I. دراسة الفلافونويدات والبوليفينول:

I.1.1. مقدمة عن منتجات الأيض الطبيعي:

هي مركبات عضوية من أصل طبيعي تنتجها الكائنات الحية، سواء الحيوانية أو النباتية، والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة، وهي تشمل كل من: التربينات ، الستيرويدات، القلويدات ،متعدد الفينول ، الفيتامينات... الخ. تحمي النبات من الميكروبات والحشرات وهي مصدر للصبغات النباتية والزيوت العطرية، كما تفيد الإنسان في كثير من الصناعات كصناعة الأدوية، الصابون، ومواد التجميل [4]. تنقسم منتجات الأيض الطبيعي الى قسمين هما: [5].

القسم الأول: (métabolites Primaires) مركبات داخلة في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب الى العمليات الأيضية الأساسية التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية الأساسية والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون، البروتينات. وتعتبر مركبات هذا القسم هي المواد البادئة لمركبات تؤلف في مجملها القسم الثاني المتمثلة في مركبات الأيض الثانوي.

القسم الثاني: (métabolites secondaires) وهي مجموعة من الجزيئات التي تشارك في التكيف من النبات إلى بيئته، وكذلك تنظيم التعايش وغيرها من تفاعلات بين النبات والحيوان. تصنف بدورها الى [5].

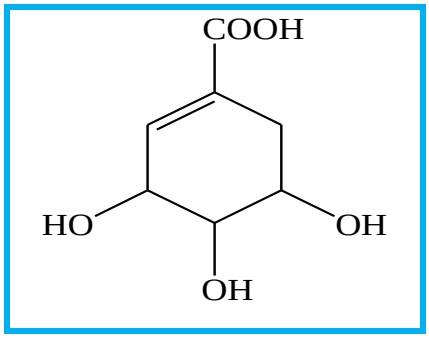
- أشباه القلويدات،
- مركبات متعدد الفينول،
- التربينات ومشتقاتها،
- المضادّات الحيوية والفيتامينات.

I.1.2. مركبات متعدد الفينول أو البوليفينول:

وهي نواتج الأيض الثانوية من النباتات. ويمكن تعريفها بأنها ضرورية بشكل غير مباشر لجزيئات الحياة النباتية (ومن هنا جاء إسم المركبات الثانوية)، وعلى النقيض من نواتج الأيض الأساسي التي تغذي الممرات الرئيسية من عملية التمثيل الغذائي القاعدي ولكنها ضرورية في التفاعل بين النبات مع بيئته [6]. كل هذه المركبات تشترك في وجود حلقة بنزين أو أ كثر مع وظيفة هيدروكسيلية أو أ كثر أو وظيفة مستبدلة (سكر، أستر، إيثر) [7].

صيغة مركبات متعدد الفينول الطبيعية يختلف من جزيئات بسيطة (الأحماض الفينولية البسيطة) إلى (مكثف العفص) جزيئات أكثر بلمرة كما أنها تضم أكثر من 8000 صيغة [6] مقسمة إلى عدة أصناف. (الجدول 1) [7].

وهي موجودة في كل الأجزاء العلوية للنبات (السيقان والأوراق والأزهار وحبوب اللقاح، والفواكه والبذور). وكذلك الجذور وتشارك في العديد من العمليات الفيزيولوجية مثل نمو الخلايا، وتكوين الجذر، وإنبات البذور ونضج الثمار.

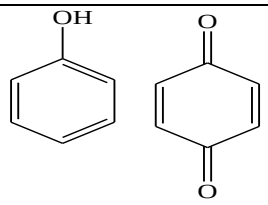
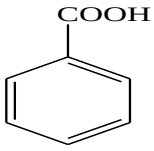
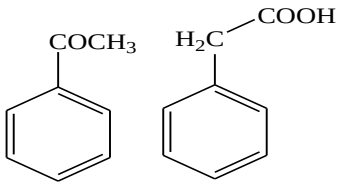
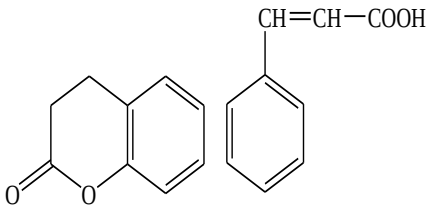
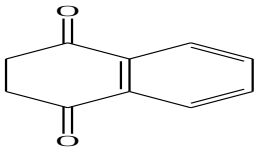


الشكل 1 : صيغة حمض الشيكميك

مركبات متعدد الفينول هي الجزيئات النشطة بيولوجيا فهي تستخدم على نطاق واسع في العلاج مثل معالجة تضيق الأوعية معالجـة الالتهابات، مثبطات انزيمية ، مضادات للأ كسـدة و المضادة للميكروبـات.[8] تصنف مركبات متعدد الفينـول على أساس عدد ذرات الكربون الى [9]:

- مركبات متعدد الفينول قليلة الإنتشار: الفينولات البسيطة (C_6)،
- مركبات متعدد الفينول واسعـة الإنتشار: مثل الفلافونويـدات ،
- مركبات متعدد الفينول متعددة الجزئيات العفصيات (Tanins).

