الدراسة اعتماد العلاقة الرياضية ل : Randles –Sevcik والتي تستند إلى الفولطاموغرام الحلقي للتقنية الكهروكيميائية لمركب أكسدة الحديدوز المدروس , أكسدة الحديدوز المدروس في وجود وغياب (Ag/AgCL/V) .

استنتاجات الدراسة:

- توافق أكسدة الفيروسين مع تغير عكسي بين الشكل المخفض المحايد ($Fe(C_2H_2$ والشكل الموجب المؤكسد

المحايد $Fe(C_5H_5)_2$ حسب رد الفعل .

- من خلال قيم الجدول يتضح أن قيم تيار الأكسدة والإرجاع تتعلق بسرعة المسح.
- نلاحظ أن درجة الحرارة لها تأثير كبير في منحنى الفولتميتر الحلقي للفيروسين , وأيضا بالنسبة لمعدل المسح. [15]

II.16.الدراسة السادسة عشر:

إستنادا إلى العمل المنجز من طرف الباحثان : البروفيسور : Safeer Ahmed and Faria Shakeel والذي جاء بعنوان :

Voltammetric determination of antioxidant character in Berberis

كان الهدف من هذه الدراسة هو التحقيق والتقييم في مضادات الأكسدة بصفة ثلاثة مستخلصات نباتية وهي: . Lycium Royel Zanthoxylum armatum and Morus nigra Linn plants وحساب معامل ثابت الإرتباط

(K) والطاقة الحرة للتفاعل ومعامل النشاط

وحساب معامل ثابت الإرتباط (K) والطاقة الحرة للتفاعل ومعامل النشاط .

تمحورت هذه الدراسة حول السلوك الفوليمتير للمستخلصات النباتية أنيون فوق أكسيد جذري واعتمادها على العلاقة التالية :

وتقييم الفولتاموجرام النشاط المضاد للأكسدة نوعيا وكميا .

خلصت هذه الدراسة إلى مايلي :

- نلاحظ أن الحجم الإضافي للمستخلصات لم يزيد من حجم الخلية.
- مضادات الأكسدة القوية قد تكون مسؤولة عن مسح الجذور الحرة ونلاحظ تغيير نسبي للأوكسجين O_2 .
- انخفاض التيار الأنودي أثناء التأثير على الكاثودية .
- يتم تفسير استنفاد التيار الأنودي من حيث كسح الراديكالي الذي تم تشكيله . [16]

II.17.الدراسة السابعة عشر:

بالاستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف الباحثان :الدكتور :عانز التهامي والدكتور : بن حواء والذي جاء بعنوان :

Evaluation of the antioxidant activity of potatoes by radical scavenging activity Using $O_2^{\cdot-}$ and DPPH

يهدف هذا العمل إلى تقييم خاصية مضادات الأكسدة للفينول المستخرجة من الأنسجة النباتية لأنواع البطاطس عن طريق الكسح ل DPPH والتأثير التثبيطي لجذور الأنيون الفائق (diphenyl –picryl – hydrazul) (

تمحورت هذه الدراسة حول إعتماد العلاقة التالية : I% = $A_0 - A_s / A_0 \times 100$ والتي تستند إلى قياس الفولتميتر وذلك باستخدام خلية كهروكيميائية وقياس الطيف الضوئي uv –vis .

استنتاجات الدراسة :

- نلاحظ انخفاض ذروة الأكسدة $O_2^{\cdot-}$ مما يؤكد وجود تفاعل المستخلصات الإيثانولية .
- نلاحظ تغير في نتوء التيار إلى قيمة أكثر سلبية تدل على أن O_2 يكون سهل التأكسد .
- انخفاض كبير في كثافة ذروة الأكسدة الحالية إلى تناقص في التركيز بسبب تكوين مجمع استخراج العينة $O_2^{\cdot-}$. [17]

II.18.الدراسة الثامنة عشر:

إستنادا إلى العمل المنجز من طرف الباحثين : سلمى دزيري , عماد حسن , سلوى فاتناسي , ياسين مرابط , هيرفي كازابيانكا , وبلقاسم هانشي و كريم حسني . والذي جاء بعنوان :

Phenolic constituents antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (Allium roseum Var. odoratissimum)

كان الهدف من هذه الدراسة هو المساهمة الحالية إلى توصيف ملامح الفينول من الزهور والأوراق والسيقان والمصابيح بمواصفات كتلة الكروماتوغرافيا السائلة والأشعة فوق البنفسجية (UV–Visible) وتحديد أعلى مستويات محتوى الفينول الكلي بتحديد الكيمبفيرول HPLC –PDA – MS في الأوراق والزهور في الأوراق , وملاحظة النسبة المئوية لنشاط الكسح الجذري (DPPH) .

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة التالية : $I(\%) = [(A_0 - A_s) / A_0] 100$ والعلاقة بين الإشعاع العالمي ومستويات الفلافونويد في نبتة البصل .

وتستند إلى طيف الامتصاص ونسبة التركيز الموجود في الميثانول المدروس .

من خلال الدراسة :

– لوحظت قراءة الامتصاص عند 700 nm مقابل الفراغ حيث كلما زاد إمتصاص خليط التفاعل زادت قوة الإختزال .

– زيادة الأشعة فوق البنفسجية تؤدي إلى تراكم الفينولات في الأوراق .

– نسبة أوراق الأشجار سجلت أكبر رائحة كريهة لكل من الزهور والمصابيح ويطارد.

– لوحظ أن مقتطفات العمر أظهرت FRAPاختبار أعلى نشاط بينما لوحظ أدنى مستوى للمصابيح. [18]

II.19.الدراسة التاسعة عشر:

بالاستناد الى المقال العلمي المنجز من طرف البروفيسور : منذر سهيل , باجان لال , كامران أكبر , رجاء أزدار حسين , أمين بادشاه والذي جاء بعنوان :

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

حيث أنجزت هذه الدراسة بمخبر قسم الكيمياء جامعة القائد الأعظم في بلاد إسلام أباد 45320 بباكستان والذي تم استلامه في 04 أبريل 2013

يهدف هذا العمل إلى ربط الحمض النووي بفيروسين سيلينور بواسطة قواعد آزوتية ونيكليوتيدات حرة والتطرق إلى حساب ثابت الربط K ومعامل الانتشار D وقياس الامتصاص واللزوجة

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة التالية:S / $\frac{C_b}{C_f} = K[free\ basse\ pair]$ والتي تستند إلى السلوك الكهروكيميائي والحلقي لنموذج ثلاثي الأبعاد لقمم الأكسدة والإرجاع في غياب ووجود DNA) للمركب المدروس .

استنتاجات الدراسة :

- عند إضافة 48 لتر و 60لتر من الحمض النووي هناك زيادة مفاجئة في ذروة التجعيد التجعيد
- ملاحظة أن التحول في ذروة الإختزال نسبيا صغير جدا
- نلاحظ أن كمية الامتصاص متزايدة بنسبة كبيرة شدة التيارتتزايد بوجود الحمض النووي ونلاحظ زيادة معتبرة في نسبة MOT لمسح الأعمار [19]

II.20.الدراسة العشرون:

بالإستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف الباحثان والبروفيسور : S.Sujarani ,A.Ramu والذي جاء بعنوان :

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

يهدف هذه العمل إلى تمييز المجمعات المركبة بإستخدام التحليل الجزئي وتقنيات الجهد المرئية والدورية والتحليل الطيفي لتركيز الحمض النووي في أزواج القاعدة الآزوتية وكشف دراسة التفاعل عن طبيعة تجليد الأخدود للمجمعات وتأكيد تقارب الإرتباط القوي للمعدن عن طريق الإلتحام الجزئي .

تمحورت هذه الدراسة حول إعتماد العلاقة : ε_f) = [DNA] / (ε_b − ε_f) $+1/K_b$ (ε_b − ε_f)

− ε_a)/ [DNA] التي تستند إلى الفولطاموغرام والطيف الكتلي والرنين المغناطيسي

خلصت هذه الدراسة إلى مايلي :

- نلاحظ عدم وجود تفاعل بين النحاس وموقف الالكترون غير المزاوج وهذا ما يدل على إمكانية الطبيعة البعدية للمجمع .
- يشير إلى وجود تفاعل محدود بين K_b وقيم DNA.
- عند وجود وغياب PH =7,1 مع الحمض النووي كمية الامتصاص تتزايد ثم تثبت الى أن تنخفض تدريجيا لتنعدم وهذا مايدل على حدوث تفاعل .
- هناك يوجد منحنى يمثل خط مستقيم لا يمر بالمبدأ وهذا راجع إلى كمية أطياف الامتصاص امتصت على شكل نقاط عشوائية من خلال معادلة خطية: .y=4, 8099x+4E−05 [20]

II.21.الدراسة واحد وعشرون :

بالإستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف الباحثين : Vlastimil Vyskocil , Marata Blaskova, Andrea Hajkova , Eva Horakova , Zuzana Krejcova , Klara Stavkova , and Joseph Wang

والذي جاء بعنوان :

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

حيث أنجزت هذه الدراسة بمختبر الكيمياء فوق الجزيئية , قسم الكيمياء التحليلية باليونيسكو

يهدف هذا العمل إلى استخدام أجهزة الاستشعار الحيوية الكهروكيميائية للحمض النووي وكشف تلف الحمض النووي في الدراسة البيولوجية وقياس الفوليميتر وجهد الموجة المربعة (DPV) , (SWV) وقياس الجهد الدوري

تمحورت هذه الدراسة حول تحليل التفاعلات الجزيئية الفائقة للمركبات الغريبة الحيوية العضوية مع الحمض النووي والتي تستند للحث على تلف الحمض النووي والتحكم فيه لتفاعلات ربط الأخدود أو الإقحام بين أزواج القاعدة في وجود مضادات مؤكسدة

استنتاجات الدراسة :

- تقنية الكشف عن المركبات الغريبة بالنسبة لمضادات الأكسدة لم تسجل أي نوع من الضرر بينما في المواد الكيميائية المسرطنة فسجلت نوع من الضرر التأكسدي ويعود ذلك إلى اختلاف في المركبات الغريبة .
- نلاحظ حدوث استجابة قوية فورية سميت ب (P_A , P_G , P_{AA}) وهذا في وجود درجة الحموضة مما أدى إلى استجابة شدة التيار بقيم متزايدة وهذا راجع لوجود الحمض النووي و ds .
- يكون امتصاص النيوكليوسيدات في أقطاب الزئبق بشكل قوي وكبير مما يدل على أن الحمض النووي كل قواعده امتصت . [21]

II.22.الدراسة ثانية وعشرون:

بالإستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف الباحثين :

Burcu Dogan – Topal , Burcin Bozal –Palabiyik, Sibel A . Ozkan , Bengi Uslu

والذي جاء بعنوان :

Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with ds DNA by electrochemical and spectroscopic techniques .

يهدف هذا العمل إلى دراسة آلية LTP الأكسدة الكهروكيميائية ضمن نطاق الأس الهيدروجيني الواسع ومعدل المسح تمحورت هذه الدراسة حول استخدام كواشف تحليلية والتي تستند إلى قياس التحليل الطيفي الطيفي ودراسة قمم الامتصاص في وجود LTP

خلصت هذه الدراسة إلى مايلي :

- ارتفاع الذروة الأولى لذروة الأكسدة قريبة من القيمة النظرية البالغة 55mv للكهروكيميائية .
- نلاحظ معدل المسح يتزايد حين تحولت كلتا القمم الرئيسية الأنودية إلى إمكانات أكثر إيجابية .

