



بسم الله وبعد: تم الرفع بحمد الله من طرف

بن عيسى قرمزي 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** مجاناً 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 فر بما يصلك ملفي وأنا في التراب

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

ملاحظة: أي طالب أو باحث يضح نسخاً لصقاً لكامل المذكرة ثم يزعم أن المذكرة له

فحسبنا الله وسوف يسأل يوم القيامة وما همدنا إلا النفع حيث كان لا أن تنبئ أعمال

الغير والله الموفق وهو نعم المولى ونعم الوكيل....

لا تنسوا الصلاة على النبي صلى الله عليه وسلم

صلى على النبي – سبحانه الله وبحمده سبحانه الله العظيم-

بن عيسى قرمزي 2013

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة منتوري قسنطينة

قسم الكيمياء

كلية العلوم الدقيقة

رقم الترتيب

مذكرة

رقم التسلسل

مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم

تخصص تحاليل فيزيوكيميائية و كيمياء عضوية

شعبة كيمياء النبات

تحت عنوان

**فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي للمستخلص البوتانولي لنبات
"Haloxylon scoparium (Chenopodiaceae) "**

تحت إشراف الأستاذة:

من تقديم الطالب:

وهيبة بومعزة

لموى رضوان

لجنة المناقشة:

رئيسة
مشرفة
ممتحنا
ممتحنة
ممتحنا

أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة
أستاذة محاضرة بجامعة منتوري قسنطينة
أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة
أستاذة محاضرة بجامعة منتوري قسنطينة
أستاذة محاضر بجامعة منتوري قسنطينة

فضيلة بن عياش
وهيبة بومعزة
سمير بن عياش
رتيبة مكيو
رمضان صغيري

الإهداء

إلى عائلتي الكريمة

إلى كل أساتذتي

إلى كل زملائي و أفراد دفعتي

التشكرات

الحمد لله على كل نعمه الصغيرة منها قبل الكبيرة، الحمد لله الذي وفقني لإنجاز هذا العمل.

أتقدم بالشكر الخاص إلى الأستاذة وهيبه بومعزة التي كانت لي المشرف و الموجه و المعين خلال مراحل إنجاز هذا العمل.

كما أتقدم بتشكراتي الخالصة للسيدة الغالية فضيلة بن عياش أستاذة بجامعة منتوري على تفضلها بقبول رئاسة لجنة مناقشة هذه الرسالة التي لم تبخل علي بتوجيهاتها و نصائحها القيمة و الثمينة طوال مراحل إنجازنا لهذا العمل .

أتقدم بالشكر و الثناء و العرفان للأستاذ سمير بن عياش على التوجيهات و النصائح التي قدمها إلي خلال كل مراحل إنجاز هذا العمل.

كما أعبر عن عظيم امتناني و تقديري إلى كل من الأساتذة : الدكتور رمضان صغيري و الدكتورة رتيبة مكيو و زهية بلوم على النصائح و المساعدات التي قدمها لي خلال إنجاز هذا العمل

كما أتوجه بالشكر إلى الأستاذ رمضان صغيري و الأستاذة رتيبة مكيو على قبولهما المشاركة في لجنة المناقشة.

كما أتقدم بالشكر الخالص إلى جميع أفراد مخبرنا على ما قدموه لي من نصائح و مساعدات .

كذلك إلى كل أفراد دفعتي متمنيا لهم النجاح و التوفيق في جميع الميادين.

شكرا لكل من ساعدني و لو بالكلمة الطيبة .

الفهرس

مقدمة تاريخية

أهمية النباتات الطبية تجارياً وإقتصادياً

تأثير وقت جمع النبات على المادة الفعالة

فساد النباتات الطبية = Deterioration of Medicinal Plants

الفصل الأول:

الفلافونيدات

- 1- تعريفها 9
- 2- خواصها 10
- 3- طرق تحضير الفلافونيدات 10
- 4- الاصطناع الحيوي 12
- 5- تثبيت المجموعات 19
- 5-1- تثبيت مجموعات الهيدروكسيل 19
- 5-2- تثبيت مجموعات الميثيل 19
- 5-3- تثبيت جزيئات السكر 20
- 6- أهمية الفلافونيدات 22
- 6-1- الدور البيولوجي 22
- 6-2- الدور الفيزيولوجي 23
- 6-3- الدور العلاجي 23

الفصل الثاني

طرق إستخلاص, فصل وتنقية المركبات الفلافونيدية

- 1- طرق الاستخلاص 26
- 2- طرق الفصل والتنقية 29
- 2-1- الفصل 29
- 2-1-1 - كروماتوغرافيا العمود (CC) 29
- 2-1-2 - كروماتوغرافيا الورقة الرقيقة (CP) 30
- 2-1-3 - كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية (CCM) 30
- 2-1-4 - كروماتوغرافية نظام السائل عالي الأداء (HPLC) 31

- 32.....التنقية 2-2-2
- 32.....التنقية على عمود من متعدد الأמיד SC₆ 1-2-2
- 32.....التنقية على عمود من السيفاداكس 2-2-2
- 33.....الدراسة البنوية للمركبات الفلافونيدية
- 33.....الخصائص الكروماتوغرافية
- 33.....1. اللون الاستشعاعي
- 34.....2. معامل الاعاقة Rf
- 36.....طرق التحليل الطيفي :
- 36.....أ- مطيافية الأشعة فوق بنفسجية
- 42.....ب- مطيافية الكتلة
- 46.....ج- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي
- 51.....د- الإمهاء الحمضية

الفصل الثالث

الدراسة الكيميائية النباتية لنبته *Haloxylon scoparium* (Chénopodiaceae)

- 55.....عائلة (chenopodiacees):
- 56.....الأهمية الاقتصادية لعائلة (chenopodiacea)
- 56.....وصف النبته
- 57.....إستخلاص النبته
- 59.....الفصل والتنقية
- 61.....معالجه الكسور المتحصل عليها

الفصل الرابع

النتائج الكيميائية و المناقشات لنبته *Haloxylon Scoparium* (Chénopodiaceae)

- 64.....النتائج الكيميائية و المناقشات لنبته
- 64.....I-1- دراسة للمركب H42
- 78.....I-2- دراسة للمركب H22
- المراجع

الخاتمة
الملخص

I-مقدمة

I-1-مقدمة تاريخية

خلال الآلاف العديدة من السنين التي عاش فيها الإنسان على وجه الأرض جرب النباتات التي تنمو من حوله وخبر صفاتها وأحوالها باحثاً عن الطعام في معظم الأحيان، لكنه تعلم أيضاً خلال تذوقه للنباتات أن بعضها يسبب له المرض وبعضها الآخر يمكن أن يشفيه ويجتث الألم منه وقد أعطى الله سبحانه وتعالى الحيوان خصائص غريزية يهتدي بها إلى هذه النباتات دون مرشد أو دليل. مما جعل الإنسان يفكر كيف يستفيد من هذه الغريزة ومن تلك الخصائص وذلك بمرافقة الحيوانات وتتبعها في مأكليها ومشربها كلما احتاج إلى الدواء أو الغذاء. وفي الصين ظهر عام 2700 ق[1]. م أول كتاب طبي للاعشاب وأصبح هذا الكتاب أساساً لجميع المعلومات الصينية التي كتبت بعد ذلك عن النباتات ، وأشهرها كتاب الاعشاب الكبير The Great Herbal [1]. وفي بابل القديمة كانت المعلومات التي تتعلق بالنباتات المستعملة في الطب تسجل على الاسطوانات الحجرية والطينية وهناك الواح مدون عليها ما يزيد على 250 نباتاً من بينها الكاسيا والهندباء والكمون والكرم والمر. وقانون حمورابي المحفور على الصخر والذي يرجع تاريخه إلى 1728 ق. م ينص على استعمال النباتات الطبية لشفاء الكثير من الأمراض. وفي مصر تدل الكتابات القديمة والصور الملونة على جدران المعابد والقبور وكذلك بقايا الاعشاب التي وجدت في المقابر بجانب الجثث المحنطة، على استعمال هذه النباتات منذ 3000 سنة ق. م وأهم مصادر المعلومات عن الطب المصري القديم والعقاقير والتداوي بها جاء عن طريق مجموعات من لفائف البردي، اكتشفت في المقابر المصرية القديمة وأهم هذه البرديات : برديات ايبرز George Ebers و برديات إدوين سميث Edwin Smith ويعتبر " ايمحتب " أول طبيب في العالم وقد استخدم الكثير من الاعشاب كالممر والافيون والصبار والشوكران في علاج المرضى. وظل العالم كله يعالج مرضاه بنفس الطرق الفرعونية القديمة حتى حدثت ثورة الطب في بداية القرن التاسع عشر الميلادي. أما عن العرب فيمكن تقسيم التاريخ الطبي عندهم إلى أربعة عصور: 1- عصر ما قبل الاسلام. 2- العصر الاسلامي الأول. 3- عصر العباسيين. 4- العصر الاندلسي. ولم يكن لدى العرب قبل الاسلام معلومات كثيرة عن الطب والتداوي حيث انهم اعتمدوا في علاجهم على

نصائح شيوخ القبائل. وقد نالوا بعض المعرفة من البلاد المجاورة مثل بلاد الشام والفرس خلال رحلاتهم الى هذه البلاد. وبعد ظهور الاسلام وفتوحاته التي امتدت من اسبانيا غرباً الى حدود الصين شرقاً، جاب علماء العرب هذه الاقطار والتحموا مع العلماء فى هذه البلاد ودونوا ملاحظاتهم على الطبيعة عن النباتات، كما ترجموا الى العربية جميع الاعمال المصرية والفارسية والهندية، ويعزى اليهم الفضل فى تأسيس مزاخر الادوية (الصيدليات) فى بغداد التى كانت تمتلىء بالاوراق والجذور والازهار والثمار والبذور والتى كانوا يستخدمونها لعلاج الكثير من الامراض. وكانت بغداد عاصمة الخلافة اكبر المراكز العلمية فى العالم وكان الخلفاء محبين للعلم والعلماء وخاصة ما يتصل منها بالعلوم الطبية، فشجعوا العلماء على ترجمة المراجع الى العربية وفى عصر الرشيد انشئت مدارس الطب التى كانت تحوي المكتبات الزاخره بالمراجع الطبية.

ومن اشهر علماء العرب [1]

- الرازي (865- 925 م)- الف ما يزيد على 250 كتاباً فى مختلف المواضيع الطبية اهمها (الحاوي فى الطب والاقربازين)
- ابن سينا (980- 1036 م)- كان فيلسوفاً وطبيباً وكتب كتابه عن النباتات الطبية والعقاقير .
- البيروني (965 1038 م -) - الذي كتب كتابه ودون فيه اسماء النباتات الطبية و استعما لاتها .
- الادريسي (1100- 1166 م) أمير عربي كتب كتابه عن العقاقير .
- أحمد الغافقي (1164 م) أشهر اطباء الاسلام كتب كتابه عن العقاقير (الادوية المفردة) واعتمد فيه على تجاربه الشخصية .
- ابن البيطار- يعتبر من اهم علماء العرب فى علم النبات عاش فى القرن 13 م ، وسافر الى بلاد الاغريق والروم والمغرب ليجمع كل ما جمعه العلماء من معرفة عن النباتات وعلومها. ألف عدداً من الكتب اهمها (الجامع من مفردات الادوية والاغذية) وصف فيه 1400 نوع من العقاقير منها 300 نوع لم يسبقه احد الى وصفها ترجم كتابه الى اللغة اللاتينية وكان العلماء فى اوربا يعتمدون عليه .
- داود الانطاكي- وكان ضريراً لا يبصر ومع ذلك سمي بالبصير واشهر مؤلفاته تذكرته المشهورة. وجزءاً كبيراً مما كتبه منقول عن كتب اليونان وخاصة (العقاقير المبسطة) لجالينوس .

- ويعتبر ابقراط- من اعظم علماء اليونان القدماء ومن علماء الاغريق ثيوفراستس- عالم النباتات والاعشاب وكتب كتاب (الموسم). - الرومان لم يزيديوا شيئاً عن النباتات الطبية عما كتبه الاغريق

لكن ديوسقوريدس الف كتاباً عن الاعشاب هو Materia medica ذكر فيه 9958 عقاراً مع شرح فوائدها. - في القرن الثاني الميلادي كتب- جالينوس - اكثر من المؤلفات الطبية حيث كلمة جالينوس تستعمل في وصف العقار المحتوى على مركبات عضوية غير كيميائية خالصة. ثم جاء عصر العشابين Herbalis حيث بقيت النباتات تزرع وتستعمل لعلاج المرضى . وبعد اختراع الطباعة أخذت كتب الاعشاب تطبع في كل البلاد الاوروبية ثم اضيفت اليها النباتات المكتشفة في امريكا حيث استفادوا في هذا المجال من تجارب الهنود الحمر فتعرفوا على نباتاتهم وعلى صفاتها الطبيعية. في القرن التاسع عشر حدث تطور مذهل في علم الكيمياء حيث بدء في استخلاص المركبات الفعالة من النباتات المختلفة مثل الكينين من قلف شجر السنكونا والستركنين من نبات جوز المقىء والايमितين من نبات عروق الذهب والاترويين من نبات ست الحسن والايفيدرين من الايفيدرين وسرعان ما استخلصت من النباتات عدة مئات من المواد الفعالة [1].

I-2- أهمية النباتات الطبية تجارياً وإقتصادياً

تعتمد أدويتنا اليوم على الخصائص العلاجية للنباتات في نحو 75%. فقد طورت مجتمعات العالم على مر السنين تقاليدھا المأثورة الخاصة بها لفهم النباتات الطبية و استخدامها [2] فالنباتات الطبية في الوقت الحاضر تحتل مكانة كبيرة في الانتاج الزراعي والصناعي فهي المصدر الرئيسي للعقاقير الطبية النباتية او مصدر المواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء على شكل خلاصات او مواد فعالة او تستعمل كمادة خام تنتج بعض المركبات الكيميائية التي تعتبر النواة للتخليق لبعض المواد الدوائية الهامة كمادة الكوريتزون Cortisone وبديل بلازما الدم [1]. وتعتبر النباتات الطبية من اهم المواد الاستراتيجية في صناعة الدواء وكذلك في صناعة مواد التجميل حيث تلعب اقتصادياً دوراً مهماً بالنسبة لبعض الدول. كذلك تلعب دوراً استراتيجياً لبعض الصناعات العسكرية كنبات الهوهوبا JoJoba حيث يعتبر نبات استراتيجي في بعض الدول الغربية و يستخرج منه زيت لا يمكن تحضيره مخبرياً بطرق التحضير الكيميائية المعتادة حيث أن له درجة غليان عالية فيستخدم في عمليات تشحيم الصواريخ بعيدة المدى. كذلك يدخل في صناعة التجميل [1]. ان أهمية النباتات الطبية تزداد بإزدياد الاستثمار والأموال المبذولة في سبيل

انتاجه وتحسين جودته. وهناك عوامل عدة أدت الى زيادة الاهتمام بالنباتات الطبية وزراعتها واستثمارها الى ما يلي:

أولاً: زوال الاعتقاد بالاستغناء عن النباتات الطبية كمصدر طبيعي لصناعة الدواء، واستبدالها بالمواد الفعالة المصطنعة كيميائياً. وذلك للأسباب التالية:

أ- أن التجارب اثبتت أن تأثير المادة الفعالة المنتجة كيميائياً لا تؤدي الى التأثير الفسيولوجي الذي تؤديه نفس المادة الفعالة المستخلصة من النباتات الطبية.

ب- المواد المنتجة كيميائياً يكون لها تأثيرات جانبية كثيرة بجانب التأثير الطبي الاساسي الذي تستعمل من أجله وهذه التأثيرات تكون اغلب الاحيان ضارة حتى ولو ظهرت بعد فترة من استعمال الدواء. وذلك للازدياد الكبير في السكان وازدياد الطلب على الادوية المكونه من مركبات محضره كيميائياً لسهولة الحصول عليها بسرعة. وكذلك للتطور السريع في علوم الكيمياء العضوية التحضيرية دون الاستعانة بالنباتات الطبية وذلك لإرتفاع اسعارها وتأثرها بالاحتكارات الدولية. جاء إعلان المؤتمرات الصيدلية الحديثة بأن استعمال المواد المصطنعة كيميائياً للعلاج على مدى سنوات طويلة خلفت كثيراً من الآثار الجانبية الخطيرة. وتأسيساً على ذلك اعلنت منظمة الصحة العالمية ضرورة العودة الى العلاج بالحشائش والاعشاب الطبيعية والحد من تناول الكيمائيات المصنعة في مصانع الصيدلية وكذلك فإنها حذرت من استخدام كثير من الادوية المتداوله والمعدة في المعامل حيث ثبت ضررها مع مرور الوقت. واصبحت قائمة الممنوعات في ازدياد يوماً بعد يوم، محذرة ومطالبة بالعودة الى الطبيعة والاعشاب الطبية الطازجه ولقد ظهرت في امريكا واوروبا وروسيا والصين مستشفيات لاقت رواجاً واثبتت نجاحات كبيرة تعتمد على الاعشاب في علاج المرضى كذلك في الوطن العربي حيث يوجد مركز الطب الاسلامي في الكويت والامارات العربية لعلاج المرضى بالاعشاب الطبية. وتعزى هذه الاسباب الى أن الله سبحانه وتعالى قد أوجد في النبات الواحد محتويات وصفة طبية كامله من اكثر من مادة فعالة واحدة وان هذه المواد تعمل مع بعضها متعاونة في علاج المرض وأن الحصول على بعضها في حالة نقية واستعماله بمفرده هو الذي يؤدي الى قلة الفاعلية او الى التأثيرات الجانبية الضارة.

ثانياً: أن الوطن العربي يوجد فيه كثير من النباتات الطبية المتنوعة صحراوية او اعشاب برية تنتشر في الحقول او المزارع والادوية وقد شجع هذا على جمعها والاستفادة منها في مصانع الادوية، ومما ادى الى زيادة استزراعها وكذلك استزراع اصناف اخرى بجوار صناعة جمع النباتات.

ثالثاً: اثبتت التجارب أن كثيراً من النباتات الطبية والعطرية تصلح زراعتها في الوطن العربي في حين يصعب زراعتها في بعض المناطق في أوروبا وخصوصاً في فصل الشتاء. مثال على ذلك نبات البردقوش Marguram ونبات العتر Geranium [1].

رابعاً: استعمال بعض النباتات العطرية في اغراض اخرى اقتصادية غير صناعة الادوية مثل التوابل ونباتات الزينة و في صناعة مواد ومستحضرات التجميل الطبيعية و كذلك في صناعة العطور و المبيدات الحشرية.

I-3- تأثير وقت جمع النبات على المادة الفعالة :

من الامور التي تؤثر على النبات من الناحية الاقتصادية هو وقت جمع النبات الطبي، حيث أن نسبة المادة الفعالة في النبات تختلف حسب فصول السنة بل حسب ساعات النهار [1]. حيث أن نباتات العائلة الباذنجانية تختلف المادة الفعالة نسبتها حسب ساعات النهار. فالديجلتاليس تزيد نسبة المادة الفعالة بعد اشتداد حرارة الشمس وتقل في الليل ولذلك فإنه افضل وقت لجمعها هو بعد الظهر بقليل [1]. وقد عرفت اوقات جمع النبات المناسبة لمعظم النباتات الطبية بست الحسن (بلادونا) تجمع عندما يكون عمرها 3- 4 سنوات. درنات اللحلاح في اول الصيف. والاجزاء المتماثلة من النبات تجمع في اوقات متشابهة فالقشور واللحاء تجمع بعد انتهاء الامطار لان الماء والرطوبة يجعل فصلها ميسوراً. والارواق تجمع في الجو الجاف قبل ظهور الازهار والثمار. والسوق الارضية والجذور والدرنات (ريزومات وكورمات) تجمع في فصل الخريف بعد أن ينتهي النمو الخضري وتذبل الاجزاء العليا. فتكون الاجزاء الارضية قد اختزنت اكبر قدر من المواد الفعالة. الازهار فتجمع في اوقات إخصاب النبات، اي تلقيحة اذ تكون قوتها على

اتمها الثمار تجمع اذا اكتمل نموها ولكن قبل أن يتم نضجها. اما البذور فتجمع بعد اتمام النضج. اما البلاسم والصبوغ والرتنجات تجمع في الجو الجاف اي غير الرطب[1].

I-4-تلف النباتات الطبية = Deterioration of Medicinal Plants

تتلف النباتات الطبية أثناء عملية التخزين ويرجع هذا للعوامل التالية:
1- الرطوبة: حيث تعمل الانزيمات أثناء عملية التخزين على تحلل المكونات الفعالة وبالتالي تفقد هذه النبتة قيمتها الطبية. وعمل الانزيمات ونشاطها يعتمد على وجود الماء في خلايا النبات. ولذلك يجب أن يتم التخلص من الرطوبة تماماً أثناء عملية التخزين، وذلك لوقف مفعول الانزيمات بالاضافة الى ذلك فإن الكائنات الحية الدقيقة تجد مجالاً للنمو في وجود الرطوبة حيث تسبب فساد النبات[1].

2- درجة الحرارة: يؤثر الارتفاع في درجات الحرارة الى درجات معينة أثناء عملية التخزين على نشاط الانزيمات وزيادة التفاعلات الكيميائية، كما أن الحرارة تؤثر على النباتات المحتوية على زيوت طيارة مثل نورات البابونج وثمار نباتات الفصيلة الخيمية مثل الينسون والكرابية فتفقد محتوياتها من هذه الزيوت كلياً او جزئياً[1].

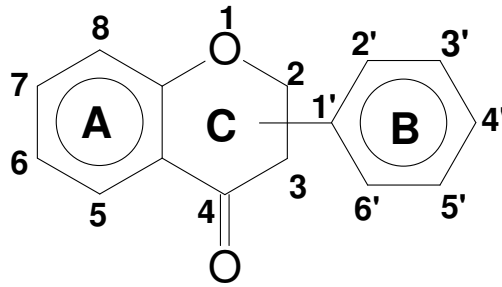
3- الأكسجين: يؤثر الاكسجين على اكسدة بعض مكونات النباتات الطبيعية أثناء عملية التخزين خصوصاً التي تحتوي على زيوت طيارة مثل زيت الليمون او زيوت ثابتة مثل زيت الزيتون ، حيث يجب تخزين هذه الزيوت المحتوية عليها بمعزل عن الهواء او في وجود غاز خامل مثل النيتروجين[1].

4- الضوء: الضوء يغير لون النباتات الطبية من لونها الطبيعي او اللون الناتج بعد عملية التجفيف وتغير اللون يقلل من القيمة التجارية. مثل نبات الورد- الكركديه. وتغيير اللون يمكن أن يكون ناتجاً عن تغيير في المكونات الفعالة نفسها مثل الشيح البلدي - إذ تتغير مادة السانتونين Santonin الصفراء اللون الى اللون البرتقالي ثم الاسود[2].

الفلافونويدات

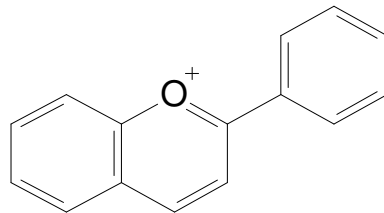
1- تعريف

يرجع اكتشاف الفلافونويدات الى العالم الحيوي (Albert Szent-Gyorgyi) ،حيث قام بتصنيفها على أساس أنها فيتامين p مدركا دورها فى تعزيز و تزايد الفيتامين c [3]. والمعروف على الفلافونويدات أنها صبغ نباتية تنتشر فى الأجزاء المختلفة من النبتة ، حيث أنها عبارة عن مركبات طبيعية من نواتج الأيض الثانوي، تكون معظم مركباتها صفراء اللون ،وهى المسؤولة عن ألوان الأزهار و الفواكه و أحيانا الأوراق [4]. جميع الفلافونويدات تحتوي على 15 ذرة كربون ،و ذلك في هيكلها الأساسي موزعة على الشكل $C_6-C_3-C_6$ بحيث تتصل الحلقتان البنزينيتان "A" و "B" بحلقة غير متجانسة "C" تحتوي على عنصر الأكسجين [5] .



الشكل -1- يبين الهيكل الفلافونويدي.

كما أنه هناك صيغات نباتية أخرى تسمى الأنثوسيانات ، و هى وثيقة الصلة من الناحية الكيميائية بالفلافونويدات.



ANTHOCYANIDINE

الشكل -2- يبين الهيكل الأنثوسيانى

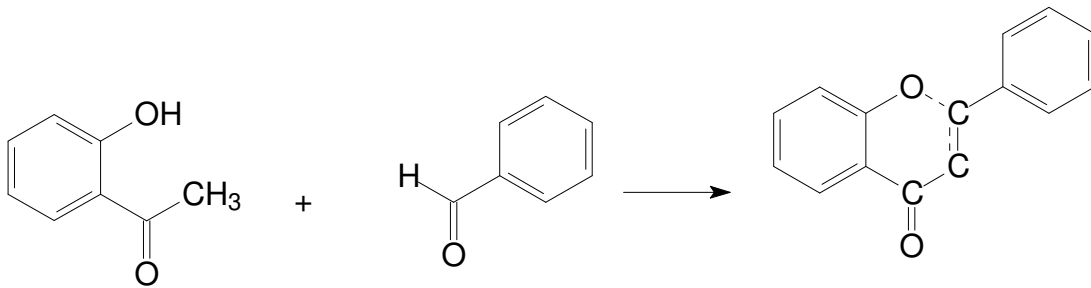
2- خواص الفلافونويدات

المركبات الفلافونيدية هي مركبات هيدروكسيلية، و لهذا فهي تتمتع بخواص و صفات الفينولات، حيث أنها مركبات ذات خاصية حمضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية .
و الفلافونويدات ذات الخاصية القطبية هي التي تحمل أكبر عدد من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحوي بقية سكر ذو خاصية قطبية ،ومنه فهي تذوب في المذيبات القطبية كالميثانول و الايثانول و الأسيتون و الماء ، أما الفلافونويدات الأقل قطبية فهي التي تحمل أكبر عدد من مجموعات الميثوكسيل وهي تذوب في الكلوروفورم و الايثر [6].

