الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم بيولوجيا الحيوان

رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير

في البيولوجيا و فيزيولوجيا الحيوان

فرع فيزيولوجيا أمراض الخلية

تحت عنوان

دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر Camellia Sinensis

على النشاط المضاد للأكسدة و النشاط المضاد للبكتيريا

إعداد : محمد بوعبد الله سعاد

أعضاء لجنة المناقشة : **تاريخ المناقشة :**

ساطة دليلة	رئيسة	أستاذة التعليم العالي	جامعة منتوري قسنطينة
لعلاوي قريشي	مقرر	أستاذ محاضر	جامعة منتوري قسنطينة
أمداح سعاد	ممتحنة	أستاذة محاضرة	جامعة منتوري قسنطينة
زعمة جميلة	ممتحنة	أستاذة محاضرة	جامعة منتوري قسنطينة

السنة الجامعية 2011/2010

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

شكر و عرفان

إن الكمال لله و العظمة لأبنائه و الخطأ والنسيان من صفات ألإنسان و مادام هو حالنا و تلك هي صفاتنا عذور إن ظهر أو بدى لأي مطلع نقص أو خلل ، فنحن نرحب بكل التوجيهات والملاحظات المفيدة .

فسعدنا بعد تقديم هذا العمل المتواضع الى أستاذنا القدير الدكتور لعلاوي قريشي على اشرافه ، توجيهه ، نصائحه صبره ،تعامله ، مساعدته تشجيعاته المعنوية خلال مراحل انجاز هذا البحث .

أتقدم بالشكر الجزيل للدكتورة المحترمة الفاضلة ساطة دليلة على تشريفها لي برئاسة لجنة المناقشة كما أشكرها على النائح و التوجيهات المقدمة من خلالها طيلة مدة انجاز هذا البحث .

كما أقدم شكري الخاص للأم و ألأستاذة الحنونة الرائعة أمداح سعاد على ما قدمته لنا من مساعدات قيمة و ثرية بنصائحها الدائمة فشكرا أستاذتي قبولك مناقشة هذه الرسالة .

و الشكر الخاص جدا للأستاذة الكريمة زعمة جميلة على كرمها و استقبالها لنا في مخبرها (مخبر بيولةجيا الحيوان) وتحملها لكل أعبائنا فشكرا لكونك عضو في لجنة المناقشة .

كما لا ننسى أن نشكر ألأستاذ بولحروف على استقباله لنا بمخبره (مخبر ميكرو بيولوجيا التطبيقية جامعة منتوري- قسنطينة).

أوجه شكري إلى كل من ساهم في انجازهذا البحث إلى كل من قدم لي يد المساعدة إلى كل زملائي في هذا المجال و تشجيعاتهم العالية إلى ألأخت الفاضلة آسيا التي لم تبخل عليا بعطائها فأدامك الله ذخر لنا إلى كل من ساهم من قريب أو بعيد على إنجاز هذا العمل المتواضع .

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

الإهداء

أحمد الله و أشكره على نعمه التي غمرني بها و بإذن الله تسنى لنا إنهاء عملنا فاللهم لك الحمد و الشكر كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك و أدم نعمك علينا و احفظها من الزوال آمين .

إلى التي أسكنتني القلب قبل أن تحملني و سقتني الحب قبل أن ترضعني و أعطتني الرضي قبل أن تنشآني إلى من أنشأت في نفسي الصبر و الإحسان إلى التي بفضل دعواتها بارك الله لي خطواتي إلى أمي الحبيبة الغالية أهدي ثمرة نجاحي و تخرجي .

إلى من حملني صغيرة و تحملني شابة و سأحمل جميله إلى آخر عمري إلى أبي الغالي أهدي رحيق جهدي .

إليك يا وردة عمري و نبض قلبي و أمل حياتي، إلى البسمة الخالدة في دفتر أيامي أختي الصغرى الغالية و الكتكوتة نانو

إلى أكثر من يحبهم قلبي و تشتاق إلى رؤيتهم عيوني

أخواتي : كريمة ، نبيلة، وفاء ، خولة ، حفظهم الله و جعلهم ذخر إلي في كل خير

أخي الوحيد عدلان وزوجته صاحبة القلب الطيب صوفيا.

كما لا ننسى الأحفاد الصغار باسم ، زيد ، والعصفورة المغردة رنيم

إلى أغلى ما لدي في هذا الوجود عائلتي

إلى أجمل هدية قدمها لي القدير و أروع سنفونية عزفت في مشوار حياتي إلى الإنسان الذي دفعني و شجعني، إلى ثمرة حبي و إخلاصي إلى رفيقي و زوجي العزيز شعبي عبد العالي أدامه الله لي .

إلى معنى الصداقة الحقيقية، الرفقة الطيبة،إلى العائلة التي منحتني أفرادها الحب و السخاء : فضيلة ، عائشة ، سوسو ، ابتسام ، حسناء ، ليلى، هاجر، سهى ، سهام وسومية

إلى كل من جمعني بهم القدر إلى كل الزميلات والزملاء.

إلى كل الزميلات اللواتي شاركتني الحياة الجامعية و التي لم يذكرهم قلمي لكن قلبي سيذكرهن دوما.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

قائمة الأشكال

الشكل(01) : جنبة الشاي أوراقها- وطرودها.....04

الشكل(02): أوراق الشاي الأخضر.....05

الشكل(03): تمثل الهيكل الأساسي للفلافونويدات..... 07

الشكل(04): الهيكل القاعدي للفلافونويدات 09

الشكل(05): تشكل جذر الهيدروكسيل.....13

الشكل(06): كيفية حدوث الاجهاد التأكسدي في الخلية.....15

الشكل(07): الهدم الغشائي بواسطة الأنواع الاكسجينية النشطة.....19

الشكل(08): العوامل المحرضة للتأكسد.....21

الشكل(09): التفاعلات الكيميائية المرتبطة بمضادات ألأكسدة.....24

الشكل(10) : تفاعل يوضح اقتناص الفلافونويدات للجذور الحرة.....33

الشكل(11): استبدال الالكترونات في الجذر الفلافونوكسي.....34

الشكل(12): جهاز التبخير الدوراني Rotavapeure.....40

الشكل(13): حوجلة بها المادة الجافة للمستخلص الميثانولي.....41

الشكل(14) : مراحل استخلاص المستخلص الخام الميثانولي من نبتة الشاي الأخضر(Camellia Sinensis).....42

الشكل(15) : مراحل استخلاص المستخلص الخام الإيثانولي من نبتة الشاي الأخضر(Camellia Sinensis).....44

الشكل(16) : مراحل استخلاص المستخلص الخام الأسيتوني لنبتة الشاي الأخضر(Camellia Sinensis) 45

الشكل(17) : البنية التركيبية لجذر الـ DPPH 47

الشكل(18): تثبيط جذر الـ . DPPH.....47

الشكل(19) : أنابيب اختبارتحتوي الماء الفيزيولوجي.....52

الشكل(20): نسبة تثبيط المستخلص الخام الإيثانولي للحذر الحرالـ DPPH.....58

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

الشكل(21): نسبة تثبيط المستخلص الخام الميثانولي للحذر الحر الـ DPPH.....59

الشكل(22): نسبة تثبيط المستخلص الخام الأسيتوني للجذر الحر الـ DPPH.....60

الشكل(23): نسبة تثبيط المركب القياسي ال Qurcetineللحذر الحرالـ DPPH..... 60

الشكل(24): التركيز المثبط ل50% من جذور الـ DPPH..... 61

الشكل(25): صور توضح قطر التثبيط بالـ (mm) لبكتيريا Echerichia Coli تحت تأثير المستخلص الميثانولي ..62

الشكل(26): صور توضح قطر التثبيط بال (mm) لبكتيرياPseudomonase Aerogenosa تحت تأثيرالمستخلص الميثانولي..... 63

الشكل(27):صور توضح قطر تثبيط نمو بكتيريا Pseudomonase Aerogenosa في التراكيزµg/ml 800-900-1000..... 63

الشكل(28): صور توضح قطر التثبيط بال (mm) لبكتيريا Staphylococcus Aureus تحت تأثير المستخلص الميثانولي.....64

الشكل(29): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الميثانولي على بكتيريا Echerichia Coli 66

الشكل(30): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الميثانولي على بكتيريا Pseudomonase Aerogenosa.....66

الشكل(31): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الميثانولي على بكتيريا Staphylococcus Aureus.....67

الشكل(32): متوسط قطر التثبيط للسلالات البكتيرية الثلاث بتأثير المستخلص الميثانولي 67

الشكل(33): صور توضح قطر التثبيط بال (mm) لبكتيريا Echerichia Coli تحت تأثير المستخلص الإيثانولي.....68

الشكل(34): صور توضح قطر التثبيط (mm) لبكتيريا Pseudomonase Aerogenosaتحت تأثير المستخلص الإيثانولي.....69

الشكل(35): صور توضح قطر التثبيط (mm) لبكتيريا Staphylococcus Aureus تحت تأثير المستخلص الإيثانولي..... 69

الشكل(36): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام ألإيثانولي على بكتيريا Echerichia Coli.....71

الشكل(37): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الإيثانولي على بكتيريا Pseudomonase Aerogenosa.....71

الشكل(38): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الإيثانولي على بكتيريا Staphylococcus Aureus.....72

الشكل(39): متوسط قطر التثبيط للسلالات البكتيرية الثلاث بتأثير المستخلص الإيثانولي.....72

الشكل(40): صور توضح قطر التثبيط (mm) لبكتيريا Echerichia Coli تحت تأثير المستخلص الأستوني.....73

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الشكل(41): صور توضح قطر التثبيط بالـ (mm) لبكتيريا Pseudomonase Aerogenosa تحت تأثير المستخلص الأستوني.....74

الشكل(42): صور توضح قطر التثبيط بالـ (mm) لبكتيريا Staphylococcus Aureus تحت تأثير المستخلص الأستوني.....74

الشكل(43): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الأستوني على بكتيريا Echerichia Coli.....76

الشكل(44): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الأستوني على Pseudomonase Aerogenosa.....76

الشكل(45): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الأستوني على بكتيرياStaphylococcus Aureus.....77

الشكل(46): متوسط قطر التثبيط للسلالات البكتيرية الثلاث بتأثير المستخلص الأسيتوني 77

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

قائمة الجداول

XIII- قائمة الجداول

جدول(1): التصنيف العلمي لنبتة الشاي ألأخضر.....06

جدول(2) : مصادر العوامل المؤكسدة والدفاعات ضد الأكسدة.....20

جدول(3) : المردود (%) لمستخلصات الأجزاء الهوائية لنبتة الشاي الأخضر.....57

جدول(04) : تأثير المستخلص الخام الميثانولي على نمو السلالات البكتيرية.....65

جدول(05) : تأثير المستخلص الخام الإيثانولي على نمو السلالات البكتيرية.....70

جدول(06) : تأثير المستخلص الخام الأسيتوني على نمو السلالات البكتيرية..... 75

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

قائمة المختصرات

ADP :	Adénosine Diphosphate
Ca-S :	Camellia Sinensis
CAT :	Catalase
Cyt P 450 :	Cytochrome P 450
DPPH :	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EGCG :	Epigallocatechin Polyphenole Gallat
EtOH:	Ethanol
Ech-coli:	Echerichia Coli
FL-O°:	Flavonoxy
GSSH:	Disulfid glutathione
GSH:	Reduced glutathione
$H_2 O_2$:	peroxide d'hydrogène
His:	Histidine
HOO°:	Radical hydroperxyle
HCl:	Acide chlorhydrique
HDL:	Hit-density lipoproteins
I:	Inibition
IF:	Interferon
IL:	Interleukin
LDL:	Low-density lipoproteins
LOO°:	Radical peroxile
MDA :	Malon dialdehyde
MeOH :	Méthanol
NO^0 :	Radical oxyde nitrique
NOS :	Radical oxyde nitrique synthase

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

$O_2^{\circ-}$:	Radical anione Superoxyde
OH^{o}:	Radical hydroxyle
$ONOO^-$:	Peroxynitrite
OD:	La densité optique
8- OH-Dg :	8-Hydroxy-2'-Déoxyguanosine
Obs :	Observation
PGF :	Prostaglandine
Phe :	Phenyle
Pseudo-A:	Pseudomonase Aerogenosa
R° :	Radicaux libre
ROO°:	Radical Pyroxyle
ROS:	R
RO°:	Radical alkoxyle
SOD :	Superoxide dismutase
Staph -A :	Staphylococcus Aureus
Tyr :	Tyrosine
Vit C :	Vitamine C
Vit E :	Vitamine E

www.manaraa.com

المحتويات

Sommaire

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المحتويات

العنوان.....الصفحة

قائمة الأشكال.....XII

قائمة الجداول XIII

قائمة المختصرات XIV

المقدمة.....01

I- وصف نبتة الشاي الأخضر Camellia Sinensis.....03

I-1 قصة و تاريخ الشاي.....**03**

I-4 الشاي الأخضر.....**04**

I-6 التصنيف العلمي للشاي الأخضر .Camellia Sinensis **06**

I-7 مكونات الشاي الأخضرCamellia Sinensis وفوائده **06**

II - الفلافونويـــــدات

II-2 خواص الفلافونويدات **08**

II-3 البنية الكيميائية للفلافونويدات **08**

II -5 الخصائص الوقائية للفلافونويدات.....**09**

III الجذور الحرة ، الإجهاد التأكسدي ، مضادات الأكسدة .

III-1 الجذور الحرة (Les Radicaux Libres).....**11**

III-1-1 أنواع الجذور الأكسجينية الحرة.....**12**

III -2 الإجهاد التأكسدي (Le Stress Oxydants).....**14**

III -3 المؤشرات البيولوجية للتوتر التأكسدي..... **15**

III -4 بعض تأثيرات الجذور الحرة..... **17**

III -5 عوامل تساهم في زيادة التوتر التأكسدي.....**18**

III -6 مصادر الجذور الحرة..... **19**

III -7 مضادات الأكسدة **(Les Antioxidants).....21**

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

III -8 الإجهاد التأكسدي و الأمراض.....27

IV- الخصائص البيولوجية للمستخلصات و الفلافونويدات..... 28

IV -1 الأنشطة البيولوجية لمستخلصات الشاي الأخضر.....28

IV -2 الخصائص البيولوجية للفلافونويدات 31

IV -2-1 مختلف نشاطات الفلافونويدات.....31

IV -3 أدوار أخـــرى 35

الجزء العملي 36

خطة البحث 38

الجزء ألأول

V المواد وطرق العمل 39

V- I- المواد 39

-المادة النباتية 39

V-1 جمع المادة النباتية(Camellia Sinensis) 39

V-1-1 طريقة تحضير المستخلص الخام النباتي.....39

V-1-1-1 تحضير المستخلص الخام الميثانولي 39

V-1-1-2 تحضير المستخلص الخام الإيثانولي 43

V-1-1-3 تحضير المستخلص الخام الأسيتوني 44

V-1-2 الكشف عن الفلافونويدات 45

الجزء الثاني

V -3 الدراسة المخبرية على المستخلص الخام النباتي (In Vitro) 45

V-3- 1 دراسة نشاطية المستخلص الخام المضادة للأكسدة.....45

V-3 -1-1 دراسة الفعل الأسر للمستخلصات الثلاث على إزاحة جذر الـ.DPPH.....45

V-4 النشاط المضاد للبكتيريا L'activité Antibacterienne.....48

V -5 المواد وطرق العمل 51

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

VI- النتائج 54

الجزء ألأول :

- الإستخلاص و الدراسة الفيتو كيميائية.....56

1-VI الاستخلاص 56

2-VI الدراسة الفيتو كيميائية.....56

1 – 2 -VI نتائج إختبار الكشف عن الفلافونويدات 57

الجزء الثاني:

3 -VI تأثير الفعل الآسر للعينات على إزاحة جذر الـ DPPH.....58

4 -VI نتائج الاختبار البيولوجي للنشاط المضاد للبكتيريا.....62

VII المناقشة.....78

VIII الخلاصة.....83

IX الآفاق.....85

X الملخصات.....

- ملخص باللغة العربية.....87

- ملخص باللغة الفرنسية..... 89

- ملخص باللغة الإنجليزية 91

XI المراجع.....92

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

المقدمة

Introduction

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

إن دراسة علم النبات و التعرف عليه أمر ضروري لأن حياة الإنسان أصبحت مرتبطة ارتباطا وثيقا بحياة النبات كغذاء، بالإضافة إلى استعمال النبات كغذاء لم يقف الإنسان البدائي عند هذا الحد بل طور استعمالها لاصطياد فرائسه و استعمل أيضا المواد السامة النباتية في الحروب ومع مرور الزمن استطاع الإنسان القديم أن يربط بين النباتات البرية التي تغطي سطح ألأرض و ألأمراض التي يصاب بها فاستعمل هذه النباتات أو أجزاء منها للتداوي .

و المتتبع للحضارات القديمة يجد أن أقدم آثار التطبيب بالأعشاب تعود إلى بلاد النيل ودلت الكتابات الهيروغرافية أن هناك نباتات عديدة استعملها المصريون القدماء قبل ألف سنة للميلاد لمداواة أعضاء الجسم ومن هذه العقاقير قشور الرمان لقتل الديدان المعوية ،ألأفيون للتخدير ،الشاي ألأخضر للتنبيه .....

وفي الوقت الحاضر تنبهت كثير من الدول المتقدمة إلى أهمية طب الأعشاب حيث أصبح في أمريكا حاليا 25% من الأدوية عبارة عن أعشاب كما أصبح علاج الأعشاب يجد قبولا لدى الناس بشكل عام و متخصصين في الأدوية و العلاج بشكل خاص [10].

يعرف النبات الطبي بأنه جزء أو أكثر من أجزائه الذي يحتوي مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز قليل أو كبير ويمكن أن يعالج مرضا معينا أو أكثر أو يقلل من أعراض الإصابة به إذا ما اعتمد على هذا الجزء النباتي إما في صورته الطبيعية و إما عن طريق المواد الكيميائية الفعالة المستخلصة منه و قد أوضح الباحث Dragendroff في تعريفه للنبات الطبي على أنه كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي وهذا التعريف يشمل المملكة النباتية ولا يستثنى من ذلك أدنى الأنواع رقيا إلى أكثرها تطورا و تعقيدا[96].

أهمية المركبات النباتية التي تتميز بخصائص طبية استمدت من تقاليد الشعوب في الأزمنة الماضية ، و باكتشاف المركبات النقية و الفعالة من النباتات في القرن التاسع عشر نتيجة لتطور العلوم الكيميائية أصبح فن العلاج بالمستخلصات الطبيعية جزء كبير من العلوم الجزئية التي أدت الى تحديد و استخلاص مركبات متعددات الفينول طبيعية نقية ذات فعالية بيولوجية معتبرة مثل الفلافونويدات المستخلصة من النبات المختار للدراسة .

ويعد الشاي الأخضرCamellia Sinensis من أهم الأعشاب الطبيعية المستخدمة في هذا المجال [12] وذلك لما تحتويه مركباته الكيميائية من تأثيرات مفيدة للجسم مثل تأثيره المضاد لالتهابات والمضاد لتسوس والمضاد للبكتريا وكذلك كمضاد للأكسدة وكان الهدف من هذه الدراسة تقييم مدى فعالية الاستخدام الموضعي

للشاي الأخضر على صحة الجسم من النشاط المضاد للبكتيريا و المضاد للأكسدة،و الذي أظهر فعالية كبيرة في معالجة الأمراض مما فتح الباب واسع أمام تاريخ ألأدوية الطبيعية المضادة لهذه ألأمراض .

تلعب المركبات الفلافونويدية دورا بالغ ألأهمية في العديد من المستخلصات و المستحضرات الطبية[19]و

استخدامها الواسع في علم الصيدلة فهي من بين المركبات ذات الجهد العالي حيث يمكن أن يحفز أنشطة بعض

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ألإنزيمات كما بإمكانها تغيير سلوك وو ظيفة مجموعة كبيرة من ألأنظمة الخلوية و ذلك لما تتميز به من خصائص مضادة للأكسدة [10] فلها الفعل ألآسر للجذور الحرة و خاصة جذر الهيدروكسيل ومخلبة للمعادن

فهي تملك قدرة عالية ضد الجذور الحرة المسببة للكثير من الأمراض فلها فعل وقائي للأوعية الدموية و تصلب الشرايين و الخلايا الكبدية ، كما تظهر نشاطا مضادا للإلتهاب و الحساسية و للقرحة المعدية ، وحرق الدهون كما لها نشاط معنوي مضاد للأورام و السرطان [20]

لقد أدى ألإستعمال الغير عقلاني لمجموعة من ألأدوية و خاصة المضادات الحيوية الى ظهور حالة عدم فعالية مثل هذه المركبات على المسببات المرضية البكتيرية و التي عرفت بمقاومة ألأدوية من طرف بعض السلالات البكتيرية مثل التي استعملت في هذه الدراسة Staphylococcus, Pseudomonase , Echerichia Coli و التي أصبحت تسمى بالبكتيريا المقاومة للعديد من ألأدوية وهذا التأثير يؤدي بها الى عدم القضاء عليها بواسطة هذه المركبات مما استدعى البحث عن مركبات فينولية (فلافونويدية) المستخلصة من الشاي

الأخضر يمكن من خلالها الوصول الى القضاء على هذه المسببات المرضية المتجددة و بالتالي يكون فعلها عبارة عن مواد قاتلة أو مثبطة مما يعطي فرصة لبعض المركبات الدوائية المشتركة المعطاة في نفس الوقت للقضاء على هذه المسببات المرضية البكتيرية .

- تهدف هذه الدراسة الى إجراء إختبار خارج الكائن الحي (*In Vitro*)لدراسة تأثير المستخلصات الخام ألإيثانولية ، الميثانولية ، ألأستونية لأوراق الشايالأخضر Camellia Sinensis على إزاحة جذر ال DPPH والذي يعتبر جذر حر و هذا للكشف عن النشاط الفعال المضاد للأكسدة .
- تهدف أيضا إلى البحث عن قدرة المستخلصات الخامة الثلاثة على تثبيط أو قتل السلالات البكتيرية من خلال استعمال تقنية انتشارالأقراص على وسط صلب(Muller Henton)في الأطباق البيترية. [97] [108].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

I - نبتة الشاي الأخضر Camellia Sinensis

I -1- قصة و تاريخ الشاي :

تقول الأساطير الصينية أن إلاه الزرع يمضغ الأوراق والسيقان والجذور للنباتات المختلفة ليكتشف الأعشاب الطبية، وأثناء ذلك قد يستهلك النباتات السامة، فيعالج نفسه بأوراق الشاي الأخضر التي تزيل آثار السم والبوذيون يعتقدون أن بوذا هو من اكتشف الشاي.

ولكن الأسطورة الأكثر قوة بل والأقرب للحقيقة هي أن الإمبراطور شين نونج (Shen Nung) والمعروف بحكمته وعلمه كان لا يشرب المياه إلا بعد غليها لاعتقاده أنها أفيد للصحة (وهذا اعتقاد صحيح)! حيث ذات يوم وقعت أوراق خضراء من شجرة قريبة في مائه المغلي فلاحظ تحول الماء إلى اللون البني الفاتح وكذلك استنشق شذى لافت للانتباه، فشربه واكتشف فوائده العظيمة، وكان ذلك منذ 5000 سنة مضت.

I -2- موطنه الأصلي:

موطنه الأصلي هو الصين ، ثم نشره الإمبراطور شين نونج في اليابان وأسيا كلها، ثم أحضره الألمان إلى أوروبا من الصين ثم إلى أميركا في سنة 1650.

في سنة 1669 بدأت الشركة الهندية الغربية بإحضار أوراق الشاي الأخضر إلى إنجلترا، ثم احتكرت استيراد جميع أنواع الشاي إلى الإمبراطورية البريطانية سنة 1721.

كانت أسعاره غالية في البداية ولا يشربه سوى النخبة، في سنة 1800 أصبحت السفن تأتي من الصين إلى إنجلترا ثم إلي أنحاء العالم. وانتشر مشروب الشاي فيما بعد سريعاً في دول الكومنويلث البريطاني، وفي شمال إفريقيا والشرق الأوسط. تعد اليوم الهند وسيلان أكثر البلدان المصدرة للشاي بعد الصين وأذربيجان وجورجيا. [12]

I -3- الوصف النباتي والأنواع المختلفة:

نبات الشاي دغله أو جنبة معمرة تعيش حتى 70 سنة، جذعها ضخم وقصير، تعلو إلى نحو 2م، أوراقها خضراء داكنة اللون بيضاوية الشكل متطاولة (5-10سم) ذات عنق قصير، حوافها مسننة يزداد عددها في أعلى الفروع والطرود ويقل في أسفلها، قوامها رخو وخشنة الملمس وتصير جرداء ملساء ولامعة بعد جفافها، ويختلف حجمها بحسب الأنواع (الشكل:1).

أزهار الشاي صغيرة عنقودية (2-3 زهرات) عطرة الرائحة، وثمرته ذات ثلاثة فصوص، تنضج بذورها الثلاث بعد مضي نحو 4 شهور على موعد الإزهار. تبدأ جنبة الشاي بالإنتاج الورقي الاقتصادي في عمر بين 3 و7 سنوات بحسب الأصناف والخدمات الزراعية، ويباشر بالقطفة الأولى للأوراق بعد مضي 3 سنوات على موعد زراعته [125].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

هناك أربعة أنواع مستخدمة من الشاي وهي:

- **الشاي الأسود: Black Tea.**

- **الشاي الأخضر: Green Tea.**

- **الشاي الألو نج: Oolong Tea.**

- **الشاي الأبيض: Witte Tea**

I -4- الشاي الأخضر

الاسم العلمي : Camellia Sinensis

الاسم الشائع : Green Tea

العائله : Theacea

شكل(01) : جنبة الشاي أوراقها- وطروده

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الشكل(2): أوراق الشاي الأخضر

I -5 – الشاي الأخضر:

أكتشفه الصينيون قبل نحو خمسة آلاف سنة. وأوراقه من نفس أوراق نبات الشاي الأسود[63] Camellia Sinensis وهى شجيرة أصلها من آسيا .

وأوراق الشاي الأخضر لأنها لم تخمر فتظل موادها كماهي[101]. ولذلك فهو أنفع قليلاً من الشاي الأسود وأقل ضرراً منه. إلا أن بعض الصينيين يستخدم الشاي الأخضر كعلاج للصداع النصفي لاعتقادهم أن له تأثيرا عليه. وهناك اعتقاد أن الشاي له بعض الفوائد للأسنان لوجود مادة الفلوريد به، كما أن الشاي يساعد علي احتراق الدهون بالجسم وينظم سكر الدم ومعدل هرمون الأنسولين، وبعض الناس يضع أكياس الشاي الأخضر بعد غليها على الجيوب تحت العين لاعتقادهم أنها يمكن أن تعالج الانتفاخ إلا أن الكافيين يمكن أن يتسرب من خلال الجلد إلى داخل الجسم، وبعض الناس يعتقد أن محلول الشاي يمكن أن يستخدم كحمام يرش فوق الجلد ليلطفه من حروق الشمس أو تلطف لدغات الناموس والحشرات. والشاي يمكن أن يرفع ضغط الدم بسبب الكافيين. وتوجد به مركبات (EGCG) Epigallocatechin Gallate) Polyphenole) و Bioflavonoide. وبه مادة تانين وزيت عطري وثيوفيللين. وشرب كميات منه تسبب التوتر العصبي والأرق ،و هو مفيد في الوقاية من أمراض القلب والأوعية الدموية، والجلطات الدماغية، بل وحتى بعض أنواع السرطان الشاي الأخضر يستهلك أكثر من الشاي الأسود في اليابان والصين وبعض الدول الآسيوية الأخرى وأصبح أكثر شعبية من الشاي الأسود في الدول الغربية [118].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

I -6 - التصنيف العلمي :

جدول (1) : التصنيف العلمي لنبتة الشاي ألأخضر

الاسم العلمي	Camellia Sinensis
الاسم الشائع	Tea Green
العائلة	Theaceae
الجنس	Camellia
النوع	C. Sinensis

I -7 - مكونات الشاي ـ فوائده وأضراره :

تدخل في تركيب الشاي المكونات الآتية (% من الوزن الرطب للأوراق وبحسب الأصناف):

ماء: 75 - 77.5%، مواد عفصية: 2-4%، كافئين: 1-4.8%، زيوت عطرية: 0.02%، بروتين 12-20%، كاربوهيدرات: 3-4%، عناصر معدنية: 4-5 % من الوزن الجاف (منها الألمنيوم والمنغنيز والمغنزيوم والفوسفور والكبريت والزنك والنحاس والكالسيوم والبوتاسيوم) وخمائر وفيتامينات: مجموعة B6,B2,B1 (نحو 600ملغ)، وفيتامين C وPP وغيرها [123].

ويعد الشاي بأنواعه كافة مفيداً ومدراً للبول، وقد استعمل قديماً في علاج الربو والزكام ولتسهيل الهضم وتنشيط الجهاز العصبي والقلب. وتبين الدراسات الحديثة أنه يحتوي على أملاح الفينول المتعددة التي تؤثر مباشرة في الحماية من الإصابة بسرطان الفم، وعلى مواد أخرى تحد من سرطاني الرئة والقولون. وكذلك على مادة فلافونويد التي يوازي تأثيرها تأثير الفيتامين C. ومادة الكامتشن التي تقاوم الفيروسات والالتهابات وتسوّس الأسنان وتضبط وظائف الكلية والشرايين. ويقي الشاي وخاصة الشاي الأخضر، من الإصابات القلبية الناجمة عن ترسبات الدهون في الأوردة، ومن الشيخوخة المبكرة [12].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

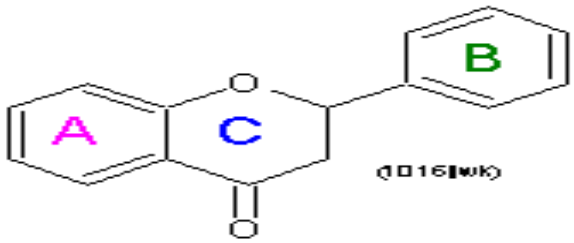
II الفلافونويدات: Flavonoïdes

لكونها أهم المركبات عديدات الفينول و في ظل اتساع دائرة البحث في مجال المنتجات الطبيعية فقد أخذت المركبات الفلافونويدية حيزا بالغ الأهمية من اهتمام الباحثين[31]، فقد تم استخراجها طبيعيا من النباتات وخاصة نبات الشاي ألأخضر، ويرجع الاهتمام بالفلافونويدات كونها مركبات ذات نشاط بيولوجي وصيدلاني فهو مضادة للبكتيريا مضادة للفيروسات ،مضادة للأكسدة ،مضادة للسرطان ، ويرجع نشاطها هذا إلى تركيبها الكيميائي[61].

فقد تم التعرف على أكثر من 4000 تركيب فلافونويدي [19] وهذا الاختلاف راجع إلى تنوع الغطاء النباتي والأقاليم المناخية ،لكن بالمقابل تم فحص عدد قليل من أنواع النباتات المصنفة من ناحية احتوائها على الفلافونويدات ،حيث تلعب هذه الأخيرة دورا وقائيا للنباتات اتجاه العديد من الفطريات والحشرات وكذا الأشعة فوق البنفسجية [29] .

الفلافونويدات (باللاتينية :Flavus= أصفر) هي صبغات صفراء منتشرة بكثرة عند النباتات، وهي مسؤولة على تلوين الأزهار، الثمار وأحيانا الأوراق، إلى جانب مركبات Anthocyanides التي تشترك معها تقريبا في الهيكل الكيميائي[19].