- نلاحظ زيادة في تيارات الذروة لهؤلاء الأزواج بشكل طفيف حيث زاد عدد تفاعلات عمليات المسح , في حين انخفضت قمم انوديك الرئيسية . [22]

II.23.الدراسة ثلاثة وعشرون :

بالاستناد إلى المقال العلمي المنجز من طرف الباحثين : شفيق الله , إبرار أحمد , أمين بادشاه , محمد جميل , عاطف علي ألطاف , محمد الزبير , ساقيب كمال , محمد إرشادعلي . والذي جاء بعنوان :

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

يهدف هذا العمل إلى تطوير استخدام آلية قياس الفوليمتر والتحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية ودراسة الحمض النووي مع مركب AG وحساب شدة التيار الممتصة

تمحورت هذه الدراسة حول اعتماد العلاقة التالية:

$I^2 = (I_0^2 - I^2)\ 1/\ K_b\ [\ DNA\ ] + I_0^2 - [\ DNA\ ]$ والتي تستند الفولطاموجرام بواسطة الطيف والطرق الكهروكيميائية للمركب AG في وجوده وغيابه لتقييم مدى فعاليته مع الحمض النووي

استنتاجات الدراسة:

- وجود ثلاث نطاقات وجود ثلاث قوية من AG في الطيف المرئي فوق البنفسجي فوق البنفسجي وامتصاص مولاري مرتفع 222 nm و 264 nm و 498 nm ونلاحظ امتصاص منخفض نسبيا عند 570 nm
- عند إضافة AG نلاحظ انخفاض في ذروة التيار ل K_b ثوابت الربط DNA
- نلاحظ أن الحمض النووي مع AG يشير إلى التفاعل الكهروستاتيكي ل S من قد يؤدي التفاعل إلى اضطراب في الآداء الطبيعي للحمض النووي
- نرى المنطقة المميزة ل DNA حيث يمتص نيكليوتيدات الدنا بقوة , لذلك تظهر النقطة المتساوية عند 292 nm بسبب زيادة تركيز الحمض النووي [23]

مراجع الدراسات السابقة

[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 university of el oued, vtrs laboratory, el oued , june, 18, 2015

[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, university of el oued, vtrs laboratory, el oued may,31 ,2015

[3] touhami lanez, meriem henni, spectrophotometrical study of antioxidant standards interacting with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical, university of el oued, vtrs laboratory, el oued, july 27, 2015

[4] touhami lanez, meriem henni, determination of binding parameters of 2-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile and 3-(ferrocenylmethylamino) benzonitrile with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical, university of el oued, vtrs laboratory, el oued, 02 may 2015

[5] abdelkerim rebiai, touhami lanez , chemical composition and antioxidant activity of apis mellifera bee pollen from northwest algeria , university of el oued, vtrs laboratory, el oued,08 nou 2012

[6] touhami lanez, meriem henni, antioxidant activity and superoxide anion radical interaction with 2 (ferrocenylmethylamino) benzonitrile and 3 (ferrocenylmethylamino) benzonitrile , university of el oued, vtrs laboratory, el oued, 2 october 2015

[7] s. benabdesselama t. lanez evaluation of total antioxidant capacity and free radicals scavenging of 2 and 4- nitrophenylferrocene by electrochemical and chemical assays, university of el oued, vtrs laboratory, el oued, 2015

[8] carine le bourvellec a, didier hauchard b, andre darchen ´ c jean-louis burgot a, marie-laurence abasq a, validation of a new method using the reactivity of electrogenerated
superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids, 28 july 2007

[9] touhami lanez, hadia hemmami ,antioxidant activities of n-ferrocenylmethyl-2- and -3-nitroaniline and determination of their binding parameters with superoxide anion radicals , university of el oued, vtrs laboratory, el oued, may 27,2015

[10] abdelhamid khelef , touhami lanez , in vitro assays of the antioxidant activities of ferrocene derivatives bearing amine , amide or hydrazine group , university of el oued, , vtrs laboratory, el oued, 2015

[11] abdelkerim rebiai, touhami lanez , development of an electrochemical method for the measurement of antioxidant capacity of pure compounds and natural substances extracts , university of el oued, vtrs laboratory, el oued,2013

[12] q. wang, x. wang, z. yu, x. yuan, k.j.i.j.o.e.s. jiao, spectroscopic and electrochemical studies on the binding mechanism of dna with an anthraquinone biological dye, nuclear fast red, 6 (2011) 5470-5481.

[13] h. khalid, h. yu, l. wang, w.a. amer, m. akram, n.m. abbasi, m.j.p.c. saleem, synthesis of ferrocene-based polythiophenes and their applications, 5 (2014) 6879-6892.

[14] p.j.s.j.s.t. molyneux, the use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity, 26 (2004) 211-219.

[15] n.g.j.j.o.s.c. tsierkezos, cyclic voltammetric studies of ferrocene in nonaqueous solvents in the temperature range from 248.15 to 298.15 k, 36 (2007) 289-302.

[16] s. ahmed, f.j.p.j.o.p.s. shakeel, voltammetric determination of antioxidant character in berberis lycium royel, zanthoxylum armatum and morus nigra linn plants, 25 (2012)(

[17] K.B. Haoua, T.J.J.o.F. Lanez, A. Sciences, Evaluation of the antioxidant activity of potatoes by radical scavenging activity Using O• 2− and DPPH, 10 (2018) 168-180.

[18] s. dziri, i. hassen, s. fatnassi, y. mrabet, h. casabianca, b. hanchi, k.j.j.o.f.f. hosni, phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (allium roseum var. odoratissimum), 4 (2012) 423-432 .

[19] r.a. hussain, a. badshah, m. sohail, b. lal, k.j.j.o.m.s. akbar, synthesis, chemical characterization, dna binding and antioxidant studies of ferrocene incorporated selenoure, 1048 (2013) 367-374.

[20] s. sujarani, a.j.j.o.m.s. ramu, docking of ethanamine schiff base imines & metal (ii) complexes, cytotoxicity & dna interaction studies, 1079 (2015) 353-362.

[21] v. vyskočil, m. blašková, a. hájková, e. horáková, z. krejčová, k. stávková, j.j.s.i.e. wang, volume 7., electrochemical dna biosensors–useful diagnostic tools for the detection of damage to dna caused by organic xenobiotics (a review), 2012.

[22] B. Dogan-Topal, B. Bozal-Palabiyik, S.A. Ozkan, B.J.S. Uslu, A.B. Chemical, Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with dsDNA by electrochemical and spectroscopic techniques, 194 (2014) 185-194.

[23] m. jamil, a.a. altaf, a. badshah, i. ahmad, m. zubair, s. kemal, m.i.j.s.a.p.a.m. ali, b. spectroscopy, naked eye dna detection: synthesis, characterization and dna binding studies of a novel azo-guanidine, 105 (2013) 165-170.

طرق العمل/النتائج و مناقشتها

الفصل الثالث

1.III.تصنيع المشتقات الفيروسينية :

لقد تم انجاز هذا العمل بمخبر البحث تثمين الموارد الصحراوية و تكنولوجيتها(VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي ، اذ استلمت العينات المدروسة من طرف الاستاذة د. همامي هادية و التي تم تحضيرها سنة 2015 .

1.1.III.الأجـهـزة المستعملـة:

جهاز التحاليل الكهروكيميائية (**radiometer analytical SAS) PGZ301 potentiostat**) مكون من :

خلية كهروكيميائية مزودة بثلاث اقطاب	Voltammetric cell with a volumetric capacity of 25mL
قطب عمل صنع من الكربون الزجاجي بمساحة 3 مم^2	A (GC) electrode working electrode.surface 3 mm^2
قطب عمل صنع من البلاتين بمساحة 2 مم^2	A Pt electrode working electrode.surface 2 mm^2
قطب مساعد صنع من البلاتين بمساحة 3 مم^2	A Pt wire counter electrode surface 3 mm^2
قطب المرجع صنع من البلاتين بمساحة 3 مم^2	An Hg/Hg_2Cl_2 reference electrode (3.0 M KCl)
الورق الكاشط	Paper abrasif p 4000
قارورتي الغاز: الازوت و الاكسجين	Commercial nitrogen and oxygen gaz (99%)
جهاز الاشعة فوق البنفسجية – المرئية	Vis spectrometer (Shimadzu 1800) and a quartz - voltammetric cell
الميزان التحليلي	Analytic Balance (Shanghai Sunrise Instrument précision 0. 1mg)

2.1.III. المتفاعلات و المواد المستعملة:

كل المركبات القياسية, المتفاعلات و المذيبات المستعملة قد جلبت من المؤسسات التالية الذكر:

ALFA AESAR , SIGMA ALDRICH وCHIMICALS, VWR اذ استعملت بدون معالجة أولية.

3.1.III. الشروط العامة لإجراء التفاعلات :

تم التعامل مع كل المركبات المدروسة "الحساسة للماء" في تركيب تجريبي بزجاجيات مجففة في درجة حرارة تفوق 75°م,اما بالنسبة لمجمل خطوات الدراسة الكهروكيميائية فهي منجزة في وجود تيار ازوتي.

2.III. تقدير الفاعلية البيولوجية :

III.1.2.تقدير الفعالية المضادة للاكسدة :

III.1.2.1 تقدير الفعالية المضادة للاكسدة "اختبار DPPH ":

✓ **بواسطة مطيافية الاشعة المرئية و الفوق بنفسجية :**

أجريت الطريقة الطيفية باستخدام أشعة فوق البنفسجية (**UV-Vis**), وتم الحصول على البيانات بواسطة برنامج Pentium IV (CPU 4.0 GHz and RAM 2 Gb) وباستخدام برنامج تابع للكمبيوتر (Shimadzu) UV probe software version 2.34 وتمت معالجة المعطيات (الرسوم البيانية) بواسطة برنامج2.0 OriginLab software (Integral Software France) version .

يتم تحضير محلول(**DPPH**)(**3.0** مغ،**25** مل، **0.3** ملي مول) مذاب في الاسيتونتريل و تحضير تراكيز مختلفة مخففة ايضا في الاسيتونتريل من المشتقات الفيروسينية المدروسة, من كل تركيز نأخذ 1ml نضيف لها 2ml من(DPPH) نجانس المحلول ،ثم ليترك في الظلام مدة ربع ساعة (يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة ، إذ يترك مدة زمنية لاستقرار التفاعل ، مع العلم أن الجذر (DPPH) مستقر نسبيا يتفاعل مع الجزئية مضادة للجذور ليتحول إلى (DPPH−H))، بعدها يتم رسم منحنى الامتصاص لتراكيز المحضرة في جهاز UV-Vis عند الطول الموجي 517 نانومتر.

تكرر نفس العملية بالنسبة للمركبات القياسية قصد المقارنة بين فعالية المشتقات الفيروسينية المدروسة ومركبات ذات فعالية مضادة للجذور و للأكسدة.

III.1.2.2. المعاملات الترموديناميكية المدروسة:

سنقوم بدراسة ثابت الترابط و الطاقة الحرة لجيبس ومعامل الانتشار لذا يجب توضيح طريقة حسابهم .

III.1.2.1.2. ثابت الترابط k:

هو حالة خاصة من ثابت الاتزان k وهو حالة اتزان الترابط الجزيئي ، بمعني التوازن بين عمليات الاتحاد وتفكك ، بعد

وقت لانهائي من التفاعل ، يتحول المكونات A و Bإلى النواتج c:

وحيث أف ثابت الترابط متعلق بطاقة جيبس الحرة وذلك لتحديد ثابت انحلال الرابطة. نستخدم الاتجاه المعكوس عندما يكون الناتج أو المتشكل من الدرجة الأولى ،تأخذ الوحدات دائما mole أوMol/L .

