

ارتباط النحاس بأربعة أنواع من متعدد الفينولات ذات المنشأ الغذائي

ملك الجبة

قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة دمشق - سورية

تاريخ الإيداع 2008/12/02

قبل للنشر في 2009/08/04

الملخص

جرى في هذا البحث تعقيد شاردة النحاس الثنائية بالكورستين والروتين والكالاجين والأبيجين لتحديد ستيكومترية التفاعل. عينت مواقع ارتباط النحاس في المرتبطات الأربعة المدروسة وحسبت قيمة ثوابت التوازن. درست تأثيرات هذه المركبات المضادة للأكسدة. أجريت القياسات كلها في محلول الميثانول / ماء عند قيمة $\text{pH}=6.41$ وسجلت باستخدام المطيافية UV-Vis. واستنتج من طيف الامتصاص الضوئي لمرتبطات الفلافونويد ولمعقداتها مع النحاس ستيكومترية المعقدات المتشكلة ومواقع الارتباط وثوابت التوازن.

الكلمات المفتاحية: متعدد الفينولات، فلافونيد، نحاس (II)، مقياسية الامتصاص الضوئي.

Complexing of Copper (II) by Four Types of Polyphenols of Nutritional Origin

M. AL-Joubbeh

Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria

Received 02/12/2008

Accepted 04/08/2009

ABSTRACT

The complexing of Cu^{++} by quercetin ,rutin,galangin and apigenin was carried out in order to determine the stoichiometry of each reaction.The coordination sites of copper in the four ligands were located and the stability constants were calculated. The effects of these compounds as antioxidants were investigated.

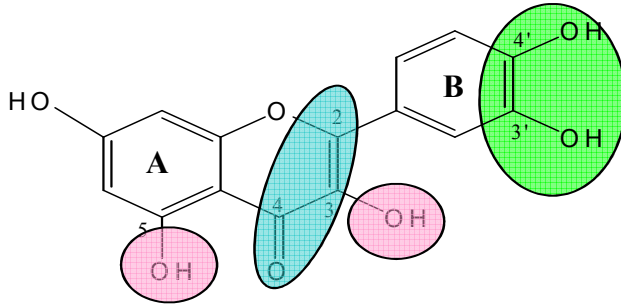
All measurement were carried out in methanol/water solution at pH=6.41 and recorded using UV-VIS spectrophotometer. The stoichiometry,the coordination sites and the stability constants of the flavonoids and copper complexes were deduced from their optical absorption spectra.

Key words: Polyphenol, Flavonoids, Copper(II), Spectrophotometer.

المقدمة

يُعدُّ متعدد الفينولات من مضادات الأكسدة الأكثر وفرة في نظامنا الغذائي [1-3] ويوجد في المملكة النباتية [4-7] ويقوم بدور عامل مرجع [8] مثل الفيتامينين C, E والكاروتينويدات Carotenoides التي تقوم بدور مضاد أكسدة حيث تملك القدرة على صيد الجذور الحرة الناتجة عن تأييض الأكسجين بالجسم وعن التلوث الناتج عن مسببات البيئية [9]، لذلك تستطيع مركبات متعدد الفينولات أن تقوم بتعزيز الدفاع ضد الجذور الحرة وحماية الأنسجة المكونة للجسم [10، 11] والتقاط الشوارد المعدنية مثل الحديد والنحاس الداخلة إلى الجسم نتيجة تلوث مياه الشرب بمخلفات الصرف الصحي والمبيدات الحشرية، المسببين في إنتاج الجذور الحرة مثل جذر سوبر الأكسيد الحر O_2^- وجذر الهيدروكسيل الحر OH [12].

من مضادات الأكسدة الطبيعية التي تُعدُّ من مركبات متعدد الفينولات وذات منشأ غذائي، مرتبطات الفلافونيد Flavonids وهي موجودة بكثرة في النباتات كالخضراوات والفواكه والكاكاو والشاي بنوعيه [13] والمسؤولة عن تلون الفواكه والخضراوات [14] تتكون مركبات الفلافونيد من حلقتين عطريتين بينهما حلقة تحتوي على أكسجين (شكل 1). أحصي حتى الآن أكثر من 6000 نوع منها حسب نوع النباتات، فصلت وحددت هويتها [15]. لذلك صنفت مركبات الفلافونيد في عدة مجموعات: فلافونول Flavonol، وفلافون Flavon، فلافانون Flavanon، وفلافانول Flavanol وانتوسيان Anthocyane وايزوفلافونويد Isoflavonoid، تختلف عن بعضها بالتجويف الفراغي الذي تحمله. تقوم هذه المركبات بدور مضاد أكسدة [16] ويعود ذلك إلى أن:



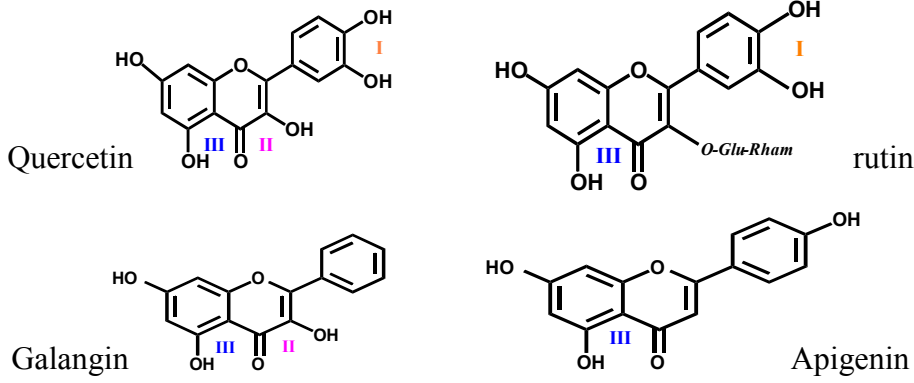
الشكل (1) المواقع البنوية المهمة لفعالية الفلافونيد كمضادات أكسدة

مجموعة 3', 4'-ثنائي هيدروكسي (يرمز لهذه المجموعة بالكاتيكول) ومجموعة الهيدروكسيل في الموضعين 3 و5، والرابطة الثنائية ما بين C_2 و C_3 المرتبطة مع الوظيفة السيتونية قادرة على التقاط الجذور الحرة وإعطاء بروتونات والكرونا.