الفلافونويدات صبغات تم اكتشافهاعام 1936من طرف Hongrois Szent-Gyogy في قشور الليمون، هي مركبات بوليفينولية طبيعية تحتوي على15 ذرة كربون في هيكلها الأساسي[29] موزعة على ثلاث حلقات. A , B, C كما هو موضح في الشكل (03)،لها وزن جزيئي ضعيف[112] .



شكل (03): الهيكل الأساسي للفلافونويدات

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

II – 1 تواجدها:

تنتشرالفلافونيدات بشكل كبير على مستوى النباتات الراقية خاصة على مستوى بعض العائلات مثل المركبة والقرعية والخيمية)[121]،و بشكل محدود عند النباتات الدنيئة ، وهي موزعة بشكل أكبر في الأجزاء الهوائية للنباتات [62]، فهي تتواجد على مستوى كل من الأوراق تتمركز ما بين الأدمة والطبقة الوسطى، وفي الأزهار تتمركز في خلايا البشرة [90].

كما يمكن تواجدها في بقية الأجزاء الأخرى من النبات كالجذور،البذور، حبوب الطلع. أما على مستوى الخلية فتتواجد في الفجوات على شكل مركبات ذات أساس سكري حيث وجود السكر في الجزيئة يعطي لها القدرة الشديدة على الذوبان في الماء ، بينما تتمركز في السيتوبلا زم على شكل فلافونويدات عديدة الميتوكسيل فهي تذوب في المذيبات غير القطبية [58].

II -2 خواص الفلافونويدات:

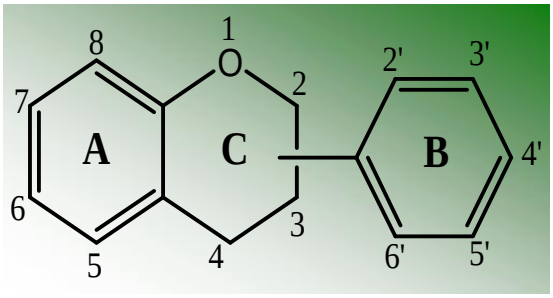
بما أن بعض الفلافونويدات هي مركبات هيدروكسيلية فإنها تتصف بخواص الفينولات ، ذات صفة حمضية ضعيفة،قابلة للذوبان في القواعد القوية(هيدروكسيدالصوديوم).كما تتصف الفلافونويدات التي تحمل عددا أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحتوي بقية السكر بالصفة القطبية وبالتالي فهي قابلة للذوبان في المذيبات القطبية (ميثانول ،إيثانول،أسيتون وماء)[43].

أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل:Flavonones, Flavones, Isoflavones التي تحمل عددا أكبر من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الايثر.

II -3 البنية الكيميائية للفلافونويدات

تتميز الفلافونويدات ببنية مشتركة عبارة عن هيكل كربوني مكون من 15 عشرة ذرة كربون موزعة على الشكل C6-C3-C6 ويعرف 1,3diphenyl Propane [19] [21] مؤلفة من حلقتين بنزنيتين (A وB) مرتبطتين بحلقة غير متجانسة اكسيجنية Hétérocycle أي أنها تحتوي على عنصر الأكسجين أو ما تعرف بالحلقة (C).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



شكل(04): الهيكل القاعدي للفلافونويدات [13].

تتوزع تراكيب الفلافونويدات حسب طبيعة الحلقة غير المتجانسة الاكسجينية وهذه الحلقة تشتق سواء من: Pyrane أو Pyrone أو Pyrylium [22] .

II- 4 تركيبها :

تتركب الفلافونويدات على مستوى Chloroplastes ابتداء من Cinnamoyl Coa الذي يصدر من الشبكة الأندوبلازمية ومن Malonates المركب تحت شكل Hétérosides،بعضها يغادر Chloroplastes ويتراكم في الفجوات [52] [105]. هذه المركبات هي نواتج الميتابوليزم الثانوي، تنتمي إلى ما يعرف بالجزيئات الدقيقة نظرا لصغر وزنها الجزيئي وتراكمها في كميات ضعيفة [15] . لا يتعدى تركيزها في الخلية النباتية 1millimole[17].

II -5 الخصائص الوقائية للفلافونويدات :

يختلف تأثيرالفلافونويدات تبعا لتركيبها الكيميائي ولهذا أدوارهامختلفة فهي :

مضادة للبكتيريا (Antibacterie)،مضادة للحساسية،مضادة للالتهاب ،مضادة للطفرات الجينية (Antimutagenique)، ،مضادة للفيروسات، مضادة للورم السرطاني (Antineoplastique) ومضادة للتخثر لها دور في توسيع الأوعية ، ونشاط مضاد للأكسدة فهي قادرة على إزالة الجذور الهيدرو كسيلية ،انيون فوق الأكسدة وجذور الأكسدة الفوقية للبيدات [11] .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

فالفلافونويدات ومن خلال خاصيتها الفيتامينية P تعمل على خفض نفاذية الأوعية الدموية وتزيد من مقاومتها (شرايين ، أوردة ، شعيرات ،أوعية لمفاوية)،حيث تقاوم الجذور الحرة وذلك باقتناصها أو هدم هذه

الجزيئات المضرة بالخلايا (زيادة الجذور الحرة تعتبر اليوم كأحد المسببات للسرطان). وهي كذلك تلعب نشاطا مضادا للالتهابات والحساسية [81]، واقية للكبد، مضادة للتشنجات،تعمل على خفض نسبة الكولسترول

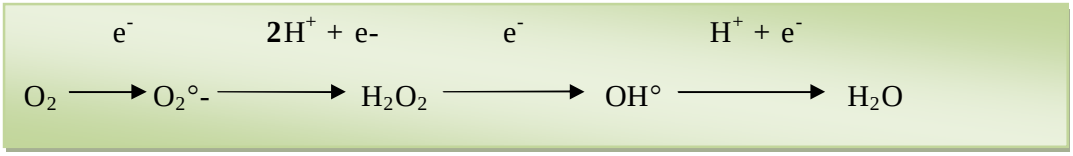
وهي من مدرات البول ،وأكثر من ذلك فهي تقاوم تلف ألياف الكولاجين فتقلل من سرعة ظهور الشيخوخة .[110]

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

III الجذور الحرة ، الاجهاد التأكسدي ، مضادات ألأكسدة

III –أ الأكسدة:

الأكسدة هي انتقال الكترونات من مادة ما إلى العامل المؤكسد حيث إن العامل المؤكسد هو المادة القادرة على أن تختزل (تستقبل الكترونات)و تؤكسد غيرها .



تعتبر الأكسدة أحد التفاعلات الأساسية والمهمة في جسم الإنسان ، فمثلاً يقوم الجسم بأكسدة الغذاء للحصول على الطاقة فنحتاج الأكسجين و لكن نواتج تلك الأكسدة هي ظهور الجذور الحرة.

(Les Radicaux Libres) فتقوم بأكسدة جزيئات الخلية وتدميرها من خلال سلسلة من التفاعلات، كما تدمرالأحماض الدهنية الموجودة في الخلية مما يجعل أجسامنا عرضه للعديد من الالتهابات والفيروسات والسرطانات لذا يمكن القول أن أكسدة خلايا الإنسان هو الخلل الذي يحدث لخلايا الجسم نتيجة لإرتباط الجذور الحرة بها .

III – ب المواد المؤكسدة: Les Oxidants:

يعتبر الأكسجين عنصراً أساسياً ومهماً في إنتاج الطاقة عن طريق أكسدة الغذاء، ومع ذلك فإن اختزال هذا العنصر لا يكون كاملاً، حتى تحت الظروف الطبيعية. إذ غالباً ما تنشأ مجموعات وسطية من المواد الكيميائية النشطة الطبيعية من عمليات التحول الغذائي التي يطلق عليها الجذور الحرة(Les Radicaux Libres)

وتعمل الجذور الحرة على مهاجمة وتدمير مكونات الخلايا لتحدث بها أضراراً بالغة في مادتها الوراثية ووظائفها الخلوية المختلفة. ومع زيادة تراكم الجذور الحرة، تظهر أمراض عديدة مثل الأمراض الانحلالية وأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان والشيخوخة [109]وغيرها.

III-1 الجذور الحرة:

الجذر الحرهوعبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي، وقد تكون تلك الشوارد عضوية أو غير عضوية، ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر. تبقى الإلكترونات فيالحالة العادية في الجزيئات مزدوجة، وحين يفقد الجزيء أحدها فإنه يصبح غير

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

بحث دائم ونشط عن الإلكترون المفقود ليكون زوجاً من الإلكترونات المستقرة وهذا ما يجعله ينتزع إلكتروناً من الجزيئات المجاورة مما يسبب إتلاف جزيئات الخلية الطبيعية في الجسم. وبالرغم من قصر فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز أجزاء من الثانية، إلا أن جذراً حراً واحداً قد ينشر حالة من الفوضى أو عدم التوازن وبالتالي نشوء الأمراض.

III -1-1 أنواع الجذور الاكسجينية الحرة:

يتم إنتاج العديد من المواد المؤكسدة القوية خلال عمليات الأيض في كل من الخلايا الدموية الحمراء ومعظم خلايا الجسم الأخرى. وهذه المواد المؤكسدة تتضمن جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\circ-}$) Superoxide وفوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وجذور ($ROO^{\cdot}$) Radical pyroxyl وجذر الهيدروكسيل Radical hydroxyl (OH°).

III 1-1-1 فوق الأكسيد : ($O_2^{\circ-}$) Anion Superoxide:

عبارة عن جذر أحادي (Monoradical) مشحون سلبا، يتكون نتيجة لاختزال الأكسجين الجزيئي الذي يستقبل إلكترونا خلال تفاعل يتطلب طاقة :

$$O_2 + 1é \xrightarrow{\text{Oxydases}} O_2^{\circ-}$$

يكون هذا الأنيون نشطا إلى حد ما حيث يعتبر اقل نشاطا من جذر الهيدروكسيل (OH°)، لكن بإمكانه أن ينتشر بشكل كبير داخل العضوية ، ينتج أساسا بطريقة إنزيمية تحت تأثير NADPH Oxydase (البلعمة الخلوية)، Cytochrome Oxydase، الميتوكوندري (عملية التنفس الخلوي)، Xanthine Oxydase وكذلك منCytP450 للكبد والغدة الكظرية (ميتابوليزم بعض الجزيئات الغريبة) .[42] بإمكان $O_2^{\circ-}$ أن يتفاعل مع NO° (Oxyde Nitrique) الذي ينتج من طرف البالعات الكبيرة والخلايا الطلائية للأوعية ليعطي مركب Peroxynitrite الذي يتحول بدوره إلى OH° في تفاعل مستقل مع الايونات المعدنية[30] و يحفز التقلص الوعائي [40]،كما بامكانه ان يثبط معقد NADH (Dehydrogenase), الميتوكوندري على مستوى سلسلة النقل الإلكتروني [53].

في وجود أيونات الهيدروجين (+H) تختزل جزيئة الأكسجين بينما أخرى تتأكسد ويتكون الأكسجين الأساسي و(H_2O_2) ، كما يمكن أن ينتج هذا التفاعل تلقائيا و يزداد في وجود إنزيم(SOD) [42].

$$H_2O_2 + O_2 \xrightarrow{\text{SOD}} 2O_2^{\circ} + 2H+$$

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

و يتم تكوينه في خلايا الدم الحمراء عن طريق الأكسدة الذاتية للهيموجلوبين Hémoglobin (Hb) الذي يتحول إلى Méthémoglobin.

III-1-1-2 فوق أكسيد الهيدروجين: Peroxide D'ydrogen (H_2O_2)

يتكونH_2O_2 ابتداء من جذر $O_2^{\circ -}$ في وجود إنزيم SOD كما يمكنه أن ينتج من طرق أخرى بواسطة إنزيمات (Monooxygenase).لا يعتبرH_2O_2 جذرا حرا ولكنه جد نشط وله قدرة كبيرة على الأكسدة [42].

يتحول بيرو كسيد الهيدروجينH_2O_2 في وجود إنزيم Catalase إلىH_2O جزيئة أكسجين حسب التفاعل التالي:

$$2\ H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} O_2 + H_2O$$

تتفاعل العديد من الأملاح المعدنية الانتقالية مع H_2O_2 لتعطي جذر الهيدروكسيل ($OH^{\circ\cdot}$)،حيث في وجود ايون الحديدوزFe^{+2} يتحول المركب حسب تفاعل Fenton ليعطي ايون OH^- وجذر الهيدروكسيل OH°[53].

III-1-1-3 جذور الهيدروكسيل (OH°) :

يمكن أن تتكون من H_2O_2 في تفاعل غير إنزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديدوز (Fe^{+2})، ويسمى هذا التفاعل بتفاعل Fenton. إن جذر الهيدروكسيلOH° هو جزيء نشط جدا ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية والليبيدات وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلفا للأنسجة .

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH^{\circ} + Fe^{+3} + OH^-$$

الشكل(05): تشكل جذر الهيدروكسيل

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

عند إنتاج الخلايا للطاقة التي تحتاجها لعملياتها الحيوية المختلفة، فإن كل جزيء أكسجيني يتقبل أربعة إلكترونات لينتج الماء، فإذا تمت إضافة هذه الإلكترونات واحدا تلوى الآخر، وهذا ما يحدث عادة، فإن الأكسجين سوف يتحول إلى جذر حر يدعى فوق الأكسيد الذي يساهم في تشكيل مركب آخر يسمى فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 . ولا يتوقف الأمر عند هذا الحد، بل يقوم هذا المركب بتكوين جزيئات أخرى ذات شحنة كهربائية ضعيفة هي الجذور الهيدروكسيلية $^{\circ}OH$. إن مثل هذه العملية قد تحدث في جسم الإنسان خلال عمليات أخرى مثل تلوث الهواء والتدخين والتعرض للإشعاعات، بالرغم من أن معظم تفاعلات الجذور الحرة هي إحتراقية. ولقد لوحظ أن الجذور الحرة لأنواع الأكسجين النشط (EOA) تدخل في العديد من التفاعلات التي من أهمها تفاعلها مع ADN وتكسيره وخاصة عند الإجهاد التأكسدي Stress Oxidative حيث تصل عملية الأكسدة إلى ذروتها، كما يتعرضADN أيضاً إلى أضرار كبيرة وخطيرة و الحصول على الطفرات الوراثية ، وهذه التفاعلات يعزى إليها أكبر الأثر في إحداث مظاهر الضرر والتسمم للجزيئات الحيوية في الخلية حتى حدوث الموت الخلوي. كما أن EOA تزيد من نفاذية غشاء الميتوكوندريا، مما ينتج عنه تحرير العوامل المحثة للموت الخلوي المبرمج وبالتالي حدوث هذا النوع يؤدي إلى موت الخلية. كما يعتقد أن أنواع الأكسجين النشطة تلعب دوراً مهماً في أنواع عديدة من الضرر الخلوي (الناتج عن تناول أو تعاطي مواد كيميائية سامة) بعضها يمكن أن يتسبب في موت الخلايا[109]. إن قدرة الجذور الحرة على إحداث السرطان تتم عن طريق اتحاد $^{\circ}OH$ معADN ، كما أوضحت العديد من الدراسات علاقة EOAبطفرات الجين P53 .

III-1-1-4 الجذر أحادي أكسيد الأزوت (NO° : Oxyde Nitrique)

هذا الجذر اشتق خاصة من الأزوت ،ينتج بواسطة الخلايا الطلائية المبطنة ،يلعب دورا فيزيولوجيا أساسيا في تنظيم الضغط الدموي ،يستطيع مع زيادة التوتر التأكسدي أن يؤدي إلى خلل وظيفي للخلايا الطلائية المبطنة وبالتالي زيادة إنتاج الجذر NO° ، هذا الأخير يستطيع التفاعل مع الجذور الحرة الأكسجينية الأخرى فينتج عنه تكوين مواد سامة للعضوية خاصة Peroxynitrique (HOONOH)،و عندما يتركب ال NO° يمكنه أن يتحول الى نتريت ونترات وبزيادة نسبة تركيزها البلازمية تعكس إنتاج أحادي أكسيد الازوت .ويستطيع NO° كذلك التفاعل مع البروتينات على مستوى الحمض الأميني Tyrosine (ظاهرة النترجة) أو مع Tocophérol هذه الخصائص توضح فائدة كشف وجودNO°في العينات البيولوجية [70] [87].

III-2 الإجهاد التأكسدي :

- تعريف:

تتشكل الجذور الحرة في العضوية بشكل عاد ، غير أنها تكون مراقبة بدقة بأنظمة مضادة للأكسدة ،لكن عندما يختل التوازن المؤقت بتأثير الجذور الحرة يؤدي إلى حدوث التوتر التأكسدي.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

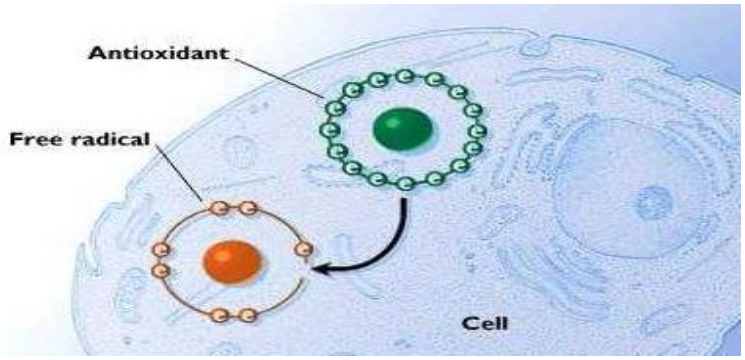
إذا فالتوتر التأكسدي يحدث سواء عن طريق انخفاض نشاط مضادات الأكسدة أو بزيادة عدد الجذور الحرة، حيث يمكنه أن يحدث العديد من الأضرار التي تسبب فقدان التكامل الوظيفي وحتى موت الخلايا.

تستطيع الجذور الحرة أن تهاجم اللبيدات وخاصة الأحماض الدهنية العديدة غير المشبعة. Gras Les Acides Gras Polyinsaturés ، والتي تكون سهلة الأكسدة مما ينتج عنه الأكسدة الفوق اللبيدية La Peroxydation Lipidique). وبما أن الأغشية الخلوية تتألف من الأحماض الدهنية غير المشبعة فأكسدتها تتلف البنية الخلوية للخلية. كما يمكنها مهاجمة ADNالنواة أي القواعد الأزوتية المكونة له، مما يؤدي إلى تلف(خلل) في الرسالة الجينية للخلية.كذلك تحدث الجذور الحرة أضرارا أخرى مثل تشوه (فقد الطبيعة) للأحماض الأمينية مما يؤدي إلى حدوث خلل وظيفي أو عدم تنشيط للإنزيمات الموجودة داخل أو خارج الخلية [69].

إن الإجهاد التأكسدى يشير إلى نظرية أن عملية الأيض الطبيعية (البناء والهدم) فى الجسم تؤدى إلى تلف تراكمى للحامض النووى الريبى المنقوص الأكسجين ADN والبروتينات والدهون بمرور الزمن . ويعتبر الالتهاب والاجهاد التأكسدى من عوامل الخطر فى حدوث تصلب الشرايين ولذلك فإن المنتجات البروتينية المؤكسدة تعتمد كمؤشر ينبأ بحدوث تصلب الشرايين.

III-3 المؤشرات البيولوجية للتوتر التأكسدي :

تتفاعل الجذور الأكسجينية مع كل سلسلة من مواد التفاعل البيولوجية (بروتينات ،ليبيدات ، ADN ...) مع الأخذ بعين الاعتبار أن مشتقات الأكسدة لمختلف هذه المواد المتفاعلة ستكون مؤشرات على وجود التوتر التاكسدي .



شكل(06): كيفية حدوث الاجهاد التأكسدي في الخلية

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ا-الأكسدة الفوق الليبيدية (La Péroxydation Lipidique):تعتبر الأحماض الدهنية العديدة غير المشبعة للأغشية الخلوية مثل أسترات الكوليسترول ، الفوسفوليبيدات ، الغليسيريدات الثلاثية الهدف الأساسي للجذور الحرة ،فهي ناتج تركيب للبيروكسيدات الليبيداية ،والتي يمكن قياسها في البلازما أو الدم [78].

تبدأ ألأكسدة الليبيدية بمرحلة البداية التي تستلزم هجوم الأنواع النشطة مؤدية الى نزع ذرة هيدروجين من الحمض الدهني المتعدد غير المشبع (LH) ،مما يؤدي الى تشكيل جذر pentandienyl الذي بعد اضافة ال O_2 يعطي جذر البيروكسيل (LOO°) ، أين يمكن لهذا الأخير أن يتفاعل مع حمض دهني آخر و يشكل الهيدروبيروكسيد (LOOH) ، إنها مرحلة الإنتشار . قد تتجزأ البيروكسيدات الليبيدية أحيانا إلى مركبات أكثر سمية و التي تزيد من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة ومن بين المواد الأكثر نشاطا ضد قواعد ال ADN نجد: Pentane، (MAD) Malondialdehyde. Hydroxynonenal (4- HNE) أين يمكن لهذين ألأخيرين أن يشكلا ما يسمى ب Adduits مع ال ADN يتدخل فيتامين –E ويحول جذور البيروكسيل الى هيدروبيروكسيد و يضع حد لنهاية التفاعلات المتسلسلة لأكسدة الليبيدات و تسمى هذه المرحلة بمرحلة النهاية .

يمكن لـ EOA أن يتفاعل مباشرة مع الأحماض الدهنية من أجل تكوين Prostaglandine (PGF 2a) وEpi - Prostaglandine -8وهو ينتمي إلى عائلة Isoprostanes، تركيز هذه الجزيئات سيكون على سبيل المثال في البلازما أو بول المدخنين المزمنين [104] مقارنة مع الأشخاص غير المدخنين .

الأحماض الدهنية غير المشبعة هي أيضا مكونات أساسية لـ LDL أكسدة هذه الأخيرة يكون عاملا خاصا ومهما في تطور مرض تصلب الشرايين (Althérosclerose) .

بينت الدراسات الحديثة من خلال عينة شاهدة أن نسبة LDL المؤكسدة تكون خاصة مرتفعة عند المرضى المصابين بانسداد نسيج القلب العضلي (Infarctus du Myocarde) [60].

ب-أكسدة البروتينات (Les Proteines Oxydées) :

يمكن أن تتغير طبيعة البروتينات في وجود الجذور الاكسيجينية ،حيث تتجزأ وتفقد بنيتها الأولية والثانوية فالأضرار التاكسدية في مستوى البروتينات والأحماض الأمينية يمكن أن تظهر بمختلف الطرق[38][39].

تؤدي أكسدة الأحماض الأمينية الى ظهور مجاميع Hydropéroxydes (HOO°).

-أكسدة الهيكل الكربوني لسلسلة عديد الببتيد تؤدي الى تفكك البروتينات وظهور مجاميع الكربونيل .

-أكسدة السلاسل الجانبية للأحماض الامينية مع تكوين جسور ثنائية الكبريت و يطلق عليه اسم الأحماض الأمينية الكبريتية مثل (Méthionine- Sulfoxyde-Systeine) أوالأحماض الامينية العطرية مثل (Tyrosine-Trepthophane -Histidine-Phenilalanine) الأكثر حساسية، بعض الأحماض الأمينية (His,Tyr,Phe) تتعرض لعامل Hydroxylation التي تمنع تكوين Ortho-et de Métaأو Tyrosine

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

في حالةPheعند أكسدة Tyr يتم تركيب مركب مزدوج الصيغة الجزئية (Dimerisation) لجذرTyrosylمؤديا إلى تكوين Dityrosine.

-تكوين مشتقات كلورية مثل:3,5-Dichlorotyrosine,3-Chlorotyrosine واضافة النيترات مثل: Nitrotyrosine وهذا عند تماس Tyr بنظام(MPO/HO) وجذر Oxyde Nitrique (NO°) على التوالي [100] غير ان ظهور هذه المجاميع الكربونية يعكس بالاحرى تغيرا كليا في البروتين ودون شك في تواجد توتر تاكسدي أينما ظهر Tyr-Hydroxylée.

ج-أكسدة الـ ADN.

تملك المشتقات الأكسجينية النشطة جاذبية كبيرة للتفاعل مع القواعد البنائية للـADN ،إذ يتحول Guanine إلى 8-OXO-7 ,8-Dihydroxy-guanine (8- OH-Dg) هذا الأخير يهدم طبيعيا بواسطة إنزيمات ترميم أو تصليح ADN إذا عجزت هذه الأنظمة فالمركب (8-OH-Dg) يتراكم في ADN مسببا طفرات تتدخل في تطور عوامل التسرطن [16] بزيادة تركيز مركب 8-OH-Dg.

د- مؤشرات أخرى :

1-Glucose:

تنتج عن أكسدة Glucose أكسدة ذاتية ،كميات كبيرة من EOA و Glyoxal حيث يثبت هذا الأخير على مجموعة الأمين للبروتينات كنتيجة لظهور بقايا Carboxyméthyl-Lysine (البروتينات المسنة) ، والتي لها قدرة تثبيت النحاس و تحريض عامل الأكسدة الفوقية للبيدات مما يؤدي إلى زيادة تركيب Glyoxal. يستطيع Glucose أن يتحد مع Hémoglobine لإعطاء Hémoglobine Glycosylée، ارتفاع هذا المؤشر يتواجد فعليا عند مرضى الداء السكري ، فهو مرض مرتبط بحالة هامة للتوتر التأكسدي [71].

2-Myéloperoxydation :

إن تعرض الكريات البيضاء المتعادلة (Neutrophiles) لعامل التنشيط يرفع من استهلاكها لـ O_2 بـ 40% كنتيجة لإنتاج مكثف للجذور الحرة و تحرير الإنزيمات المحللة للبروتينات Myeloperoxydase (MPO)و Elastase) .يتدخل هذا الأخير في تطور التوتر التأكسدي لأن نشاطه الإنزيمي مسؤول على تكوين حمض Hypochloreux (عامل شديد الأكسدة). الارتفاع في MPO البلازمي يكون شاهدا نوعيا على وجود نشاط لـ Neutrophiles و بطريقة غير مباشرة لإنتاج EOA فتواجده يكون في كل ظاهرة التهابية [6].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

III-4 بعض تأثيرات الجذور الحرة :

بظهور البيولوجيا الجزيئية تبين أن للجذور الحرة بتراكيزها الضعيفة دور فيزيولوجي مهم وفعال مثل الرسل الثانية القادرة على:

- تنظيم ظاهرة Apoptose التى تعرف على أنها موت مبرمج للخلايا القابلة للتسرطن [36].

- تنشيط عوامل النسخ (NFKB . AMP Kinase, P38...) المسؤولة على تنشيط الجينات التي تدخل في الاستجابة المناعية [94] تعديل العبارة الجينية للبنية المشفرة للإنزيمات المضادة للأكسدة[59].

بالمقابل فإن الإنتاج المفرط للجذورالأكسجينية يكون له عواقب سلبية، حيث يؤدي إلى ظاهرة الموت المبرمج (Apoptose) في الخلايا السليمة أو ينشط مختلف الجينات المشفرة لعبارة السيتوكينات قبل الالتهابات أو بروتينات الربط،وعلى غرار الطبيعة غير المستقرة للجذور الحرة فهي قادرة على إحداث أضرار خلوية مهمة منها :

- إحداث كسر وطفرات في الحامض النووي ADN.

- عدم تنشيط البروتينات والإنزيمات .

-أكسدة السكريات (Glucose) .

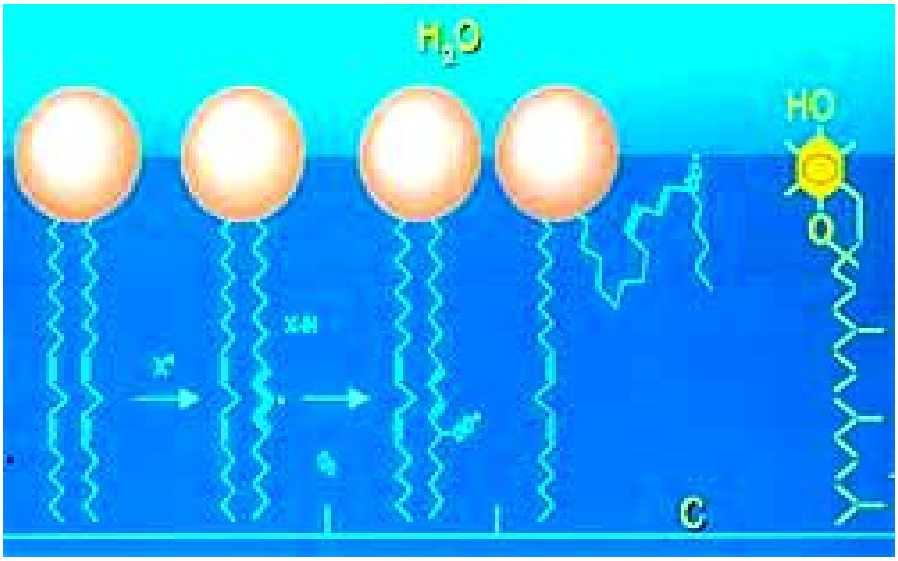
- تحريض عوامل الأكسدة الفوقية للبيدات خاصة في الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة المشكلة لـ Lipoproteines أو للغشاء الخلوي.

III-5 عوامل تساهم في زيادة التوتر التأكسدي:

كما عرف التوتر التاكسدي سابقا على أنه اختلال في التوازن ما بين Les Antioxydants (مضادات الأكسدة) و Les Pro-Oxidants(المؤكسدات الأولية) [117].يمكن لعدة أنظمة بيوكميائية *In Vivo* أن تكون مصدر فرط في إنتاج الجذور الحرة ، يعتبر إتلاف سلسلة نقل الإلكترونات في الميتوكوندري سببا مباشرا في زيادة التوتر التأكسدي . هذه الظاهرة تبرز أثناء الشيخوخة أو في كل حالة مميزة بظاهرة فقرالدم الموضعي (Ishémie – Reperfusion) (مثل: زرع الأعضاء). يعتبر كذلك تنشيط الكريات البيضاء مصدرا مهما في تكوين EOA تحت تأثير عوامل غريبة هذه الخلايا تمر من حالتها الطبيعية إلى حالة أكثر نشاطا مما يترجم الزيادة في استهلاك الأكسجين. تحول مختلف الأنظمة الإنزيمية أغلبية الأكسجين إلى مشتقات أكسجينية ، القادرة على مهاجمة الأنسجة السليمة وهذا ما يعرف بظاهرة الالتهاب . هناك أنظمة أخرى تدخل في الحسبان أثناء الإنتاج الكثيف لـEOA كتنشيط إنزيم Xanthine Oxydase، أكسدة HéMoglobine، تحرير الحديد الحر، الميتابوليزم الزائد للـProstaglandin بالإضافة إلى تنشيط الخلايا الطلائية المبطنة (Endothéliales).

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

أشارت كذلك عدة دراسات إلى أن (Homocysteine) يشكل عاملا خطرا على الأوعية القلبية (المستقلة عن إنسداد النسيج العضلي القلبي) ، الحوادث الشريانية الدماغية الموضعية والموت الإكليلي التاجي. من بين الميكانزمات الفعلية لـHomocysteine أنه يمكنه أن يساعد ظهور تصلب للشرايين (Athérosclérose) مظهرا تأثيره السمي الخلوي المباشر على الخلايا الطلائية -(Endothéliales) وجزؤه المرتبط بتكوين الجذورالحرة عند أكسدة Homocysteine المرجع عن طريق الحديد.[37].



