بسم الله وبعد: تم الرفع بحمد الله من طرف

بن عيسى قرمزلي متخرج من جامعة المدية

تخصص: إعلام آلي

التخصص الثاني: حفظ التراث بنفس الجامعة

1983/08/28 بالمدية – الجزائر-

الجنسية الجزائر وليس لي وطن فأنا مسلم

للتواصل **وطلب المذكرات** مجانا وبدون مقابل

هاتف : +213(0)771.08.79.69

بريدي إلكتروني: benaissa.inf@gmail.com

MSN: benaissa.inf@hotmail.com

فيس بوك: http://www.facebook.com/benaissa.inf

سكايب:benaissa20082

دعوة صالحة بظهر الغيب فربما يصلك ملفي وأنا في التراب ....

أن يعفو عنا وأن يدخلنا جنته وأن يرزقنا الإخلاص في القول والعمل..

ملاحظة: أي طالب أو باحث يضع نسخ لصق لكامل المذكرة ثم يزعم أن المذكرة له فحسبنا الله وسوف يسأل يوم القيامة وما هدفنا إلا النفع حيث كان لا أن نتبنى أعمال الغير والله الموفق وهو نعم المولى ونعم الوكيل....

لا تنسوا الصلاة على النبي صلى الله عليه وسلم

صل على النبي – سبحان الله وبحمدك سبحان الله العظيم-

بن عيسى قرمزلي 2013

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـــــة منتـــــوري قسنطينـــــة

كلية العلوم الدقيقة قسم الكيمياء
رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماجستير
في الكيمياء العضوية
شعبة المواد العلاجية

تحت عنوان

فصل وتحديد الفلافونيدات لنبات
Tamarix gallica
(Tamaricaceae)

من طرف : لفحل مصطفى

لجنة المناقشة:

د. مجروبي كمال	أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة	رئيسـا
د. عكال صالـــح	أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة	مقـــررا
د. بلعطار عبد الحميد	أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا
د. بن كينيوار رشيد	أستاذ محاضر بجامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا

2008

الإهداء

الحمد لله الذي أعاننا ووفقنا على انجاز هذه الرسالة

أتقدم بإهداء هذا العمل إلى الوالدين الكريمين الذين كان لهما الفضل الكبير في دعمي لانجاز هذه الرسالة . كما اهدي عملي هذا إلى أخواتي الغاليات : صباح ، وهيبة وحنان اللواتي كن دائما الركيزة التي ارتكز عليها و السند الدائم لي إلى خالي العزيز عبد الوهاب الذي كان بمثابة الأب الذي وقف معي وساندني في كل المراحل الدراسية وفي شتى مسائل الحياة .

إلى وليم، رشيد، مسعود و نبيل الذين كانوا بمثابة الإخوة.

إلى الأصدقاء الأعزاء : عبد الرزاق، صاليح، عبد الحميد .

إلى كل الزملاء والزميلات وخصوصا دفعة ليسانس 2003 و دفعة 2005 ماجستير .

تشكرات

أتقدم بجزيل الشكر والامتنان إلى الأستاذ المشرف عكال صالح على نصائحه ومساعدته لي خلال كل مراحل انجاز هذا البحث الذي أنجز بمخبر كيمياء المنتجات الطبيعية والتحاليل الفيزيوكميائية والبيولوجية – قسم الكيمياء – جامعة منتوري قسنطيينة .

كما أتوجه بشكري كذلك إلى الأستاذ مجروبي كمال على قبوله رئاسة لجنة المناقشة وعلى نصائحه القيمة . وأوجه خالص شكري إلى الأستاذ عبد الحميد بلعطار أستاذ بجامعة قسنطينة، والأستاذ رشيد بن كينيوار أستاذ محاضر بجامعة قسنطينة على قبولهم المشاركة في عضوية لجنة المناقشة .

كما أتقدم بجزيل الشكر إلى الأساتذة الموجودين في المخبر وعلى رأسهم جري لخضر، سهيلة، نجاة وسليمة و مونية على نصائحهم القيمة .كما أتقدم بالشكر إلى الأستاذ بن احمد رياض الذي قام بقطف النبتة المدروسة .

كما أتقدم بشكري كذلك إلى الباحثتين في المخبر راضية ونجاح

الفهرس :

المقدمة..... 1

المراجع 3

الفصل الأول : دراسة الجنس *Tamarix* .

1-مقدمة.....4

2 الجنس *Tamarix* .....4.

1-2 عموميات.....4

2-2 الوصف النباتي.....4

3-2 الاستعمالات الطبية.....5

4-2 الاستعمالات الأخرى.....5

3- الدراسة الكيميائية للجنس *Tamarix* 6

1-3 الفلافونيدات 6

2-3 المركبات الاخرى.....9

المراجع.....10

الفصل الثاني : الفلافونيدات.

1- مقدمة.....12

2- تعريف الفلافونيدات 12

3-تصنيف الفلافونيدات 12

4- الاصطناع الحيوي للفلافونيدات 14

5- خواص الفلافونيدات 18

6- استخلاص الفلافونيدات 18

7- الكشف عن الفلافونيدات 19

8- فصل وتنقية الفلافونيدات 19

1-8 كروماتوغرافيا الورق 19

2-8 كروماتوغرافيا العمود 20

9- طرق تحضير الفلافونيدات 20

10- دور الفلافونيدات عند النبات 21

11- الخواص الطبية للفلافونيدات 22

المراجع 23

الفصل الثالث : الدراسة البنيوية للفلافونيدات .

1- الخواص الكروماتوغرافية 25

1-1 اللون الاستشعاعي.....25

2-1 ثابت الانحباس 26

2- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.....26

3- مطيافية الكتلة 31

1-3 تقنية القذف الالكتروني 31

2-3 تقنية القذف السريع بالذرات 31

3-3 تقنية الالكتروسبراي 31

4- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي 34

المراجع.....37

الفصل الرابع : الدراسة الكيميائية لنبات *Tamarix gallica*.

1- المادة النباتية 38

2- الوصف النباتي 38

3- الوضع ضمن التصنيف النباتي 39

4- طريقة الاستخلاص 40

5- عملية الفصل والتنقية 43

1-5 فصل مركبات المستخلصين باستعمال العمود الكروماتوغرافي 47

الفصل الخامس : النتائج والمناقشة

1- التحليل البنيوي للمركب P.25.....50

1- التحليل البنيوي للمركب P.27.....57

1- التحليل البنيوي للمركب P.AC.....64

الخاتمة..... 70

مقدمة عامة

تحتوي الكائنات الحية من نبات و عضويات بحرية ، على العديد من مركبات الايض الثانوي ، ذات تراكيب وصيغ كميائية مختلفة .حيث أثبتت الأبحاث المجرات انه من بين 400000 نوع نباتي [1] درست نسبة 15- 25 %من النبات دراسة فيتوكميائية و فارماكولوجية[2]. واقل من 10%من العضويات البحرية[3].

لقد عرف حاليا أكثر من 100000مركب من مركبات الايض الثانوي ، وهي مقسمة إلى أقسام رئيسية [2,4]:

- التربينات.
- المركبات الفينولية .
- القلويدات .

تتواجد مركبات الايض الثانوي في كل أجزاء النبات من أوراق و سيقان وجذور و أزهار ، لكن توزعها يكونحسب الوظيفة التي تلعبها. إن المادة النباتية المستخلصة من النبات تتواجد بتراكيز ضعيفة يمكنها أن تلعب وظائفهامة، فهي تلعب أدوارا دفاعية ضد الحشرات،البكتيريا و الفطريات، كما تساعده على النمو وتحسين المبادلات مع الوسط الخارجي [5] .

تتميز الجزائربغطائهاالنباتي الكثيف حيث تقدر الأصناف النباتية ب 3000 صنف نباتي موزع على عائلات نباتية مختلفة و تقدر نسبة الأصناف المحلية ب 15% [6].

وبحثنا هذا يندرج ضمن الدراسة الفيتوكميائية لنبات *Tamarix gallica* أو ما يعرف نبات الطرفاء لدى العامة وهو يعتبر من الأصناف النباتية المنتشرة في الجزائر . وقد قسم هذا العمل المنجز في

مخبر الدراسات الفيتوكميائية و التحاليل الفيزياؤكميائيةوالبيولوجية بجامعة قسنطينة إلى خمس فصول موزعة كما يلي :

- الفصل الأول : نتطرق فيه إلى دراسة الجنس *Tamarix* دراسة فيتوكميائية .
- الفصل الثاني : نتطرق فيه الى دراسة المكبات الفلافونيدية .
- الفصل الثالث : نتطرق فيه إلى الدراسة البنيوية للفلافونيدات .
- الفصل الرابع: الدراسة الكيمائية لنبات ***Tamarix gallica*** .
- الفصل الخامس : النتائج المتحصل عليها .

Bibliographie:

[1] Patrice Waridel., 2003 .Thèse de Doctorat, Université de Lausane.

[2] Pichersky, E., Gang, D.R., 2000.Tips 05 ,439-445.

[3] Gragg, G.M., Newwman, D.J., 2001.Pharmaceutical Biology, 39,8-17.

[4] Dave Oomah,B., 2003. Bulletin IBP,numéro 1,Canada.

[5] Alain-Michel Boudet., Bruno David.,2003. Hgrbiosiences 31, 1-6.

[6] Ozenda, P., 1977.Flore du Sahara, Ed.CNRS, Paris,France,250-259.

الفصل الأول

دراسة الجنس *Tamarix*

مقدمة [1] :

تتكون العائلة Tamaricaceae من 4 أجناس تضم أكثر من 110 نوع :

- ***Tamarix*** : يتكون من 80 نوعا ينتشر في منطقة البحر المتوسط إلى غاية الصين .

- ***Myricaria*** : يتكون من 10 أنواع، يكثر تواجده في اروبا الغربية، و يمتد إلى غاية وسط آسيا، إضافة إلى الصين

- ***Hololachna*** : يتكون من نوعين، ينتشر في وسط آسيا، وشرقها .

- ***Reaumaria*** : يتكون من 15 نوعا، يتواجد في منطقة البحر المتوسط إضافة إلى وسط آسيا

2- الجنس *Tamarix*.

2-1عموميات :

يعتبر الكثيرين إن أصل الكلمة (Tamarix) ينسب إلى نهر Tamariz في اسبانيا، كما يعتبر آخرون أن أصل الكلمة مشتق من اسم نهر Tamaro المتواجد في النبال، كما يرجح البعض أن الكلمة مشتقة من الاسم يهودي Tamaruk [2] . عرف هذا الجنس منذ القدم من طرف اليونانيين، حيث ذكر في بعض مؤلفاتهم نوعين من هذا الجنس (***T.gallica***, ***T.* orienalis**) كما عرف هذا الجنس كذلك قديما عند العرب حيث ذ كر نوع الأثل (***T.artuculata*)** في سورة سبا في القران الكريم [3] .

2-2 الوصف النباتي للجنس *Tamarix*

إن نباتات هذا الجنس، عبارة عن شجيرات صغيرة متفرعة عند القاعدة ذات أغصان كثيرة، و أوراق كثيفة دائمة الاخضرار حرشفية الشكل، أما الأزهار فتتميز بصغر حجمها وهي ذات ألوان مخلفة إما وردية أو بيضاء، أما الثمار فهي عبارة عن عليبات صغيرة تحوي بداخلها البذور التي بدورها تكون مغطاة بشعيرات دقيقة، ينمو هذا الجنس في المناطق الجافة، وفي المناطق المالحة [4,5,6,7] .

2 – 3 الاستعمالات الطبية للجنس *Tamarix*

استعملت نباتات الجنس Tamarix منذ القدم في الطب الشعبي نظرا لما يتميز به من خواص، حيث استعملها الأفغان القدامى كمادة لعلاج بعض التقرحات الجلدية، كما استعملت كذلك لتضميد الجراح، و استعملت كذلك كمضادات للإسهال نظرا إلى خواصها القابضة (astringentes) [3] .

كما استعمل العرب كذلك نبات الطرفاء للعلاج ، فقد استعملت ثمارها في أدوية العين و الفم حيث تساعد على استرخاء اللثة و الحد من ألام الأسنان، أما الرماد فاستعمل على القروح الرطبة لتجفيفها خصوصا تلك الناتجة عن الحرق بالنار، كما استعملت الطرفاء كذلك لعلاج البواسير، وانحدار الطمث في غير وقته، والزكام، والجذري، و الإسهال [8] . كما تستعمل كل من (***T.ramasissima***) [9] و (***T.hispida***) [10] كمضادات للتأكسد، ومضادات للبكتيريا .

كما استعملت نباتات هذا الجنس في الطب البيطري، حيث استعمل الايطاليون (***T.gallica***) لعلاج الحيوانات الأليفة من الالتهابات التي تسببها لسعات بعض الحشرات [11] . كما استعملت لعلاج جرب الإبل [12-15] .

2-4 الاستعمالات الأخرى.

إضافة إلى الفوائد الطبية لنباتات هذا الجنس، فهي تتمتع بفوائد أخرى كثيرة فتستعمل الأغصان الغضة لصناعة السلال لحماية الأغذية من الحشرات، كما تستعمل هذه النباتات في صباغة الجلود، كما تغرس بعض الأنواع مثل (***T.gallica , T.bacteriaca***) أمام أضرحة الشهداء نظرا لقداستها كما تغرس في الأماكن العامة كأشجار للزينة [3] .

كما تستعمل كذلك للحماية من التعرية للتربة، وكموصدات للرياح [16] . كما استعملت من طرف السكان الأصليين لأمريكا كمصدر للطاقة باستعمال الحطب للتدفئة [17].

3- الدراسة الكيمائية للجنس *Tamarix*.

يتميز هذا الجنس بغناه بمركبات الايض الثانوي من فلافونيدات، تربينات، كومارينات إضافة إلى مركبات أخرى والدراسة البيبليوغرافية توضح ذلك .

3-1 الفلافونيدات عند الجنس *Tamarix*.

يتميز هذا الجنس بغناه بالمركبات الفلافونيدية ويتضح هذا من خلال الدراسات والأبحاث المجراة والجدول-1- رقم يبين توزع المركبات الفلافونيدية عند الأنواع المختلفة للجنس ***Tamarix***:

الجدول-1 : توزع المركبات الفلافونيدية عند الانواع المختلفة لجنس *Tamarix*.

المراجع	النوع	المركب

Tamarixetin-3-O-Sulfate.	*Tamarix gallica.* *Tamarix africana*. *Tamarix bobeana*. *Tamarix elongata.* *Tamarix hispida.* *Tmarix ramasissima.* *Tamarix laxa*.	[18] [18] [18] [19] [19] [19] [20]
Tamarixetin.	*Tamarix elongata.* *Tamarix hispida.* *Tmarix ramasissima.* *Tmarix dioica.*	[19] [19] [19] [21]
Tamarixetin-3-bisulfate	*Tamarix laxa.*	[20]
Tamarixetin-3-O-α-rhamnopyranoside	*Tamarix laxa.*	[22]
Tamarixetin-3-O-α-L-arabinose.	*Tamarix elongata.*	[23]
Tamarixetin-3-O-β-D-glucoside.	*Tamarix elongata.* *Tamarix nilotica.*	[23,24] [24]
Kaempferol-4'-methylether-sulfate	*Tamarix gallica.* *Tamarix africana*. *Tamarix bobeana*	[25] [25] [25]
Rhamnetin 3-glucuronide-3,5,4'trisulfate Rhamnetin 3'-glucuronide-tri-bisulfate. Rhamnetin 3'-glucuronide-3,5,4'trisulfate	*Tamarix aphylla.* *Tamarix aphylla.* *Tamarix aphylla.*	[26] [27] [24,27,28,29,25,30,31]
Kaempferol-3,5,7-trihydroxy-4'-methoxy Flavone.	*Tamarixramasissima.* *Tamarix hokenakeri.*	[32] [32]
7,3',4'-trihydroxy-5-methoxy flavone	*Tamarix elongata.* *Tamarix laxa.*	[22]
3,5,7-trihydroxy-3',4'-dimethoxy flavone	*Tamarix elongata.* *Tamarix laxa.*	[22]
Isorhamnetin-3-O-β- glucopyranoside	*Tamarix elongata.* *Tamarix laxa.*	[22]
Isorhamnetin-7-O-sulfate	*Tamarix elongata.* *Tamarix laxa.*	[22]

المركب	النوع	المراجع
Quercetin 3-O-sulfate	*Tamarix hispida.* *Tamarix aplexicaulis.*	[19] [33]
Quercetin 3-O- β- glucopyranoside	*Tamarix hispida.* *Tamarix aplexicaulis.*	[33,19] [33,19]
Quercetin	*Tamarix elongata.* *Tamarix hispida.* *Tamarix ramasissima.* *Tamarix dioica.* *Tamarix hokenakeri.*	[19] [19] [19] [21] [32]
Isorhamnetin	*Tamarix elongata.* *Tamarix hispida.* *Tamarix ramasissima*	[19] [19] [19]
Chrysoeriol Rhamnizin	*Tamarix elongata.* *Tamarix elongata.*	[23] [23]
Tamaridone. Tamadone. Apegenin. 6,7,8,4' tetramethoxy-5hydroxy flavone. 6,7,8,3',4',5' hexamethoxy-5hydroxy flavone. 4',6,8 trimethoxy-5,7dihydroxy flavone. 6,7,8,4',5' pentamethoxy-3',5dihydroxy flavone. 4',6,7,8 tetramethoxy-5,5',3'tryhydroxy flavone.	*Tamarix dioica.* *Tamarix dioica.* *Tamarix dioica.* *Tamarix dioica.* *Tamarix dioica.* *Tamarix dioica.* *Tamarix dioica.* *Tamarix dioica.*	[34]
7,4'-dimethyl kaempferol-3-sulfate. Quercetin-3-isoferulglucuronide. Rhamnocitrin3-glucoside. Isoquerecitrin. Tamarixin. Taxifolin.	*Tamarix aphylla.* *Tamarix aphylla.* *Tamarix aphylla.* *Tamarix aphylla.* *Tamarix aphylla.* *Tamarix aphylla.*	[24,27-31] [24,27-31] [24,27-31] [24,27-31] [24,27-31] [24,27-31]
7,4'-dimethyl kaempferol-3- glucoside.	*Tamarix nilotica.*	[21,24-29]
kaempferol	*Tamarix hokenakeri.* *Tamarix ramasissima*	[25] [25]
7-O-sinapoylkaempferide.	*Tamarix hokenakeri.* *Tamarix ramasissima.*	[32] [32]

2-3 المركبات الأخرى عند الجنس ***Tamarix*.**

كما تتميز اصناف هذا الجنس بغناها بمركبات اخرى . الجدول -2:

الجدول-2: المركبات الاخرى عند الجنس *Tamarix*.

المركب	النوع	المراجع
Triterpenes :		
D-fridoolean-14-en-3-α-28diol.	*Tamarix aphylla*	[35]
D-fridoolean-14-en-β-diol.	*Tamarix aphylla*	[35]
28hydroxy- D-fridoolean-14-en-ß- hydroxy.	*Tamarix aphylla*	[35]
β-amyrin.	*Tamarix troupii.*	[36]
Ursulic acid.	*Tamarix troupii.*	[36]
Lupeol.	*Tamarix troupii.*	[36]
28-hydroxy-3-oxo-D-fridours-14ene.	*T.chinensis.*	[37]
3-β-28 dihydroxy-D-fridours-14ene.	*T.chinensis.*	[37]
3-α[“3, “4-dihydroxy-trans-cinnamoyl]-oxy-D-fridoolea-14-en-28-oic acid.	*T.hispida.* *T.laxa.* *T.elongata.*	[38,39] [40,41] [40,41]
β-sitosterol.	*T.hispida.* *T.laxa.* *T.elongata.*	[38,39] [40,41] [40,41]
3-α-hydroxytarxeran-14-en-28-oic acid	*T.hispida.*	[38,39]
Methoxy-3-β-al-D-fridoolean-14en-28oate.	*T.laxa.* *T.elongata.*	[42] [42]
Phenolic acide :		
p-coumaric.,gallic.,ellagic.,ferulic.,sinapic.,3-hydroxy-5-methoxy benzoique.	*T. hokenakeri.*, *T.ramasissima.*	[32] [32]
Coumarins:		
Coumarin,umbelliferone.	*T. hokenakeri.*, *T.ramasissima.*	[32] [32]
amino acide :		
tryptophane.,cysteine.,threonine.,glutamique acide.,methionine.,asparagine.,glutamine.,argenine.	*T. hokenakeri.*, *T.ramasissima.*	[32] [32]
Carpohydrate:		
Glucose.,arabinose.,xylose.,galactose.,saccharose.	*T. hokenakeri.*, *T.ramasissima.*	[32]

Bibliographie :

[1] Gaussen, H., Leroy, J.F., Ozenda .P.,1982. Precise de botanique (végetaux superieurs tome2) p292-293.

[2] Crins, W.J.,1989.The Tamaricaceae in the southeastern United States, Journal of the Arboretum 70,403-425.

[3] Younnos, C., Soulimani, R., Seddiqi, N. , Baburi, O., Dicko, A.,2005. Etude ethnobotanique et historique des tamaris et leurs usage actuels en Afghanistan. Phytotherapie, 6,248-251.