✓ **طريقة تحديد ثابت الترابط عند استخدام تقنية الفولطأمبيرومتري الحلقي:**

بعد تحقيق الشروط المبية في الطريقة الكيروكيميائية باستعمال تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي نتحصل على المنحنيات الفولط أمبيرومترية في وجود و غياب مضاد الاكسدة ومنه نرسم log1/C بدلالةLog i/i0−i

$$\log\frac{1}{[C]} = \log K + \log\frac{i}{i_0 - i}$$

حيث:

C: تركيز المضاد التاكسدي بـ(mol/L)

K: ثابت الترابط بـ(L/mol)

i و i_0 :هما على التوالي كثافة التيار في وجود و غياب المضاد التاكسدي.

من خلال المعادلة المرسومة و بأخذ اللوغريتم العشري لقيمة تقاطع المستقيم مع محور y نستطيع إيجاد قيمةK.

✓ **طريقة Benesi–Hildebrand لتحديد ثابت الترابط:**

هذه الطريقة رياضية تستخدم في الكيمياء الفيزيائية لتحديد ثابت التوازن و العناصر المتفاعلة في التفاعلات غير رابطة،وتطبيق عادة في تفاعلات المعقدات معطي و مكتسب (host–guest)الجزيئية.

تعتمد هذه الطريقة على افتراض أن إحدى المتفاعلات تكون بكمية زائدة عن الأخرى، تسمح أطياف الامتصاص الالكترونية قبل و بعد حدوث التفاعل بتحديد ثابت الترابط K.

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

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

2.2.1.2.III. الطاقة الحرة الترابط ΔG :

تحتوي دالة جيبس لنظام كبير على عدة متغيرات (Ni) تؤثر على (الطاقة الحرة ΔG) ، هي تصف التركيب الكيميائي و كميات المواد ، ويعبر عنها بأعداد الجزيئات الموجودة في التفاعل، بعبارة أخرى هي الطاقة الكيميائية (جهد أو كمون مادة كيميائية) للقيام بتفاعل كيميائي أو لتحويل مواد أخرى . ويحتاج تكوين رابطة كيميائية أو فكيا إلى طاقة والتي يمكن أن تُمتص أو تصدر من نظام كيميائي.

يمكن حساب قيمة الطاقة الحرة ΔG حسب المعادلة التالية:

$$\Delta G = -RTK\ln$$

حيث :

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

T : درجة الحرارة بالكلفن.

K : ثابت الترابط بالوحدة (L/mol)

3.2.1.2.III. معامل الانتشار D:

يعرف الانتشار(diffusion) فيزيائيا وكيميائيا أنها عملية توزيع جزيئات أو ذرات أو حبيبات بشكل متساوى في فراغ أو في حّيز متاح. ويتم الانتشار بانتقال الجزيئات أو الذرات من منطقة ذات تركيز عالي إلى منطقة ذات تركيز أقل حتى يتساوى تركيز الجزيئات في المنطقتين في الفولطاأمبيرومتري الحلقي توضح معادلة Randles–Sevcik تأثير سرعة المسح على كثافة التيار، من أجل أكسدة بسيطة ،تكون كثافة التيار لا تتعلق فقط بالتركيز و خصائص الانتشار للمواد الفعالة كهربائيا بل بسرعة المسح أيضا .

$$i_p = 0.4463\text{nFAC}\left(\frac{nFvD}{RT}\right)^{1/2}$$

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

$$i_p = 2.69.10^5 n^{3/2} ACD^{1/2} v^{1/2}$$

i_p : كثافة التيار القصوى بأمبير .

n : عدد الالكترونات المنتقمو عند الاكسدة.

A : مساحة سطح الكترود العمل (cm^2) .

C: تركيز المادة النشطة كهربائيا.

D : معامل الانتشار (cm^2 / s).

V : سرعة مسح (V/s).

R : ثابت الغازات المثالية بالوحدة.

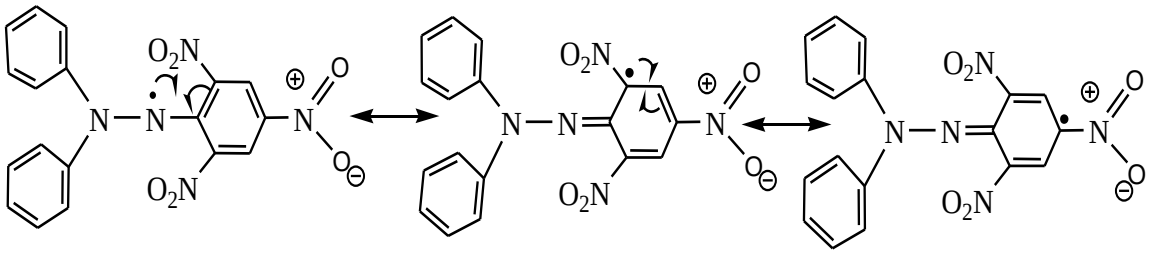
T : درجة الحرارة بالكلفن.

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

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

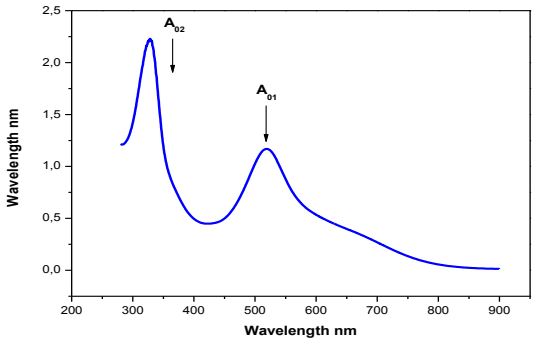
يعد اختبار DPPH من اهم الاختبارات المعتمدة في تقييم قدرة المركبات الاصطناعية و المستخلصات النباتية على اسر و التقاط الجذور الحرة بالطريقة اللونية ، و ذلك باستعمال الجذر الحر الثابت 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

معظم الجذور الأروماتية التي تشتمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيئي و التي تكون مستقرة في أغلب الأحيان ، ويرجع استقرار هذا النوع من الجذور لعدم تمركز الإلكترون المنفرد بموقع معين في تركيب الجذر، عند استقرار هذا الجذر يكون قد اتحد على الفور مع نوع من الجذور الحرة أو مضادات الجذور الحرة وذلك لاكتسابه الكترونا أو جذرا هيدروجينيا حرا .



الشكل(1.III): التراكيب الرنينية لجزيء DPPH.

طيف الامتصاص العملي لجذر DPPH 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:

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

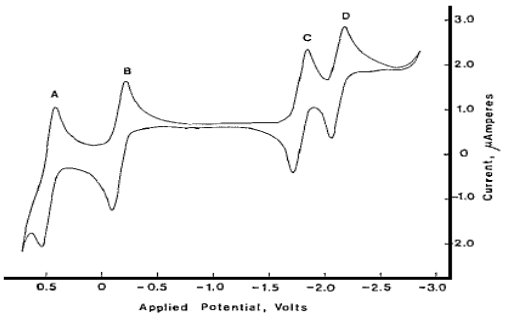
$$HO\text{-}R\text{-}O^{\circ} + (DPPH) \longrightarrow (DPPH)\text{:}\ H^{\circ} + O = R = O \quad (2)$$

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

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

المعادلة (1.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 .

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 (2.III) : الاكسدة و الارجاع لـجذر الـــ DPPH .

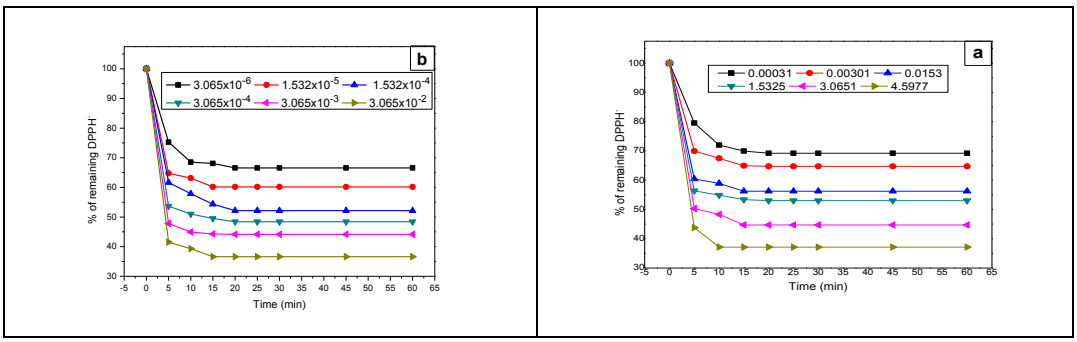
في اختبار(DPPH) نلاحظ تغيرات مختلفة لمضادات الأكسدة تبعا لطبيعتها. من بينها الحركية السريعة. المتوسطة أو البطيئة وفقا للزمن اللازم بغية الوصول إلى النتيجة المنشودة , و قدرة مضاد الجذور تحسب انطلاقا من نسبة (DPPH) المتبقية في نهاية الوقت المحدد للتفاعل بحسب المعادلة التالية :

$$100 - (\frac{(A_0 - A)}{A_0} \times 100)$$

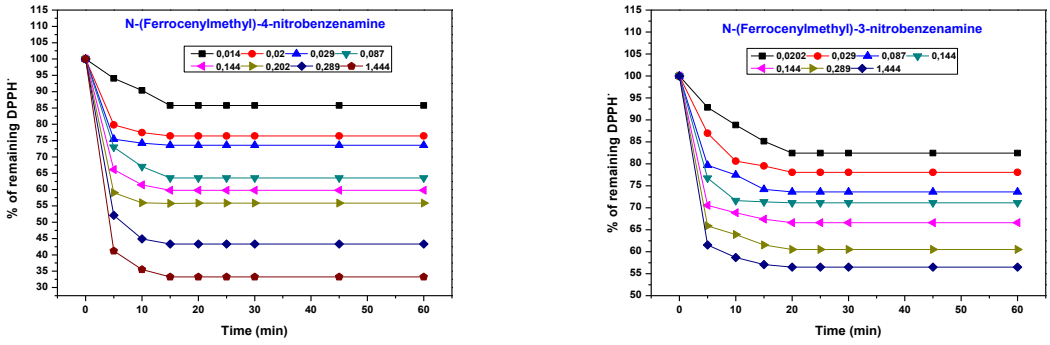
المعادلة (3.III): تحديد نسبة الـــ DPPH المتبقية بعد التفاعل.

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):



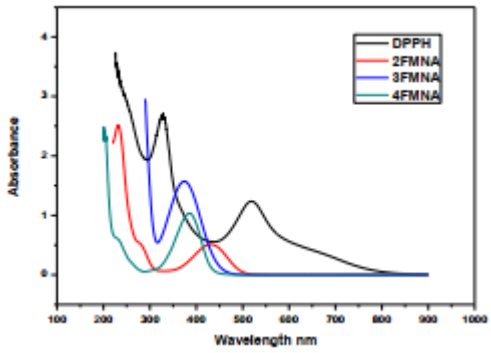
الشكل (4.III): تحديد الزمن الـــلازم لاستقرار التفاعل (a) حمض الاسكوربيك (b) حمض الغاليك .



الشكل (5.III) : تحديد الزمن الـــلازم لاستقرار التفاعل 3FMNA و 4FMNA.

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 (6.III).



الشكل (6.III) : طيف الامتصاص لـ DPPH و بعض المركبات المدروسة .