شكل (07): الهدم الغشائي بواسطة الأنواع الاكسجينية النشطة

III-6 مصادر الجذور الحرة:

تنشأ الجذور الحرة في جسم الإنسان من مصادر داخلية Endogenous وخارجية Exogenous وتزداد في حالات المرض والإرهاق النفسي والجسدي وبتقدم العمر شيئاً فشيئاً. ويعتبر النشاط الأيضي داخل الخلايا مصدراً داخلياً للجذور الحرة، كما أن العديد من المركبات في الجسم مثل الأدرينالين والدوبامين وبعض مكونات الميتوكوندريا وهذا خلال التنفس الخلوي حيث تخلق الميتوكندري ال ATP عن طريق اختزال الأكسجين الجزيئي من خلال السلسلة الإلكترونية ،و أيونات ال H^+ على مستوى الغشاء الداخلي للميتوكندري وخلال النقل الإلكتوني ينتج أنيون $O_2^{\cdot -}$ الذي يتحول فيما بعد الى H_2O_2 أو $OH^{\cdot}$ يمكن أن تتفاعل مع الأكسجين لإنتاج جذر فوق الأكسيد والذي يتم إنتاجه كذلك داخل الجسم من خلايا الدم البيضاء كآلية دفاعية ضد البكتيريا .

كما تنشأ الجذور الحرة في جسم الكائن الحي من عدة مصادر خارجية أهمها: الأشعة فوق البنفسجية والسجائر وكل أنواع التدخين والمبيدات Les Pesticides والمواد البتروكيميائية والمذيبات كالبنزين وبعض

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

العقاقير والأشعة الكونية وأشعة إكس Rayaux -X وفرن الأمواج القصيرة والقوى الكهرومغناطيسية المنبعثة من خطوط الضغط العالي والمولدات الكهربائية والهواتف الجوالة وشاشات التلفزيون والحاسب الآلي

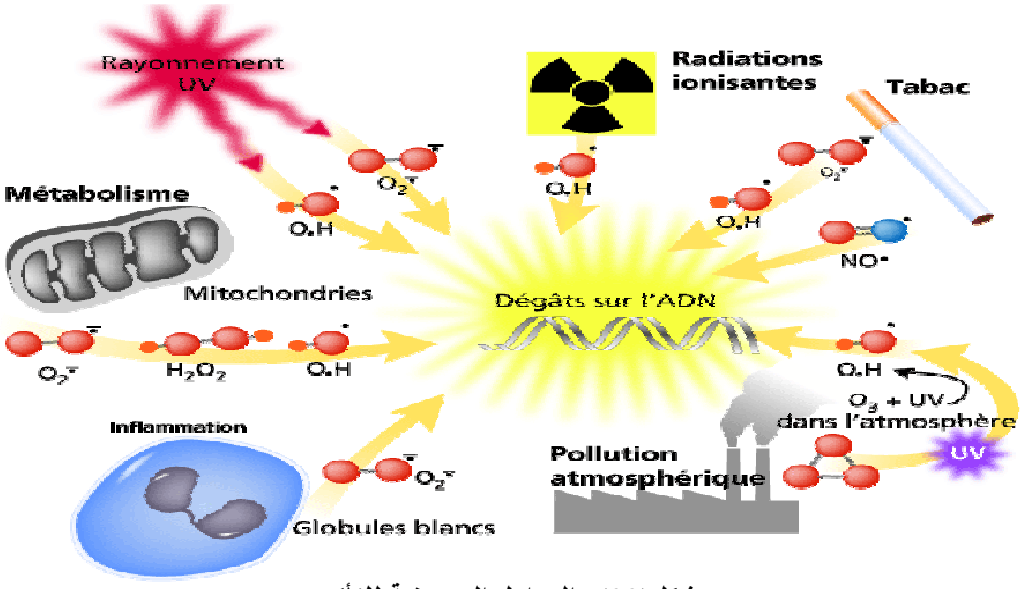
وبعض المركبات الموجودة ضمن الأطعمة المأكولة والغازات المنبعثة. إننا لا نستطيع إيقاف تكون الجذور الحرة، لأنها جزء من عملياتنا الأيضية وحياتنا اليومية في هذا العالم الصناعي.

يشار إلى المركبات الكيميائية والتفاعلات القادرة على إنتاج أنواع الأكسجين شديدة السمية بالمؤكسدات الأولية Pro-Oxidants، كما يطلق على المركبات والتفاعلات التي تحلل أو تدمر هذه الأنواع أو تصيدها أو تكبت تكوينها أو تضاد تأثيراتها بالمواد المضادة للأكسدة Antioxidants والتي منها NADPH وَ GSH والفيتامين C والفيتامين E وفي الخلايا الطبيعية هناك اتزان فاعل بين المؤكسدات الأولية ومضادات الأكسدة، إلا أن هذا الاتزان يمكن أن يتغير باتجاه المؤكسدات الأولية عندما تزيد إنتاج أنواع الأكسجين النشطة بدرجة كبيرة (بعد تناول مواد كيميائية أو عقاقير معينة)[100] أو عندما يتم إضعاف أو إنقاص مستويات المواد المضادة للأكسدة (عندما تكبح الإنزيمات المتورطة في تدمير أنواع الأكسجين النشطة وبوساطة ظروف تتسبب في خفض مستويات هذه المواد). وتسمى هذه الحالة " بالإجهاد المؤكسد " [127]والتي يمكن أن تؤدي إلى دمار شديد في الخلايا إذا كان هذا الإجهاد مكثف أو طالت فترته الزمنية .

جدول(2): مصادر العوامل المؤكسدة والدفاعات ضد الأكسدة

العوامل المؤكسدة	العوامل المضادة للأكسدة
- الالتهابات	- فيتامين - E
- التدخين	- فيتامين- C
- التمارين الرياضية العنيفة	- الكاروتينيدات
- الملوثات البيئية	- الفلافنويدات
- الإشعاع	- الجلوتاثيون
- الوجبة الغنية بالأحماض الدهنية عديدة اللاتشبع	- الإيبكينون
- العوامل المسرطنة	- إنزيم فوق أكسيد ديسميوتيز
	- إنزيم الكتالاز
	- إنزيم بيروكسيداز الجلوتاثيون
	- السلينيوم

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



شكل(08): العوامل المحرضة للتأكسد

III-7 مضادات الاكسدة:

هي مجموعة من العناصر والمركبات التي لها القدرة على منع أو إبطاء عملية الأكسدة بهدف حماية المركبات الأخرى من الأكسجين. وتوجد مضادات الأكسدة في جسم الكائن الحي على صورة إنزيمات أو مرافقات إنزيمية Co-Enzymes أو مركبات تحتوي على عنصر الكبريت المختزل مثل Glutathione. كما توجد مضادات الأكسدة بصورة طبيعية في الخضروات والفواكه والحبوب ومعظم الأعشاب الطبية. ولقد زاد الاهتمام بمضادات الأكسدة في السنوات الأخيرة بسبب قدرتها على تحصين الجسم ضد غزو الجراثيم والقضاء عليها؛ كما تقي الجسم من أمراض العصر الشائعة. وتتعدد وظائف مضادات الأكسدة لتغطي معظم حاجات جسم الإنسان من الوقاية والشفاء وترميم أنسجة وخلايا جسمه. كما تحمي ADN من الضرر وتثبط عمل الجذور الحرة. ومع أن آلية عمل مضادات الأكسدة غير واضحة بدقة، إلا أن البحوث العلمية والدراسات الإحصائية أكدت فاعاليتها في الوقاية من الأمراض ومقاومتها[107].

وتصنف مضادات الأكسدة الى مجموعتين هما:

أ - مضادات الأكسدة الإنزيمية: (Les Antioxidants enzymatique)

وتلعب دوراً هاماً وأساسياً في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي، وتنقسم هذه المجموعة إلى ثلاث فئات هي:[74]

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

1 - Superoxide Dismutase (SOD):

يعتبر هذا الإنزيم أحد أهم الإنزيمات الفاعلة كمضاد للأكسدة. فهو يقوم بإزالة جذور فوق الأكسجين وذلك بتسريع معدل إزالته بحوالي أربع مرات بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم والنحاس والزنك كما يوضحه التفاعل التالي:

$$SOD\text{-}(Ox) + O_2^{\circ}- \longrightarrow SOD\text{-}(Red) + O_2$$

$$SOD\text{-}(Red) + O_2^{\circ}- + 2H+ \longrightarrow SOD\text{-}(Ox) + H_2O_2$$

$$O_2^{\circ}- + O_2^{\circ}- + 2H+ \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

ولأنه يعتبر عامل مؤكسد ومختزل في آن واحد، فإن إنزيم SOD يقي الكائنات الحية الهوائية من التأثيرات الضارة لهذا الجذر (غير موجود في اللاهوائية إجبارياً) وهو يوجد في كل الأنسجة الهوائية في الميتوكوندريا والسيتوسول .

2 - Catalase: ويوجد في Peroxisomes في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدم ونخاع العظام والأغشية المخاطية

والكلى والكبد. كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو Oxidase. فبينما يعمل هذه الاخير على تكوين H_2O_2 يقوم الكاتالاز بتكسيره وتحويله إلى ماء وأكسجين حسب التفاعل التالي:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{Cat} H_2O + O_2$$

حيث إن الماء والأكسجين الناتجة ثابتة ومستقرة ولا ضرر منها. تحمي إنزيمات Hydroperoxidases الموجودة أيضاً في الأجسام البيروكسية الجسم ضد الأكاسيد الضارة، لأن تراكم الأكاسيد يؤدي إلى تكون جذور حرة تؤثر على الأغشية الخلوية وتسبب السرطان وأمراض الشرايين. يوجد Péroxydase في الحليب وخلايا الدم البيضاء والصفائح الدموية. إن التفاعل المحفز بواسطة Péroxydase معقد ويتم على عدة خطوات. لإنزيم الكاتالاز نشاط Péroxydase فهو يمكن أن يستخدم جزيئات H_2O_2 كركيزة مانحة للإلكترون وجزيئات H_2O_2 أخرى كمؤكسد أو مستقبل للإلكترون.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Glutathione Peroxidase - 3:

يوجد هذا الإنزيم في خلايا الدم الحمراء والأنسجة الأخرى. ويقوم هذا الإنزيم بتحفيز تكسير H_2O_2 وَ Hydroperoxides اللبيدات بواسطة الجلوتاثيون المختزل (GSH) وَ H_2O_2 ليعطي الجلوتاثيون المؤكسد (2GS) والماء، كما هو موضح في المعادلة التالية:؛

$$2\ GSH\ (Réduit) + H_2O_2 \longrightarrow GSSG + 2\ H_2O$$

$$2\ GSH + R\text{-}OOH \longrightarrow GSSG + H_2O + R\text{-}OH$$

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

Thiorédoxine Réductase (Trxr) -4 و Thiorédoxine (Trx) :

Thiorédoxineعبارة عن إنزيمات منشطة لمضاد الأكسدة الداخلي كجميع البروتينات ذات المجاميع Thiol(SH) ،تلعب أيضا دورا مهما في تنظيم الجهاز المناعي[57] [86].يؤكسد (Trx) ويرجع بواسطة Thiorédoxine Réductase (Trxr) هذا الأخير عبارة عن إنزيم يملك مجموعة Sélénocysteine في موقعه النشط .يتدخل Trxr أيضا في هدم فوق الأكاسيد اللبيدية وبيروكسيد الهيدروجين وفي تحويل جذر Ascorbyl إلى حمض Ascorbique .

(HO)-: Héme Oxygénase - 5

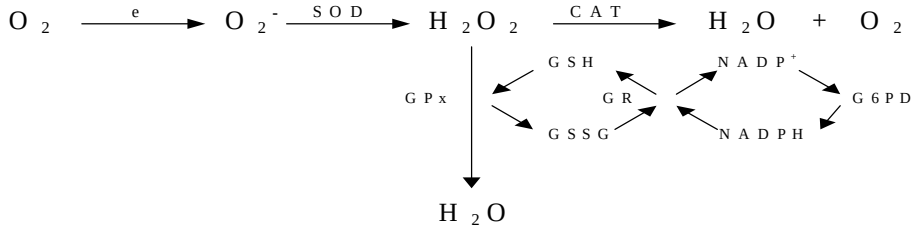
يتكون نظام Héme Oxygénase من 3 وحدات منIsoenzymes:

-HO الحثي أو التأثير،(-HO التكويني، (-HO مستعمرة خلوية.

في النظام البيولوجي يسمح(-HO) بتحويل الهيم (Héme) إلى أحادي أكسيد الكربون وBiliverdine وإلى حديد، فعله الوقائي ضد التوتر التأكسدي غير مباشر لأنه مرتبط بإنتاج Biliverdineوالذي بدوره يتحول إلى Bilirubine، هذا الأخير يملك قدرة التنشيطية لمضادات الأكسدة، خلافا عن الحديد الناتج عن النشاط HO المحرض لتركيب Ferritine الذي يدخل في الاستجابة لمضادات الأكسدة (فعل طويل المدى).

غير أن نشاط (HO) يمكن أن ينجم عنه تأثيرات خطيرة قصيرة المدى لأن نفس الحديد السابق يؤثر كعامل Prooxydant بواسطة فعله التحفيزي على إنتاج الجذور الحرة [111] .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل(09): التفاعلات الكيميائية المرتبطة بمضادات ألأكسدة

ب - مضادات الأكسدة غير الإنزيمية Les Antioxidants Non-Enzymatique:

هناك عدة أنواع من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية ومنها:

1 - Vitamin-C :

يسمى، كذلك Acid Ascorbique؛ وهو مضاد للأكسدة يذوب في الماء ويعمل داخل الخلايا ويستطيع اختزال الجذور الحرة ، كما يعمل على مساندة النظام الدفاعي للجسم ويستخدم أيضاً ضمن آليات الجسم لإزالة سمية بعض المواد الكيميائية وله دور هام في عملية الأكسدة والاختزال في الجسم. كما أن لهذا الفيتامين دوراً مضاداً للموت الخلوي المبرمج ويؤثر أيضاً على بعض المواد المضادة للتكاثر. وبصفة عامة، يلعب فيتامين-C دوراً هاماً في الحفاظ على الصحة العامة ومقاومة الأمراض وتقوية الأغشية الخلوية وإبطال فعل السموم والجذور الحرة. ولأن جسم الإنسان لا يستطيع إنتاج هذا الفيتامين، يجب تناول الأطعمة التي تحتوي عليه كالحمضيات وخاصة من قبل الأشخاص المدخنين[28] [106].

$$R^{\circ} + \text{Vit C} - OH \longrightarrow RH + \text{Vit C} - O^{\circ}$$

2 - Vitamin-E

يعتبر فيتامين- E من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون وتعرف مركباته ب Tocopherols و Tocotrenole ومن أهمها مركب α -Tocopherol الذي يلعب دوراً حيوياً في حماية الأغشية الخلوية من

التلف التأكسدي وبالتالي منع الكولسترول من الالتصاق بجدران الشرايين حيث إن هذا الفيتامين يقوم باقتناص الجذور البيروكسية في الأغشية الخلوية ولذلك يطلق عليه تعبير " كاسح الجذور .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كما يعادل تأثير بعض الجذور الحرة الأخرى وبالتالي يعمل على الوقاية من بعض الأمراض[95]. كما تعمل مركبات فيتامين -E على منع أكسدة بعض العناصر الغذائية وإعاقة سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون والزيوت وذلك بمعادلة مركبات أنواع الأكسجين النشط.

$$ROO^{\circ} + Vit\ E - OH \longrightarrow ROOH + Vit\ E - O^{\circ}$$

اكتسب فيتامين ـ E أهمية بالغة بعد أن عرف دوره كمضاد للأكسدة وإطالة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الأمراض كتقليل نسبة حدوث الإصابة بالجلطات القلبية بمعدل 77 ٪ وتصلب الشرايين بنسبة 47 ٪، ومن المصادر الغنية بهذا الفيتامين زيت النخيل والذرة والفول السوداني.

3 - Glutathione:

هو ببتيده قصيرة مكونة من ثلاثة أحماض أمينية هي: Glutamique و Cystine وGlycine يوجد Glutathione في الأنسجة الحيوانية ويلعب دوراً مهماً كمضاد للأكسدة حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي ويثبط تكون الجذور الحرة داخل الخلية [10]، كما يحفز اختزال البيروكسيداز Peroxidase. يعاد تكوين الجلوتاثيون المختزل (GSH) من الجلوتاثيون المؤكسد 2GS بتحفيز إنزيم Glutathione Reductase الذي يعتمد على تواجد NADPH .

هناك العديد من المواد السامة الغريبة المحبة للإلكترونات Xenobiotiques Electrophile Toxiqueالتي ترتبط مع GSH الذي يوجد بكميات عالية في الكبد وبكميات أقل في الأنسجة الأخرى. إذا لم يتم ارتباط المواد الغريبة بالجلوتاثيون فإنها سترتبط مع ADN أوARN أو بروتينات الخلية، مما ينتج عنه دمار خلوي كبير. ولهذا، فإن للـ GSH دوراً مهماً كآلية دفاعية ضد المركبات السامة مثل العقاقير والمواد المسرطنة.

-4- LE COENZYME Q10 : (مرافق الإنزيمQ10):

يعرف Ubiquinone أوCOQ10 جيدا لدوره في إنتاج الطاقة في مستوى الميتوكوندري ،يوجد مبدئيا في شكل مرجع Ubiquinol -10 أوCo Q10H2. يملك كذلك خصائص مضادة للأ كسدة مهمة كفيتامين E قادرعلى تثبيط الأكسدة الفوقية للبيدات[5][50] .

دراسة النسبة تكون COQ10H2/ COQ10 ضرورية لتحديد أهمية COQ10 في الحماية ضد هجوم الجذورالحرة[73] من جهة أخرى فتحديد COQ10 يمكن أن يظهر عاملا مميزا في الكشف عن المرضى المعرضين لتطور مرض إلتهاب الأوردة . كما بين[75] أن القيم المنتشرة لـCOQ10 انخفضت كثيرا (-/+ 40%) عن طريق أخذ Statines المعروف بقدرته على إرجاع Cholesterol .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تثبط مركبات Statines في الواقع إنزيم (HMG- 3-Hydroxy-3-Metlylaglutaryl.Coa Réductase COA Réductase)والذي يؤثربدوره على إنتاج (Mevalonate) وهي مادة التفاعل التي تشترك في تركيب الكولسترول وCOQ10.

أنواع أخرى لمضادات الأكسدة:

هناك العديد من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية الأخرى مثل الفلافونويدات والكاروتينويدات وهي مضادات أكسدة فعالة خصوصاً في عمليات الأكسدة الخاصة ببعض المعادن[24]. توجد الفلافونويدات والكاروتينويدات في العديد من الأطعمة كالفواكه والخضروات. وقد تم التعرف على أكثر من 4000 نوع من الفلافونويدات الطبيعية التي من أهمها Catechines التي لها دور في القضاء على بعض الجراثيم المعوية وإبطال مفعول سمومها القوية المسماة بال Verotoxin وتتواجد Catechines بوفرة في الشاي الأخضر. وهناك أيضاً عنصر السيلينيوم Selenium الذي يوجد بتراكيز مرتفعة في الكبد والكليتين والطحال والقلب ويعمل كمضاد أكسدة بالاشتراك مع فيتامين - E في بعض التفاعلات الحيوية لحماية خلايا الدم الحمراء من الأكسدة . ومن الأطعمة الغنية بالفلافونويدات التفاح - التوت– الجزر – العنب - البصل - الفلفل - الطماطم والشاى المخمر.

- **Acide Aliagique:**

هذه المادة الهامة المضادة للتأكسد تساعد على حماية الحامض النووى بخلايا الجسم وتحول دون نفاذ الجذور الحرة عبر جدران الخلية. يتوافر فى التفاح – التوت البرى - العنب والفراولة..

- **Oligo Mirique Pro Ontocianidine (O.P.C) :**

إن (O.P.C) المتوفر بكثرة فى العنب يعتبر حديثاً أقوى أنواع مضادات الأكسدة فقد ثبت أنه أقوى خمسين مرة من فيتامين (E) وعشرين مرة من فيتامين (C) فهو يقلل من أمراض القلب وتصلب الشرايين [5]ويحسن التهاب المفاصل وأمراض الحساسية .

والتهاب الشعب الهوائية ويقلل التجاعيد ويحسن وظائف المخ بالذات الذاكرة ويقلل من نسبة الإصابة بالسكتة الدماغية. ويعتبر أحد مضادات الأكسدة القلائل القادر على الوصول إلى المخ كما يساعد فيتامين (C) على أداء وظيفته.

- **Acide Lipoique:**

يعتبر من أهم مضادات الأكسدة ويتميز هذا الحامض بخاصية نادرة حيث أنه يذوب في الماء والدهون

وبالتالي يمكنه حماية كل الخلايا ويساعد على الحفاظ على نسبة السكر في الدم ويحافظ على الجهاز العصبي ويساعد الكبد على أداء وظيفته.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

يعتبر أخصائيو التغذية أن تعزيز النظام الغذائي الطبيعي الشامل بمعظم أنواع مضادات الأكسدة يؤدي إلى إطالة فترة حياة الكائن وتحسين صحته وتخفيف علامات الشيخوخة [72] وتعمل مضادات الأكسدة بصفة عامة كمجموعة واحدة متكاملة ضد أنواع مختلفة من الجذور الحرة في أجزاء مختلفة من الخلايا وفي مواضع مختلفة من الجسم وبطرق مختلفة أيضاً، أي أن تأثيرات مضادات الأكسدة مجتمعة تكون أفضل من تأثير كل مضاد أكسدة بمفرده، كما تستعيد بعض مضادات الأكسدة فاعليتها بواسطة مضادات الأكسدة الأخرى.

إن مضادات الأكسدة التي تتكون طبيعياً داخل الخلايا غير كافية مما أدى إلى تصنيع مجموعة من المركبات التي تعمل كمضادات للتأكسد أطلق عليها إسم مضادات الأكسدة المصنعة والتي يضاف بعضها إلى الأطعمة لمنع أكسدة مكوناتها من الدهون والسكريات والبروتينات. ومن هذه المركبات مادة Butylated Hydroxytoluene (BHT) التي تستخدم في مختلف الدراسات.

III -8 الإجهاد التأكسدي و الأمراض

إن زيادة الجذور الحرة أو انخفاض الأنظمة المضادة للأكسدة يؤدي إلى توتر تأكسدي هذا الأخير يمكنه أن يحدث أضرارا في الخلايا كفقدان تكاملها الوظيفي أو موتها الخلوي،[70] فاختلال الجهاز المضاد للأكسدة (خاصة إزالة السمية النشطة المصحوبة بتوتر تأكسدي) يساهم في الموت العصبي ،كما تتدخل الجذور الحرة في عوامل التسرطن[67] وتلعب دورا وسيطا في مراحله الأولى (Initiation و Promotion) ،حيث أن هذه المواد التي تساعد على تكوين الجذور الحرة هي مواد متسرطنة.

بالإضافة إلى ذلك فإن تراكم الحديد أو نقص نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة في الدماغ يستطيع أن يسبب حالة من التوتر التأكسدي والذي يحدث أمراض الانحلال العصبي (Neurodégénérative) خاصة مرض Parkinson.وكذلك حدوث طفرة في جينSOD والتي تشفر إنزيم SOD والذي يمكنه أن يكون سببا مباشرا لإحدى الأمراض مثل :التصلب الجانبي الضامر للعضلات(Sclérose latérale- amyotrophique) وSyndrome de Down ،ويمكن أن ينسب هذا إلى تلف أوحدوث طفرة في جين SOD السيتوزولي أي المرتبط بالنحاس والزنك(Cu-ZnSOD) والمتواجد على الكروموزوم21.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

IV- الخصائص البيولوجية للمستخلصات و الفلافونويدات :

IV - 1 الأنشطة البيولوجية لمستخلصات الشاي الأخضر:

كشف باحثو [49] أن مواد يحويها الشاي الأخضر قد تساعد في الوقاية من بعض أمراض العيون الشائعة كـ"الغلوكوما"المعروفبـ"المياه الزرقاء". ووجد في البحث الذي أجرته "الجامعة الصينية في هونغ كونغ" أن العدسة والشبكية وأجزاء أخرى من العين تمتص المادة الموجودة في الشاي الأخضر والمعروفة باسم "كاتشينز-2.(Catechins) "[72] ويعتقد الخبراء أن للـ"كاتشينز" وهي مادة ثبت لها تأثيرات مضادة للأكسدة، خصائص حمائية تقي الجسم من الأضرار التي قد يتسبب بها الأوكسجين.

وفي دراسة قام بها الفريق العلمي [56] بتقديم الشاي الأخضر إلى فئران مختبرات ومن ثم إخضاعها لاختبارات لتحديد مدى تأثرها بالكاتشينز .وتأكد للباحثين تأثير المادة وفائدتها في الحد من تأثير الإجهاد التأكسدي على العين وحتى20 ساعة.

وقال الباحثون نتائجنا تشير إلى أن استهلاك الشاي الأخضر قد يفيد العين ضد الإجهاد التأكسدي.

ويذكر أن الإجهاد التأكسدي يضعف عدسة العين، وتوفرت العديد من الدلائل العملية التي تثبت أن إعتام العدسة وارتفاع ضغط العين له علاقة بارتفاع عوامل التأكسد وقلة مضادات التأكسد في الجسم.

الشاي الأخضر يمنع رائحة الفم ويقتل البكتيريا

تناول فنجان من الشاي الأخضر يحمي اللثة والأسنان ويقاوم التسوس، ويقاوم البكتيريا الضارة التي تسبب رائحة النفس الكريهة. كما أشارت دراسة نشرتها صحيفة "لو جورنال سانتيه "الفرنسية إلى أن انخفاض معدل الإصابة بسرطان الفم في الصين يعود إلى الاستهلاك الكبير للشاي الأخضر [65][46].

الشاي الأخضر يحمي الكبد من لالتهاب

هناك أدلة كثيرة تشير إلى أن الشاي الأخضر يحتوي على مواد مضادة للسرطان. ويحتوي الشاي الأخضر على مركب يسمى EGCG Epigallocatechin-3-Gallate و الذي يساعد على تعطيل نمو الأوعية الدموية غير الطبيعي و قد اكتشف الباحثون ان ذلك مفيد في منع حدوث الأورام من تكوين أوعية دموية جديدة و التي تحتاج إليها للبقاء حية [66][77].

الشاي الأخضر يساعد على منع حدوث التهاب المفاصل

كشفت دراسة جديدة ان المواد المضادة للاكسدة في الشاي الاخضر يمكن ان تمنع أو تقلل من حدة الأعراض المصاحبة لالتهاب المفاصل و تستطيع المواد المضادة للأكسدة في الشاي الاخضر من تعطيل جين Cox-Z الذي يثير الالتهابات بنفس الطريقة التي تعمل بها الادوية المضادة للروماتيزم

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الشاي الأخضر يقوي المناعة

تعزز الغرغرة بالشاي الأخضر على تعزيز المناعة ضد الأنفلونزا، وفقا لدراسة يابانية جديدة. كذلك أشارت دراسة أجريت في جامعة هارفارد الأمريكية أن المواد الكيميائية الموجودة في الشاي الأخضر حفزت خلايا Gammadeltaالتي تعزز المناعة ضد البكتيريا و الفيروسات [41].

الشاي الأخضر يحمي من مرض Alzheimer و مرض Parkinson:

كشفت دراسة جديدة دامت سنتين و اشتملت مجموعة من كبار السن (80عاما فأكثر)ان 96% من اولئك الذين كانوا يتناولون 10 أكواب من الشاي الأخضر يوميا لم يظهروا أي ضعف في الادراك مقارنة بنسبة 12% لم يتناولوا الشاي الأخضر و اكتشف العلماء في نفس الدراسة ان الكحول والقهوة عملا على إبطاء مفعول الشاي الأخضر في الدماغ[7][76].

*الوقاية من مرض Parkinson (مرض فقدان خلايا الدماغ المنتجة لمادة الدوبامين التي تتحكم بالحركة) حيث أن مضادات الأكسدة الموجودة في الشاي تساعد على مكافحة العناصر المشعة التي تلحق أضرارا بالدماغ مسببة مرض Parkinson [7].

الشاي الأخضر يساعد في محاربة الحساسية

تمكن العلماء في اليابان من تحديد مركب في الشاي الأخضر من شأنه أن يعطل في التجارب المخبرية مستقبلا رئيسيا في الخلية له علاقة بالحساسية والاستجابة لها. و يعمل المركب الذي يسمى Methylated Epigalloeatechin Gallateعلى تعطيل انتاج الهستامين د و Immunoglobulin E و هما مركبان في الدم يعملان في الغالب على إثارة ردات الفعل التحسسية و على الرغم من ان مركبات اخرى في الشاي الاخضر تثبت فعاليتها في السابق ضد الحساسية فان هذا المركب بالذات يبدوا أقواها [47] .

الشاي الأخضر يساعد على حرق الدهون

يساعد الشاي الأخضر على تسريع عملية الايض لان تأثيره المضاد للأكسدة يساعد الكبد على أداء وظيفته بشكل أكثر فعالية. فقد اكتشفت دراسة أمريكية جديدة أجريت على رجال بدناء أن شرب الشاي الأخضر ثلاث مرات يوميا يحرق 200 سعر حراري إضافي يوميا. كذلك وجد أن الأشخاص الذين يتناولون الشاي الأخضر أن الطاقة لديهم تعززت بشكل كبير. وعلاوة على ذلك، يخفض الشاي الأخضر مستوى السكر في الدم والذي يعتبر مسؤولا عن تخزين الجلوكوز على شكل شحوم، ولذا فإن تخفيض مستوى السكر يخفض أيضا في مستوى الشحوم المخزونة في الجسم [8][45][79].

الشاي الأخضر يحمي القلب من الأمراض

أظهرت الدراسات أن الشاي الأخضر يخفض مستوى الكولسترول في الدم لان تأثيراته المضادة للأكسدة تمنع تأكسد الكولسترول الضار LDL في الشرايين. ويعتبر تشكل جلطات الدم غير الطبيعي السبب الرئيسي في

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

النوبات القلبية والجلطات الدماغية وقد أظهر الشاي الأخضر أنه يمنع تشكل الجلطات الدموية غير الطبيعية وأن له نفس فعالية الأسبرين في هذا المجال.

من جانب آخر، يجب ملاحظة أن الأسبرين له تأثيرات مضادة للتجلط تختلف عن الشاي الأخضر ولذا فإذا كنت تتناول جرعات صغيرة من الأسبرين للوقاية من النوبات القلبية أو الجلطة الدماغية، فإنه ينبغي عليك الاستمرار في ذلك حتى لو كنت تشرب الشاي الأخضر أيضا. كذلك أثبتت الدراسات أن الشاي الأخضر يزيد مستويات الكولسترول النافع HDL الذي يساعد على إزالة الصفائح الدهنية من جدران الشرايين[91][120].

الشاي الأخضر يساعد في تخفيض ضغط الد م

يعود سبب ارتفاع ضغط الدم إلى إنزيم تفرزه الكلية ويسمى . ACE وتعمل الأدوية المخفضة للضغط على منع إفراز الأنزيم ولذا فإن ضغط الدم يمكن تخفيضه من خلال تعطيل عمل الأنزيم. أما بالنسبة للشاي الأخضر فهو معطل طبيعي للأنزيم وقد أظهرت دراسات عديدة أن ضغط الدم انخفض في الحيوان والإنسان بعد إعطائهما مستحضرات من الشاي الأخضر[126].