3- طرق اصطناع الفلافونيدات:

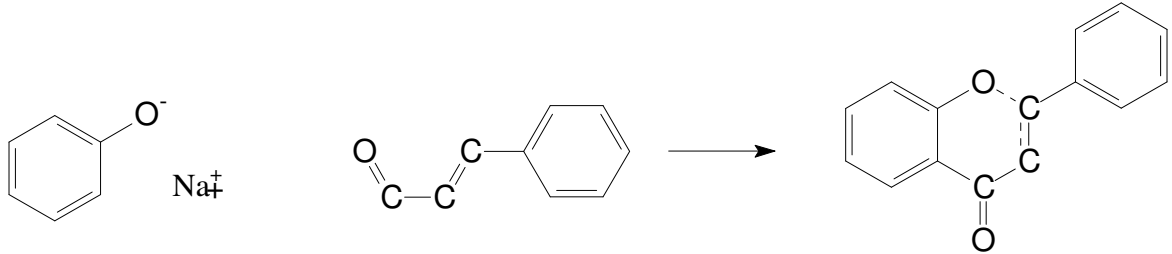
لقد تم اصطناع العديد من الفلافونيدات من أجل مقارنة خواصها بالفلافونيدات الطبيعية، و ذلك بعدة طرق مخبرية أدت الى اصطناع عدد كبير من هذه المركبات، حيث لا يمكن اعتبار أيأ من هذه الطرق الطريقة الأساسية لتحضير المركبات الفلافونيدية، لأنها تؤدي جميعا الى تكوين الهيكل الفلافونيدي لكن نظريا يمكن اعتبار طريقة التكاثف الألدولي الشكل - 3- و طريقة أسالة الفينولات الشكل - 4- الطريقتان الأساسيتان في تحضير الهيكل الفلافونيدي .

○ التكاثف الألدولي:



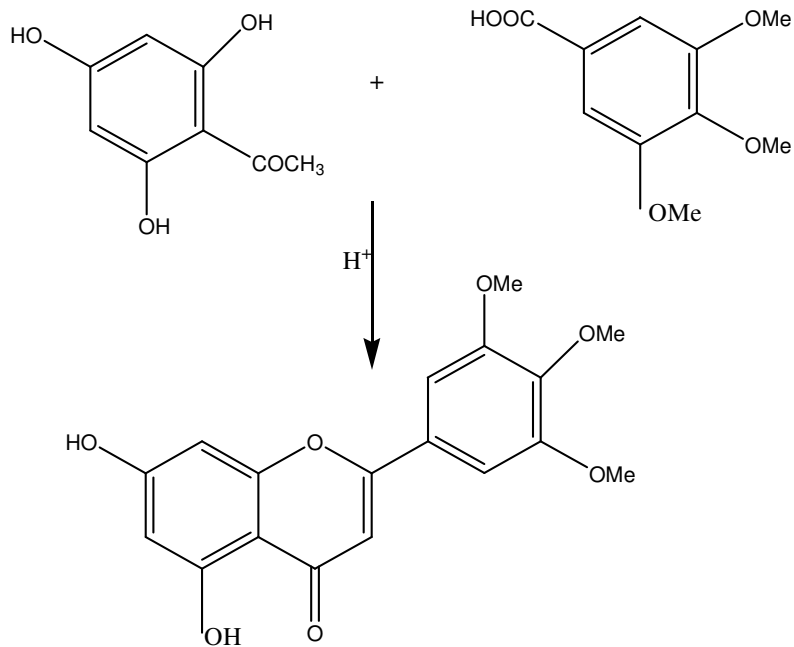
الشكل - 3 -

○ اسألة الفينولات:



الشكل - 4 -

كما توجد بعض الطرق الأخرى كطريقة روبنسون التي تتمثل في تسخين مشتق أرثوهيدروكسي أسيتوفنيون مصدر الحلقة A- مع خليط من الملح الصوديومي و حمض عطري مستبدل لا مائي مصدر الحلقة B - [6]. كما هو موضح في الشكل -5- .



الشكل -5- طريقة روبنسون

4- الاصطناع الحيوي للفلافونيدات:

يختلف الاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية عن الاصطناع المخبري، حيث ان المنتجات الطبيعية تتكون داخل مصادرها الطبيعية ، بواسطة تفاعلات لا تتعدى أن تكون تفاعلات أكسدة أو اختزال أو ألكلة ذرة النتروجين أو الأكسجين أو أسيلة ، انتزاع ثاني أكسيد الكربون من مجموعة كربوكسيل الخ .

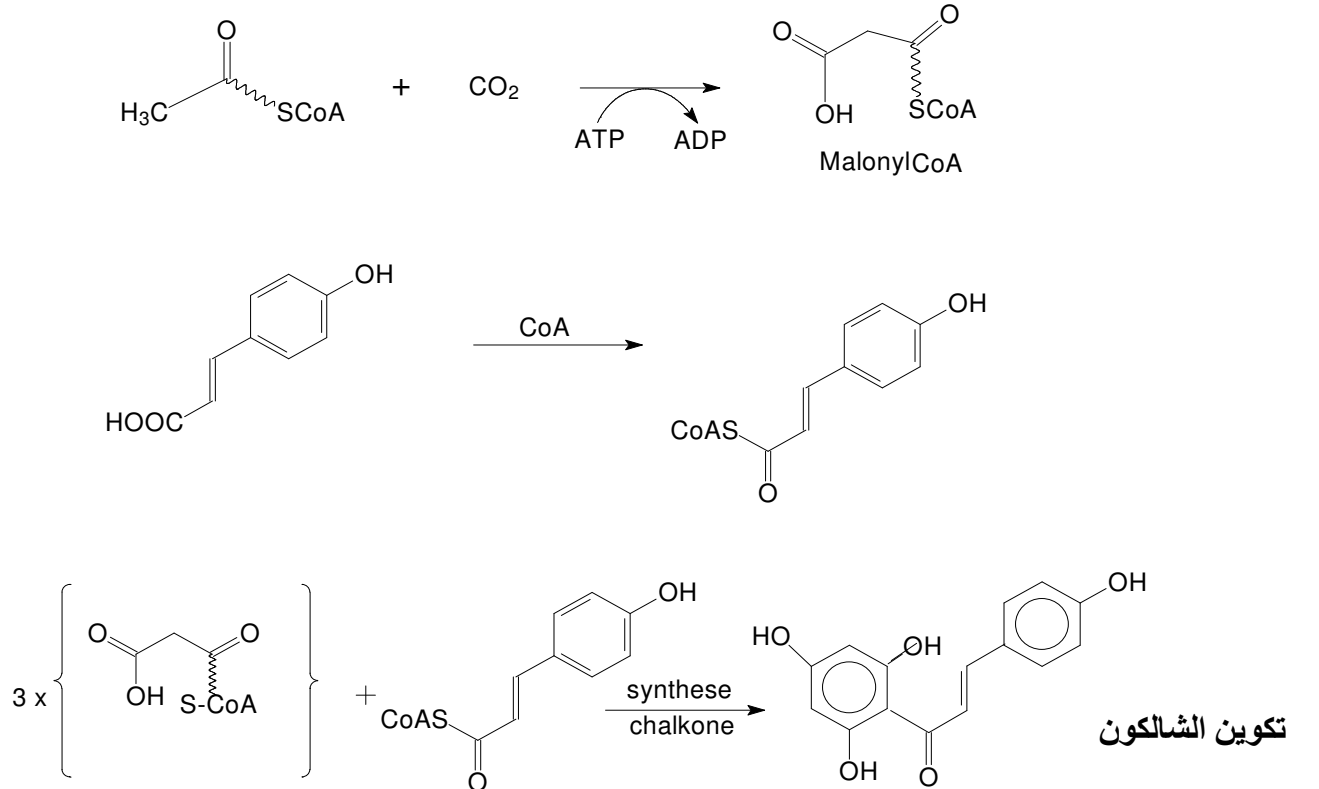
أخذت الدراسات فى هذا المجال تتطور و تعطي نتائج هامة بعد اعتماد تجارب الوسم باستعمال ^{14}C و التي بينت طريق الاصطناع الحيوي للفلافونيدات حيث تبين ان الهيكل الفلافونيدي أت من طريقين و هما :

*طريق الخلات

*طريق الشيكيميك

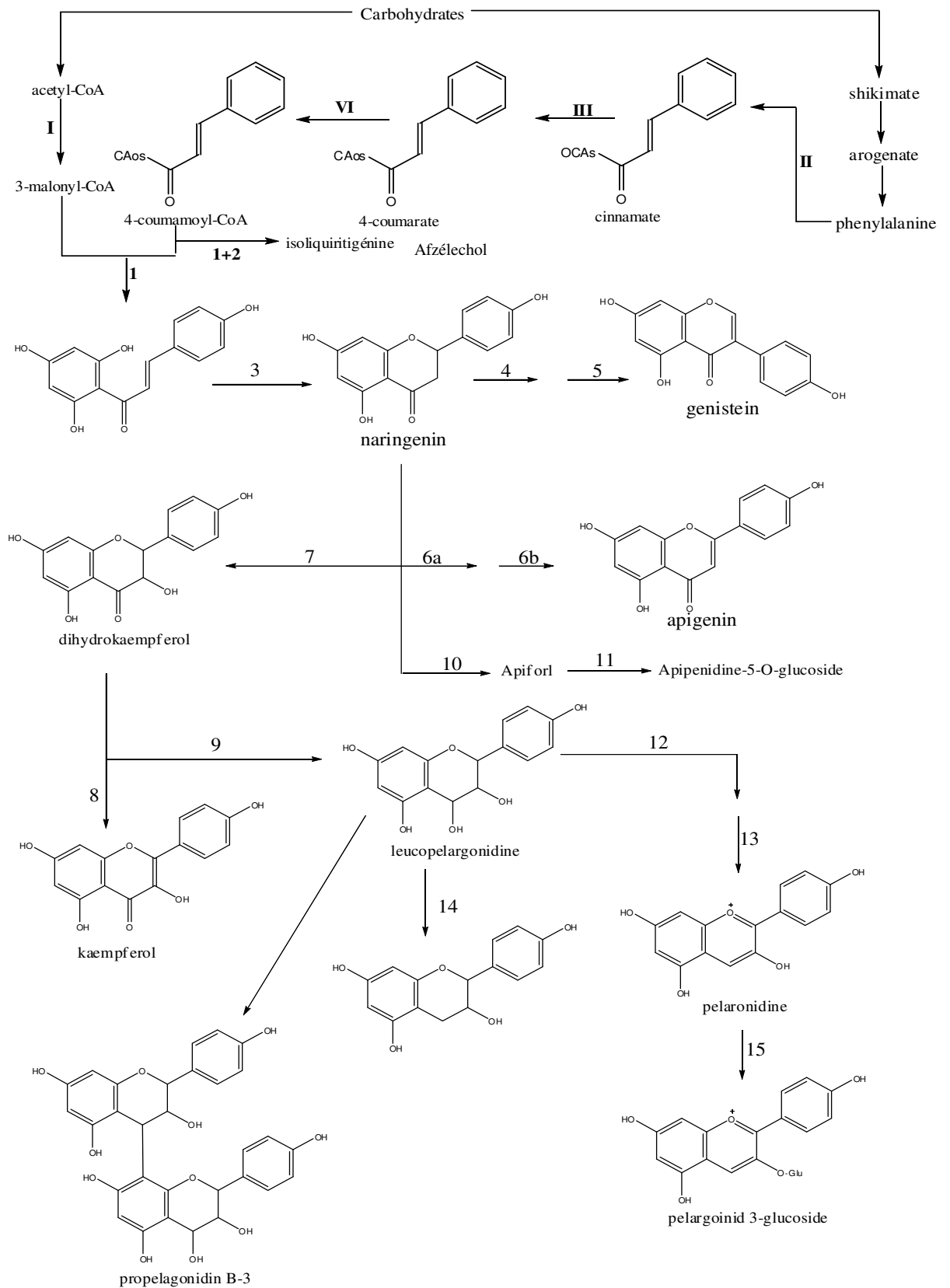
4-1- طريق الخلات:

الحلقة A تتشكل من تكاثف رأس – ذيل لثلاث وحدات من الخلات على شكل Malonyl-CoA مع حمض Ac.P-Coumarique . الشكل - 6 - [7- 10].



الشكل - 6 - طريق الخلات

طريق الشالكون: و هي المرحلة الثالثة، حيث يعتبر الشالكون النواة الرئيسية التي تنحدر منها مختلف الهياكل الفلافونويدية.



الشكل -7- الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونويدية انطلاقاً من الشالكون

الجدول – 1- يبين قائمة الإنزيمات الداخلة في التصنيع الحيوى:

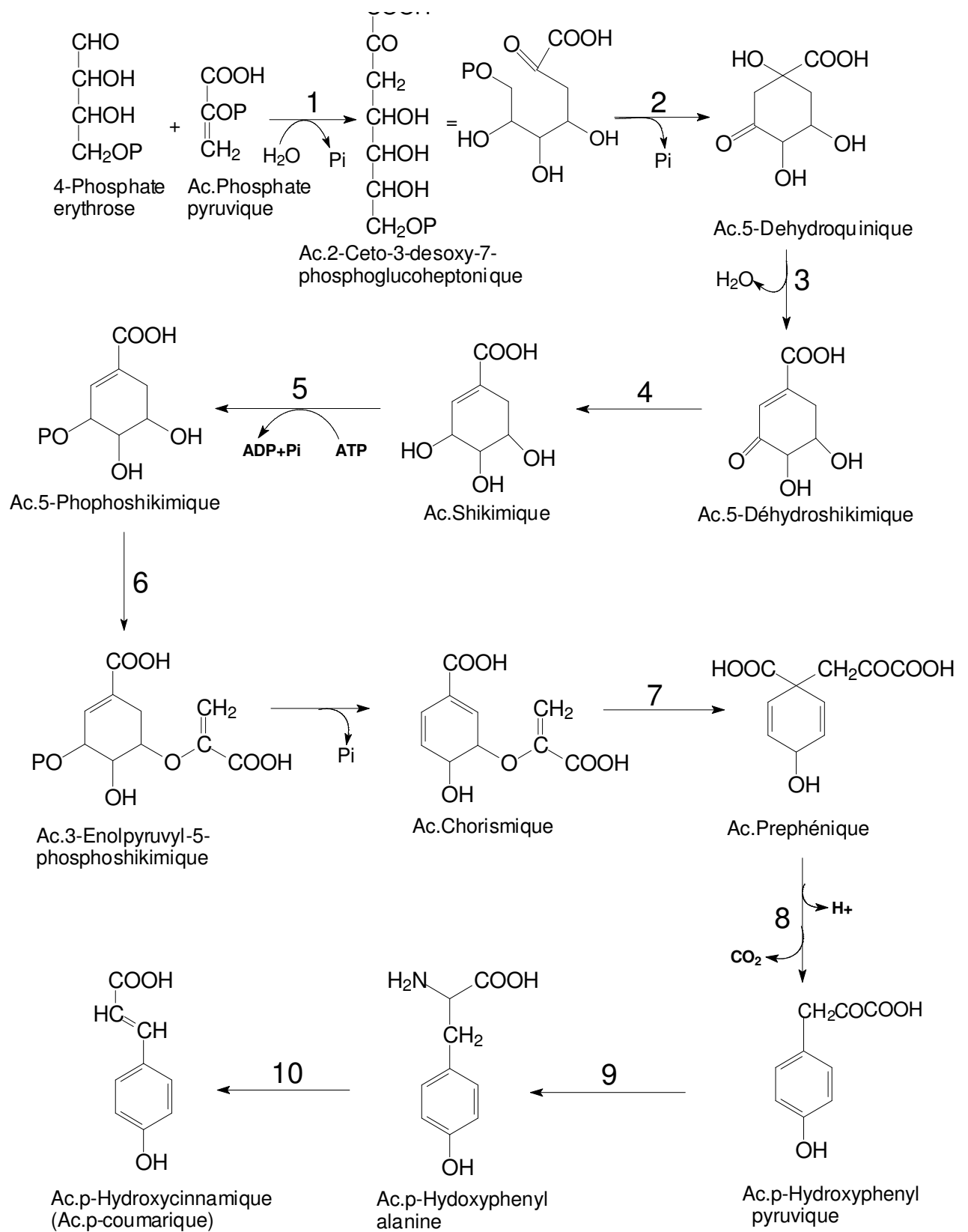
العامل المساعد (CO-FACTEUR)	الإنزيم (ACRONYME)	الرقم
-	Acétyl-CoA	I
-	Phénylalanine ammonia-lyase (PAL)	II
NADPH	Cinnimate 4- hydroxylase (C ₄ H)	III
CO-Sh ATP	4-Coumarate:CoA ligase (4CL)	VI
-	Chalcone synthase (CHS)	1
NADPH	Polyketide réductase (PKR)	2
-	Chalcone isomérase	3
NADPH	2-Hydroxyisoflavone synthase (IFS)	4
-	2-Hydroxyisoflavanol déshydrathase	5
NADPH	6-a Flavone synthase I (FNSI)	6
NADPH	6-b Flavone synthase II (FNSI)	6
2-Oxoglutarate Fe ²⁺ ascoparate	Flavanone 3-hydroxylase (FHT)	7
2-Oxoglutarate Fe ²⁺ ascoparate	Flavonol synthase (FLS)	8
NADPH	Dihydroflavanol 4- réductase (DFR)	9
NADPH	Flavanone 4-réductase (FNR)	10
NADPH	Leucoanthocyanidine 4-réductase	11
Inconnu	Anthocyanine synthase (ANS)	12
-	Flavonoid 3-O-glucosyltransférase (FGT)	13
-	Flava-3,4-cis-diol-reductase	14
-	Anthocyanidine / flavonol 3-O-glucosyltransférase	15

4-2- طريق الشيكيميك:

أثبت الباحث " Davis " سنة 1955 [11]. دور حمض الشيكيميك في تكوين الحلقة B ، و كذلك السلسلة الكربونية الثلاثية C₃ و ذلك بدءا بالغلوكوز، حيث تم عزله لأول مرة من نبتة يابانية Illicium anisatum , shikimi-no-ki و منه اشتق اسمه [12] كما هو مبين في الشكل - 8 .

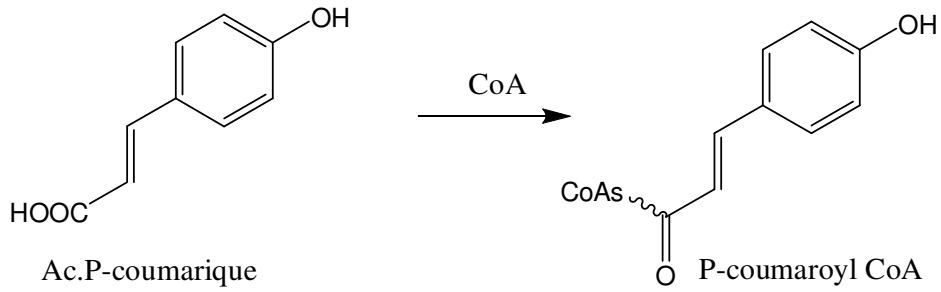
جدول -2- قائمة الإنزيمات الداخلة في تكوين حمض Ac.p-Coumarique

الرقم	الإنزيم
1	Aldolase, 3-désoxy-O-arabinoheptulosonate-7-phosphate synthase ou DHAP synthase
2	Déshydroquinate synthase
3	Déshydroquinate déshydratase
4	Shikimate déshydrogénase
5	Complexe shikimate kinase
6	Ac.Phosphate pyruvique
7	Chorismate mutase
8	Préphénate déshydrogénase
9	Aminitrensférases
10	Tyrosine ammonia-lyase

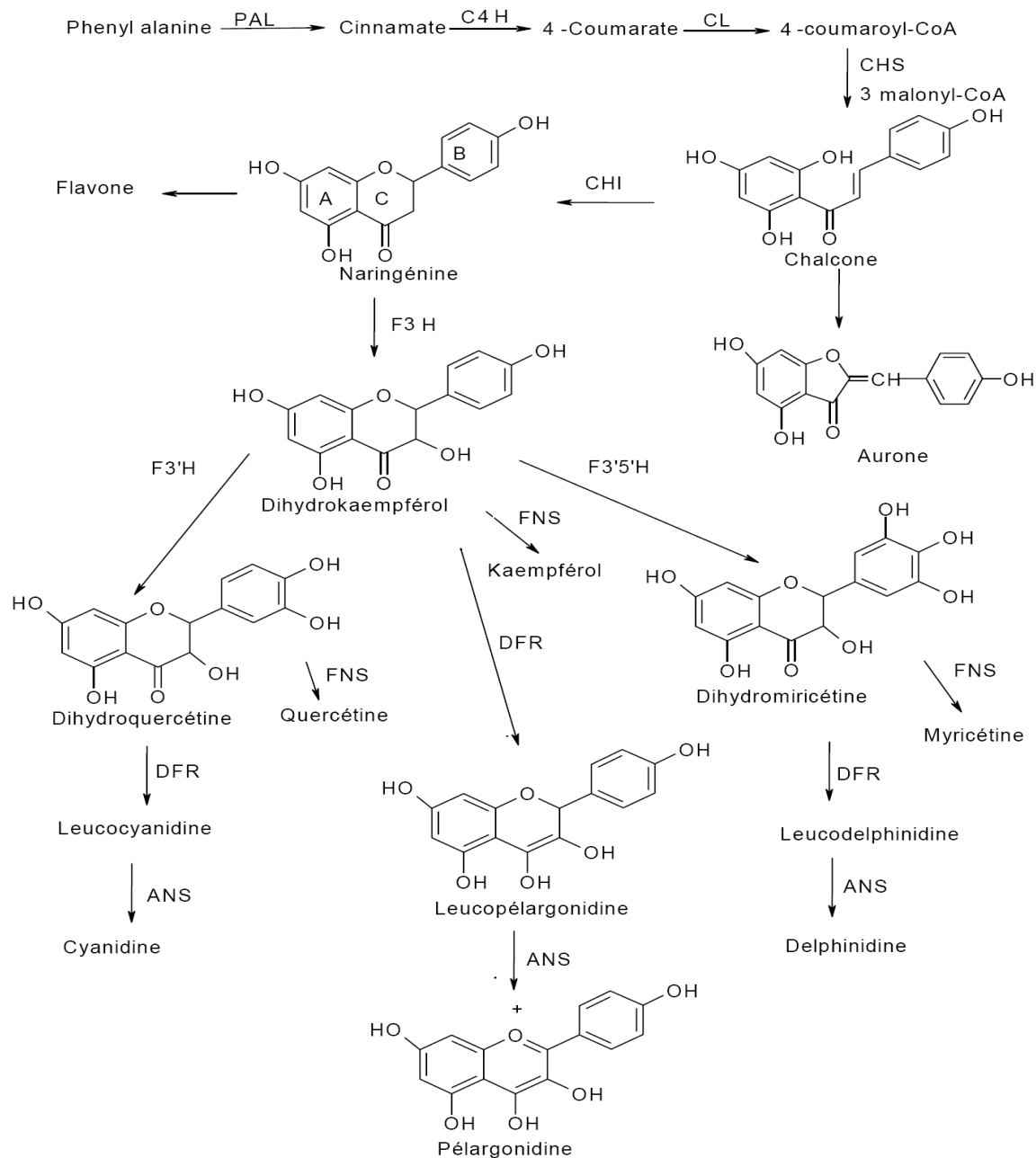


شكل-8- تشكيل Ac.P-Coumarique انطلاقا من الغلوكوز و مرورا بحمض الشيكيميك

يليه تحول الناتج و المتمثل في Ac.4-coumaroyl (Ac.P-Coumarique) إلى
4-coumaroyl-CoA الذي يكون جاهزا للاتحاد مع Malonyl-CoA في مرحلة قادمة. كما هو
مبين في الشكل -9-



الشكل -9-



مخطط 1- مخطط الإصطناع الحيوي للفلافونويدات [13]

الإنزيمات الداخلة في التصنيع

PAL : phénylalanine ammoniac-lyase ; C4H : *para*-coumarate 4-hydroxylase ; 4CL : 4-coumarate CoA ligase ; CHS : chalcone synthase ; CHI : chalcone flavanone isomerase ; F3H : flavanone hydroxylase ; F3'H : flavonoïde-3'-hydroxylase ; F3'5'H : flavonoïde-3',5'-hydroxylase ; FNS : flavone synthase ; DFR : dihydroflavonol-4-reductase ; ANS : anthocyanidine synthase.

5- تثبيت المجموعات:

5-1- تثبيت مجموعات الهيدروكسيل :

إن تثبيت المجموعات الهيدروكسيلية في الموضعين 5 و 7 يتم قبل تشكيل الحلقة A، و لهذا يعتبران من المجموعات الأصلية للحلقة A [5]. أما بالنسبة للحلقة B فإن هيدروكسيل الموقع '4' يظهر قبل تكوين نواة الشالكون [5]. أما تثبيت مجموعة هيدروكسيل في الموقع '3' و '5' فيتم بعد غلق الحلقة C. [14-15]

تثبيت مجموعة هيدروكسيل الموقع 3 يتم في مرحلة تشكيل الشالكون.