قبل الخوض فيدراسة الفعالية المضادة للجذور الحرة ،لابد من الإشارة الى بعض الاختصارات المعتمدة خلال الدراسة :

compound	Abriviation
N-(Ferrocenylmethyl)-2-nitrobenzenamine	2FMNA
N-(Ferrocenylmethyl)-3 -nitrobenzenamine	3FMNA
N-(Ferrocenylmethyl)-4 -nitrobenzenamine	4FMNA

1.3.1.2.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 (7.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(4.III): معادلة Benesi-Hildebrand.

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

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

انطلاقا من اعتماد تراكيز ممددة المركبات الفينولية المدروسة و تركيز معلوم ل- 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(6.III) : معادلة تحديد النسبة المئوية لتثبيط جذر الـ DPPH بعد التفاعل.

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
DPPH-AG	y = 8102,x + 39,93	0,863	$1,24.10^{-3}$
DPPH-2FMNA	y = 40.239x + 37.537	0.917	0.3100
DPPH-3FMNA	y = 74.04x + 18.421	0.967	0.4300
DPPH-4FMNA	y = 8083.1x + 14.515	0.968	0.0044

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 الاسكوربيك "الفيتامين C" , الالفا – طوكوفيرول , حمض الغاليك و N–(فيروسينيل ميثيل)–2, 3, 4 – نتروانيلين), حيث تعتبر بأنها اشهر مضادات الأكسدة فقد ابدى

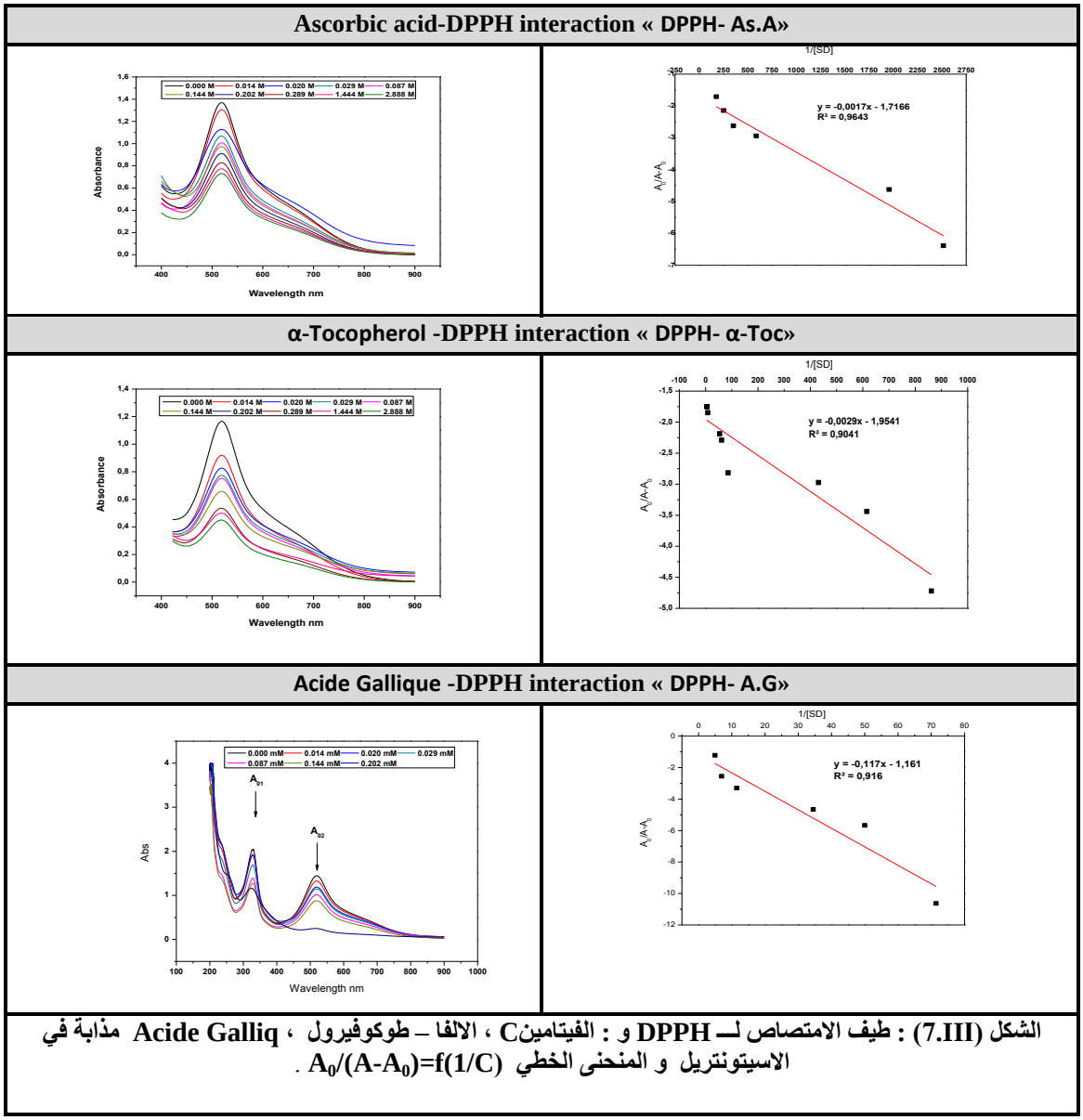
الفيتامين C قدرة عالية على اقتناص جذرDPPH (IC_{50} =0.002mg/mL) , ايضا قدرت قيمة اقتناص جذر DPPH للالفا – طوكوفيرول (IC_{50} = 0.120 mg/mL) ،وفي حين سجلت IC_{50} للمشتق 4FMNA بـ (IC_{50} = 0.0044 mg/mL) اي ان تأثير المشتق في الوضع بارا كان حوالي نصف ذلك التأثير عند الفيتامين C. كما لوحظ ان باقي المشتقات 3FMNA، 2FMNA لهما القدرة كبيرة على اقتناص جذر DPPH، حيث قدرة قيم IC_{50} للمشتقان بـ (0.310 mg/mL) و(0.430 mg/mL) على الترتيب ،اي ان تأثير المشتق في الوضع اورثو كان حوالي نصف ذلك التأثير عند للالفا – طوكوفيرول .

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

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

و بناءا على ما اشارت اليه الدراسات السابقة و التي تمحورت حول الفعل المانع للاكسدة ان التداخل البنيوي و الوظيفي كذلك الدورRed / 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 مذابة في الاسيتونتريل والمنحنى الخطي $A_0/(A-A_0)=f(1/C)$ و الموضحة بالشكل (7.III).



الشكل (7.III) : طيف الامتصاص لـــ DPPH و : الفيتامينC ، الالفا – طوكوفيرول ، Acide Galliq 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 ΔGالناتجة 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 ، N–(فيروسينيل ميثيل)–2, 3, 4 – نتروانيلين .

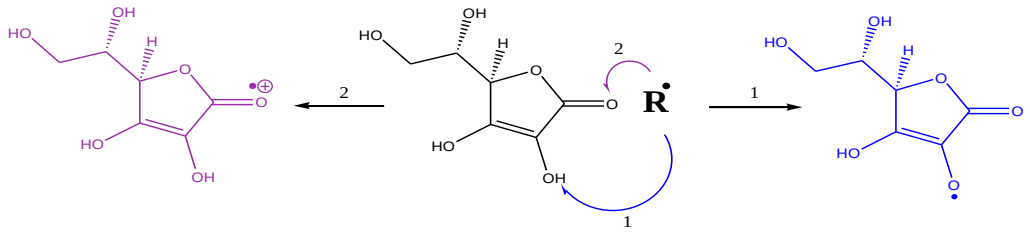
Compound	Equation	R^2	K (L/mol)	ΔG(KJ/mol)
DPPH-AsA	y = -0.0017x – 1.7166	0.9643	1010	-17.2
DPPH-TOC	y = -0. 0029x – 1.9541	0.9041	674	-16.1
DPPH-AG	y = -0,117x - 1,161	0.916	9,92	-5,69

DPPH-2FMNA	y = -0.038x – 1.735	0.9153	44.6	-9.42
DPPH-3FMNA	y = -0.064x – 2.528	0.9184	39.5	-9.11
DPPH-4FMNA	y = -0.0017x – 1.2865	0.9778	757	-16.4

من خلال طيف الامتصاص لـ DPPH والفيتامين 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.

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) .

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 (7.III) : الاحتماليات الممكنة لتثبيط جذر الـ DPPH بواسطة حمض الاسكوربيك .

2.2.III. تقدير الفعالية المضادة لجذر DPPH بواسطة تقنية الفولطامبيري الحلقي:

لهذا الجذر قدرة عالية على التفاعل , اذ يمكنه اختراق الاغشية الخلوية بسهولة في مواقع نوعية و يتفاعل مع معظم الجذور الحرة ومضادات الجذور الحرة ، مما يسبب اضرار نسيجية (سرطان خلوي) و من ثم الموت الخلوي يتم انتاج هذا الجذر بطرق مختلفة في العضوية.

التقنية الفولطاأمبيرومترية الحلقية استخدمت لإنتاج جذرDPPH و ذلك بإرجاع جزيئات الأكسجين المذاب في محلول (ACN) او (DMF) خلال طبقة الانتشار على مسرى الكربون الزجاجي.

وجود جذر DPPH سهل الكشف عنه بواسطة التيار المصعدي المقاس على نفس المسرى خلال المسح العكسي. نعلم أن إرجاع DPPH هو تفاعل عكوس كما نعلم أيضا أن الجذر DPPH جذر مستقر في الأوساط غير المانحة للبروتونات (aprotique) و هي الاوساط العضوية وبالتالي فتعتبر هذه الطريقة من أسهل الطرق لتوليد جذر ($DPPH^{\cdot}$) 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.

III.1.2.2. دراسة التداخل DPPH– مضاد الاكسدة :

III.1.1.2.2. دراسة التداخل DPPH– حمض الاسكوربيك :

النتائج المتحصل عليها انطلاقا من تقنية الفولطامتري الحلقي تسمح بتحديد الشروط التي يتم فيها تفاعل الاكسدة و الارجاع 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 الغاليك،N– (فيروسينيل ميثيل) – 4،3،2 نتروانيلين مذاب في الاسيتونتريل و في خلية كهروكيميائية معزولة مشبعة بغاز الاكسجين التجاري و باعتماد الكهروليت 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}) :

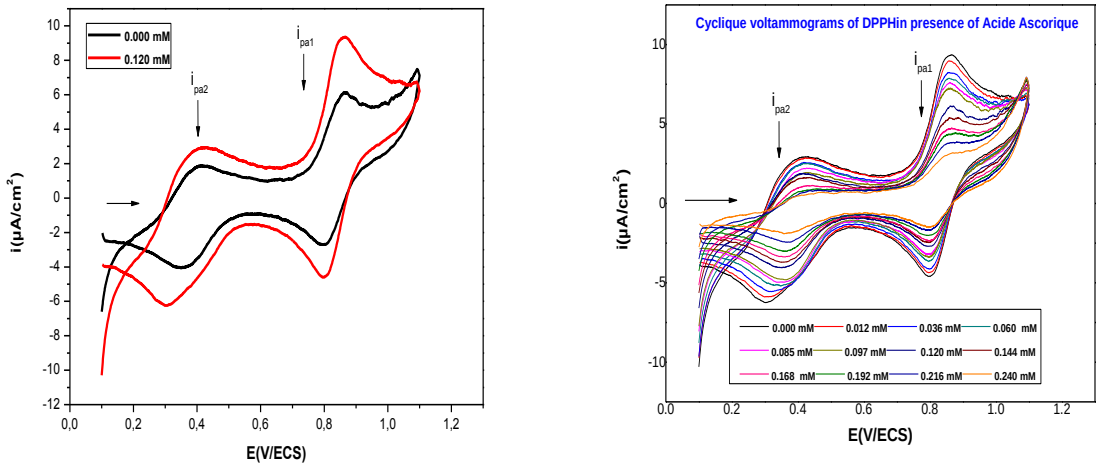
ان المبدأ الذي يعتمد عليه التداخل بين مضادات الاكسدة و الجذر النشط , هو ان كمون الاكسدة يميل بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة مضاد الاكسدة ذلك ان ارجاع جذر الاكسجين اسهل منه عند اكسدته , آلية التداخل بين حمض الاسكوربيك و جذر **DPPH**.