إن فائدة مرتبطات الفلافونيد في المجال الطبي واسعة جداً، حيث تستخدم كمضادات أكسدة ومضادات التهاب ومضادات فيروسات وفي مكافحة الأورام الخبيثة [17]، كما أنها تمنع تأكسد الكوليسترول الضار في الشرايين وتعمل على خفض ضغط الدم، وتساعد على الوقاية من التسسم الغذائي لأنها تمنع نمو البكتريا الضارة وتساعد على نمو البكتريا النافعة في الأمعاء (مضادات للالتهاب والميكروبات والفيروسات) [14، 18]، ولها القدرة على التقاط الجذور الحرة [9، 19] والارتباط مع المعادن التي تقوم بدور وسيط في معادلة فانتون Fenton المنتجة للجذور الحرة [12]، وربما يعود ذلك إلى وجود مجموعة 3'، 4'-ثنائي هيدروكسي (الكاتيكول) في الحلقة العطرية (B) (الشكل 1).

السؤال الآن هل الوظائف الفينولية كلها في مرتبطات الفلافونيد لها دور في آلية ارتباط الشاردة؟ من المعروف سابقاً بأنه يمكن ارتباط مرتبطات الفلافونيد بشوارد معدنية مثل Fe^{+2} , Cd^{+2} , Al^{+3} , Zn^{++} [20] وبالأخص تعقيد الألمينوم لتحديد الوظيفة 0-dihydroxyphenyl و 0-quinone hydroxphenyl [21]. بينت طريقة أخرى أن مرتبطات الفلافونيد الموجودة بالغذاء تتفاعل مع آثار المعادن وتؤثر في مستوى البروتينات المشاركة في استقلاب النحاس والزنك في خلايا أمعاء الجسم [22]. **من أجل الإجابة عن السؤال السابق** أجريت دراسة تعقيد شاردة النحاس مع أربعة أنواع من مرتبطات الفلافونيد، إذ من المعروف بأن النحاس معدن انتقالي يملك درجتى أكسدة $1+$ و $2+$. يتراوح تركيزه ببلازما الدم ما بين 0.8 - 0.12 ppm [23]. وانتقال 90 % من النحاس بالجسم يحصل من خلال سيرولوبلازما Ceruloplasmine التي تستطيع أن ترتبط مع 7 ذرات من النحاس [24]. إن شاردة النحاس الثنائية هي عامل مهم من أجل عدد كبير من الأنزيمات ذات الدور الرئيسي في انتقال الالكترن والفعالية وإيصال الأكسجين [25] وتقوم بدور وسيط في معادلة هابر فايس Haber-Weiss [26]. يوجد النحاس في المكسرات والبقول والحبوب واللحوم (الكبد والكلى) [27]. تعدّ الزيادة في نسبة النحاس بالجسم خطرة والسبب يعود إلى قدرته على إنتاج الجذور الحرة مثل جذر هيدروكسيل $OH\cdot$ (معادلة فانتون Fenton) [28] والإصابة بمرض الزهايمر [29].

في هذا العمل درست أربعة أنواع من مرتبطات الفلافونيد: كورسنتين Quercetin رمز له (Q) وروتين Rutin رمز له (R) وكالانجين Galangin رمز له (G) من مجموعة فلافونول Flavonol توجد في البصل والتفاح والبروكلي والشاي الأخضر والأحمر وعصير العنب والتمتة [13c,30] ماعدا كالانجين الذي يوجد بشمع النحل [31] والأبيجين Apigenin رمز له (A) من مجموعة فلافون Flavon يوجد بالبابونج والكرفس [13c,32] (الشكل 2).



الشكل (2) مركبات الفلافونيد المدروسة

يحتوي الكورستين على ثلاثة مواقع ارتباط ثنائية السن في حين يحتوي الروتين وكالانجين على موقعي ارتباط أما الأبيجين فيحتوي على موقع ارتباط واحد (III الشكل 2).

يهدف هذا البحث إلى:

- 1- معرفة هل الوظائف الفينولية كلها لمرتبطات الفلافونيد المدروسة (الشكل 2) ذات دور في ارتباط النحاس بها.
 - 2- تحديد ستوكيومترية المعقدات المتشكلة من ارتباط مرتبطات الفلافونيد الأربعة السابقة مع النحاس وحساب قيمة ثابت تشكل المعقدات.
 - 3- حساب تركيز شاردة النحاس المتبقية بالمحلول بعد التعقيد $-\log[M^{++}] = pM$ في الشروط الفيزيولوجية.
- جرى تتبع التفاعلات الحاصلة ما بين مرتبطات الفلافونيد وشاردة النحاس بواسطة جهاز الامتصاص الضوئي UV-VIS.