الجدول 1: بعض أصناف مركبات متعدد الفينول

رقم ذرة الكربون	الهيكل الأساسي	الصنف	البنية الأساسية
6	C_8	متعددات الفينول البسيطة البنزوكينونات	
7	$C_6- C_1$	الأحماض متعددات الفينول	
8	$C_6- C_2$	أحماض الفينيل أسيتيك أسيتوفينون	
9	$C_6- C_3$	أحماض السيناميك الكومارينات	
10	$C_6- C_4$	النافتوكينون	

I.3.1. مصدر مركبات متعدد الفينول:

توجد مركبات متعدد الفينول في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي وتحديدا الفواكه حيث يمكن أن تصل ما بين 100-500 ملغ/غ في بعض الفواكه:(التفاح، العنب، الكرز)، والمشروبات (القهوة والشاي) والشوكولاطة، بينما توجد في صورة أقل في الخضر والحبوب، حيث تحتوي الخضر على25-100ملغ/غ [10].

تعتبر مركبات متعدد الفينول من أكثر مضادات الأكسدة الموجودة في الغذاء، حيث يستهلك الفرد حوالي 1 غ يوميا أي ما يعادل 10 مرات أضعاف الفيتامين C و100 مرة أضعاف الفيتامين E. تمتلك مركبات متعدد الفينول مثل الفيتامينات (E ،C) خواصا مضادة للأكسدة، من خلال الاقتناص المباشر للجذور الحرة، كما تعمل على تعزيز الدفاع الذاتي ضد التوتر التأكسدي من خلال حمايتها للمركبات النسيجية (الليبيدات ومركبات أخرى). كما تتميز بقدرتها على خفض نسبة الأيونات المعدنية (Fe^{+2} ،Cu^{+2}) وذلك بفضل قوة الارتباط العالية التي تمتلكها اتجاه هذه المعادن وتساهم بدرجة كبيرة في توفير الفيتامينات [11].

I.4.1. فوائد مركبات متعدد الفينول:

هي آسرات للجذور الحرة و ممخلبات للأيونات المعدنية مما يمنحها خصائص مضادة للتأكسد ذات أهمية نسبية حسب بنيتها حيث تعمل بمنح ذرة الهيدروجين إلى الجذور الحرة الناتجة أثناء الأكسدة الليبدية مثل: جذر البيروكسيل (ROO°)، و ألكوكسيل (RO°). لمتعددات الفينول المتواجدة بصفة خاصة في الشاي أثر مفيد ضد أمراض القلب الوعائية [12].

I.5.1. الفاعلية البيولوجية لمركبات متعدد الفينول:

لمركبات متعدد الفينول فاعلية ضد نوعين من الخلايا السرطانية هما خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري AMN_3 وسرطان عنق الرحم Hela [13].

2.I. الفلافونويدات:

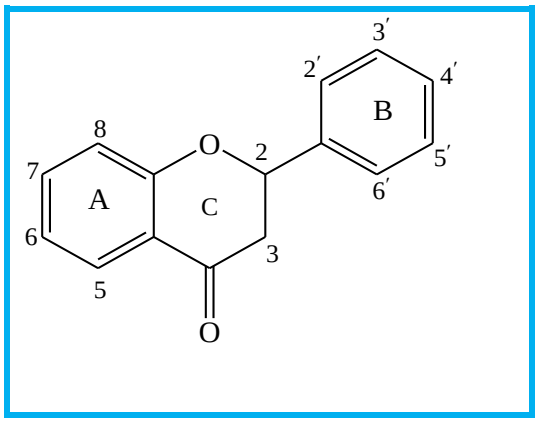
مقدمـــة:

نتيجة لاستعمال الفلافونويـدات في ميادين حيويـة متعددة، بالإضافـة إلى فائدتها الصيدلانيـــة فقد أثـــارت اهتمام العديـــد من الباحثين والصيادلة حيث تمثل إحدى المجموعات الطبيعية ولقد تم حصـر حـوالي 4300 بنيـة في صورة إثيروزيديـــة أو أجليكونية [15،14].