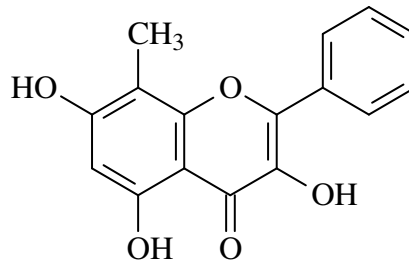
5-2- تثبيت مجموعات الميثيل

إن تثبيت الميثيل يأتي بعد تثبيت الهيدروكسيل، و يتم هذا الأخير على هيكل الأجليكون في حالتين :

• الحالة الأولى:

تكون الرابطة بين كربون الميثيل و كربون النواتين A و(أو) B و مثال على ذلك المركب

شكل -11-

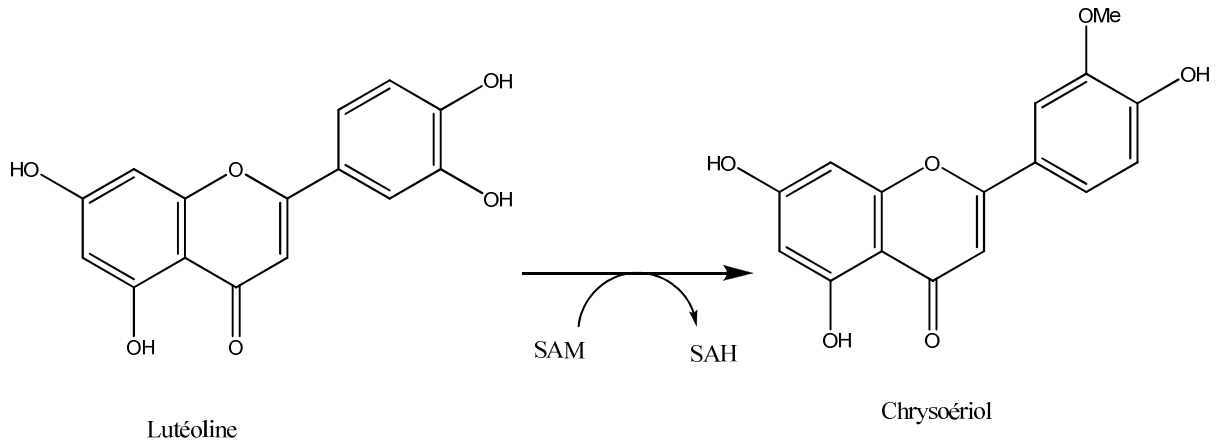


8-C-méthylgalangine

شكل -11-

الحالة الثانية:

هي مثيلية المجموعات الهيدروكسيلية التي تم تثبيتها من قبل (O-methylation) و هذا في وجود أنزيم O-methyltransférase كمانح للميثيل [16] و الشكل -12- يبين ذلك.



SAM : S – adénosyl méthionine
homocysteine

SAH : S – adénosyl

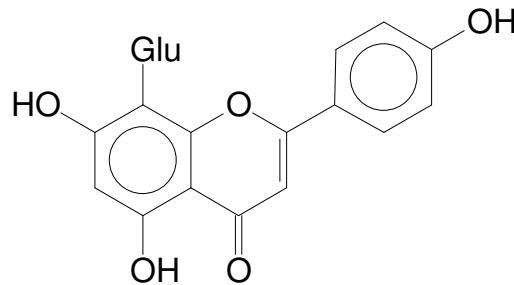
الشكل -12- التحول الإنزيمي لـ lutéoline إلى chrysoériol

3-5- تثبيت جزيئات السكر:

توجد المركبات الفلافونويدية على هيئة جليكوزيدات، أي أن بنائها يحتوي على وحدات سكرية قد تكون أحادية أو ثنائية كما يمكن أن يدخل في بناء المركب أكثر من مستبدل سكري.

○ الحالة الأولى:

تثبيت جزيئية السكر على الأجليكون حيث الرابطة بين كربون السكر و كربون الحلقتين A و (أو) B [10]، [17] (C-glucoside) و هي مقاومة للأحماض والارتباط عادة ما يكون في الموقعين 6 و 8 . و الشكل -13- يبين ذلك.



v i t e x i n e

الشكل – 13 -

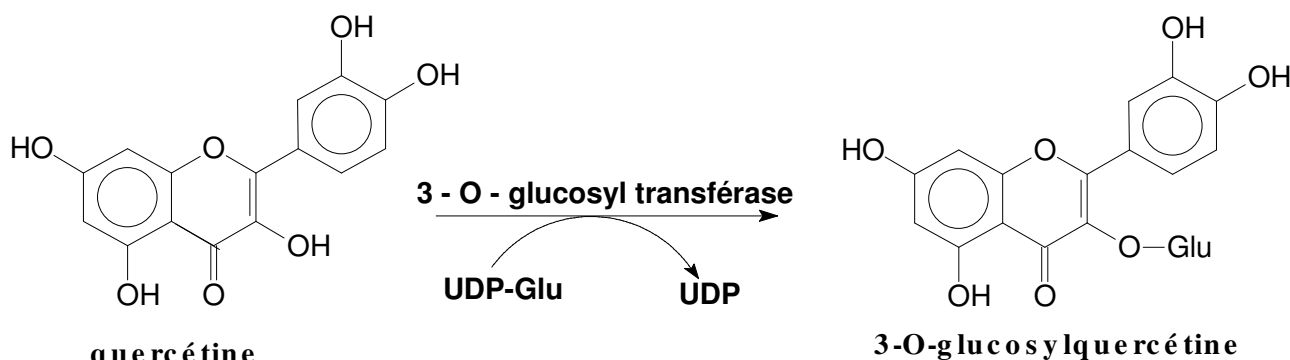
الجدول-3- بعض الاسماء الشائعة لبعض تراكيب الفلافونيدات من نوع C-glycoside

الاسم الشائع	الاجليكون	الرابطة السكرية C-C	
		C6	C8
Vitexine	Apigénine	–	Glucose
IsoVitexine	Apigénine	Glucose	–
Vicenin-1	Apigénine	Xylose	Glucose
Vicenin-2	Apigénine	Glucose	Glucose
Vicenin-3	Apigénine	Glucose	Xylose
Orientine	Lutéoline	–	Glucose
Isorientine	Lutéoline	Glucose	–
Paniculatine	Génistine	Glucose	Glucose

○ الحالة الثانية:

و فيه ترتبط جزيئية السكر بذرت أكسجين مجموعة الهيدروكسيل مباشرة أي من نوع O-) (heterosidique) و عادة يكون هيدروكسيل الموقع 7 للفلافونات و هيدروكسيل الموقع 3 للفلافونولات و يتم تثبيت السكر في وجود أنزيم "O-glucoside-transférase" و مانح للسكر مثل: "UDP-glu" (Uridine diphosphate glucose) [16].

و الشكل-14- يبين ذلك.



الشكل - 14 - تثبيت جزيئات السكر

السكريات شائعة الارتباط بالهيكل الفلافونويدي تكون عادة إما هيكلوز (D-galactose)،
(D-glucose) أو بنتوزات (D-Xylose, L-Arabinose).

الجدول-4- يمثل بعض السكريات الشائعة الارتباط بالهيكل الفلافونويدي

الاسم الشائع	البنية
Neohesperidose	$O-\alpha\text{-Lrhamnosyl} \quad (1 \rightarrow 2)\text{-glucose}$
Rutinose	$O-\alpha\text{-Lrhamnosyl} \quad (1 \rightarrow 6)\text{-glucose}$
Sophorose	$O-\beta\text{-D-glucosyl} \quad (1 \rightarrow 2)\text{-glucose}$
Gentiobose	$O-\beta\text{-D-glucosyl} \quad (1 \rightarrow 6)\text{-glucose}$

6 - أهمية الفلافونيدات

تعتبر الفلافونويدات من أكثر المركبات الفينولية انتشارا في المملكة النباتية، إذ حظيت بدراسات كثيرة لمعرفة السبب الرئيسي الذي يجعل النبات ينتج مثل هذه المركبات، بعد أبحاث و تجارب كثيرة، أسندت إليها بعض الأدوار نذكر منها:

1-6 الدور البيولوجي

أ- الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية:

* تتراكم الفلافونويدات في الطبقات السطحية للنباتات، لتلتقط ما يصل إلى 90 ٪ من الأشعة فوق البنفسجية التي تصل إلى النبات، لمنع الآثار الضارة لهذه الإشعاعات على الأنسجة الداخلية.

ب - طرد وجلب آكلات الأعشاب:

بعض الفلافونيدات و الطنينات تحمي النباتات من خلال الطعم المر، الشيء الذي يؤدي بآكلات الأعشاب إلى إختيار نباتات أخرى. في حين بعض الفلافونيدات الأخرى تضيف لونا وعبيرا على النباتات و الفواكه خاصة و بذلك تجلب إليها آكلات الأعشاب التي تساهم في عملية تحرير البذور [18].

د - إعطاء اللون للنباتات:

الفلافونيدات هي المركبات الملونة للأزهار و الخضار و الفواكه ، على سبيل المثال الأزرق و الأحمر و البرتقالي بذلك فإن لها دورا مهما في جذب الحشرات التي تساعد في عملية التلقيح، و نقل البذور [19].

زيادة على هذا فالفلافونيدات تدخل أيضا في عمليات التحسس للضوء، نقل الطاقة، و كذلك في عمليات التمثيل الضوئي [20،21].

2-6 الدور الفيزيولوجي

تلعب الفلافونويدات دورا مهما في فيسيولوجيا النبات، كما أن لها تأثير على بعض وظائف خلايا الثدييات، كما يعتقد أن لها صلة بالتنفس، النمو و الأكسدة الإرجاعية [22] تركيبتها متعددة الفينول تؤثر في عمليات الأكسدة و ذلك بتكوين معقدات مع المعادن chélation des métaux [23-24] ، و بسبب تعدد المجموعات الهيدروكسيلية فهي قادرة على الارتباط بسطح الإنزيمات و من ثم تستطيع تغيير التوازنات الإنزيمية و ذلك بتنشيط أو تحفيز البعض منها مثل:

Kaempférol يحفز أنزيم l'auxine-oxydase في حين quercétine يثبته [25].

3-6 الدور العلاجي

لجأ الناس إلى النبات من أجل محاولة العلاج للأمراض التي تصيبهم، وتلعب النباتات الطبية دورا هاما في الأبحاث الصيدلانية و العلاجية، و بالقرب من هذا العالم الطبيعي وبتحسين المعارف حول بنيتها اكتشف الباحثون الفلافونيدات التي كانت :
تقوي و تحسن أداء عضلة القلب و تقلل من مخاطر أمراض القلب خاصة cardiovasculaire [26، 27].

- تزيد من مقاومة إنكسار الشعيرات الدموية وتمنع حدوث النزيف.
- تحمي من الجلطات الدموية وتخفض نسبة الكولسترول في الدم.
- تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي.
- مسكنة و مضادة للإلتهابات مثل إلتهاب المفاصل [18].
- تمنع حدوث مرض السكري [28].
- مضادات للجراثيم و الفيروسات.
- مضادة للحساسية [29-21]
- مضادة للتشنج [29-4]
- مضادة للتسمم الكبدي [29-25]
- مضادة للبكتيريا [30]

الفصل الثاني

طرق إستخلاص, فصل وتنقية المركبات الفلافونيدية

1- طرق الاستخلاص

عادة ما تجرى عملية استخلاص الفلافونيدات على الجزء الهوائي من النبات، لأن اصطناعها يتعلق بالضوء، وبذلك التراكيز العالية لهذه المركبات تتواجد في الأجزاء النباتية المعرضة للشمس كالأزهار، الأوراق وقشر الفاكهة.

بعد تجفيف و طحن الأجزاء النباتية المراد استخلاص الفلافونيدات منها ، تعامل بمذيب مناسب للاستخلاص ، و أكثر المذيبات استخداما بهذا الصدد هو الميثانول المائي الذي يستخدم باحدى النسب التالية :

(كحول / ماء) بنسب معينة (3/7) أو (2/8) و ذلك في حالة المادة النباتية الجافة، و يستعمل الكحول لوحده في حالة ما إذا كانت المادة النباتية غضة (خضراء)، الكحولات المستعملة هي الإيثانول و الميثانول و يتفادى استعمال الماء المقطر لوحده لأنه قد يؤدي إلى استخلاص مواد غير فلافونيدية كالدهون هذا من جهة و من جهة أخرى الصعوبات التي نصادفها أثناء عملية التركيز.

نأخذ الأجزاء النباتية المطحونة و نسكب عليها المحلول الهيدروكولي على البارد و نتركها لمدة لا تقل عن 24 ساعة مع التحريك من حين لآخر، بعدها نرشح و نركز الراشح، تكرر العملية 3 مرات أو أكثر و في كل مرة نرشح و نركز الراشح و ذلك بتبخير أكبر كمية ممكنة من المحلول الهيدروكولي أين نتحصل على المستخلص الخام ، و من ثم يرشح المستخلص الخام و يغسل بالمذيب المستخدم للاستخلاص .

يختزل حجم الرشاحة ، و ذلك بتبخير أكبر كمية ممكنة من الميثانول و من ثم تعامل الرشاحة بالماء المقطر في درجة الغليان ثم تترك ليلة كاملة بعدها يتم استخلاص أولي بواسطة الهكسان كي يتم التخلص من المركبات الطبيعية ذات القطبية الضعيفة مثل الدهون و التربينات و الكلوروفيل (قد تحوي رشاحة الهكسان بعض الفلافونيدات و على الأخص تلك التي لا تتصف بقطبية ، و عليه فان هذه الرشاحة لا تهمل ، و يكشف عن وجود الفلافونيدات فيها) . الرشاحة المائية تعامل بخلات الأيثيل في خطوة ثانية ، تجمع المستخلصات و تتركز تحت ضغط منخفض أما الطور المائي تجرى له هو الآخر عملية استخلاص بواسطة البوتانول العادي ، تجمع كذلك مستخلصات البوتانول و من ثم يتم فصل و تنقية هذه المركبات الطبيعية .

يكون لدينا في النهاية :

المستخلص الجاف للإيثر البيترول.

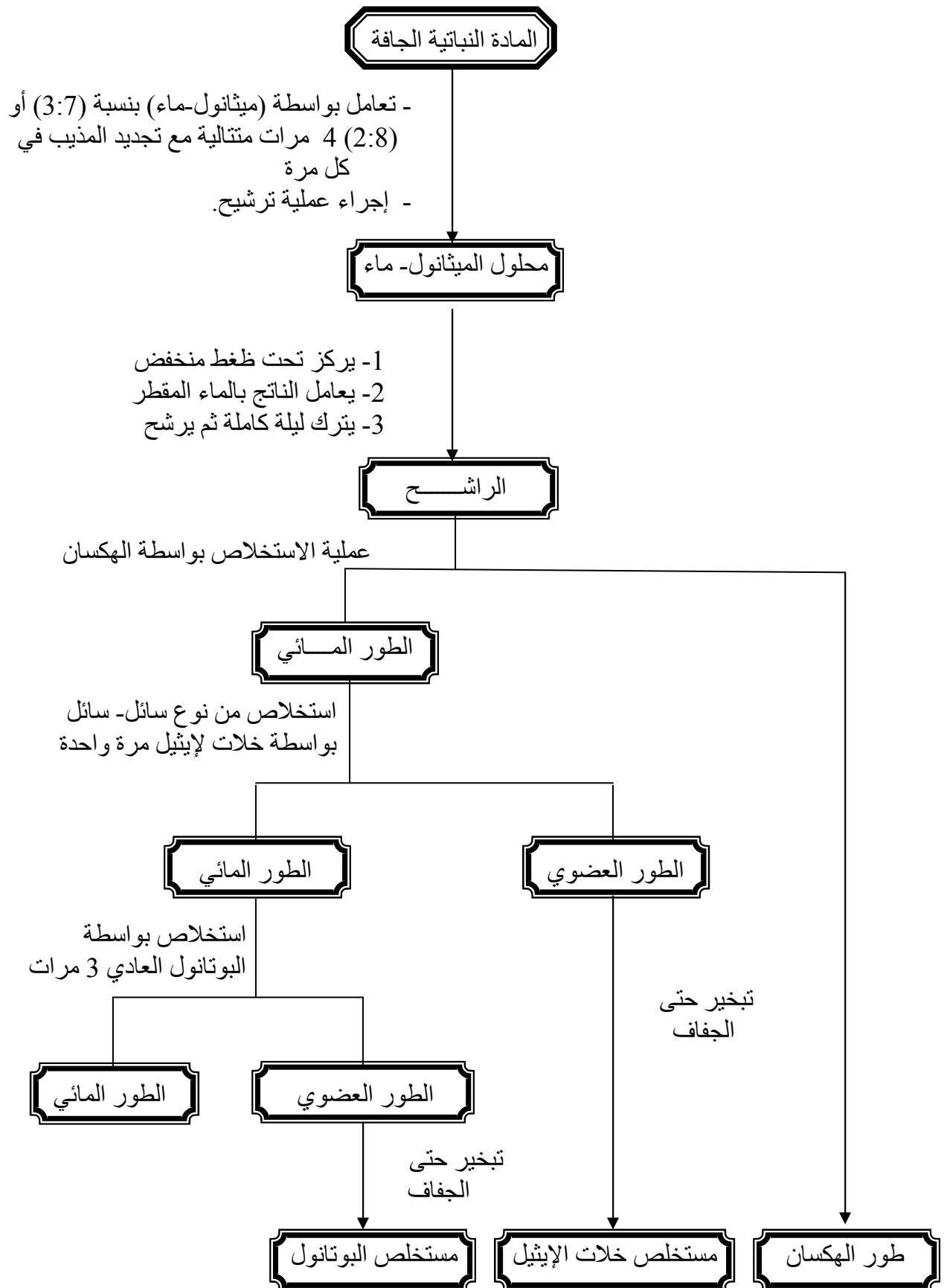
المستخلص الجاف لخلات الإثيل.

المستخلص الجاف للبتانول العادي.

المستخلص المائي.

و يمكن أن تتبع بعد ذلك الخطوات الواردة في الشكل 15 [31، 32]. الذي يبين الطريقة

الأساسية لعملية استخلاص الفلافونويدات.



الشكل 15 الطريقة الأساسية لعملية استخلاص الفلافونويدات.

2- طرق الفصل والتنقية

2-1-1- الفصل

* فصل الفلافونيدات مؤسس على التقنيات الكروماتوغرافية المعتادة نذكر منها:

كروماتوغرافيا العمود (CC).

كروماتوغرافيا الورق (CP).

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).

كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC).

2-1-1-1 - كروماتوغرافيا العمود (CC)

هي طريقة كلاسيكية، الهدف منها هو فصل خليط معقد من المركبات الفلافونيدية و يستعمل لهذا الغرض كدعامة ثابتة :

السيليكاجال، السيليلوز، و متعدد الأמיד.

حيث يستخدم السيليكاجال لفصل الفلافونيدات الأقل قطبية، أما السيليلوز فقد أثبتت فعاليته في فصل الفلافونيدات الغليكوزيدية عن تلك المجردة من السكر؛ غير أن متعدد الأמיד لقي تطبيقاً واسع النطاق في فصل الفلافونيدات الغليكوزيدية بعضها عن بعض.

و يتلخص طريق إجراء هذه التقنية فيما يلي :

- يؤخذ العمود الذي تختلف أبعاده باختلاف كمية المستخلص و يثبت بواسطة حامل و يعبأ بالطور الثابت المشبع بالمذيب الأقل قطبية.

-بعد ترصيص الطور الثابت جيداً داخل العمود توضع من رمل خاص يدعى

Sable de fontainebleau بسمك 0.5 سم، بعدها تحضر العينة حيث يذاب المستخلص

المراد فصله في أقل كمية ممكنة من الميثانول، و بواسطة ماصة باستور يتم وضعه على

سطح الرمل مع الحرص على عدم إتلافه، أو باتباع طريقة أخرى و التي تستعمل في حالة ما

إذا تطلبت إذابة المستخلص الجاف كمية كبيرة من الميثانول، ففي هذه الحالة نضيف لمحلول

المستخلص كمية من مسحوق البولي أميد SC₆ و نركز هذا الخليط حتى نحصل على

مسحوق جاف الذي يضاف إلى العمود الكروماتوغرافي، بعد ذلك يضاف المملص الذي

يكون في البداية مذيب أقل قطبية ثم ترفع قطبيته بإضافة مذيب قطبي تدريجياً إلى غاية

الوصول إلى قطبية عالية، و يتم مراقبة الحزم باستعمال مصباح الأشعة فوق البنفسجية UV حيث تستقبل أسفل العمود و تركز حتى الجفاف.

2-1-2 - كروماتوغرافيا الورقة الرقيقة (CP)

- تستعمل كروماتوغرافيا الورق في فصل الفلافونيدات خاصة القطبية منها مثل الفلافونيدات ذات المستبدلات السكرية، إذ تساعد على فصل العدد الأكبر من الأحماض الفينولية [33] ، كما تستعمل على المستخلص مباشرة في حالة عدم غناه بالمركبات الفلافونيدية أو لجمع و فصل الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي، و تستخدم فيها عدة جمل مملصة أساسها حمض الخل لتحسين عمليات الفصل [34] منها:

(الماء/حمض الخل/ البوتانول العادي) B.A.W (16-18سا).	:	4 / 1 / 5
(حمض الكلور/ الماء/ حمض الخل) Forestal (15 ساعة).	:	30 / 10 / 3
(الماء / حمض الخل/ البوتانول الثالثي) T.A.W.	:	3 / 1 / 1
(البوتانول العادي/حمض الكلور 2N) (24 ساعة).	:	1 / 1
(الماء/ الإيثانول/البوتانول العادي) B.A.W .	:	4 / 1 / 2.2

حمض الخل بتركيز مختلفة من 5 إلى 70 % (من 6 إلى 8 ساعات).

2-1-3 - كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية (CCM)

تحضر طبقة رقيقة من دعامة صلبة على شريحة من الزجاج (20 سم x 20 سم) ثم يوضع الخليط عرضيا على بعد 1.5 سم من خط الانطلاق ثم توضع الشريحة في حوض به المملص المناسب، و أثناء هجرته يمر بالعينة الموضوعه أين يجر معه مختلف المركبات في شكل حزم التي يتم تحديدها بواسطة مصباح UV، بعد أن تجف الصفائح تكشف الحزم كلا على حدا و توضع في قمع زجاجي لتغسل مرتين، الأولى بالمملص المستعمل و الثانية بالميثانول، يركز الراشح و تجرى له عمليات فحص متعددة للتأكد من نقاوته و للأنظمة المستعملة كملصات [35]

الجدول- 5- و - 6- يبين أهم المملصات المستخدمة في تقنية CCM حسب طبيعة الفلافونويد:

الجدول -5- بالنسبة لمتعدد الأמיד (كد عامة صلبة):

جملة المملصات	نوع الفلافونويد
(اسيتيل أسيتون , ميثيل إيثيل سيتون, الميثانول, الماء المقطر) (13,3 ,3,1)	الجليكوزيدية
(الميثانول ,ميثيل إيثيل سيتون , الإيثر, الطولين) (60,2 ,10, 10) (الميثانول,ميثيل إيثيل سيتون,الهكسان , الطولين) (30 , 90 ,2 ,1.5) (الميثانول ,ميثيل إيثيل سيتون , الطولين) (4,3,3)	الأجليكونية قليلة الهيدروكسيل
(الماء المقطر, حمض الخل , الميثانول) (18,1,1) (حمض الخل,البوتانول العادي,الإيثانول,الماء المقطر) (50 , 25 ,20 , 2)	الأجليكونية متعددة الهيدروكسيل

الجدول -6- بالنسبة للسيليكا جال (كد عامة صلبة):

جملة المملصات	نوع الفلافونويد
(الميثانول,الماء المقطر,البيريدين,خلات الإيثيل) (80 , 20 , 10, 5)	الجليكوزيدية
(الميثانول, الكلوروفورم) (15, 1)	الأجليكونية قليلة الهيدروكسي
(الطولين,أسيتون,الكلوروفورم) (7, 5 , 8) (الماء المقطر , الميثانول, خلات الإيثيل) (63, 12,9)	الأجليكونية متعددة الهيدروكسيل

4 - 1-2 - كروماتوغرافية نظام السائل عالي الأداء (HPLC)

تسمح هذه التقنية بتحديد المحتوى الفينولي للعينة المراد تحليلها، و هي نوع من أنواع التحليل الكروماتوغرافي التجزيئي الذي يتطلب استخدام ضغوط عالية لدفع المذيب خلال العمود، و

هي التقنية الأفضل لفصل و تحليل الخلائط المعقدة في وقت قصير [36] ، و أهم المذيبات المستعملة هي :

المذيب 1 : الماء / الأسيتونتريل / حمض الخل : (40 / 100 / 900) .

المذيب 2 : الماء / الأسيتونتريل / حمض الخل : (40 / 800 / 200) .

- يجر المملص معه المركبات في العمود بصفة انتقائية فننزل المركبات ثنائية السكر قبل أحادية السكر؛ و هذه الأخيرة قبل الأجليكونات [37] .

- و بالنسبة للأجليكونات التي تحتوي على الأكسجين في الحلقة B فيملص المركب الذي يحتوي على ثلاث مجموعات (OH) في الحلقة B قبل الذي يحتوي على مجموعتي (OH) (وهذا الأخير قبل الذي يحتوي على (OH) واحدة دائما على الحلقة B [38] .

2-2- التنقية

الهدف من تنقية المركبات المفصولة بتقنيات الكروماتوغرافية السابقة تنقية جيدة، هو التخلص من الشوائب العالقة بالمركبات المعزولة و هذا باستعمال دعامات مختلفة: متعدد الأמיד SC6 ، السيليلوز ، gel de Séphadex ، السيلكاجال، كما تختلف جمل المذيبات المستعملة.

و للحصول على نتائج جيدة نستعمل عمود بطول 20سم و قطر 1سم ثم نتبع الخطوات التالية:

2-2-1 - التنقية على عمود من متعدد الأמיד SC6

يفضل في حالة الفلافونيدات ذات القطبية العالية لاحتوائه على وظيفة carbonyle-amide التي تكوّن روابط هيدروجينية مع الهيدروكسيولات في المركبات الفينولية [39، 40]. مما يسمح بفصل الفلافونيدات، وتكون عادة الجمل المملصة في هذه الحالة:

* Toluène → Méthanol

* Eau → Méthanol

2-2-2 - التنقية على عمود من السيفاداكس

تستعمل هذه التقنية في المراحل الأخيرة من عمليات الفصل و التنقية. و لتحقيق عمود من Sephadex LH20 يتم نقع جال السيفاداكس في الميثانول، ثم يصب المزيج بلطف في

العمود، و بعد استقراره يتم وضع المركب المفصول و المذاب في أقل كمية ممكنة من الميثانول على السطح بعناية، يملص بعدها بدفقات متتالية من الميثانول، حيث يخرج المركب أسفل العمود نقيًا و جاهزًا لمختلف الدراسات البنوية.

الدراسة البنوية للمركبات الفلافونيدية

التحليل البنوي للفلافونيدات لا يمكن أن يتم إلا على المركبات النقية، بحيث يتطلب ذلك تقنيات فيزيائية-كيميائية لتحديد ما مثل
-الخواص الكروماتوغرافية:

اللون الإستشعاعي و هو لون المركب عند تعرضه للأشعة فوق البنفسجية.

ثابت الإحتباس R_f .

كذلك على التقنيات الفيزيوكيميائية المختلفة:

مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV.

مطيافية الكتلة SM.

مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ($RMN-^1H$, $RMN-^{13}C$)

الإمالة الحمضية

1- الخصائص الكروماتوغرافية

1-1 اللون الاستشعاعي

اللون الإستشعاعي للمركبات تحت مصباح الأشعة فوق البنفسجية (lumière de Wood) يمثل المرحلة الأولية للتحليل، ويلعب دورًا مهمًا في التحديد البنوي للمركبات الفلافونيدية والجدول (7) يلخص بعضها [42،41].

*** الجدول (7): اللون الإستشعاعي للفلافونيدات تحت مصباح UV ***

لون المركب تحت أشعة UV	نوع الفلافونيد
بنفسجي-أسود.	. فلافون. . 5،6،7 أو 8،7،5 ثلاثي هيدروكسيل فلافون. . فلافونول مستبدل في الموضع 3. . بعض الشالكونات.
بنفسجي-نيلي.	. فلافونول أو فلافانول يملك هيدروكسيل في الموضع 3. . فلافون أو فلافانول دون OH في الموضع 5. . فلافونول مستبدل في 3 أو دون OH في الموضع 5.
أصفر أو أصفر باهت.	. فلافونول مع OH حر في 3 و/أو دون OH حر في 5. . إيزوفلافون.
برتقالي لامع.	. أوران. . بعض الشالكونات.
أصفر مخضر.	. فلافانول دون OH في الموضع 5.
أخضر.	. فلافون دون OH حر في الموضع 5
أزرق مخضر.	. فلافونول دون OH حر في الموضع 5 مع OH-3 مستبدل
أزرق فاتح (مشع)	

2-1 معامل الانحباس R_f

1 - من خلال قيم معامل الإحتباس R_f في نظام مذيب معين يمكن معرفة طبيعة الفلافونيد الذي بحوزتنا .

و يعرف هذا الأخير (أي R_f) بأنه النسبة بين المسافة المقطوعة من طرف المركب انطلاقا من نقطة البداية والمسافة المقطوعة من طرف المذيب من نفس النقطة، و هو قيمة مميزة لكل مركب في شروط كروماتوغرافية معينة (درجة الحرارة، المذيب،) و ترتبط قيمة R_f بطبيعة المجموعات الاستبدالية على المركب [43 , 44] .

و يتم قياس R_f للمركبات النقية عادة في ثلاث أنظمة لمذيبات مختلفة :

النظام 1 : (Toluène / méthanol / méthyléthylcétone (4 / 3 / 3)
النظام 2 : (13 / 3 / 3 / 1) : / méthyléthylcétone/ Acétylacétone .
eau/méthanol

النظام 3 : 15 % Acide acétique

ومن خلال قيم R_f في مختلف الأنظمة يمكن معرفة ما إذا كان المركب أجليكونا أو إيتيروزيدا، كذلك معرفة ما إذا كان أحادي، ثنائي أو ثلاثي السكر [43، 45]. فمثلا :
قيمة R_f تزداد لأن مجموعات الهيدروكسيل الحرة قليل في نظام مذيب عضوي، و العكس في نظام مذيب مائي [44].
إذا كان المذيب مستبدل بسكر واحد أو أكثر ، فإن قيمة R_f تزداد في نظام مائي و تنقص في نظام عضوي

والجدول (8) يبين العلاقة بين الفلافونيد وقيمة R_f .

* الجدول (8): العلاقة بين قيمة R_f وبنية الفلافونيد.*

بنية الفلافونيد	قيمة R_f
زيادة عدد مجموعات OH	تنقص قيمة R_f في الأنظمة العضوية (4/3/3) (T/MEC/MeOH)
زيادة عدد مجموعات OCH ₃	تزيد قيمة R_f في الأنظمة العضوية
وجود السكر	تنقص قيمة R_f في الأنظمة العضوية تزيد قيمة R_f في الأنظمة المائية (H ₂ O/EtOH/MEC/Acétylacétone 13/3/3/1)
مثألة OH الموضع 5	تزيد قيمة R_f في الأنظمة العضوية تنقص قيمة R_f في الأنظمة المائية
وجود مجموعات أستيل	تزيد قيمة R_f في الأنظمة العضوية تنقص قيمة R_f في الأنظمة المائية

2- طرق التحليل الطيفي :

1-2 مطيافية الأشعة فوق بنفسجية

تعتبر مطيافية الأشعة فوق البنفسجية من أهم الوسائل المستعملة للتعرف على البنية الكيميائية للمركبات الفلافونويدية، و قد نشرت أبحاث كثيرة بهذا الصدد [48-45].

و تكمن أهميتها في أنها :

-لا تحتاج إلى كمية كبيرة من المركب لإنجازها (0،1 ملغ).

-سهولة و سرعة تحقيقها.

-تعطي معلومات معتبرة عن البنية المحتملة للمركب.

أ- طيف إمتصاص الميثانول:

يؤخذ طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية (UV) في العادة للمركب الفلافونيدي في محلول الميثانول أو الايثانول . و بصورة عامة فان طيف (UV) يتميز بحزمتي طيف في جميع الفلافونيدات الا أنه يختلف مكان امتصاص هاتين الحزمتين باختلاف نوع المركب الفلافونيدي . و يشار الى هاتين الحزمتين بالحزمة I (التي تمتص عند طول موجة أعلى) و الحزمة II ، و يبدو مكان امتصاصها للمركبات الفلافونيدية المختلفة في الجدول (9)

الجدول -9- طيف إمتصاص الميثانول

نوع المركب الفلافونيدي	الحزمة I	الحزمة II
فلافون	350-320	270-250
فلافونول	385-352	280-250
فلافونون	330-300	275-245

من الملاحظ انه كلما زاد عدد مجموعات الهيدروكسيل فان حزمة الامتصاص تنزاح الى طول موجي أعلى . و عند استبدال مجموعات الهيدروكسيل بمجموعات الميتوكسيل أو وحدات سكر تنزاح حزمنا الامتصاص الى طول موجي أقل [43].

كما يمكن أن يفيد طيف الميثانول في إعطاء عدة معلومات حول بنية الفلافونيد بحيث:

تدل الشدة الضوئية الكبيرة للعصابة I مقارنة بالعصابة II على وجود مجموعة هيدروكسيل حر في الموقع 4'.

قيمة العصابة I تساعد على الحكم بأن الفلافونيد من النوع فلافون أو فلافونول. قيمة العصابة II تساعد على تحديد وجود OH أو أكثر على الوحدة B. بحيث إذا ظهرت العصابة II عند 270 ن.م فهذا دليل وجود OH في الموقع 4' [38] ، أما إذا ظهرت قممتين أو قمة و نتوء عند 258 ن.م و 278 ن.م على الترتيب فيدل على وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل أو متعدد الهيدروكسيل على الوحدة B [38].

بإضافة كواشف معينة إلى محلول الميثانول مثل: NaOH ، NaOAc أو $HCl + AlCl_3$ يمكننا من التعمق أكثر في الدراسة البنوية حيث تتوضح لنا مستبدلات الهيكل الفلافونويدي. فالمعلومات المستخلصة من طيف امتصاص الميثانول تكون مكملة للتي تعطيها لنا الأطياف المأخوذة بوجود هذه الكواشف، لأنها في الغالب تعطي ألوانا مميزة إذا ما أضيفت إلى المحلول الميثانولي.

هذه الألوان تظهر نتيجة تغير مكان امتصاص حزم طيف UV و ذلك بسبب تكوين معقدات مع تلك الكواشف.

أ- في وجود NaOH:

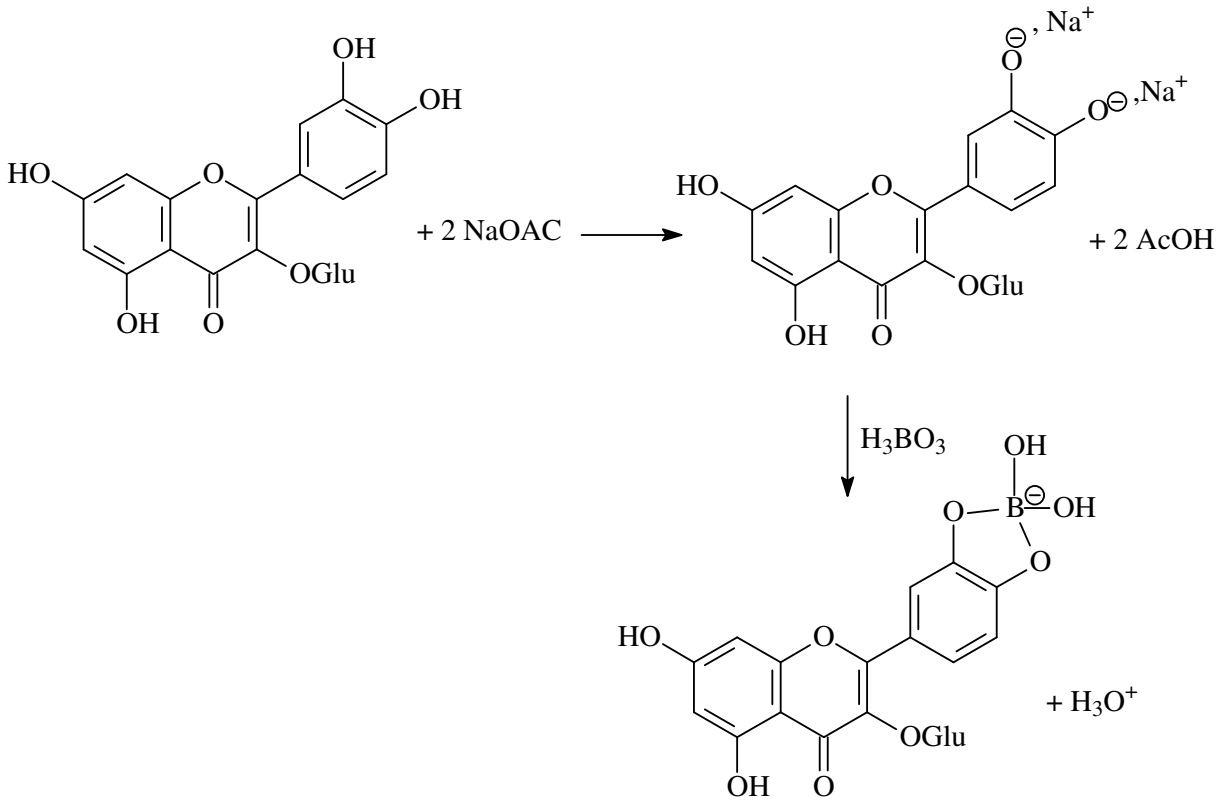
يعتبر NaOH أو (NaOMe) أساس قوي يؤين كل هيدروكسيلات الفلافونيد، و إضافتها لـ (مركب + ميثانول) تحدث إزاحة باثوكرمومية لكل الطيف، و تأثيرها يظهر خاصة على العصابة I.

ب- في وجود NaOAc:

تؤين NaOAc مجموعات الهيدروكسيل الأكثر حمضية مثل هيدروكسيلات المواقع 3،7 و 4' باعتبارها قاعدة أضعف من NaOH . ، و يظهر ذلك جليا على العصابة (II) للطيف المسجل إذ انه يحدث فعل باثوكرومي [+5 إلى +20 نم] للعصابة (II)، و يشير ذلك إلى وجود OH حر في الموضع C₇ [49].

ج- في وجود $H_3BO_3 + NaOAc$:

يضاف H_3BO_3 على العينة في وجود $NaOAc$ للكشف عن أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B في الموقع 3'، 4' بالانزياح الباثوكرومي للعصابة I (12-36 ن.م) [43]، و يلغى في حالة استبدال أحدهما. و على الحلقة A في المواقع 6،7 أو 7،8 من خلال المعقدات التي يشكلها، و الفعل الذي يظهره هو فعل باثوكرومي للعصابة I مقارنة بالطيف المسجل في الميثانول [50]. أنظر الشكل 16.



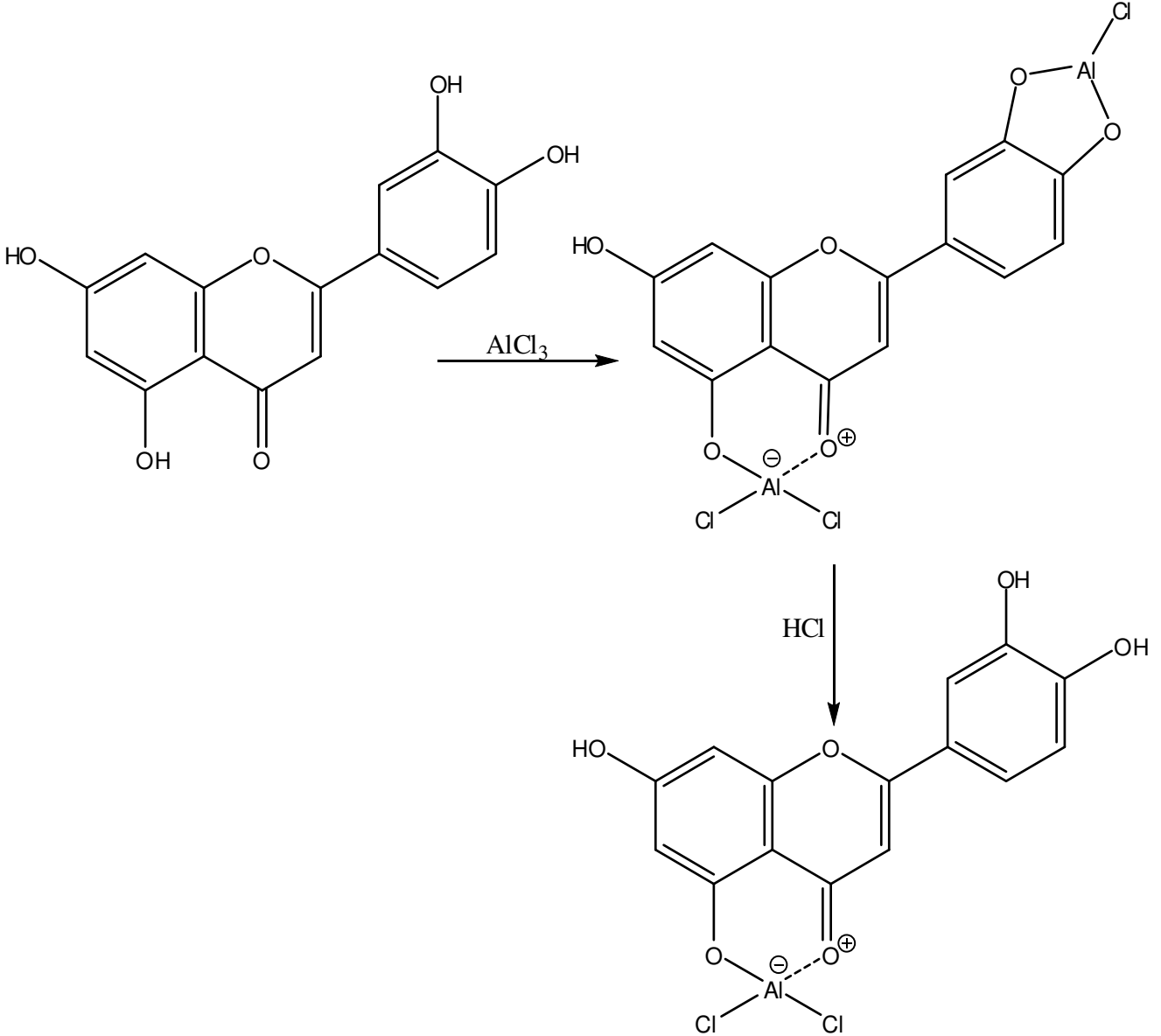
الشكل-16:- المعقد المتشكل بين الفلافونيد و ($H_3BO_3 + NaOAc$)

د- في وجود $AlCl_3$:

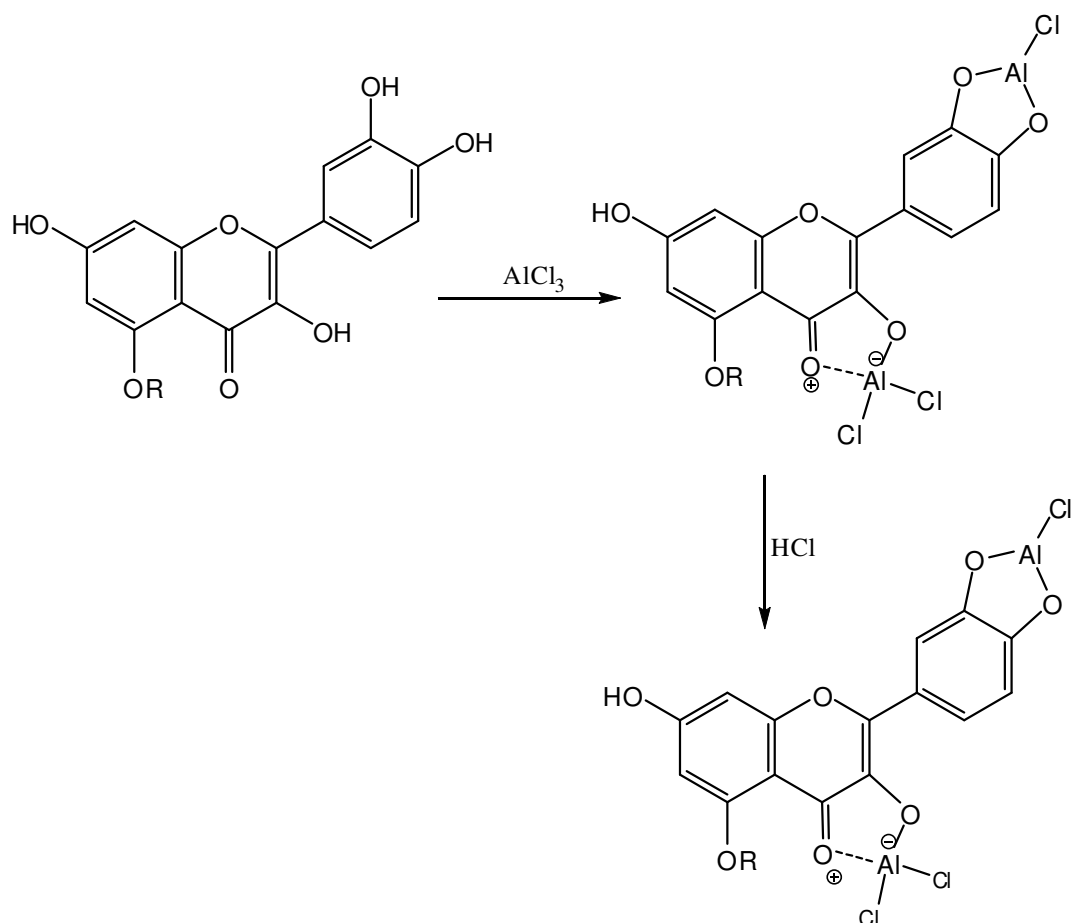
يشكل $AlCl_3$ معقدات ثابتة بين كربونيل الموضع 4 و هيدروكسيل الموضع 3 أو الموضع 5 في الوسط الحمضي أي بعد إضافة HCl ، و معقدات غير ثابتة في الوسط الحمضي مع المركبات المحتوية على مجموعتي هيدروكسيل حرة في (3'، 4')؛ (7، 8)؛ (6، 7) كما هو موضح في الشكل (17-18).

ه- في وجود $HCl + AlCl_3$:

نقارن الطيف المسجل في وجود $AlCl_3$ مع المسجل بعد إضافة HCl فتكون الإزاحة إيبسوكرومية بـ (30-40 ن.م) للعصابة I في حالة وجود معقد غير مستقر و هذا معناه وجود أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A و B و بذلك يكون طيف $AlCl_3$ الممثل لتأثير كل المعقدات الثابتة و غير الثابتة ، أما طيف $AlCl_3 + HCl$ فطيف المعقدات الثابتة فقط.



شكل-17- المعقدات الثابتة و الغير ثابتة بين الفلافونيد و $AlCl_3$ قبل و بعد اضافة HCl



شكل-18- المعقدات الثابتة و الغير ثابتة بين الفلافونيد و AlCl₃ قبل و بعد اضافة HCl
(تابع)

والجدول 10 يوضح مختلف التأثيرات المحتملة على طيف UV و تفسيراتها قبل وبعد
إضافة الكواشف [43] , [51- 53]

الجدول- 10 مختلف التأثيرات المحتملة على طيف UV

التعليق	الإزاحة الملاحظة (نم)		الكاشف
	العصاة (II)	العصاة (I)	
فلافون فلافونول (3-OR) فلافونول (3-OH)	280-250 280-250 280-250	350-310 360-330 385-350	MeOH
3,4'-OH أو أرثو ثنائي OH على الحلقة A أو ثلاثة OH متجاورة على الحلقة B 4'-OH 3-OH, 4'-OR 7-OH	استمرار تناقص شدة الإمتصاص بمرور الزمن (تفكك الطيف) 45+ إلى 60 دون نقصان في شدة الإمتصاص 45+ إلى 60 مع نقصان في شدة الإمتصاص عصاة جديدة بين 335-320		NaOMe (NaOH)
7-OH 7-OH مع مستبدل أكسجيني في C ₆ و/أو في C ₈ 5,6,7 ; 5,7,8 ; 3,3',4' tri-OH	+ إلى 5 + 20 إزاحة صغيرة طيف يتفكك بمرور الوقت	$\Delta\lambda(I) < \Delta\lambda(II)$ NaOMe NaOAc	NaOAc
أرتو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B أرتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A (6,7-7,8)	12+ إلى 36+		NaOAc + H ₃ BO ₃
أرتو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B أرتو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A (إضافة إلى أرتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B)	HCl+ AlCl ₃ مقارنة بطيف 40+ إلى 30+ HCl +AlCl ₃ مقارنة بطيف 25+ إلى 20+		AlCl ₃
5-OH مع وجود مجموعة أكسجينية في C ₆ 5-OH مع عدم وجود مجموعة أكسجينية في C ₆ 3-OH أو 3-OH و 5-OH إمكانية 5-OH و مجموعة برينيل في C ₆	17+ إلى 20+ 35+ إلى 55+ 50+ إلى 60+ بدون تغيير		AlCl ₃ +HCl

2-2- مطيافية الكتلة

تعتبر مطيافية الكتلة من أهم الطرق الفيزيائية التي تقدم معلومات عن بنية المركبات الفلافونيدية إذ تمكن من التعرف على الأوزان الجزيئية بالإضافة الى عدد و نوعية المستبدلات المرتبطة بالأجليكون كما أن تحديد قمم الشظايا الناتجة عن انقسام المركب يعطي معلومات جد هامة على كيفية توزيع هذه المستبدلات بالنسبة للحلقتين A و B .

هناك العديد من هذه المركبات تم استخلاصها و فصلها بكميات صغيرة جدا ، و قد تم التعرف عليها بمساعدة طيف الكتلة الذي يتطلب اجراؤه كمية من رتبة النانوغرام . و تجدر الاشارة الى أن طابع التجزؤ في أطيف الكتل لكثير من هذه المركبات مميز .

و من بين التقنيات المستعملة في هذا المجال :

- تقنية القذف الإلكتروني (EI) .

- تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B) .

- تقنية الإلكترولوسبراي (ES) .

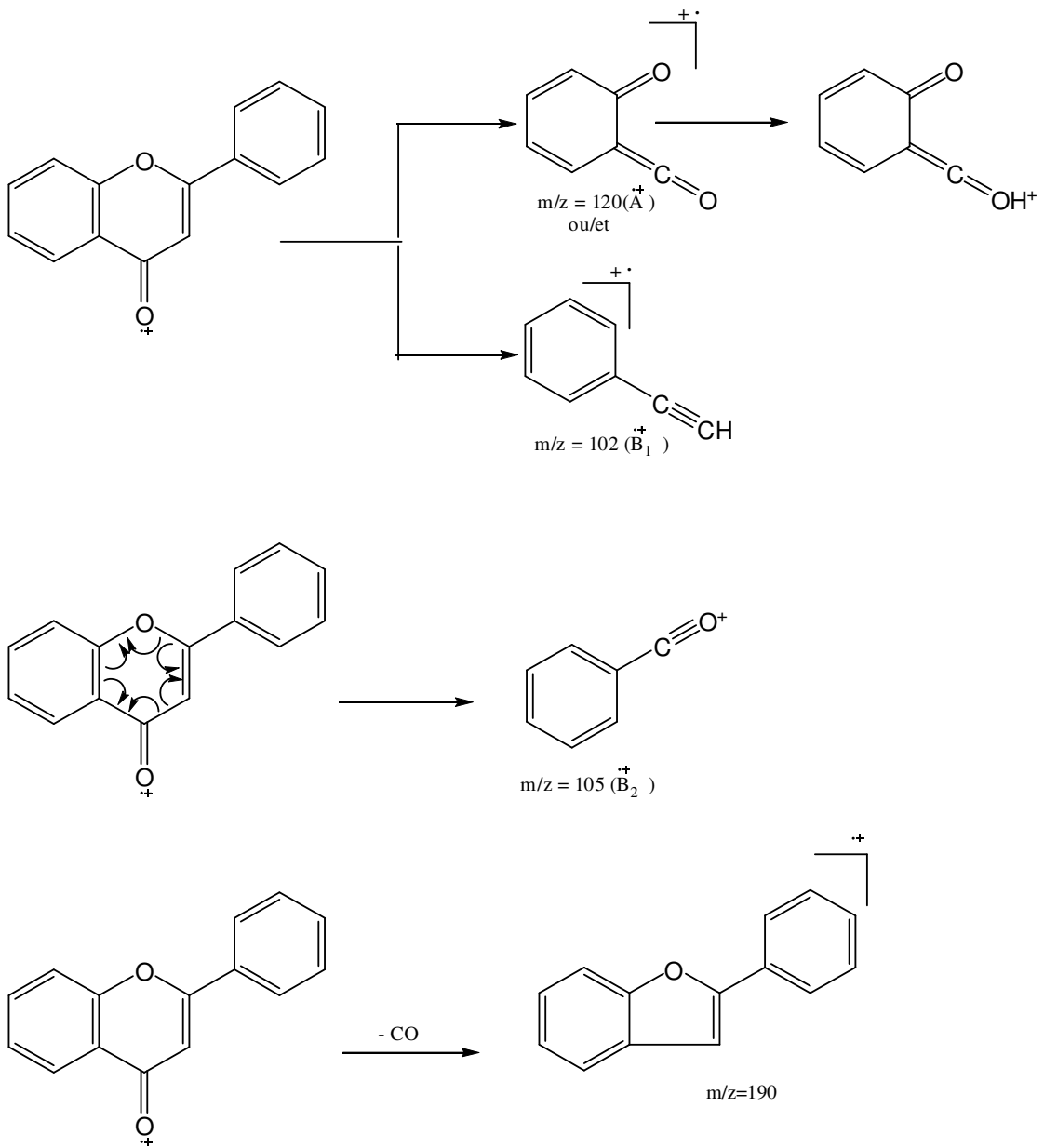
أ- تقنية القذف الإلكتروني (EI) [55،54] .