الجزء العملي:

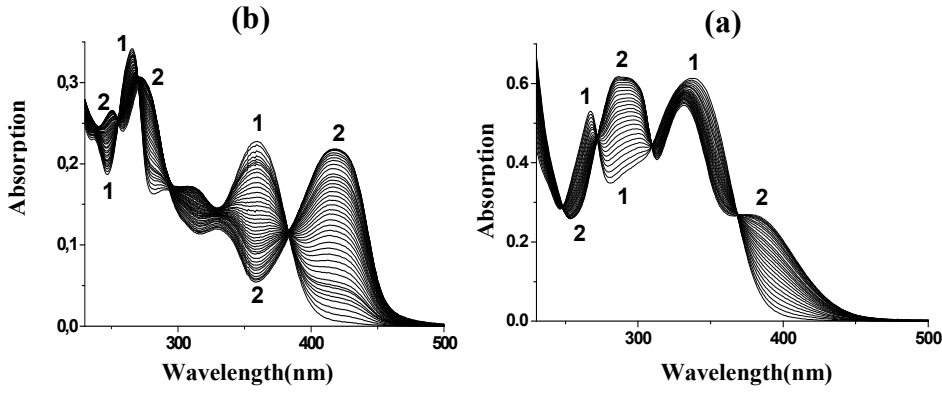
تحضير المحاليل: بسبب قلة انحلالية المرتبطات المدروسة (الفلافونيد) بالماء في الشروط الفيزيولوجية، استخدم مزيج من محلين (ماء/ميتانول: بنسبة وزنية 80/20) من أجل انحلالية المعقدات بشكل تام. حضرت محاليل الفلافونيد جميعها بماء ثنائي التقطير والميتانول (Merck, Uvasol) وكانت محمية من الضوء من أجل تجنب كل التفاعلات الضوئية المحتملة. استخدمت تراكيز مختلفة لمحاليل الفلافونيد حسب قيمة الامتصاصية

أو معامل الانطفاء extinction coefficient (ϵ). بالنسبة إلى شاردة النحاس الثنائية حضر محلول فوق كلورات النحاس (Fluka) بتركيز 5×10^{-2} M عند قيمة $\text{pH} = 2$ وذلك باستخدام حمض فوق كلوريك (HClO_4 , Fluka 70 %)، جعلت القوة الشاردية لكل المحاليل مساوية 0.1 M باستخدام فوق كلورات الصوديوم ($\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Fluka). عوبر محلول النحاس باستخدام (EDTA, Fluka) بتركيز 0.1 M بوجود خلات الامونيوم Fluka وملح أحادي الصوديوم و (Pyridyl-2-azo-4-resorcinol, Merck) كمشعر لوني [33]. ثبتت قيمة $\text{pH} = 6.41$ باستخدام محلول موقفي من 2-(N-Morpholino)- ethane sulfonic Acid (MES) 0,01 M, Fluka) بين قياس الامتصاصية بالنسبة إلى الزمن بأن تشكل المعقدات كان سريعاً وثابتاً مدة بضع من الساعات بالنسبة إلى جميع المرتبطات ماعدا الكورستين فقد لوحظ حدوث عملية أكسدة/إرجاع للمعقد خلال بضع دقائق لذلك ولتجنب ذلك [34]، حضر محلول طازج لكل مزيج من المرتبط والشاردة المعدنية في جو من الأرغون في خلية من الكوارتز (1cm) ومن ثم جرى قياس الامتصاصية بسرعة بجهاز الامتصاص الضوئي UV-VIS (Cary 300, Varian) في الدرجة 25°C . بالنسبة إلى معايرة بقية محاليل الفلافونيد جرت إضافة حجوم صغيرة متتالية من محلول النحاس إلى 2 مل من محلول المرتبط في خلية من الكوارتز 1cm (HELLMA) باستخدام سحاحة ميكروئية (Multipette Plus, EPPENDORF).

النتائج والمناقشة

بينت المعايرة المطيافية الضوئية عند $\text{pH} = 6.4$ بالنسبة إلى تعقيد النحاس مع ابيجين (A) وكالانجين (G) اللذين لا يحتويان على مجموعة كاتيكول (الشكل 3)، بأن إضافة محلول النحاس إلى محلول ابيجين (الشكل 3-a) سببت انخفاضاً بشدة العصابيتين للمرتبط وانزياحاً نحو الأزرق للعصابة I، وظهر عصابتين جديدتين عند 287 nm و 375 nm، ووجود أربع نقاط ايزوستيك Isosbestic عند 248nm و 272m و 309nm و 369 nm في أثناء المعايرة، الأمر الذي يعني تشكل معقد واحد.

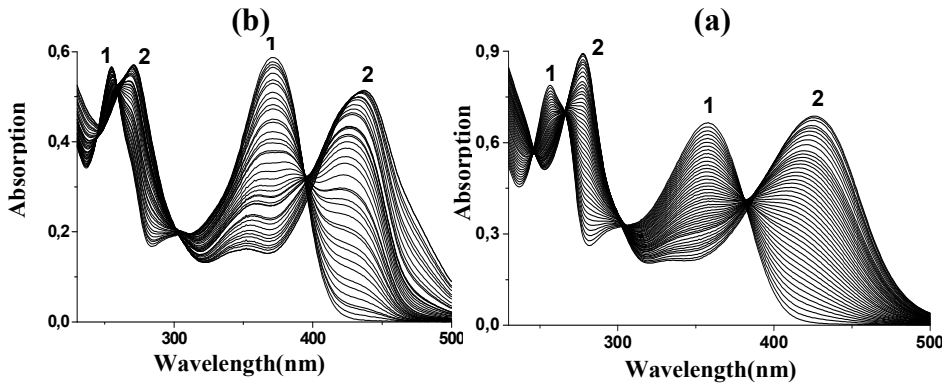
أدت إضافة محلول النحاس إلى محلول الكالانجين (الشكل 3-b) إلى انزياح نحو الأحمر للعصابيتين في حين بالنسبة إلى نقاط ايزوستيك Isosbestic فلم يلاحظ وجود جميع النقاط أثناء المعايرة، هذا يعني تشكل أكثر من معقد بالنسبة إلى مرتبط الكالانجين.