توجد الفلافونويدات في معظم الأصناف النباتية ومعظم الأعضاء أيضاً مثل الخضر، الفواكه، البذور، الأوراق، الأزهار.... إلاّ أن نسبتها تختلف من صنف لأخر، فتكون في الأزهار والبراعم الزهرية أكثر. تتواجد الفلافونويدات على مستوى الخلية النباتية في صورة إثيروزيدات ذّوابة في المـاء متمركـزة في حويصلـة الخليـة، أما الفلافونويـــدات التي تذوب في المذيبات العضوية غير القطبية كالفلافونويدات عديدة الميثوكسيل فتتواجـد في سيتوبـلازم الخليـة [16]. تحتـوي معظم الأغذيـة ذات الأصول النباتيـة على كميـات معتبرة من الفلافونويـدات مثل: (بصـل – تفـاح -قنبيـط– صوجـة – برتقال – ليمون – شاي عصير فواكه).

1.2.I. تعريف الفلافونويدات:

تمثل الفلافونويـدات القسم الأكبر من الأيض الثانوي للنبات، وهي عبارة عن صبغات نباتيـة تنتشر في أجزاء النبـــات المختلفـة، تحـــوي جميع الفلافونويـدات 15 ذرة كربون في هيكلـها الأساسي موزعـة على ثلاث حلقـــات A، B، C كـما في الشكل (2) [17]. إذ تتميز ببنية $C_6–C_3–C_6$ والفلافونويـدات عموماً مركبات ملونة هي المسؤولة عن لون الإزهـار والثمار والأوراق في النبات.



الشكل2 : الهيكل القاعدي للفلافونويدات

2.2.I. تصنيف الفلافونويدات :

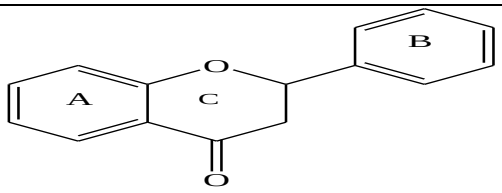
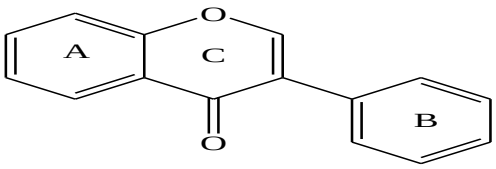
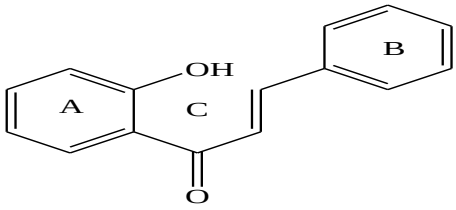
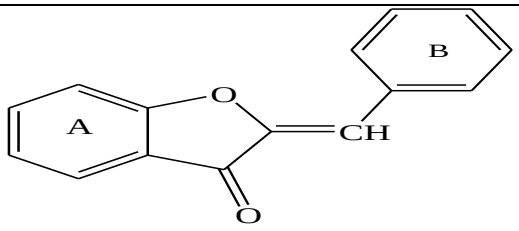
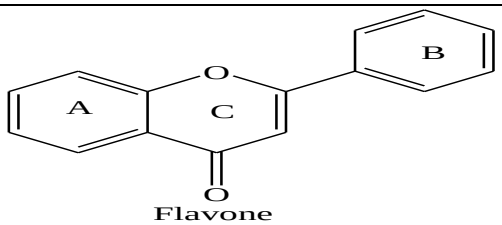
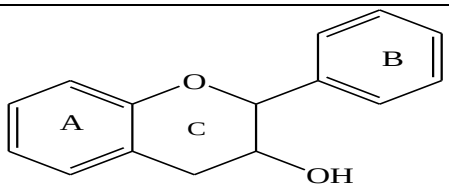
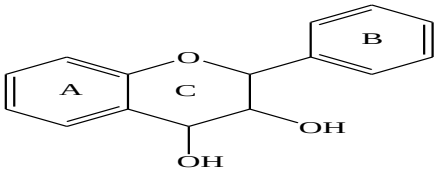
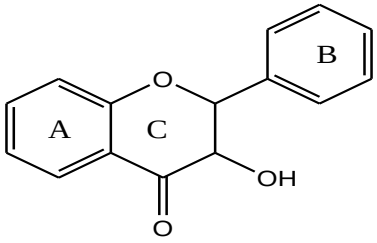
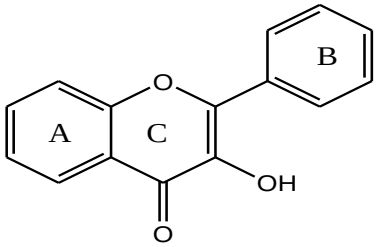
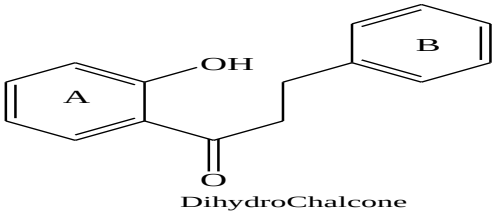
تتضمن الفلافونويدات مجموعات بديلة قد تكون مجموعات هيدروكسيل أو ميثوكسيل وقد توجد هذه المجموعات على هيئة جليكوزيدات في صورة سكر أحادي أو ثنائي، أو قد يدخل في بناء المركب أكثر من مستبدل سكري، أغلب السكريات الأحادية المتوافرة في بناء الفلافونويدات هي:(جلوكوز– رامنوز-أرابينوز) إذ يطلق على الفلافونويدات التي تحوي مجموعة أو أكثر من مجموعات آنفة الذكر على حلقات B،A أو إحداهما بالفلافونات، أما إذا وجدت مجموعة بديلة هيدروكسيلية حرة أو مستبدلة على الموضع رقم (3) لمركب فلافوني فعندئذ يطلق على المركب اسم فلافونول، إذا كانت الرابطة 3–2 في هيكل الفلافون مشبعة فيسمى المركب عندئذ فلافانون، كما أن هناك منتجات طبيعية وثيقة الصلة بالتركيب البنائي للفلافونات تسمى ايزوفلافونات وهي لا تختلف في بنائها عن الفلافونات إلاّ باختلاف ارتباط الحلقة B حيث توجد مرتبطة بالموضع(3). والجدول (2) يوضح بعض الأمثلة النموذجية لبناء الفلافونويدات.