تستعمل تقنية القذف الإلكتروني (I.E) في حالة الأجليكونات فقط لأن المستبدلات السكرية للجليكوزيدات لا تتحمل الطاقة القوية التي تتطلبها هذه التقنية، كما أن الجليكوزيدات لا تتميز بخاصية التطاير و التي تعتبر مبدأ للعمل أين تنتج المعادلة [56، 57].

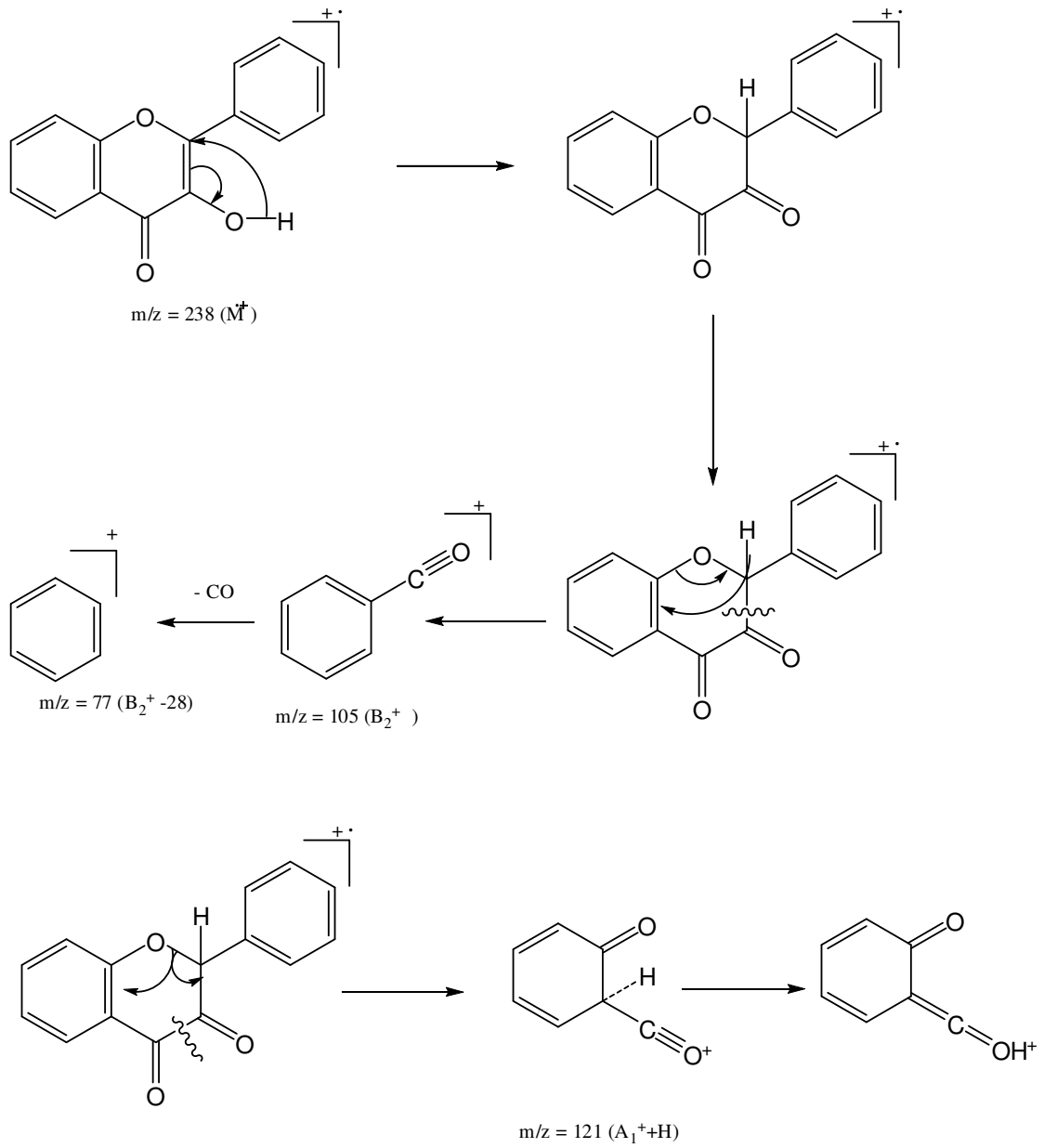


و تتم هذه التقنية بقذف المركب بسيل من الإلكترونات داخل غرفة التأين عند درجة الحرارة المناسبة (100 – 300 م°)

فيما يلي شرح لأهم الشظايا على بعض الأقسام الفلافونويدية بشكل عام شكل (19،20)



شكل-19- اهم الإنشطارات الملاحظة على الفلافون



شكل-20- أهم الإنشطارات الملاحظة على الفلافون (تابع)

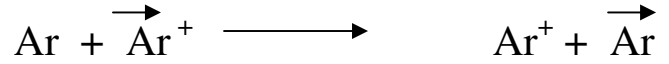
ب- تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B).

تعتبر تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B) تقنية حديثة تسمح بمعرفة الأيون الجزيئي وطبيعة السكر [58] . بالنسبة للمركبات الإيتيروزيدية القطبية ذات الأوزان الجزيئية المرتفعة، التي لا نستطيع دراستها بواسطة تقنية (EI) [56,54] .

فباستعمال تفريغ (كاثود) يتم تأيين ذرات غاز الأرجون لنحصل على أيونات (Ar⁺)



بعدها تدخل هذه الأيونات غرفة الصدم المحتوية هي الأخرى على غاز الأرجون تحت ضغط معين فيحدث إنتقال الشحنة بين Ar و Ar⁺ حسب التفاعل :



حيث تبقى الذرات الناتجة Ar محافظة على طاقتها و عند الخروج من غرفة الصدم نحصل على خليط من (Ar , Ar⁺)، يتم بعدها عزل (Ar⁺) باستعمال لوح مكثفة لنحصل في النهاية على سيل من ذرات الأرجون (Ar) التي تدخل غرفة التأيين لتصادم ذرات العينة (المركب المدروس) الموضوع على لوح معدني فنحصل على أيونات للمركب التي يتم قلعها و تسريعها و تحليلها بعد ذلك، و من مميزات هذه التقنية. [56].

- تكوين أيونات المركب دون تشحين العينة.

- تكوين أيونات شبه جزيئية (Quasi moléculaires).

- تكوين أيونات موجبة و سالبة.

- مدة حياة طويلة للعينة.

تطبيق هذه التقنية (FAB) مع الغليكوزيدات يمكننا من الحصول على معلومات فيما يخص الجزء السكري منها، و إضافة" إلى أيونات التنشيطية العادية المميزة للفلافونيدات نحصل على قمم موافقة لأيونات شبه الجزيئية من الشكل، [M+H]⁺ ، [M+Na]⁺ ، [M+K]⁺ ، [M-H]⁻ ...

ج- تقنية الإلكتروليسبراي (ES).

تعتبر هذه التقنية أحدث من (F.A.B) و تختلف عنها في الطريقة العملية، حيث تسمح بدراسة الجزيئات ذات الأوزان الكبيرة مثل البروتينات و الجزيئات الصغيرة سهلة التكسير مثل المضادات الحيوية و المبيدات [59].

أما بالنسبة للفلافونويدات فتستعمل تقنية (ES⁺) لدراسة المركبات سهلة التكسير مثل: O-glycosides [60].

3-2- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي

تتطلب مطيافية الرنين النووي المغناطيسي كمية معتبرة من العينة ، رغم هذا فهي من بين طرق التحليل البنيوي للفلافونيدات التي تحتل مكانة مهمة ، حيث أستخدمت على نطاق واسع في دراسة مثل هذه المنتجات الطبيعية ، خاصة وأنه يمكن استرجاع المركب بعد تحليله، و من أهم الطرق المتاحة للحصول على التركيبة الكيميائية للمركبات توجد عدة تقنيات هي :

○ طيف RMN للبروتون ¹H

○ طيف RMN للكربون ¹³C

أ طيف RMN للبروتون ¹H

ان خاصية أطياف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون لا تختلف عموما عن الأطياف الخاصة بالمركبات الأروماتية التي تحمل مجموعات أكسجينية بديلة . فالبروتونات المجاورة لمجموعة هيدروكسيلية أو ميثوكسيلية تمتص عند قيمة تتراوح بين 6.6 ppm و 7.7 ppm بينما تمتص البروتونات المحاطة بمجموعتي هيدروكسيل أو ميثوكسيل عند 6.1 ppm [6] .

أما إذا وجدت مجموعة أكسجينية على الموضع رقم 6، و كان الموضع رقم 5 غير مستبدل فإن بروتون هذا الموضع يظهر عند قيمة 7.4ppm تقريبا و ليس ضمن المجال 6.6 ppm و 7.1ppm

ومن التطبيقات النموذجية لهذه التقنية على هذا القسم من المركبات مايلي :

-درجة تأكسد الحلقات A ، B ، C .

- عدد السكريات و نوع الرابطة α أو β . [5]

و فيما يلي جدولين (12,11) يبينان بعض الانزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة A و B .[61]

الجدول - 11 - الإنزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة A

(H-8) δ ,ppm J ,Hz	(H-6) δ ,ppm J ,Hz	(H-5) δ , J ppm ,Hz	بروتونات الحلقة A طبيعة الفلافونيد
6,3-6,5(d) 2,5	6,0-6,2(d) 2,5	-	5,7-OH
6,5-6,9(d) 2,5	6,2-6,4(d) 2,5	-	5-OH, 7-OR (R: Glu)
6,7-7,0(d) 2,5	6,7-7,1(dd) 2,5-9	8,0(d) 9,0	7-OR (R = H, sucre)
6,3(s)	-	-	5,6,7-OR (R = H,sucre)
-	6,3(s)	-	5,7,8-OR

الجدول - 12 - الإنزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة B

(H-3' / H-5') δ ,ppm J ,Hz	(H-2' / H-6') δ ,ppm J ,Hz	بروتونات الحلقة B طبيعة الفلافونيد
6,5-7,1(d) 8,5	7,7-7,9(d) 8,5	فلافون (4'-OR)
6,5-7,1(d) 8,5	7,9-8,1(d) 8,5	فلافونول (4'-OR)

بروتونات الوحدة غير المتجانسة C:

يظهر البروتون H-3 في بنية الفلافون على شكل إشارة أحادية بين (6-7 ppm) [62] حيث لا يمكن تمييزه من بين البروتونات H-6 و H-8 هذا في حالة (7,6,5)، (8,7,5) أو 5,7-OH [63] ، وينزاح هذا البروتون نحو 4.2 ppm في حالة dihydroflavonol، في حين يظهر في شكل إشارة متعددة في حالة flavane .

البروتون H-2 في هيكل dihydroflavonol يظهر في شكل ثنائية عند (5.2ppm)، أما في حالة هيكل flavanone فيظهر ثنائي ثنائي بين 5 ppm و 5.5 ppm .

بروتونات الميثوكسيل -OMe :

عندما يكون الفلافونيد يحتوي على ميثوكسيل أو عدة ميثوكسيلات تظهر في شكل إشارات أحادية ما بين (3.8-4.5ppm) [61].

بروتونات السكر:

بروتونات السكر تتميز بالبروتون الأنوميري، إذ يختلف انزياح هذا البروتون حسب طبيعة الفلافونويد وكذا موقع و نوع الرابطة بين السكر و الأجليكون و تتواجد إشارته عموما في مجالات أدنى من مجال إشارات بقية بروتونات الأجليكون [38]. و الجدول التالي يعطي قيم الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1" لبعض الفلافونيدات أحادية السكر.

الجدول-13- : قيم الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1" لبعض الفلافونيدات

أحادية السكر

H-1" (δ .ppm)	الفلافونيد
5.2 - 4.8	7-O-glucosylflavonoide
6.0 - 5.7	3-O- glucosylflavonoide
5.3 - 5.1	7-O-rhamnosylflavonoide
5.1 - 5.0	3-O- rhamnosylflavonoide

يمكن التعرف على نوع الرابطة α أو β بين السكر و الأجليكون من خلال ثابت الإقتران لـ" $H-1$ "، " $H-2$ " حيث يمتاز الغلوكوز بالرابطة β ويظهر " $H-1$ " بإشارة ثنائية بثابت تزاوج ($J = 7 \text{ Hz}$) ناتج عن تزاوج ثنائي محوري مع " $H-2$ " كما يمتاز الرامنوز برابطة قد تكون α بإشارة ثنائية لـ" $H-1$ " بثابت تزاوج ($J=2 \text{ Hz}$) نتيجة الإقتران إستوائي-إستوائي. كما يمكن التعرف على سكر الرامنوز بظهور إشارة ثنائية لميثيل السكر بثابت تزاوج ($J = 6 \text{ Hz}$) في المجال (0.8-1.2ppm) [45]. بالإضافة إلى الغليكوزيدات الأحادية، فهناك غليكوزيدات ثنائية السكر، أغلب هذه المركبات يكون الجزء السكري فيها إما Rutine أو Neohesperidine، و يمكن التفريق بينهما بظهور إشارة (7,3-O-rutinosides) في المجال (4.2 - 4.4 ppm) بثابت تزاوج ($J=2 \text{ Hz}$) مع إشارة ميثيل الرامنوز في المنطقة (0.7 - 1 ppm)، في حين تظهر إشارة 7,3-O- neohesperidine في المجال (4.9 - 5 ppm) بثابت تزاوج ($J = 2 \text{ Hz}$) مع ظهور إشارة ميثيل الرامنوز في المنطقة (1.3-1.1) و الجدول التالي يعطي قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأنوميرية " $H-1$ " ، " $H-1$ " لبعض من الغليكوزيدات ثنائية السكر [64].

الجدول-14- : قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأتوميرية H-1'' ، H-1''' لبعض

الجليكوزيدات ثنائية السكر في DMSO-d6

السكر الأول	H-1'' (ppm)	السكر النهائي	H-1''' (ppm)
3-O-β-D- Glucoside	5.72 - 5.75	2-O-β-D- Glucoside	4.63 - 4.65
	5.28 - 5.46	6-O-β-D- Glucoside	3.96 - 4.02
	5.40 - 5.66	2-O-α-L- Rhamnoside	4.90 - 5.10
	5.28	6-O-α-L- Rhamnoside	4.37 - 4.39
3-O-α-L- Rhamnoside	5.56	2-O-β-D- Glucoside	4.10 - 4.23
	5.21 - 5.50	3-O-β-D- Glucoside	4.32 - 4.48
	5.33 - 5.44	3-O-β-D- Galactoside	4.25
	5.31	3-O-α-L- Rhamnoside	4.81

ب- طيف RMN للكربون ^{13}C

تستخدم أطيف الكربون في التعرف على جليكوزيدات الفلافونات و الفلافونولات حيث تؤدي إلى معلومات مهمة عن طبيعة و مكان إرتباط الوحدة السكرية كما تفيد أيضا في:

معرفة العدد الإجمالي لذرات الكربون للفلافونيد .

معرفة عدد كربونات السكر .

معرفة عدد الكربونات المؤكسجة داخل أنوية الفلافونيدات .

طبيعة و مكان ارتباط الوحدة السكرية.

التمييز بين هياكل الفلافونيدات اعتمادا على الإنزياح الكيميائي للكربونات 2، 3 و 4.

يوضح الجدول التالي الإزاحات الكيميائية لذرات الكربون 2، 3، 4 للفلافونات

و الفلافونولات من خلال تقنية الرنين النووي المغناطيسي ^{13}C RMN [65].

الجدول(15): الإزاحة الكيميائية لبعض ذرات الكربون للفلافونات و الفلافونولات *

الإزاحة الكيميائية (δ ppm)	الكربون	نوع الفلافونيد
165-160.5	C-2	الفلافونات
130.0-111.8	C-3	
184.0-176.3	C-4	
150.0-145.0	C-2	الفلافونولات
139-136.0	C-3	
177.0-172.0	C-4	

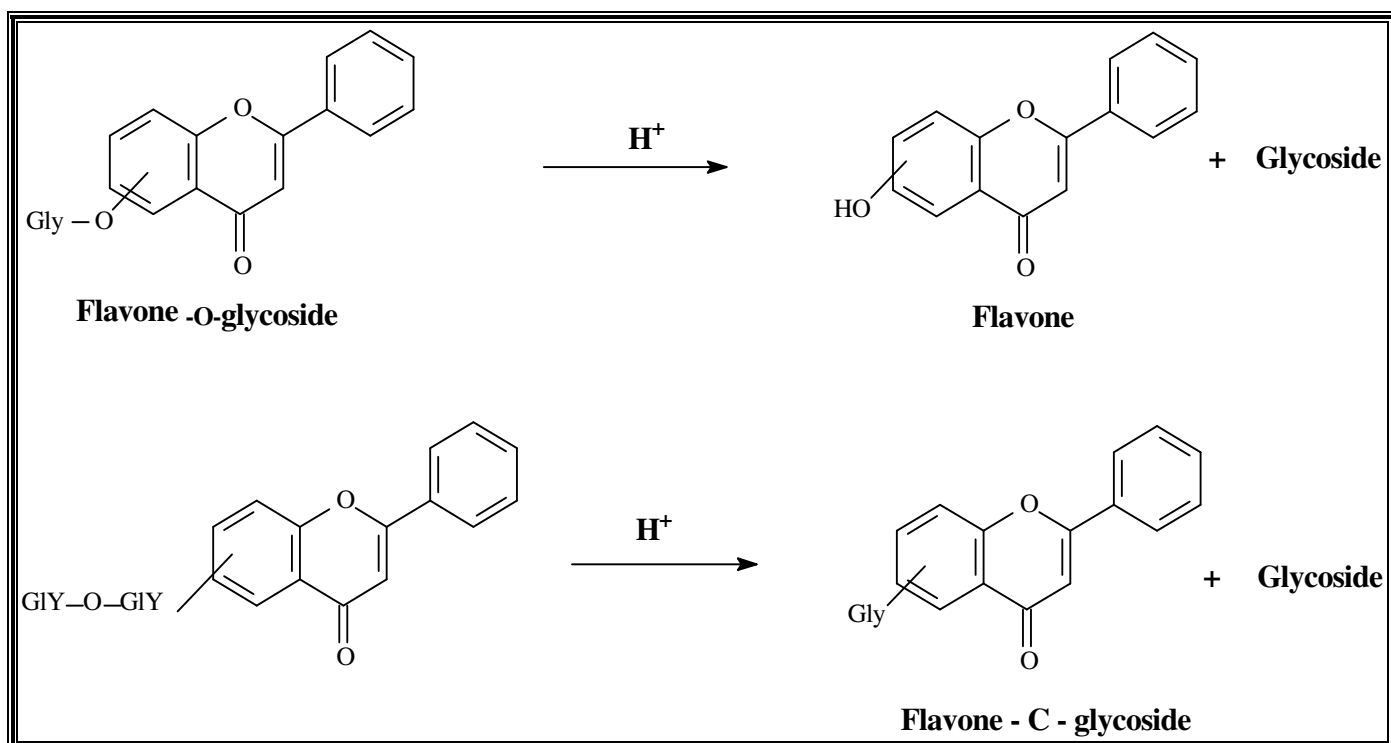
2-4- الإماهة الحمضية

بالإضافة إلى التقنيات السابقة يمكن الاستعانة بالتميه الحمضي للتعرف على عدد ونوع

السكريات الموجودة في المركبات الجليكوزيدية إذ تعمل هذه التقنية على تحطيم الرابطة (كربون -

أكسجين) الجامعة بين السكر والأجليكون. والشكل (21) يبيّن الإماهة الحمضية للفلافونيدات

الجليكوزيدية في حالة O- جليكوزيل و C- جليكوزيل [32].



الشكل (21) : الإماهة الحمضية للفلافونيدات الجليكوزيدية

تتم عملية التميح الحمضي في أنبوب اختبار بأخذ كمية قليلة من الجليكوزيد مذاب في حوالي (1 مل) من الميثانول ويضاف له (1 مل) من حمض كلور الماء (2N) HCl ثم يسخن في حمام مائي 100 م° لمدة 15 إلى 120 دقيقة.

بعد تبريد الأنبوب يعمد إلى استخلاص من نوع سائل/سائل بدءًا بإيثير الإيثيل (éthylic ether) بعد الرج الجيد يترك الأنبوب للراحة لتفصل بعدها الطبقة العضوية عن المائية، تكرر العملية مرة أخرى مع أسيتات الإيثيل (éthyl acétate) ثم البيوتانول العادي (n-butanol).

تركز الطبقة العضوية الحاوية على الأجليكون الذي يمكن التعرف عليه بتسجيل طيف (UV) وكذا بإجراء كروماتوغرافي (CCM) مع شواهد أجليكونية، أما الجزء السكري من الجليكوزيد فيبقى مذابًا في الطبقة المائية التي يتم تجفيفها ثم يعاد غسلها بالماء لتجفف من جديد تكرر هذه العملية عدة مرات للتخلص من HCl وأخيرا تغسل بالميثانول للتخلص من آثار الطبقة العضوية ثم يعاد إذابتها في الماء لتكون جاهزة للتحليل، وللتعرف على نوع

السكر المنفصل يعمد إلى تحضير ألواح كروماتوغرافية من Gel de silice 60F₂₅₄ ترش بمحلول (0,2M) NaH₂PO₄ تترك لتجف في الهواء ثم توضع في فرن تحت درجة حرارة 100 م° لمدة ساعة كاملة.

بعدها توضع نقطة من الطبقة المائية الحاوية على الجزء السكري بالموازاة مع بعض الشواهد السكرية المعروفة، يغمس اللوح الكروماتوغرافي في المملص : أستون : ماء (90 : 10)، بعد هجرة البقع السكرية يستخرج اللوح الكروماتوغرافي ليجف في الهواء لمدة ساعة بعدها يرش بكاشف مالونات الأنيلين ويسخن عند 100° لمدة 5 دقائق حيث تبدأ بقع السكريات بالظهور بلون داكن وتأخذ اللون الأصفر تحت (UV). والجدول (15) يبيّن قيم Rf لبعض السكريات الشائعة [43].

الجدول (15) : قيم Rf لبعض السكريات الشائعة

السكريات الشواهد	Rf
α(L) rhamnose	0,88
D(+)-xylose	0,79
L(+)-arabinose	0,66
B-D(+)-glucose	0,53
D(+)-galactose	0,33

الفصل الثالث

الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلص البوتانولي لنبته

Haloxylon scoparium (Chenopodiaceae)

عائلة (chenopodiacees)

تعرف عائلة (chenopodiacees) بأزهارها التي لا تحتوي على بتلات كما تتميز أيضا ببعض الأنواع التي يمكن زرعها و أنواع أخرى تنبت ، تحتوي على حوالي 1500 نوع تنفرع الى 100 جنس موجودة في أنحاء العالم ، أزهارها صغيرة تتكون من 2 الى 5 سبلات معظمها لونها أخضر و البعض الآخر يميل إلى الأبيض أو الأحمر ، أوراقها غالبا ما تكون صغيرة جدا أو مكتملة أو مقصوفة قليلا ، وأخرى لها شكل أقدام الإوز حيث جاء إسمها من اليونانية khempous [66،67].

كثيرا ما تنموا (chenopodiacea) على حافة البحار والمستنقعات أو الصحاري المالحة ، تنتمي chenopodiacea إلى قسم من النباتات التي تستعمر المناطق الساحلية حيث المد والجزر يترك بقايا الطحالب أو النباتات المائية أو الحيوانية. والتي تعتبر بالنسبة لعائلة (chenopodiacea) مصدر أزوت .

الجدول (16) تصنيف النبتة

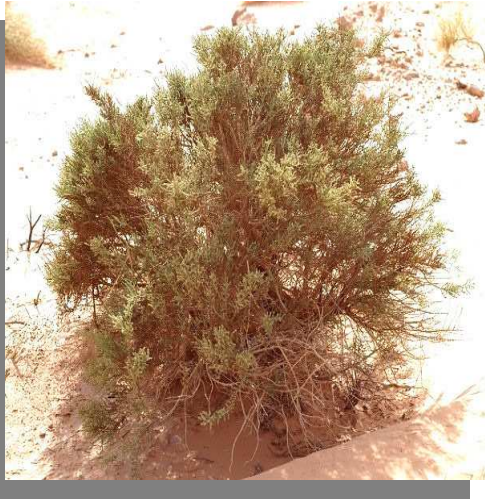
المملكة	Plantea	régne
تحت المملكة	Tracheobionta	Sous- régne
القسم	Magnoliophyta	Division
الرتبة	Magnoliopsida	Classe
تحت الرتبة	Caryophyllidae	Sous- Classe
الصنف	Caryophyllale	Ordre
العائلة	Chenopodiaceae	Famille
الجنس	Haloxylon	Genre
النوع	Scoparium	Espèce

الأهمية الاقتصادية لعائلة (chenopodiacea)

هي عائلة تحتوي على نباتات غذائية ، حيث المزروعة منها تكون أكثر مقاومة للملح وتحتاج عموما الى الأرض الغنية بالأزوت . ومن بين النباتات المعروفة في مناطقنا نجد الأنواع المختلفة للبنجر (bettes) والشمندر (betteraves) (Beta vulgaris) [68] والسبانخ (Spinacia aleracea) كما نذكر أيضا (atriplex hotensis) والسبانخ البرية (chenopodium bonus-henricus) والتي يمكن استهلاكها كسبانخ وأيضا (chenopodium quinoa) والذي يزرع في أمريكا الجنوبية كحبوب ، و(Kochia scoparia) الذي يعرف بالسرو الصيفي وهو نوع يستعمل للزينة ، قسم آخر من (Chenopodiacea) يعتبر من النباتات الضارة مثل (*Chenopodium album*) [66]

وصف النبتة :

عبارة عن شجيرة صغيرة كثيفة ومضلمة ، في اللغة العربية تعرف بـ " الرمت " تتواجد بكثرة في المناطق ذات التربة الجبسية . أزهارها خفية تتغطى نهاية فروعها بثمار ذات ألوان زاهية وردية أو حمراء ، وهذا في أواخر الخريف عندما تتوفر الرطوبة الكافية .