الجدول (III.3): يوضح المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل الجذرDPPH مع حمض الاسكوربيك .

Compound	ipa (uA)	ipc (uA)	Ep_a	Ep_c	E^0(V)	$\Delta E^0 (mV)$	$\Delta ip_a\%$	Kox/Kred
DPPH	7,659	-6,121	0,8552	0,799	0,8271	_	_	_
***DPPH* - A.Asc**	4,547	-3,635	0,8661	0,7971	0,8316	0,0045	40,632	1,191

2.تحديد ثابت الترابط :

عند اضافة 0.1 مل (1 ملي مول) من حمض الاسكوربيك المذاب في الاسيتونتريل داخل خلية مشبعة بالاكسجين والمحتوية على الكهروليت المساعد مذاب في نفس المذيب , يرسم الفولطاموغرام لإرجاع **(DPPH)** في وجود مضاد الأكسدة القياسي (حمض الاسكوربيك), ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع **(DPPH)**, الزيادة في تركيز حمض الاسكوربيك يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي (I_{Pa})لـ **DPPH** (تصل الى35 %), بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير .



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

التناقص في التيار المصعدي لـ(DPPH) يدل على أن حمض الاسكوربيك تفاعل مع(بشكل غير عكوس.

من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج , انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع (DPPH) و بالتالي فعالية مضادة أكبر.

باستعمال تقنية الفولطا متري الحلقي نتحصل على المنحنيات الفولطا أمبيرمترية في وجود وغياب مضادة للأكسدة نرسم المنحنى الخطي :Log1/C و Log i/i0−i.

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

المعادلة(8.III) : حساب ثابت الرابط K .

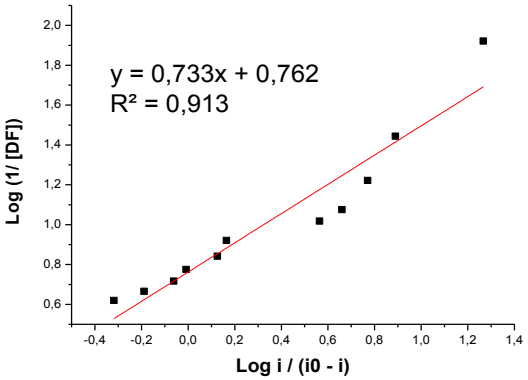
حيث :$[As.A]$:تركيز حمض الاسكوربيك. i_0 i, : شدة التيار عند غياب ووجود حمض الاسكوربيك .

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(mmol/l)	Log (1/ [DF])	i(µA)	Log i / (i_0 – i)	Equation	
As.A	0,000	//		//	Y=0.733x+0.762	0.913
	0,012	1,9208	7,266	1,2669		
	0,036	1,4437	6,784	0,8895		
	0,06	1,2218	6,548	0,7704		
	0,084	1,0757	6,285	0,6603		
	0,096	1,0177	6,0158	0,5636		
	0,12	0,9208	4,547	0,1647		
	0,144	0,8416	4,38	0,1257		
	0,168	0,7747	3,792	-0,0085		
	0,192	0,7167	3,556	-0,0621		
	0,216	0,6655	3,011	-0,1886		
	0,24	0,6198	2,487	-0,3180		

يمثل الشكل (9.III) المنحنى الخطي لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك .



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

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

الجدول(5.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذرDPPH و حمض الاسكوربيك.

Compound	Equation	R^2	$K(L.mol^{-1})$	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
***DPPH* -A.Asc**	y = 0,733x + 0,762	0,913	5,7809	-4,35

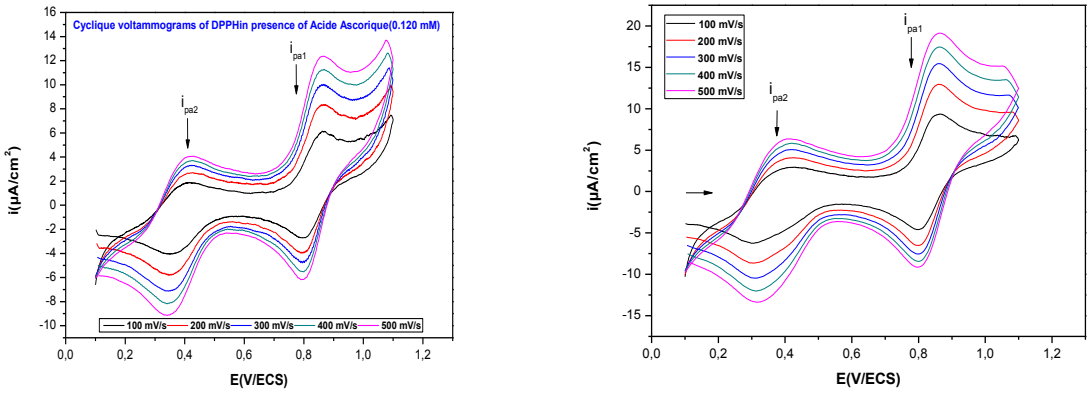
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع*DPPH* في وجود تراكيز متزايدة من حمض الاسكوربيك الموضحة بالشكل (8.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي .

3.معامل الانتشار:

من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي وحركية الجذرDPPH بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع DPPH قبل إضافة المادة المدروسة ونأخذ التيار المصعدي(I_{Pa}) كتيار لأكسدة DPPH.

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز DPPH على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة الشكل **(10.III)**

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي , يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع الجذر DPPH في وجود واحد ملي مول من حمض الاسكوربيك.



الشكل (10.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH و منحنى في وجود (1mM) من حمض الاسكوربيك 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 (الشكل10.III) 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 (9.III) : حساب التيار لـ (*Randels*) و (*Sevick*).

حيث:

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

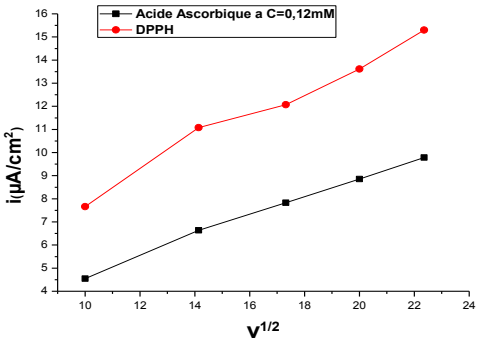
D: معامل الانتشار (cm^2/s), v : سرعة المسح ($V.s^{-1}$), C : تركيز العينة المدروسة ($mol.cm^{-3}$)

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.

compoud	V	$(v)^{1/2}$	i (1)	i (2)
As.A	**100**	10	4,547	7,659
	200	14,142	6,635	11,081
	300	17,32	7,832	12,069
	400	20	8,853	13,616
	500	22,36	9,783	15,3

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



الشكل (11.III) : المنحنى الخطي لـ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله DPPH 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.

Compound	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
DPPH	y = 0,586x + 2,121	0,98	5,27288E-09
DPPH **-A.Asc**	y = 0,417x + 0,524	0,995	2,67008E-09

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (7.III) أنه تم حدوث تداخل بين الجذر DPPH و المركب القياسي انطلاقا من قيم معامل الانتشار, حيث انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع (DPPH) كانت الفعالية المضادة للأكسدة أكبر .

معامل الانتشار اقل في حال ارتباط حمض الاسكوربيك مع الجذر(DPPH) منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج و التي تعيق حركة انتشار الجذر في جوار سطح الالكترود.

2.1.2.2III دراسة التداخل DPPH– حمض الغاليك :

بغية معرفة مدى قدرة حمض الغاليك على تثبيط جذر DPPH وتحديد 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}) :

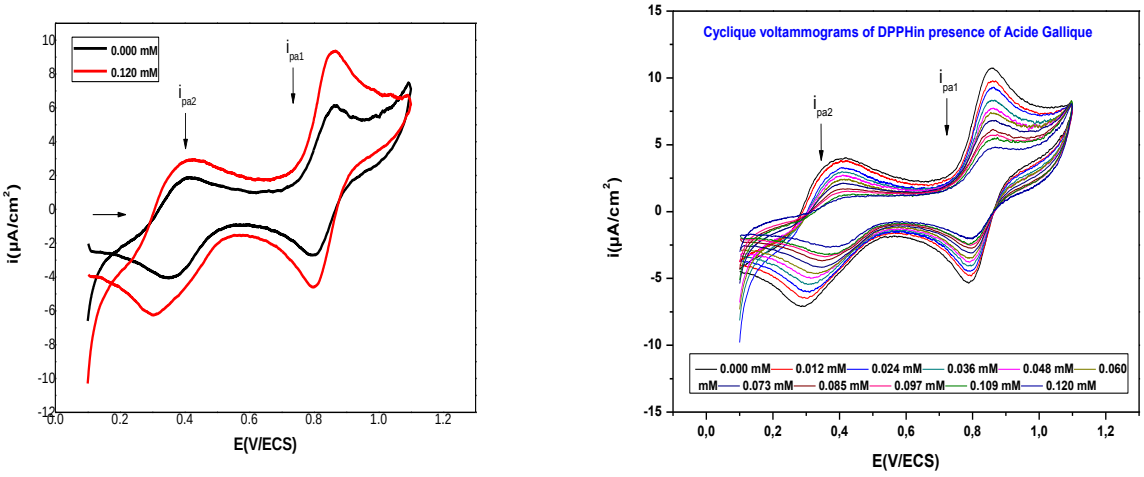
ان المبدأ الذي يعتمد عليه التداخل بين مضادات الاكسدة و الجذر النشط , هو ان كمون الاكسدة يميل بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة مضاد الاكسدة ذلك ان ارجاع جذر الاكسجين اسهل منه عند اكسدته , آلية التداخل بين حمض الغاليك و جذر DPPH.

الجدول(8.III) :معطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل جذر DPPH مع حمض الغاليك.

Compound	ipa (uA)	ipc (uA)	Ep_a	Ep_c	E^0(V)	Δ	Δ	Kox/K red
DPPH	8,519	-8,98	0,857	0,789	0,823	_	_	_
DPPH **- AG**	3,55	-3,298	0,8604	0,796	0,828	-0,005	58,328	0,816

2.تحديد ثابت الترابط :

عند اضافة 0.1 مل (1 ملي مول) من حمض الغاليك المذاب في الاسيتونتريل داخل خلية مشبعة بالاكسجين و المحتوية على الكهروليت المساعد مذاب في نفس المذيب , يرسم الفولطاموغرام لإرجاع DPPH في وجود مضاد الأكسدة القياسي (حمض الغاليك)، ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع DPPHالزيادة في تركيز حمض الغاليك يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي(I_{Pa}) لـ(DPPH) تصل الى35 %, بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (12.III).



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

التناقص في التيار المصعدي لـ(DPPH) يدل على أن حمض الغاليك تفاعل مع DPPH بشكل غير عكوس.

من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج , انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع DPPH و بالتالي فعالية مضادة أكبر.

باستعمال تقنية الفولطا متري الحلقي نتحصل على المنحنيات الفولطا أمبيرمترية في وجود وغياب مضادة للأكسدة نرسم Log1/C و $Log\ i/i_0-i$.