[4] Aubréville. A.,1950. Flore forestière soudano-guinéenne. Éd Sociétéd,éditions géographique maritimes et coloniales, Paris.

[5] Bouloomoy, L.,1930. Flore du Liban, Éd. Vigot Frères, Paris.

[6] Rechniger, KH .,1964-.1977 Flora des Iranischen Hochlandes und derUmrahmenden Gebirge, Ed. Akademische Druk – u.Verlagsanstalt Graz.

[7] Wood, J.R.I.,1997. A handbook of the Yemen Flora, Ed. Royal Botanic Gardens Kew.

[8] Ibn al-Baytâr.,1877-1883. Al-Jâmi ’al-Mufradât al-Adwîyah wal-Aghzîyah .

[9] Sultanova, N., Makhmoor, T., Abilov, Z.A., Parween, Z., Omurkamzinova, V.B., Atta-ur-rahman, Iqbal, A.M.,2001. Antioxidant and antimicrobial activities of Tamarix ramosissima. J. Ethnopharmacol. 78 (2–3), 201–205.

[10] Sultanova, N., Makhmoor, T., Yasin, A., Abilov, Z.A., Omurkamzinova, V.B., Atta-ur-Rahman, Choudhary, M.I., 2004. Isotamarixen – a new antioxidant and prolyl endopeptidase-inhibiting triterpenoid fromTamarix hispida. Planta Med. 70 (1), 65–67.

[11] Raimondo, F.M., Lentini, F.,1990. Indagini etnobotaniche in Sicilia, I., Le piante della flora locale nella tradizione popolare delle Madonie (Palermo)., Il Naturalista Siciliano 3/4, 77–99.

[12] Ozenda,P.,1958.Flore du Sahara septentrial et central.,p42.CNRS.Paris.

[13] Boulos,L.,1983.Medicinal plants of North Africa., Reference publication,Inc,Michigan.U.S.A.

[14] Al-Yahia,M.A.,Al-Meshal,I.A.,Mossa,G.S.,Al-Badr,A.A.and Tariq,M., 1990 K.A.C.S.T.Riyad 32.

[15] Murty,B.S.R.,Vasudevan,T.N.,Khorana,M.L.,1970.Indian.J.pharm,32(1),10.

[16] Baum, B.R.,1978. The genus Tamarix. The Israel Academy of sciences and humanities, Jerusalem, Israel. 209 p.

[17] Allred, K.,2002. Identification and taxonomy of Tamarix (Tamaricaceae) in New Mexico. Desert plants 18(2): 26-31.

[18]Harborne ,J.B.,1975. Phytochemistry 14, 1331.

[19]Sultanova,N.A.,Abilov,Zh.A.,Omurkamhzinova,V.B.and Chaudri,I.M.,2002.Khim.Prir.Soedin.,80.

[20]Utkin,L.M.,1966.Khim.Prir.Soedin.,2,162.

[21]Bahl,C.P.,Parthasarathy,M.R.,and Seshadri,T.R.,1967.India.J.Chem.5,171.

[22]Umbetova,A.K.,Chaudhary,M.I.,Sultanova,N.A.,Burasheva,G.CH.,Abilov,ZH.A.,2006.Chemistry of natural compounds,41,6.

[23] Umbetova,A.K.,Esirkegenova,Sh.Zh., Chaudhary,M.I., Omurkamhzinova,V.B.,and Abilov,ZH.A.,2004.Chemistry of natural compounds,40,3.

[24]Ishak,M.S.,El Sissi,H.I.,El Sherbieny,A.E.A.,Nawwar,M.A.M.,1972.Planta med.,21,374.

[25] El Ansari,M.A.,Nawwar,M.A.M., El Sherbieny,A.E.A., El Sissi,H.I.,1976.Phytochemistry 15,pp.231-232.

[26]Saleh,N.A.M.,El Sissi,H.I.,Nawwar,M.A.M.,1975.Phytochemistry,14.

[27] Saleh,N.A.M.,El Sissi,H.I.,Nawwar,M.A.M.,1975.Phytochemistry 14,312.

[28] Ishak,M.S.,El Sissi,H.I., Nawwar,M.A.M., El Sherbieny,A.E.A., 1972.Plantamed,21,246.

[29] Nawwar,M.A.M., El Sherbieny,A.E.A., El Ansari,M.A.,1975.Experientia 31,1118.

[30] Nawwar,M.A.M.,M.Sc.Thesis,Cairo,University.(1970).

[31] Nawwar,M.A.M.,1974.Ph.D. Thesis,Cairo,University.

[32]Bikbulatova,T.N.and Korul Kina.,2001.Chemistry of natural product.,37,3.

[33]Barakat,H.H.,1988.Nat.Prod.Sci,221.

[34] Virinder S.,Parmar.Kipral,S,Bisht.,Sunil,K.Sharma.,Rajni Jain.,Poonam Taneja.,Suddham SingG.,Ole Simonsen and PerM ,Boll.,1966. Phytochemistry 36,2,pp507-511

[35]Merfort,J., Buddrus,J.,Nawwar,A.M.,1992.Phytochemistry 11.403.

[36]Barmar,V.S.,Rathar,S.S.,Singh,S.A.,1985.Phytochemistry 4,871.

[37]Sharma,S.k., Barmar,V.S.,J.Sc.Ind.Res,57,873.(1998).

[38] Sultanova, N., Makhmoor, T.,Uasin,A., Abilov, Z.A., Omurkamzinova, V.B., Atta-ur-rahman,. Chaudhary,M.I.,2004.PlantaMed 70,65.

[39]Sultanova,N.A.,Abilov,Zh.A.,Shul'ts.E.E.,Omurkamhzinova.,2004.Khim.Prir.Soedin 16,3.

[40] Umbetova,A.K., Sultanova,N.A., Omurkamhzinova,V.B.,and Abilov,ZH.A.,Vestn.KAaz.Gos.2004.Univ.,Ser.Khim 2,163.

[41] Umbetova,A.K.,Esirkegenova,Sh.Zh., Chaudhary,M.I., Omurkamhzinova,V.B. and Abilov,ZH.A.,2004. Khim.Prir.Soedin,250.

[42] Umbetova,A.K.,Esirkegenova,Sh.Zh., Chaudhary,M.I., Sultanova,N.A.,Burasheva,G.Sh. and Abilov,ZH.A.,2006.Chemistry of natural compounds 42,3.

الفصل الثاني

الفلافونيدات

1- مقدمة:

تشكل المركبات التي تتصف بالخاصية الفينولية، و المستخلصة من النبات حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها، و لتباين الهياكل البنائية لها . بعض هذه المركبات بسيطة البناء اذ يدخل في

تركيبها حلقة بنزينية واحدة ترتبط بمجموعة هيدروكسيل، اوميثوكسيل،اومجموعات هيدروكربونية. وكذلك يوجد من هذه المركبات الطبيعية الفينولية ما يحتوي على اكثر من حلقة بنزينية، حيث تعتبر اكثر تعقيدا في بنائها من المركبات الفينولية البسيطة . وتعتبر المركبات الفينوتية المعقدة البناء الاكثر انتشارا في الطبيعة ومن هذه المركات نذكر على سبيل المثال : الفلافونيدات، الكومارينات والزنتونات.

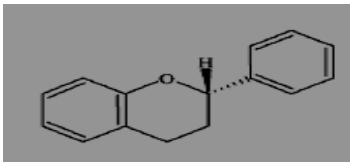
2- تعريف الفلا فونيدات:

إن الفلافونيدات تعتبر من أهم مجموعات المركبات الفينولية . كما أنها تحتل قسما بالغا الأهمية من الميتابوليزمات الثانوية في النبات [1]. حيث استخلص أكثر من 6400 مركب فلافونيدي من أنواع مختلفة من النباتات[2]، تتواجد الفلافونيدات على مستوى الخلية النباتية على شكل اتيروزيدات ذوابة في الماء، فتتمركز في حويصلة الخلية، أما الفلافونيدات التي تكون ذوابة في المذيبات الغير قطبية (مثل عديدة الميثوكسيل) فتتواجد في سيلتوبلازم ا لخلية[3]. في حالة وجود الفلافونيدات على شكل اجليكونات، فإنها تتوضع على سطح الأوراق حيث تكون ملازمة لمواد مفرزة هي الأخرى ليبوفيلبية، ونلاحظ هذه الظاهرة في المناطق الجافة وشبه الجافة [4] .

تتواجد الفلافونيدات كذلك في الخضار، الفواكه، البذور، السيقان، و الأزهار إضافة إلى الشاي ...[5] . وتحتل حيزا مهما من مكونات الغذاء اليومي للإنسان حيث أثبتت إحصائية أن نسبة الفلافونيدات في الغذاء اليومي للفرد في الولايات المتحدة تقدر ب 500 إلى 1000 mg [6].

3- تصنيف الفلا فونيدات :

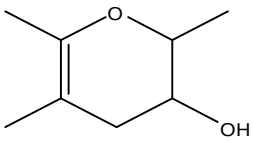
إن الفلافونيدات تحتوي على هيكل كربوني مكون من 15ذرة كربون موزعة على الشكل C6-C3-C6 . حيث تعتبر نواة الفلافان أو2phenyl benzo[Þ] pyrane التركيبة الأساسية الفلافونيدات، وهي تتكون من حلقتين بنزنيتين (A) و(B)، مرتبطتين من خلال حلقة غير متجانسة (حلقة بيران) أو ما يسمى بالحلقة (C) [7]. اعتمادا على درجة تأكسد الحلقة البيرانية نحصل على مختلف أقسام الفلا فونيدات [9] كما هو مبين في الشكل -1-



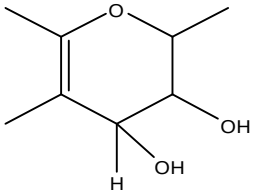
[8] نواة الفلافان flavan.

الشكل 1 : مختلف أقسام الفلافونيدات حسب درجة تأكسد الحلقة البيرانية.

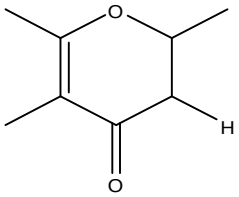
increasing oxydation



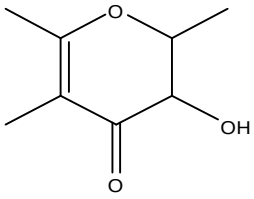
catechins



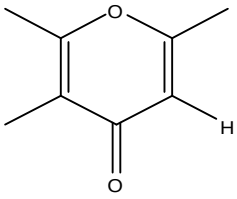
leucoanthocuanidin



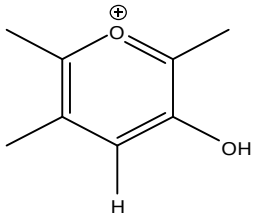
flavanone



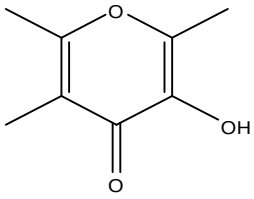
flavanols



flavones



anthocyanidins



flavonols

4- الاصطناع الحيوي للفلافونيدات

إن استعمال النظير ^{14}C أعطى دلائل مهمة بخصوص الاصطناع الحيوي للفلافونيدات .حيث بينت أبحاث كل من GRISEBACH[10] و DAVIS [11] باستعمال مشتق الخلات من جهة وباستعمال أحماض :

Shikimique,Cinnamique ,Phénylalanine الموسومة ب^{14}Cفي نبات: التبغ، الحنظة السوداء،الكرنب الأحمر.

أن الهيكل الفلافونيدي ينحدر من طريقين مختلفين :

. طريق الخلات

. طريق حمض الشكيميك

حيث بينت دراسة الاصطناع الحيوي لمركب السينيدين في نبات الكرنب الأحمر ،دور الخلات في تكوين الحلقة A. أما الحلقة B فقد أظهرت أبحاثUnderhil [12] بان أفضل بشائر مركب الكرستين في نبات الحنطة السوداء هي حسب أفضليتها : حمضةالشكيميك، فنيل الانين، حمض السيناميك،و حمض باراكوماريك وبالتحام الحلقتين A وB تتكون الحلقة البيرانية المركزية.

** الاصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونيدية انطلاقا من نواة الشالكون :

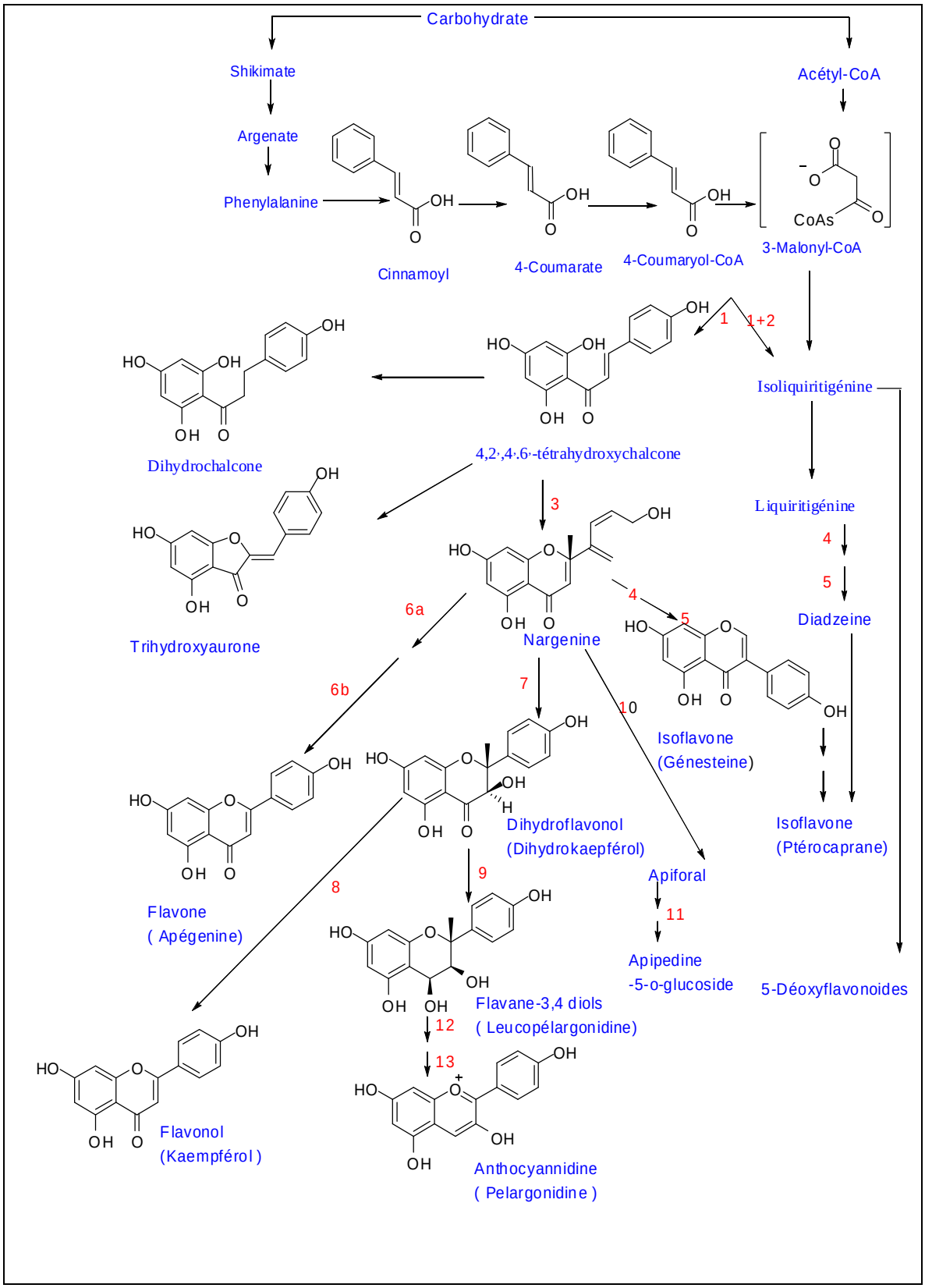
تعتبر نواة الشاكون نقطة انطلاق اصطناع باقي الفلافونيدات الأخرى.

إن المرحلة الأساسية لتكوين الفلافونيدات هي عبارة عن عملية تكاثف ثلاث جزيئات malonyl-CoA مع وظيفة استر Co-Aوحمض هيدروكسيلي سيناميك أو بصفة عام p-coumaryolCo-A [13] . العملية تتم في وجود إنزيم محفز هو chalcone synthase (SHC) [13] [14] والناتج هو عبارة عن شالكون . في الحالة السابقة الناتج هو 4 ,2̓ ,4̓ ,6̓-tétrahydroxychalcone هدا الأخير يعتبر نقطة انطلاق لاصطناع مختلف الفلافونيدات، كما هو موضح في المخطط وهدا بوجود إنزيمات محفزة تخص كل مرحلة من المراحل المختلف [15] [16] . للحصول على الاورونات(Aurones) فإنها تشتق مباشرة من الشالكون كوسيط بدون محفز. يمثل الفلافانون (Narigénine) أهم الفروع الفلافونيدية حيث

ينتج من عملية تحوير فراغية انطلاقا من نواة الشالكون كوسيط في وجود إنزيم محفز هو Chalcone isomérase [13]، [17]. كما أن أكسدة الفلافانون مع إعادة ترتيب متمثلة في إزاحة الاريل من2 -C الى3 –C يودي الى ايزوفلافون (génisteine) وهدا بفعل إنزيم isoflavone synthase وهدا التفاعل يعتبر أول تفاعل نوعي لاصطناع الايزوفلافونيدات[18] حيث أن هو 2-hydroxyisoflavone المركب الوسيط في التفاعل [19]. يتكون ثنائي الهيدروفلافونول(dihydroflavonol) مباشرة بعمليةhydroxylation للفلافانون في الموضع هذه العملية تحفزبواسطة إنزيم-3-flavanone hydroxylase [20] . يعتبر تحضير كمرحلة وسطية لتشكيل الفلافونولات ومن أمثلها الذي يتم تكوينه بإدخال رابطة ثنائية بين3-C و2-C هذا التفاعل يتم تحضيره بواسطة إنزيم Flavonol synthase [13]. تشكيل رابطة ثنائية بين للفلافانون يؤدي إلى فائض في مجموعات الفلافون مثلا : الابيجينين(apigénine) لتحفيز هداالتفاعل يستوجب إنزيمات مختلفة مثل : Flavone synthase. وكل مراحل الاصطناع مبينة في المخطط -1- امّاالجدول 1 فيبين مختلف الإنزيمات اللازمة لعملية الاصطناع الحيوي الفلافونيدات .

الجدول -1- يبين مختلف الإنزيمات المستخدمة في الاصطناع الحيوي للفلافونيدات .

الرقم	الإنزيم	العامل المساعد
I	Acétyl-CoA	non
II	Phénylalanineammonia-lyase(PAL)	non
III	Cinnamate4-hydroxylase (C4H)	NADPH
IV	4-Coumarate :CoAligase (4CL)	CO-ShATP
1	Chalcone synthase (CHS)	non
2	Polyketide réductase (PKR)	NADPH
3	Chalcone isomérase	non
4	2-hydroxyisoflavone synthase (IFS)	NADPH
5	2-hydroxyisoflavonol déhydrathase	non
6	6-a Flavone synthase I (FNSI)	NADPH
6	6-b Flavone synthase II (FSNI)	NADPH
7	Flavanone-3-hydroxylase (FHT)	2-Oxoglutarate Fe² ascoparate
8	Flavonol synthase (FLS)	2-Oxoglutarate Fe² ascoparate
9	Dihydroflavonol4-réducthase (DFR)	NADPH
10	Flavanone réducthase (FNR)	NADPH
11	Leucoathocyanidine4-réducthase	NADPH
12	Anthocyanin synthase (ANS)	inconnu
13	Flavonoid 3-O-glycosyltransférase (FGT)	



المخطط -1- مراحل الاصطناع الحيوي لمختلف أقسام الفلافونيدات .

5- خواص الفلافونيدات: [21]

بما أن الفلافونيدات من المركبات الفينولية فهي مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة دوابه في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم .
وتتصف الفلافونيدات التي تحمل عدد اكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحتوي بقية سكر بالصفة القطبية وعليه فهي دوابه في المذيبات القطبية مثل : الميثانول،الايثانول،ثنائي
سيلفوكسيدالأستون،والماء ووجود السكر في الجزيء المركب يجعله أكثر ذوبانا في الماء،أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل : الايزوفلافونات وكذلك الفلافونات أو الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الايثر و الكلوروفورم.

6-استخلاص الفلافونيدات

في بادئ الأمر يقوم الفيتوكميائي باختيار نبتة معينة بغرض دراستها،فيقوم بتحديد أجزائها المختلفة من سيقان وأوراق وأزهار حيث تكون محتوية على كمية لاباس بها من الفلافونيدات . فيقوم بتجفيف هده الأجزاء وطحنها أو تفتيتها إلى أجزاء صغيرة ثم يعاملها بمذيب مناسب للاستخلاص،ومن أكثر المذيبات استعمالا للاستخلاص نذكر:

- ميثانول- ماء (نسبة 7الى 3) .
- ميثانول- ماء (نسبة 8 إلى 2) .
- ميثانول (نسبة 100%) .