الشكل (3) معايرة الامتصاصية الضوئية عند $\text{pH} = 6.41$ لمعدقات النحاس مع مرتبط اليبجين

(a) ومرتبط الكالاجين (b) بمحل (ميتانول/ ماء بنسبة وزنية 20/80)
 $I = 0.01 \text{ M}$; $l = 1 \text{ cm}$; $T = (25.0 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$. a) $[A]_{\text{tot}} = 2.98 \times 10^{-5} \text{ M}$; Spectre (1) :
 $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [A]_{\text{tot}} = 0.0$; (2) : $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [A]_{\text{tot}} = 2.4$. b) $[G]_{\text{tot}} = 1.67 \times 10^{-5} \text{ M}$
 Spectre (1) : $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [G]_{\text{tot}} = 0.0$; (2) : $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [G]_{\text{tot}} = 2.15$.

لوحظ عند إضافة محلول النحاس إلى مرتبط الروتين (R) (الشكل a-4) انخفاض في قمة العصابة الموجودة عند طول موجة 257 nm و 78nm وظهور قمتين معا عند 278nm و 426nm. أمّا بالنسبة إلى مرتبط الكورستين (Q) فقد لوحظ اختفاء القمتين العائدتين للمرتبط عند 255 nm و 371nm وظهور قمتين جديدتين عند 268nm و 428nm ثم انزياح القمتين نحو الأحمر 271nm و 37nm (الشكل b-4).



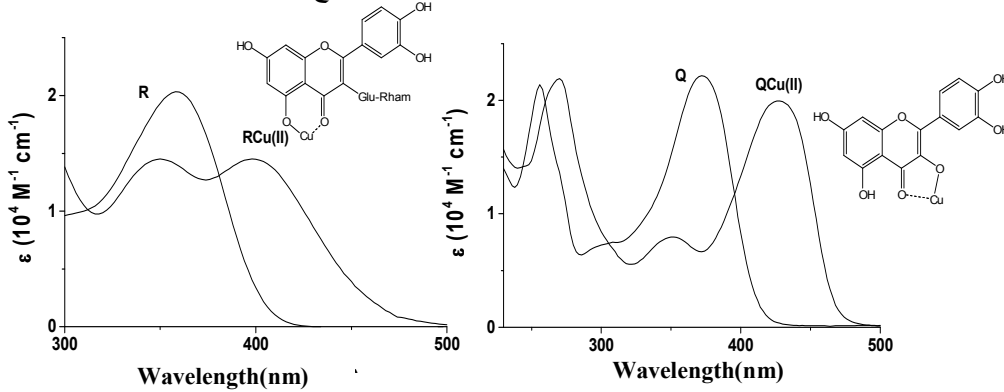
الشكل (4) معايرة الامتصاصية الضوئية عند $\text{pH} = 6.41$ لمعدقات النحاس مع مرتبط الروتين

(a) ومرتبط الكورستين (b) بمحل (ميتانول / ماء بنسبة وزنية 20/80)
 $I = 0.01 \text{ M}$; $l = 1 \text{ cm}$; $T = (25.0 \pm 0.2) ^\circ\text{C}$. a) $[R]_{\text{tot}} = 3.29 \times 10^{-5} \text{ M}$; Spectre (1) :
 $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [R]_{\text{tot}} = 0.0$; (2) : $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [R]_{\text{tot}} = 3.6$. b) $[Q]_{\text{tot}} = 2.68 \times 10^{-5} \text{ M}$;
 Spectre (1) : $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [Q]_{\text{tot}} = 0.0$; (2) : $[\text{Cu(II)}]_{\text{tot}} / [Q]_{\text{tot}} = 2.3$.

بينت خواص المطيافية الضوئية لمعقدات النحاس مع المرتبطات الأربعة (الجدول I) بأن تعقيد النحاس مع مجموعة فلافون وفلافونول سبب تغيرات هامة في المنحنيات الالكترونية للمرتبطات الأربعة، والأكثر وضوحاً هو انتقال العصابة I نحو الأحمر وأن الانتقال $\Delta\lambda$ للعصابة I للمعقدات تغيرت حسب موقع الارتباط (الجدول I). فمثلاً بالنسبة لمعقد الكالانجين والكورستين مع النحاس لوحظ أن انتقال العصابة بمقدار $\Delta\lambda = 57$ تقريباً نحو الأحمر، يشير إلى أن الارتباط حدث عند الموقع II. أما للروتين والابيجين فقد لوحظ ظهور عصابتين جديدتين إحداهما منزاحة نحو الأحمر دليل على أن الارتباط حصل عند الموقع III (الشكل 5). يفسر الاختلاف بين المعقدين السابقين بأن وجود مجموعة السكر في الموقع 3 بالنسبة إلى مرتبط الروتين أدى إلى عدم ارتباط النحاس بهذا الموقع. الجدول (1) قيمة طول الموجة الأعظمي للمرتبط وللمعقدات المتشكلة LCu والانتقال الملاحظ أثناء التعقيد وتحديد موقع الارتباط.

| Ligands | λ_{max} (nm) | | $\Delta\lambda$ | Coordination site |
|-----------|----------------------|---------------|-----------------|-------------------|
| | Ligands protonated | Complexes LCu | | |
| Galangin | 360 | 418 | + 58 | II |
| Quercétin | 371 | 428 | + 57 | II |
| Apigénin | 338 | 332 | - 6 | III |
| | | 382 | + 44 | |
| Rutin | 358 | 350 | - 8 | III |
| | | 398 | + 40 | |

إن الارتباط المفضل في جميع الحالات عندما يكون موضع الارتباط II و III مهينين هو الموقع II. وهذا يتوافق مع الدراسة الكمونية لمعقد الروتين مع النحاس [35] ودراسة مطيافية ما تحت الأحمر. و *NMR* لمعقد الكورستين مع النحاس [36].