الشاي الأخضر يساعد على الوقاية من التسمم الغذائي

نظرا لان الشاي الأخضر يقتل البكتيريا فإن شربه مع الوجبات يمكن أن يخفض خطر الإصابة بالتسمم الغذائي البكتيري. كذلك يمنع الشاي الأخضر نمو البكتيريا في الأمعاء ويساعد على نمو البكتيريا النافعة في الأمعاء.

الشاي و السرطان

في دراسة حصرية حول انتشار و تطور مرض السرطان وجد أن معدل أمراض السرطان تقل في المناطق التي يتناول سكانها معدلات عالية من الشاي الأخضر مثل اليابان، الصين و كوريا حيث بينت دراسة حول نمط التغذية تمت في مناطق من اليابان أين يعتبر الشاي الأخضر مشروب شعبي أن الإصابات بسرطان المعدة، الكبد، البنكرياس، الكلى، الرئتين و الجلد ينتشر بصورة قليلة عند الأشخاص الذين يتناولون هذا المشروب، و أوضحت الدراسة أن معدل الإصابة بسرطان الرئة يقل بنسبة 45% عند المدخنين الذين يتناولون كميات كبيرة من الشاي، مما يوضح انخفاض معدل الإصابة يمثل هذا المرض عند سكان اليابان مقارنة بسكان الولايات المتحدة الأمريكية علما بأن اليابانيين يدخنون أكثر من الأمريكيين. و خلال الدراسة التجريبية تم إعطاء عوامل محرضة للسرطان لعشيرتين من حيوانات التجارب مع تقديم كميات كبيرة من مستخلص الشاي لأحدهما، فوجد عند هذه المجموعة أن تكوين الخلايا الورمية السرطانية يقل بصورة واضحة مقارنة بالمجموعة الثانية التي لم تتناول هذا المستخلص و خلصت الدراسة إلى أن الشاي الأخضر يعمل كمضاد للأكسدة و يلعب دورا مهما في عملية منع و وقف نشاط الجزيئات المحرضة للسرطان مما يؤدي إلى تعطيل فعلها التسممي. [68].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

يؤدي الإدمان على تناول الشاي والإفراط في شربه إلى الإمساك المزمن وفقدان الشهية وبطء الهضم المعدي وعسر الهضم، ويستحسن الاعتدال في شرب الشاي وتحضير نقعه في الماء الساخن للحفاظ على مكوناته المفيدة.

IV -2 الخصائص البيولوجية للفلافونويدات [21]:

IV -2-1 ألأنشطة المختلفة للفلافونويدات:

أصبحت الفلافونويدات تحتل مجالا واسعا في الاستعمال العلاجي لمواجهة الأمراض التي تسببها الجذور الحرة ومن بين الأمراض المرتبطة بفرط إنتاجها:الالتهابات، Ischaemia/Reperfusion والأضرار المتعلقة بالوسط الخ... .وأظهرت كذلك تأثيرات إكلينيكية وعلاجية في المعالجة من الإصابة الفيروسية ، الداء السكري ،آلام الرأس[54] كما أكدت عدة دراسات أهمية الفلافونويدات لنشاطها المضاد للجذور الحرة وبالتالي فهي تؤدي دور مثبطات فعالة للأكسدة الفوقية للبيدات ولفرط إنتاج الجذور الأكسجينية الناتج عن الخلايا الالتهابية والمحدث للسمية الخلوية،والتلف الكرومزومي [1].

أ- **نشاط مضاد للسرطان:** [55] [82].

- يمكن لهذه المركبات الفينولية (الفلافونويدات) أن تكون قادرة على تنشيط الميكانيزم الطبيعي الدفاعي المضاد للسرطان ، حيث أن الأطوار الأولى من المرحلة الابتدائية للسرطان يمكنها أن تتوقف وذلك بقدرة الأنسجة المستهدفة على اعتراض وهدم العوامل المسرطنة ، فمثلا تبني الخلايا الكبدية إنزيمات تسمى إنزيمات المرحلة I (Monooxygenases) التي بامكانها أن تؤكسد المواد المسرطنة الكارهة للماء إلى نواتج تعتبر مادة تفاعل لإنزيمات المرحلة II (Glucoronyl Transférase , Sulfotransférase...) ، التي تحولها إلى أنواع قابلة للذوبان في الماء ، تطرح بسهولة خارج الخلية (كما يعمل كلا الإنزيمين للمرحلة I و II على مستوى المخاطية المعوية).

وتبنى هذه الإنزيمات تحت فعل مواد فينولية توجد في الخضروات، الخمر و الشاي وكذلك تحت تأثير Isothiocyanates (مشتقات Glucosinolates) . إن تثبيط المرحلة المتأخرة من السرطان يعتمد على عملية معقدة ، لكن أثبت أنه خارج العضوية بعض الفلافونويدات (Flavonol , Quercetin ذات المصدر الغذائي) بإمكانها إلغاءألإنقسام الميتوزي وذلك بتثبيط مسالك الإشارات الداخل خلوية وتنظم بذلك عملية تجديد الخلايا . كما يوجد ميكانيزم آخر وهو إلغاء الخلايا التي هي في مرحلة البدء من الموت الخلوي المبرمج(Apoptose)، حيث أثبت أيضا خارج العضوية أن Isothiocyanates والفلافونويدات تولد الموت الخلوي للخلايا السرطانية [20].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ب- نشاط مثبط للإنزيمات :

تعتبر الفلافونويدات كمثبطات للإنزيمات خارج العضوية [82] حيث تثبط كل من : Hyaluronidase Aldose Réductase, Elastase, Histidine Carboxylase. حيث أن تثبيط Hyaluronidase يحافظ على تماسك المادة الأساسية في غمد الأوعية [25].

مثبطات غير نوعية لـ Catechol-O-Methyltransférase مما يسمح برفع كمية الكاتيكولامينات الحرة مما يؤدي إلى ارتفاع مقاومة الأوعية ، كما أن تثبيط Phosphodiesterase للـ Ampc يبين نشاط الفلافونويدات المضاد لتراكم الصفائح الدموية .

بالإضافة إلى ذلك فإن عدة فلافونويدات لها القدرة على تثبيط كل من Lipoxygenase و/أو Cyto-Oxygenase وتثبيط هذا الأخير له علاقة مباشرة بقدرة الفلافونويدات على اقتناص ا لجذور الحرة . وبالمقابل فإنه نادرا ما تعمل الفلافونويدات كمنبهات للإنزيمات، كما هو الحال بالنسبة للـ Proline Hydrolase ،حيث يحفز هذا التنبيه على تكوين جسور ما بين ألياف الكولاجين مما يزيد من دعامتها و صلابتها .وينتج هذا النشاط على مستوى الكولاجين عن فعل جزيئات Oligomeres فلافونويدية . كما نشير إلى فعل الأنيون فوق الأكسيد في التحلل البروتيني غير الإنزيمي للكولاجين ،حيث ثبت أنه خارج العضوية يعمل Anthocyanosides على تثبيط هذه العملية الهدمية [19].

ج- نشاط مضاد للأكسدة:[10].

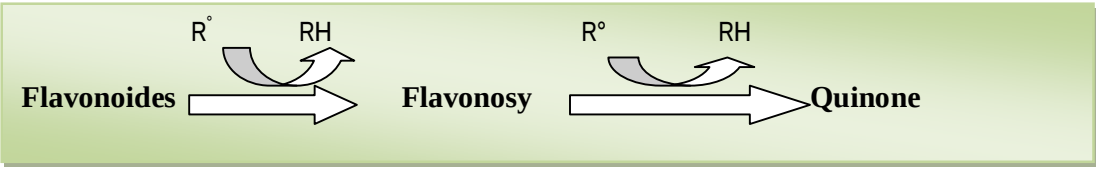
تثبط الفلافونويدات الأكسدة الفوقية للبيدات في مرحلة البدء بواسطة اقتناصها لأنيون فوق الأكسيد وجذر الهيدروكسيل حيث تعمل على إنهاء تفاعل السلسلة الجذرية بمنح ذرة هيدروجين لجذر Peroxyl ويتكون بذلك جذر فلافونوكسي حسب التفاعل التالي : [21]

R^0 :الجذر الحر

Flavonoïde (O^o):الجذر الفلافونوكسي

هذا الأخير يدير التفاعل مع الجذور الحرة حتى نهاية سلسلة الانتشار وتعتبر مجاميع الهيدروكسيل للحلقة B الأكثر نشاطا في اقتناص الجذور الحرة المستقرة حيث يتفاعل جذر الفلافونوكسي مع جذر آخر فتنتج بنية الكينون كما هو مبين في التفاعل التالي:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



شكل (10) : تفاعل يوضح اقتناص الفلافونويدات للجذور الحرة [82].

كما توجد علاقة ما بين بنية الفلافونويدات وعملية تثبيط الاكسدة الفوق اللبيدية :

1- وجود مجموعة هيدروكسيل في الوضعية (3-OH) من الحلقة C :حيث وجد أن الفلافونويدات الاجليكونية (Flavonoides Aglyconique) التي لها مجموعة 3-OH مثل : Myricetin Quercetin ,Catechin Fisetin ,Morin, لها قدرة كبيرة على منع الأكسدة الفائقة اللبيدية مقارنة مع التي لا تملك مجموعة OH في الوضعية 3 مثل: Diosmetin , (Flvones)Apigenin (Flavanones) Hesperetin, Naringenin[78].

2- الرابطة المزدوجة ما بين الكربون2 و3 من الحلقة C:حيث أن هدرجة هذه الرابطة تؤدي إلى خفض الفعل المضاد للأكسدة الفوقية [55] .

3- في بعض الدراسات [9] وجود مجموعة كربونيل في4-C من الحلقة C هي هامة بالنشاط المضاد للأكسدة الفوقية : فالـ Catechin مثلا تنقصه مجموعة كاربونيل (C-4) وبالتالي فله قدرة منخفضة على اقتناص جذر الهيدروكسيل مقارنة مع Quercetrineالذي يملك مجموعة كاربونيل في الوضعية C-4 .

4- كماوضحت أهمية المستبدلات الهيدروكسيلية في الحلقتين A و B وذلك بمقارنة كل من : Hespertin, مع Quercetin,Fistin, Morin(+)- Catechin, Phloretin, Myricetrin, 3Apigenin,Hydroxyflavone, Chrysin, Naringin, Hesperidin

ففي المجموعة السابقة كل الفلافونيودات لها ما بين 4-6 مستبدل هيدروكسيلي ، بينما المجموعة الأخيرة لها بين 1-3 مجموعة هيدروكسيل . وبالتالي يزداد نشاط الفلافونويدات القانص لجذر الهيدروكسيل مع زيادة عدد المجاميع الهدروكسيلية في الحلقة B (خاصة C-3) وينقص بسرعة لما ينخفض عدد مجاميع الهيدروكسيل . مثلا Myricetin له نشاط قانص لجذر هيدروكسيل أكبر من Kaempfenol [8] .

5– تشارك مجاميع الهيدروكسيل الآتية في تثبيط الأكسدة الفوقية اللبيدية : C-5 و C-7 للحلقة A، C-3 و C-4 للحلقة B والوضعية C-3 للحلقة C .

6- الفلافونويدات أجليكون مثل : Diosmetin , Hesperetin, Maringenin لها فاعلية كبيرة في تثبيط Malonaldehyde [8][45][79].

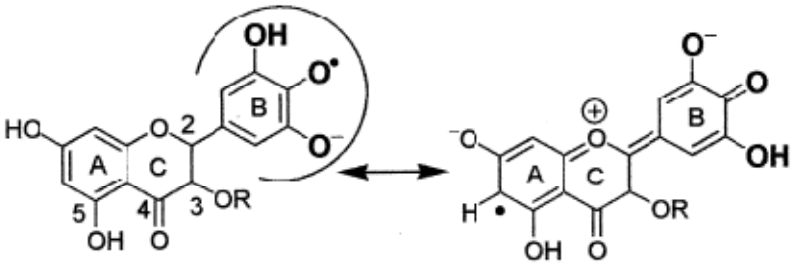
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

7- الفلافونويدات التي تملك كل من مجاميع الكربونيل C-3 وC-4 أو مجاميع الهيدروكسيل C-5 مثل Quercetin تشكل مخلبيات مع أيونات الحديد . حيث تحتفظ الفلافونويدات بنشاطها القانص للجذور الحرة بعد تشكيل معقد مع أيونات الحديد وتثبط تفاعل FENTON الذي يعتبر مصدرا أساسيا لتشكيل الجذور الأكسجينية النشطة ،أما داخل العضوية فالعملية تبقى واضحة جدا [18].

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH^{\circ} + OH^{-} + Fe^{+3}$$

$$H_2O_2 + Cu^{+} \longrightarrow OH^{\circ} + OH^{-} + Cu^{+2}$$

كما بين [31] أن هناك علاقة ما بين صيغة ونشاط الفلافونويد كمثبط لـ (XO)Xanthine- Oxydase وكقانص لجذر فوق الأكسيد الناتج عن (XO) ، حيث أن مجموعة الهيدروكسيل في الوضعية C-5 و C-7 والرابطة المزدوجة بين C-2 و C-3 هي هامة للنشاط المثبط لإنزيم La Méthylation(X.O) [88] [102].



الشكل (11): استبدال الالكترونات في الجذر الفلافونوكسي[89] [100].

د- الفلافونويدات والداء السكري:

يعمل Quercetine على تثبيط الإنزيم المحول لـ Glucose إلى Sorbitole ، هذا الأخير يؤدي إلى مضاعفات السكري منها :عتمة العين (Cataracte) حيث أثبت ذلك عند الحيوانات المصابة بالسكري. فبإمكان الفلافونويدات أن تنبه إفراز الأنسولين وتحمي خلايا البنكرياس من الفعل المخرب للجذور الحرة[21]

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

كما ركزت الأبحاث الحديثة على دراسة النباتات المستعملة في الطب التقليدي لعلاج السكري ، حيث أظهرت المستخلصات النباتية خاصة الفينولية منها فعلها الخافض لسكر الدم عند الحيوانات المصابة بالسكري التجريبي ، بالإضافة إلى خصائصها المضادة للأكسدة ، حيث لوحظ في جميع الدراسات اقتران انخفاض مستوى السكر في الدم بانخفاض الأكسدة الفوقية الليبيدية وزيادة نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل SOD، Catalase، Gpx

IV-2- أدوار أخرى للفلافونويدات :

بالإضافة إلى نشاطها المضاد للأكسدة ، فإن للفلافونويدات قدرة على التأثير على الإنزيمات المتدخلة في إنتاج المواد الالتهابية إذ أثبت فاعليتها في علاج الربو والحساسية ، حيث يلعب Quercetin فعل مضاد للالتهاب وذلك بالحفاظ على ثبات غشاء الخلايا المفرزة للهيستامين ، كما يؤثر على بناءLeukotriene [124].

تلعب الفلافونويدات كذلك دورا كبيرا في تثبيط أكسدة LDL الناتجة عن الجذور الحرة التي تؤدي تصلب الشرايين،حيث أثبت أن المركبات الفينولية المعزولة من الخمر الأحمر لها قدرة أكبر من A-Tocopherol على تثبيط أكسدة LDL المحفزة بأيونات النحاس ، إذ تختزل الفلافونويدات تشكيل الجذور الحرة [119] .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الجزء العملي

la pratique

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المواد و طرق العمل

Matérial et Métode
Materiol and Methods

خطة البحث
Plan du travail
Desing of the work

المواد
Materiol
Matériel

الطرق
Méthode
Methodes

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

خطة البحث

لقد تمت هذه الدراسة كمايلي :

1- عملية البحث العميقة في مملكة النباتات و التي أدت إلى اختيار نبتة الشاي الأخضر camellia sinensise **والمشهورة عالميا .**

2- الاستخلاص الخام لأوراق نبتة الشاي ألأخضر بعد وضعها في ثلاث مذيبات عضوية و الحصول على ثلاثة مستخلصات خامة : - المستخلص الميثانولي

- المستخلص الايثانولي

- المستخلص الأسيتوني

3- الكشف عن الفلافونويدات المتواجدة في مستخلصات أوراق نبتة الشاي ألأخضر Camellia sinensise

4- اجراء اختبار *(in vitro)* **على *تأثير* كل من المستخلص الخام الميثانولي ، ألإيثانولي ، ألأسيتوني على النشاط المضاد للأكسدة و المتمثل في اختبار الـ** DPPH

5- اجراء اختبار على النشاط المضاد للبيكتيريا من خلال قدرة المستخلصات الثلاث السابقة الذكر على تثبيط أو نمو البكتيريا .

وقد تم انجاز هذا الجزء من العمل في كل من مخبر بيولوجيا الحيوان ، مخبر Bacteriologie **بجامعة منتوري قسنطينة ، كذلك تم انجاز الجزء الخاص بالنشاط المضاد للبكتيريا في مخبر التحاليل الطبية بتاجنانت ولاية ميلة .**

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

V- المواد وطرق العمل

الجزء ألأول:

- المواد

- المادة النباتية

V -1 جمع المادة النباتية (Camellia Sinensis) :

نظرا للاهتمام الكبير من طرف الباحثين على نبتة الشاي ألأخضر فارتأينا أن نجري بحثا و اختبارا على نبتة الشاي الأخضر ، فقد تم الحصول على هذه النبتة من محل تجاري بولاية قسنطينة من نوع الشاي ألأخضر الصيني (الخيمة) حيث تم تعبئته في شهر ديسمبر2009 و تنتهي صلاحيته في عام 2013 ، فقد صببنا اهتمامنا على دراسة ألأوراق الفتية فقط فهي تباع في علب خاصة بعد تجفيفها حيث تجفف أولا قبل 24 ساعة من تعبئة العلب كي لا تتاكسد بمجرد ملامستها للهواء و بذلك تبقى محافظة على جميع مكوناتها الكيميائية و خواصها البيولوجية ماعدا فقدها للماء.

V -1-1 طريقة تحضير المستخلص النباتي:[32] [33] [35].

بعد الحصول على نبتة الشاي الاخضر قمنا باستخلاص ثلاث مستخلصات خامة هي المستخلص ألأسيتوني ،المستخلص الميثانولي ، المستخلص ألايثانولي . مع إجراء بعض الاختبارات البيولوجية خارج الكائن الحي و توقيفها للتوتر التأكسدي بإزاحة الجذور الحرة كذلك قدرتها على توقيف النشاط البكتيري و لقد تمت هذه الدراسة التجريبية على مستوى:

- مخبر بيولوجيا الحيوان بكلية العلوم جامعة منتوري - قسنطينة .

- مخبر ميكرو بيولوجيا التطبيقية جامعة منتوري – قسنطينة.

V -1-1-1 <u>تحضيرالمستخلص الخام الميثانولي</u> :

تمت عملية الاستخلاص حسب طريقة [3] [14] [93] كالتالي:

- المرحلة الاولى :

غمر 80غ من ألأجزاء النباتية للشاي ألأخضر في وعاء سعته 1ل في خليط هيدروكحولي مكون من (ماء ، ميثانول (400 مل/400 مل) و تركت لمدة 24سا مع التحريك من حين لأخر في جهاز التحريك ، مع غلق البيشر بإحكام بواسطة ورق الألمنيوم لتفادي تبخر المزيج و لمنع ألأكسدة الهوائية ، نكرر العملية ثلاث مرات مع تجديد المذيب و في كل مرة يرشح الخليط بواسطة ورق الترشيح رقم01 و تجمع المستخلصات الثلاثة المرشحة في قارورة زجاجية مغلقة بإحكام و تترك ليلة كاملة بعيدة عن الضوء ، ثم يعاد ترشيح هذه المستخلصات للمرة الاخيرة للتخلص من كل الشوائب .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- يركز الراشح النهائي باستعمال جهاز التبخير الدوراني (Rotavapor) للحصول على المادة المركزة جافة حيث يوضع الراشح في الحوجلة الزجاجية لجهاز التبخير عند درجة حرارة 57°م في زمن محدد للحصول على المستخلص الخام بدون مذيبات فيتبخر الماء و الميثانول وتبقى سوى المواد الخام للعينة النباتية اللاصقة على الجدران الداخلية للحوجلة إلى أن يتم الحصول على مستخلص جاف للنبتة.

الشكل(12): جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur

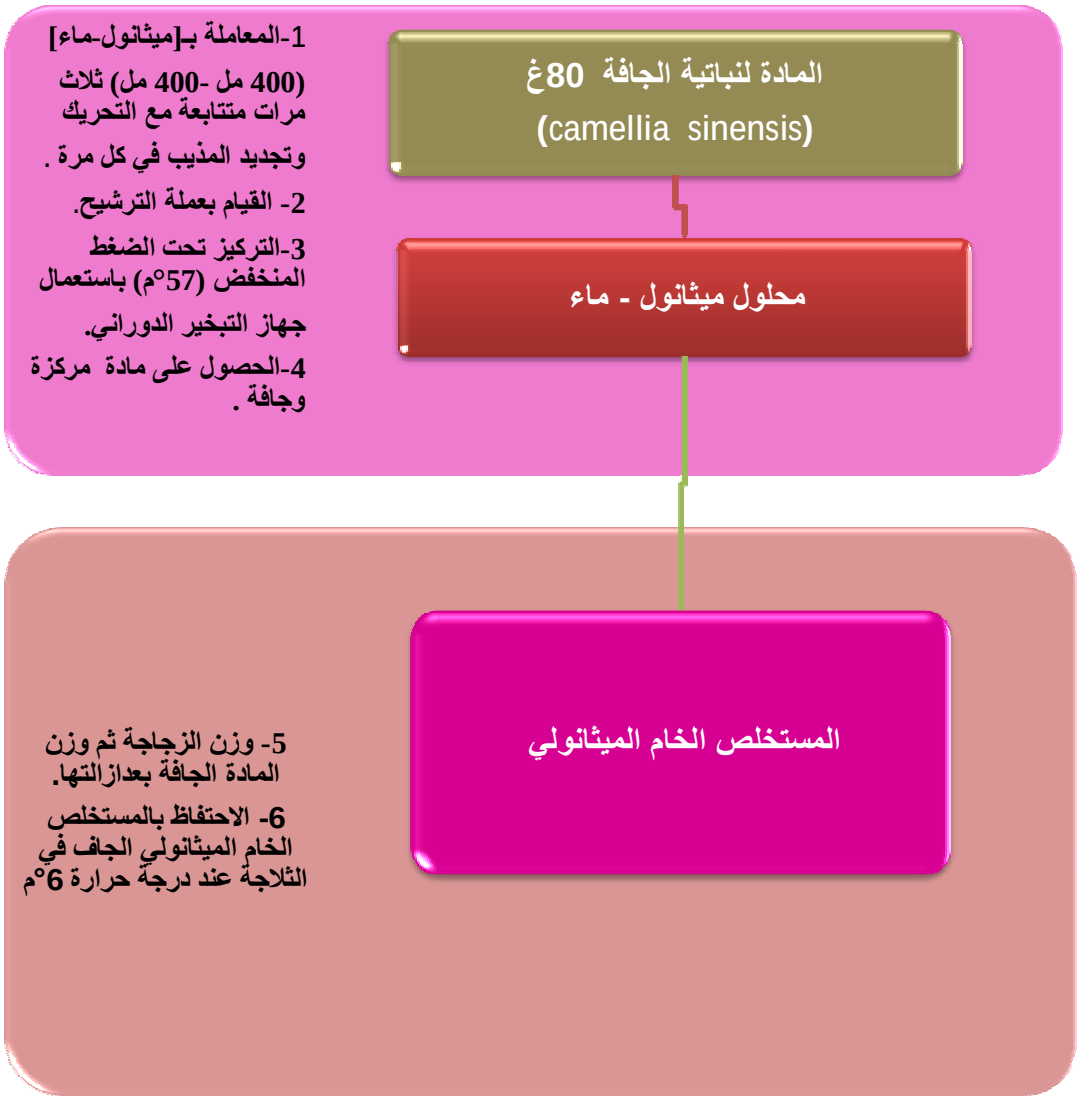
- المرحلة الثانية :

- نزع المادة الجافة العالقة مباشرة بالحوجلة ووزنها ثم الاحتفاظ بها في الثلاجة عند درجة حرارة 6°م ، ثم استعمالها في الاختبارات البيولوجية بعد اضافة المذيب الخاص بالمستخلص (الميثانول) لاذابة المادة الجافة .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الشكل(13): حوجلة بها المادة الجافة للمستخلص الميثانولي

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل(14) : مراحل استخلاص المستخلص الخام الميثانولي من نبتة الشاي الأخضر (Camellia Sinensis)

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

V -1- 1- 2- تحضير المستخلص الخام ألايثانولي :

وتمت حسب طريقة[3] [14] [93] كالتالي:

- المرحلة الاولى :

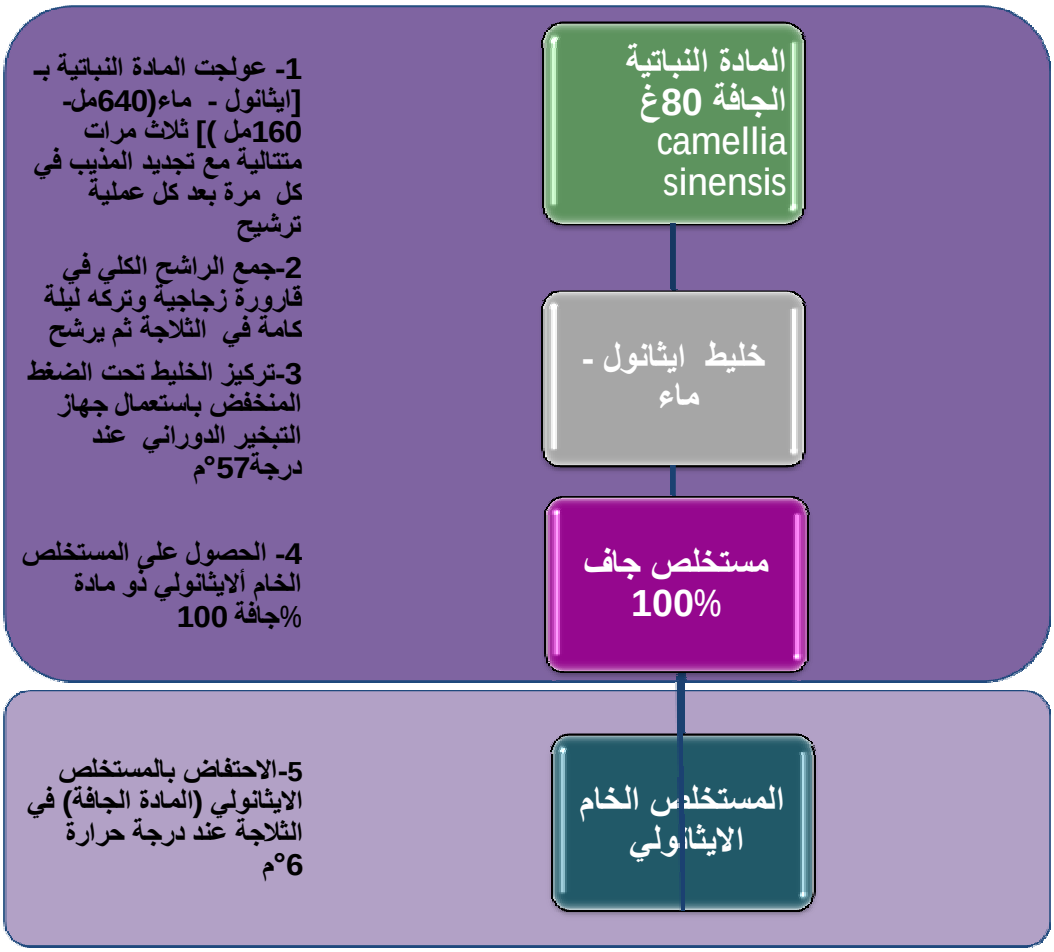
غمر 80غ من ألأجزاء النباتية للشاي ألأخضر في وعاء سعته 1ل في خليط هيدروكحولي مكون من (ماء، ايثانول(96) (640مل/160مل) و تركت لمدة 24سا مع التحريك من حين لأخر في جهاز التحريك ، مع غلق البيشر باحكام بواسطة ورق الألمنيوم لتفادي تبخر المزيج و لمنع ألأكسدة الهوائية ، نكرر العملية ثلاث مرات مع تجديد المذيب و في كل مرة يرشح الخليط بواسطة ورق الترشيح رقم (Watmane N°01) و تجمع المستخلصات الثلاثة المرشحة في قارورة زجاجية مغلقة باحكام و تترك ليلة كاملة بعيدة عن الضوء ، ثم يعاد ترشيح هذه المستخلصات للمرة الاخيرة للتخلص من كل الشوائب.

- يركز الراشح النهائي باستعمال جهاز التبخير ألدوراني (Rotavapor) للحصول على المادة المركزة جافة حيث يوضع الراشح في الحوجلة الزجاجية لجهاز التبخير عند درجة حرارة 57°م في زمن محدد للحصول على المستخلص الخام بدون مذيبات فيتبخر الماء و الايثانول وتبقى سوى المواد الخام للعينة النباتية اللاصقة على الجدران الداخلية للحوجلة الى أن يتم الحصول على مستخلص خام و جاف للنبتة .