تغمر الأجزاء النباتية المختارة في المحلول المائي الميثانول لمدة لا تقل عن يوم، يتم غسل و ترشيح المتبقي من الأجزاء النباتية بالمذيب الخاص للاستخلاص، ثم تبخر اكبر كمية ممكنة من الميثانول من حجم الرشاحة. تعامل الرشاحة المتحصل عليها بالهكسان قصد التخلص من المركبات الطبيعية ذات القطبية الضعيفة ونذكر منها (الكلوروفيل، الدهون والتربينات) ويجب أن يحتفظ برشاحة لأنها قد تحوي مركبات ذات قطبية ضعيفة.
الرشاحة المائية تعامل بخلات الايثيل في الخطوة الثانية حيث تجمع المستخلصات وتركز تحت ضغط منخفض، أما الطور المائي فتجرى له هو كذلك عملية استخلاص باستعمال البوتانول ثم تجمع

مستخلصاته تركز هي الأخرى تحت ضغط منخفض ومن ثم تفصل وتنقى هده المركبات الطبيعية (الفلافونيدات) [23,22].

7- الكشف عن الفلافونيدات . [24]

تستخدم العديد من الكواشف للكشف عن الفلافونيدات، حيث تعطي ألوانا مميزة لكل مجموعة فلافونيدية، فاستخدام محلول كلوريد الألمنيوم (5%) يعطي بقعا صفراء مع الفلافونيدات التي تحوي مجموعة هيدروكسيل في الموضع رقم5. كما تعطي جميع الفلافونيدات ألوانا صفراء أو برتقالية مع هيدروكسيد الصوديوم .كما يمكن استخدام محلولvanillin-HCl(5%) للتعرف عن الفلافونيدات حيث يؤدي إلى ظهور بقع حمراء بعد رشه (ظهور البقع يكون في الحال،أو بعد التدفئة البسيطة).

8- فصل وتنقية الفلافونيدات .

يتم فصل الفلافونيدات وتنقيتها باستخدام مختلف الطرق الكروماتوغرافية فيعمد استعمال طرق الفصل الكروماتوغرافي الورق لفصل الكميات الصغيرة، أما كروماتوغرافيا العمود فتستخدم لفصل الكميات الكبيرة وتعتبر هاتين الطريقتين الأكثر استخداما.

8-1- كروماتوغرافيا الورق (CP) .

تعتبر كروماتوغرافيا من الطرق الأكثر استعمالا وهذا لتكلفتها البسيطة ، وسهولة استعمالها وكفاءتها العالية في عملية الفصل، فهي تستعمل كتقنية للتحليل كما تستخدم للتنقية[25] .كما تعطي دلالة جيدة على نوع المركب الفلافونيدي وهي تستخدم لفصل الكميات الصغيرة ونستخدم خلالها مذيبات كحولية لتحريك البقع على الورق ويتبع تحريك هذه البقع للمرة الثانية باستعمال محلول حمض الخل (15%) ، وتعطي بقع هذه المركبات ألوانا مختلفة إذا عرضت لأشعة VU في وجود أو عدم وجود النشادر. الفلافونات الجليكوزيدات للفلافونولات تعطي ألوانا بنفسجية عند365نم كما تظهر ألوانا صفراء إلى صفراء مخضرة إلى ضوءUV بعد إضافة النشادر.

2-8- كروماتوغرافيا العمود (CC).

تستخدم كروماتوغرافيا العمود لفصل الكميات الكبيرة من الفلافونيدات عن طريق استعمال صنف ثابت يعبا به العمود، ثم يذاب المستخلص في اقل كمبدية من المذيب المناسب وبعدها يوضع في العمود، وتختتم هذه الطريقة باستخدام مذيبات مناسبة لعملية التملص.

ويعتبر متعدد الاميد من أهم الأصناف الثابتة المستعملة في كروماتوغرافيا العمود، وذلك لثبات فعاليته في فصل المركبات الفلافونيدية وبالخصوص المركبات الفلافونيدية الجليكوزيدية. كما يستخدم السليلوز لفصل الفلافونيدات الجليكوزيدية عن تلك المجردة من السكر، فيما يستخدم السليكاجال لفصل الفلافونيدات الأقل قطبية.

تعبئة العمود يذاب خليط الفلافونيدات في اقل كمية ممكنة من المذيب المناسب ثم يوضع في العمود، وثم تستخدم المذيبات المناسبة لعملية التملص.

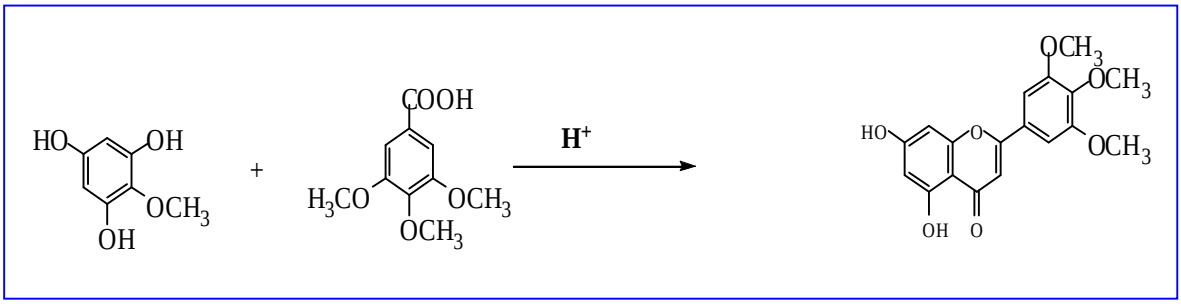
يتم تتبع عمليات الفصل باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية في جملة من المذيبات المختلفة.

وفي الأخير تنقى المركبات المفصولة باستعمال عمود صغير من السيفاداكس [27,26].

9- طرق تحضير الفلافونيدات

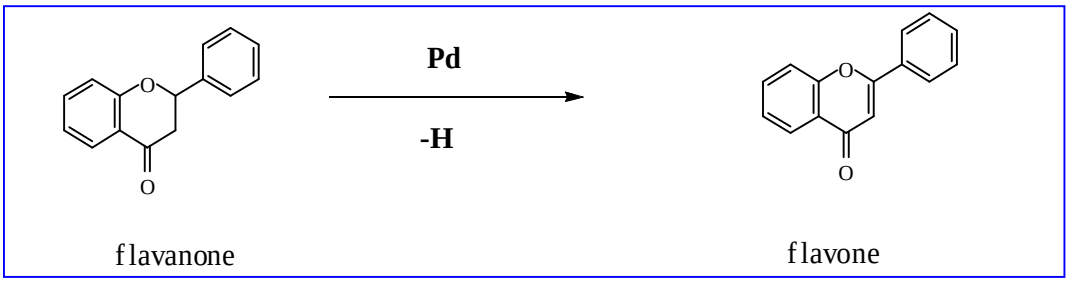
توجد العديد من الطرق لتشكيل هيكل فلافون أو فلافونول ونذكر منها :

** طريقة روبنسون: التي تعتمد على تسخين مشتق ارتوهيدروكسي أسيتون فينون مصدر الحلقة A مع خليط من الملح الصديومي ، وحمض عطري مستبدل مائي مصدر الحلقة B كما هو مبين في الشكل -2- [28]:



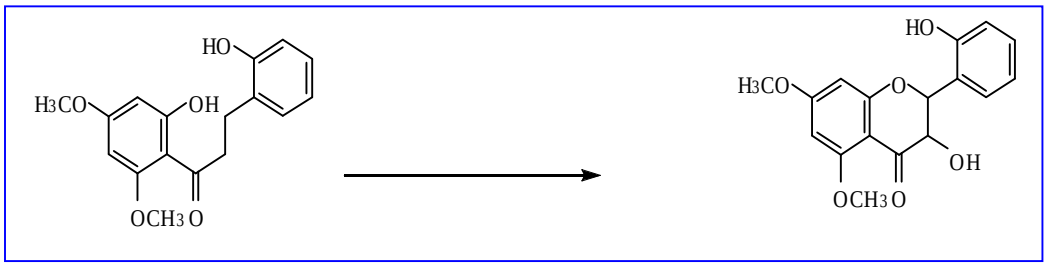
الشكل -2- طريقة روبنسون (تشكيل هيكل الفلافون)

كما يمكن الحصول على مركب الفلافانون المطابق ، وذلك عن طريق استعمال كواشف متعددة مثل : البلاديوم أو أكسيد السلينيوم الذي يعمل على نزع الهيدروجين من الفلافانون كما في الشكل -3- [29]



الشكل -3- تحضير الفلافون عن طريق الفلافانون

كذلك من أهم طرق تحضير الفلافونيدات هناك طريقة ترتكز على معاملة مركب الشالكون أو فلافون لا يحتوي على مجموعة هيدروكسيل في الموضع -5- بفوق أكسيد الهيدروجين القاعدي عند درجة حرارة – م10^0 و قد تمت دراسة هذا لتفاعل عند ظروف معينة فوجد انه لا ينتج فقط مركب 3- هيدروكسيل فلافانون، وإنما تنتج مركبات أخرى منها الاورونات ذات الصلة الوثيقة بالفلافونيدات كما لوحظ أن هذا التفاعل يعتمد على طبيعة، وموضع المجموعات البديلة في المركبات الداخلة في التكاثف الشكل -4- [30].



الشكل -4- تحضير الفلافون عن طريق تحلق الشالكون

10- دور الفلافونيدات عند النبات

تلعب الفلافونيدات دورا مهما عند النبات فتتعدد أدوارها في الأجزاء المختلفة من النبات ففي الأزهار تكون مسئولة عن إعطاء اللون المميز الذي يكون بمثابة العامل المساعد على جلب مختلف ملقحات النبات[31,5]. أما دورها في الأوراق فهو دفاعيا،فهي تحمي النبات من الأمراض الفطرية، والأشعة فوق البنفسجية [8,31] . كما تساهم الفلافونيدات في عمليات التركيب الضوئي الذي يقوم بها النبات، والتبادلات الطاقوية، كما يمكنها التحكم في نشاط الهرمونات المسئولة عن النمو، وتتحكم كذلك في عملية التنفس، وتحديد الجنس النباتي [5، 8].

11- الخواص الطبية الفلافونيدات

لقد لعبت منذ القدم المستحضرات الطبية التي تحتوي على الفلافونيدات دورا مهما لعلاج الأمراض المختلفة [32]. فقد تم استخدام نبتة ***Tagetes minuta*** التي تحتوي على -7- quercetin) (arabinosyl-galagtoside في الطب الشعبي الأرجنتيني لمداواة الأمراض المعدية [33] .كما استخدم اليونانيون القدامى مادة البروبوليس لمعالجة القرح [34].

إن الفلافونيدات تتميز بخواص علاجية هامة فهي: مضادة للالتهابات، ومضادة للمكروبات، ومثبطة للإنزيمات [8,32]. كما أنها تتميز بفعالية مضادة للحساسية، ومضادة للتأكسد [5]. وهي مضادة للسرطان [31]. مضادة للتسمم الكبدي [35] .مضادة لارتفاع الضغط [36] . كما أن الفلافونيدات دور تثبيطي لأنواع مختلفة من الفيروسات، فيعمل : quercetin، morin , rutin, dihydroquercetin pelargonodin chloride , catchin ,dihydrofestin leucocyanidin . على مقاومة الفيروسات فيروس (HSV)، وفيروس(viruspolio) و فيروس (shndbis virus) [37].

Bibliographie:

[1]De Rijke, E., Out, P. Niessen, W. M. A., Ariese, F. Gooijer, C. Brinkman, U. A. T. ,2006.Analytical separation and detection methods for flavonoids. Journal of Chromatography A, 1112, 31 – 63.

[2] Rauha J.P., Vuorela, H., Kostiainen, R.,2001.J. Mass Spectrom. 36, 1269.

[3] Harborne,J.B.(1973) Flavonoids –in= phytochemistry vol II =eds : Lawrence,P.Miller,pp.344,Litton Educational publishing Inc.

[4] Wollenweber, E ;Dietz ,V. H .,1980. Biochem,syst ,Eco 8,21.

[5]Middelton.Jr.E,ChithanK.1993.The impactof plant flavonoids on mamalian biology:implication for ummunity,inflammation and cancer. In:Harborne. JB, editor. The flavonoids: advanced in research since1986.london, UK:Chapman and Hall.

[6]Skiboda,C.F.,Smith, M.T.,2000.Potentiel health impacts of excessive flavonoids hntake.freeRadic BiolMed;29:375-83.

[7] Brown, J.B.,1980. A revieu of geneticeffect of naturally occuring flavonoids , antraquinones and related compounds.Mutat Res 75: 243-77

[8] Harborne,J.B., Baxter, H.,1999. The handbook of natural flavonoids, Vols1 and 2. Chichester, UK: John Wiley and Sons.

[9] Trevor Robinson.,1957. The organic constituents of higher plants ; Sixth Edition p: 188

[10] Gisebach ,H .Z.Natural,12b-277 (p*211) .

[11] Davis ,B.D.,Advances hn enzymology (199) ,(16) ,247(p*206)

[12] Underhill ,E.W ; Watkin ,J.B; Neish, A.C.,1957.J.Biochem , Physio. (35) ,19 (p*211).

[13] Ribereau-gayon ,J.B.,1968.les composes phenolique des végétaux .Dunod.Paris.

[14] Heller ,W; Forkmann,G.,1988.Inflavonoids. Advances in reseach since 1980, Edition.J.B.Harborne.Chapmann and Hall.London, 400.

[15] Heller ,W; Forkmann, G;Brtch ,L;Griesbach, H.PlantaMed.(1985a),163-191.

[16] Forkmann, G.1992.Strcture and biosynthesis of flavonoids,16eme Assemblé du groupepolyphenol.Lisbonne (16), 19-27.

[17] Boland,M.J;Wong,E; 1992.Eur .J Biochem, ,(50),383.,1979. Bioorg.Chem,8 ,1.

[18]Kochs,G et Grisebach,H;1986.Eur .J.biochem,155,311.

[19] Hashim ,M.F ;Hakamatsuka,T ; Ebiauka, Y ; Sankawa,U(1990),271,219

[20] Stotz ,G ;Spribille,R ; fforkmann ,G ;1984.J. Plant Physiol,116 ,173.

[21] El Hazemi.H,1995.Natural Product , ,149-150.

[22] Gonnet.J.F ,1973.A propos de photographie encouleur de chromatographie sur couche minces en lumiere de Wood .J.of Chromato.,68,192.

[23] P.Lebreton ,M.Jay ,B.Voirin ,et M.B Bouchez,. 1967.Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoides .Chim .Analyt.Fr., 49(7) ,376.

[24] Elhazemi.H ,1995.Natural Products , 151-190 .

[25]Anne Fawe ,1997.thèse de philosophiae doctorat(Phd) ,universite de Laval Québec .

[26]Anderson.R.A , and Sowers.1968.J, Phytochemistry, 7,293.

[27] Jurd, L. and R.Horwitz, Spectral propreties of flavonoid coumponds in Geissman,T.A,The Chemistry of flavonoid coumponds.1962,107-155.Pergamon press New-york.

[28] Boland, M.J. et Wong, E.,1975.Eur, J. Biochem., 50,383.,1979.Bioog.Chem., ,8,1.

[29] Kochs, G. et Grisebach, H.,1986. Eur.J.Biochem., ,155,311.

[30] Silva,M.S.A and Cavaleiro ,A.S.1992.A new method for synthesis of flavonoids, 16eme. Assembler du groupe polyphénols ,Lisbon,16.

[31] Harborne, J.B., Williams ,C.A., 2000.Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry;55:481–504.

[32] Havsteen, B.1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. Biochem Pharmacol;32:1141–8.

[33] Tereschuk, M.L., Riera, M.V., Castro, G.R., Abdala, L.R., 1997.Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of Tagetes minuta. J Ethnopharmacol ;56:227–32

[34] Fearnley, J.,2001. Bee propolis. London, UK: Souvenir Press Ltd.

[35] Sankawa, U. et Y.T.Chem .,1985. Advances in Chinese .

[36] Manthey, A. John., Guthrie, N .,2001. Current Medicinal Chemistry .,8 ,2 ,135-153.

[37] Selway ,J.W.T.,1986.Antiviral activity of flavones and flavans. In: Cody V, Middleton ,E., Harborne ,J.B., editors. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and structure–activity relationships. New York, NY: Alan R. Liss, Inc.

الفصل الثالث

الدراسة البنيوية الفلافونيدات

نعتمد في الدراسة البنيوية الفلافونيدات، على دراسة الخواص الكروماتوغرافية، ونتائج التحليل الطيفي لأطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV) وكذلك أطياف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون والكربون13 وأطياف الكتلة.

1- الخواص الكروماتوغرافية :

1-1 اللون الاستشعاعي :

يعتبر لون المركبات الفلافونيدية تحت الأشعة فوق البنفسجية عند254-356 نم بمثابة المؤشر الدال على المعطيات التي تساعد على تحديد صيغة بنيوية تقريبية للمركب الفلافونيدي، والجدول-1- العلاقة بين المركب الفلافونيدي تحت UV والصيغة المحتملة.

لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية	نوع المركب الفلافونيدي
اسود	فلافونول 7,6,5 ثلاثي الهيدروكسيل حر. 8,7,5 ثلاثي هيدروكسيل حر فلافونول .
بني مسود	غياب الهيدروكسيل في الموضع 3 أو يكون مستبدل.
بنفسجي	فلافون (5-OH) و(4'-OH) ،(يملك OH- في الموضع 5 و4'). فلافونول (3-OR) و(5-OH) ،(4'- OR). فلافون (3-OR) و(5-OH) ،(4'- OH). فلافون يملك OHفي الموضع 6 أو 8. شالكونات، ايزوفلافونات،ديهيدروفلافونول، فلافانون.
ازرق باهت اللون مشع	فلافون بدون OH- حر في الموضع 5 (5-RO). فلافونول بدون OH- حر في الموضع 5 مع وجود مستبدل حر في الموضع 3.
اصفر باهت ،اصفر برتقالي مشع	فلافونول يملك OH- حر في الموضع3 مع أو بدون OH- حرفي الموضع5 .
اصفر مخضر لامع	OH- حر في الموضع 5 أو OH- مستبدل في الموضع 5.
اصفر مشع	فلافون مع OH- حر في الموضع3. اورون ، شالكون ، فلافانون .
ازرق مخضر	فلافانون بدون OH- حر في الموضع5.

الجدول -1- : العلاقة بين لون المركب الفلافونيدي تحت UVوالصيغة المحتملة [3,2,1].

1- 2 ثابت الانحباس R_f :

إن ثابت الانحباس يعبر عن النسبة بين المسافة المقطوعة، من طرف المركب انطلاقا من نقطة البداية، و المسافة المقطوعة من طرف المملص أو المذيب من نفس النقطة و هو يعطى بالعلاقة :

$$R_f = \frac{\text{المسافة المقطوعة من طرف المركب}}{\text{المسافة المقطوعة من طرف المملص}}$$

و هو قيمة مميزة للمركب في شروط كروماتوغرافية معينة (درجة الحرارة، المملص، طبيعة المادة الدامصة) [4]. كما تتأثر قيمة ثابت الانحباس كذلك بطبيعة المستبدلات، و مواقعها على الجزيء، فانطلاقا من قيمته يمكن أن نميز بين الجليكوزيدات و الاجليكونات، ومن جهة أخرى بين الجليكوزيدات أحادية السكر، و ثنائية السكر، و متعددة السكر **[5]** وهدا يعتمد على نوع جمل المذيبات عضوية أو مائية .

والجدول -2: يبين العلاقة بين البنية الفلافونيدية و ثابت الانحباس **R_f**

البنية الفلافونيدية	R_f
الزيادة في عدد OH	نقصان قيمة R_f في الأنظمة العضوية .
الجليكوزيدات	R_f يزداد في الأنظمة المائية . R_f ينقص في الأنظمة العضوية .
استبدال مجموعة OH- بمجموعة CH_3O-	زيادة في قيمة R_f في الأنظمة العضوية و الأنظمة المائية .
مثيلة هيدروكسيل الموضع 5	R_f ينقص في الأنظمة العضوية.

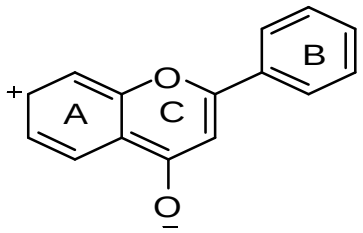
2- مطيافية الاشعة فوق البنفسجية للمركبات الفلافونيدية

تعطي هذه التقنية معلومات قيمةعن بنية المركب، ومواقع المستبدلات على الهيكل الفلافونيدي، وهي تقنية سهلة الاستعمال وغير مكلفة، ولا تحتاج الى كميات كبيرة من المركب المراد تحليله.