الشكل (5) البنية التفصيلية والطيف الإلكتروني لمعقد LCu للمرتبط الكورستين والروتين. بمحل ميتانول/ماء، 80/ 20 وزناً.

ولدى معالجة النتائج التجريبية التي أجريت بالدراسة المطيافية الضوئية Spectrophotometry لارتباط النحاس بالمرتبطة الأربعة المدروسة باستخدام برنامج Specfit [37]، جرى تحديد ستيكيومتري للمعقدات المتشكلة من ارتباط النحاس بالمرتبطة الأربعة المدروسة (الجدول 2) وتحديد قيمة ثابت توازن المعقدات المتشكلة عند قيمة $pH = 6.41$ (بمحل ميثانول/ماء بنسبة وزنية 20/80) ودرجة حرارة $25^\circ C$ (الجدول 3).

يبين الجدول (2) النتائج التي نتجت عن هذه الدراسة ومعطيات تجريبية أخرى مدروسة بالطريقة الكمنونية وبالطريقة المطيافية [35,38,39,40]. نلاحظ من الجدول (2) أنّ المرتبطة التي لا تحتوي إلا على موقع ارتباط ثنائي السن واحد مثل الأبيجين والكالانجين تشكل معقدتين أمثالهما 1/1 و 1/2 (Cu/L).

الجدول (2) ستيكومتري للمعقدات المتشكلة من النحاس والمرتبطات الأربعة المدروسة.

| Ligands | Stoichiometry (Cu / L) | Methods |
|-----------|--|---|
| Apigénin | (1 / 1) ; (1 / 2) (1 / 1) ; (1 / 2) | spectrophotometry, ^a potentiometry ³⁸ |
| Galangin | (1 / 1) ; (1 / 2) | spectrophotometry ^a |
| Rutin | (1 / 1) ; (1 / 2), (2 / 1) (1 / 1) ; (1 / 2) (1 / 1) | Spectrophotometry ^a Potentiometry ^{35,39} Spectrophotometry ⁴⁰ |
| Quercetin | (1 / 1) ; (1 / 2), (2 / 1) (1 / 1) ; (1 / 2) (1 / 1) ; (2 / 1) | spectrophotometry ^a potentiometry ³⁹ spectrophotometry ⁴⁰ |

. a : تمثل نتائج هذا البحث

في حين بالنسبة إلى المرتبطين اللذين يحويان على موقعي ارتباط يشكّلان فضلاً عن المعقدتين السابقتين معقدات ثنائي الذرة المعدنية 2/1 (Cu/L) وهذا متوافق مع الدراسة [40].

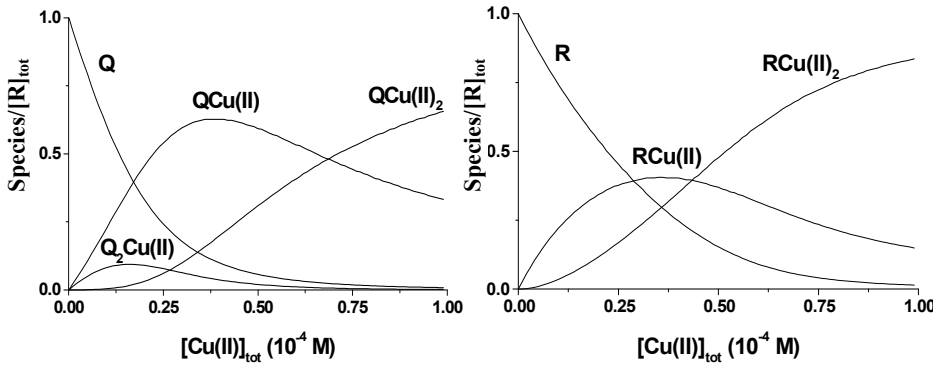
يبين الجدول (3) قيم لوغارتيم ثابت توازن المعقدات المتشكلة من ارتباط النحاس بمرتبطات الفلافونيد الأربعة. نلاحظ من الجدول أنّ ثوابت ارتباط شاردة النحاس الأولى بمرتبط الكورستين وغالانجين أكبر من بقية المرتبطات، ويعود ذلك إلى امتلاك المرتبطين موقع الارتباط نفسه α هيدروكسي كربونيل. لوحظ من مقارنة نتائج ثوابت ارتباط شاردة النحاس الثانية بالمعقد الأول المتشكل Cu/L أنّ شاردة النحاس الثانية قد ارتبطت بمرتبط الكورستين والروتين بعكس بقية المرتبطات، ويعود ذلك لوجود مجموعة الكاتيكول بالمرتبطين المذكورين.

باستخدام قيم ثوابت توازن المعقدات المتشكلة التي نتجت بالجدول (3)، رسمت منحنيات التوزيع للمعقدات المتشكلة بالنسبة إلى المرتبطات (برنامج HYSS) [41] (الشكل 6).