تمثل الفلافونات والفلافونولات 80 % من الفلافونويدات، بالنسبة للحلقة A أكثر من 90 % تكون مستبدلة بواسطة مجموعات هيدروكسيل في الموضعين C–7،C–5 وقد تكون الهيدروكسيلات حرة أو ممثلة أو مرتبطة بسكريات. الحلقة B مستبدلة بـ 80% في الموضع 4'وقد تكون ثنائية الاستبدال في الموضعين 3′، ′4 وبنسبة أقل تكون ثلاثية الاستبدال في المواضع 5′،4′،3′ وأغلب هذه المستبدلات هي OH وOCH_3 أما بالنسبة للموضعين 2'،'6 فنادراً ما تكون مستبدلة [18].

3.2.I خواص الفلافونويدات :

الفلافونويدات مركبات هيدروكسيلية تتصف بخواص وصفات متعدد الفينول، فهي مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم، وتتصف الفلافونويدات التي تحمل عدداً أكبر من مجموعات هيدروكسيل حرة أو سكر بالصفة القطبية، وبالتالي فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل (ميثانول، إيثانول، أسيتون، ماء). أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات والفلافانونات والفلافونات والتي تحمل عدد أكبر من مجموعات الميتوكسيل التي تذوب في الايثر والكلوروفورم [19].

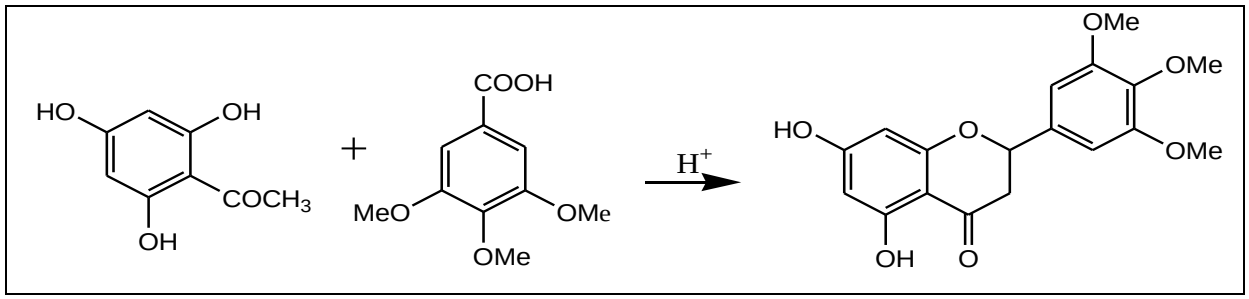
الجدول 2: الهياكل الأساسية لمختلف الفلافونويدات