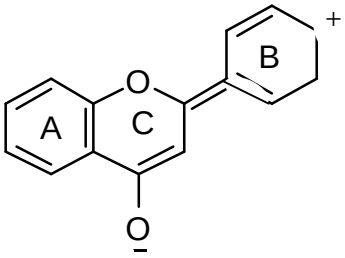
بالنسبة للمركبات الفلافونيدية طيف الاشعة فوق البنفسجية يؤخذ في محلول الميثانول اوالايثانول وهو يتميز بحزمتين او عصابتين الا انه يختلف مكان امتصاص هاتين العصابتين باختلاف نوع المركب الفلافونيدي كما هو موضح في الجدول -3. ويرمز لهما بالحزمة I التي تمتص عبد طول موجي اعلى و الحزمة II وهما ناتجتين عن :

*الحزمة I: ناتجة عن فرع السيناموبل المتشكل من الحلقة B مع الجموعة اينون، تكون هذه الحزمة متواجدة ضمن المجال 320-380نم.

*الحزمة II: ناتجة عن فرع البنزويل الناتج عن ترافق الحلقة العطرية A و الوظيفة الكيتونية، و تظهر هذه الحزمة في المجال 240-280نم [7].



فرع بنزويل



فرع سيناموبل

نوع المركب الفلافونيدي	الحزمة I	الحزمة II
فلافون	350- 320	280-250
فلافونول (3-OH)	385-350	280-250
فلافونول (3-OR)	360-330	280-250
ايزوفلافون	330-310	275-245
فلافانون وثنائي هيدروفلافانول	330-300	295-275
شالكون	390-340	270-230 شدة ضعيفة
اورون	440-380	270-230 شدة ضعيفة
انتوسيانيتين و انتوسيانين	560-465	280-270

الجدول -3- : مكان امتصاص الحزمتين I وII لبعض انواع الفلافونيدات

- ان مكان الحزمتين ضمن المجال المذكور في الجدول يعتمد على عدد، ومواقع مجموعات الهيدروكسيل البديلة، فكلما ازداد عدد مجموعات الهيدروكسيل فان حزمة الامتصاص تنزاح الى طول موجي اعلى. اما في حالة استبدال مجموعات الهيدروكسيل بمجموعات الميثوكسيل او وحدات السكر ان حزمتي الامتصاص تنزاح الى طول موجي اقل.

طيف الاشعة فوق البنفسجية للمركبات الفلافونيدية في وجود كواشف :

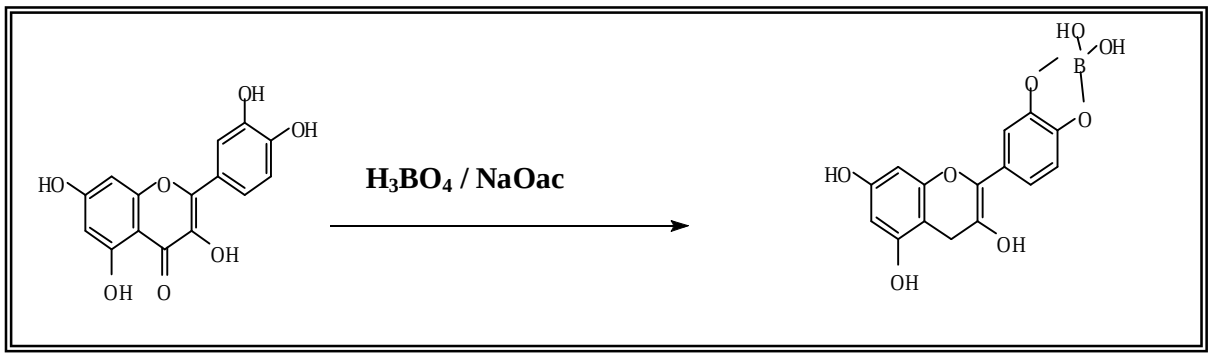
اضافة الكواشف المختلفة يساعدنا على تحديد انواع المجموعات البديلة، وكذا مكان ارتباطها في الهيكل الفلافونيدي.

اضافة NaOH: اضافةNaOH يعطينا معلومات عن عدد، وموضع المجموعات الهيدروكسيل الحرة في المركب الفلافونيدي، خاصة تلك المجودة في الموضع 7،4‘ ،3 ، وذلك عن طريق الازا.حة الباتوكرومية للحزمة I .

اضافةNaOAc: هذا الكاشف يستعمل للكشف عن عن وجود مجموعة عيدروكسيل الموضع 7 من خلال حدوث ازاحة باتوكرومية ب5الى 20 نم للحزمة II .

NaOAc: ياين مجموعات الهيدروكسيل الاكثر حمضية مثل OH- الموضع 3، 7، و4‘.

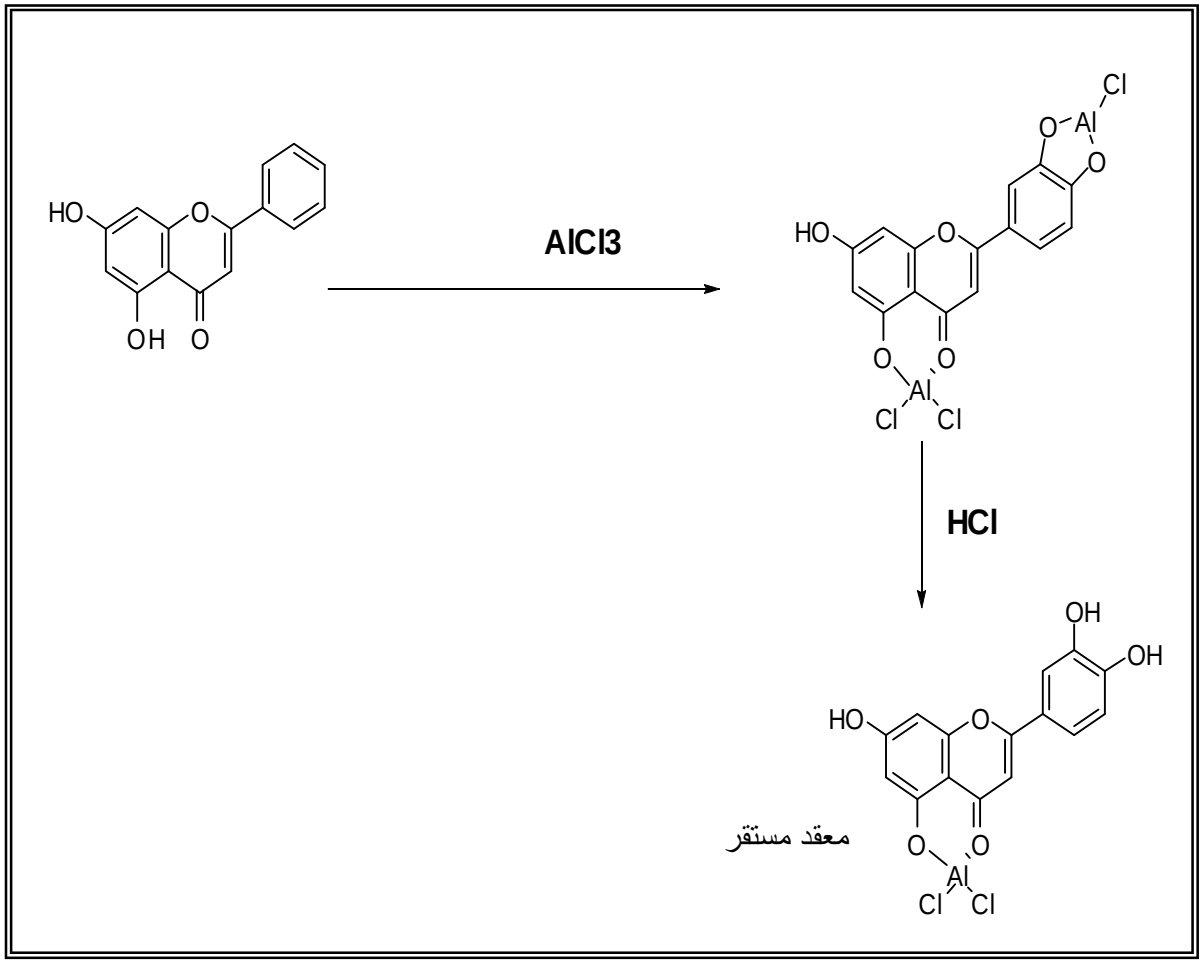
اضافة$NaOAc+H_3BO_4$: للجصول على هذا الطيف يضافH_3BO_4 الى العينة في وجودNaOAc، وهو يعطي معلومات عن وجود او غياب هيدروكسيل Ortho على الحلقة B او الحلقة A (7,6او 7,8) و ذلك من خلال تشكيل معقدات تؤدي الى حدوث ازاحة باتوكرومية للحزمة I ب 12 الى 36 نم مقارنة بطيف الماخود في الميثانول الشكل -1-



الشكل -1-: تشكيل معقد بعد اضافة H_3BO_4

اضافة $AlCl_3$ و $AlCl_3$+HCl : اضافة $AlCl_3$ الى محلول الميثانول يؤدي الى تشكيل معقد ناتج عن OH Ortho وOHالموضع 3مع الكربونيل و OHالموضع 5 مع وضيفة الكربونيل وينتج عن هدا ظهور ازاحة باتوكرومية للحزمة I.

عند اضافة HCl فان المعقدات الغير مستقرة الناتجة عن هيدروكسيلين تنحل وتبقى فقط المعقدات المستقرة الناتجة عن مجموعة هيدروكسيل ووظيفة كربونيل [6]، وهذا يؤدي الى ازاحة هيبسوكرومية للحزمة I مقارنة بطيف $AlCl_3$، وازاحة باتوكرومية مقارنة بالطيف المأخوذ في الميثانول. وهذا مبين في الشكل 2.



الشكل 2: تشكيل معقدات في وجود $AlCl_3$ و $AlCl_3$+HCl

المفاعل	الازاحة: الحزمةI	الازاحة: الحزمةII	التحليل
MeOH	350-310 360-330 385-350	280-250 280-250 280-250	فلافون فلافونول (3-OR) فلافونول (3-OH)
NaOH	+45الى+65 للحزمةIدون نقصان او زيادة في شدة الامتصاص. +45الى +60 للحزمةI مع نقصان في شدة الامتصاص. طيف يتحلل مع مرور الوقت . عصابة جديدة بين 320-335 .		4‘-OH 3-OH ، 4‘-OR 4‘-OH، 3 اورتوثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A او ثلاث هيدروكسيلات متجاورة على الحلقة B . 7-OH
NaOAc	+5الى +20 للحزمة II ازاحة صغيرة للحزمة II طيف يتحلل مع مرور الوقت .		7-OH . 7-OH مع مستبدل في الوضع 6 و (او) 8. 5،7،6 او 5,7,8 و 3، ‘3 4,3 ثلاثي الهيدروكسيل . 7-OR في حالةى فلافون -OH ‘4،فلافونول فقط
NaOAc+H_3BO_4	+5الى+10للحزمةI +12الى+36 للحزمةI		اورتوثنائي الهيدركسيل على الحلقة A اورتو ثنائي هيدروكسيل على الحلقةB
$AlCl_3$	+30الى+36 للحزمةI مقارنة بطيف $AlCl_3$+HCl. +20الى+40 للحزمة I مقارنة بطيف $AlCl_3$+HCl.		اورتو ثنائي هيدروكسيل على الحلقةB اورتوثنائي الهيدركسيل على الحلقة A اضافة الى اورتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .
$AlCl_3$+HCl	+35الى+55 للحزمةI. +17الى+20 للحزمةI. +50الى+60 للحزمةI .		5-OH . 5-OH مع وجود مجموعة اكسيجينية في الموضع 6 . 3-OH او 3,5 ثنائي هيدروكسيل .

الجدول 4: مختلف التاثيرات على طيفUV وتفسيراتها قبل وبعد اضافة الكواشف الختلفة

3- مطيافية الكتلة لدراسة المركبات الفلافونيدية

تعتبر مطيافية الكتلة من التقنيات التي تستعمل للتعرف على البنية الكميائية للفلافونيدات، وذلك من خلال التعرف على الوزن الجزيئي و مختلف الروابط في المركب الفلاففونيدي وذلك بدراسة مختلف الايونات الناتجة عن انشطاره، وهي لاتتطلب كميات كبيرة من المركب الفلافونيدي . وهي تعتمد على عدة طرق للتأين:

3-1 تقنيةالقذف الالكتروني (EI) [7] :

تستعمل هده التقنية لدراسة الفلافونيدات الاجليكونية ، وتستثنى الفلافونيدات الجليكوزيدية هذا لاحتوائها على مستبدلات سكرية التي لا تحمل الطاقةالقوية التي تتطلبها هذه التقنية. ويرتكز مبدا هذه التقنية على تطيير المركب في غرفة التاين في درجة حرارة عالية 100-300 ثم يقذف نحزمة من الالكترونات لتاينه وبالتالى نحصل على ايونات موجبة $M^{+\cdot}$.

**** حالة الاجليكونات :**

1- الفلافونات : حسبAudier [8] انكسار من نوع ديلز الدر عكسي ADR على مستوى الحلقة الغير متجانسة يؤدي الى ثلاث شضايا مميزة كما هو مبين في الشكل -3.

2- الفلافونولات : يتم على نفس النمط ، والشضايا المميزة مبينة في الشكل -.4

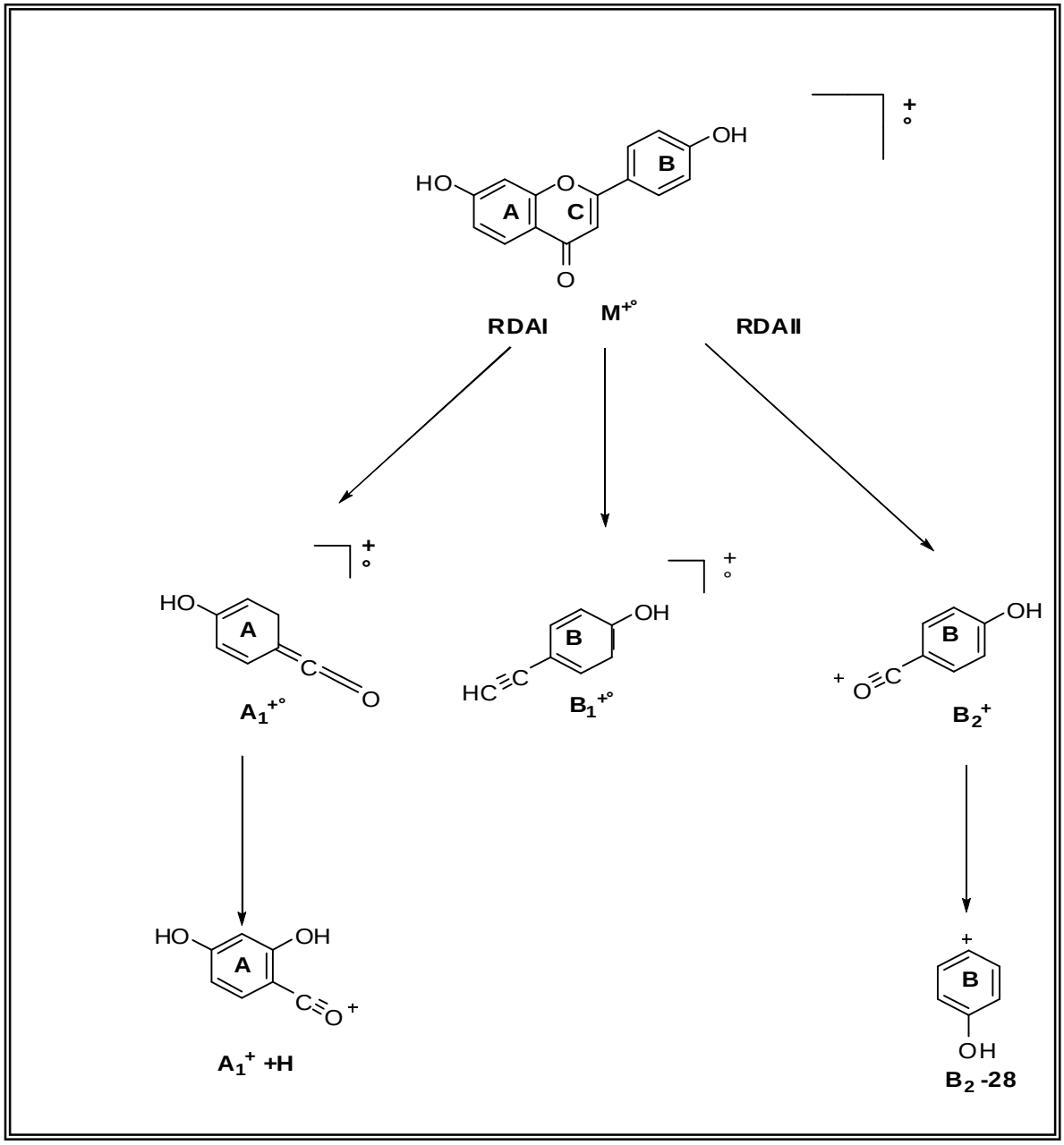
3- 2تقنية القذف السريع بالذرات (FAB) :

تسمح هذه التقنية الحديثة بتاين المركبات السهلة الا نكسار بالحرارة دون التسخين مما يسمح بثباتها و دراستها. وتطبيق هذه التقنيةعلى الجليكوزيدات يساعدنا على الحصول على معلومات مهمة فيما يخص الجزء السكري منها. اضافة الى ايونات التشضية العادية للفلافونيدات نحصل على قمم موافقة للايونات شبه الجزيئية من الشكل : $[M+Na]^+$، $[M+K]^+$، $[M-H]^+$، $[M+H]^+$، $[M-H+ Na]^+$ ويمكن اسنعمال هذه التقنيةFAB^+ او FAB^- ومن مميزاتها :

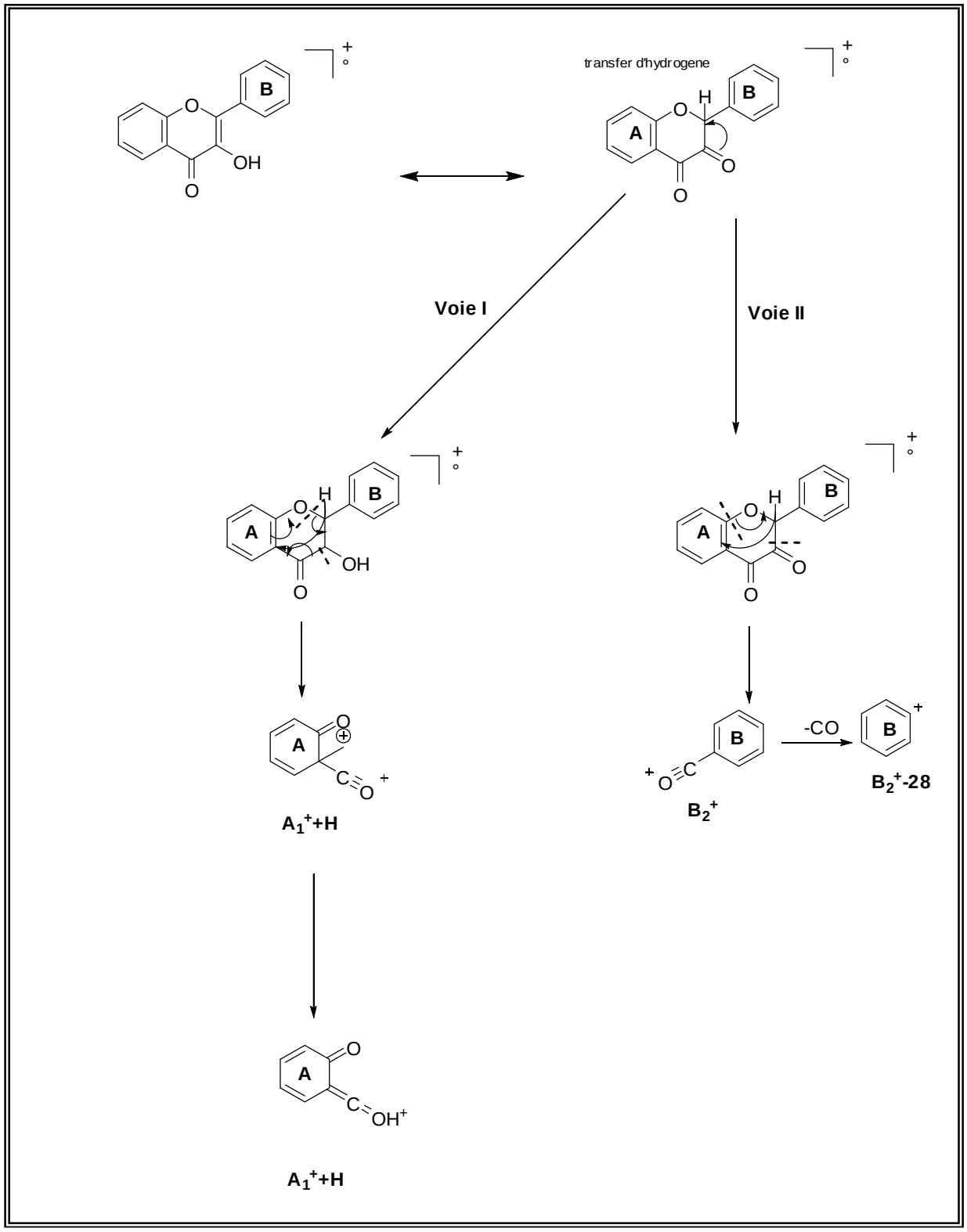
- تكوين ايونات المركب دون تسخين العينة .
- تكوين ايونات شبه جزيئية.
- تكوين ايونات موجبة وسالبة
- مدة حياة طويلة للعينة.