الجدول (3) قيم ثوابت التشكل المتتالية لمعقدات الفلافونويد المدروسة مع النحاس عند قيمة $\text{pH} = 6.41$ ، المحل (ميتانول/ ماء 20/80 وزناً) $T = (25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$.

| Equilibrium at p H] 6.41 | $\log K_{\text{cond}} \pm 3\sigma$ |
|--|------------------------------------|
| $A + \text{Cu(II)} \xrightleftharpoons{K_{\text{cond}}} \text{ACu(II)}$ | 5.2 ± 0.1 |
| $G + \text{Cu(II)} \xrightleftharpoons{K_{\text{cond},1}} \text{GCu(II)}$ | 6.0 ± 0.2 |
| $\text{GCu(II)} + G \xrightleftharpoons{K_{\text{cond},2}} \text{G}_2\text{Cu(II)}$ | 4.3 ± 0.3 |
| $R + \text{Cu(II)} \xrightleftharpoons{K_{\text{cond},1}} \text{RCu(II)}$ | 5.4 ± 0.1 |
| $\text{RCu(II)} + \text{Cu(II)} \xrightleftharpoons{K_{\text{cond},2}} \text{RCu(II)}_2$ | 5.1 ± 0.1 |
| $Q + \text{Cu(II)} \xrightleftharpoons{K_{\text{cond},1}} \text{QCu(II)}$ | 5.9 ± 0.3 |
| $\text{QCu(II)} + \text{Cu(II)} \xrightleftharpoons{K_{\text{cond},2}} \text{QCu(II)}_2$ | 4.6 ± 0.5 |
| $\text{QCu(II)} + Q \xrightleftharpoons{K_{\text{cond},3}} \text{Q}_2\text{Cu(II)}$ | 4.3 ± 0.7 |

وتبين أن المعقد L/Cu(1/1) بالنسبة إلى المرتبطات الأربعة يتشكل بنسبة عظمى عندما يكون تركيز النحاس $0.75 \times 10^{-4} \text{ M}$ ، في حين بالنسبة إلى المعقد L/Cu (1/2) شكل (6) نلاحظ أن نسبة تشكل المعقد 1/2 (L/Cu) تزداد كلما ازداد تركيز محلول النحاس وتصبح أكبر ما يمكن عندما يصبح تركيز النحاس 10^{-4} M أي أكبر بثلاث مرات من تركيز المرتبط.



الشكل (6) منحنيات التوزيع للمعقدات المتشكلة من ارتباط النحاس مع الروتين والكورستين بمحل (ميتانول/ ماء، بنسبة وزنية 20/80).

a) $[R]_{tot} = 3.0 \times 10^{-5} M$; b) $[Q]_{tot} = 3.0 \times 10^{-5} M$.

لمقارنة قدرة المرتبطات الأربعة المدروسة مع مرتبطات أخرى بيولوجية قادرة على الارتباط بشاردة النحاس أيضاً. حسبت قيمة $pM = -\log [Cu^{+2}]_{libre}$ بالنسبة إلى المعقدات الأربعة المدروسة عند قيمة $pH = 7.4$ ، $I=0.01$ والمحل (ميتانول/ ماء 20 /80 وزناً) هذا المفهوم عرّفه Raymond [42] باستخدام برنامج HYSS [41] (الجدول 4).

الجدول (4) قيم pM لشاردة النحاس المتبقية بالمحلول بعد تشكل معقدات نحاس مع المرتبطات الأربعة المدروسة والمرتبطات الأخرى عند $pH = 7.4$

| Ligands | PM |
|--------------|---------------------|
| Apigenin | 7.50 |
| Galangin | 9.05 |
| Rutin | 7.80 |
| Quercetin | 9.07 |
| histidin | 9.63 ⁴⁵ |
| Penicillamin | 13.89 ⁴⁶ |

لوحظ من الجدول (4) أنّ قيمة pM للمرتبطتين كورستين وغالانجين متشابهتان. ويعود ذلك كما ذكر سابقاً إلى أنّ الارتباط حصل بالموقع α هيدروكسي كربونيل الموضع الأكثر ملاءمة للارتباط بالشروط الفيزيولوجية، وهذا يمكن تفسيره بصغر قيمة ثابت البرتة للموقع α هيدروكسي كربونيل [43,44]. بمقارنة النتائج التي درست بالنسبة إلى أربعة أنواع من الفلافونيد مع مرتبطات بيولوجية أخرى مثل مرتبط *Histidin* [45] حمض أميني يمثل 3% من الأحماض الأمينية للبروتين في الجسم والمسؤول عن التقاط النحاس بالبلازما الدم ($pM= 9.63$) ومرتبط *Penicillamin* [46] المستخدم في معالجة

مرض *Wilson* [47] بالنقاط الزيادة من النحاس ($pM=13.89$)، تبين أنّ قدرة المرتبطين المدروسين على الارتباط بالنحاس أكبر من المرتبطات الأربعة المدروسة (الفلافونيد) ولكن في الوقت نفسه تكون هذه القدرة لأبأس بها ولاسيما في معالجة مرض الزهايمر [48] الذي يحتاج إلى مرتبطات مخليبية (ثنائية السن) أقل فعالية لانتقاط الزيادة من النحاس لأن ذلك لن يؤدي إلى إنقاص كبير من نسبة النحاس في الجسم.

الخاتمة

ليست كل الوظائف الفينولية لمرتبطات الفلافونيد المدروسة لها دور في ارتباط النحاس حيث تبين بأن موضع الارتباط II هو الأكثر ملاءمة للارتباط بالشروط الفيزيولوجية يليه الموضع I .

تشكل المرتبطات التي تحتوي على ثلاثة مواقع ارتباط ثنائية السن معقدات (1/1)، (2/1)، (1/2).

إنّ ثابت تشكل معقد (1/1) الذي تشكل عند موضع ارتباط II بالنسبة إلى مرتبطين الكورستين والكالانجين متشابهان. وكذلك بالنسبة إلى معقد (2/1) أي (Cu/L) المتشكل عند موضع I للمرتبطين الروتين والكورستين.

إن قيمتي pM لمحلولي نحاس كورستين ونحاس كالانجين متشابهتان.