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

المعادلة (8.III) : حساب ثابت الرابطة K .

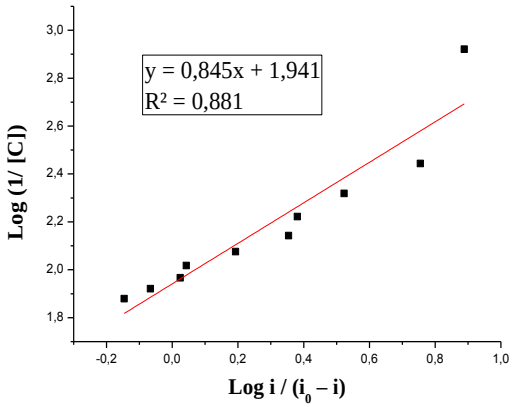
حيث :$[\boldsymbol{AG}.\boldsymbol{A}]$: تركيز حمض الغاليك ,i i_0 : شدة التيار عند غياب ووجود حمض الغاليك .

انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل (12.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية والمبينة بالجدول(9.III) .

الجدول (9.III) : قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لحمض الغاليك.

Compound	La concentration (mmol/l)	Log(1/[DF])	i	Log i / (i_0 – i)	Equation	
AG.A	0,000		8,519		Y=0.845x+1.941	0.881
	0,0012	2,921	7,5441	0,8886		
	0,0036	2,444	7,2457	0,7551		
	0,0048	2,319	6,5543	0,5232		
	0,006	2,222	6,0158	0,3808		
	0,0072	2,143	5,906	0,3542		
	0,0084	2,076	5,189	0,1926		
	0,0096	2,018	4,47	0,0430		
	0,0108	1,967	4,38	0,0246		
	0,0120	1,921	3,934	-0,0665		
	0,0132	1,879	3,550	-0,1460		

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



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

معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي يتم حسابها عن طريق اعتماد على المعادلة **(5.III)** موضحة في الجدول **(10.III)** .

الجدول(10.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر DPPH حمض الغاليك .

Compound	Equation	R^2	$K(L.mol^{-1})$	Δ
***DPPH* -A.G**	y = 0,845x +1,941	0,881	87,297	-11,081

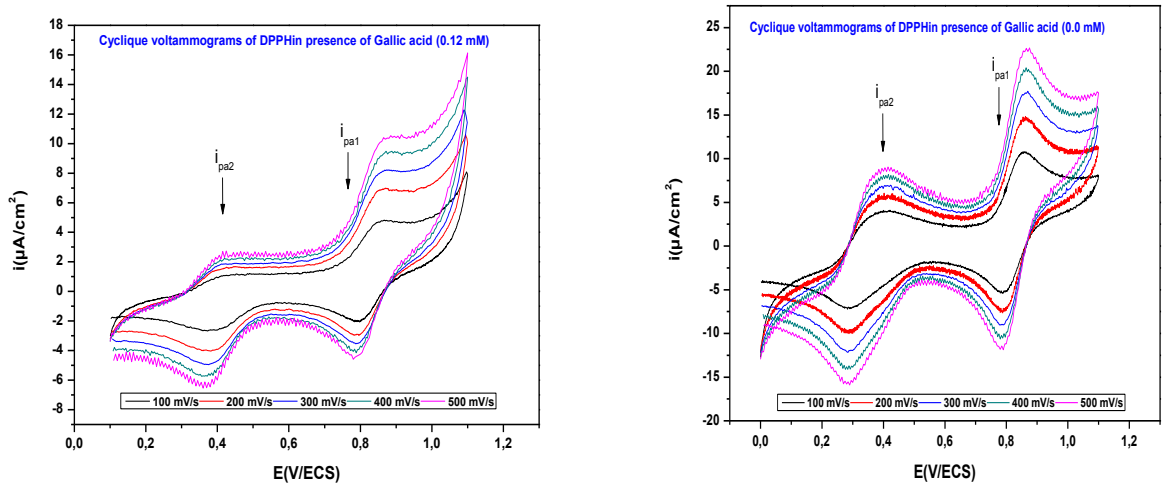
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من حمض الغاليك الموضحة بالشكل (12.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي.

1. معامل الانتشار:

من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي وحركية جذر DPPH بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة ونأخذ التيار المصعدي(I_{Pa}) كتيار لأكسدة DPPH

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز DPPH على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة الشكل**(14.III)**

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي , يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع (DPPH) في وجود واحد ملي مول من حمض الغاليك الشكل **(14.III)** .



الشكل (14.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH و منحنى في وجود (1mM) من حمض الغاليك مذابين في ACN/ 0.1M من Bu_4NBF_4 بسرعات مسح مختلفة.

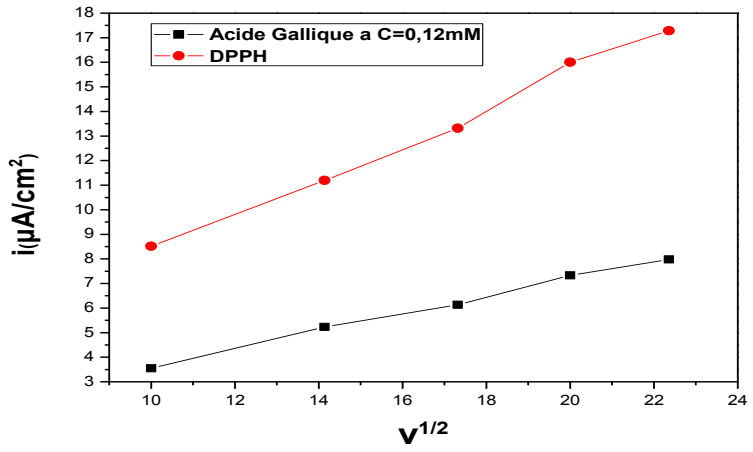
يعبر على التيار بالعلاقة (*Randels*) و (*Sevick*) اذ حدد ذلك انطلاقا من الفولطاموغرام الحلقي (الشكل14.III) يتضح جليا من خلاله عكوسية النظام .

لهذا فانه يعبر عن علاقة التيار لـ(Randels) و (Sevick) .

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

Compoud	V	$(v)^{1/2}$	i (1)	i (2)
AG.A	**100**	10	3,55	8,519
	200	14,142	5,232	11,191
	300	17,32	6,135	13,315
	400	20	7,33	16,006
	500	22,36	7,98	17,287

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



الشكل (15.III) : المنحنى الخطي لـ Ipa=f($\sqrt{v}$) في حالة DPPH· و في حال وجود (1mM) من حمض الغاليك مذابين في ACN/ 0.1M من (Bu_4NBF_4) 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 (12.III).

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

Compound	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
DPPH	y = 0,727x + 1,061	0,993	4,3219E-08
DPPH **-AG**	y = 0,359x + 0,020	0,995	1,0539E-08

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (12.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 (DPPH) كانت الفعالية المضادة للأكسدة أكبر .

معامل الانتشار اقل في حال ارتباط حمض الغاليك مع الجذر النشط DPPH منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج و التي تعيق حركة انتشار الجذر في جوار سطح الالكترود.

3.1.2.2.III .دراسة التداخل بين جذرDPPH و ألفا طوكوفيرول:

بغية معرفة مدى قدرة ألفا طوكوفيرول على تثبيط جذر DPPH وتحديد المعاملات الترموديناميكية الناتجة عن هذا التداخل ,تم تحضير ملي مول واحد من ألفا طوكوفيرول 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}) :

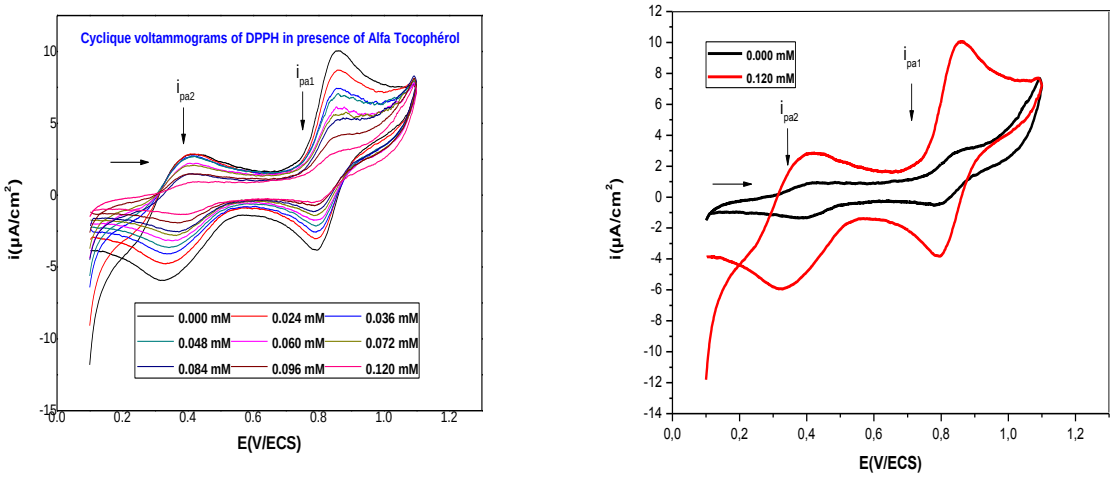
ان المبدأ الذي يعتمد عليه التداخل بين مضادات الاكسدة و الجذر النشط , هو ان كمون الاكسدة يميل بالاتجاه الاكثر ايجابا عند اضافة مضاد الاكسدة ذلك ان ارجاع جذر الاكسجين اسهل منه عند اكسدته , آلية التداخل بين حمض ألفا طوكوفيرول و جذرDPPH.

الجدول (13.III): يوضح المعطيات الكهروكيميائية الناتجة عن تداخل جذر DPPH وألفا طوكوفيرول.

Compound	ipa (uA)	ipc (uA)	Ep_a	Ep_c	E^0(V)			Kox/ Kred
	8,436	-2,502	0,854	0,791	0,8225	_	_	_
***DPPH* -TOC**	2,185	-0,161	0,871	0,782	0,8265	0,004	74,099	1,168

2.تحديد ثابت الترابط :

عند اضافة 0.1 مل (1 ملي مول) من ألفا طوكوفيرول المذاب في الاسيتونتريل داخل خلية مشبعة بالاكسجين و المحتوية على الكهروليت المساعد مذاب في نفس المذيب , يرسم الفولطاموغرام لإرجاع (DPPH) في وجود مضاد الأكسدة القياسي (ألفا طوكوفيرول), ليتم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة للجزيئة تبعا لتفاعلها مع (DPPH)،الزيادة في تركيز ألفا طوكوفيرول يؤدي إلى نقصان في شدة التيار المصعدي(I_{Pa}) لـ(DPPH تصل الى35 %), بينما شدة التيار المهبطي لا تتغير انظر الشكل (16.III).



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

التناقص في التيار المصعدي لـ(DPPH) يدل على أن ألفا طوكوفيرول تفاعل مع DPPH بشكل غير عكوس.

من خلال هذه النتائج يمكن ان نستنتج , انه كلما كانت قابلية مضادات الأكسدة عالية لإرجاع DPPH و بالتالي فعالية مضادة أكبر.

باستعمال تقنية فولطامتري الحلقي نتحصل على المنحنيات الفولط أمبيرومترية في وجود وغياب مضاد للأكسدة ومنه نرسم $\log 1/C$ بدلالة $\log i/i_0$:

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

المعادلة (8.III) : معادلة حساب ثابت الرابطة K.