3-3**تقنية القذف الالكتروسبراي :**

وهي شبيهة بتقنيةFAB لكن وجه الاختلاف يكمن فقط في الطريقة العملية ، وتستعمل لدراسة المركبات الطيارة اضافة الى الجزيئات التى تنكسر مثل الجليكوزات O-glucoside .



الشكل - 3 : اهم الانشطرات التي تحدث على الفلافون.



الشكل -4: اهم الانشطارات التي تحدث على الفلافونول.

4-مطيافية الرنين النووي المغناطيسى:

وتعد من التقنيات الهامة لتحديد البنى الفلافونيدية لذا استعملت على نطاق واسع، و نذكر منها :

4-1- مطيافية الرنين المغناطيسي للبروتون R.M.N.^{1}H

هذه الاطياف لا تختلف عن الاطياف الخاصة ببروتونات المركبات العطرية التي تكون مستبدلة بمجموعات اكسيجينية، حيث تظهر البروتونات المجاورة لمجموعة هيدروكسيل او ميتوكسيل بازاحة كميائية تتراوح بين 6.6 الى7.6 ppm بينما تظهر البروتونات المحاطة بمجموعتي هيدروكسيل او ميتوكسيل عند حوالي 6.1 ppm.

وتجدر الاشارة الى انه اذا ماوجدت مجموعة اكسيجينية على الموضع 6، وكان الموضع رقم 5 غير مستبدل فان بروتون هذا الموضع يظهر عند قيمة 7.4 تقريبا ، وليس ضمن الدى 6.6-7.1ppm.
والجدول5.6.7: يبين الانزياح الكميائي لمختلف بروتونات الحلقتين A وB [3,9]

الجدول 5 : الانزياح الكميائي لبروتونات الحلقة A

H-8 (δ.ppm) (J.Hz)	H-7 (δ.ppm) (J.Hz)	H-6 (δ.ppm) (J.Hz)	H-5 (δ.ppm) (J.Hz)	نوع الفلافونويد
6.3-6.5 d 2.5		6.2-6.0 d 2.5	-	5.7-OH
6.4-6.1 d2.5		6.1-5.9 d2.5	-	5-OH و 7-OR R=Glu
6.3		6.3		5.6.7-OR ou 5,7,8-OR R=H وGlu
7.0-6.7 d2.5		7.1-6.7 dd2.5 ;9	8.0 d ;9	7-OR R=H وGlu

الجدول 6 : الازاحة الكميائية لبروتونات الحلقة B

(H-2'وH-6') (δ.ppm) (J.Hz)	(H-3'وH-5') (δ.ppm) (J.Hz)	نوع الفلافونويد
7.7-7.9 d ;8.5	6.5-7.1 d ;8.5	Flavone(4'-OR)
7.9-8.1 d ;8.5	6.5-7.1 d ;8.5	Flavonol(4'OR)

الجدول 7 : الازاحة الكميائية للبروتونات '2 و'6

نوع الفلافونويد	H-2' (δ.ppm) (J.Hz)	H-6' (δ.ppm) (J.Hz)
(3' ,4'-OH ;3'-OMe,4'-OH ; 3'-OH,4'OMe)Flavone	7.3-7.2 d2.5	7.5-7.3 dd2.5 ;8.5
(3' ,4'-OH ; 3'-OH, 4'OMe) Flavonol.	7.7-7.5 d2.5	7.9-7.6 dd2.5 ;8.5
(3' ,4'-OH ; 3'-OMe, 4'OH) Flavonol.	7.8-7.6 d2.5	7.6-7.4 dd2.5 ;8.5

بروتونات الحلقة C :

يعطي بروتون H-3 في الفلافون اشارة احادية حادة في المنطقة (6.2 الى6.4 ppm) وتتداخل مع اشارة بروتونات الحلقة A (H-6اوH-8). بروتونات الميثوكسيل تظهر مجموعة من الاشارات الاحادية محصورة بين (3.8 الى4.5 ppm).

2-4- مطيافية الرنين المغناطيسي للكربون $R.M.N.C^{13}$

اما فيما يخص اطياف الكربون لذرات الكربون الاروماتية، فانه لا يمكن من خلالها تمييز الهياكل الفلافونيدية المختلفة،الا انه يمكن التمييز بين هياكل هذه المركبات اعتمادا على اطياف الكربون للذرات 2 و3 و 4 ويتضح مكان الانزياح الكميائي للذرات 2 ،3 ،4 للفلافونات والفلافونولات في الجدول 8-[10]

الجدول- 8 : الازاحة الكميائية لذرات الكربون للفلافونات و الفلافونولات .

المركب الفلافونيدي	C-2	C-3	C-4
فلافونات	165-160.5	130.0-111.8	184.0-176.3
فلافونولات	150.0-145.0	139-136.0	177.0-172.0

ان اطياف الكربون استخدمت كذلك للتعرف على جليكوزيدات الفلافونات والفلافونولات حيث تؤدي الى معلومات مهمة عن طبيعة و مكان ارتباط الوحدة السكرية. ان الهدف الاساسي من تطبيق دراسة اطياف الكربون 13 هو :

- معرفة العدد الاجمالي لذرات الكربون للمركب .
- عدد كربونات السكر .
- عدد الكربونات المؤكسجنة داخل انوية الفلافونيدات .
- طبيعة ومكان ارتباط الوحدة السكرية .

الجدول 9 : يبن اهم الانزياحات بالنسبة لذرات الكربون في الفلافونيدات

طبيعة الكربون	الازاحة الكميائية بppm بالنسبة TMS
Aromatique C-CH_3	7-22
Aromatique O-CH_3 Orthosubstitué	59-63
3-Méthoxy flavone(3-O-CH_3)	58-59
Sucre CH_2OH, CHOH C-gflycoside(C-1)	56-78
5,7 Dihydroxyflavonoides (C-6 ,C-8)	90-110
Flavone(C-3)	90-135
Flavonol(C-3) 3-Méthoxyflavone(C-3)	135-144
Flavonol(C-2) 3-Méthoxyflavone(C-2)	136-158
Flavone(C-2)	155-168
Flavone(C-4) Flavonol(C-4) 3-Méthoxyflavone(C-4)	172-186

Bibliographie:

[1] Voirin, B.,1970.thèse de doctorat , universite de Lyon .

[2]Markham,K.R .,1982.téchniques of flavonoides hdentification.Academic press. London.

[3]Mabry ,T.J ;Markham,K.R ;Tomas ,M.B.1970.The systematic hidentification of flavonoids.Springer-Verga.Newyork,45-126.

[4] Randerath, K.,(1971) Chromathographie sur couche mince,Gauthier.

[5] Bate –Smith,E.C ;Westall, R.G. (1950)Biochem,biophys Acta,(4),427.

[6] Jurd, L.andGeissman,T.A.,(1956)J.OrgChem, ,21,395.

[7] Audier, H.,1966. etude des composes flavonoiques par spectrometrie de mass .

[8] Audier, H., 1966.etude des composes flavonoiques par spectrometrie de mass Bull.Soc.Chim.Fr 9,2892-2899.

[9] Markham,K,R.,Geiger,H.(1994)H NMR spectroscopy of flavonoids and their glycosides inhescadeuterodimethylsullfoxyde.In the flavonoids.Ed Harborne,J.B.(1993),Chapman and Hall, London.

[10] Markham,K,R.,Tenai,B., Geiger H.,Mabry,T.J.Carbon-13 NMR.Studies of flavonoids III.(1978)Tetrahedron,34,1389-1397.

الفصل الرابع

الدراسة الكيميائية لنبات

T.gallica

الدراسة الكميائية النباتية للنبتة *Tamarix gallica (L)*:

1- المادة النباتية:

تم جمع النبتة ***Tamarix gallica*** من منطقة ثليجان بولاية تبسة في شهرماي، وخلال فترة الازهار، حيث تم اقتلاع الاغصان الرقيقة، والاوراق اضافة الى الازهار. ثم اجريت لها عملية التجفيف بمخبر كمياء المنتجات الطبيعية والتحاليل الفيزيوكميائية و البيولوجية - جامعة قسنطينة، في مكان خاص بعيدا عن الضوء والرطوبة. بعد تجفيفها قمنا تفتيتها الى اجزاء صغيرة، ومن ثم قمنا بجمعها، واخذنا منها كمية 1كغ بغية دراستها.

2- الوصف النباتي لنبات *Tamarix gallica* :

شجرة معمرة صغيرة يصل ارتفاعها إلى المترين وتتكون من أغصان خشبية متفرعة وأوراق أبرية لونها أخضر فاتح ولها أزهار قرنفلية وثمار قرنفلية مخروطية الشكل. وتنبت في المناطق العالية الملوحة والسبخات وتزهر مرتين في السنة الأولى من أكتوبر إلى نوفمبر والثانية من فبراير إلى أبريل.

شجرة *T. gallica*

شجرة *T. gallica* خلال مرحلة الازهار

3- الوضع ضمن التصنيف النباتي (*Place dans la systematique*)

المملكة :	**Plantae.**
القسم :	**Magnoliophyta.**
الصنف :	**Magnoliopsida.**
الرتبة :	**Violales.**
العائلة :	**Tamaricaceae.**
الجنس :	***Tamarix***
النوع:	***Tamarix gallica.***

4- طريقة الاستخلاص :

بعد تنقية النبتة قمنا بجمع الاوراق، السيقان، والازهار قمنا بطحنها فتحصلنا على كمية 1 كغ . نقعت بعد ذلك فيخليط من الميثانول و الماءبنسبة (7 : 3) لمدة 36 ساعة، رشح المحلول و استقبل في دورق، ثم وضعت الرشاحة من جديد في الميثانول والماء مع مراعاة نفس النسبة، وهذا 4 مرات متتالية مع تجديد الخليط في كل مرة، وبعد ذلك جمعت المركزات الهيدروكحولية و ركزت في درجة حرارة 70^0م . فتحصلنا على مستخلص بني اللون يذاب في 800 ملل من الماء القطر المغلى ويترك لمدة ليلة ثم ثم يرشح باستعمال ورق الترشيح ، ويحتفظ بالراشح هذه العملية تمكننا من التخلص من الاتربة و بعض الركبات الليبوفيلية (كلوروفيل ، دهون نباتية ...).

يوضع المحلول في قمع الفصل ثم يضاف لـه700ملل من خلات الايثيل (Acetate déthyle) ويرج جيدا، ويترك لمدة ليلة كاملة بعدها تفصل الطبقة العضوية وتركز و تعاد العملية ثلاث مرات (300 مل 3x) . وتتحصلنا على مستخلص الاستات وزن فكان وزنه 9.23 غ.
الطبقة المائية الموجودة في قمع الفصل يضاف لها مذيب (n-Butanol) يرج الخليط ويترك لمدة 12ساعة تفصل لطبقة العضوية عن الطبق المائية ويركز، وتكرر العملية 3مرات (300 مل x 3).
تحصلنا على مستخلصالبوتانول وزن فكان وزنه 25.69 غ .

المخطط -1- يبن مختلف مراحل الستخلاص .

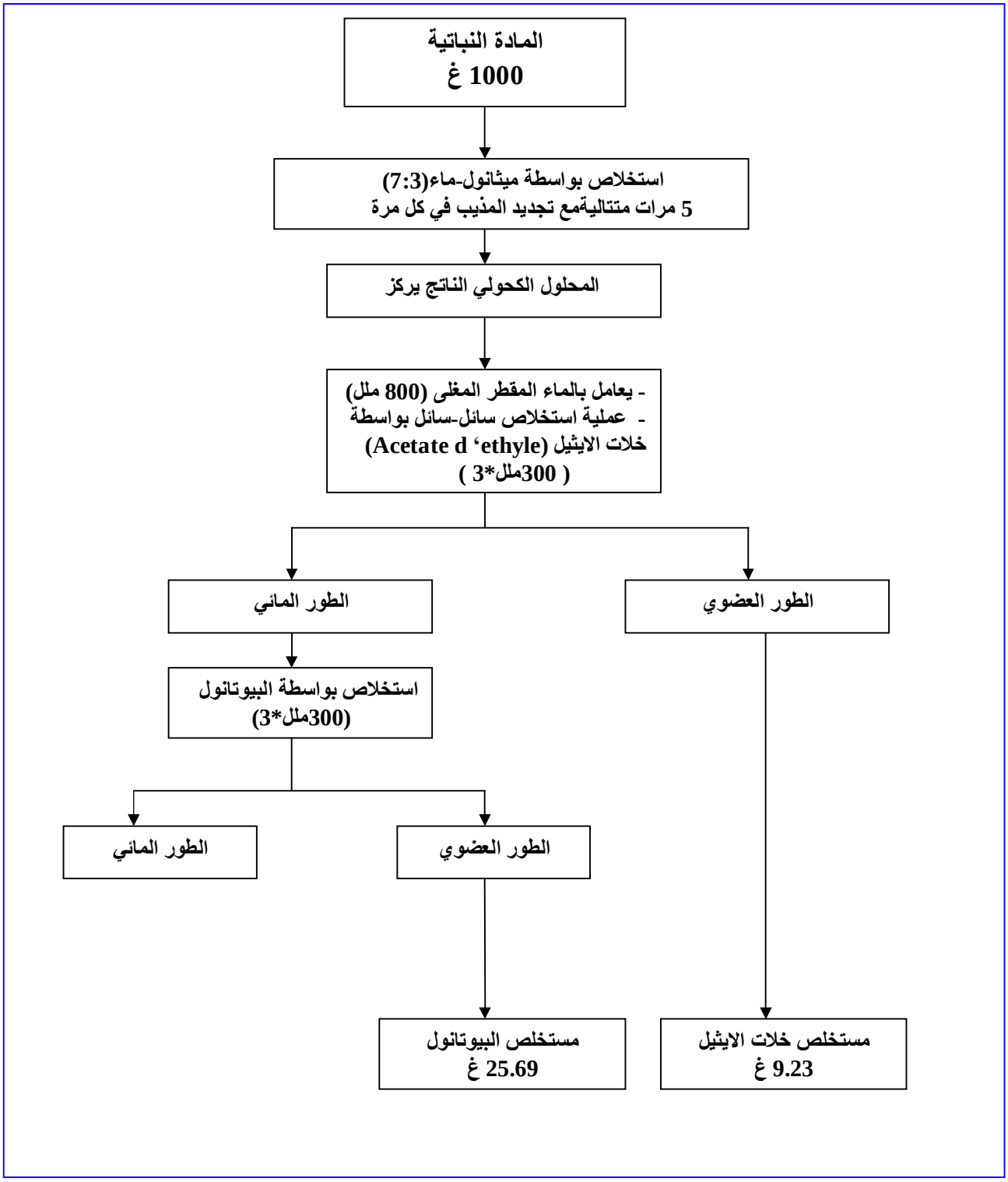
عملية الترشيح

عملية التركيز

عملية الترشيح للمستخلص بعد الماء المغلي

المستخلصات المتحصل عليها بعد الفصل

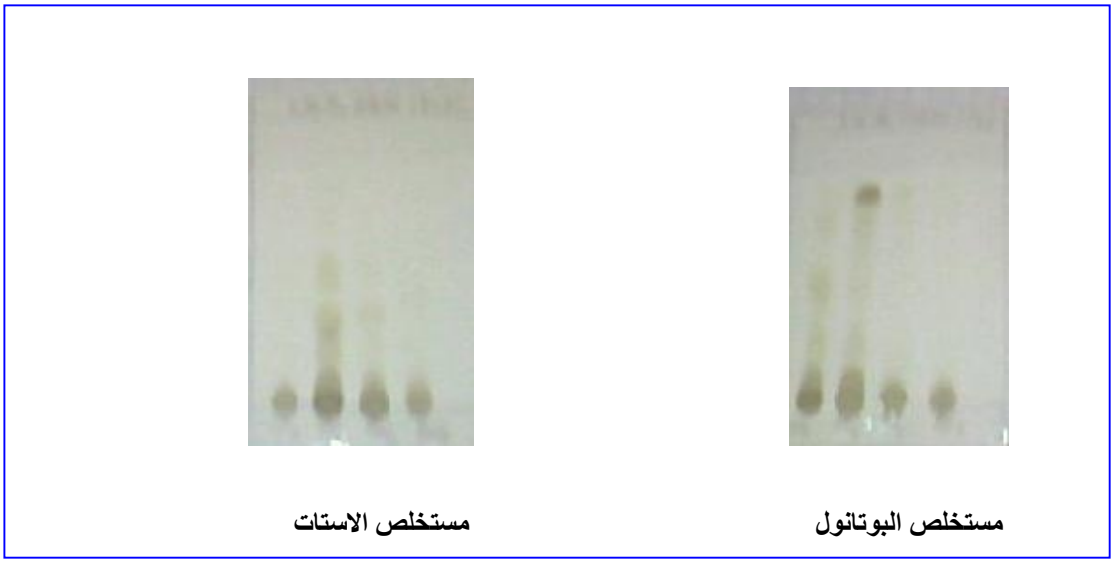
بعض الصور الفوتوغرافية لعملية الاستخلاص



المخطط -1- مختلف مراحل الاستخلاص لنبات *Tamarix gallica* .

5- عملية الفصل والتنقية

للشروع في عملية الفصل قمنا بإجراء بعض الاختبارات التحليلية على مستخلصي الاستات، و البوتانول.
قمنا بأخذ ورقة كروماتوغرافية تحليلية، وقمنا باختبار مستخلصي الاستات، و البيوتانول باستعمال النظام (CH_2Cl_2 / MeOH).
بعد ملاحظة الورقة تحت الأشعة فوق البنفسجية عند 365 نم، لاحظنا أن المستخلصين غنيين بالمركبات الفلافونيدية.



مستخلص البوتانول **مستخلص الاستات**

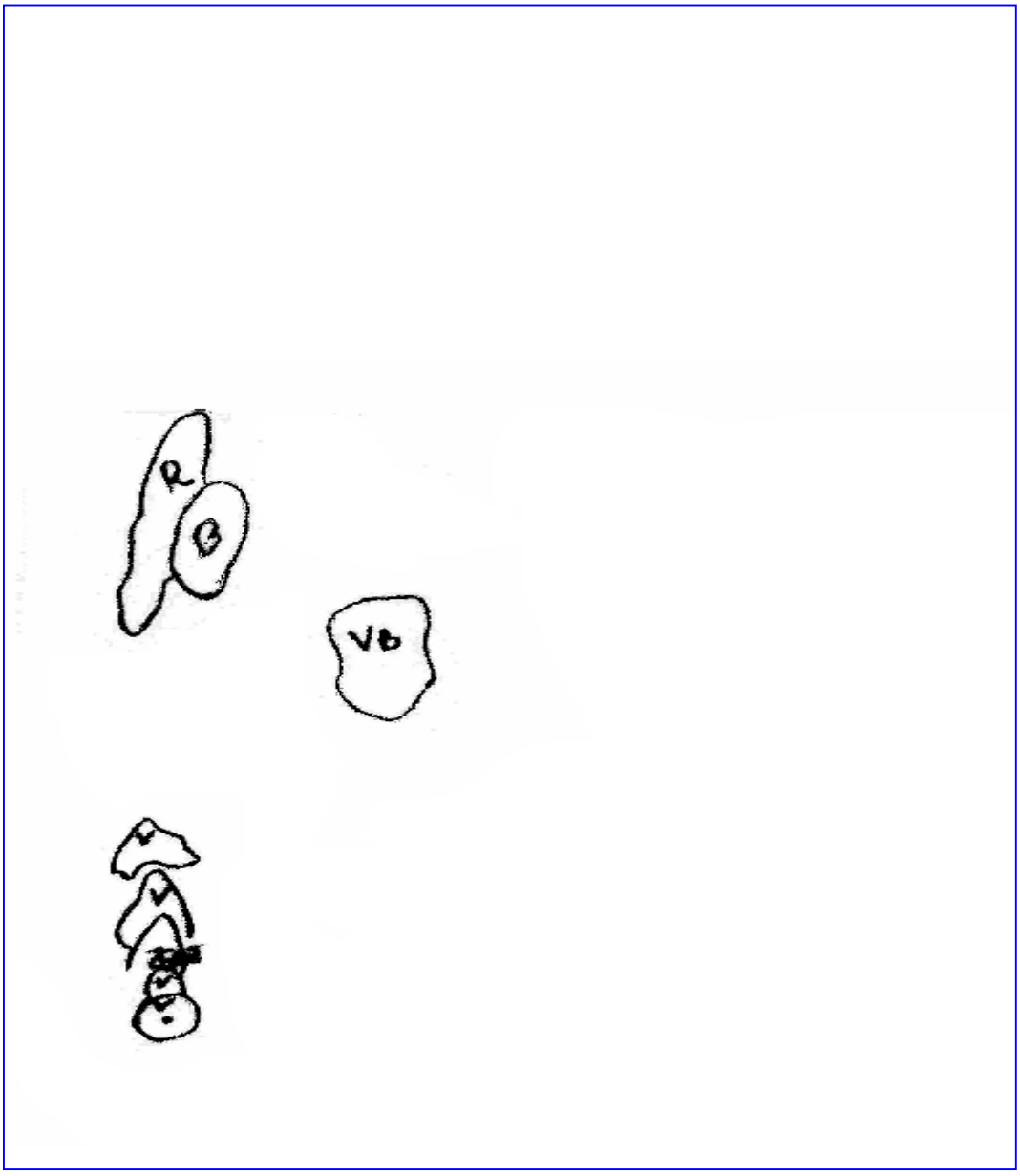
- كما قمنا كذلك بإجراء فحص تحليلي بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من متعدد الاميد DC.6 الثنائية البعد

البعد الأول (I) : 4:3:3 Toluène/ MeCOEt/MeOH

البعد الثاني (II): 13:3:3:1 H_2O/ MeCOEt /MeOH /$(AC)_2CH_2$

ثم قمنا برسم الخريطة الكروماتوغرافية لكلى المستخلصين باستعمال الأشعة فوق البنفسجية الموضحة في الشكلين 1 و2.