 Flavanone	 Isoflavone
 Chalcone	 Aurone
 Flavone	 Flavan-3-ol
 Flavan-3,4-diol	 Dihydroflavonol
 Flavonol	 DihydroChalcone

كيمياء الفلافونويدات:

I.4.2. طرق تحضير الفلافونويدات:

هناك العديد من الطرق التي تم تبنيها في المختبر لتحضير أو لتشكيل هيكل فلافونويد منها طريقة روبنسون ورفيقاه والتي تم استخدامها لتحضير العديد من الفلافونويدات بغية المقارنة بينها وبين فلافونويدات طبيعية من حيث الخواص إذ تتلخص هذه الطريقة في تسخين مشتق ارثوهيدروكسي فينون مصدر الحلقة A مع خليط من ملح الصوديوم وحمض عطر بمستبدل لا مائي مصدر الحلقة B كما يوضحه المثال التالي [20].

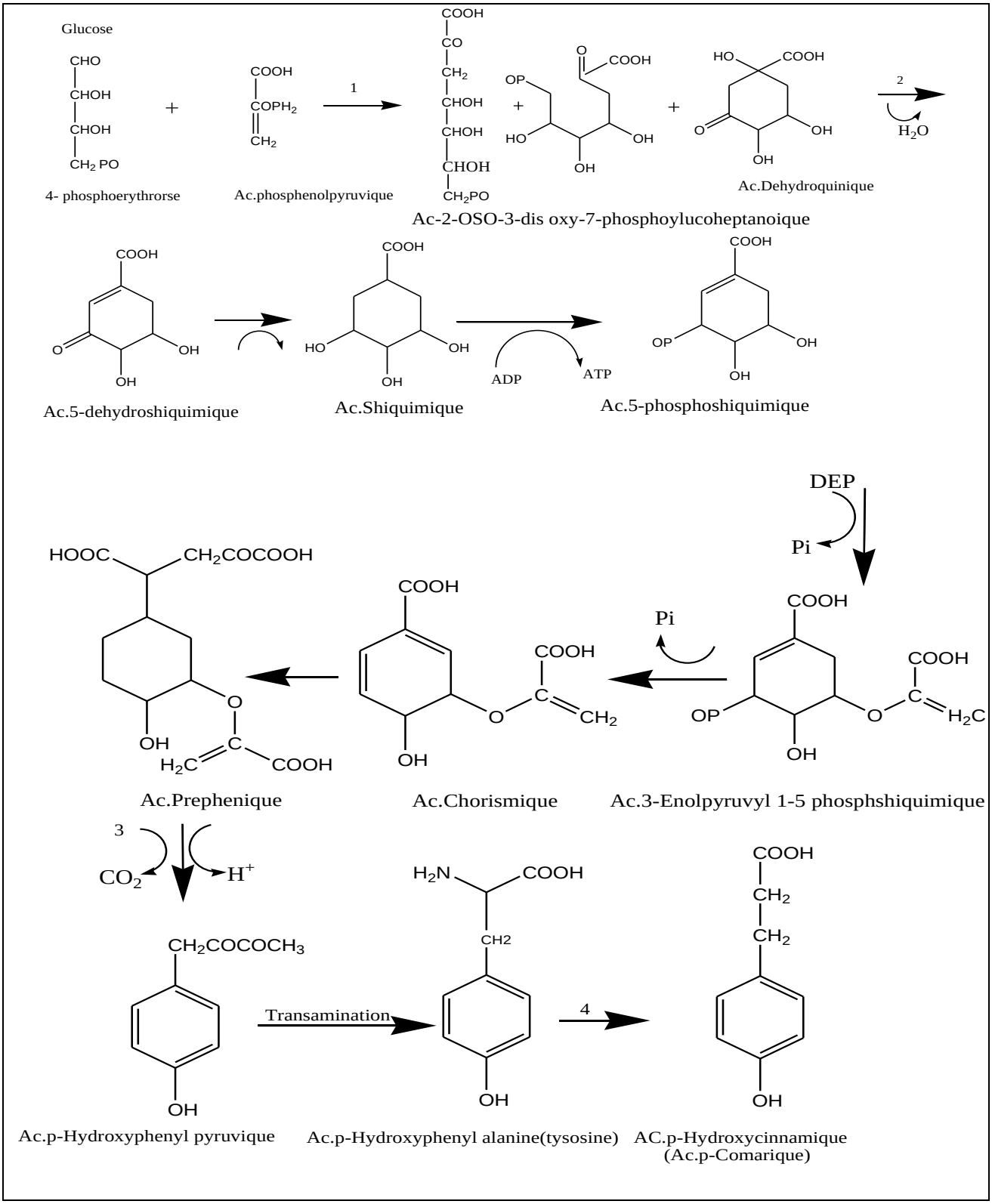


I.5.2. الاصطناع الحيوي للفلافونويدات:

يقصد بالاصطناع الحيوي الطريقة التي تتكون المنتجات الطبيعية داخل مصادرها ولا تتعدى بأن تكون تفاعلات أكسدة، اختزال، ألكلة ذرة أكسجين أو نيتروجين، أسيلة، انتزاع CO_2 من مجموعة كربوكسيل. إذ يعتبر الماء، ثاني أكسيد الكربون، حمض النمل، حمض الخل من الوحدات الأساسية التي تستخدمها الخلية في صنع أو بناء المركبات الطبيعية.

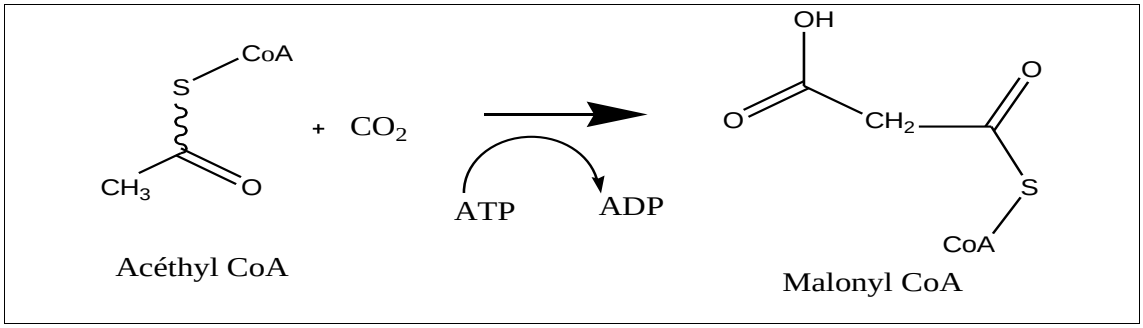
I.6.2. الاصطناع الحيوي للشالكون:

انطلاقاً من نواة الشالكون يتم تصنيع العديد من الفلافونويدات فقد أثبتت التجارب دور حمض الشيكميك في تكوين الحلقة البترينية B، كما أن تكاثف ثلاث وحدات من خلات الايثيل في صورة مالونات (انزيم مرافق) يؤدي إلى تشكيل الحلقة A، لتتحد بعد ذلك مع حمض باراكوماريك، يؤدي هذا التكاثف إلى تكوين A نواة الشالكون كما يبينه الشكلين (3،4) [21].