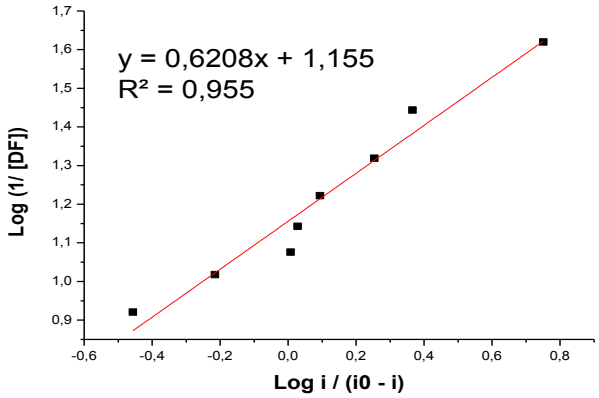
حيث : $[\propto -TOC.A]$:تركيز ألفا طوكوفيرول. i_0 i, : شدة التيار عند غياب ووجود ألفا طوكوفيرول .

انطلاقا من الفولطاموغرام المبين بالشكل (16.III) يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية والمبينة بالجدول(14.III).

الجدول (14.III) : قيم Log1/C و Log i/i_0-i المستندة من الفولطاموغرام الحلقي لألفا طوكوفيرول.

Compound	La concentration (mmol/l)	Log (1/ [DF])	I	Log i / (i_0 – i)	Equation	
	0,000	//		//	Y=0.6208x+1.155	0.955
	0,024	1,6198	7,1648	0,7510		
	0,036	1,4437	5,896	0,3657		
	0,048	1,3188	5,417	0,2539		
	0,06	1,2218	4,673	0,0941		
	0,072	1,1427	4,354	0,0280		
	0,084	1,0757	4,253	0,0072		
	0,096	1,0177	3,194	−0,2152		
	0,12	0,9208	2,185	−0,4565		

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



الشكل (17.III): المنحنى الخطي $i_0/(i-i_0)=f(1/C)$ لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من ألفا طوكوفيرول 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 على المعادلة (5.III) موضحة في الجدول (15.III).

الجدول(15.III): قيم معامل الارتباط K و الطاقة الحرة للترابط ΔG الناتجة عن تداخل جذر DPPH و ألفا طوكوفيرول.

Compound	Equation	R^2	K($L.mol^{-1}$)	$\Delta G\ (KJ.mol^{-1})$
DPPH -TOC	y = 0,6208x + 1,155	0,955	14,288	-6,59

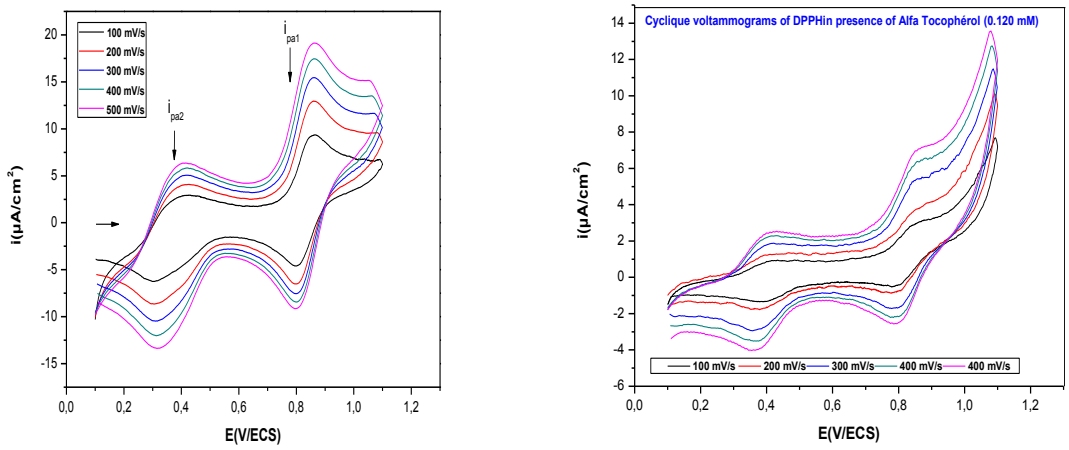
يلاحظ جليا من خلال الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH في وجود تراكيز متزايدة من ألفا طوكوفيرول الموضحة بالشكل (16.III) ان كمون الاكسدة يميل الى القيم الاكثر ايجابا و التي تأكدت من خلال قيمة الطاقة الحرة للترابط ΔG و التي تدل على تلقائية التفاعل او التداخل و ان طبيعته تداخل فيزيائي .

1. معامل الانتشار:

من اجل معرفة السلوك الكهروكيميائي وحركية جذر DPPH النشط بمفرده يتم رسم الفولطاموغرام للمحلول المشبع بالأكسجين قبل إضافة المادة المدروسة ونأخذ التيار المصعدي(I_{Pa}) كتيار لأكسدة DPPH .

(I_{Pa}) يتعلق مباشرة بتركيز DPPH على سطح المسرى و عند سرع مسح مختلفة الشكل (18.III).

و لمعرفة مدى تاثير المركب المضاد للاكسدة على حركية و السلوك الكهروكيميائي , يتم رسم الفولطاموغرام لإرجاع DPPH في وجود واحد ملي مول من حمض الاسكوربيك الشكل (18.III) .



الشكل (18.III) : الفولطاموغرام الحلقي لإرجاع DPPH و منحنى في وجود (1mM) من ألفا طوكوفيرول 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. 28) 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(9.III) :معادلة حساب التيار لـ (*Randels*) و (*Sevick*) .

حيث :

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

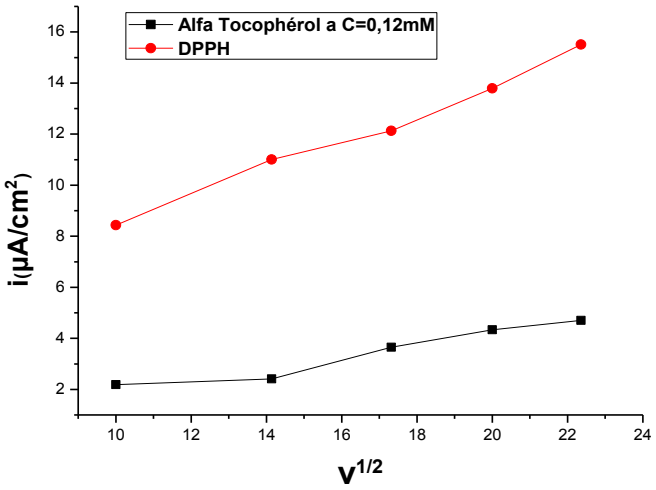
D: معامل الانتشار (cm^2/s), v : سرعة المسح ($V.s^{-1}$), C : تركيز العينة المدروسة ($mol.cm^{-3}$)

باعتماد نفس الشروط التجريبية , يمكن استخراج بعض المعطيات الكهروكيميائية استنادا للمنحنى الفولطاأمبيرومتري الحلقي الموضح بالشكل (18.III) مدونة في الجدول (16.III).

الجدول (16.III): قيم كثافة التيار DPPH بالهيئة الحرة و المرتبطة مع ألفا طوكوفيرول عند سرعات المسح المختلفة.

Compound	V	$(v)^{1/2}$	i (1)	i (2)
$\propto -TOC.A$	**100**	10	2,185	8,436
	200	14,142	2,415	11,006
	300	17,32	3,652	12,128
	400	20	4,338	13,787
	500	22,36	4,705	15,51

حركية التفاعل بين مضادات الأكسدة و جذرDPPH النشط يمكن أن تستخرج من ميل المنحنى الخطي للشكل (19.III).



الشكل (19.III) : المنحنى الخطي لـ $Ipa=f(\sqrt{v})$ في حاله DPPH و في حال وجود (1mM) من الفا طوكوفيرول 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 (17.III).

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

.

Compound	Equation	R^2	$D(cm^2/s)$
DPPH	y = 0,551x + 2,933	0,989	4,66E-09
DPPH **-TOC**	y = 0,224x - 0,307	0,941	7,704E-10

يمكن أن نستنتج من خلال نتائج الجدول (17.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 DPPH النشط كانت الفعالية المضادة للأكسدة أكبر.

معامل الانتشار اقل في حال ارتباط ألفا طوكوفيرول مع الجذر النشط DPPH منه في حال الجذر بمفرده يفسر ذلك بزيادة الكتله المولية للمعقد الناتج و التي تعيق حركة انتشار الجذر في جوار سطح الالكترود.

III.2.2.1. 4.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 N– (فيروسينيل ميثيل) – 4،3،2 نتروانيلين ،مذابة في الاسيتونتريل والمنحنى الخطي $A_0/(A-A_0) = f(1/C)$ و الموضحة بالشكل (7.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 yنستطيع 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 ذا اكبر قيمة مقارنة بالمركبات الأخرى ويدل هذا على أن المركب له طبيعة التفاعل بينه وبين جذر $DPPH^{\circ}$ كيميائي , أما المركبات الأخرى فإن طبيعتها تفاعل فيزيائي .

تمثل قيم السالبة لطاقة الحرة للترابط إلى تداخل بين المركبات الفينولية مع جذر $DPPH^{\circ}$ والتي تدل على تلقائية التفاعل .

كما يعتبر اختبار DPPH 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 لـ DPPH 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°DPPH 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 DPPH مع المركبات المدروسة حصل على القيم المدونة في الجدول التالي :

Adduct	Equation	R^2	$K(L.mol^{-1})$	Δ	$D(cm^2/s)$
DPPH- As. A	y = 0,733x + 0,762	0,913	5,7809	-4,35	$2,67008\times 10^{-9}$
DPPH- Gall .A	y = 0,845x + 1,941	0,881	87,297	-11,081	$1,0539\times 10^{-8}$
DPPH - TOC	y = 0,6208x + 1,155	0,955	14,288	-6,59	$7,704\times 10^{-10}$
DPPH- 2FMNA	y =0.7x +2.5	0.876	316.227	-14.2772	6.601×10^{-6}
DPPH- 3FMNA	y = 1.226x + 2.259	0.997	181.551	-12.896	2.724×10^{-5}
DPPH- 4FMNA	y =1.2692x +1.9577	0.936	18.8566	-7.246	2.4735×10^{-8}

من خلال النتائج المدونة في الجدول يمكن القول بانه حدث تداخل بين الجذر°DPPH والمركبات المدروسة (الفيتامينC ، الالفا – طوكوفيرول ، حمض الغاليك ، 2FMNA ، 3FMNA ، 4FMNA)

يتضح من خلال قيم K والطاقة الحرة للترابط ΔG المدونة في الجدول اعلاه أن قيمة ΔG لـ ألفا طوكوفيرول بلغت $\Delta G = -11.081\ (KJ.mol^{-1})$ و أن كمون الأكسدة يميل إلى القيم الاكثر ايجابا والتي تأكدت من خلال قيم ΔG للمركب ألفا طوكوفيرول و التي تدل على أن الفعالية المضادة للأكسدة للمركب افضل مقارنة مع المركبات الاخرى المدروسة وانه حدث تداخل وان طبيعة التداخل تداخل فيزيائي و أن التفاعل تلقائي, كما نلاحظ بان كمون الأكسدة لحمض الأسكوربيك يميل إلى قيم سالبة وذلك من خلال الطاقة الحرة للترابط والتي بلغت $\Delta G = -4.35\ (KJ.mol^{-1})$ حيث يبين أن طبيعة التفاعل تلقائي وان التداخل تداخل كيميائي .

يرتبط السلوك الكهروكيميائي للجذر $DPPH^{\circ}$ 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 (9.III) واستنادا على قيم الجدول اعلاه نلاحظ أن قيمة معامل الانتشار لحمض الغاليك هي أعلى قيمة ويفسر ذلك بانه أقل وزن جزيئي من بين المركبات المدروسة يليه مركب الأسكوربيك لأنه اكبر وزن من حمض الفا طوكوفيرول .