- المرحلة الثانية :

-نزع المادة الجافة العالقة مباشرة بالحوجلة ووزنها ثم الاحتفاظ بها في الثلاجة عند درجة حرارة 6°م ، ثم استعمالها في الاختبارات البيولوجية بعد إضافة المذيب الخاص بالمستخلص(الايثانول) لإذابة المادة الجافة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل (15) : مراحل استخلاص المستخلص الخام ألايثانولي من نبتة الشاي الأخضر

(Camellia Sinensise)

V - 1- 1- 3 تحضير المستخلص الخام ألأسيتوني :

حسب طريقة [3] [14] [93] كالتالي :

- المرحلة الاولى :

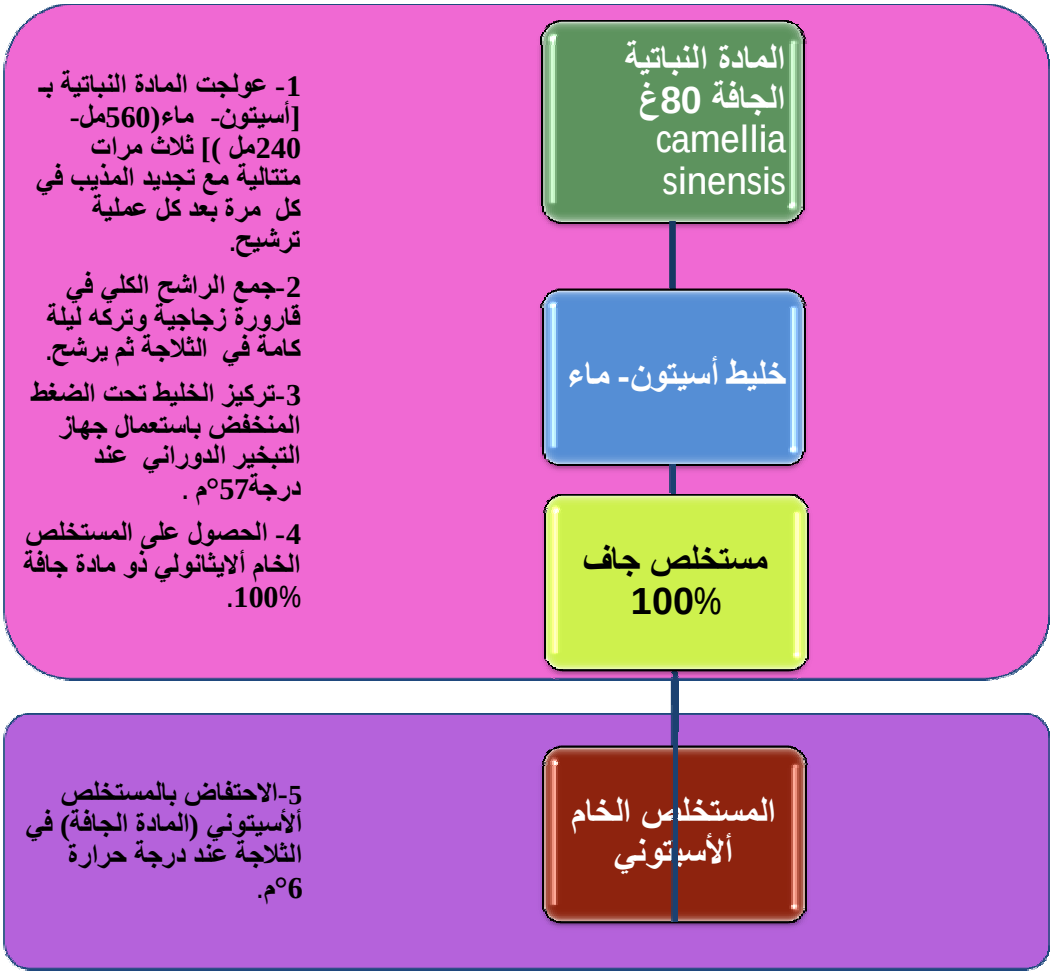
- غمر 80غ من ألأجزاء النباتية للشاي ألأخضر في وعاء سعته 1ل في خليط هيدروكحولي مكون من (ماء ، أسيتون (560مل/ 240مل) و تركت لمدة 24سا مع التحريك من حين لاخر في جهاز التحريك ، مع غلق البيشر بإحكام بواسطة ورق الألمنيوم لتفادي تبخر المزيج و لمنع ألأكسدة الهوائية ، تكرر العملية ثلاث مرات مع تجديد المذيب و في كل مرة يرشح الخليط بواسطة ورق الترشيح تجمع المستخلصات الثلاثة المرشحة في قارورة زجاجية مغلقة بإحكام و تترك ليلة كاملة بعيدة عن الضوء ، ثم يعاد ترشيح هذه المستخلصات للمرة الأخيرة للتخلص من كل الشوائب .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- يركز الراشح النهائي باستعمال جهازالتبخيرالدوراني (Rotavapor) للحصول على المادة المركزة جافة حيث يوضع الراشح في الحوجلة الزجاجية لجهاز التبخير عند درجة حرارة 57°م في زمن محدد للحصول على المستخلص الخام ألاسيتوني بدون مذيبات فيتبخر الماء و الأسيتون وتبقى سوى المواد الخام . للعينة النباتية اللاصقة على الجدران الداخلية للحوجلة الى أن يتم الحصول على مستخلص جاف للنبتة .

- المرحلة الثانية :

-نزع المادة الجافة العالقة مباشرة بالحوجلة ووزنها ثم الاحتفاظ بها في الثلاجة عند درجة حرارة 6°م ، ثم استعمالها في الاختبارات البيولوجية بعد اضافة المذيب الخاص بالمستخلص (ألأسيتون) لاذابة المادة الجافة.



الشكل (16) : مراحل استخلاص المستخلص الخام ألأسيتوني لنبتة الشاي الأخضر

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

V -2 الطرق :

V -2-1 الكشف عن الفلافونويدات:

تعطي المجموعات المختلفة من الفلافونويدات ألوانا مميزة مع الكثير من الكواشف هي الأخرى تستخدم للدلالة على وجود هذه المركبات الطبيعية .

من الكواشف محلول كلوريد الألومنيوم 5% الذي يعطي بقعا صفراء إذا ما وجدت المادة الفلافونويدية التي تحمل مجموعة هيدروكسيل في الموضع رقم 5 . هذا وتعطي جميع الفلافونويدات ألوانا صفراء أو برتقالية مع هيدروكسيد الصوديوم .وتجدر الإشارة إلى أن الأنثوسيانينات تعطي ألوانا بنفسجية أو زرقاء في وسط قلوي . كما تعطي جميع الفلافونويدات بما في ذلك الأنثوسيانيد ألوانا صفراء إلى برتقالية مع حمض الكبريتيك المركز . من الكواشف المستخدمة للتعرف على الفلافونويدات , محلول 5% Vanillin-Hcl الذي يحضر بإضافة Hcl المركز إلى محلول فانلين Vanillin في كحول الايثانول وبنسبة 4:1 على التوالي . ويستدل على وجود جميع الفلافونويدات عند رش هذا الكاشف ، حيث تظهر بقع حمراء في الحال أو بعد التدفئة البسيطة , إلا أن مركبات الفلافونونات تعطي إيجابية تجاه هذا الكاشف ولكن بصورة أبطأ من الفلافونويدات الأخرى . كما يستخدم هيدروكسيد الحديد الثلاثي للتأكد من وجود الفلافونويدات في الخلاصة النباتية حيث يعطي ألوانا مميزة حمراء أو خضراء أو زرقاء .

و بمعالجة 5 ملل من كل مستخلص(ألايثانولي ، الميثانولي ، ألأسيتوني) على حدى بواسطة قطرات من Hcl المركز ، ثم نضيف كمية من صبغة المغنيزيوم و نترك المواد تتفاعل، و كدليل على وجود الفلافونويدات و خاصة منها الفلافونول Flavonols و الفلافانون Flavonones نلاحظ ظهور لون أحمر يميل إلى البرتقالي [73].

الجزء الثاني :

V -3 الدراسة المخبرية على المستخلص الخام النباتي (*In Vitro*) :

V -3-1 دراسة نشاطية المستخلص الخام المضادة للأكسدة :

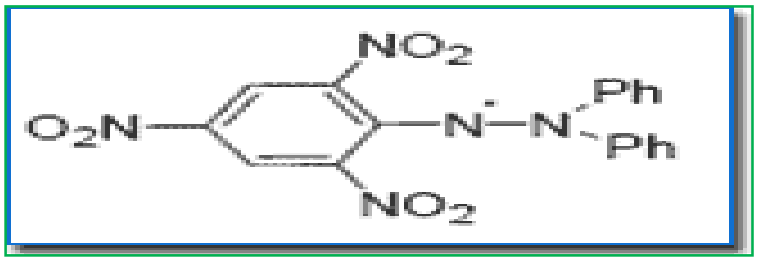
لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات الثلاثة (الميثانول، الايثانول، الاسيتون) لنبتة الشاي الاخضر تم اجراء اختبار مهم هو اختبارDPPH و الذي سمح بقياس قدرة هذه المستخلصات على ازاحة الجذور الحرة باستعمال جذر الـDPPH.

V -3- 1-1 دراسة الفعل الأسر للمستخلصات الثلاث على ازاحة جذر الDPPH:

- **المبدأ:** كخاصية من أجل تحديد النشاط المضاد للتأكسد للمستخلصات الثلاثة للنبتة الطبيعية Camellia Sinensis قد استعملت كثيرا قدرة ازاحة الـ DPPH (2,2-Diphényl-1- Picrylhydrazyle).[18] .[116]

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تتجلى هذه الخاصية في مقدرة هذه المستخلصات المدروسة على منح ذرة هيدروجين من مجاميع الهيدروكسيل الفينولية ، بغية تعديل الجذر الحرDPPH وانتاج مركبات مستقرة لاتتسبب في توسيع تفاعلات لأكسدة وهذا ما يحدث لجذر الـ DPPH، الذي يستقر من خلال أخذ الهيدروجين من مجموعة الهيدروكسيل و تحدد الخاصية الازاحية للمادة وهذا من خلال زوال اللون البنفسجي لجذر الـــ DPPH وتحوله إلى DPPH-H (2,2-Diphenyl-1-Picrlhydrazyne) ذو اللون الأصفر نتيجة إرجاعه إلى مركب مستقر غير أن المركز النيتروجيني للـ DPPHالبنفسجي المميز لجذر مصنع و يستعمل فقط لدراسة خاصية الازاحة .



الشكل (17): البنية التركيبية لجذر الـ DPPH

الشكل (18):تثبيط جذر الـ DPPH

- في هذه الدراسة تم تقدير القيمة الازاحية لجذر الـDPPH لكل مستخلص و مقارنة النتائج مع القيمة الازاحية للكورستين القياسي.

v الطريقة :

V -3-1-1-1 دراسة نشاطية المستخلص الخام الميثانولي على ازاحة جذر ال DPPH :

- نقوم باذابة بودرة المادة الجافة للمستخلص الميثانولي بأخذ 10mg واذابتها في10ml من الميثانول فنتحصل على المحلول ألأم يقدر ب.1mg/ml.
- وضع 50µlمن المستخلص الميثانولي (المحلول ألأم) من كل تركيز (1-0.9-0.8.....0.05) في أنابيب مزدوجة
- نضيف اليها 5ml من الـ DPPH ذو تركيز0.0004 المذاب في الميثانول ثم نقوم برج الأنابيب رج خفيف و نتركها
- لمدة 30د في الظلام ونقيس الكثافة الضوئية على طول موجة 517نانومتر .

وقد تم حساب نسبة التثبيط المئوية لجذر الـDPPH(I%) بفعل المستخلص الخام الميثانولي كمايلي :

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

I%= (Ac-Ae)/Ac× 100

حيث :

- Ac: شدة الامتصاص الضوئي في غياب المثبط .

- Ae: شدة الامتصاص الضوئي في وجود المثبط (عينة المستخلص) .

فيما بعد تم حساب التركيز المثبط 50% من نشاط الـ DPPH (IC_{50}) أي التركيز الادنى المثبط لكل مستخلص انطلاقا من المعادلة التي تحدد نسبة التثبيط ثم مقارنتها مع مثيلتها للكورستين (Quercetine) [127] [84].

V -3- 1-1-2 دراسة نشاطية المستخلص الخام ألإيثانولي على ازاحة جذر ال DPPH :

- اتباع نفس المراحل السابقة في المستخلص الميثانولي لكن هنا نذيب الـDPPH في المذيب العضوي ألإيثانولي

V -3- 1-1-3 دراسة نشاطية المستخلص الخام ألأسيتوني على ازاحة جذر ال DPPH :

- اتباع نفس المراحل السابقة في المستخلص الميثانولي لكن هنا نذيب الـDPPH في المذيب العضوي ألأسيتوني.

V- 4 النشاط المضاد للبكتيريا L'activité Antibacterie:

البيكتيريا عبارة عن كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية يطلق عليها مصطلح Protisate-Procaryote جدارها خال من السيليلوز ما عدا Acetobactere تتميز بغياب الـLignne وChitine,Algeine, Pectine وغياب Steriode ما عدا عند بعض الأجناس ،ووجود مركبات بكتيرية خاصة أحماض (Dipicoliaue,Diaminopinelique)

تلعب البكتيريا دورا هاما في الدورة الحياتية على سطح الأرض ،حيث تتواجد في كل مكان (ماء،هواء،تربة، الفتحات الطبيعية للإنسان و الحيوان) . كما تلعب دورا كبيرا في التحلل البكتيري الذي قد يكون مفيدا في المناعة ،عمليات التخمر ،تكوين الفيتامينات ،الهرمونات و الأنزيمات [83].

لتحديد الفعل المثبط لنمو البكتيريا Bacteriostatique أو الفعل القاتل Bacteriocide للمستخلصات الخام الثلاث تم إجراء اختبارات على ثلاث سلالات بكتيرية تم الحصول عليها من مخبر علم البكتيريا Bacteriologie من مستشفى أمراض الكلى – الدقسي- قسنطينة . حيث تمت تنمية هذه السلالة البكتيرية الثلاث على بيئات اختيارية مناسبة للتأكد من شكل المستعمرة ومن جهة أخرى للحصول على سلالات فتية نشطة .

V - a مميزات السلالات البكتيرية المختارة لهذه الدراسة :

- مجموعة Souche de Collection Americain 01 تتكون هذه المجموعة من Staphylococcus Aureus و Echerichia Coli .

- السلالة الثانية المختارة هي (13) Pseudomonase Aerogenosa (Code ou Nemuronde Réferonce -13)

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

V-أ-1 جنس Echerichia Coli:

ينتمي الى عائلة Enterobacteriaceas وتتميز بأنها عصوية ، متحركة بأسواط جسمية سالبة الغرام ($Gram^-$) ، هوائية اختياريا ، تتواجد في الامعاء الغليضة للانسان ، كما تتسبب في أمراض التهاب الغشاء البريتوني عند تواجدها بأعداد كبيرة [48].

V – ب- 2 جنس Staphylococcus Aureus:

تنتمي الى عائلة Micrococcaceae يتواجد طبيعيا بشكل دائم في الانف كما وجدت في العجان (المسافة بين عضو التناسل و الشرج)، موجبة الغرام ($Gram^+$) ، هوائية و غير هوائية اجباريا ، لها القدرة على تحليل كرات الدم الحمراء ، تمكنها من افراز السموم بجسم العائل أو في بيئة النمو فهي سلالات ممرضة أو قد تحدث تسمما غذائيا ، كما تفرز هذه البكتيريا مجموعة من السموم الداخلية ، تتواجد غالبا على الجلد و الغدد الجلدية وفي الاغشية المخاطية للحيوانات ذات الدم الحار وعلى كثير من المواد الغذائية [106] [2] .

V- ج- 3 جنس Pseudomonase Aerogenosa

ينتمي هذا الجنس إلى عائلة Pseudomonadaceae سالبة الغرام ($Gram^-$) تنتشر في التربة والمياه وفي السوائل المخاطية للأنف والمجاري التناسلية والبولية وكذلك في القبح وهي مسؤولة على إحداث إصابة تعفنية خطيرة والملاحظة خصوصا في الوسط الجراحي بنسبة 10- 20 % مقاومتها شديدة للمضادات الحيوية والمطهرات ، هي بكتيريا Invivaseتتواجد عند أي مريض وتقوم بإفراز عدد كبير من الأنزيمات والسموم Proteases ، Phosphalipase Interrotoxine [92].

V –b الأوساط الغذائية لنمو البكتيريا

V - أ-1 وسط Chapman :

يتكون أساسا من Trypsine De Casine Agar +Manitol+Extrait De Viande+Pepton تذاب هذه المركبات وفق المقادير المطلوبة في 1000ملل ماء مقطر ويعدل PHإلى7ثم تعقم على 121°م لمدة 20 دقيقة وهي بيئة إنتقائية للبكتيريا Staphylocaccus Aureus[23].

V - ب-2 وسط Mac Conky

تتكون من Crystal Violet+Neutralred +Lactose Agar+Pepton تذاب في 1000ملل ماء مقطر PH=0.2-7.2

في درجة حرارة 25°م وهي بيئة إنتقائية لبكتيرياPseudomonas Aeruginosa[23].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

V – ج - 3 وسط الآجار المغذي Gelose Nutritive :

تستعمل عادة عند تنمية أنواع عديدة من البكتيريا وتتكون أساسا من Nacl+Extrait De Viande+Pepton تذاب هذه المركبات في 1000ملل ماء مقطر Ph=7.2 ثم يوزع المزيج في أنابيب اختبار تحتوي كل أنبوبة على 5ملل

المركب	الكمية بالغرام
كلوريد الصوديوم	5
بيبثون	5
مستخلص اللحم	5
آجار آجار	15
ماء مقطر	1000 ملل

تذاب المكونات بالماء المقطر مع التحريك و التسخين للحصول على بيئة متجانسة، تعقم البيئة Autoclave تحت (1.5 ضغط جوي، درجة حرارة 121 م° زمن 20د) تحفظ على درجة حرارة منخفضة لتحسين الاستعمال.

V - د- 4 بيئة Mueller Hinton

المحلول A

المركب	الكمية بالغرام
Hydrolysate des Caseine	17,5
Bouillon de Bœuf	300
Amidon	1,5
Agar Agar	17
Eau Distillée	490 ml

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المحلول B

المركب	الكمية بالغرام
Hemoglobin	100
Eau Distiller	490 ml

En Richement

المركب	الكمية بالملل
Isovitale	20 ml

تتم إذابة المكونات مع التسخين و التحريك بخلط المحلولين معا .،يضبط PH عند 1.3 توزع في دوارق سعة 250 ملل و تعقم في Autoclave تحت (1.5 ضغط جوي، درجة الحرارة 121 م ° زمن 15 د) .

V -5 المواد وطرق العمل

V -5-1 المواد:

بغرض إجراء تجارب النشاط المضاد للبكتيريا تم تحضير بيئات غذائية حسب نوع البكتيريا وذلك بإستعمال البيئات الإختيارية .

- **Escherichia Coli** ⟶ Milieux de Gélose Nutritive
- **Staphylococcus Aureus** ⟶ Milieux de Chapman
- **Pseudomonase Aerogenosa** ⟶ Milieux_Gélose Nutritive

V – 5-2 طريقة إجراء الإختبار

أستعملت في هذا الإختبار طريقة الإنتشار في وسط صلب Muller Henton (M H) بإستعمال الأقراص[97] [108] [99] بإتباع مايلي.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- **تحضير الأقراص Préparation De Disque**

* نحضر الأقراص من ورق Watmaneرقم(1) ذو قطر 6mm

* وضع هذه الأقراص في طبق بيتري زجاجي ورشها بقليل من الماء المقطر، غلقها ووضعها في جهاز التعقيم Autoclavage و في درجة حرارة 37°م لمدة 30دقيقة

* تشبع بالتركيز المحدد من كل مستخلص (ميثانول –إيثانول –أسيتون).

- **زرع السلالات البكتيرية Repiquage Des Espéces Bacterienne**

* بعد إذابة المستنبتات البكتيرية الخاصة بكل نوع نضعها في الأطباق البيترية ،بعد تجفيفها تزرع البكتيريا المخصصة لكل بيئة ،تحضن تحت درجة حرارة 37°م لمدة 18ساعة إلى 24ساعة.

- **تحضير الماء الفيزيولوجي ذو تركيز% 0.9**

* نضع في أنبوبة إختبار 0.45g من Nacl + 50mlمن الماء المقطر.

الشكل(19): أنابيب إختبارتحتوي الماء الفيزيولوجي

- **تحضير محلول Mac Farland(0.5)**

H_2So_4+ $Bacl_2$ ⟶Complexe Sulfate De Barieume

- يحتوي الـ Mac Farland على 1.5×10^8 Ufc (**Ufc** Unité Forment Colonies).

-ننزع المستعمرات البكتيرية ، نضع كمية منها في الماء الفيزيولوجي و نقارنه مع محلول Mac Farland

- نقل البكتيريا من المحلول الفيزيولوجي و زرعها في طبق بيتري المحتوي على Muller Henton

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- وضع بواسطة ملقط معقم الأقراص المشبعة بكل تركيز من كل مستخلص .

- تحضن في حضانة على درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة .

⟸ النشاط المضاد للبكتيريا يحدد بقياس قطرالمساحة التي لم تنمو فيها البكتيريا [34].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

النتائج

Resultats

Results

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

النتائج:

لقد اختيرت في هذه الدراسة كما سبق ذكره ثلاث مستخلصات لنبتة أوراق الشاي ألأخضر Camellia Sinensis

وهي المستخلص الميثانولي ، ألأسيتوني ، ألإيثانولي .وتمت هذه الدراسة في جزئين أساسيين :

الجزء ألأول:

1- نتائج الاستخلاص بالمذيبات العضوية (الميثانول ، ألإيثانول ، ألأسيتون) و مردودية كل مستخلص .

2- اجري فيه اختبار الكشف عن الفلافونويدات و التي تمثل مواد فعالة جدا في قدرتها على تثبيط نشاط الجذور الحرة و باعتبارها واحدة من أهم المركبات الفينولية الطبيعية ، تملك هذه المركبات مجال واسع من الانشطة الكيميائية و البيولوجية بما في ذلك الخصائص ألآسرة للمواد ألأكسجينية النشطة.

الجزء الثاني:

ألإختبار ألأول:

- اختبار ال DPPH لكل مستخلص من المستخلصات الثلاثة كمواد مضادة للتاكسد في ازاحة الجذور الخرة بالمقارنة مع الجزيء المرجعي (Qurcetine)

الاختبار الثاني :

- دراسة مخبرية لتأثير كل من المستخلصات الثلاث السابقة على النشاط المضاد للبكتيريا .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

VI- النتائج

الجزء ألأول :

الاستخلاص و الدراسة الفيتو كيميائية

VI- 1 الاستخلاص:

- بعد الاستخلاص الانتقائي لمختلف المواد الخام للأجزاء الهوائية لنبتة الشاي الأخضر (Camellia Sinensis) و باستعمال المذيبات الكحولية(الايثانولي- الميثانول – الأسيتون) في الماء المقطر فتحصلنا على المستخلصات الخام التالية:

* المستخلص الخام الايثانولي.

* المستخلص الميثانولي .

* المستخلص الخام الاسيتوني .

فقد بينت النتائج المتحصل عليها في كل من المستخلص الايثانولي ،الميثانولي و الاسيتوني لنبتة الشاي الأخضر، أن استعمال وزن 80 غرام من النبات الجاف لكل مذيب أعطى ناتج خام للمستخلص الايثانولي يساوي 24.6غرام. ،وفي المستخلص الميثانولي كان المستخلص الخام يساوي 18.83غرام ، وفي المستخلص الاسيتوني قدر الناتج الخام للمستخلص الخام ب 28.54غرام و هذا بعد التبخير و التجفيف كلية 100% بواسطة جهاز التبخير Rotavapeure و كان مردود الاستخلاص المتحصل عليه لكل مذيب كالتالي الجدول رقم (3) :

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جدول(3):المردود (%) لمستخلصات الأجزاء الهوائية لنبتة الشاي الأخضر

كتلة المادة النباتية الجافة	المذيبات	حجم المذيب (مل)	حجم الماء المقطر (مل)	كتلة الناتج الخام (غ)	المردود (%)
80 غرام	ألإيثانول	640 مل	160 مل	24.6 غرام	%30.75
	الميثانول	400 مل	400 مل	18.83غرام	%23.53
	الأسيتون	560 مل	240 مل	28.54غرام	%35.54

VI- 2 الدراسة الفيتو كيميائية:

- أثناء دراستنا قمنا باستخلاص المواد الخام التي تحتويها نبتة الشاي الأخضرCamellia Sinensis

وركزنا في هذه الدراسة على كشف أهم نواتج الميثابوليزم الثانوي وهي المركبات الفلافونويدية باعتبارها من أهم المجموعات الفينولية الطبيعية ،وكانت نتائج الدراسة الفيتو كيميائية كالأتي:

VI- 2-1 اختبار الكشف عن الفلافونويدات:

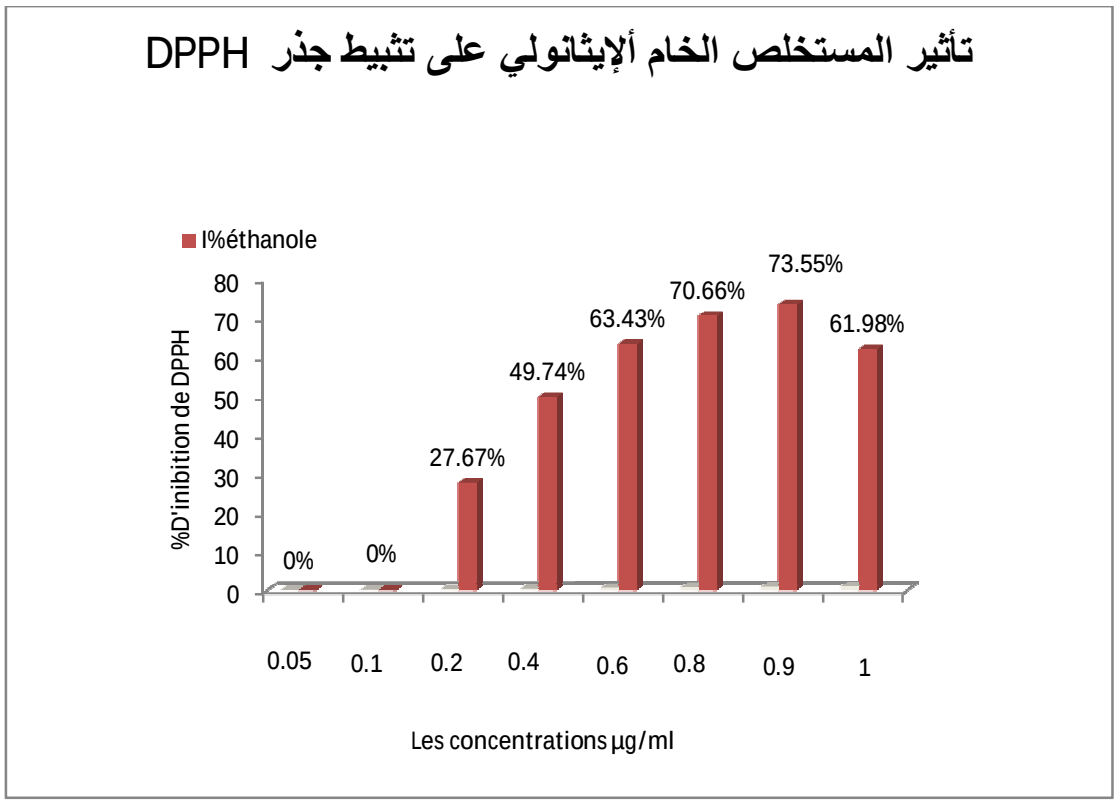
كانت نتيجة اختبار الكشف عن الفلافونويدات في كل من المستخلصات الخام الثلاث الايثانولية ، الميثانولية و الاسيتونية ايجابية ، فمن خلال هذا الاختبار تمت ملاحظة اللون الأحمر الذي يميل إلى البرتقالي عند إضافة صبغة المغنيزيوم هذا ما يؤكد وجود المركبات الفلافونويدية في المستخلصات الخامة الثلاثة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الجزء الثاني:

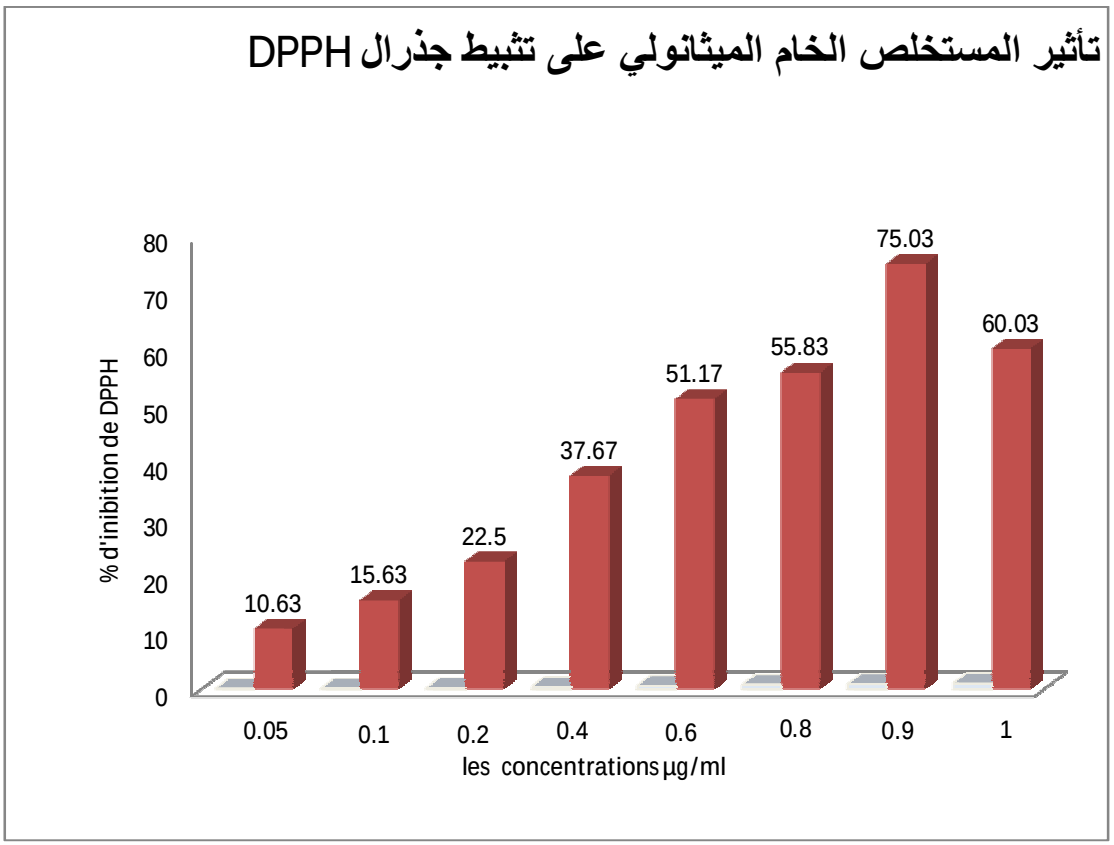
VI - 3 تأثير الفعل الآسر للعينات على إزاحة جذر الـ DPPH :

-تم تقدير التأثير الازاحي للمستخلصات الثلاث (الايثانول- الميثانول- ألأسيتون)لأوراق نبتة الشاي الأخضر Camellia Sinensis عن طريق اختبار الـ DPPH(2,2-Diphényle-1 Picrylehydrazyle) وقد تم الحصول على نتائج اختبار الـ DPPH لكل مستخلص على حدى ثم مقارنة القيمة ذات التركيز الأدنى المثبط ل 50% من جذور الـ DPPHو الممثلة بال IC_{50}مع الـ IC_{50} للمركب القياسي المرجعي الـ Quercetine و القيمة الأقل لها تعني التأثير الإيزاحي الأفضل .