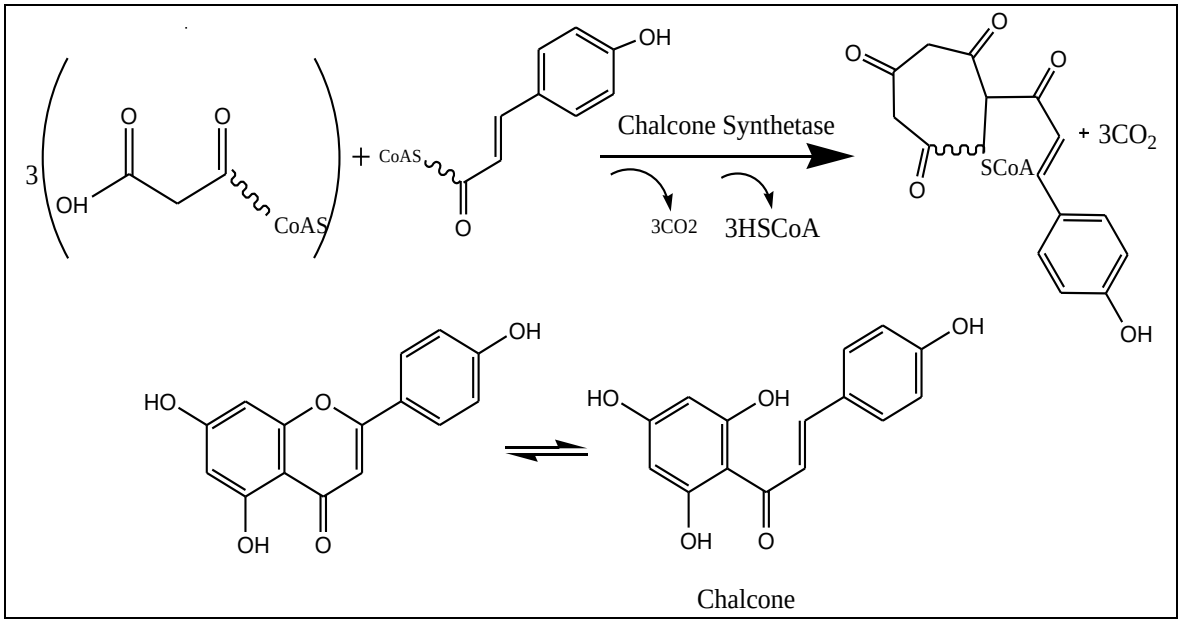


الشكل 3: تكوين حمض بارا كوماريك بدءاً من الجلوكوز مرورا بحمض الشيكميك

بينما تتشكل الحلقة A من تكثيف لثلاث وحدات من Malonyl- CoA والناتجة عن تثبيت مجموعة كربوكسيل على أسيتيل أنزيم مرافق Acetyl-CoAكما يوضح ذلك الشكل التالي :



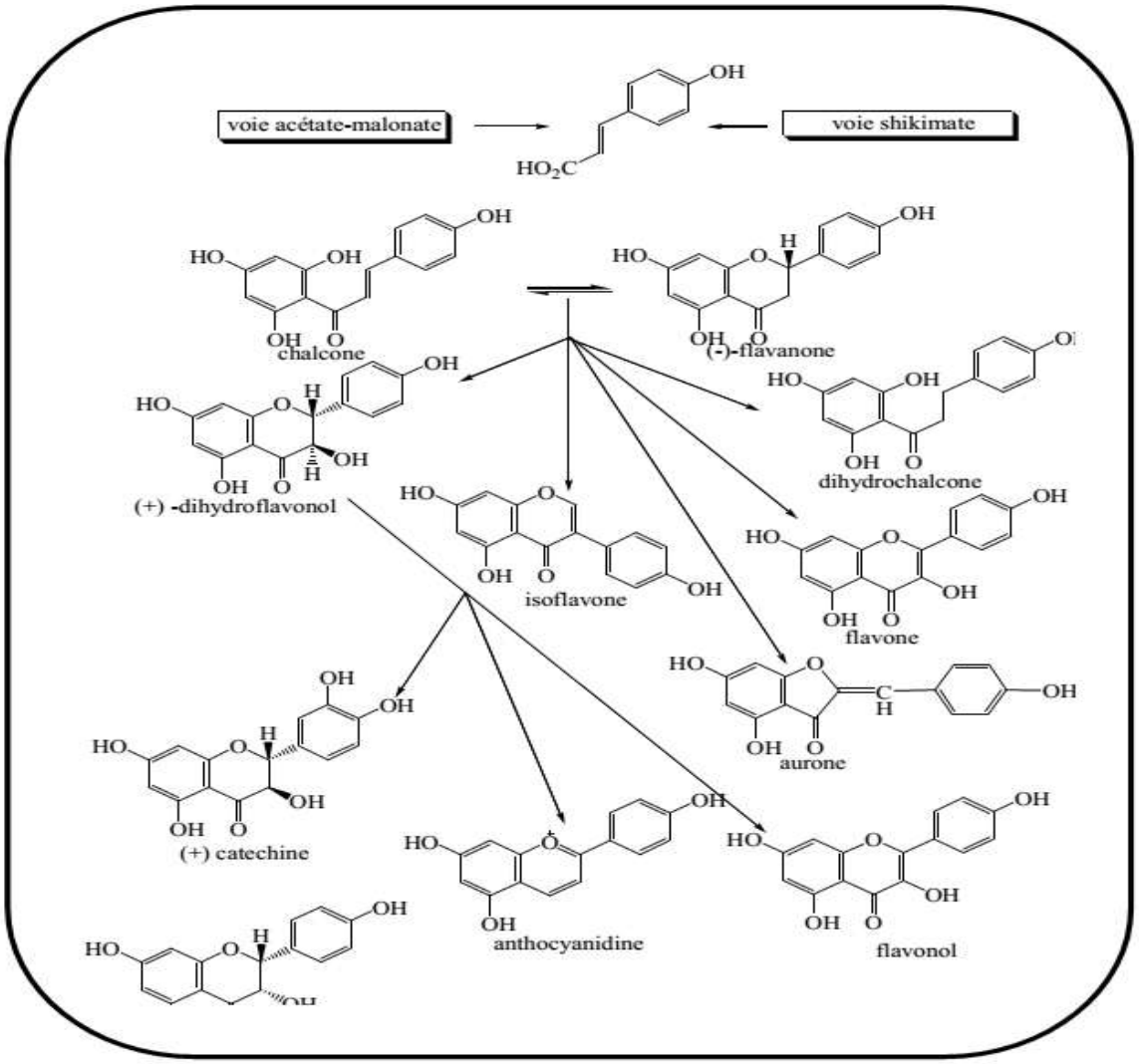
وهكذا تتشكل النواة الرئيسية للفلافونويدات من تكثيف ثلاث وحدات CoA-Malonyl على P. Coumaroyl-CoA كما يوضح ذلك شكل (4) :