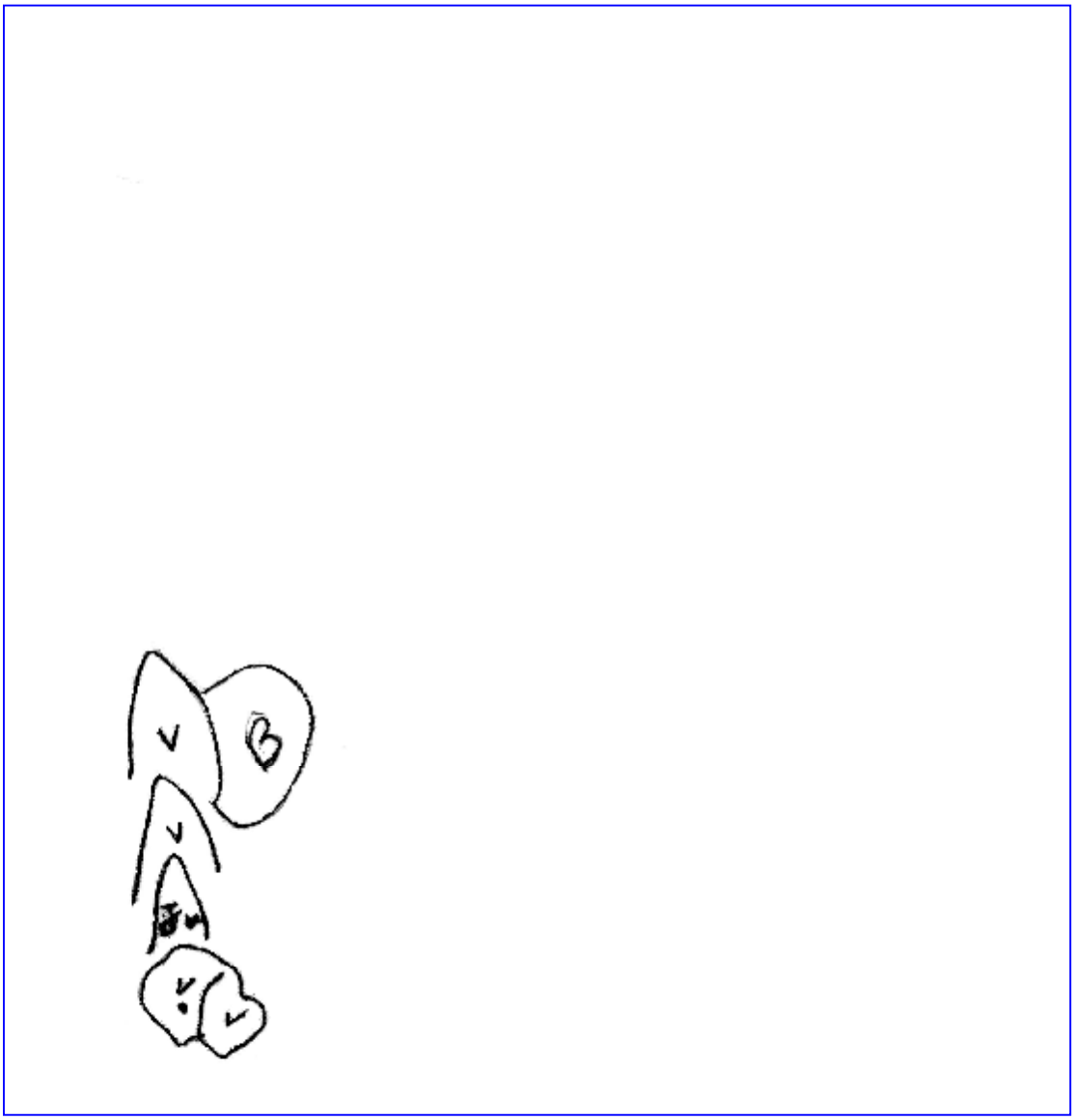
ومن خلال دراسة مقارنة تبين أن المستخلصين يحتويان على نسبة لاباس بها من المركبات الفلافونيدية، إضافة إلى هذا تبين انه لا توجد فوارق بين المستخلصين تستدعي دراسة مقارنة لكل مستخلص على حدا. كما تبين أن المركبات الفلافونيدية الملاحظة متداخلة فيما بينها، مما يقودنا إلى استخدام العمود الكروماتوغرافي لعملية الفصل.



الشكل -1 : الخريطة الكروماتوغرافية لمستخلص خلات الايثيل

SI

SII



الشكل -2 : الخريطة الكروماتوغرافية لمستخلص البيوتانول

SI

SII

1-5 فصل مركبات المستخلصين باستخدام العمود الكروماتوغرافي

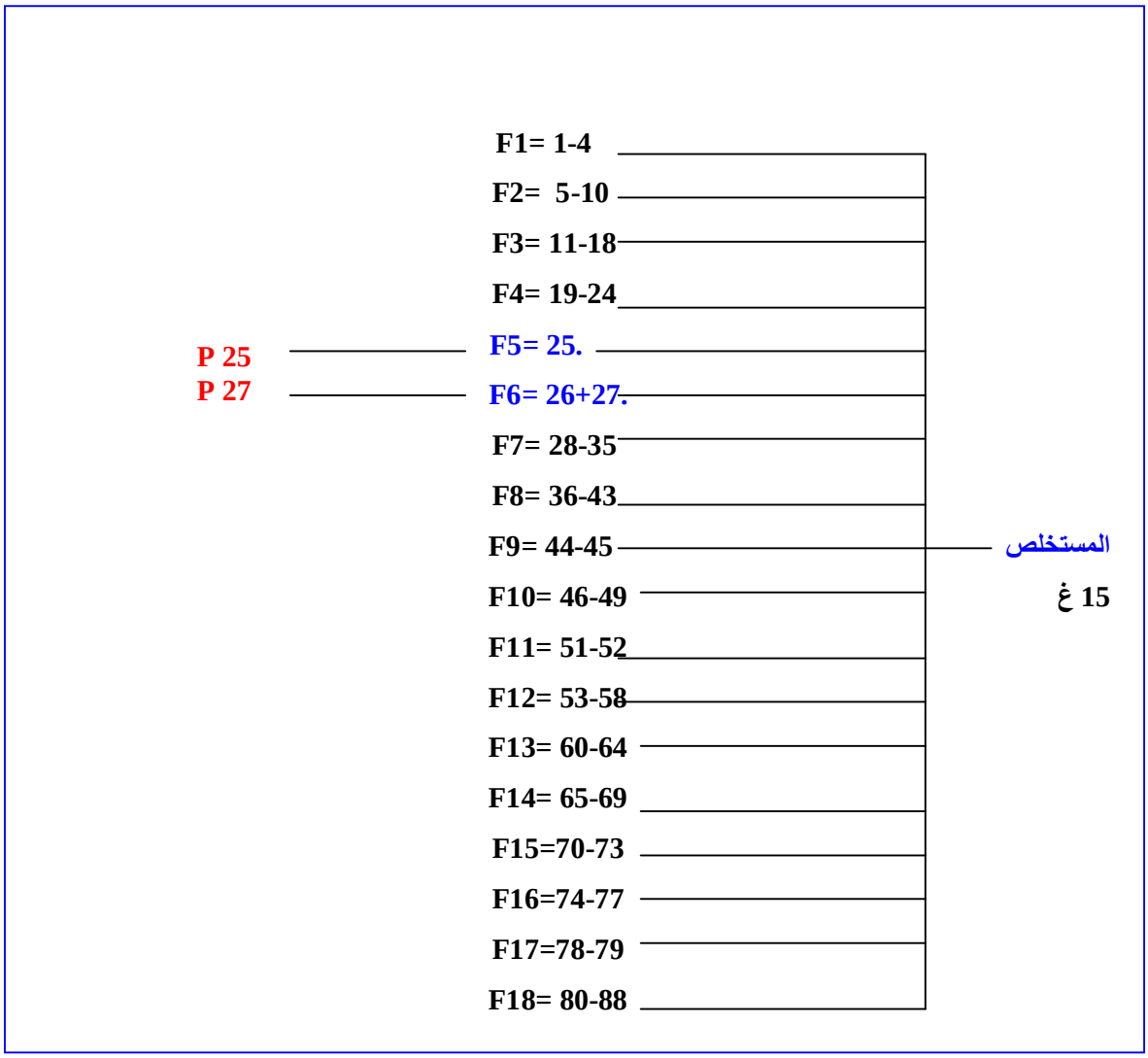
أخذنا كمية 15 غ من المستخلص، حيث أذيب في الميثانول ثم أضيفت له كمية صغيرة من متعدد الاميد ثم ركز لنتمكن في الأخير من الحصول على مسحوق وضع في أعلى العمود الكروماتوغرافي .

وتجدر الإشارة أن المملص المستخدم في عملية الفصل هو التولوين، حيث يكون في البداية 100% ثم يضاف الميثانول تدريجيا حتى الوصول إلى نسبة 100% من الميثانول .

تتم تتبع عملية الفصل باستعمال الأشعة فوق البنفسجية حيث يتم استقبال الكسور أسفل عمود الفصل فيتم تركيزها تحت ضغط منخفض . والجدول يبين الكسور المتحصل عليها :

رقم الكسر	Toluene%	MeOH%	الملاحظة قبل التركيز	الملاحظة بعد التركيز
8-1	100	0	لون شفاف يميل إلى الأصفر	تكون راسب اصفر
18-9	98	2	لون شفاف	اصفر شفاف مع تشكل حبيبات .
20-19	95	5	شفاف يميل الأصفر	اصفر يميل إلى الأخضر
25-21	90	10	لون اصفر	لون اصفر+راسب
36-26	85	15	لون اصفر على شكل زيت	اصفر +راسب
38-37	80	20	اصفر شفاف	اصفر مخضر
42-39	75	25	اصفر مخضر	اصفر
53-43	70	30	اصفر	برتقالي
68-54	65	35	اصفر شفاف	اصفر +راسب
75-69	60	40	اصفر شفاف	برتقالي+راسب
78-76	50	50	اصفر شفاف	برتقالي+راسب
81-79	40	60	اصفر شفاف	برتقالي+راسب
83-82	30	70	اصفر	اصفر +راسب
85-84	20	80	اصفر	برتقالي+راسب
88-86	0	100	اصفر	برتقالي+راسب

وللقيام بتجميع الكسور المتشابهة اعتمدنا على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية باستعمال النظام H_2Cl_2/Acétone بنسب (7:3) و(8:2) وكان الناتج كالأتي:

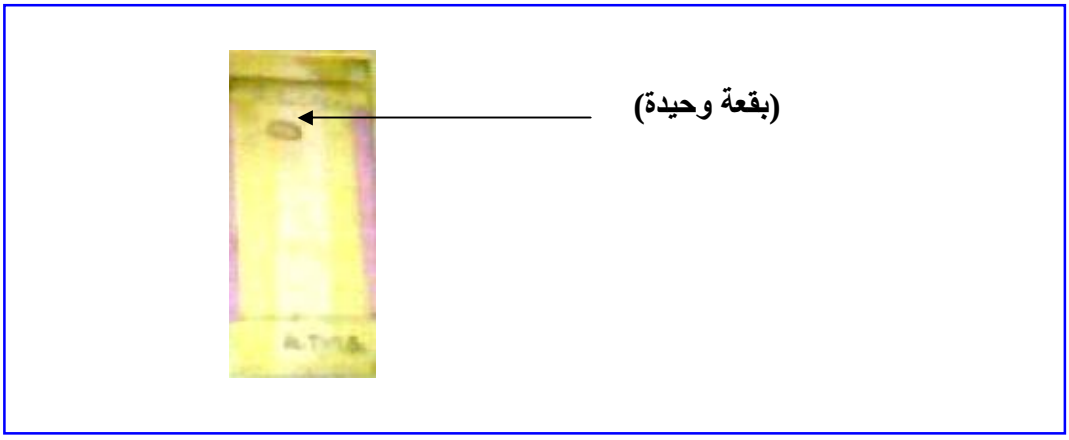


مخطط للكسور المتحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي

من خلال دراسة تحليلية تم اختيارنا على الكسرين F5 و F6 حيث لوحظ تشكل راسبين أصفرين تم غسلهما جيدا بمحاليل مختلفة : الهكسان، الأستون و الميثانول . ثم اختبرت نقاوتهما باستعمال النظام CH_2Cl_2/Acétone

الكسرين F5 و F6 تحصل عليهما بصورة نقية من العمود الكروماتوغرافي مباشرة. أما بقية الكسور(**F7**، **F18**) فهي عبارة خلائط معقدة ذات مركبات متداخلة وبالتالي صعبت عملية الفصل لذلك تركت لدراسة مستقبلية .

كما تحصلنا على مركب نقي(PAC) بعد عملية الاستخلاص مباشرة من طورخلات الايثيل، حيث لاحظنا تشكل راسب اصفر اللون اختبرت نقاوته باستعمال النظام (2: 8)Acetate d'ethyl/MOHe ، لوحظ تشكل بقعة وحيدة.



الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

1 التحليل البنيوي للمركب P 25.

1-1 السلوك الكروماتوغرافي .

الجملة	SI	SII	الملاحظة
قيمة R_f	0.8	0.046	
اللون الاستشعاعي	اصفر		اجليكون

الجمل .ك.ط . ر في متعدد الاميد . و المذيبات.

SI :(4 :3 :3)Toluene/MeCOEt/MeOH .

SII: (13 :3 :3 :1)H_2O/ MeCOEt/MeOH/$(AC)_2CH_2$.

2-1 مطيافية الأشعة فوق البنفسجي .

-الطيف المسجل في الميثانول :

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	363	261

الطيف المسجل في NaOH :

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	390	275

- الطيف المسجل في $AlCl_3$:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	425	269

- الطيف المسجل في$AlCl_3$+HCl:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	426 -421	270

- الطيف المسجل فيNaOAc:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	370	269

1-3 مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون

الإزاحة (δ.ppm)	التعددية (J.Hz)	التكامل	رقم الهيدروجين
7.13	d 7.1	2H	H3' - H5'
8.16	d7.1	2H	H2' - H6'
6.20	d2.1	1H	H6
6.42	d2.1	1H	H8
3.91	s	3H	$-OCH_3$

التعليل :

الطيف المأخوذ قي الميثانول يدل على وجود عصابتين : العصابة I عند 363 نم، والعصابة II عند 261 نم، حيث أن قيمة العصابة I مميزة للفلافونول (350-385 نم) حيث يكون C_3 مستبدل ب OH– حر ومما يؤكد هذه الفرضية هو اللون الأصفر المميز للمركب تحت UV.

قيمة ثابت الانحباس تدل على أن المركب اجليكون

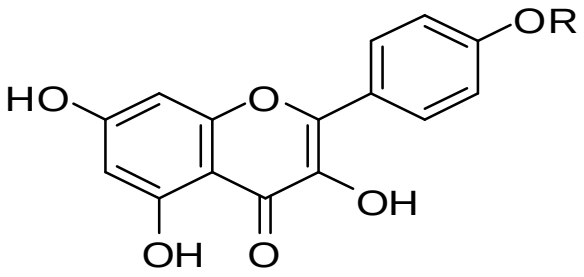
الإزاحة الباتوكرومية الناتجة من مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول (ب + 37نم) يدل على عدم وجودOH– حر في الموضع 4' أي أن الموضع مستبدل ب 4'-OR.

من مقارنة نسبة الانزياح للعصابة II في طيفNaOAc بطيف الميثانول فان الإزاحة ب +8 نم يدل على وجودOH– حر في الموضع 7.

الإزاحة الضعيفة الملاحظة عند مقارنة طيف $AlCl_3$+HCl مع $AlCl_3$ ب1نم تدل على عدم وجود النظام ارتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B غياب (Ortho di OH 3',4') .

عند مقارنة طيف $AlCl_3$+HCl بطيف الميثانول إزاحة باتوكرومية للعصابة I ب63 نم تدل على وجود OH– حر في الموضع 5.

وبناءا على هاته المعطيات يمكننا أن نقترح الصيغة التالية:



النتائج فى طيف البروتون تكون كالاتى :

إشارة ثنائية (J=7.1 Hz) عند 8.16 ppm وهي مميزة للبروتونين H6' - H2' .

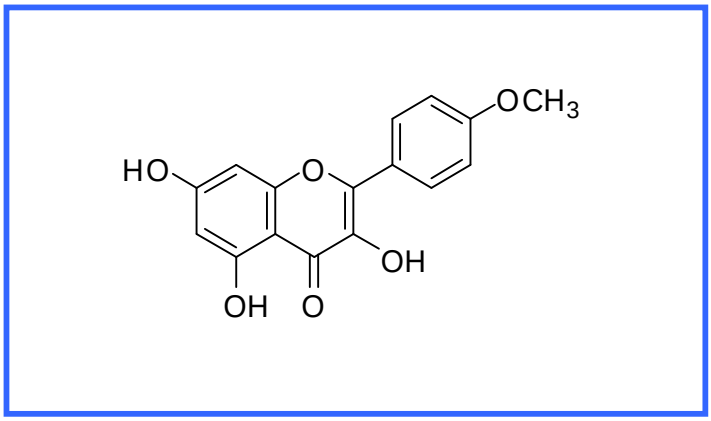
إشارة ثنائية (J=7.1 Hz) عند 7.13 ppm وهي مميزة للبروتونين H5' - H3' .

إشارة ثنائية (J=2.1 Hz) عند 6.42 ppm وهي مميزة للبروتون H8 .

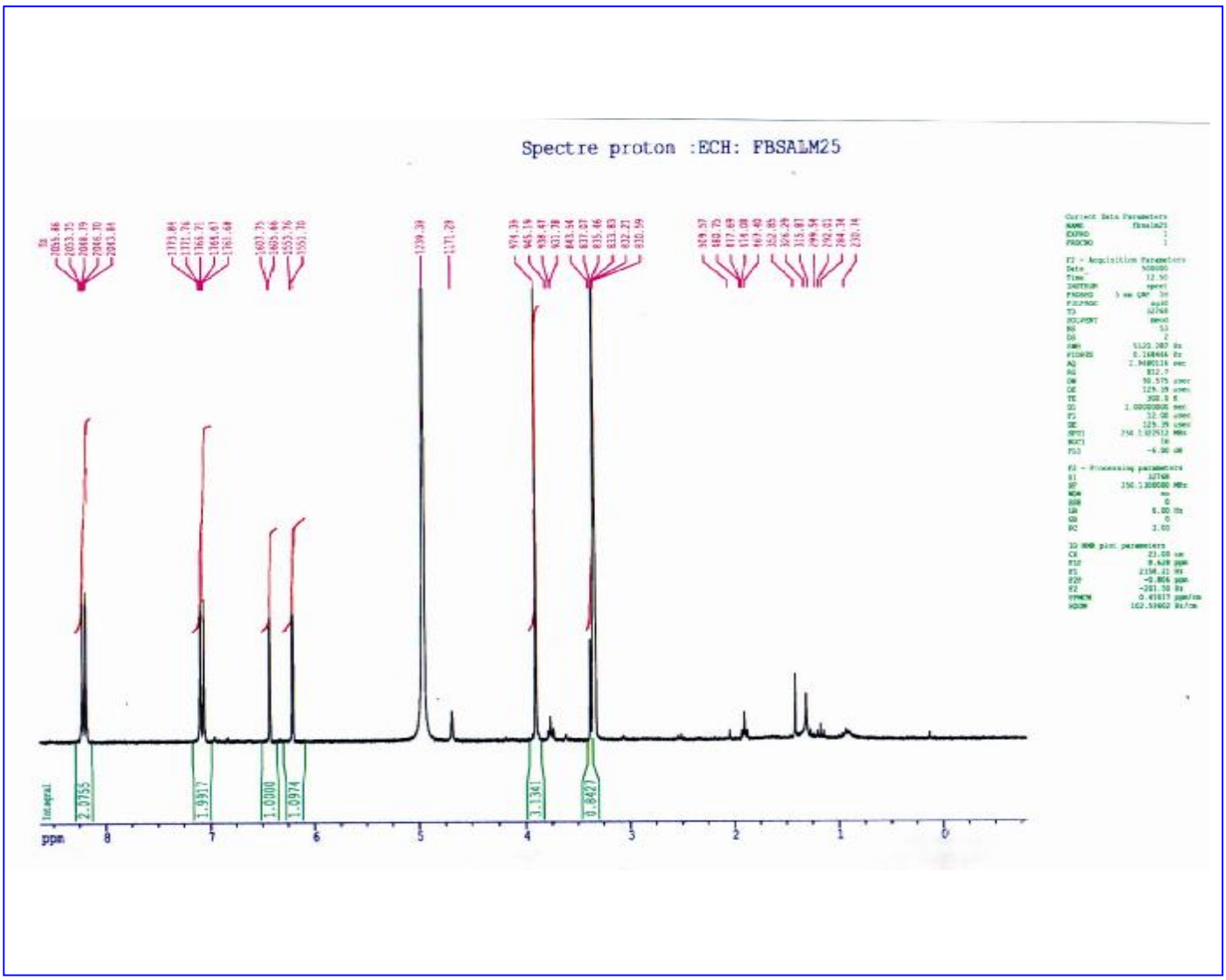
إشارة ثنائية (J=2.1 Hz) عند 6.20 ppm وهي مميزة للبروتون H6 .