.

الخاتمة العامة

الخاتمة العامة :

تم في هذا الفصل اعتماد طريقتين لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المركبات الفينولية (حمض الأسكوربيك ولألفا – توكوفيرول , حمض الغاليك، 2FMNA ، 3FMNA ،4FMNA) , وذلك لدراسة التداخل بين المركبات الفينولية مع جذر DPPH° , ويتم هذا من خلال الاستخراج المعاملات الترموديناميكية (ثابت الترابط والطاقة الحرة للترابط ومعامل الانتشار) .

تمثلت الطريقة الأولى في طريقة الطيفية اختبار DPPH وشملت أولا دراسة منحنى الحركي لجذر DPPH في وجود مضاد الأكسدة و تضح إلى أن عند الزمن 15 دقيقة عموما كافة للوصول إلى نقطة استقرار التفاعل ، كما قمنا بدراسة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لمركبات فينولية والقياسية (حمض الأسكوربيك وحمض الغاليك وألفا طوكوفيرول) و .حيث وجدنا أن المركب المحضر 4FMNA هو أقوى فعالية ،أما 2FMNAأما فهو الاضعف على الإطلاق .

أما فيما يخص دراسة التداخل بين المركبات الفينولية و الجذر DPPH° فإن نوع التفاعل تلقائي , فيما يخص المركب حمض الغاليك فأن طبيعة تفاعل كيميائي أما المركبات (حمض الأسكوربيك ،لألفا – توكوفيرول , 2FMNA ، 3FMNA ،4FMNA) فإن طبيعة فيزيائية .

وتمثلت الطريقة الثانية في طريقة الكهروكيميائية وذلك باستخدام تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي لجذر DPPH° و كانت الفعالية المضادة للأكسدة لمركب ألفا طوكوفيرول 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 الأسكوربيك 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 حالة الحرة اكبر قيمة من الحالة المرتبطة مع المركبات المحضرة المضادة للأكسدة ، حيث فسر هذا النقص في معامل الانتشار في حالة الارتباط إلى الكتلة الجزيئية حيث نلاحظ ان حمض الغاليك يمثل اكبر قيمة لمعامل الانتشار وهدا راجع لكتلة الجزيئية فهو اقل كتلة بالمقارنة مع المركبات الأخرى .

1. تصنيع المشتقات الفيروسينية :

تعتبر كيمياء الفيروسان همزة وصل بين الكيمياء العضوية و الكيمياء الحيوية، حيث تتميز المشتقات الفيروسينية و شاردة الفيروسان طيفيا حامل اللون النشط ومحدد بيولوجيا لمواقع الإرجاع النشطة، وهي محل دراسة مكثفة نظرا لخصائصها الحرارية و الحركية، حيث أن البنية الالكترونية و الهندسية لفيروسان يساهمان في استقراره الاستثنائي بالنسبة لمركب عضوي معدني ، هذه الخصائص جعلت منهو وحدة بنيوية قاعدية جد مهمة في مجالات شتى طبية و بيولوجية.

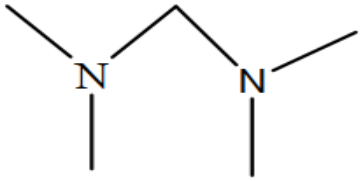
على ضوء هذا قمنا بتصنيع بعض المشتقات الامينية

سنتطرق أولا إلى تحضير الملح الرباعي يوديد ميثيل فيروسينيل – ثلاثي ميثيل امونيوم والذي يعتبر النواة الأساسية في هذا العمل ومن ثم تحضير المشتقات الفيروسنية المدروسة.

1.1. تحضير الملح الرباعي اليودي لفيروسنيل مثيل ثلاثي مثيل أمنيوم:

يتم تحضير هذا الملح على ثلاث مراحل في المرحلة الأولى نقوم بتحضير كاشف مانيش ثم تحضير ثنائي ميثيل أمينوميثيل فيروسان ومنه نتحصل الملح الرباعي اليودي لفيروسنيل مثيل ثلاثي مثيل أمنيوم والذي يستخدم كمادة أولية لإعداد عدد كبير من مشتقات الفيروسين أحادية المستبدلات .

2.1. تحضير ميثيلين ثنائي –(ثنائي ميثيل امين) كاشف مانيش :



Méthylène–bis–diméthylamine

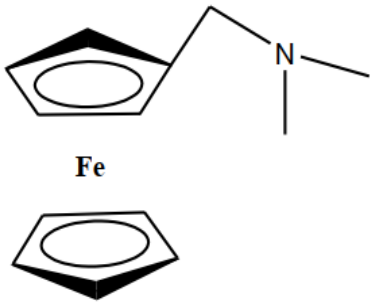
يحضر كاشف مانيش بإضافة مولين من ثنائي ميثيل امين الى مول واحد من الفورمالدهيد ،يتم التفاعل عند درجة حرارة اقل من 15°م ليعطي مردودا يتعدى70**%**.

يحضر كاشف مانيش على مرحلتين :

يتفاعل في المرحلة الاولى يتم فيها تفاعل مول من ثنائي ميثيل أمين مع واحد مول من فورماألدهيد ويتم التخلص من جزيئة ماء.

في المرحلة الثانية يتفاعل ناتج المرحلة السابقة مع المول المتبقي من ثنائي ميثيل امين لينتج سائل زيتي شفاف ينقى عن طريق عملية التقطير لنتحصل بالنهاية على ميثيلين ثنائي –(ثنائي ميثيل امين).

3.1. تحضير N – ثنائي ميثيل أمينو ميثيل فيروسان:



diméthylaminométhylferrocène

يعتمد تحضير هذا المركب تفاعل مانيش بثلاث مراحل:

- **مرحلة تشكل الكربونيل:**

استعمل حمض الأستيك مع حمض أورثوفوسفوريك لينتج كربونيل أي تفاعل حمض ضعيف مع حمض قوي.

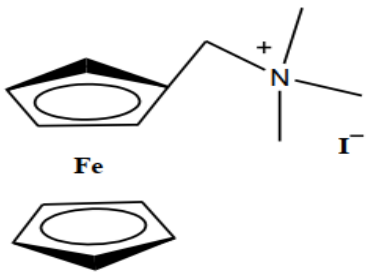
- **مرحلة تشكل المعقد:**

يتفاعل الكربونيل ناتج المرحلة الاولى مع ميثيلين ثنائي –(ثنائي ميثيل امين) في درجة حرارة عالية ليتشكل لنا ايمين و يحرر جزيء الماء.

- **المرحلة النهائية:**

يهاجم الايمين الناتج من عملية الحذف حلقة واحدة في الفيروسان ليعطي مركب احادي الاستبدال ليعطي مركب زيتي بلون بني داكن بمردود و نقاوة متميزة.

4.1. تحضير يوديد ميثيل فيروسينيل – ثلاثي ميثيل امونيوم:



iodure du ferrocénylméthyltriméthylamonium

يتم تفاعل ثنائي ميثيل أمينوميثيل فيروسان مع يوديد الميثيل في وجود الميثانول في نظام مغلق ليعطى يوديد فيروسنيل ميثيل ثلاثي ميثيل أمونيوم .

5.1. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)-2, 3, 4 - نتروانيلين :

1.5.1. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)2- نتروانيلين :

بآلية تفاعل نكليوفيلي للمجموعة ثلاثي ميثيل امين للملح الرباعي بمتفاعل 2-نتروانيلين يتم تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)2- نتروانيلين,اذ يتم التفاعل عند درجة حرارة لا تتجاوز 177°م و باستخدام الماء كمذيب في الوسط التفاعلي , يستمر التفاعل مدة سبع ساعات تتم متابعة تطور التفاعل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ,يستخدم ثنائي كلور الميثان كطور متحرك.
تتم تنقية المركب الناتج بإعادة البلورة باستخدام النظام ماء /ايثانول (80:20) الذي اعطى بلورات ابرية الشكل بلون احمر قرمزي .

2.5.1. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)- 3-نتروانيلين :

اصطناع N-(فيروسينيل ميثيل)- 3- نتروانيلين يتم بواسطة تفاعل استبدال بين الملح الرباعي3-نتروانيلين حيث يحدث التفاعل عند درجة حرارة 95°م و باستخدام الماء كمذيب ، يستمر التفاعل مدة ست ساعات اذ يتابع تطور التفاعل خلال هذه المدة بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التي اوضحت تشكل مركبين و ذلك عند$Rf=0.19$, $Rf=0.71$ اذ يستخدم ثنائي كلور الميثان كطور متحرك ، يتم استخلاص الناتج بثلاثي كلور الميثان، ينقى الناتج باعادة البلورة باستخدام الايثانول70 %الذي اعطى بلورات برتقالية مكعبة الشكل.

3.5.1. تصنيع N-(فيروسينيل ميثيل)- 4-نتروانيلين :

يتفاعل مول واحد من يوديد ميثيل فيروسينيل -ثلاثي ميثيل امونيوم مع مول واحد من 4-نتروانيلين عند درجة حرارة لا تتجاوز95 °م و باستخدام الماء كمذيب , لمدة خمس ساعات و نصف,اذ يتابع تطور التفاعل خلال مدة التفاعل بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التي اوضحت تشكل مركبين و ذلك عند $R_f = 0.6$اذ يستخدم ثنائي كلور الميثان كطور متحرك , يتم استخلاص الناتج بثلاثي كلور الميثان ،ينقى الناتج بإعادة البلورة باستخدام الايثانول اذ تم الحصول على مادة صلبة ابرية الشكل برتقالية لامعة.

الملخص :

قمنا من خلال عملنا هذا بتحضير مشتقات N– فيرو سينيل ميثيل نتروانيلين انطلاقا من الملح الرباعي لفيروسينيل ميثيل ثلاثي ميثيل أمنيوم و النتروانيلين , إذ تم إثبات الصيغ البنيوية لهذه المركبات باعتماد التقنيات الطيفية والكهروكيميائية .

من خلال تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمشتقات المصنعة باعتماد تقنية الفولطاأمبيرومتري الحلقي وتقنية فوق البنفسجية والمرئية وذلك باستخدام جذر DPPH , حيث بينت النتائج المتحصل عليها أن المشتق الفيروسيني يمثل نظام عكوس ,

الطاقة الحرة للترابط لتداخل جذر DPPH مع المشتقات الفيرو سينية انطلاقا من الطريقتين الطيفية و الكهروكيميائية .

الكلمات المفتاحية : مضادات الأكسدة , الجذور الحرة , المشتقات الفيروسينية , جذر DPPH , الطرق الطيفية والكهروكيميائية , الفولطاأمبيرومتري , ثابت الترابط .

Résumé:

Grâce à nos travaux, nous avons préparé des dérivés de N-Ferocynyl méthyl-nitroaniline à partir du sel quaternaire de la ferosynyl méthyl-méthyl-méthyl-nitroaniline, comme les formules structurales de ces composés ont été prouvées en adoptant des techniques spectroscopiques et électrochimiques.

En estimant l'efficacité antioxydante des dérivés fabriqués en adoptant la technique voltampérométrique cyclique et la technique ultraviolette et visible utilisant la racine de DPPH, où les résultats obtenus ont montré que le dérivé viral représente un système réversible,

L’énergie libre de liaison pour l'interférence des racines DPPH avec les dérivés feroxy des méthodes spectroscopiques et électrochimiques.

Mots clés: antioxydants, radicaux libres, dérivés viraux, racine DPPH, méthodes spectroscopiques et électrochimiques, voltampérométrie, constante de corrélation.