الشكل 4: تكوين الشالكون

I.7.2. الاصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونويدية بدءا من الشالكون:

يعتبر التنوع الفلافونويدي من التسلسل المثبت على الجذع الأيضي المركزي Flavanone-Chalcone ويعبر عن كل تكوين نواة الشالكون نقطة انطلاق باقي الفلافونويدات الأخرى ويتم ذلك في البلاستيدات الخضراء، وينتج تسلسل بمواد متراكمة ذات تعقيد بنيوي يتغير بدلالة الأنزيمات القائمة على خدمته فهناك الأنزيمات المحفزة لتفاعلات التماكب. [22] والشكل (5) يوضح تشكل مختلف أنواع الفلافونويدات:



الشكل 5: الاصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونويدية

I.8.2. أهمية الفلافونويدات :

يتمثل الدور الأساسي للفلافونويدات عند النبات في تلوينها، كما تعمل على حمايتها من الأشعة فوق البنفسجية والحشرات [23].

تستطيع بعض الفلافونويدات مثل (الشالكون، إيزوفلافون، الفلافونول، الفلافون) تقليد الإستروجينات وتنشيطها.

الفلافونويدات وخاصة الإيزوفلافونات تستعمل كمبيدات للحشرات وكمضادات حيوية [13].

أما من الناحية البيولوجية فالفلافونويدات مضادة للالتهاب ومنشطة للدورة الدموية [24].

بعض الفلافونويدات مثل (الفلافونول، الفلافان) لها خاصية تثبيط الفطريات.

بعض الفلافونويدات لها فاعلية مضادة للفيروسات بما فيها فيروس HIV.

تفيد في التقليص من خطر انسداد الأوعية الدموية [25].

I.9.2. خصائص الفلافونويدات:

الفلافونويدات مركبات هيدروكسيلية ذات صفة حمضية ضعيفة ، تذوب في القواعد القوية مثل : هيدروكسيد الصوديوم. NaOH

بالنسبة للفلافونيدات التي تحتوي على عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو الفلافونيدات إلايتروزيدية تتميز بقطبية قوية فهي بذلك ذوابة في الماء خاصة الساخن.

الفلافونويدات قابلة للذوبان في الكحولات والأسيتون ومختلف المذيبات العضوية القطبية.

أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات والفلافونولات، التي تحتوي على مجموعة ميثوكسيلية مستبدلة، فهي قابلة للذوبان في المذيبات العضوية غير القطبية كالكلوروفورم والإيثر [19].

I.10.2. الخصائص البيولوجية للفلافونويدات:

الفلافونويدات عبارة عن مركبات قادرة على التقاط العديد من أنواع الجذور المؤكسدة مثل: أيونات فوق الأكسيد، الجذر الهيدروكسيلي، الجذر البيروكسيلي والأكسجين الأحادي.

المركبات التي تملك مجموعات هيدروكسيلية في $C_{3'}$ و C_3 ، $C_{4'}$ والرابطة الثنائية بين C_3و C_2 تمتاز بنشاطية كبيرة مضادة للأكسدة.

لقد زاد الاهتمام في السنوات الاخيرة بالمركبات الفلافونويدية حيث بينت نتائج أبحاث مكثفة في ميدان الطب والبيولوجيا فعاليتها المضادة: للسرطان، المضادة للحساسية، المضادة للفيروسات والبكتيريا، وكذلك للأكسدة. [26]

I.11.2. طرق إستخلاص المركبات الفلافونويدية:

بعد إختيار النبتة المراد دراستها وتجفيفها وطحنها، نبحث عن المركبات الفلافونويدية التي تحتويها بإستعمال إحدى طرق الإستخلاص المعروفة ومن أهم هذه الطرق:[27]

- الإستخلاص بواسطة الماء وحمض كلور الماء (HCl/H_2O) (طريقة لبروتون).
- الاستخلاص بواسطة الكحول والماء (ROH/H_2O) (طريقة هاربون).
- الاستخلاص بواسطة الأسيتون و الماء (CH_3COCH_3/H_2O).
- الاستخلاص بواسطة ثنائي كلورو الميثان CH_2Cl_2 (DCM) .