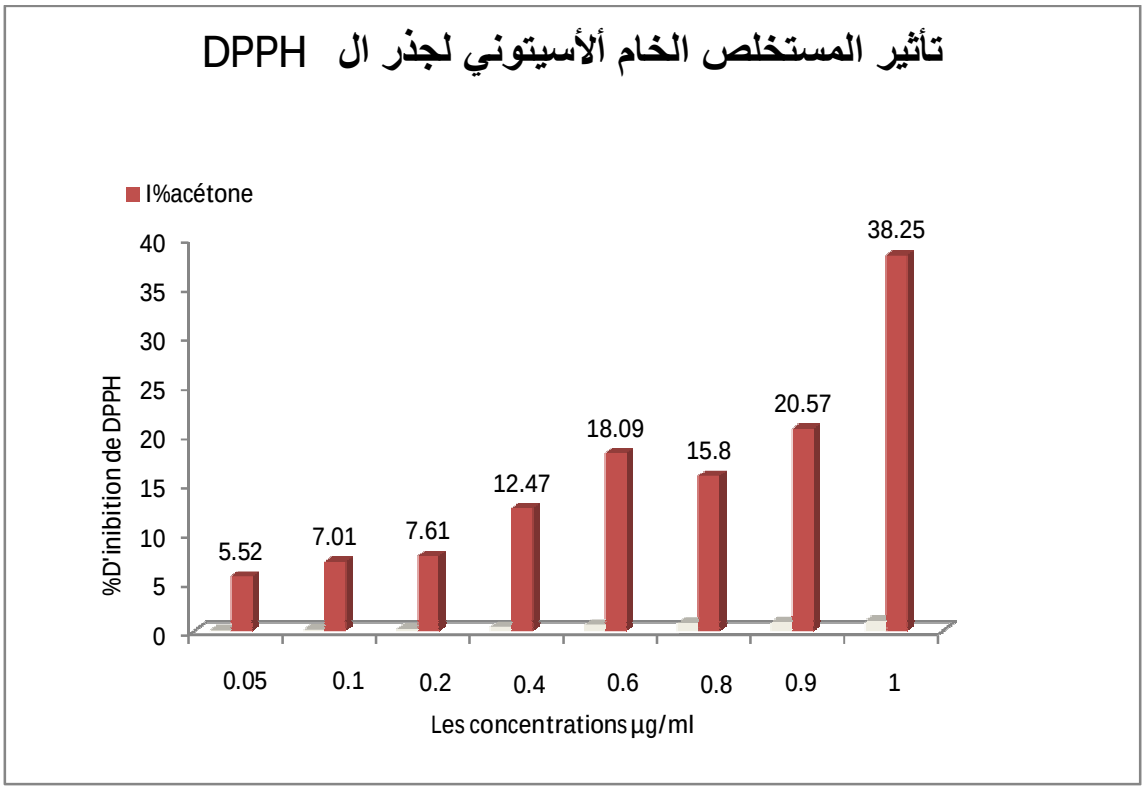
الشكل (20): نسبة تثبيط المستخلص الخام ألإيثانولي للجذر الحر الـ DPPH

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

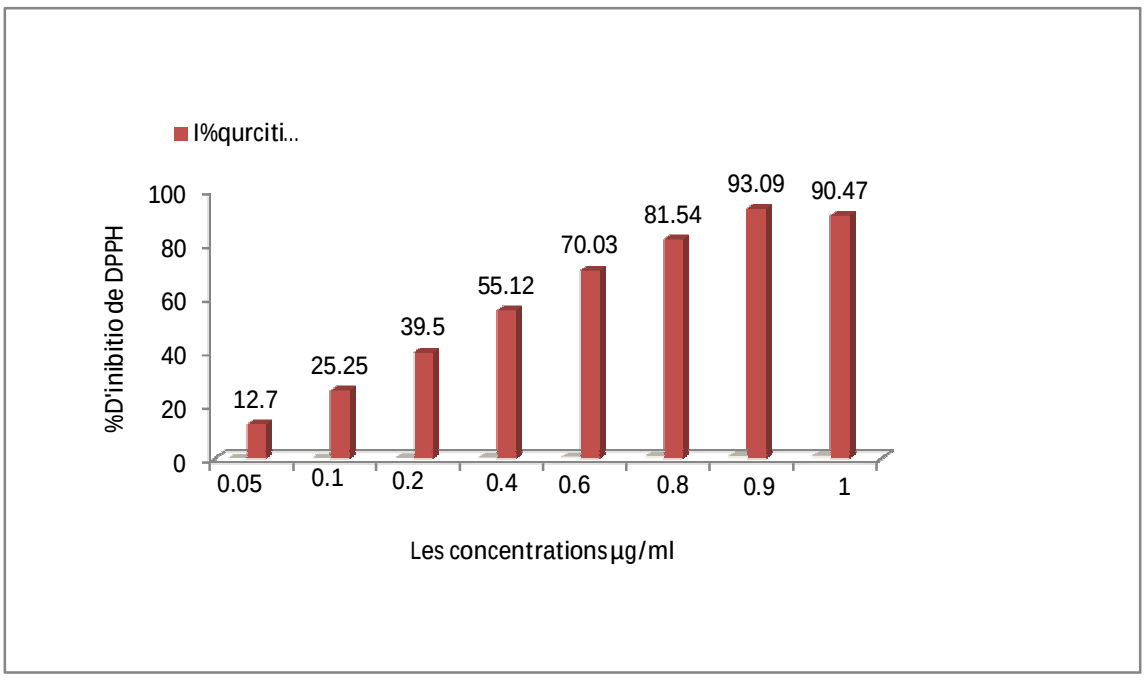


الشكل (21): نسبة تثبيط المستخلص الخام الميثانولي للجذر الحر الـ DPPH

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

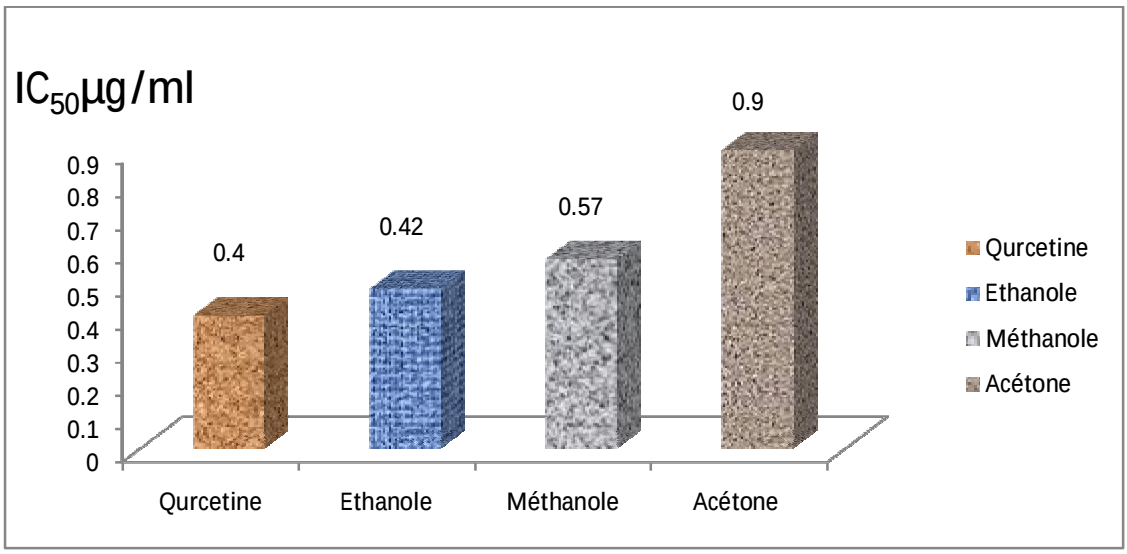


الشكل(22): نسبة تثبيط المستخلص الخام ألأسيتوني للجذر الحر الـ DPPH



الشكل (23): نسبة تثبيط المركب القياسي الـ Quercetine للجذر الحر الـ DPPH

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل(24): التركيز المثبط ل50% من جذور الـ DPPH

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

VI - 4 نتائج ألاختبار البيولوجي للنشاط المضاد للبكتيريا:

الهدف من الاختبار البيولوجي هو تحديد مدى تأثير المستخلصات الخام للمواد الفعالة لنبتة Camellia Sinensis على العزلات الميكروبية و ذلك باستعمال طريقة ألأقراص من ورق Watman (01) بقطر 6 ملم مشبعة من كل مستخلص على حدى بتراكيز µg/ml [25-50-.....1000] من تركيز المحلول الأصلي 10mg/ml .

تجفف الأقراص المشبعة بالمستخلص النباتي، و توضع على بيئة Mueller Hinton لتنمية البكتيريا على درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة.

يتبين من الجداول و الصور أن المواد الفعالة المستخلصة من نبتة Camellia Sinensis تؤثر تأثيرا متباينا على السلالات البكتيرية المختلفة فتحصلنا على نتائج تثبيط النمو البكتيري لكل مستخلص على حدى كمايلي:

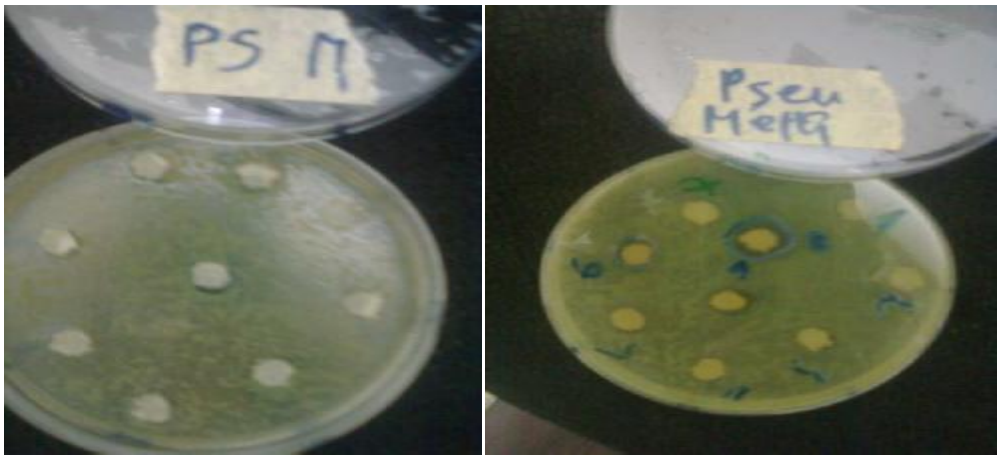
VI - 4 - 1 نتائج المستخلص الميثانولي :

- **بالنسبة للبكتيريا Echerichia Coli** فقد أظهر المستخلص الخام الميثانولي فعلا على توقيف النمو عند هذه السلالة بداية من التراكيز µg /ml 700-800أما عند التراكيز µg/ml 25 -50 المنخفضة فكان النمو عادي للبكتيريا أي أبدت مقاومة اتجاه هذا المستخلص في هذه الجرعات أما باقي التراكيز فكان نمو البكتيريا متوسط. الجدول رقم (04)

الشكل(25):صور توضح قطر التثبيط بالـ (mm) لبكتيريا Echerichia Coli تحت تأثير المستخلص الميثانولي

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

§ بالنسبة للبكتيريا **Pseudomonase Aerogenosa** أبدت هذه السلالة مقاومة ضد المستخلص الميثانولي في التراكيز بداية من 800µg/ml وكان النمو عادي للبكتريا في باقي التراكيز .الجدول رقم (04)



الشكل(26): صور توضح قطر التثبيط بالـ (mm) لبكتيرياPseudomonase Aerogenosa تحت تأثير المستخلص الميثانولي

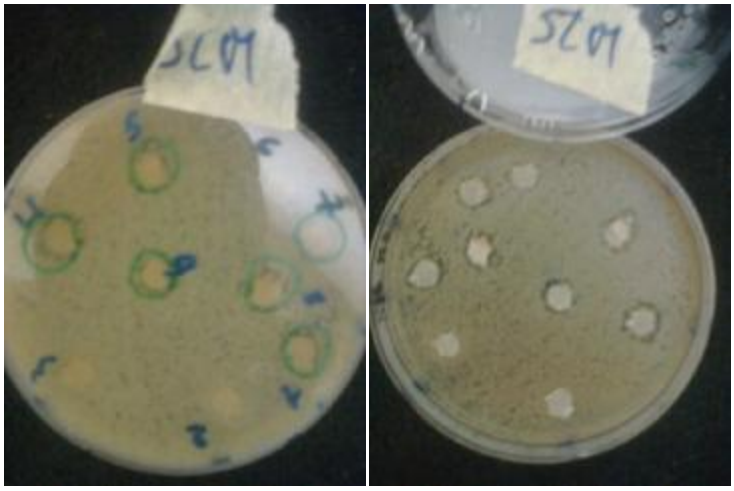
C=1000 µg/ml C=900 µg/ml C=800 µg/ml

الشكل(27):صور توضح قطر تثبيط نمو بكتيريا Pseudomonase Aerogenosa في التراكيز 1000-900-800µg/ml

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

§ **بالنسبة للبكتيريا Staphylococcus Aeureus**

عند الجرعة 800µg/ml كان نمو البكتيريا قليل جدا أما باقي التراكيز فلم يؤثر عليها المستخلص و أظهرت مقاومة شديدة لهذا المستخلص. الجدول رقم (04)



الشكل (28): صور توضح قطر التثبيط بال (mm) لبكتيريا Staphylococcus Aureus تحت تأثير المستخلص الميثانولي.

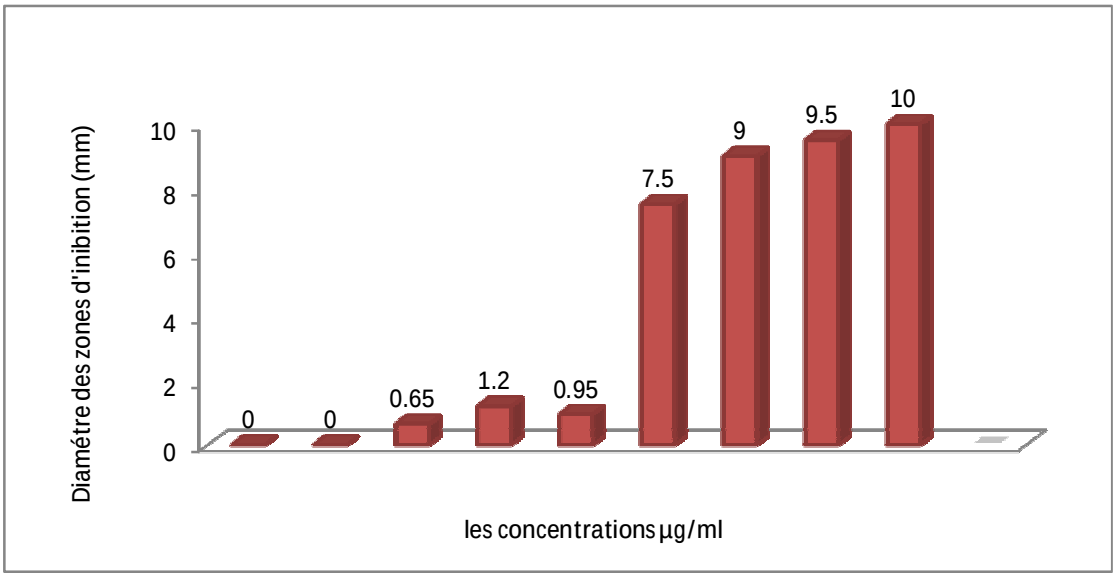
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جدول (04) : تأثير المستخلص الخام الميثانولي على نمو السلالات البكتيرية

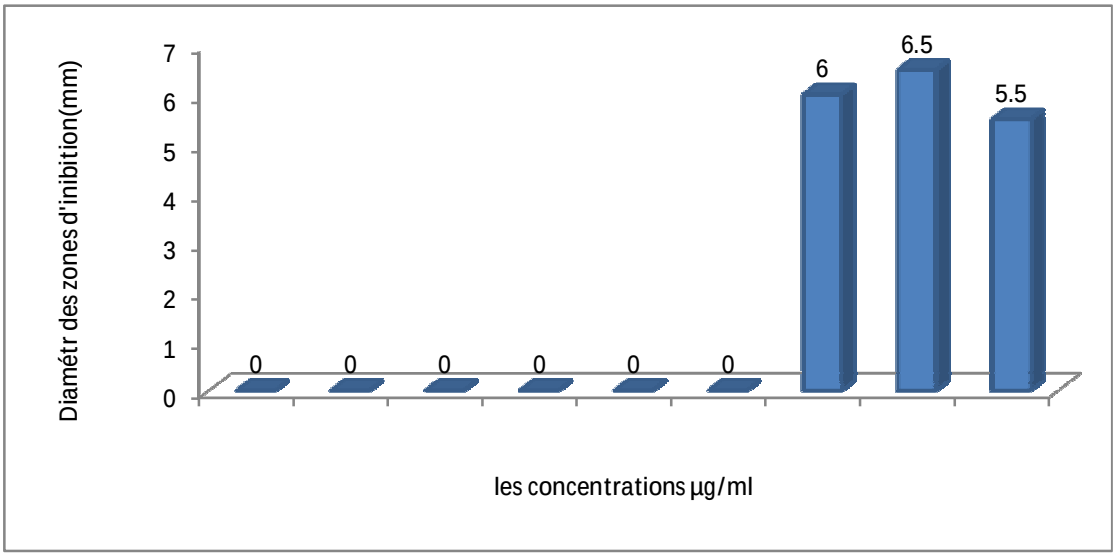
المستخلص	متوسط قطر منطقة التأثير للمستخلص الميثانولي								
التراكيز µg/ml / السلالات	الشاهد	25	50	100	300	500	700	800	900	1000
Echerichia Coli	++ ++	++ ++	++ ++	0.8+ 0.5+	0.3+ 0.9+	1+ 0.9+	09 06	10 08	10 09	10 10
Pseudomonase Aerogenosa	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	05 07	05 08	06 05
Staphylococcus Aureus	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ 0.1+	++ ++	0.3+ 0.2+	0.2+ 2±	0.2 0.2

++: نمو عادي +: نمو قليل ±: آثار القيم تعبر عن قطر التأثير بالميليمتر

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

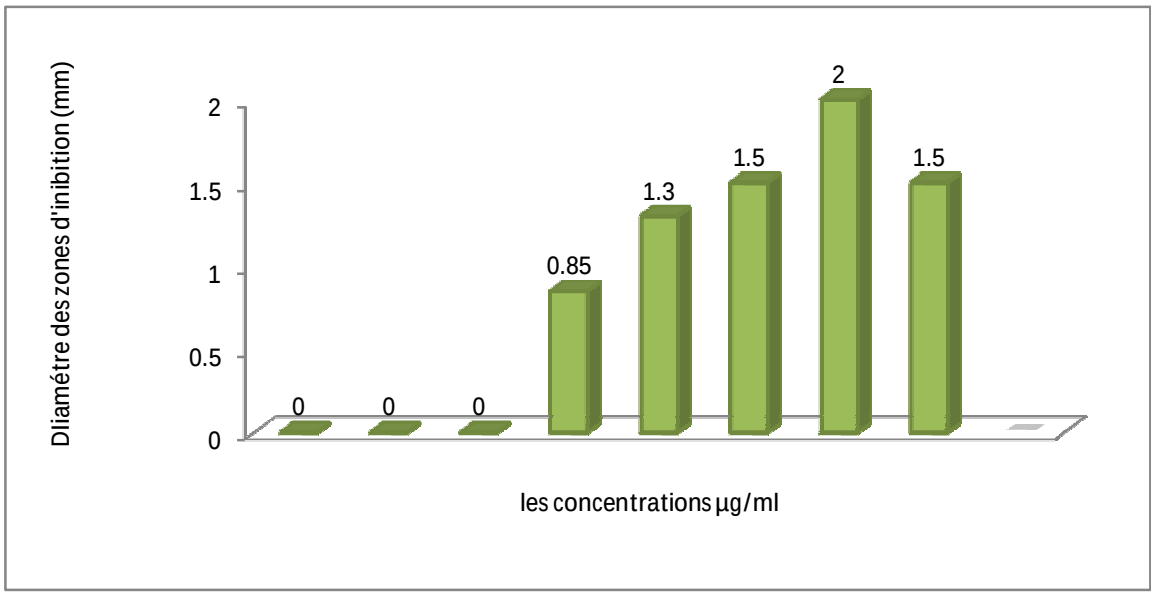


الشكل (29):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الميثانولي على بكتيريا Echerichia Coli

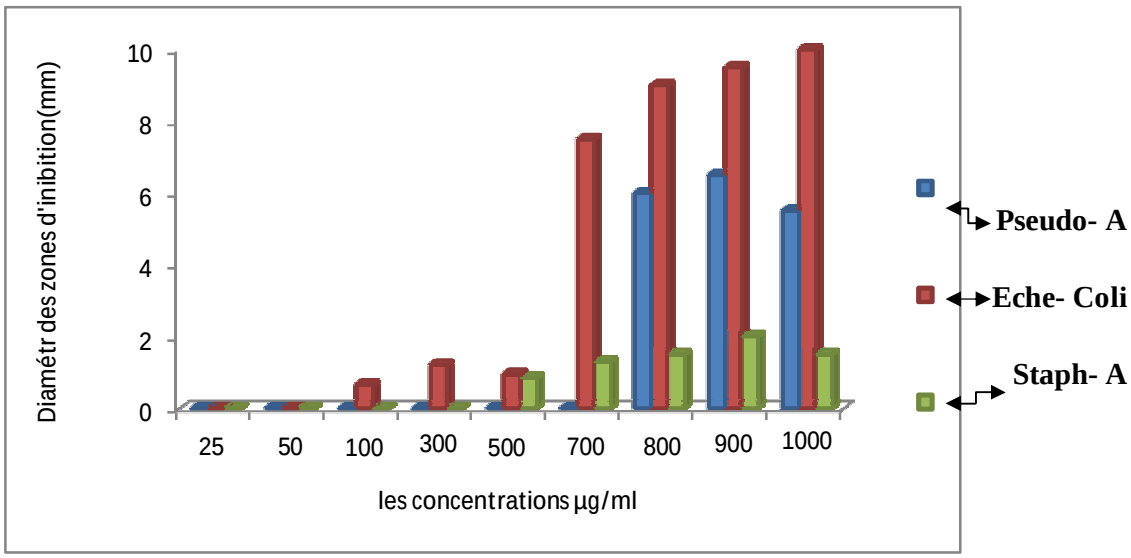


الشكل (30):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الميثانولي على بكتيريا Pseudomonase Aerogenosa

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل (31):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام الميثانولي على بكتيريا Staphylococcus Aureus



الشكل(32): متوسط قطر التثبيط للسلالات البكتيرية الثلاث بتأثير المستخلص الميثانولي

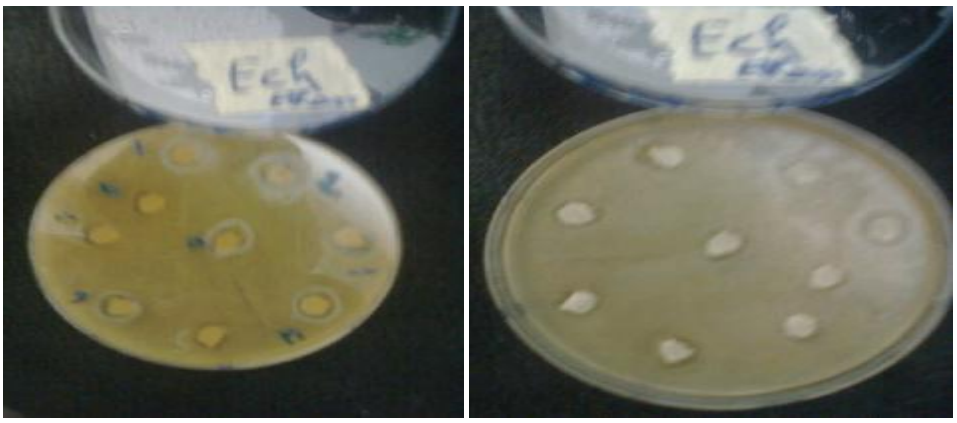
من المقارنة بين السلالات الثلاث المدروسة نلاحظ أن أقصى متوسط قطر كان عند سلالة **Echerichia Coli** حيث أبدت حساسية للمواد الفعالة بداية من التراكيز **700-800µg/ml** وبلغ أقصى قطر تثبيط لها 10 mm تليها السلالة البكتيرية**Pseudomonase Aerogenosa** وبلغ أقصى قطر تثبيط لها **6.5** mm في حين أبدت السلالة البكتيرية **Staphylococcus Aeureus** مقاومة متفاوتة عند التراكيز المختلفة للمواد الفعالة الموجودة في

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المستخلص الخام الميثانولي لنبتة الشاي الأخضر Camellia sinensis حيث كانت أقطار مناطق التثبيط أقل بكثير مقارنة بباقي السلالات.

VI – 2-4 نتائج المستخلص الإيثانولي:

§ **بالنسبة للبكتيريا Echerichia Coli** أبدت مقاومة ضد المستخلص في الجرعات **µg/ml 100- 25** أما بداية من التراكيز **µg/ml 300** فكانت البكتيريا حساسة لهذا المستخلص **.** الجدول (05)

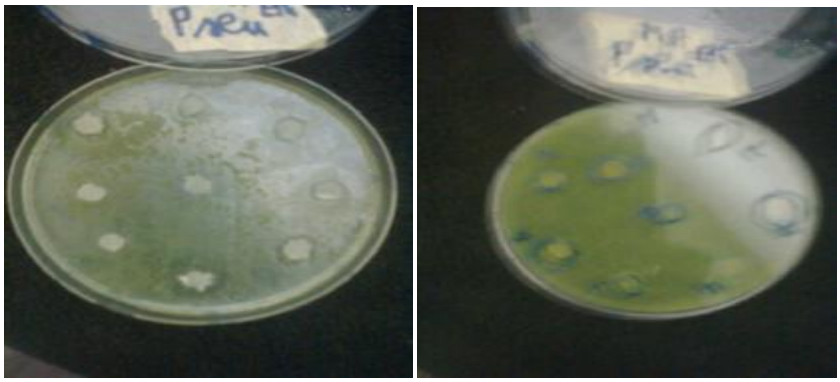


الشكل(33): صور توضح قطر التثبيط بالـ (mm) لبكتيريا Echerichia Coli تحت تأثير المستخلص ألإيثانولي

§ **بالنسبة للبكتيريا Pseudomonase Aerogenosa**

أبدت هذه البكتيريا مقاومتها الشديدة للمستخلص الإيثانولي في الجرعات الصغيرة وقد لوحظ ظهور حساسية لهذا المستخلص ابتداءا من الجرعات µg /ml700 لكن بمستوى تثبيطي أقل من الملاحظ لدى بكتيريا **Echerichia Coli.** الجدول (05)

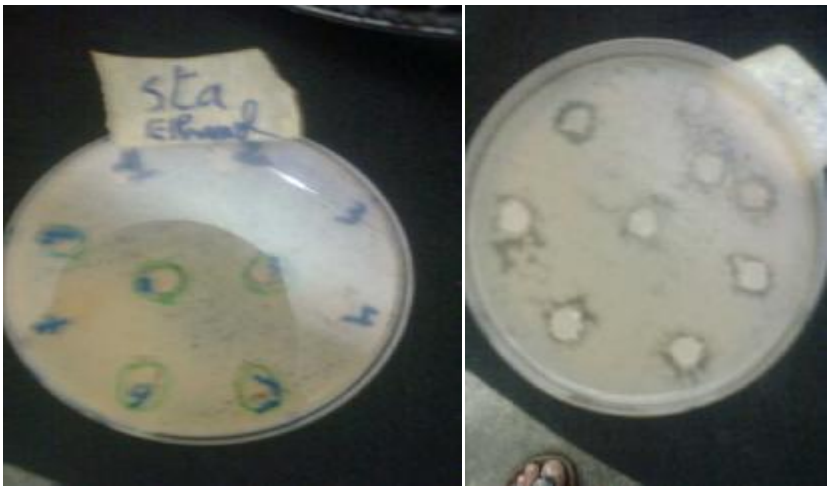
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل(34): صور توضح قطر التثبيط (mm) لبكتيريا Pseudomonase Aerogenosa تحت تأثير المستخلص الإيثانولي

§ **بالنسبة للبكتيريا Staphylococcus Aureus**

لم تبدي أي حساسية اتجاه المستخلص الخام ألإيثانولي أي أن هذه البكتيريا مقاومة لهذ المستخلص إلا في التراكيز بداية من 500 µg/ml.الجدول(05)



الشكل(35): صور توضح قطر التثبيط (mm) لبكتيريا Staphylococcus Aureus تحت تأثير المستخلص ألإيثانولي

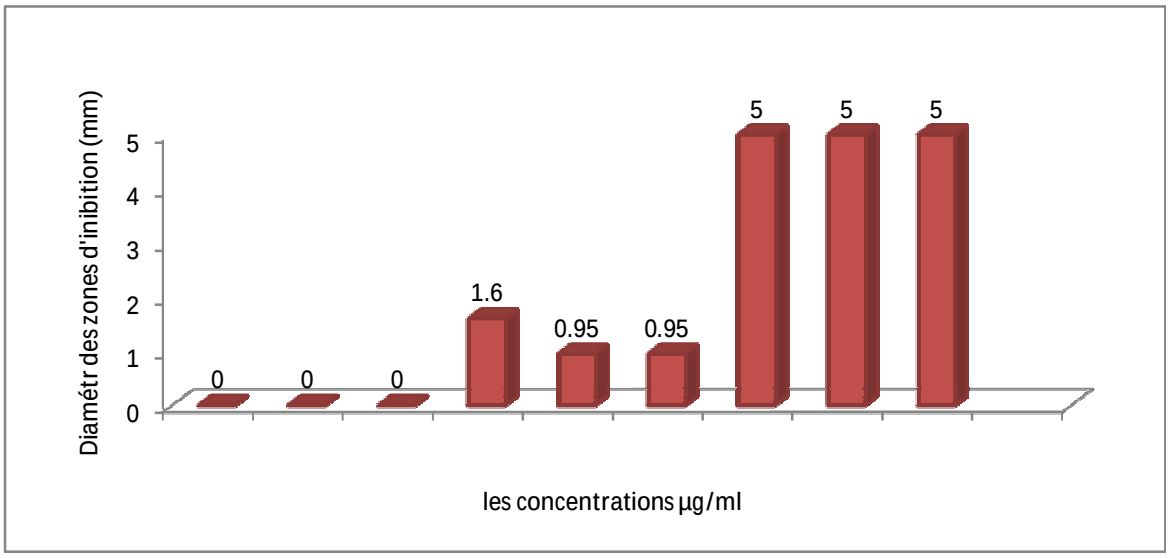
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جدول (05) : تأثير المستخلص الخام ألإيثانولي على نمو السلالات البكتيرية

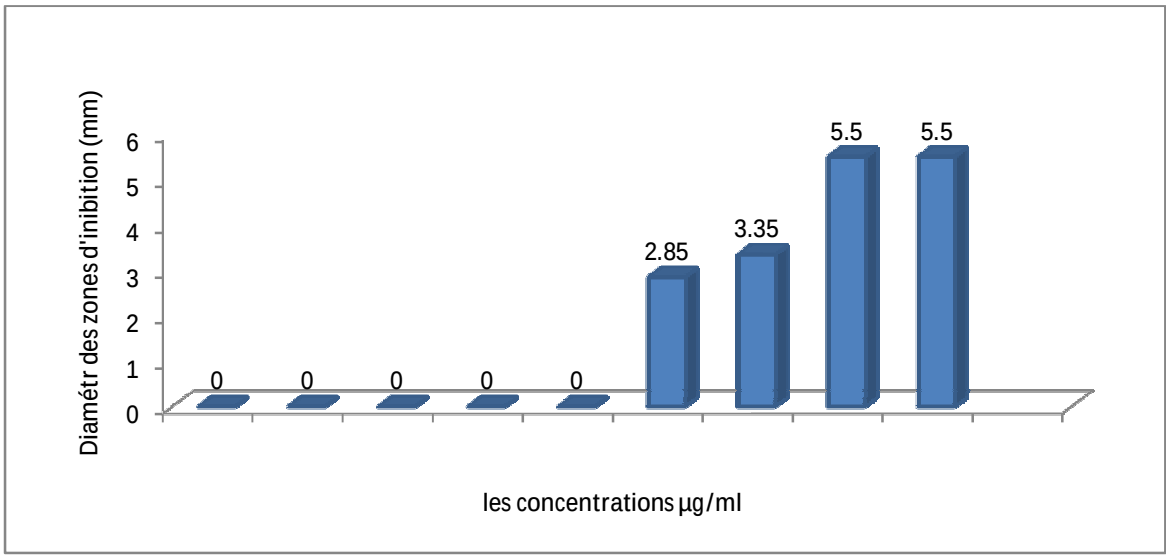
المستخلص	متوسط قطر منطقة التأثير للمستخلص الإيثانولي									
التراكيز µg/ml / السلالات	الشاهد	25	50	100	300	500	700	800	900	1000
Echerichia Coli	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	03 0.2+	0.9+ 1+	0.9+ 1±	09 1+	09 1+	09 1+
Pseudomonas e Aerogenosa	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ +	± ±	0.7+ 05	0.7+ 06	08 03	08 03
Staphylococcus Aureus	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	0.8± 0.9±	0.6+ 2±	1+ 2+	1+ 3±	1+ 2±