تبين هذه النتائج أنّ ارتباط النحاس بالمرتبطات الأربعة المدروسة لها دور في إنقاص جذر الهيدروكسيل الحر الناتج عن معادلة هابر فايس Haber-Weiss [26] بسبب أنّ النحاس يقوم بدور وسيط لهذه المعادلة. وفي معالجة مرض الزهايمر الذي يتطلب خفض تركيز النحاس في الجسم. لذلك ينصح بتناول أغذية تحتوي على المرتبطات المدروسة مثل الخضار والفواكه ولاسيما التفاح والعنب والبصل والثوم والشاي الأخضر والأحمر .

REFERENCES

- (1) M. P. Kahkonen, A. I. Hopia, H. J. Vuorela, J. P. Rauha, K. Pihlaja, T. S. Kujala, M. Heinonen, *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 3954.
- (2) A. Scalbert, G. Williamson, *J. Nutr.*, 2000, 130: 2073S.
- (3) H. Sakakibara, Y. Honda, S. Nakagawa, H. Ashida, K. Kanazawa, *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51, 571.
- (4) B. Mompon, B. Lemaire, P. Mengen, M.,; Surbled ; in *Polyphenols 96*; J. Vercauteren, C. Chèze, J. Triaud, Eds. Inra : Paris, 1998; 31.
- (5) L. Bravo, *Nutr. Rev.* 1998, 56, 317.
- (6) K.T. Chung, T.Y. Wong, C. I. Wei, Y. W. Huang, Y. Lin, *Food Sci. Nutr.*, 1998, 38, 421.
- (7) J. B. Harborne, C. A. Williams, *Phytochemistry*, 2000, 55, 481.
- (8) F. A. M. Silva, F. Borges, C. Guimaraes, J. L. F. C. Lima, *J. Agr. Food Chem.*, 2000, 48, 2122.
- (9) (a) World Health Organisation, in *World Health Statistics Annual*, Geneva, 1989.
(b) S. Renaud, *J.C.Ruf, Clin.Chim.Acta* 1996, 246,77.
- (10) C.A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganga, *Free Radic. Biol. Med.*, 1996, 20, 933-956.
- (11) K.D. Croft, *Ann. NY Acad. Sci.*, 1998, 854 , 435-442.
- (12)(a) G. Jungbluth, I. Rühling, W. Ternes, *J. Chem. soc. Perkin. Trans*, 2000, 2, 1946.
(b) J. E. Brown, H. Khodr, R. C. Hider, C. A. Rice-Evans, *Biochem. j*, 1998, 1173.
- (13) (a) M. G. L. Hertog, P. C. H. Hollman, M. B. Katan, *J. Agric. Food Chem.*, 1992, 40, 2379.
(b) M. G. L. Hertog, P. C. H. Hollman, B. van de Putte, *J. Agric. Food Chem.*, 1993, 41, 1242.
(c) C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, L. Jiménez, *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 79, 727.
- (14) (a) M. N. Peyrat-Maillard, S. Bonnely, C. Berset, *Talanta*, 2000, 51, 709.
(b) A. Sala, M. D. Recio, R. M. Giner, S. Manez, H. Tournier, G. Schinella, J. L. Rios, *J. Pharm. Pharmacol.*, 2002, 54, 365.
- (15) J. B. Harborne, C.A. Williams, *Phytochemistry*, 2000, 55, 481-.
- (16) (a) Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J. J. *Nutr. Biochem.* 2002, 13, 572.
(b) Amic, D.; Davidovic-Amic, D.; Beslo, D.; Trinajstic, N. *Croat. Chem. Acta* 2003, 76(1), 55.
(c) Manach, C.; Regeat, F.; Texier, O.; Agullo, G.; Demigne, C.; Remesy, C. *Nutr. Res.* 1996, 16(3), 517.
- (17) (a) M. Gerber, M.C. Boutron-Ruault, S. Hercberg, E. Riboli, A. Scalbert, M.H Siess; *Bulletin du Cancer*, 2002, 89, 293..
(b) L. A. Bazzano, J. He, L. G. Ogden, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, 76, 93.
(c) K. J. Joshipura, F. B. Hu, J. E. Manson ; *Ann. Intern. Med.*, 2001, 134, 1106.
(d) S. Liu, I. M. Lee, U. Ajani, *Int. J. Epidemiol.*, 2001, 30, 130.
- (18) (a) R. W. Owen, A. Giacosa, W. E. Hull, R. Haubner, B. Spiegelhalder, H. Bartsch, *Eur. J. Cancer*, 2000, 36, 1235.