إشارة أحادية 3.91ppm وهي مميزة للبروتونات مجموعة الميثوكسيل .

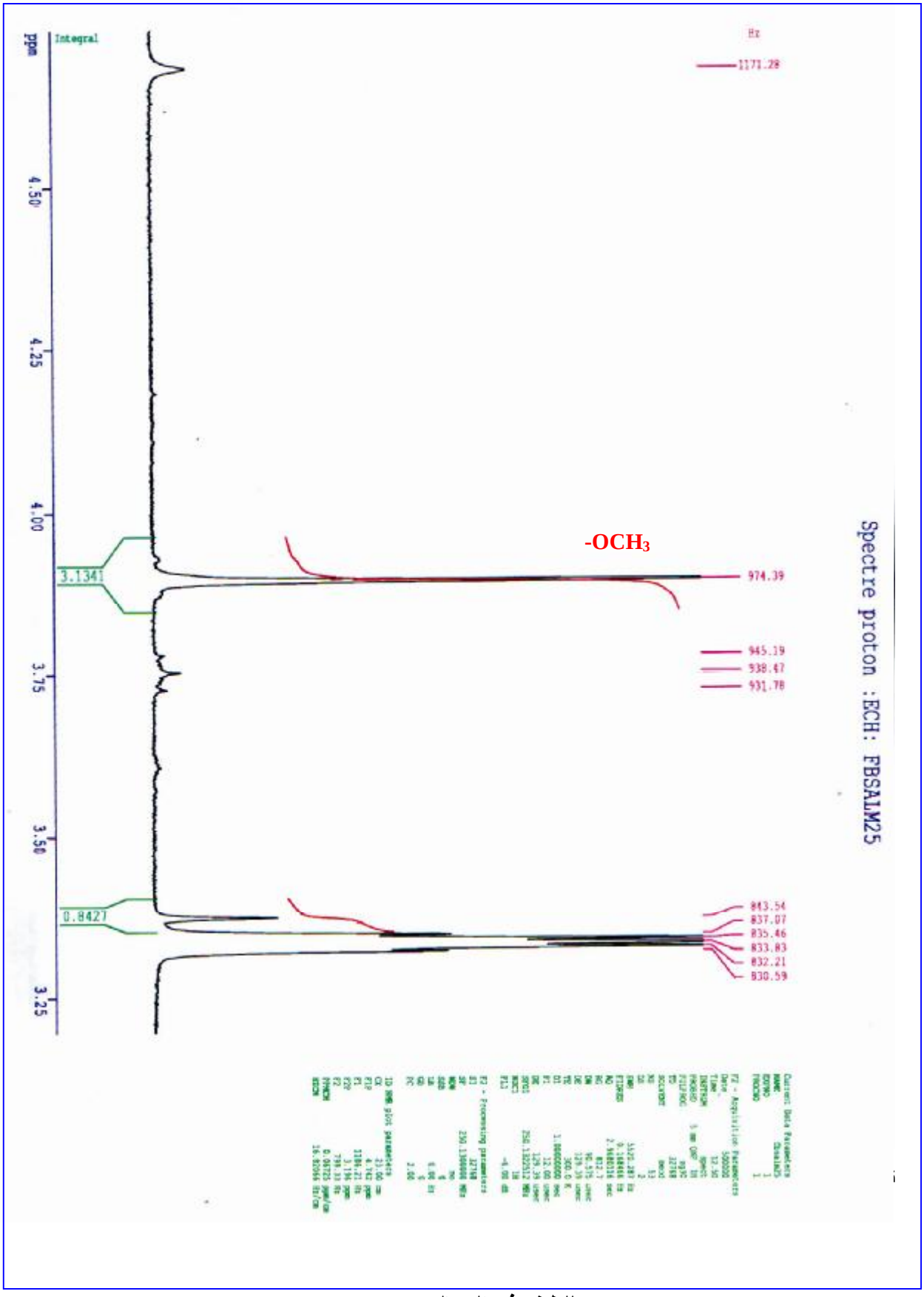
وعليه فان صيغة المركب تكون :



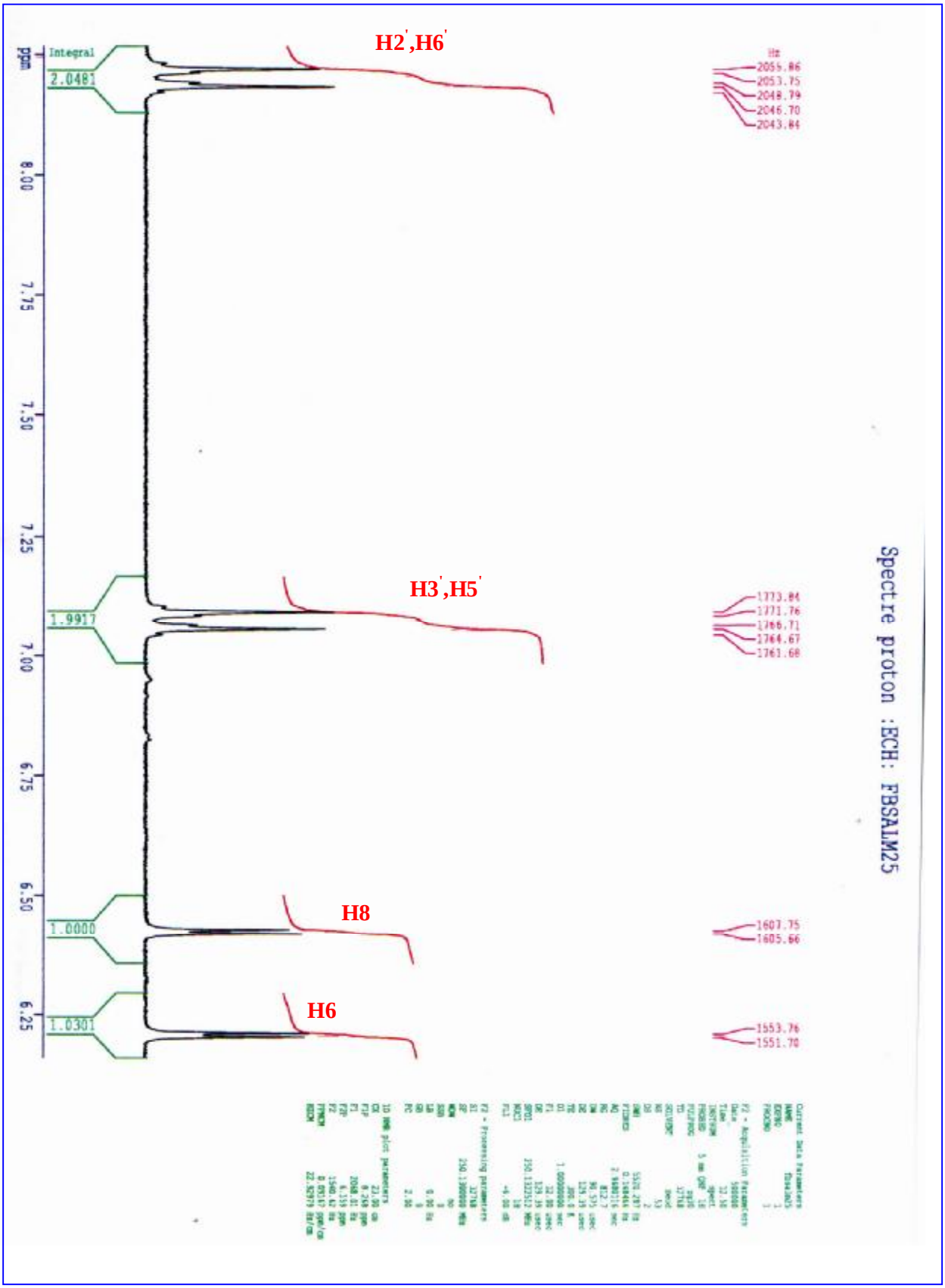
5,3,7 tri hydroxy-4' methoxy flavonol



الطيف(1) : طيف البروتون للمركب P 25 المسجل في الميثانول



تكبير للطيف في المجال (3-4ppm)



تكبير للطيف في المجال (6-9ppm)

1- التحليل البنيوي للمركب P 27.

1-1 السلوك الكروماتوغرافي .

الجملة	SI	SII	الملاحظة
قيمة R_f	0.76	0.033	
اللون الاستشعاعي	بنفسجي		اجليكون

الجمل .ك.ط . ر في متعدد الاميد والمذيبات .

SI :(4 :3 :3)Toluene/MeCOEt/MeOH .

SII: (13 :3 :3 :1)H_2O/ MeCOEt/MeOH/$(AC)_2CH_2$.

1-2 مطيافية الأشعة فوق البنفسجي .

- الطيف المسجل في الميثانول :

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	370	252

- الطيف المسجل في NaOH:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	398	275

- الطيف المسجل في $AlCl_3$ **:**

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	428-419	246-254

- الطيف المسجل في $HCl+AlCl_3$:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	428-418	247-254

- الطيف المسجل في NaOAc:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	371	251

3-1 مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون

الإزاحة (δ.ppm)	التعددية (J.Hz)	التكامل	رقم الهيدروجين
7.15	d8.5	1H	$H5^{'}$
7.75	d2	1H	$H2^{'}$
7.81	dd8.5, 2	1H	$H6^{'}$
6.25	d.2	1H	H6
6.48	d.2	1H	H8
3.81-3.15	s	12H	$-OCH_3$

التعليل :

الطيف المأخوذ قي الميثانول يدل على وجود عصابتين : العصابة I عند 370 نم، والعصابة II عند 252 نم، حيث أن قيمة العصابة I مميزة للفلافونول (350-385 نم) حيث يكون C_3 يكون مستبدل بOR- وهذه ما يؤكده اللون البنفسجي المميز للمركب تحت UV.

قيمة ثابت الانحباس تدل على أن المركب اجليكون

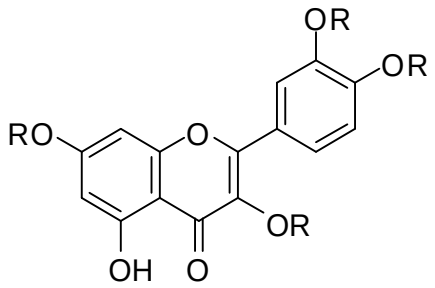
الإزاحة الباتوكرومية الناتجة من مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول (ب + 28نم) يدل على عدم وجودOH– حر في الموضع 4' أي أن الموضع مستبدل ب OR-4'.

من مقارنة نسبة الانزياح للعصابة II في طيفNaOAc بطيف الميثانول فان الإزاحة الضعيفة ب +1 نم يدل على وجودOR- في الموضع 7 هذا ما يثبته غياب العصابة الجديدة في المجال 320-335 في الطيف المأخوذ في NaOH.

غياب الإزاحة عند مقارنة طيف $AlCl_3$+HCl مع $AlCl_3$ +0 نم تدل على عدم وجود النظام ارتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B غياب (3',4' di OH).

عند مقارنة طيف $AlCl_3$+HCl بطيف الميثانول إزاحة باتوكرومية للعصابة I ب+58 نم تدل على وجود OH– حرفي الموضع 5.

وبناءا على هاته المعطيات يمكننا أن نقترح الصيغة التالية :



النتائج في طيف البروتون تكون كالاتي :

إشارة ثنائية (J= 8.5Hz) عند 7.15 ppm وهي مميزة للبروتون H5' .

إشارة ثنائية (J=2 Hz) عند 7.75 ppmوهي مميزة للبروتون H2' .

إشارة ثنائي- ثنائي (J=2 ،8.5 Hz) عند 7.81 ppm وهي مميزة للبروتون H6' .

إشارة ثنائية (J=2 Hz) عند 6.25 ppm وهي مميزة للبروتون H6 .

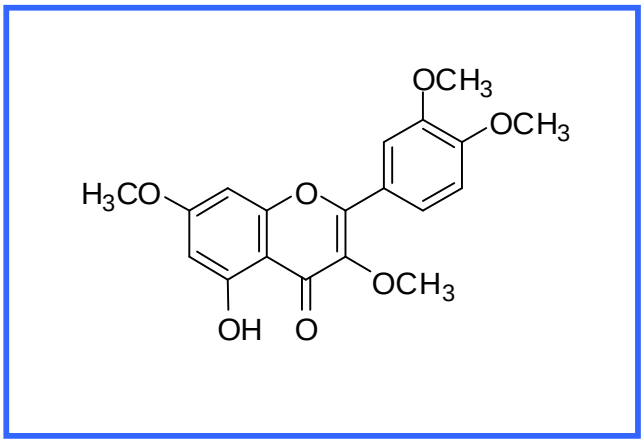
إشارة ثنائية (J=2 Hz) عند 6.48 ppm وهي مميزة للبروتون H8 .

إشارة أحادية 3.81 ppm وهي مميزة للبروتونات مجموعتي ميثوكسيل .

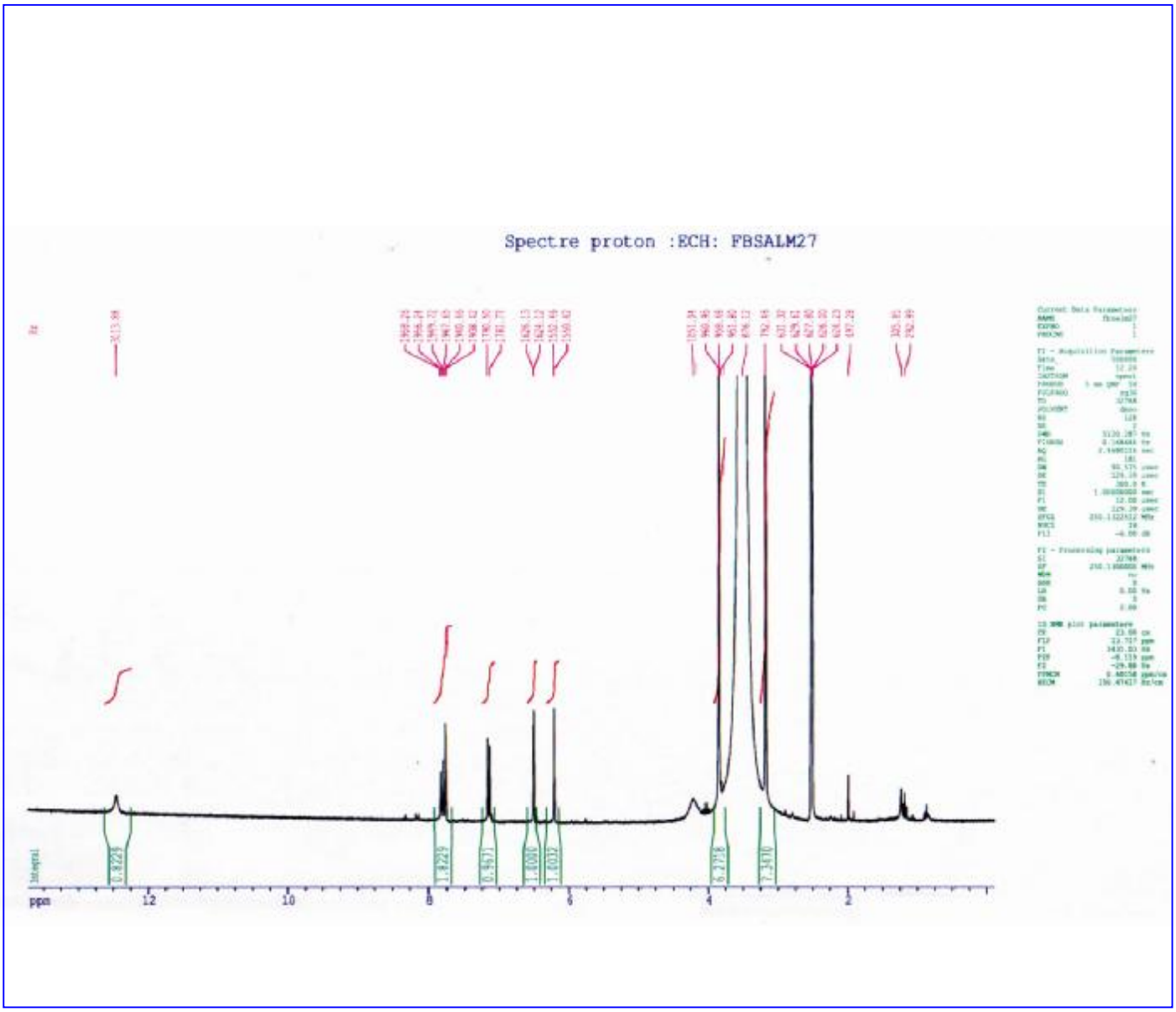
إشارة أحادية 3.15 ppm وهي مميزة للبروتونات مجموعتي ميثوكسيل .

إشارة أحادية 12.40 ppm وهي مميزة لبروتون مجموعة هيدروكسيل .

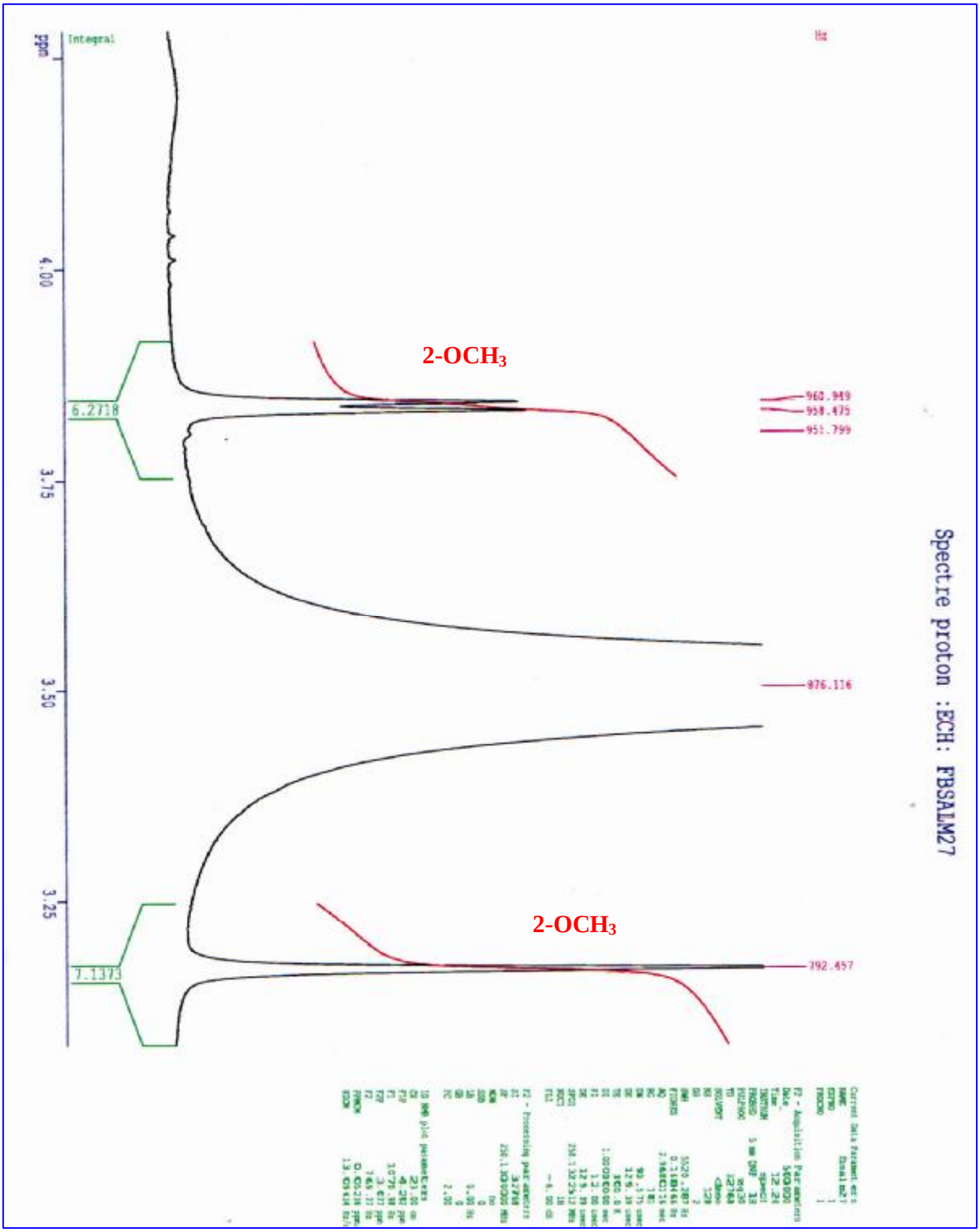
وعليه فان صيغة المركب تكون :