++: نمو عادي +: نمو قليل ±: آثار القيم تعبر عن قطر التأثير بالميليمتر

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

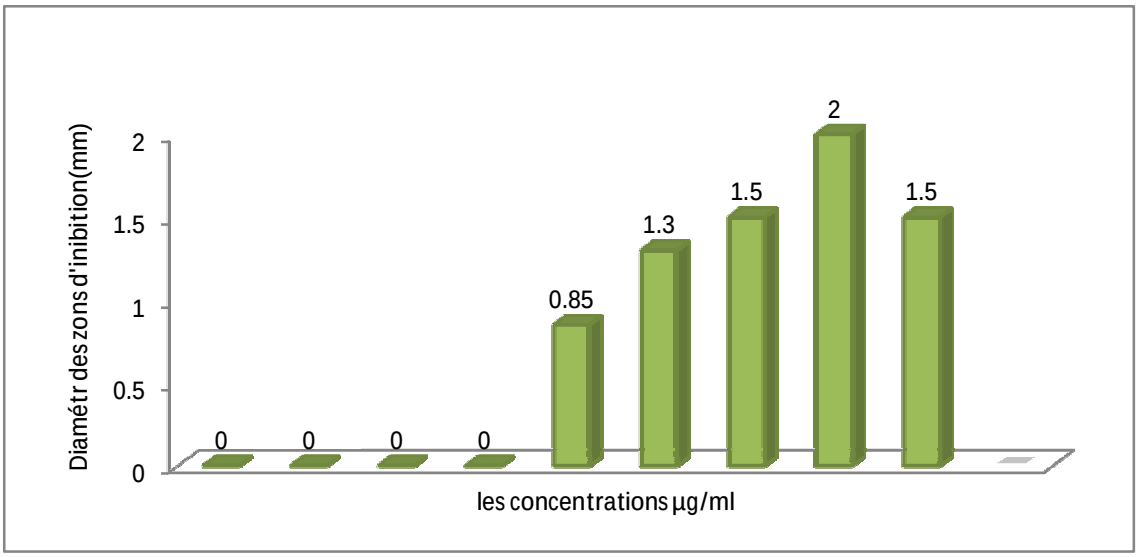


الشكل (36):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام ألإيثانولي على بكتيريا Echerichia Coli

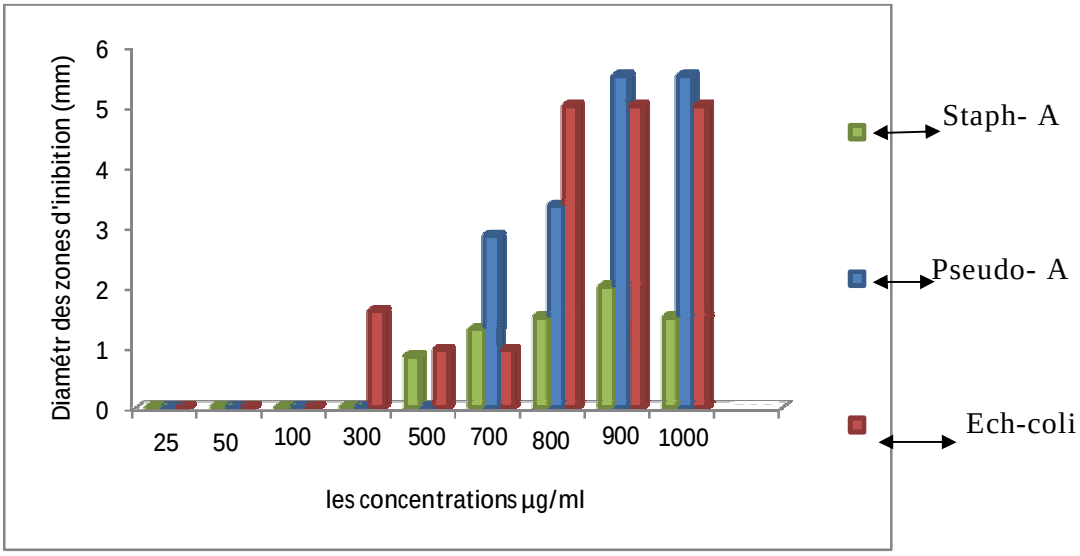


الشكل (37):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام ألإيثانولي على بكتيريا Pseudomonase Aerogenosa

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل (38):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام ألإيثانولي على بكتيريا Staphylococcus Aureus



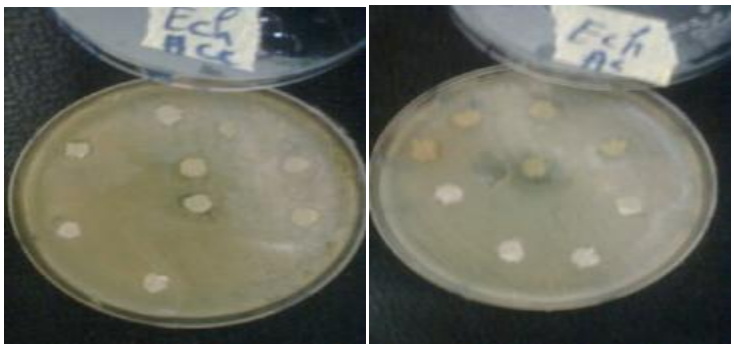
الشكل(39): متوسط قطر التثبيط للسلالات البكتيرية الثلاث بتأثير المستخلص ألإيثانولي

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

من المقارنة بين السلالات الثلاث المدروسة نلاحظ أن أقصى متوسط قطر كان عند سلالة **Pseudomonase Aerogenosa** حيث أبدت حساسية للمواد الفعالة بداية من التركيز 700µg/ml في حين أبدت بقية السلالات البكتيرية مقاومة متفاوتة عند التراكيز الأخرى المختلفة للمواد الفعالة الموجودة في المستخلص الخام الإيثانوليي لنبتة الشاي الأخضر Camellia sinensis و عليه يعتبر التركيز 900µg/ml كحد أدنى مثبط لمعظم السلالات البكتيرية.

VI -4 -3 نتائج المستخلص الأسيتوني:

- **بالنسبة للبكتيريا Echerichia Coli** لا وجود لأي حساسية اتجاه المستخلص الخام ألأسيتوني ماعدا في التركيز 1000µg/ml فنموها قليل .الجدول(06)

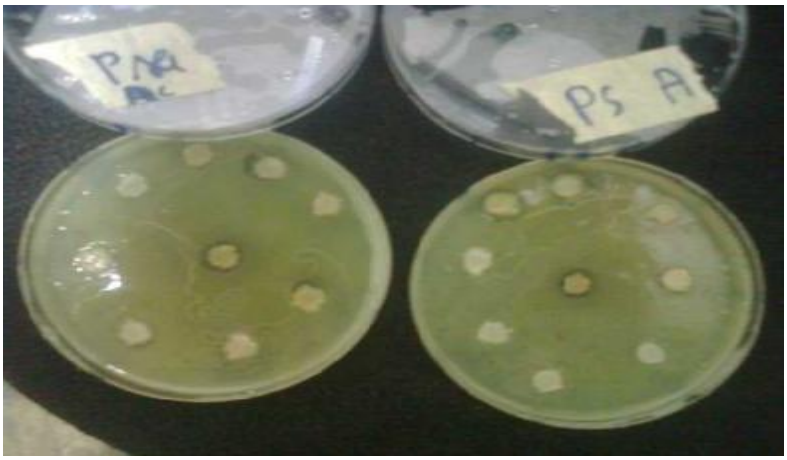


الشكل(40): صور توضح قطر التثبيط (mm) لبكتيريا Echerichia Coli تحت تأثير المستخلص ألأستوني

- **بالنسبة للبكتيريا Pseudomonase Aerogenosa**

في التراكيز 1000 µg/ml أبدت هذه السلالة حساسيتها للمستخلص ألأسيتوني أما باقي الجرعات فكانت مقاومتها شديدة لهذا المستخلص .الجدول(06)

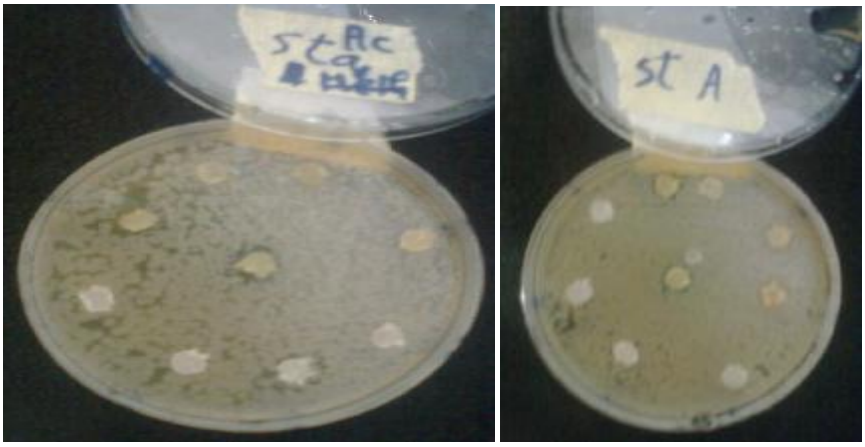
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل(41): صور توضح قطر التثبيط بال (mm) لبكتيريا Pseudomonase Aerogenosa تحت تأثير المستخلص الأستوني.

§ **بالنسبة للبكتيريا Staphylococcus Aureus**

مقاومتها للمستخلص ألأسيتوني في كل التراكيز ما عدا في التراكيز 1000µg/ml - 900 فأظهرت فعلها التحسسي للمستخلص.الجدول(06)



الشكل(42): صور توضح قطر التثبيط بال (mm) لبكتيريا Staphylococcus Aureus تحت تأثير المستخلص الأستوني

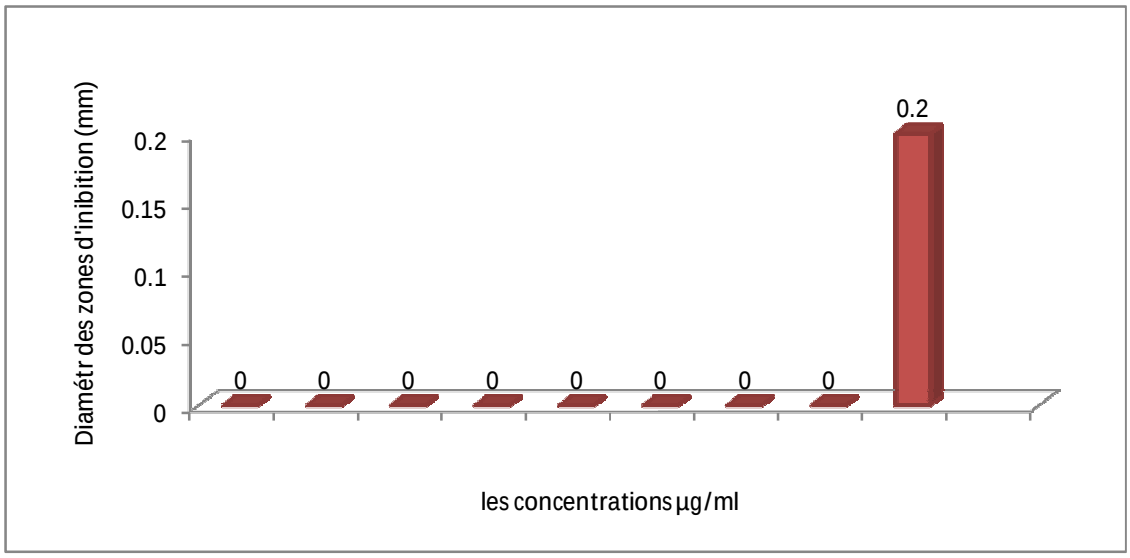
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جدول (06) : تأثير المستخلص الخام الأسيتوني على نمو السلالات البكتيرية

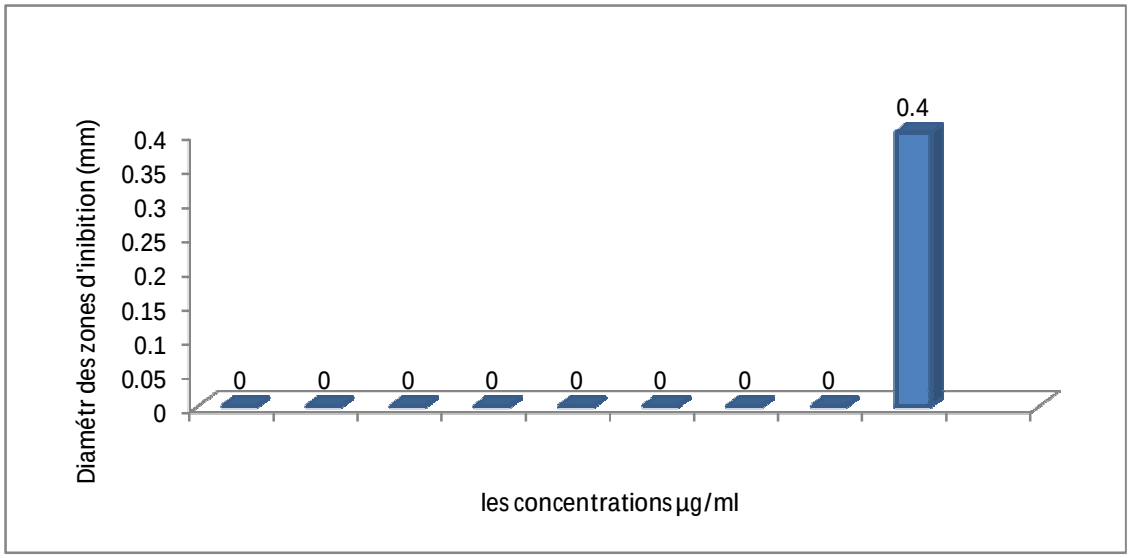
المستخلص	متوسط قطر منطقة التأثير للمستخلص الأسيتوني									
التراكيز µg/ml / السلالات	الشاهد	25	50	100	300	500	700	800	900	1000
Echerichia Coli	++ ++	++ ++	+ ++	++ ++	++ ++	++ +	++ ++	++ ++	++ ++	0.2± 0.2±
Pseudomonase Aerogenosa	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	+ +	± ±	± ±	0.5 0.3
Staphylococcus Aureus	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	0.9 1.0	0.8 1.2

++: نمو عادي +: نمو قليل ±: آثار القيم تعبر عن قطر التأثير بالميليمتر

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

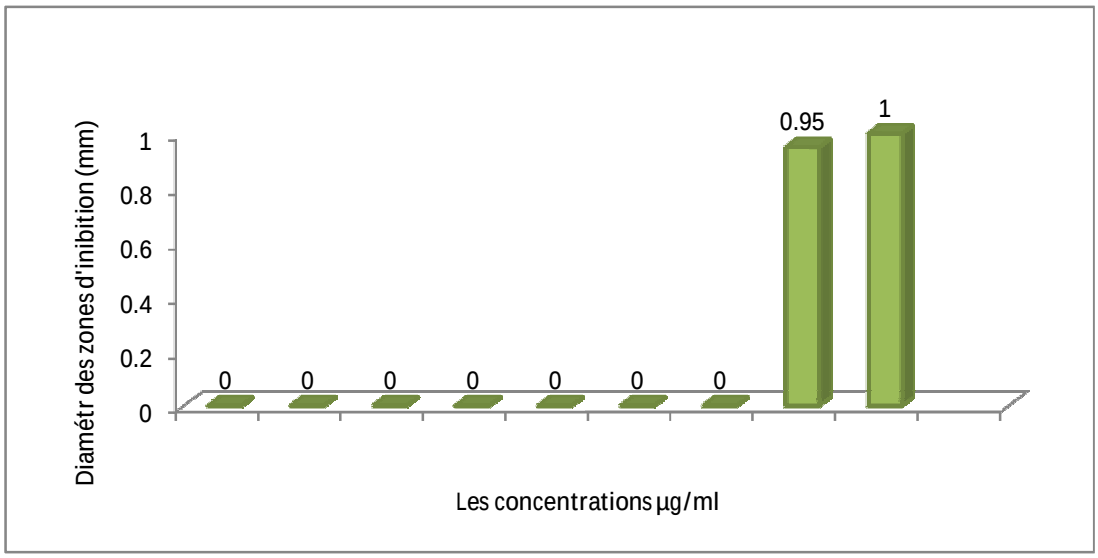


الشكل (43):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام ألأستوني على بكتيريا Echerichia Coli

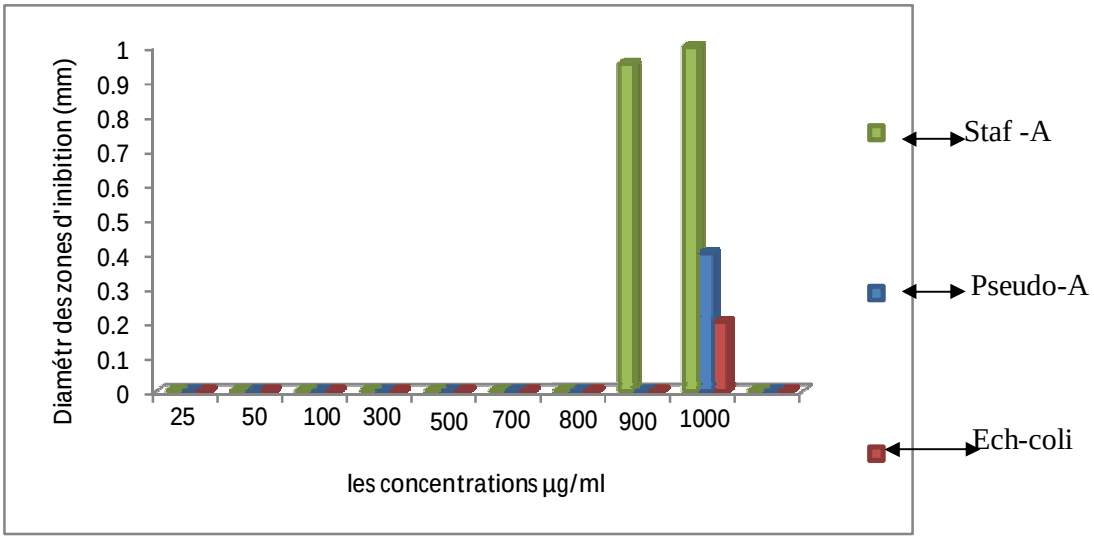


الشكل (44):متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام ألأستوني على بكتيرياPseudomonase Aerogenosa

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل (45): متوسط قطر التثبيط للمستخلص الخام ألأستوني على بكتيرياStaphylococcus Aureus



الشكل (46): متوسط قطر التثبيط للسلالات البكتيرية الثلاث بتأثير المستخلص ألأسيتوني

من المقارنة بين السلالات الثلاث المدروسة نلاحظ أن أقصى متوسط قطر كان عند سلالة **Staphylococcus Aureus** حيث أبدت حساسية للمواد الفعالة عند التراكيز الكبيرة في حين أبدت بقية السلالات البكتيرية مقاومة متفاوتة عند التراكيز المختلفة للمواد الفعالة الموجودة في المستخلص الخام ألأسيتوني لنبتة الشاي ألأخضر Camellia sinensisو عليه يعتبر التركيز 1000µg/ml كحد أدنى قاتل لمعظم السلالات البكتيرية.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المناقشة

Discussion

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

VII- المناقشة

بينت النتائج الخاصة بالإستخلاص أن المذيبات العضوية المستعملة الثلاثة (Actoh-Etoh-Méoh) كانت تقريبا متساوية من حيث مردود الإستخلاص وهذا بإستعمال نفس الوزن 80g وكذلك بتتبع نفس طريقة الإستخلاص لكل مذيب وهذا ما يتفق مع[128] الذي يبين أن إستخلاص المكونات النباتية يكون تقريبا متساويا عند إستعمال المذيبات العضوية الميثانول، الإيثانول.

وباعتبار أن الفلافونويدات واحدة من أهم المركبات الأكثر تنوعا على نطاق واسع[113] ، فإنها تعتبر من أهم المركبات الفينولية الطبيعية [44] والتي تملك مجال واسع من الأنشطة الكيميائية و البيولوجية بما في ذلك الخصائص الآسرة للجذور الحرة و المثبطة لنمو البكتيريا [40].

بينت العديد من الدراسات فعالية المستخلصات الخام المحتوية على الفلافونويدات [85] المضادة للأكسدة في تثبيط أكسدة اللبيدات [77]بالإضافة إلى ذلك فإن قدرتها على التفاعل كمضادات للأكسدة في المخبر يعتمد على قدرتها المخلبية للمعادن وكذا على أسر الأكسجين الأحادي ولكن على الرغم من أن الفلافونويدات تتفاعل بسرعة مع الأنواع الأكسجينية النشطة في الأنظمة الكيميائية فإن تفاعلها حيوي يعتمد على النموذج البيولوجي للخلايا و الأنسجة[80].

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة المجرات هو التأكد والتحقق من القدرة المضادة للتأكسد لكل مستخلص (Méthanol ,Acétone, Ethanol) لأوراق الشاي الأخضر *Camellia Sinensis* على الجذور الحرة المسببة للأمراض عن طريق اجراء اختبار خارج الكائن الحي *In Vitro* و المتمثلة في اختبار الـ DPPH وذلك بقياس النشاط المضاد للتأكسد لكل مستخلص على حدى بالمقارنة مع نشاط جزيئات مضادة للأكسدة معروفة بقدرتها التثبيطية لجذر الـ DPPH مثل الكورستين .

وقد استعملت كثيرا قدرة إزاحة جذر الـ DPPH في عدة دراسات [84] كخاصية من أجل تحديد النشاط المضاد للتأكسد للمستخلص النباتي *(Camellia Sinensis)* إذ تتجلى هذه الخاصية في مقدرة كل مستخلص (Méthanol ,Acétone, Ethanol) على منح ذرة هيدروجين من مجاميع الهيدروكسيل الفنولية بغية تعديل الجذر الحر وإنتاج مركبات مستقرة وهذا ما يحدث لجذر DPPH(2،2'Dephinyl-1- Picrylehydrazyle) الذي يستقر من خلال أخذ ذرة H من مجموعة الهيدروكسيل [13] وتحديد خاصية الإزاحة للمادة أو المستخلص النباتي (*Camellia Sinensis*) من خلال زوال اللون البنفسجي المميز لجذر الـ DPPH [114].وتحوله إلى اللون الأصفر نتيجة إرجاعه إلى مركب مستقر غير أن المركز النتروجيني لـ DPPH مصنع ويستعمل فقط لدراسة خاصية الإزاحة [18].

بينت النتائج المتحصل عليها في دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الثلاثة حول أسر الجذر الحر من خلال تفاعل DPPH أن الفعل التثبيطي يختلف بين هذه المستخلصات من حيث الجرعة المستعملة حيث أثبتت الدراسة بأن الفعل الآسر للجذر الحر لوحظ عند التركيز الأدنى لكل من المستخلص الميثانولي و الاسيتوني عند التركيز 0.05µg /ml بينما

لم يحدث فعل آسر للجذر الحر بالنسبة للمستخلص الايثانولي و الذي اظهر هذه الخاصية بداية من التركيز 0.2µg/ml و التي كان عندها معدل التثبيط بالنسبة للمستخلص الايثانولي أعلى من تلك الملاحظ بالنسبة للمستخلصين الميثانولي

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

والأسيتوني لكنه كان أقل من الفعل الملاحظ بالنسبة للمستخلص الشاهد quercetin عند نفس التركيز .

حيث وجد [120] من أن الشاي الأخضر يحتوي على مادة theanin و أن هذه المادة يزداد تركيزها كلما طالت فترة نقع الشاي حيث يعمل منقوع الشاي على خفض نسبة الأمراض الوعائية القلبية عندما يكون هناك تناول لكميات كبيرة من الشاي لمدة تزيد عن 15 يوما ، و قد بينت هذه الدراسة أن نسبة انحصار هذه الأمراض ناتج عن انخفاض نسبة تواجد الجذور الحرة و التي وجد أن لها دور في زيادة التهابات الخلايا و أكسدة جزيئات الدهون .

و قد لوحظ أنه بزيادة تركيز المستخلصات تزداد نسبة تثبيط ظهور الجذر الحر حيث وجد أن نسبة أسر الجذر كانت متقاربة بين المستخلصين " الايثانولي " و " الميثانولي " بينما كانت جد منخفضة بالنسبة للمستخلص الأسيتوني مقارنة بالمستخلصين السابقين او بالنسبة للشاهد الإيجابي quercetin عند التركيز 0.9 وهذا راجع لكون المستخلصين الميثانولي و الإيثانولي من المذيبات القطبية و منه يتضح أن المستخلص الايثانولي و الميثانولي لهما نشاط متقارب في إمكانية كبح و اسر الجذور الحرة مما يعطي أهمية جيدة بالنسبة للاستخلاص بواسطة هذه المذيبات مقارنة بمذيبات أخرى.

حيث وجد [30] من ان الفلافونويدات المستخلصة من النباتات تحمي الجسم من فعل الجذور الحرة الأوكسيجنية من حيث وقف ارتباط مثل هذه الجذور باللبيدات الغشائية للخلايا ، الأمر الذي لاحظه كل من [122] [64] من ان المستخلص الايثانولي لمجموعة من النباتات التي جمعت من مناطق عديدة من الجزائر مثل *Thymus Vilgarise* تحتوي على كمية من الفلافونيدات قد اظهرت نشاطا جيدا كمضادات للأكسدة عند استعمال اختبار DPPH و الذي يبين عملية أسر الجذر الحر خاصة بالنسبة لمستخلص نبات *Camellia Sinensis* و *Pucina Granatums* و *Vicia Faba L* والتي كانت فعالة و معنوية في أسر الجذور الحرة خاصة جذر الهيدروكسيل [26].

كما وجد [38] من ان المستخلص الايثانولي لنبات *Calondula officinalis* و هي نبتة تستعمل في الطب الشعبي خاصة في الهند تبدي نشاطا فعالا في منع تواجد و تأثير الجذور الحرة على المكونات الخلوية و خاصة جذر الهيدروكسيل حيث بينت الدراسة أن هذه المستخلصات تمتلك فعالية عالية في اسر جذر الهيدروكسيل في اختبار *in vitro* [27].

كما وجد (88) أن الفلافونويدات تمتلك خصائص الفعل المضاد للأكسدة حيث تعمل على اسر الجذور الحرة و بالتالي فإ نها تساعد على الحماية من بعض الأمراض التي لها علاقة كبيرة بتواجد مثل هذه الجذور الحرة مثل الأمراض الوعائية ، و أن خاصية أسر هذه الجذور ترفع من إمكانية حماية الأغشية الخلوية من حدوث عمليات أكسدة الدهون ، كما أن الفلافونويدات يمكنها أسر بعض المعادن مثل الحديد و النحاس و التي ثبت أن لها دور في تكوين و ظهور الجذور الحرة خاصة جذر الهيدروكسيل [115].

كما بينت النتائج أن الفعل المضاد للبكتيريا للمستخلصات الثلاثة لنبات الشاي الأخضر على السلالات البكتيرية المختارة لهذه الدراسة كانت متباينة من حيث فعل المستخلص و قدرة السلالة على مقاومة أو وجود حساسية اتجاه هذا المستخلص

حيث لوحظ أن تأثير المستخلص الايثانولي على جنسي *Echerichia Coli* و *Pseudomonase Aerogenosa* و كلاهما سالبة الجرام ($Gram^-$) كانت مختلفة من حيث فعل التركيز الأدنى و الأقصى على مساحة قطر التثبيط عند

المقاومة فيما بينهما و كذلك مقارنة بالسلالة *Staphylococcus Aureus* و التي هي سلالة موجبة الجرام ($Gram^+$) ، وقد وجد أن التركيز الأدنى لحساسية *Echerichia Coli* كان يساوي 300(µg/ml) بينما كان التركيز الأدنى لكل من

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

السلالتين الباقيتين هو 700و 500 على التوالي . و أن هذا التأثير كان اكثر منه ملاحظة عند استعمال مستخلص الميثانول و الذي أعطى أدنى تركيز بالنسبة للسلالة *Echerichia Coli* قدر بـ 100 (µg /ml) بينما كان عند السلالات الباقية يساوي 800 (µg /ml) و قد بينت الدراسة أن تركيز 1000 (µg/ml) هو أدنى تركيز لوحظ في تثبيط نمو السلالات الثلاثة عند استعمال المستخلص الأسيتوني مما يوضح أن كل من المستخلص الايثانولي و الميثانولي أعطى نتائج جيدة أحسن من المستخلص الأسيتوني الذي كانت جميع السلالات أقل حساسية له مقارنة بحساسية كل سلالة على حدى لكلا المستخلصين الباقيين.

بينت أعمال [118] أن المستخلص الخام الميثانولي لـ *Camellia Sinensis* له قدرة عالية على تثبيط نمو البكتيريا ، وهذا راجع لكون المستخلص الميثانولي يحتوي على نسبة من متعددات الفينول كالتانين ، الألكالويدات....وهذه المركبات هي التي تعطي النشاط العالي لهذا المستخلص في التثبيط وهذا حسب دراسة [103] [51].

كما وجد أن المستخلص الخام الأسيتوني لـ *Camellia Sinensis* يحتوي على مجموعة الميتوكسيل فهي مركبات لها قدرة عالية على تثبيط نمو البكتيريا.

وجد [4] من أن المستخلص الايثانولي و الميثانولي لنبات *Mentha Longifolia* و الذي أختبر فيه النشاط المضاد للجراثيم و البكتيريا أن المستخلص الايثانولي كان أكثر المستخلصات نشاطا ضد السلالات البكتيرية *B.Cerem*.و *S.Anreus*و *Bacillus subtulis* مقارنة بالمستخلص الميثانولي .

كما وجد [2] في تجارب أجريت على مستخلص الايثانولي و الميثانولي لمجموعة من النباتات التي جمعت من مناطق عديدة من الجزائر أن هذه المستخلصات تملك نشاطا مضادا لسلالات البكتيريا سالبة الجرام و بعض الخمائر ، حيث بينت الدراسة أن السلالات البكتيرية لكل من *Candida albicans,* و *cryptococcus neoformans* كانت حساسة لمستخلص النباتات بينما أظهرت سلالة *Klebsiela pneumoniae* عدم حساسية اتجاه هذه المستخلصات.

و قد وجد [38] بأن نبات *Emblica officinalis* يمتلك نشاط مضاد لنمو البكتيريا حيث استعمل في هذه الدراسة سلالة بكتيرية *Bacillus subtulis* ، و قد وجد [98] من ان المستخلص الأسيتاني لأوراق نبات *Morinda mrindoides* يبدي فعالية اتجاه سلالات من بكتيريا *Echerichia Coli* عند الأطفال المصابين بالاسهال و كانت قيم mic تتروح ما بين 375 على 15 مع/ل .