Haloxylon Scoparium (Chenopodiaceae)

انجز هذا العمل في اطار مشروع بحث اجراه فريقنا بهدف دراسة تصنيفية لنباتات طبية مستوطنة تتكون من استخلاص و فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي.

اقترنت هذه الدراسة بمتابعة البحث الفيتوكيميائي حول *Haloxylon scoparium* وهي نبتة تستعمل في الطب الشعبي ضد لسعات العقارب في الشرق و الجنوب الجزائري وهي تنتمي الى عائلة *Chenopodiaceae*.

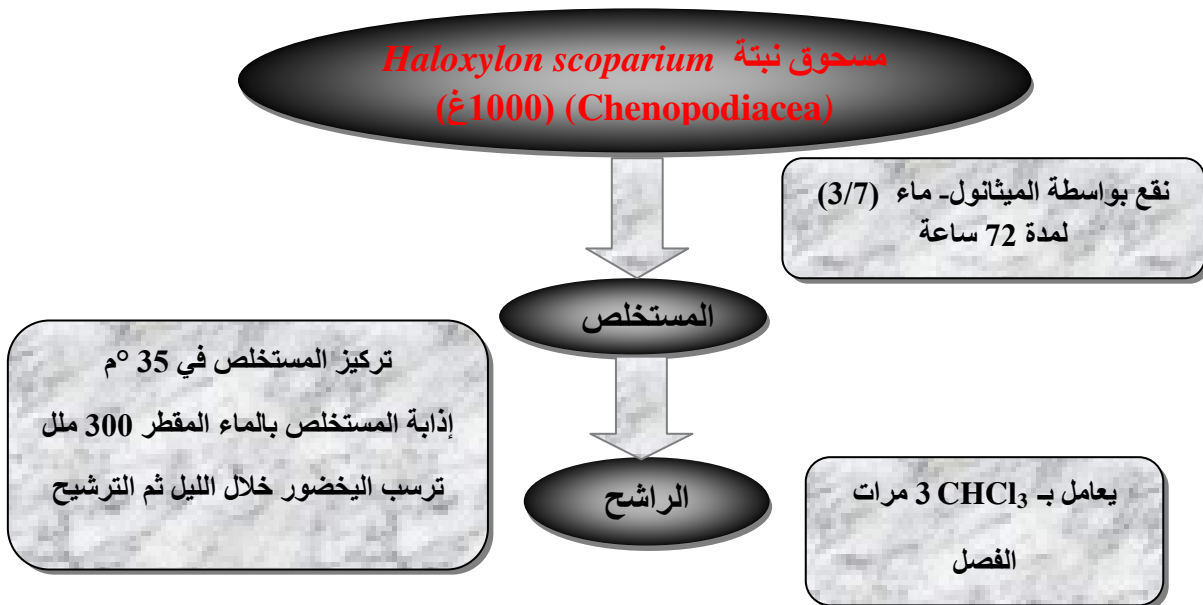
إستخلاص النبتة

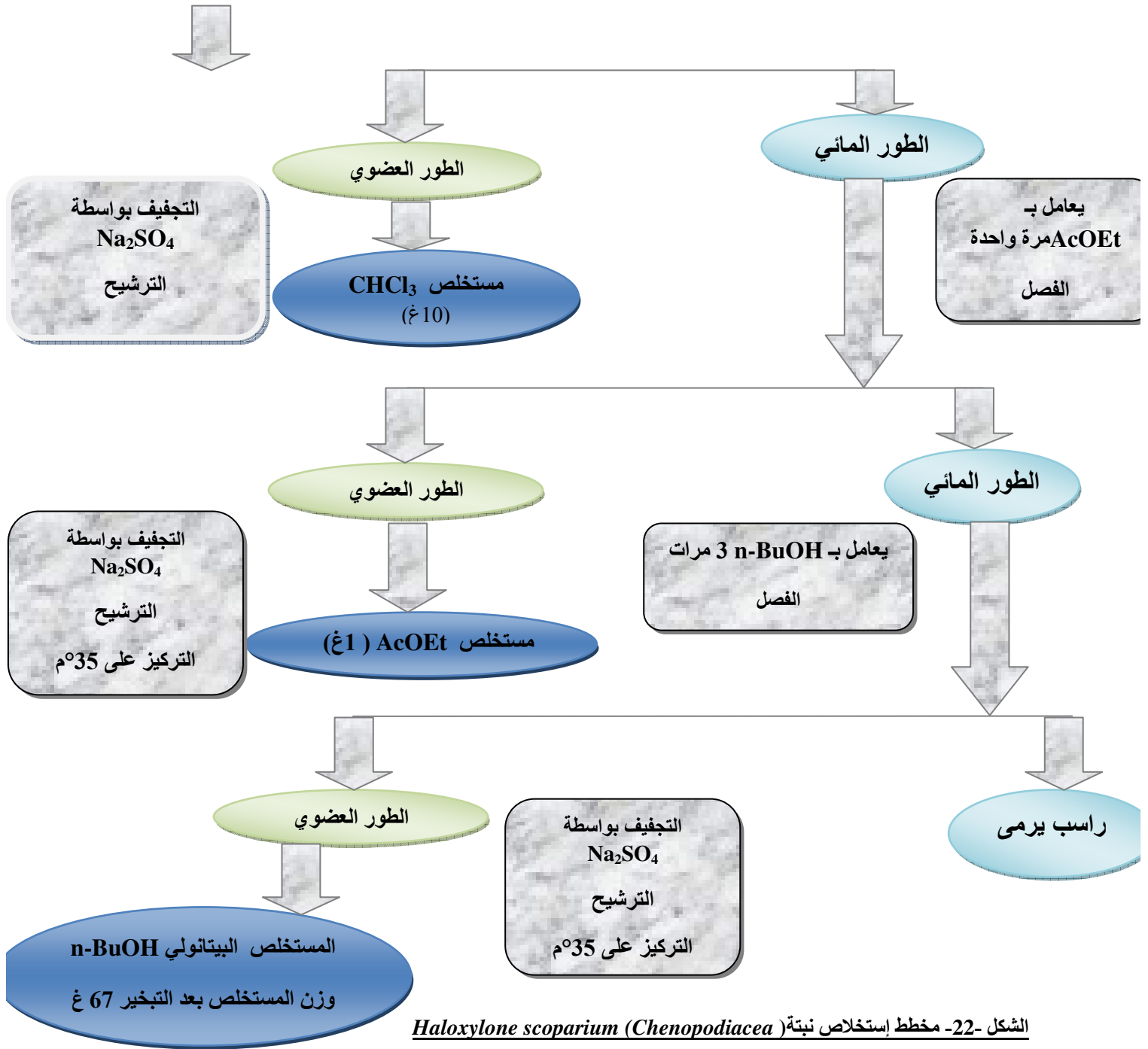
بعد تجفيف 1 كغ من النبتة تم تقطيعها إلى قطع صغيرة جدًا، حيث نعتت المادة النباتية في محلول كحولي (MeOH :H₂O / 30 :70) وتركت لمدة 72 ساعة، أعيدت هذه العملية 3 مرات مع تجديد المذيب كل 24 ساعة. ، وهذا لاستنفاد النسيج النباتي، نركزه في درجة حرارة 35°م ، نعالج المستخلص الخام بالماء المقطر تدريجيا (300مل) نضيف اليه رباعي خلات الرصاص ((CH₃COO)₄Pb)) مع الرج الجيد ثم نتركه ليلة كاملة بعدها نرشحه للتخلص من البقايا المترسبة غير الذائبة في الماء، نضع الرشاحة في قمع فصل ونضيف لها الكلوروفورم (CHCl₃) حيث يكون حجمه مساويا لثلث حجم الرشاحة المائية، وبعد الرج الجيد نتركه مدة 24 ساعة ثم نفصل الطبقة العضوية عن المائية ثم نُعيد نفس العملية ثلاث مرات. نجفف الطبقة العضوية السابقة من الماء باستعمال كبريتات الصوديوم (Na₂SO₄) نركزها ثم نزنها فنحصل على طور كلوروفورمي بوزن (10غ).

نضيف للطبقة المائية السابقة خلات الإيثيل (AcOEt) وبنفس الطريقة السابقة نستخلص طور خلات الايثيل بوزن (1غ).

نضيف البيوتانول النظامي وبنفس الطريقة السابقة أيضا نحصل على طور البيوتانولي بوزن (67غ).

و الشكل -22- يمثل مختلف خطوات الاستخلاص:





الشكل -22- مخطط إستخلاص نبتة *Haloxylon scoparium* (Chenopodiaceae)

في مرحلة سابقة قمنا بدراسة المستخلص الكلوروفورمي لهذه النبتة ، و استطعنا عزل عدد من المركبات المختلفة منها : coumarine, Alcaloide... [69]

أما في هذه المرحلة فقد قمنا باختيار المستخلص البوتانولي.

الفصل و التنقية:

قمنا باختيار المستخلص البوتانول. لأننا نهدف الى فصل المركبات ذات القطبية العالية و منها الفلافونيدات، أخضعنا المستخلص لفحوص تحليلية تمهيدية باستعمال كروماتوغرافيا

الطبقة الرقيقة التحليلية من السيليكا جال 60، و باستخدام جملة من المملصات ، وبعد عدة اختبارات حصلنا على الجملة المناسبة للتلميص و هي: (ميثانول ، كلوروفورم) ، لجأنا إلى كروماتوغرافيا العمود لفصل هذه المركبات.

الفصل بواسطة كروماتوغرافيا العمود:

أخذنا 18 غ من المستخلص البوتانولي. لنبنة *Haloxylon Scoparium* (*Chenopodiaceae*)

مستعنين بـ سليكا جال (Merk 0.04-0.063 nm ; 60) كدعامة و الكلوروفورم كمملص ورفع القطبية بالميثانول بالتدرج إلى غاية الوصول إلى 100% منه.

إستقبلنا الحزم النازلة في عينات سعتها 100ملل ليتم جمع المتشابه منها بالاعتماد على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية (أوراق الألومنيوم 60F 254Merk, gel de silice) بسمك 0.2 ملم) وذلك بالاستعانة بمصباح الأشعة فوق البنفسجية (254nm, 366nm) أو باستظهارها بعد تعرضها للرش بواسطة احدى الكواشف منها كاشف حمض الكبريت (H_2SO_4) أو Anisaldehyde ، بعد تسخينها لمدة 3 دقائق عند $100c^0$ والنتائج المتحصل عليها دونها في الجدول 17.

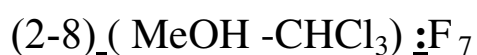
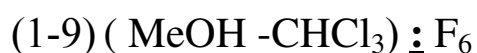
الجدول (17) تتابع تلميص العمود الكروماتوغرافي للمستخلص البوتانولي لنبنة *Haloxylon scoparium* (*Chenopodiaceae*)

الملاحظات	كتلة الكسر (g)	MeOH %	CHCl %	رقم الكسور بعد التجميع	رقم الكسور قبل التجميع

كمية قليلة	0.05	00	100	F1	12-1
كمية قليلة	0.15	01	99	F2	25-13
خليط غير قابل للفصل	0.18	01	99	F3	56-26
خليط غير قابل للفصل	0.18	2.5	97.5	F4	103-57
خليط غير قابل للفصل	0.51	06	94	F5	159-104
على شكل بلورات	0.83	10	90	F6	195-160
خليط قابل للفصل	0.92	13	87	F7	237-196
خليط غير قابل للفصل	1.09	13	87	F8	248-238
خليط قابل للفصل	1.17	20	80	F9	263-249
خليط غير قابل للفصل	1.33	25	75	F10	290-264
خليط قابل للفصل	1.13	30	70	F11	301-291
خليط غير قابل للفصل	1.55	40	60	F12	324-302
خليط غير قابل للفصل	2.05	50	50	F13	340-325
خليط غير قابل للفصل	2.67	80	30	F14	360-341
خليط غير قابل للفصل	3.56	100	00	F15	370-361
	17.37			15 كسرا	المجموع:

معالجة الكسور المتحصل عليها

قمنا بأخذ الكسور F_6 ، F_7 ، F_9 و F_{11} لأنها ذات كتل مهمة وهي غير معقدة للفصل، ثم أخضعناها لعملية الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية على السيليكاجال للحصول على مملصات مناسبة لكل كسر:



F₉: (0.2-2-8) (H₂O- MeOH -CHCl₃)

أما F₁₁ فاستعملنا لها كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة (CCM) على متعدد الأמיד في النظام:

(4-3-3) (Toluéne-MeOH-MEC)

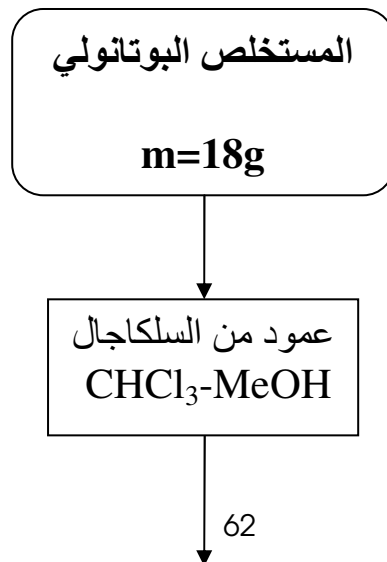
تم أخذ الكسر F₆ وباستعمال عمود السيفادكس، مع اعادة بلورة الناتج . تم التحصل على المركب النقي H₂₂

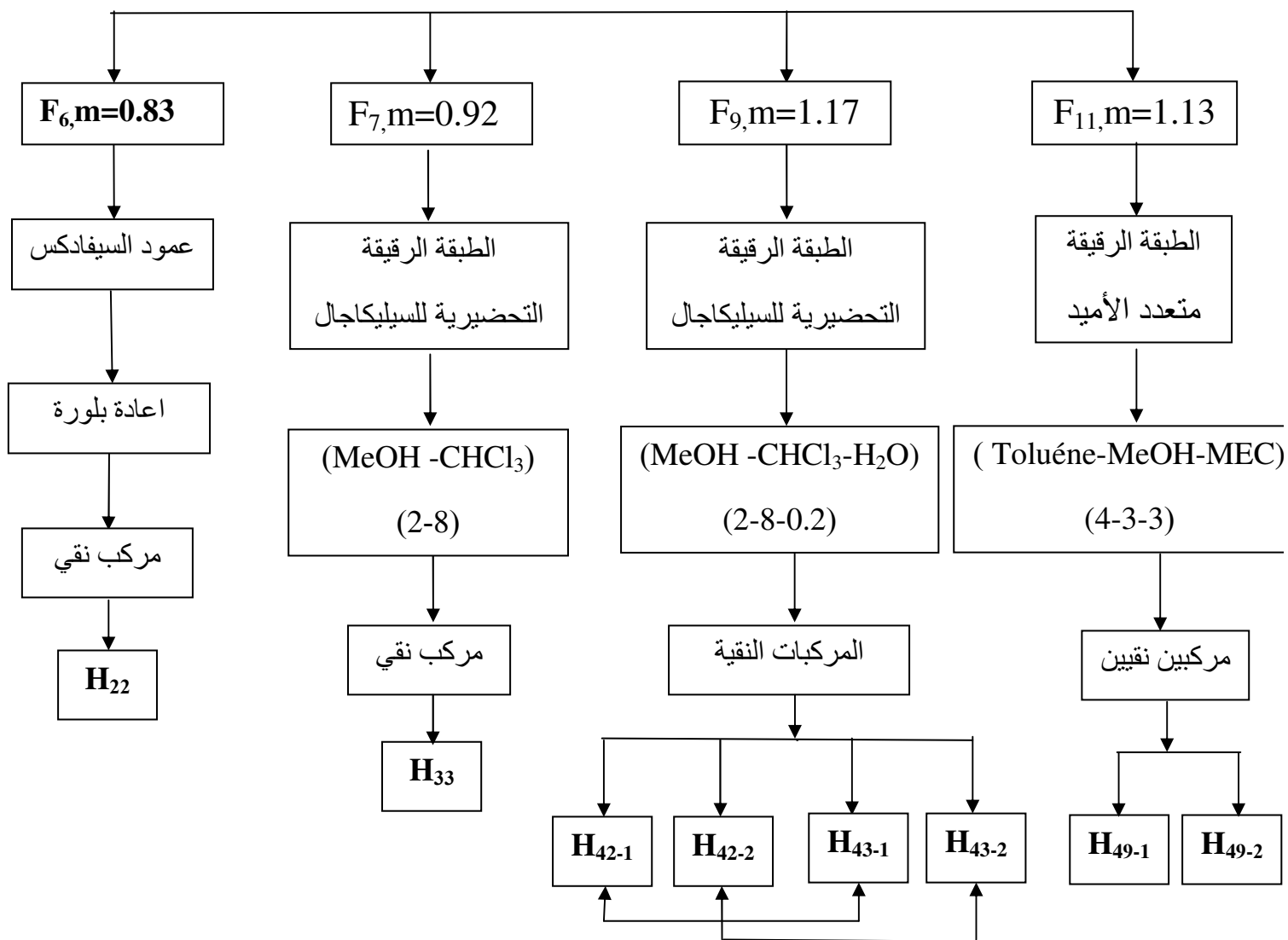
تم أخذ الكسر F₇ وباستعمال الطبقة الرقيقة التحضيرية للسيليكاجال، مستعملين في ذلك النظام (2-8) (MeOH -CHCl₃). تم فصل المركب النقي H₃₃

تم أخذ الكسر F₉ وباستعمال الطبقة الرقيقة التحضيرية للسيليكاجال، مستعملين في ذلك النظام (0.2-2-8) (H₂O- MeOH -CHCl₃). تم فصل المركبات النقية H₄₂₋₂ و H₄₂₋₁ و H₄₃₋₁ و H₄₃₋₂

تم أخذ الكسر F₁₁ وباستعمال الطبقة الرقيقة (CCM) على متعدد الأמיד، مستعملين في ذلك النظام (4-3-3) (Toluéne-MeOH-MEC). تم فصل المركبين النقيين H₄₉₋₁ و H₄₉₋₂

و الشكل -23- يمثل مختلف خطوات الاستخلاص:





الشكل-23- يمثل مختلف خطوات استخلاص الطور البيوتانولي

خلاصة:

بعد فصل المركبات H₄₉₋₂ و H₄₉₋₁ ، H₄₃₋₂ ، H₄₃₋₁ ، H₄₂₋₂ ، H₄₂₋₁ ، H₃₃ ، H₂₂

تبين لنا بعد دراسة الرنين النووي المغناطيسي للبروتون والمقارنة مع كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة أن :

المركب H₄₂₋₁ هو نفسه المركب H₄₃₋₁ و المركب H₄₂₋₂ هو نفسه المركب H₄₃₋₂.

أما المركب H₃₃ هو عبارة عن phthalate .

بينما المركبات H₄₉₋₁ و H₄₉₋₂ و H₄₂₋₂ فالدراسة لمعرفة صيغهم تستلزم تعمق في الطرق التحليلية.

الفصل الرابع

التحليل البنيوي للمركبات المفصولة لنبته

Haloxylon scoparium (Chenopodiaceae)

I النتائج الكيميائية و المناقشات لنبته

Haloxylon scoparium (Chénopodiaceae)

I-1- دراسة للمركب H42-1

I-1-1- اللون الإستشعاعي:

تحت مصباح WOOD (365nm) أعطى هذا المركب لونا إستشعاعيا بنفسجيا غامق مما يوحي بأن المركب H₄₂₋₁ إما فلافون أو فلافونول مستبدل في الموضع 3.

I-1-2- أطيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ¹H RMN :

من خلال طيف الرنين النووي المغناطيسي (250MHz) ¹H RMN ، والمسجل في الميثانول CD₃OD طيف (1) والأطيف الممددة (2-5) نلاحظ وجود :

إشارة ثنائي ثنائي (J= 2 Hz ، J=8.41 Hz) عند (δ_H= 7.6 ppm)، خاصة بالبروتون H-6' مما يدل على وجود كل من H-2' و H-5'.

إشارة ثنائية (J= 1.92 Hz) عند (δ_H= 8.1 ppm) خاصة بالبروتون H-2'.

إشارة ثنائية (J= 8.40 Hz) عند (δ_H= 6.80 ppm) خاصة بالبروتون H-5'.

يبين هذا الطيف كذلك نظام AB (بتكامل 1H لكل إشارة) ومتميز بـ:

إشارة أحادية عريضة عند (δ_H= 6.20 ppm) خاصة بالبروتون H-8'.

إشارة ثنائية (J= 1.87 Hz) عند (δ_H= 6.05 ppm) خاصة بالبروتون H-6'.

يبين هذا الطيف أيضا وجود إشارة على شكل أحادي عند (δ_H= 3.98 ppm) بتكامل 3 بروتونات تلحق لمجموعة الميثوكسيل.

نلاحظ إشارة ثنائية (J= 7.77 Hz) عند (δ_H= 5.09 ppm) و هي إزاحة خاصة ببروتون الأنوميري H₁'' نظرا لقيمة ثابت الإزاحة قد يكون هذا السكر إما جليكوز أو جلاكتوز .

إشارة أحادية عريضة بتكامل 1H عند (δ_H= 4.6 ppm). وهي تلحق ببروتون

الأنوميري الثاني H₁'' يمكن نسبها لـ رامنوز وذلك لوجود إشارة ثنائية

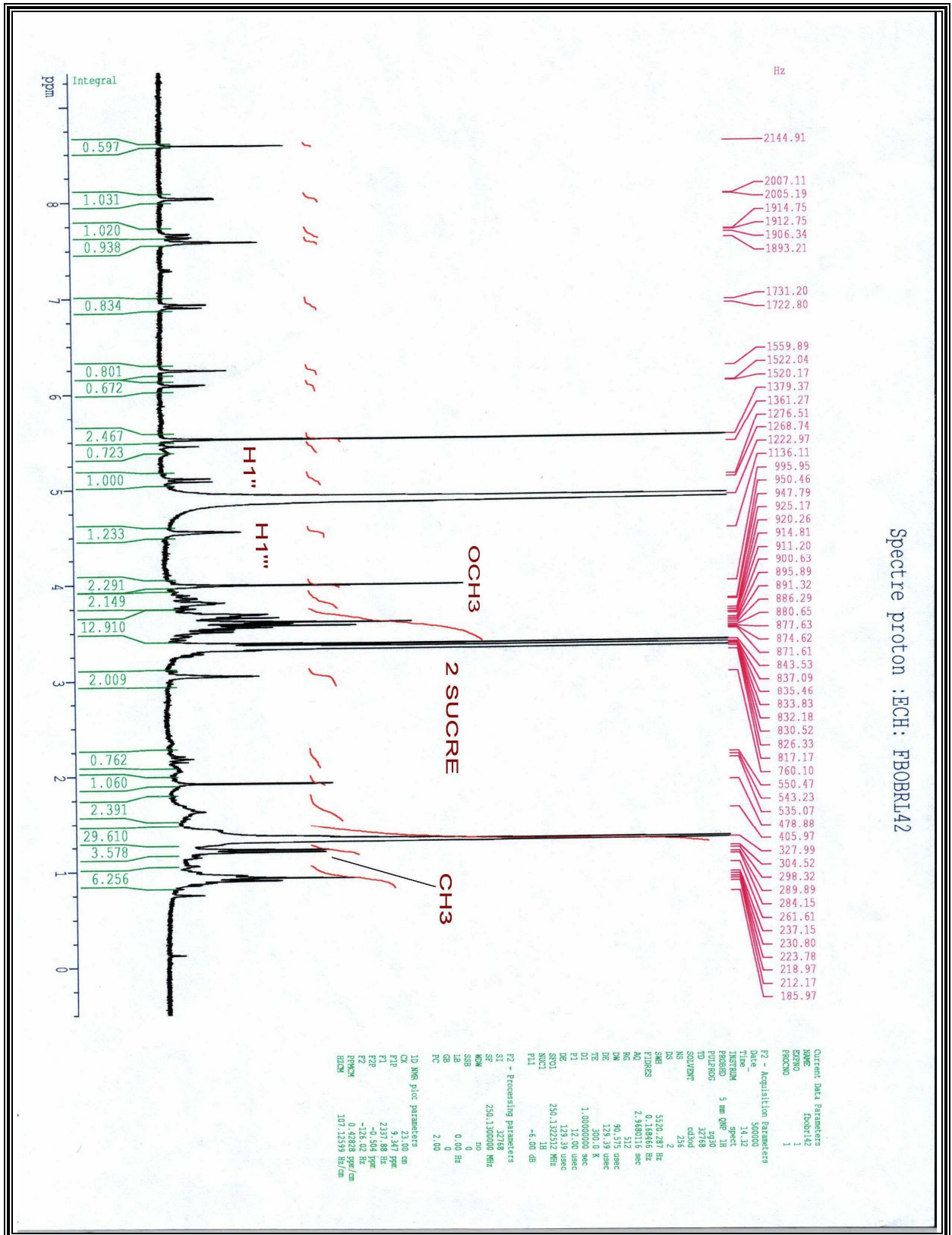
(J= 6.2 Hz) عند (δ_H= 1.05 ppm) بتكامل ثلاث بروتونات تلحق لمجموعة

الميثيل الخاصة بـ *Rhamnose* .

إشارة تعددية في المجال ($\delta_H = [3-4]$ ppm) وبتكامل 12 بروتون خاصة بالسكر. نتائج طيف 1H RMN المسجل في ($CD_3OD, 250$ MHz) كلها مدونة في الجدول (19).