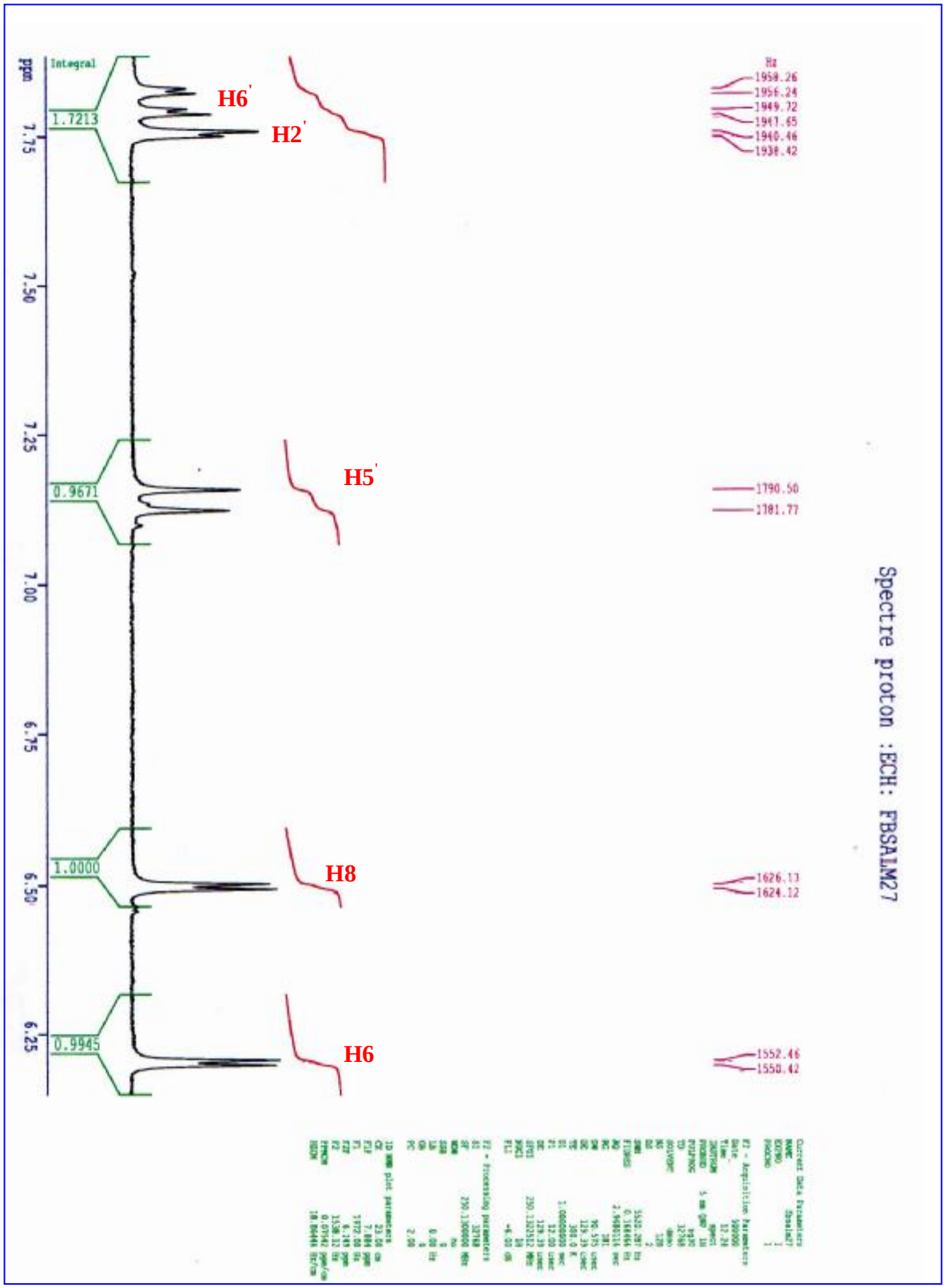
3',4',3,7 tétra methoxy-5 hydroxy flavone



طيف (2) : طيف البروتون للمركب P 27 المسجل DMSO-D6



تكبير للطيف(2) في المجال (2-4ppm)



تكبير للطيف(2) في المجال(6-8ppm)

الدراسة البنيوية للمركب PAC

1-1 السلوك الكروماتوغرافي

الجملة	SI	SII	الملاحظة
قيمة R_f	0.70	0.034	
اللون الاستشعاعي	بنفسجي		اجليكون

الجمل .ك.ط . ر في متعدد الاميد والمذيبات .

SI :(4 :3 :3)Toluene/MeCOEt/MeOH .

SII: (13 :3 :3 :1)H_2O/ MeCOEt/MeOH/$(AC)_2CH_2$.

2-1 مطيافية الأشعة فوق البنفسجي .

- الطيف المسجل في الميثانول :

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	344	268

- الطيف المسجل فيNaOH :

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	360	275

- الطيف المسجل في $AlCl_3$:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	396-346	276

- الطيف المسجل في$AlCl_3$+HCl:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	396-350	276

- الطيف المسجل في NaOAc:

الحزمة	I	II
طول الحزمة (nm)	346	269

3-1 مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون

الإزاحة (δ.ppm)	التعددية (J.Hz)	التكامل	رقم الهيدروجين
7	d9	2H	H3' - H5'
8.25	d9	2H	H2' - H6'
6.25	d2	1H	H6
6.42	d2	1H	H8
3.88-3.15	s	9H	$-OCH_3$

التعليل:

قيمة العصابة I مميزة للفلافون (344 نم) حيث يكون C_3 يكون مستبدل بOR- وهذه ما يؤكده اللون البنفسجي المميز للمركب تحت UV.

قيمة ثابت الانحباس تدل على أن المركب اجليكون.

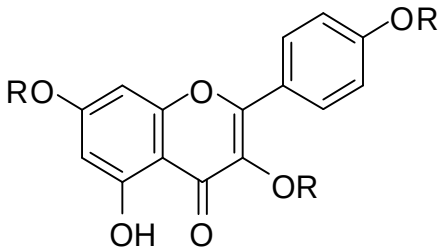
الإزاحة الباتوكرومية الناتجة من مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول (ب + 24نم) يدل على عدم وجودOH– حر في الموضع 4' أي أن الموضع مستبدل ب OR-4'.

من مقارنة نسبة الانزياح للعصابة II في طيفNaOAc بطيف الميثانول فان الإزاحة الضعيفة ب +1 نم يدل على وجود OR- في الموضع 7 هذا ما يثبته غياب العصابة الجديدة في المجال 320-335 في الطيف المأخوذ في NaOH.

غياب الإزاحة عند مقارنة طيف $AlCl_3$+HCl مع $AlCl_3$ +0 نم تدل على عدم وجود النظام ارتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B غياب (3',4' di OH).

عند مقارنة طيف $AlCl_3$+HCl بطيف الميثانول إزاحة باتوكرومية للعصابة I ب+53 نم تدل على وجود OH– حرفي الموضع 5.

وبناءا على هاته المعطيات يمكننا أن نقترح الصيغة التالية :



النتائج في طيف البروتون تكون كالاتي:

إشارة ثنائية (J=9 Hz) عند 8.25 ppm وهي مميزة للبروتونين H6' - H2' .

إشارة ثنائية (J=9 Hz) عند 7 ppm وهي مميزة للبروتونين H5' - H3' .

إشارة ثنائية (J=2 Hz) عند 6.42 ppm وهي مميزة للبروتون H8 .

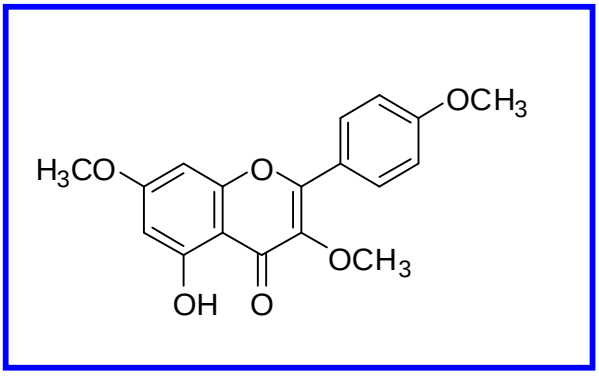
إشارة ثنائية (J=2 Hz) عند 6.25 ppm وهي مميزة للبروتون H6 .

إشارة أحادية 12.40 ppm وهي مميزة لبروتون مجموعة هيدروكسيل .

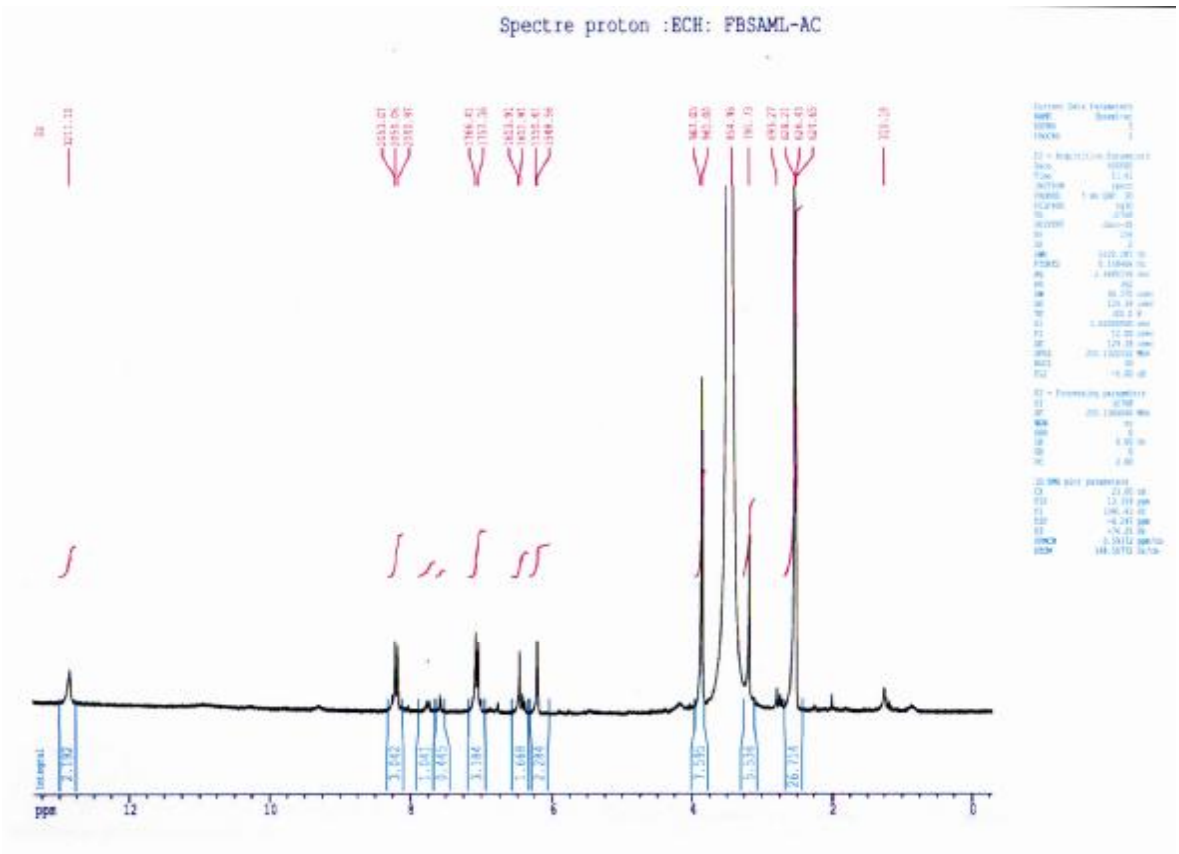
إشارة أحادية 3.88 ppm وهي مميزة للبروتونات مجموعة الميثوكسيل .

إشارة أحادية 3.15 ppm وهي مميزة للبروتونات مجموعة الميثوكسيل.

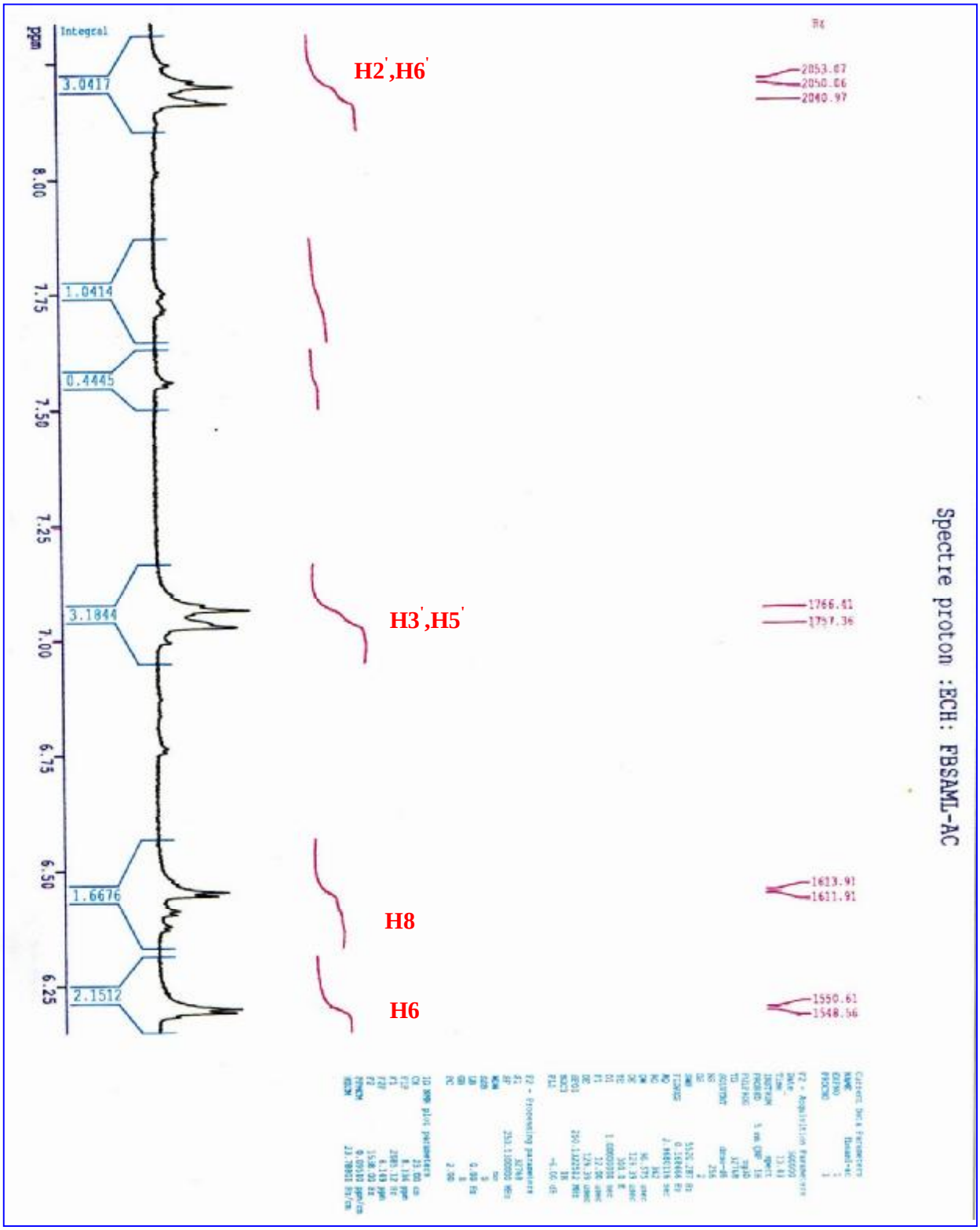
وعليه فان صيغة المركب تكون :



4',3,7 tri methoxy-5 hydroxy flavone



طيف (3) : طيف البروتون للمركب P AC المسجل DMSO-D6



تكبير للطيف(3) في المجال (6-9ppm)

الخاتمة :

إن بحثنا هذا تطرق إلى دراسة مركبات الايض الثانوي الفلافونيدي لنبتة تنتشر في الشمال الافريقى وبالخصوص في الجزائر، وتنتمي إلى العائلة الاثلية (Tamaricaceae) وهي نبتة (***Tamarix gallica*).**

حيث كان الهدف من بحثنا هو تحيد البنى الكيميائية للمركبات الفلافونيدية ، من خلال استخدام طرق الاستخلاص و لطرق الكروماتوغرافية.

وتم التعرف على مختلف البنى باستخدام الطرق التحليلية الفيزيائية(مطيافية الأشعة فوق البنفسجية و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي)أما الطرق الكيميائية فتتمثل في دراسة الخواص الكروماتوغرافية.

وقد تمكنا من عزل ثلاث مركبات فلافونيدية اجليكونية :

3',4',3,7 tetra methoxy-5 hydroxy flavone

3,5,7 tri hydroxy- 4‘methoxy flavonol

4',3,7 trimethoxy-5 hydroxy flavone

هذه المركبات الثلاثة تم فصلها لأول مرة عند النوع ***Tamarix gallica***وبالنسبة للمركب 1 فقد تم عزله لأول مرة عند الجنس***Tamarix***

ملخــص :

فصل وتحديد فلافونيدات نبتة *Tamarix gallica*

إن البحث الذي قمنا به يهتم بفصل ودراسة بنى المركبات الفلافونيدية المتواجدة في المستخلص الميثانولي لنبات (***Tamarix* gallica**) الذي ينتمي إلى العائلة (***Tamaricaceae***) .فبعد الاستخلاص مباشرة للطور استات تحصلنا على مركب فلافونيدي. وبعد عملية الفصل باستعمال العمود الكروماتوغرافي لمتعدد الاميد تمكنا من تحيد فلافونيدين باستعمال التقنيات الفيزيوكميائية للتحليل ، كتقنية الرنين النووي المغناطيسي و تقنية الأشعة فوق البنفسجية.

الفلافونيدات المتحصل عليها هي :

3',4',3,7 tetra methoxy-5 hydroxy flavone

3,5,7 tri hydroxy- 4‘methoxy flavonol

4',3,7 trimethoxy-5 hydroxy flavone

الكلمات المفتاحية : ***Tamarix gallica* , flavonoids ,*Tamaricaceae***

Résumé :

Séparation et determination les flavonoides de Tamarix gallica

Notre travail, s'intéresse à la séparation et l'etude structurale des flavonoides contenus dans l'extrait Methanolique de la plante Tamarix gallica (Tamaricaceae Apres l'extraction de la phase acétate nous avons obtenu un flavonoide, et après la séparation sur colonne chromatographique de polyamide nous avons déterminé la structure de deux autre flavonoides en utilisant les techniques physique et chimiques d'analyse notamment la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire et la spectroscopies ultraviolette.
Les flavonoides obtenues sont :

3',4',3,7 tetra methoxy-5 hydroxy flavone
3,5,7 tri hydroxy- 4'methoxy flavonol
4',3,7 trimethoxy-5 hydroxy flavone

Mots clés: ***Tamarix gallica* , flavonoids ,*Tamaricaceae***

Abstract :

Separation and determination of flavonoids from Tamarix gallica

Our work interested to the separation and structural identification of the flavonoids contained in the Methanolic extract of Tamarix gallica(Tamaricaceae After the separation of acetate phase we obtained a pure flavonoid , and after separation on poly amide column , we determined the structure of two flavonoids by physical and chemical technics in practical nuclear magnetic resonance spectroscopy and ultraviolet spectroscopy.

The flavonoids obtained are :

3',4',3,7 tetra methoxy-5 hydroxy flavone
3,5,7 tri hydroxy- 4‘methoxy flavonol
4',3,7 trimethoxy-5 hydroxy flavone

Key words : Tamarix gallica , flavonoids ,Tamaricaceae

ملخــص :

فصل وتحديد فلافونيدات نبتة *Tamarix gallica*

إن البحث الذي قمنا به يهتم بفصل ودراسة بنى المركبات الفلافونيدية المتواجدة في المستخلص الميثانولي لنبات (***Tamarix* gallica**) الذي ينتمي إلى العائلة (***Tamaricaceae***) .فبعد الاستخلاص مباشرة للطور استات تحصلنا على مركب فلافونيدي. وبعد عملية الفصل باستعمال العمود الكروماتوغرافي لمتعدد الاميد تمكنا من تحيد فلافونيدين باستعمال التقنيات الفيزيوكميائية للتحليل ، كتقنية الرنين النووي المغناطيسي و تقنية الأشعة فوق البنفسجية.

الفلافونيدات المتحصل عليها هي :

3',4',3,7 tetra methoxy-5 hydroxy flavone

3,5,7 tri hydroxy- 4‘methoxy flavonol

4',3,7 trimethoxy-5 hydroxy flavone

الكلمات المفتاحية : ***Tamarix gallica* , flavonoids ,*Tamaricaceae***