و قد وجد في مستخلص هذه النباتات تركيز مرتفع من الفلافونويدات مما يدل على أن هذا الفعل المثبط و القاتل للبكتيريا يمكن أن يرجع إلى تواجد مثل هذه المركبات في مستخلص هذه النبتة .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الخلاصة

Conclusion

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

VIII - الخلاصة

من خلال هذه الدراسة و التي بينت بأن مردود الإستخلاص كان متقاربا بالرغم من اختلاف المذيبات العضوية حيث كانت كمية الكتلة الجافة المتحصل عليها في كل من المستخلص الميثانولي ،الإيثانولي والأسيتوني تقريبا متساوية أي لم يلاحظ اختلاف كمي عند استعمال هذه المذيبات .

كما خلصت هذه الدراسة إلى أن مستخلصات نبتة الشاي الأخضر *Camellia Sinensis* أبدت نشاطا مضادا للأكسدة فهي بذلك تقلل من فعالية الجذور الحرة على إحداث إختلالات وظيفية و عضوية و كذلك تقلل من إمكانية أكسدة بعض الجزيئات الحيوية مثل أكسدة اللبيدات و البروتينات و جزيئات ADN مما يؤدي إلى انحصار نشوء الأمراض التي لها علاقة وطيدة بتكوين الجذور الحرة . مما يؤدي إلى الاعتماد على أن الخفض و الإقلال من تكوين و ظهور مثل هذه الجذور الحرة ،و بالتالي عدم حدوث إجهاد تأكسدي عال يمكن أن يكون مؤشرا على تناقص نسبة إصابة الأفراد ببعض الأمراض الناتجة أصلا أو جزء كبير منها من تراكم و تواجد الجذور الحرة .

كما أن الفعل المضاد للبكتيريا لهذه المستخلصات خاصة الايثانولية و الميثانولية يؤدي إلى تعزيز الدور العلاجي الجيد الذي تبديه مثل هذه المستخلصات و التي يمكن أن تلعبه على أساس أنها تشابه الفعل الذي يحدثه المضاد الحيوي بل تتعدى ذلك ، لتضيف إلى هذا الفعل المثبط لنمو البكتيريا في بعض الحالات القاتل لها النشاط المضاد للأكسدة .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

آلآفاق

Horizons

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

IX - الآفاق

نظرا لوجود فعالية كبيرة لنبتة الشاي ألأخضر *Camellia Sinensis* والمتمثل في قدرتها التثبيطية للجذور الحرة و قدرتها أيضا على مقاومتها لنمو البكتيريا ، وهذا بفضل المواد الكيميائية التي تحويها هذه النبتة و ذلك من خلال الأبحاث السالفة التي تؤكد احتوائها على مركبات الفلافونويد .

الذي أظهرته هذه المستخلصات يمكن أن تساق بنا إلى دراسة طليعة تمهد المجال للعديد من الآفاق المستقبلية للتجدر و التعمق في فهم آليات تأثير الجزيئات الفعالة المسؤولة عن هذا النشاط والوصول الى فصل وتنقية هذه الجزيئات بالإعتماد على تقنيات الكروماتوغرافيا المختلفة الأنواع ككروماتوغرافيا العمود كروماتوغرافيا الورق..... ، معرفة تركيبها الكيميائي و تحديد الصيغ البنيوية وذلك بالإستعانة بالطرق الفيزيوكيميائية بغية دراستها بشكل كبير و واسع من حيث الخصائص الصيدلانية و الأنشطة الحيوية و كذلك من حيث سميتها و تأثيراتها الجانبية ، كذلك الشيء إذا زاد عن حده انقلب إلى ضده انطلاقا من هذا المفهوم لابد من تحديد التراكيز المحرضة للأكسدة الناتجة عن هذه المستخلصات و لتأكيد مدى إمكانية الاعتماد عليها في الإقلال من نشوء العديد من الأمراض ذات المصدر الاجهادي أو البكتيري .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ملخص باللغة العربية

Résumé en arabe

Résumé en arabe

Arabic summary

Arabic summary

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضرCamellia Sinensis

على النشاط المضاد للأكسدة و النشاط المضاد للبكتيريا

الملخص

من خلال دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لنبات الشاي الأخضر ***Camellia Sinensis*** تبين أن المذيبات العضوية تختلف فيما بينها من حيث استخلاص المكونات النباتية وهذا ما لوحظ من خلال مردود الاستخلاص لكل من الإيثانول و الميثانول و الأستون حيث تراوحت نسبة ألاستخلاص لكمية من النبات قدرت ب **80** غرام بين 35% إلى **23** % .

وباعتبار أن الفلافونويدات واحدة من أهم المركبات الأكثر تنوعا على نطاق واسع، فإنها تعتبر من أهم المركبات الفينولية الطبيعية والتي يحتويها نبات الشاي الأخضر تملك مجال واسع من الأنشطة الكيميائية و البيولوجية بما في ذلك الخصائص ألآسرة للجذور الحرة و المثبطة لنمو البكتيريا .

و في الدراسة التجريبية لوحظ أن جميع المستخلصات للمذيبات الثلاثة والمحتوية على الفلافونويدات كان لها نشاط مضاد للأكسدة علما بأن هذا النشاط كان يختلف بين كل مذيب و آخر من حيث التركيز و التي أبى فيها المستخلص الإيثانولي النشاط الأكبر في أسره لجذر الهيدروكسيل عند استعمال اختبار ألأسر بواسطة جذر الـ DPPH .

كما وجد أن لهذه المستخلصات نشاط محدود من حيث التأثير على النمو البكتيري حيث أظهرت بعض السلالات البكتيرية مقاومة للمستخلصات الثلاث عندما تزداد هذه الجرعة وخاصة عند استعمال المستخلص الإيثانولي ثم الميثانولي يليه المستخلص الأسيتوني .

من خلال هذه الدراسة يمكن القول أن لنبات الشاي ألأخضر مردود جيد من حيث المركبات الطبيعية التي يحتويها و التي يرجع لها الفضل في إظهار بعض الأنشطة البيولوجية و إن اختلفت من حيث الفعالية و النشاط .

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

ملخص باللغة الفرنسية

Résumé en francais

Résumé en francais

French summary

French summary

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

Etudes de quelque effets biologique pour l'extraits d'une pantes de thé Camellia sinensis sur l'activité antioxydant et l'activité anti – bactéries.

Résumé

En étudiant quelques effets biologiques de la plante du thé vert « Camellia Sinensis », on a constaté que les solvants organiques se diffère par leur façon d'extraction des composants végétaux et c'est ce qui a été observé selon le rendement d'extraction de l'éthanol, le méthanol et l'acétone où le pourcentage d'extraction d'une quantité de la plante estimée à 80g s'est variée entre 35% et 23%.

Et en savons que les flavonoïdes sont l'un des composants les plus variés sur un vaste étendu, ils sont considérés parmi les plus important composants phénoliques naturels contenu dans la plante du thé vert et qui possèdent un large intervalle d'activités chimiques et biologiques en incluant les propriétés captivantes des radicaux libres et inhibitrices du développement des bactéries.

Dans l'étude expérimentale on a constaté que tous les extraits des trois solvants et qui contiennent des flavonoïdes, avaient une activité anti-oxydant, toute en connaissons que cette activité se différencie d'un solvant à un autre par leur concentration et l'extrait d'éthanol avait la grande activité par sa captivité du radical hydroxyle en utilisant le test de captivité avec le radical du DPPH.

On a trouvé aussi que ces extraits ont une activité limitée sur le développement bactérien puisque certaines colonies bactériennes ont montré une résistance aux trois extraits en augmentant la dose selon cet ordre : l'extrait du méthanol puis l'extrait du méthanol et enfin l'extrait d'acétone.

Selon cette étude on peut dire que la plante du thé vert possède un bon rendement par les composants naturels qu'elle contient et grâce à eux on a pu montrer quelques activités biologiques même si elles se varient en activité et en efficacité.

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

ملخص باللغة الإنجليزية

Résumé en englais

Résumé en englais

English summary

English summary

للاستشارات المنارة
www.manaraa.com

Study of some effects biological of the extract plant Green tea in the activitiy antioxidant and activity anti bacterial

Abstract

Through some biological impacts of green tea " Camellia Sinensis " , it was shoon that the organic matting differ from each other in the vegetarian component extraction and this is what was noticed Through the extraction efficiency for the ethanol , methanol and the acetone , so the percentage extraction for a quantity of 80 gram of plants was around 35% to 23%.

In consideration that the flavonoids is one of most important component and most varied in a large level , so it is considered among the most important natural (finals) which exists within the green tea , and have a wide interval of chemical and biological activities in addition to the capture characteristic of free roots and bacteria growth stopping .

And daring practical study , it was noticed that all the natural extract of the three meeting which contains flavonoids has an anti-oxidant . taking in consideration that this activity differ from ach metting regards to the concentration , when the ethanol extract take the big activity by capturing the root of hydroxyl, when doing the test of capturing by DPPH root .

It was found that these extracts have a limited activity regarding to the bacterial growth , and some bacterial generations had sown a resistance towards the three extracts when we add an other dose . especially when v sing the ethanol extract then the methanol one then after the acetone extract.

From this study we can say that the green tea has a good productivity regarding to the natural components which it has and that has the role to show some of biological activities even it differ from the efficiency and the activity .

www.manaraa.com

المراجع

Références bibliographiques

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

1 -Afanas'ev IB,Ostrachovitch EA,Abramova NE,Korkina LG.,(1995). Different antioxidant activities of bioflavonoid rutin in normal and iron-overloading rats.Biochem Pharmacol..50:pp 627-62

2-Ajaiyeoba, E., (2002). Phytochemical and antibacterial properties of Parkia biglobosa and Parkia bicolor leaf extracts, Afr.J.Biomed. Res. **5:** pp 125-129.

3 -Akowauh G.A, Zhari. I, Norgyati. I, Sadikun.A et Khamsah S.M.,(2004). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity 2004. Food chemistry **87**: pp 559-566.

4-Akroum S. Satta D, Lalaan K., (2009) Antimicrobial, antioxidant, cylotoxic Activity and phytochemical screening of Algerian plants Euro J scientific Research Vom 31 N° 2 pp 289-295

5-Alleva R, Tomasetti M, Bompadre S and Littaru P., (1997). Oxidation of LDL and their subfractions : kinetic aspects and COQ10 content. Mol Aspects Med 18: pp 105-112 .

6-Amand T, Pincemail J, Blaffart F.,(2002). Levels of inflammatory markers in the blood processed by autotrasfusion devices during cardiac surgery associated with cardiopulmonary bypass circuit. Perfusion 17:pp 117-123 .

7-American Journal of Clinical Nutrition., (2006).

8-Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol., (2007) Jan;292(1):R77-85. Epub 2006 Jul 13.Diepvens K, Westerterp KR, Westerterp-Plantenga MS.Department of Human Biology, Maastricht University, Maastricht, The Netherlands.

9 -Amié D, Davidovié- Amié D, Beslo D , et Trianajstié N.,(2003). structure- Radical scavengin activity relashionships of flavonoids. *CROATIC* CHEMICAL ACTA CCACAA.,76(1):pp 5561

10 - Antioxydant P. Sarni-Manchado, V. Cheynier.,(2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p.

11-Arts,I.C,Hollman,P.C.,(2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. American Journal of Clinical Nutrition 81,pp 317-325

12- Bartlett AH. Fine teas flower in the bay area. N.Y., (2004).

www.manaraa.com

13-Baydar N.G., Özkan G, Yaşar S.,(2007). Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control, 18 (9),*pp 1131-1136.

14 -Bazzano L, Serdula M.k., (2003). Dietaddy inlake of Fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease Cut ath, rep vol 5 pp 492-499

15 - Berrin Bozan, Goksel Tosun, Derya Ozcan.,(2008). Study on polyphenol content in the seeds of red grape (Vitis vinifera L.) varieties cultivated in Turkey and their antioxydant activity. Food chemistry, *209*,pp 426-430.

16 -Borek C.,(1997). Antioxidants and cancer. Science & Médecine 52:60, Nov/Dec

17 -Boukezzata H.,(1998).Contribution à l'étude des composés phénoliques d' une ombellifere Algerienne: Ammi visnaga lamk .Thèse de magister .Institut de chimie, Constantine.

18 - Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.,(1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmitel–Wissenschauft und Technologie, 28,* pp 25-30

19 -Bruneton J.,(1993). Pharmacognosie.Phytochimie ,plantes médicinales ,technique et documentation.Laviosier.

20 - Brusselmans K., Vrolix R., Verhoeven G. et Swinnen J. V.,(2005). induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inibite fatty acid syntase activity . journal of biological chemistry., 280(7): pp 5636-5645

21- Bruneton, J.,(2009). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, Paris, 1288 p

22-Bruneton., (1999). J.Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales (3^{éme} édition) Tec & Doc Paris ,1999/1120.

23 -Burda S., Oleszek W.,(2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49,pp 2774-2779.

24-Carbonelle.B,Denis.F,Marmonier.A,Pinon.CandVargues.R.,(1987). Bacteriologie médical technique usuelles, SIEP(Paris) pp 421-452.

www.manaraa.com

25 -Cesar G. Fraga, Monica Galleano, Sandra V. Verstraeten, Patricia I.,(2010). Oteiza, « Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols », dans Molecular Aspects of Medicine, 2010.

26 -C hoi CW, Kim SC, Hwang SS, Choi BK, Ahn HJ, Lee MY.,(2002) Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Sci163:pp 1161-1168.

27- Cinang K ,Kambn ,K.Tona.L.,(2006).ctotoxicity and in vitro susciptility of Entamouba histolytica to Marinda mormdoids beaf extract and its isolated constituents J ethno pharmacology Val 107 pp 03-90

28-Colette E., (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelle utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse Pharmacie Bamako.147 P

29 -Cook P, and Samman S.,(1996).Flavonoids –chemistry,metabolism,cardio -protective effectsm and dietry sources ,nutrutionalbiochemistry ;7:pp 66-76.

30 - Corina P; Dinmitris S Emanual T (2005). The influence of calendula officinalis Extracts in cell culture J pharm Bio-med val 38(02) pp 285-292

31-Cos P,Ying L,Calloman M,Hu JP, Cimaga K, Poel BV, Pieters L and Vlietenck AJ .,(1998).structure-activity relationship and clacification of flavonids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers .journal of natural product;61(1):pp 71-76

32 - Coyen Y., (1981). Abrégés de pharmacologie. Ed 4, Masson, Paris, 355 P.

33 - Coyen Y., (1990). Les médiateurs chimiques de l'inflammation, in Abrégé de pharmacologie. Ed.3 Masson, Paris, 350 P.

34 - Cowan, M.M. Clin. Microbiol. Rev. 12 **(1999)** pp 564-582.

35 - Crêté P. (1965). Précis de botanique, systématique des angiospermes tome

36 -Curtin JF, Donovan M, Cotter TG.,(2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. J Immunol Methods 265:pp 49-72 .

37-Dardik R, Varon D, Tamarin I., (2000) . Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions : distinct mechanisms of thrombogenic modulation. Thromb Haemost 83:pp 338-344.

www.manaraa.com

38- Davies M J., Judd, J. T., Baer, D. J., Clevidence, B. A., Paul, D. R., Edwards, A. J., (2003). Black tea consumption reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolemic adults.Journal of Nutrition, 133(10), pp 3298–3302

39 -Davies MJ., (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. Free Rad Biol Med 27:pp 1151-1163 .

40-Delgado M ;Haza A ; Arranz H., (2008) .Dietary polyphenels protect against Nitrosamine Benzopyrene induced DNA damage in human hepatoma cells Eue J Nutr Val 30,pp 328-335

41 -Dipti P, Yogesh B, Kain AK, Pauline T, Anju B, Sairam M, Singh B, Mongia SS, Kumar GI, Selvamurthy W., (2003). Lead induced oxidative stress: beneficial effects of Kombucha tea. iomed Environ Sci. Sep;16(3):pp 276-82

42 -Dodet A.,(1991). Biofutur.pp 23-34.

43-Dragan A ,Dusanka D-A ,Drago B ,Nenad T., (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids . Croat . Chem.Acta .2003 ; 76(1) :pp 55-61.

44 -Dufresne, C. J.; Farnworth, E. R.,(2001). A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J. Nutr. Biochem*. 2001, *12*, pp 404–421

45 -Eur J Med Res., Opala T, Rzymski P, Pischel I, Wilczak M, Wozniak J.,(2006) Aug. Department of Mother's and Child's Health 30;11(8):pp 343-50

46 -Free Radic Res., Rechner AR, Wagner E, Van Buren L, Van De Put F, Wiseman S, Rice-Evans CA. (2002) Oct. Centre for Age-Related Diseases, Guy's, King's and St Thomas's School of Biomedical Sciences, King's College London, Guy's Campus, Hodgkin Building-3rd floor, 36(10): pp 1127-35.

47-Fujimura Y, Tachibana H, Maeda-Yamamoto M, Miyase T, Sano M, Yamada K. Antiallergic tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate, suppresses FcepsilonRI expression in human basophilic KU812 cells.*J Agric Food Chem.*, 2002 Sep 25;50(20):pp 5729-34.

48-Gaillard ,Patrick.B and Michel.S.,(1989). Bacteriologie, les bacteries des infections humaines, Second édition, flamarion médcin- sciences (Paris) pp 312-356.

www.manaraa.com

49- Geyon. R JB.,(1968) .The phenolic Compounds of vegetals

50 -Ghirlanda G, Oradei A, Manto A., (1993). Evidence of plasma CoQ10-lowering effect by HMG-CoA reductase inhibitors: a double-blind, placebo-controlled study. J Clin Pharmacol. 33:pp 226-9

51-Gosse F, Guyot S, Roussi S, Labstein A, Fisher B, Seiler N, Raul F.,(2005). "Chemoproventive properties of apple procyanidins of human colon cancer derived metastatic SW620 cells and in a rat model of edon carcinogenesis". *Carcinogenesis* 26 (7), pp1291 – 1295.

52 -Guignard JL,Cosson L, Henry M.,(1985). Abrégé de phytochimie .pp141-147 .

53- Halliwell B.,(1996). Annu Rev Nutr16,p33

54-Havsteen B.,(1983).Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency.Biochem Pharmacol.32:pp 1141-8.

55 -Havsteen, B.H., (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology and Therapeutics 96, pp 67–202.

56 -Hamilton-Miller, J. M., (2001). Anti-carcinogenic properties of tea (Camellia sinensis). Journal of Medical Microbiology, 50, pp 299–302

57-Hattori I, Nakamura H, Masutai H. (2003). Thiroedoxin-dependent redox regulation – implication in aging and neurological diseases. Critical review of oxidative stress and aging. Vol II RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific pp 87 – 101 .

58 -Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J., (2002) .Flavonoid antioxidants: chemistry,metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry 13, (10), pp 572-584.

59 -Holgrem A., (2003). Redox regulation of genes and cell function. In : Critical review of oxidative stress and aging. Vol II RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific pp 102-111.

60 -Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F and Collen D., (1998) . Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery diseases. Circul 98:pp 1487-1494 .

www.manaraa.com

61- Hong yao, Bin wu, Yiyucheng, Haibin Qu., 2009. High throughput chemiluninescence platform for evaluating antioxydative activity of total flavonoid glycosides from plant extracts. Food chemistry.115:pp 380-386.

62-Huerta, C., Lanes, S. F., & García Rodríguez, L. A., (2005). Respiratory medications and the risk of cardiac arrhythmias.Epidemiology, 16(3), pp 360–366

63 -ISO.,(2005). Determination of substances characteristic of green and blck tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent 14502-1

64 -I smaili H, Milella L, Fkih-Tetouani S, Ilidrissi A, Camporese A, Sosa S et al.,(2004). In vivo topical anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of two extracts of *Thymus satureioides* leaves. J Ethnopharmacol 91:pp 31–36.

65 -J Agric Food Chem., (2005). Sep .Chiu FL, Lin JK.Institute of Biochemistry and Molecular Biology, College of Medicine, National Taiwan University, Number 1, Section 1, Taipei, Taiwan. 53(18):pp 7035-42

66 -J Agric Food Chem. Seeram NP, Henning SM, Niu Y, Lee R, Scheuller HS, Heber D.,(2006) Mars. Center for Human Nutrition, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, California, USA 8;54(5):pp 1599-603.

67-Jhonson L.,(1999). Antioxydant et anticancéreux.biofuture;186:pp 14-17

68 -J Nutr., (2003) Oct.Lambert JD, Yang CS.Department of Chemical Biology, Ernest Mario School of Pharmacy, Rutgers, The State University of New Jersey, Piscataway, NJ, USA 133(10):pp 3262-3267

69 -Jones DP, Mody VC, Carlson JL., (2002) . Redox analysis oh human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. Free Rad Biol Med 33:pp 1290-1300.

70 -Jourd'heuil D, Hallen K, Feelisch M and Grisham MB., (2000). Dynamic state of S-nitrosothiols in human plasma and whole blood. Free Rad Biol Med 28:pp 409-417 .

71- Kalousova M, Skrha J, Zima T., (2002) . Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. Physiol Res. 51:pp 597-604.

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

72- Kai On Chu., (2010). "Green Tea Catechins and Their Oxidative Protection in the Rat Eye.". J. Agric. Food Chem., 58 (3), pp 1523-1534.

73-Karumi Y, Onyeyili P A, Ogugbuaja VO., (2004). Identification of active pricipales of Methanol balsamina (Basam Apple) leaf extract JMed Sci 4(3) pp 179-182

74- Keïta R., (2002). Etude de l'activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles. Thèse Pharmacie, Bamako ; p 107

75 -Lagendijk J, Ubbink JB and Vermaak JH.,(1996). Measurement of the ratio between the reduced and oxidized forms of coenzyme Q10 in human plasma as a possible marker of oxidative stress. J Lipid Res 37:pp 67-75 .

76 - Le thé qui soigne. Article du Journal de Montréal paru le 16 janvier (2008)

77 -Liver Transpl, Molinari M, Watt KD, Kruszyna T, Nelson R, Walsh M, Huang WY, Nashan B, Peltekian K ., (2006) Dec.Queen Elizabeth II Health Sciences Center, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada. 12(12):pp 1892-5

78 -Meagher EA, FitzGerald GA ., (2002) . Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. Free Rad Biol Med. 28:pp 1745-50

79 -Medical Science, Polna St 33, Poznan, Poland. J Am Diet Assoc., (2006) Dec.Sharpe PA, Granner ML, Conway JM, Ainsworth BE, Dobre M.Prevention Research Center, Arnold School of Public Health, University of South Carolina, 921 Assembly St, Columbia, USA. 106(12):pp 2045-51

80 -Merghem R, Jay N, Burn N, Voirin B.,(2004). "Quantitative analysis and HPLC isolation and identification of procyanidins from Vicia faba L". Phytochemistry Analysis 15, pp 95-99.

81 -Middleton Jr, E., Chithan, K.,(1993). The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne JB, editor. The flavonoids: advances in researchsince 1986 London, UK: Chapman and Hall

82-Middleton Jr., E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C.,(2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heartdisease, and cancer. Pharmacological Reviews 52,pp 673–751.

www.manaraa.com

83- Millogo,H.,(2000). Etude pharmaco chimique et antibactérienne des extraitsd'écorces de Parkia biglobosa (Jacq.)Benth. (Mimosacées) : évaluation comparée de l'activité des extraits totaux et hydroalcooliques versus gentamicine vis-à-vis de germes pathogènes, Sciences et Techniques, 24 :pp 97-103

84- Molyneux P.,(2004). The use of stable free radical diphenyl picrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* pp 211-219.

85 -Mora, A. ,Paya, M. ,Rios, J.L. ,Alcaraz,M.J. ,(1990). Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation, Biochem .Pharmacol. 40:pp 793–797.

86 -Moran LK, Gutteridge JM, Quinlan GL., (2001). Thiols in cellular redox signalling and control. Curr Med Chem 8:pp 763-772

87 -Morton LW, Ward NC, Croft KD, Puddey IB ., (2002). Evidence for the nitration of gamma-tocopherol in vivo: 5-nitro-gamma-tocopherol is elevated in the plasma of subjects with coronary heart disease. Biochem J. 364:pp 625-8 .

88 -Mukhtar,H Ahmad N.,(1999). Green tea in chemoprevention of cancer. Toxicol. Sci. 52:pp111-117.

89 -Munoz.F.M.A;Fernandez.M and Fresro.m., (1992). Synergism between necrosis factor α and intrferon-δ on macrophage activation for the killing of intracellular trypanosoma crusi throwgh a nitric oxide dependent mechanism. Eur J Immunol 22: pp 301-307.

90-Murase, T., Haramizu, S., Shimotoyodome, A., & Tokimitsu, I., (2006). Reduction of diet-induced obesity by a combination of tea-catechin intake and regular swimming. International Journal of Obesity , 30(3), pp 561–568.

91 -Nakachi K, Matsuyama S, Miyake S, Suganuma M, Imai K.,(2000). Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease: epidemiological evidence for multiple targeting prevention. Bioactors; 13 (1-4): pp 49-54.

92 -Ornston.L,N,Jawetz.E.J,Melnick.A,Adelberg.G.F and Janet.S.B.,(1995). Medical Microbiology, tweentieth edition Editedf by appletion and lang (New York) pp125-163.

www.manaraa.com

93 -Owen P. et Johens T., (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. Journal of Ethnopharmacology. **64**: pp 149-160

94 -Owuor ED.Kong AN.,(2002). Antioxidants and oxidants regulated sigal transduction pathways. Biochem Pharmacol 64:pp 765-770 .

95 -Pantke U, Volk T, Schmutzler M et al.,(1999). Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. Free Rad Biol Med 27:pp 1080-1086

96 -Parra, P. Te´.,(2006). (*Camellia sinensis* L.). *Re*V*ista Alimentos Argentinos (Buenos Aires), 34*, pp 18-26.

97 - Parekh J. et Chanda S. V .,(2007) In vitro antimicrobial activity and phyochemical analysis of some India medicinal plant. Turkish journal of biologiy., 31:pp 53-58.

98 -Park H, Lee S, Som H, Park S., (2008). Flovonoids inhibit histamine release and expression of pro inflammatory cytokines in most cells Arch phan Res val 31(10), pp 1303-1311.

99 - Perez, C.; Pauli, M. et Bazerque, P. Acta Biol. Med. Exp. 15 **(1990)** 113-115.

100 -Poulose SM ; Harris ED ; Patil BS.,(2005). Citrus limonoids induce apoptos is in humain neuroplastoma cells and have radical scarenging activity. J Nut Val 135,pp 870-877.

101 -Punyasiri PA, Abeysinghe SB, Kumar V., (2005). "Performed and induced chemical resistance of tea leaf against *Exobasidium vexans* infections". *Journal of Chemistry and Agriculture* 31(6), pp 1315-1324.

102 -Puppo A., (1998). effects of flaronoids on hydroxyl Radical formation by fonton type reaction Phtochemistry 31 (1) ,pp 85-88.

103 -Ramarethinam S, Rajalakshmi N.,(2004). "Caffeine in tea plants [*Camellia sinensis (L) O. Kuntze*]: In situ lowering by Bacillus licheniformis (*Weigmann*) *chester*". Indian Journal of Experimental Biology 42, pp 575-580.

www.manaraa.com

104 - Reilly M, Delanty N, Lawson JA and FitzGerald GA., (1996). Modulation of oxidative stress in vivo in chronic cigarette smokers. Circulation 94:pp 19-25 .

105 -Reinhold L, Harborne JB,Swain T.,(1980). Progress in phytochemistry Vol .6 . pp 127.

106 -Renato. D, Bernard. D, Herman. N.E and Harold. S.G.,(1990). Microbiologiy, Fourth edition J.B Lippincott company 5 newYork) pp 213-241.

107 -. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridham J.B.,(2001). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research***,** 22,pp 375-383.

108 - Rota M. C.,Herrera A., Martinez R. M.,Sotomayor J. A. et Jordan M . J., (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of thymuse vilgaris, thymus zygis and thymus hyemalis essential oils. Food control.,19:pp 681-687.

109 -Roulier G.,(2000).Extrait du vie "La méthode naturelle anti –age".Edition

Dangles.

110 -Roulier G.,(2004). Extrait du vie "La méthode naturelle anti –age".Edition Dangles

111 -Ryter SF and Tyrrell RM., (2000) . The heme synthesis and degradation pathways : role in oxidant sensitivity.

112-Sai Ran , Sai Sun , Shok , Dai., (2002) .Cytoproctective and immunomodulating properties of (Emblica officinalis) on lymphocytes in vitro study J ethno Pharmacology 81, pp (5-10)

113 -Sanni C,Sauvin H.L.,(1952). Les Couleurs des fleurs et des fruits ,Anthocyannes et flavones. Editeurs du museum,Paris ,pp 1952-220

114 - Scherer R., Godoy H. T.,(2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2˚ diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* **2009**, *112*, pp 654-658

115 - Shankar, S., Ganapathy, S., & Srivastava, R. K., (2007). Green tea polyphenols, biology and therapeutic implications in cancer. Front Bioscience, 1(12), pp 4881–4899.

116 -Sharma Om P., Bhat T.K.,(2009). DPPH antioxidant assay revisited. Food chemistry, *113 (4)*,pp 1202.

www.manaraa.com

117 -Sies H., (1991) . Oxidative stress : introduction. In : Oxidative stress, oxidants and antioxidants. H. Sies Ed. London : London Academic Press , pp XV-XXII.

118 -Simonetti G, Simonetti N, Villa A.,(2000). "Increased microbicidal activity of green tea (*Camellia sinensis*) in combination with butylated hydroxyanisole". J*ournal of Chemotherapy* 16 (2), pp 122-127.

119 -Tiquwari, A .K.,(2001). Imbalance in antioxidant defence and human diseases:Multiple approach of natural antioxidants therapy.Current science.,81(9):pp 1179-1181.

120 -Tomofuji T ; Ekumi D ; Irie K ; Azuma T ., (2009). Preventiveeffects of a cocoaenricheddiet on gingival oxidative stress in experimentalperiodontitis.J periodontol 8(11), pp 1799-1808.

121 -Ueli A. Hartwig, Cecillia M. Joseph, and Donald A. Phillips.,(1991). « *Flavonoids Released Naturally from Alfalfa Seeds Enhance Growth Rate of Rhizobium meliloti* », dans *Plant Physiol.*, vol. 95, n^{o} 3, pp 797-803.

122 -Valentao P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade PB, Seabra RM, de Lourdes Basto M., (2002). "Studies on the antioxidant activity of *Lippia citriodora* infusion: scavenging effect on superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid". *Biological & Pharmaceutical.*

123 -Wagner.H and Prosch.A., (1985). Immunostimulatory drugs of fungi and higher plants .In Economic and medicinal plant research Academic Press London –NewYork pp 113-153.

124 - Williams, C.A., Grayer, R.J., (2004). Anthocyanins and other flavonoids. Natural Products Repopts 21,pp 539–573.

125 - Winkel-Shirley B.,(2002) . Biosynthesis of flavonoids and effects of stress Plant Biology. ;5 :pp 218-223.

126-Wikipédia.,(2009).L'encyclopédielibre(enligne):http://www.wikipédia.com

127 - Yingkum, Q., Yingjie, C., Yupin, P., Hisashi, M. et Masayuki, Y.,(2002). Constituents with radical scavenging effect from *Opuntia dillenii*: Structures of new co-pyrones and Flavonol glycoside. *Chem. Pharm. Bull.*, 50 (11):pp 1507-1510

www.manaraa.com

128 -Yung, S. L., Yao, J. T., Jyh, S. T., & Jen, K. L., (2003). Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves Journal of Agricultural Food Chemistry, 5(7), pp 1864–1873**.**

www.manaraa.com