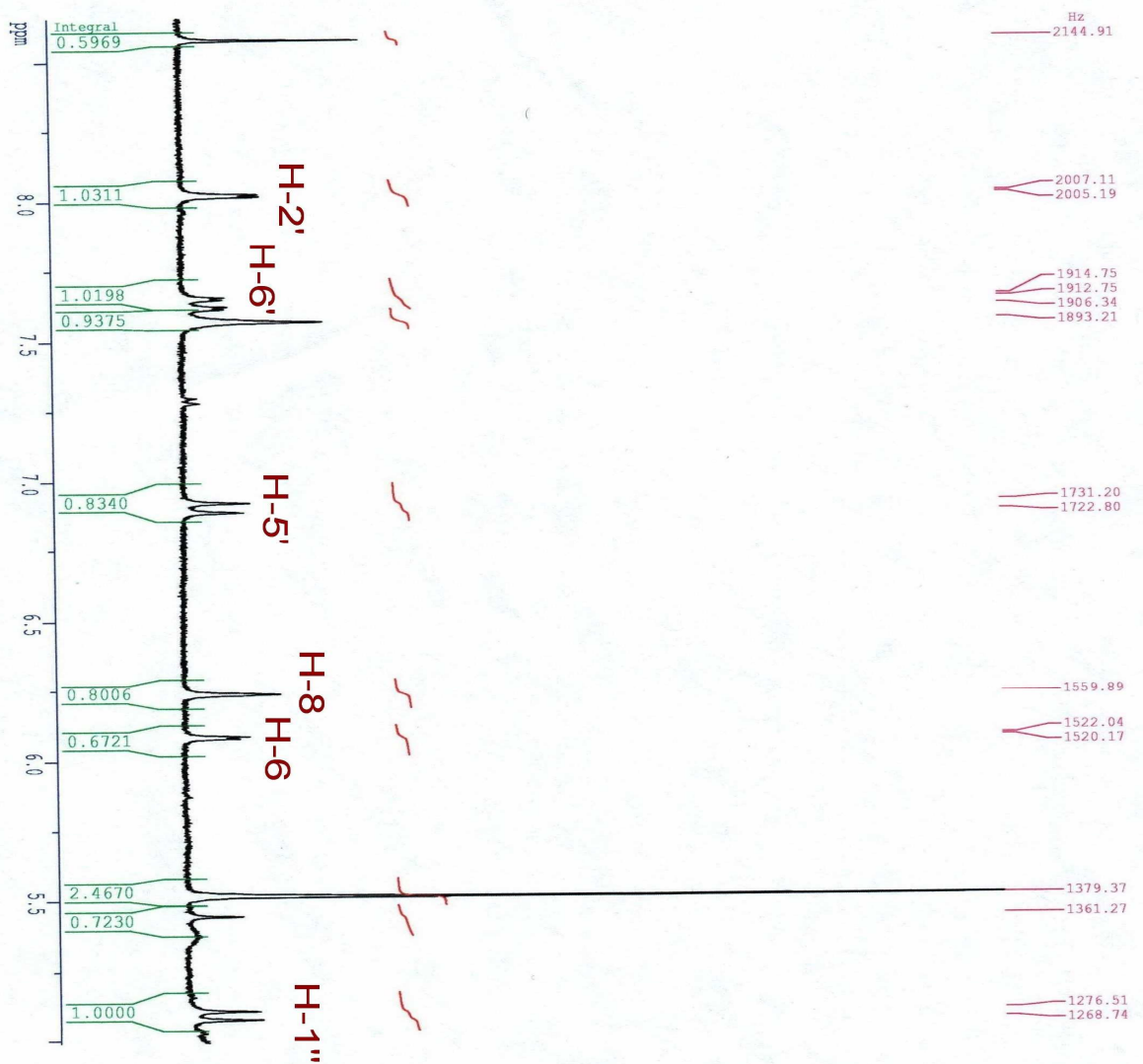
* الجدول (19): معطيات طيف البروتون للمركب H_{42-1} .

البروتونات	الإنزياح الكيميائي ($\delta_H = \text{ppm}$)	التعددية	J ثابت التزاوج (Hz)
H-2'	8.1	<i>d</i>	1.92
H-6'	7.6	<i>dd</i>	8.41 ; 2
H-5'	6.8	<i>d</i>	8.4
H-8	6.20	<i>s large</i>	-
H-6	6.05	<i>d</i>	1.87
H ₁ "	5.09	<i>d</i>	7.77
H ₁ '	4.6	<i>s large</i>	-
OCH ₃	3.98	<i>s</i>	-
CH ₃ Rhamnose	1.05	<i>d</i>	6.2
H ^{sucre}	[3-4]	<i>multi</i>	-



الطيف 1 (RMN H¹ الخاص بالمركب H₄₂-1)

Spectre proton :ECH: FB0BRL42



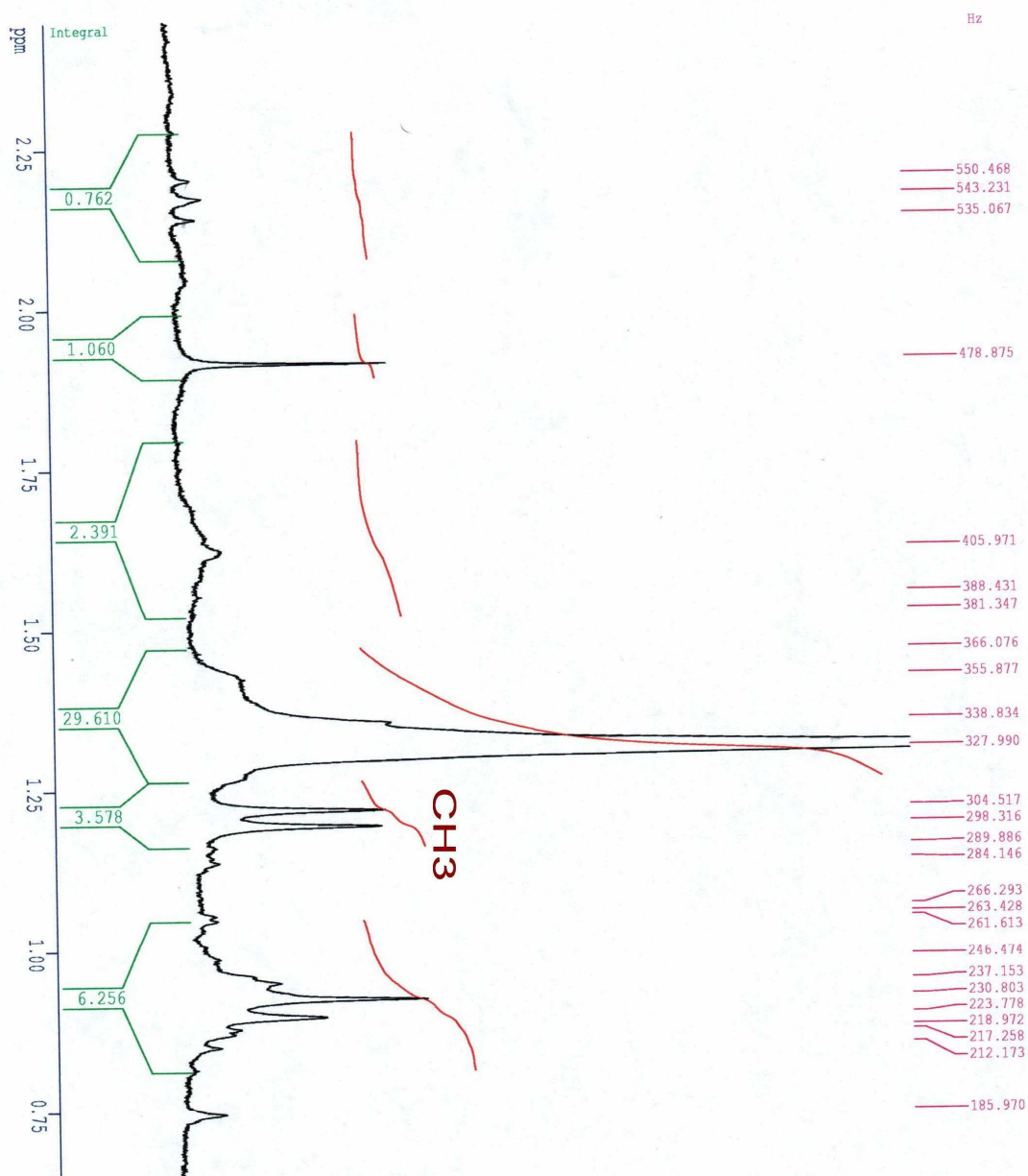
Current Data Parameters
 NAME: ECH:FB0BRL42
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20080605
 Time: 14.32
 INSTRUM: spect
 PULPROG: zgpg30
 F2 - Processing parameters
 SI: 32718
 SF: 250.1300000 MHz
 WDM: no
 SSB: 0
 LB: 0.00 Hz
 GB: 0
 PC: 2.00

1D NMR plot parameters
 CX: 23.00 cm
 F1P: 8.654 ppm
 F1: 2164.52 Hz
 F2P: 4.990 ppm
 F2: 1248.25 Hz
 PULPROG: zgpg30
 ECH: 39.83794 Hz/cm

الطيف 2 (H¹ RMN الخاص بالمركب H₄₂-1)

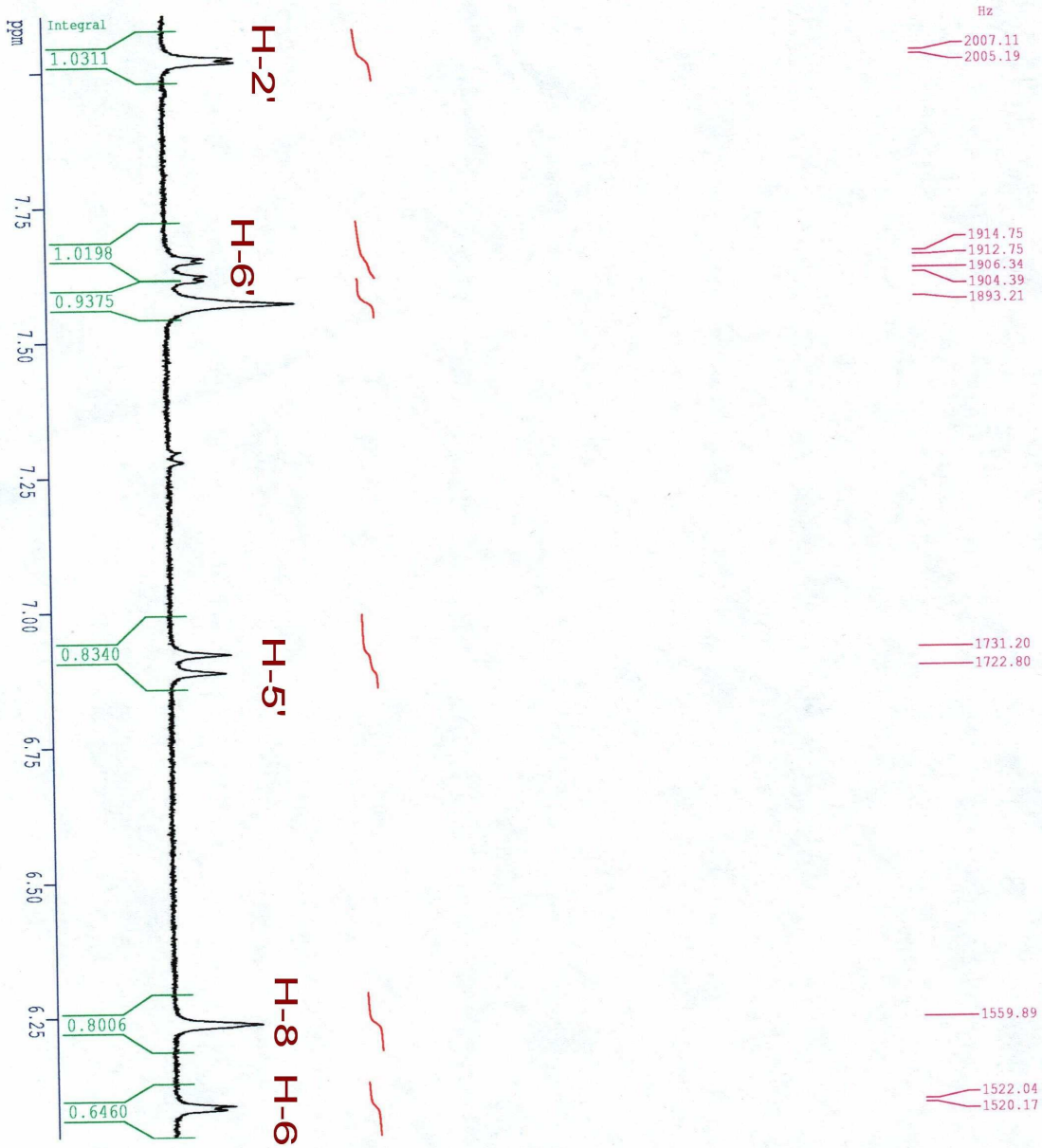
Spectre proton : ECH : FB0BR142



Current Data Parameters
 NAME FB0BR142
 EXPNO 1
 PROCNO 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 5/20/00
 Time 14.32
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm QNP 1H
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SFO 500.1362718
 D0 32768
 SOLVENT cdd
 NS 256
 DS 2
 SWH 5520.287 Hz
 FIDRES 0.188466 Hz
 AQ 2.7880115 sec
 RG 655.315
 DM 32768
 DE 90.315 usec
 TE 300.2 K
 D1 173.18 usec
 D11 1.00000000 sec
 DE 12.00 usec
 DR 129.39 usec
 SFO1 250.1322312 MHz
 NUC1 1H
 P1 18
 PL1 -6.00 dB
 F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 500.1362718 MHz
 KW 655.315
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00
 ID NMR parameters
 CX 23.00 cm
 CP 2.448 ppm
 F1 6.242 Hz
 F2 6.454 Hz
 F3 161.45 Hz
 FWHM 0.07832 ppm/cm
 HZCM 19.59032 Hz/cm

الطيف 3 (RMN H¹ الخاص بالمركب H₄₂-1)

Spectre proton : ECH : FBOBRL42



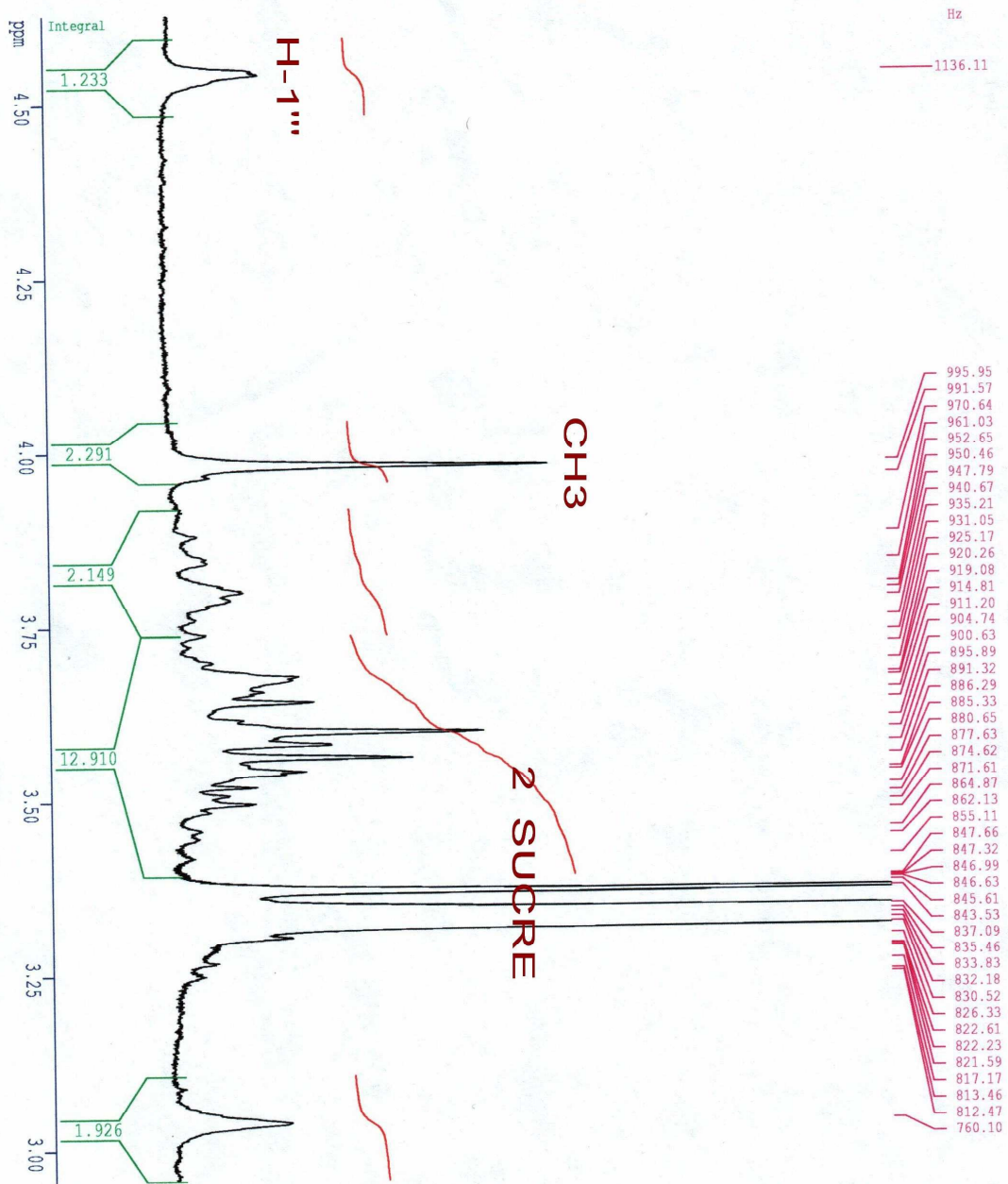
Current Data Parameters
 NAME FBOBRL42
 EXNO 1
 PROCNO 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 3/20/2011
 Time_ 14:32
 INSTRUM spect
 PROBRD 5 mm QNP 1H
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT cdcl3
 NS 256
 DS 2
 SWE 5520.287 Hz
 FIDRES 0.188466 Hz
 AQ 2.8680118 sec
 RG 66
 DC 312
 DM 90.319 usec
 DE 120.19 usec
 TE 300.2
 TI 1.0000000 sec
 P1 12.00 usec
 P2 129.39 usec
 SFO1 250.1322512 MHz
 NUC1 1H
 F11 -4.00 dB

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 250.1300000 MHz
 WDM no
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR pulse parameters
 CU 23.00 cm
 F1P 8.104 ppm
 F1 2026.59 Hz
 F2P 6.028 ppm
 F2 1507.88 Hz
 EPWCM 0.04023 ppb/cm
 HZCM 22.56998 Hz/cm

الطيف 4 (H^1 RMN الخاص بالمركب H_{42-1})

Spectre proton : ECH : FB0BR142



Current Data Parameters
 NAME: Fb0br142
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1

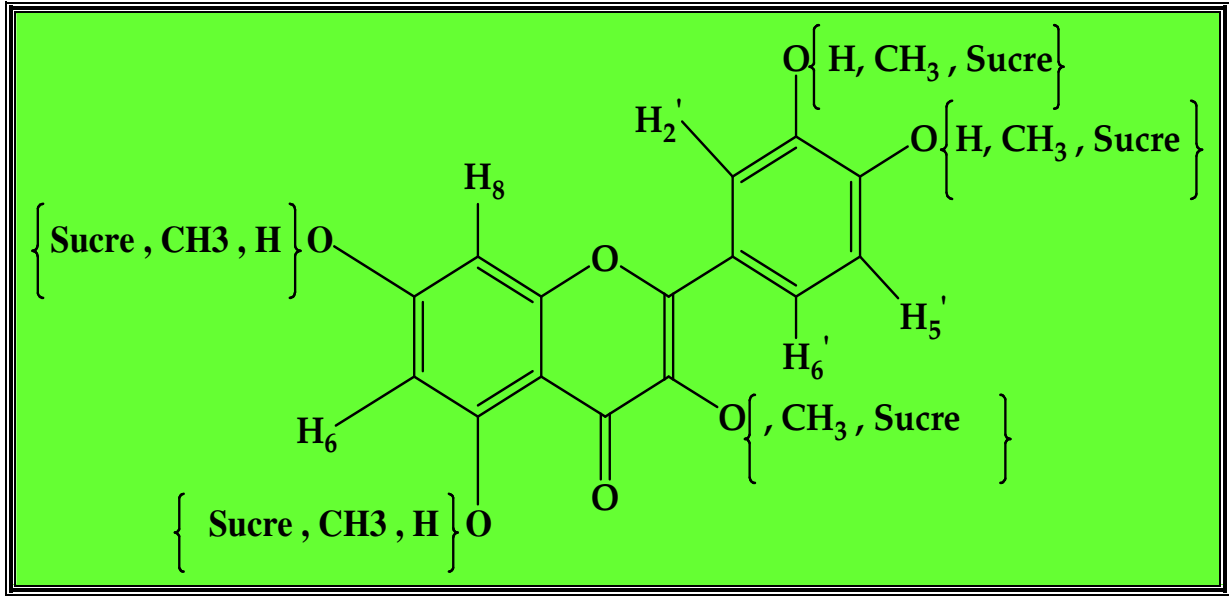
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ :
 Time: 14.32
 INSTRUM: spect
 FREQH2O: 500.136
 PULPROG: zgpg30
 TD: 32768
 SOLVENT: cd3od
 NS: 256
 DS: 2
 SWH: 5320.287 Hz
 F2: 500.136136 MHz
 K0: 0.00000000
 ZD: 2.96801116 sec

F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 250.1300000 MHz
 KW: no
 SSB: 0
 LB: 0.00 Hz
 GB: 0
 PC: 1.00

1D NMR pulse parameters
 CW: 23.00 cm
 P1P: 4.627 ppm
 P1: 1157.41 Hz
 P2P: 2.356 ppm
 P2: 739.38 Hz
 PPM2CM: 0.07267 ppm/cm
 HZCM: 18.11643 Hz/cm

الطيف 5 (H¹ RMN الخاص بالمركب H₄₂₋₁)

ومنه نحصل على البنية الجزئية المحتملة التالية:



3-1-I المعطيات الطيفية:

أطياف الأشعة فوق البنفسجية وتحليل نتائجها:

المعطيات الطيفية:

بعد مشاهدة اللون الاشعاعي و دراسة سلسلة أطياف إمتصاص أشعة UV المسجلة في الميثانول حيث يبين هذا الأخير عصابتين الأولى عند $\lambda_1=360 \text{ nm}$ والثانية عند $\lambda_2=255 \text{ nm}$. تدلان على وجود فلافونول مستبدل في الموقع 3 (OR).

في وجود NaOH

تسبب إنزياح باثوكرمومي للعصابة واحد (I) $\Delta\lambda_1=+56\text{nm}$ (NaOH / MeOH) زيادة في شدة الطيف تدل على وجود OH حر في الموقع '4 كما يدل ظهور قمة جديدة في هذا الكاشف عند $\lambda=325 \text{ nm}$ على وجود OH حر في الموقع 7.

في وجود NaOAc

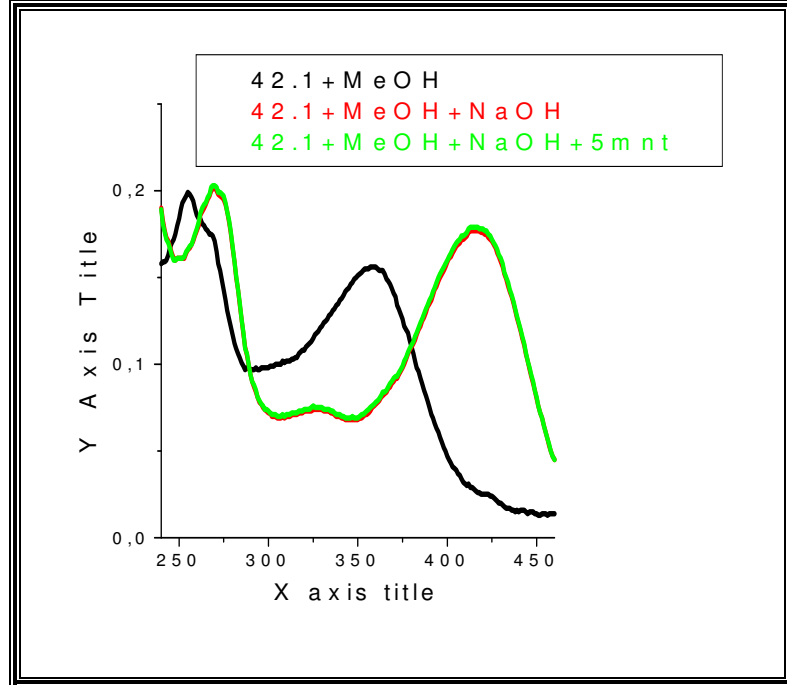
يتأكد وجود OH حر في الموقع 7. وذلك بالإزاحة الباثوكرمومية للعصابة II. عند مقارنة طيف NaOAc بطيف الميثانول $\Delta\lambda_2=+15\text{nm}$

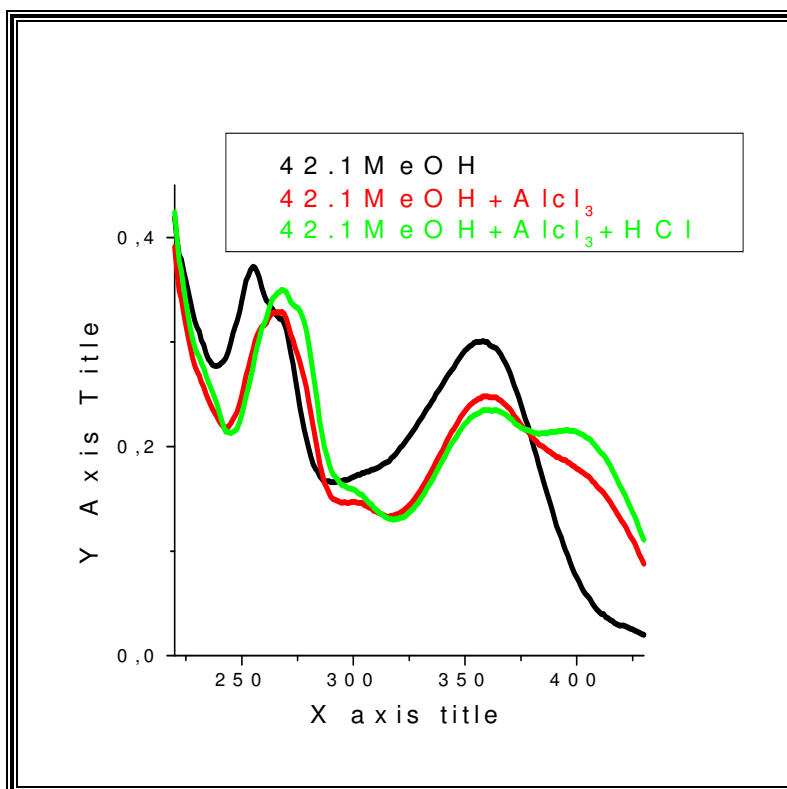
في وجود $AlCl_3$

في هذا الطيف نلاحظ إنزياح باثوكرومي $\Delta\lambda_1 = +36nm$ عند إضافة HCl للعصبة I بالنسبة للمحلول الميثانولي مما يدل على وجود OH حر في الموضع 5.