- (b) O. Y. Zhu, Y. Huang, D. Tsang, Z.-Y. Chen, J. Agric. Food Chem. 1999, 47, 2020.
- (c) A. Howard, M. Chopra, D. I. Thurnham, J. J. Strain, B. Fuhrman, M. Aviram, Med. Hypotheses 2002, 59(1), 101.
- (19) (a) O. I. Aruoma, Mutat. Res., 2003, 523, 9
- (b) Y. Z. Fang, S. Yang, G. Wu, Nutrition, 2002, 18, 872.
- (c) O. Dangles, C. Dufour, G. Fargeix, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 2000, 1215.
- (d) H.S. Black, Frontiers in Bioscience, 2002, 7, d1044.
- (20) (a) S. M. Lunte, K. D. Blankenship, S. A. Read, Analyst, 1988, 113, 99.
- (b) H. P. Hendrickson, A. D. Kaufman, C. L. Lunte, J. Pharm. Biomed. Anal. 1994, 3, 325.
- (c) C. A. Rice-Evens, N. J. Miller, G. Pananga, Free. Radic. Biol. Med, 1996, 20, 933.
- (d) M. E. Cuvelier, H. Richard, C. Berset, Biosci. Biotechnol. Biochem. 1992, 56, 324.
- (e) M. D. Stalling, M. M. Morrison, D. T. Sawyer, Inorg. Chem, 1981, 20, 2655.
- (f) M. E. Bodini, M. A. Del Valle, R. Tapia, F. Leighton, P. Berrios, Polyhedron, 200, 20, 1005.
- (g) M. E. Bodini, G. Copia, R. Tapia, F. Leighton, I. Herrera, Polyhedron, 1999, 18, 2233.
- (21) (a) H. Deng, G. J. Van Berkel, J. Mass Spectrom, 1998, 33, 1080.
- (b) M. McDonald, I. Mila, A. Scalbert, J. Agric. Food Chem, 1996, 44, 599.
- (c) A. Pizzi, P. Tekele, J. Appl. Polym. Sci, 1995, 56, 633.
- (d) N. B. Melnikova, I. D. Ioffe, L. A. Tsareva, Chem. Nat. Comp., 2002, 38, 33.
- (e) V. Kuntic, Z. Radovic, V. Vukojevic, Monatshefte Für Chem. 2000, 131, 769.
- (22) S. M. Kuo, P. S. Leavitt, C. P. Lin, Biological Trace Element Res., 1998, 62, 135.
- (23) H. Tapiero, D. M. Townsend, K. D. Tew, Biomed. Pharmacother. 2003, 57, 386.
- (24) I. Zailseva, V. Zailseva, G. Card, J. Biol inorg. Chem., 1996, 1, 15.
- (25) R. R. Crichton, J.-L. Pierre, BioMetals 2001, 14, 99.
- (26) F. Haber, J. Weiss, Proc. R. Soc. London, Ser. A. 1934, 147, 332.
- (27) S. J. Fairweather-Tait, Eur. J. Clin. Nutr. 1997, 51, S24.
- (28) (a) J.-L. Pierre, Fontecave, M. Biometals, 1999, 12, 195.
- (b) M. Fontecave, J.-L. Pierre, C. R. Acad. Sci. Paris, Chimie / Chemistry. 2001, 4, 531.
- (c) S. Goldstein, D. Meyerstein, Acc. Chem. Res. 1999, 32, 547.
- (29) T. Kowalik-Jankowska, M. Ruta-Dolejsz, K. Wisniewska, L. Lankiewicz, H. Kozłowski, Environ. Health Perspect. 2002, 110, 869.
- (30) L. C. Euclides, F.-F. Osvaldo, C. F. Lucio, L. F. Maria de Lourdes, M. D. Carmen A. S. Jose, J. Food Composition. Anal., 2007, 20, 553.
- (31) (a) A. Scalbert, C. Morand, C. Manach, C. Rémésy, Biomed. Pharmacother. 2002, 56, 276.
- (b) N. Volpi, Electrophoresis 2004, 25, 1872.
- (32) (a) U. J. Ustesen, P. Knuthsen, Food Chem. 2001, 73, 245.

- (b) R. Avallone, P. Zanolì, G. Puia, M. Kleinschnitz, P. Schreier, M. Baraldi, *Biochem. Pharmacol.* 2000, 59, 1387.
- (33) Méthodes d'analyses complexométriques avec les Titriplex®; Ed. Merck, Darmstadt, 1990, 116 p.
- (34) (a) M. Utaka, A. Takeda, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1985, 1824.
(b) E. Balogh-Hergovich, J. Kaizer, G. Speier, G. Argay, L. Parkanyi, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1999, 3847.
- (35) M. Dyba, S. Solinas, N. Culeddu, M.-L. Ganadu, H. Kozłowski, *Polish, J. Chem.* 1999, 73, 873.
- (36) (a) J. Zhou, L. Wand, J. Wang, N. Tang, *Transit. Met. Chem.* 2001, 26, 57.
(b) R.F.V. De Souza, E.M. Sussuchi, W.F. De Giovani, *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* 2003, 33(7), 1125.
(c) S.-J. Lau, T.P.A. Kruck, B. Barkar, *J. Biol. Chem.* 1974, 249(18), 5878.
- (37) (a) H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer, A.D. Zuberbühler, *Talanta* 1985, 32, 95.
(b) H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer, A.D. Zuberbühler, *Talanta* 1985, 32, 257.
(c) D.W. Marquardt, *J. Soc. Indust. Appl. Math.* 1963, 11, 431.
- (38) M. Thompson, G.R. Williams, G.E.P. Elliot, *Anal. Chim. Acta* 1976, 85, 375.
- (39) S.V. Jovanovic, S. Steenken, M. Tosic, B. Marjanovic, M.G. Simic, *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 4846.
- (40) K. Takamura, M. Sakamoto, *Chem. Pharm. Bull.* 1978, 26(8), 2291-2297.
- (41) L. Alderighi, P. Gans., A. Lenco., D. Peters, A. Sabatini and A. Vacca. *Hyperquad Simulation and Speciation (HYSS)* 1999, 184, 311
- (42) W.R. Harris, C.J. Carrano, K.N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, 2213.
- (43) N. Sauerwald, M. Schwenk, J. Polster, E. Bengsch, *Z. Naturforsch.* 1998, 53b, 315.
- (44) H. Milan, *Doctorat*, 2004 University Louis-Pasteur.
- (45) Z.M. Anwar, H.A. Azab, *J. Chem. Eng. Data* 1999, 44(6), 1151-.
- (46) G.R. Lenz, A.E. Martell, *Biochemistry* 1964, 3(6)745.
- (47) B. Sarkar, *Chem. Rev.* 1999, 99, 2535.
- (48) (a) C.D. Syme, R.C. Nadal, S.E.J. Rigby, J.H. Viles, *J. Biol. Chem.* 2004, 279(18), 18169.
(b) R.A. Cherny, J.T. Legg, C.A. McLean, D.P. Fairlie, X. Huang, C.S. Atwood, K. Beyreuther, R.E. Tanzi, C.L. Masters, A.I. Bush, *J. Biol. Chem.* 1999, 274(33), 23223.