في وجود H_3BO_3

إضافة H_3BO_3 لهذا المحلول لايسبب تغير ملحوظ للعصبة I بالنسبة للطيف المسجل في الميثانول ، مما يؤكد غياب نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل في هذا الجزيء. كل هذه المعطيات ملخصة في الجدول 20 والأطياف (6-8) لسلسلة إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية .

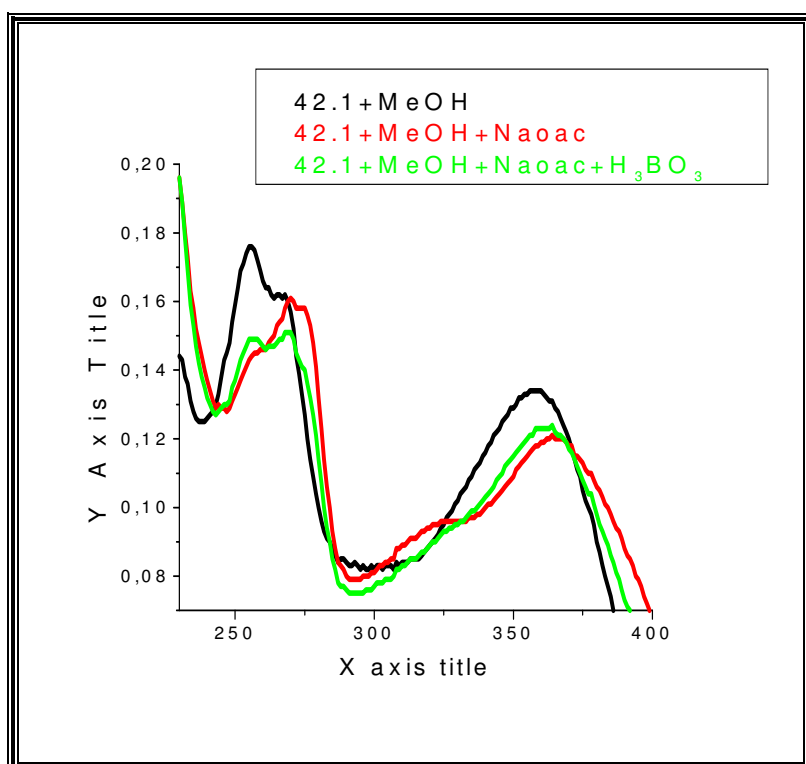




الطيف 6

لإمتصاص الأشعة فوق البنفسجية الخاصة بالمركب H₄₂₋₁

الطيف 7 لإمتصاص الأشعة فوق البنفسجية الخاصة بالمركب H₄₂₋₁

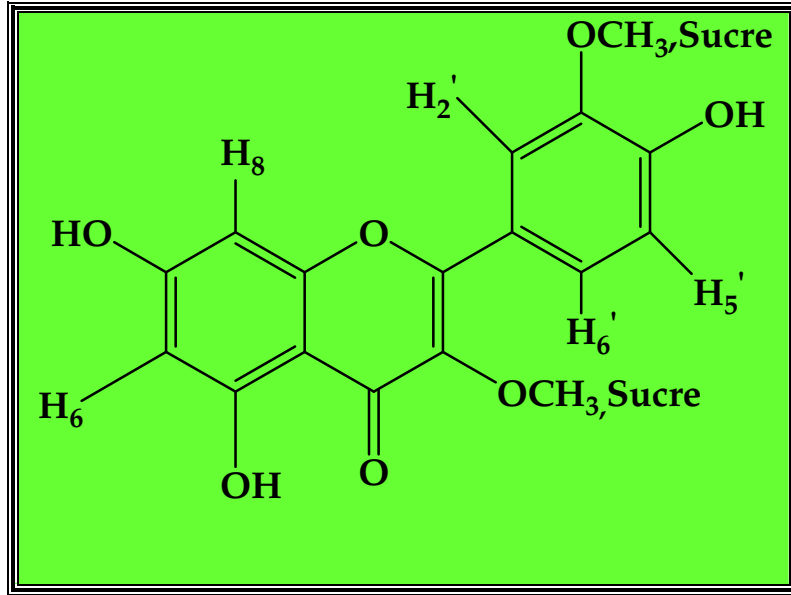


الطيف 8 لإمتصاص الأشعة فوق البنفسجية الخاصة بالمركب H_{42-}
 * الجدول (20): معطيات أطيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H_{42-1} . *

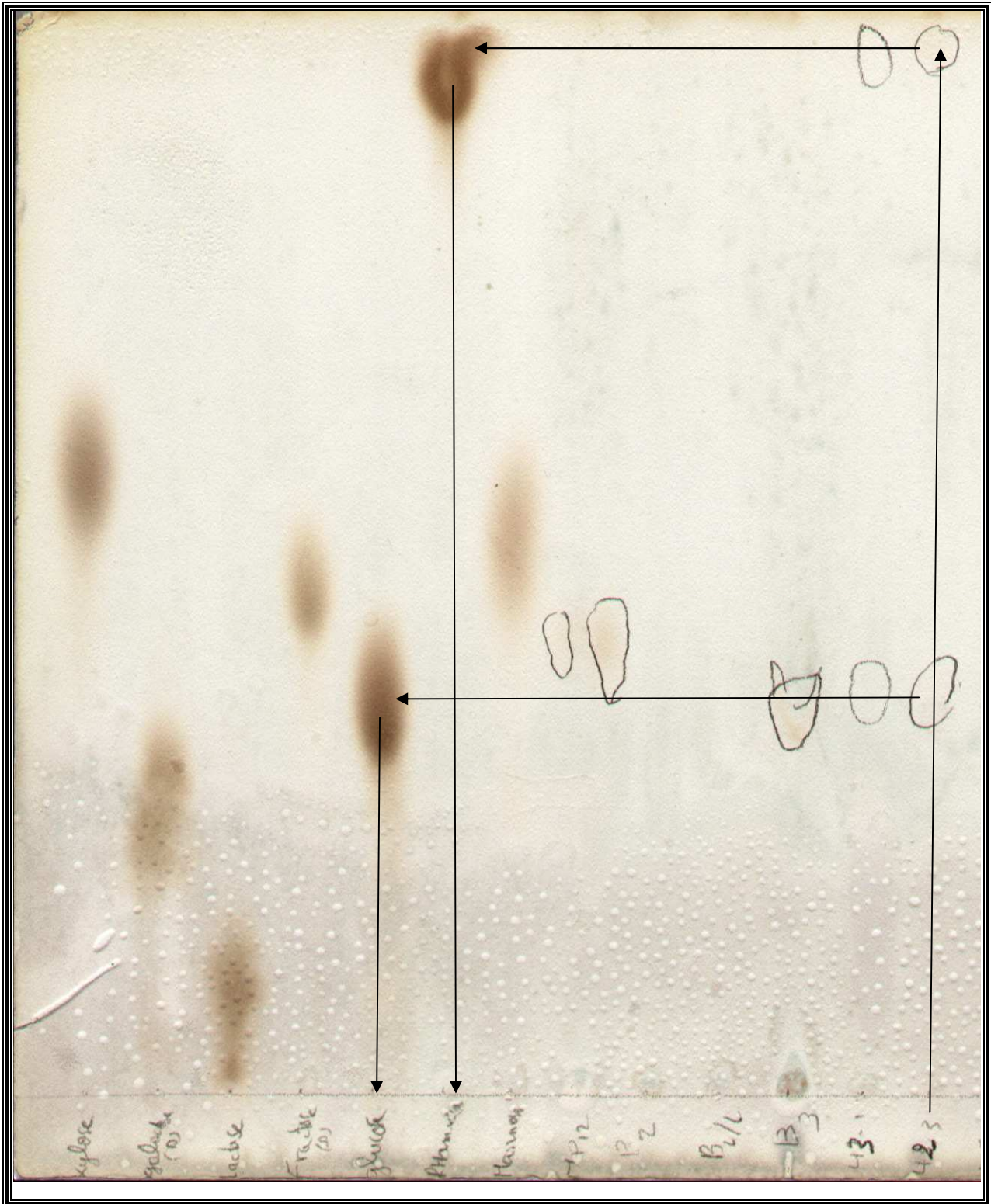
الكواشف	العصابة I (نم)	عصابات أخرى (نم)	العصابة II (نم)
MeOH	360	269	255
NaOH	416	325	270
$AlCl_3$	360	304-400	266
$AlCl_3+HCl$	396	360-304-400	268
NaOAc	364	258-275-324	270
$NaOAc+H_3BO_3$	364	258-275-324	270

في NaOH وبعد خمس دقائق : الطيف مستقر

ومنه نحصل على البنية الجزئية التالية:

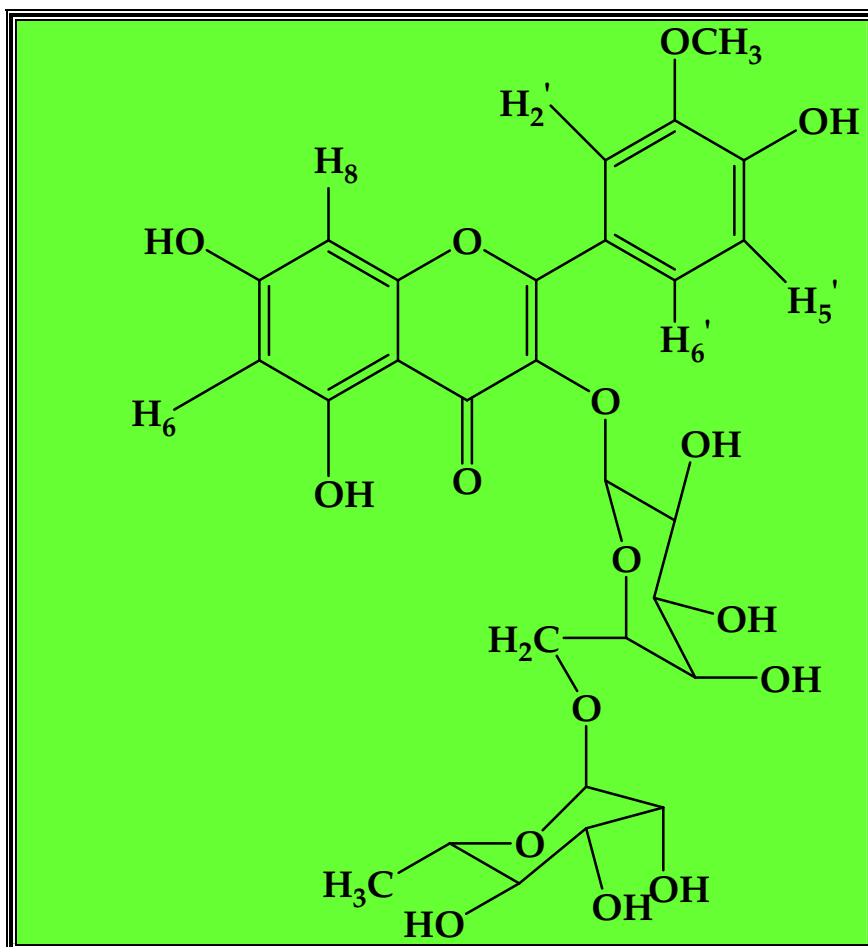


لتحديد موضع و طبيعة السكر إعتدنا طريقة الحلمهة الحمضية، و قد أعطت الاماهة الحمضية أجليكون أصفر اللون تحت مصباح UV حينما كان لون المركب بنفسجي غامق قبل الحلمهة و هذا دليل على أن الموقع 3 كان يحتوي على جزء سكري تحرر بعد الحلمهة كما أظهر اللوح الكروماتوغرافي المبين في الشكل(24) أن طبيعة السكر هو galactose و Rhamnose.ومنه نستنتج أن O-CH₃ يقع في الموضع'3.



الشكل (24) اللوح الكروماتوغرافي للحمضات الأمينية

ومنه نحصل على البنية الجزئية التالية:



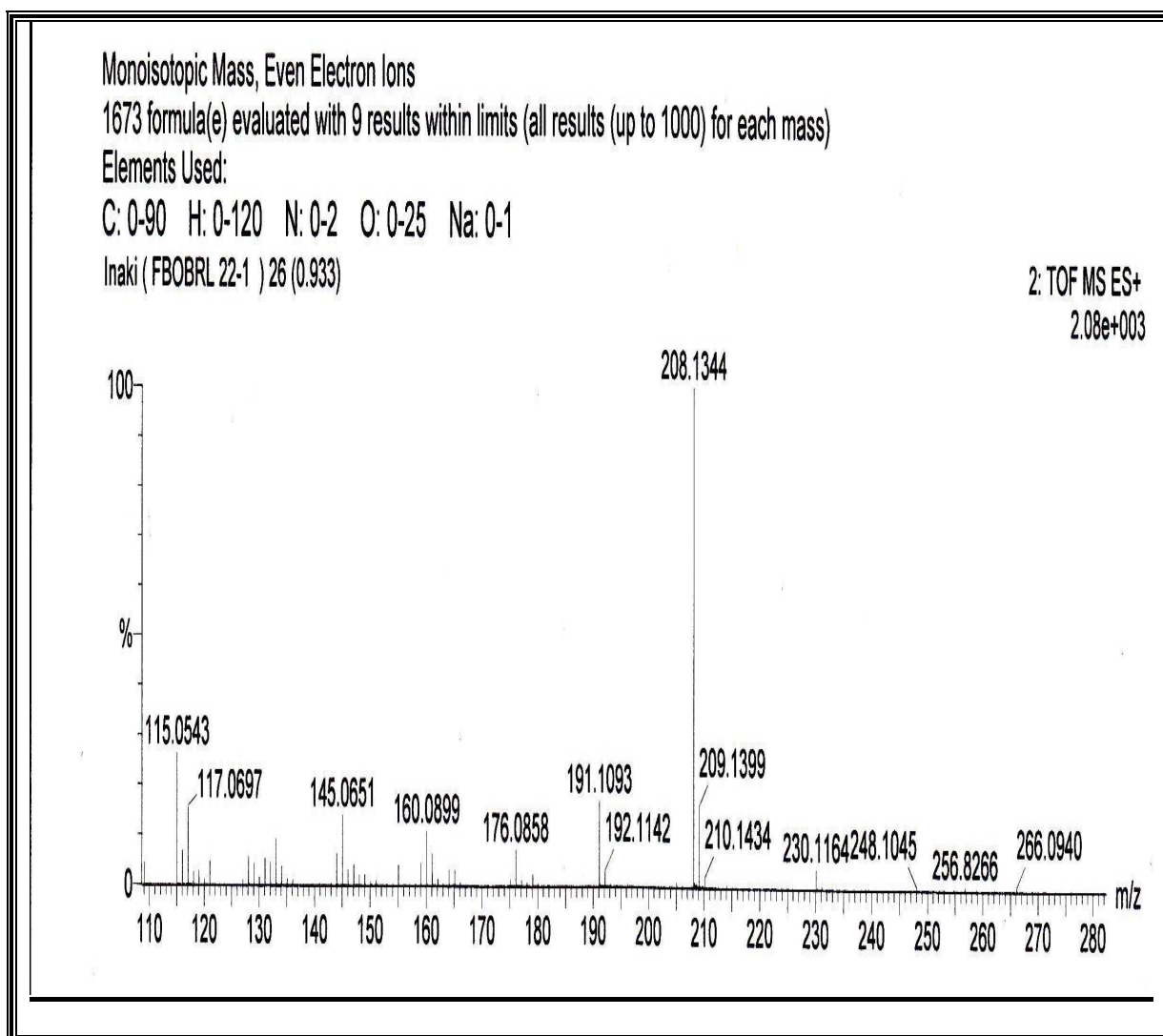
5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O- rutinosyl flavones [70]

I-2- دراسة للمركب H₂₂:

هذا المركب هو على شكل بلورات بيضاء.

I-2-1- طيف الكتلة:

يبين طيف الكتلة ذات الكفاءة العالية [MS-ES⁺] لهذا المركب و المبين في الطيف رقم (9). والذي يعطي إشارة الأيون شبه الجزيئي عند $m/z=208.1344$ والتي توافق [M+H]⁺ ذات الصيغة المجملة (C₁₂H₁₈O₂N). وهذا يقودنا إلى الكتلة المولية لهذا المركب $m/z=207.1344$ والتي توافق [M]⁺. ومنه صيغة المركب H₂₂ هي (C₁₂H₁₇O₂N). وهو مركب غير مشبع حيث أن $\Omega=5$.



الطيف 9 [MS-ESI] الخاص بالمركب H₂₂

I -2-2- طيف ^{13}C RMN و DEPT (135)

يبين طيف ^{13}C RMN وطيف DEPT (135) المبين في الأطياف رقم (10،11)

على التوالي لهذا المركب تأكيد وجود 12 ذرة كربون وهي تضم :

- ثلاث مجموعات ميثيل إثنان منها على شكل (O-CH₃). عند

($\delta=57.4\text{ppm}$ و $\delta=57.6\text{ppm}$).

مجموعتين من (CH₂). بتهجين sp^3 عند ($\delta=41.4\text{ppm}$ و $\delta=26.9\text{ppm}$).

- ثلاث مجموعات من (CH) واحدة منها مهجنة sp^3 عند ($\delta=20.8\text{ppm}$)

- و مجموعتين عطريتين. عند ($\delta=113.9\text{ppm}$ و $\delta=111.5\text{ppm}$). من

خلال هذه المعطيات نستطيع القول أنه توجد نواة رباعية الإستبدال .

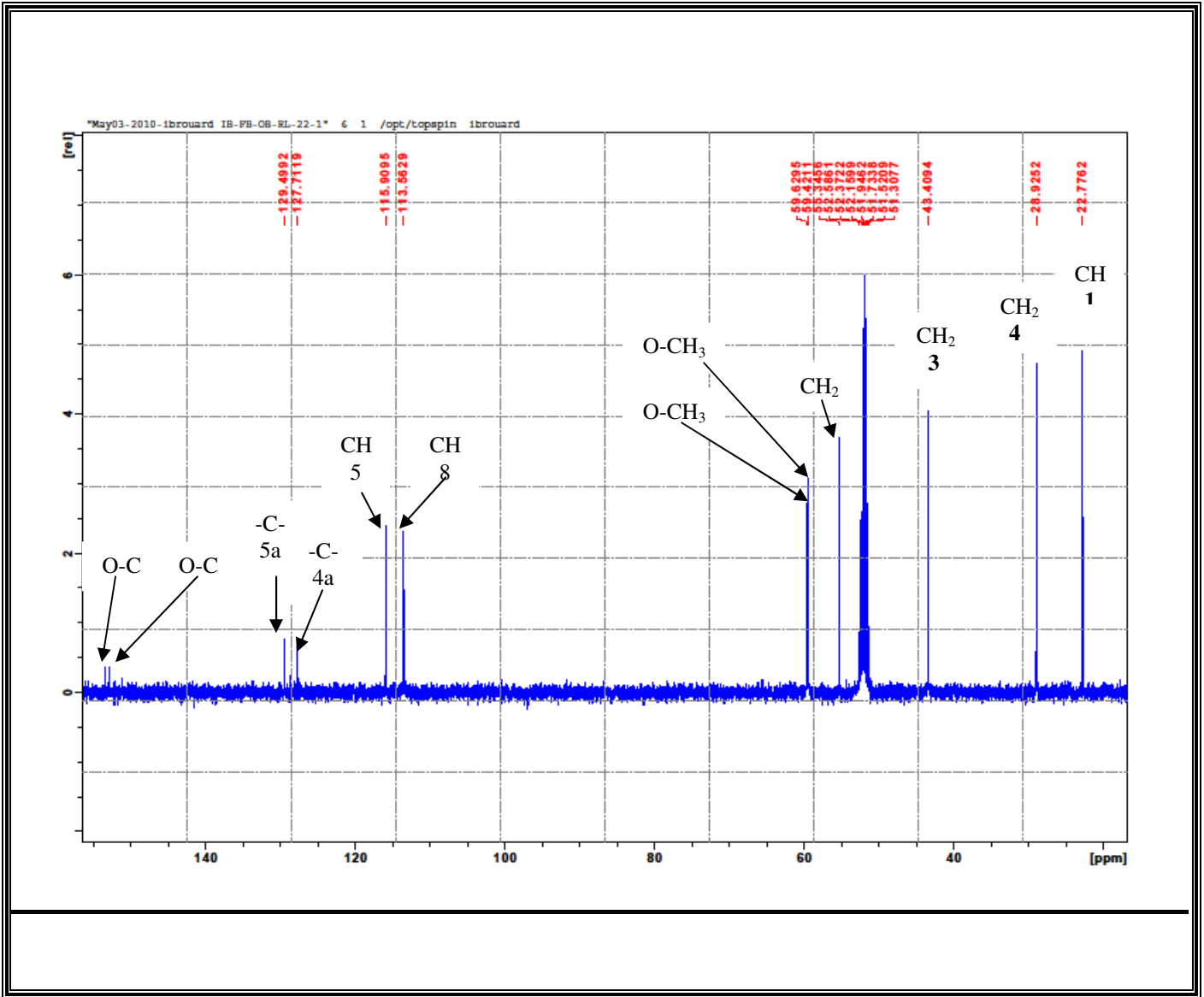
- أربع ذرات كربون رباعية منها ذرتين متصلتين بذرتين هيدروجين عند

($\delta>150\text{ppm}$).

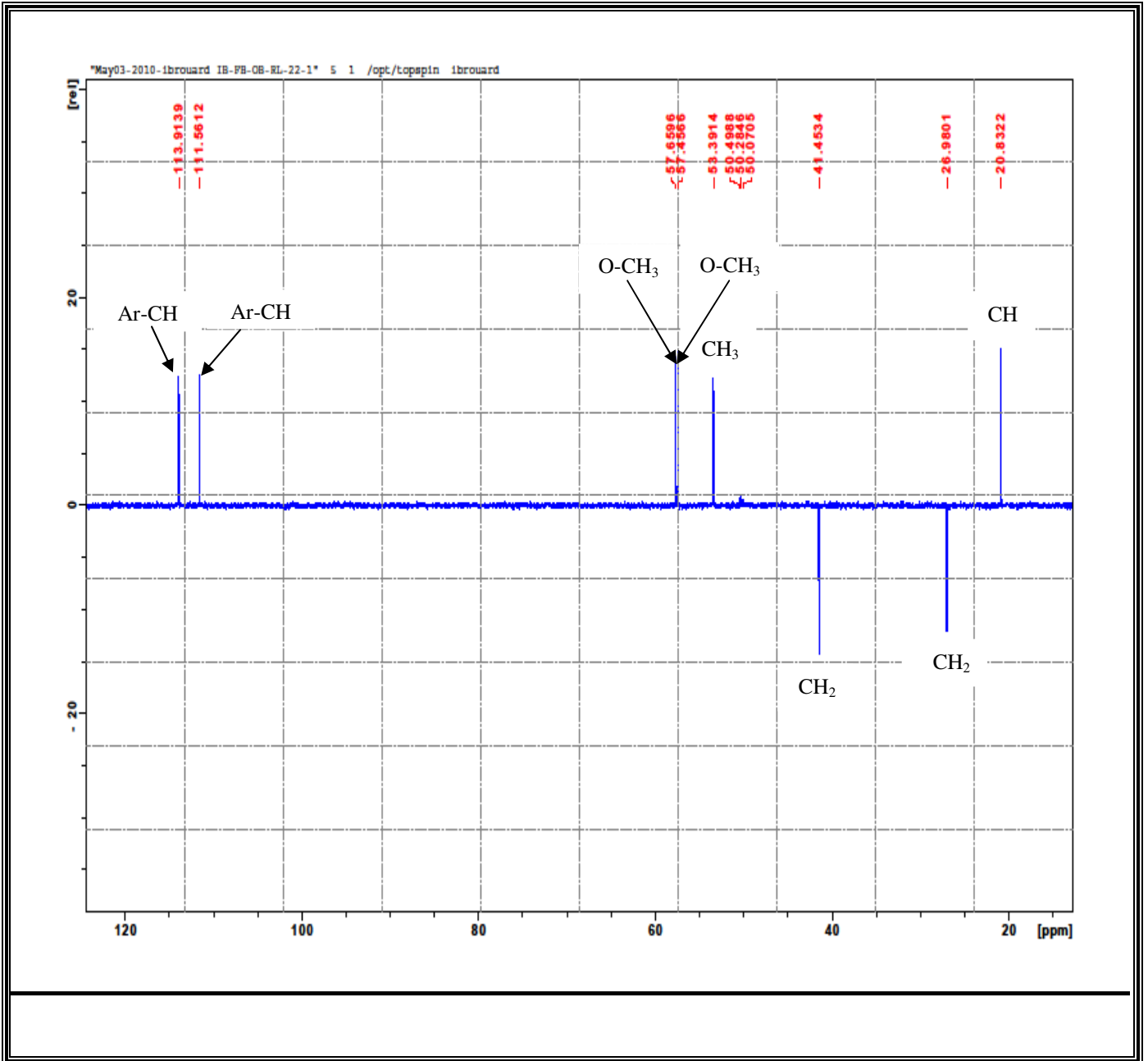
هذه المعطيات تسمح لنا بوضع مجموعتين ميثوكسيل على النواة العطرية .

بما أن رقم عدم التشبع هو خمسة ولدينا حلقة عطرية وباقي ذرات الكربون بتهجين

sp^3 . هذا يسمح لنا بإقتراح وجود حلقة في المركب H₂₂.



الطيف 10 (RMNC¹³ الخاص بالمركب H₂₂)



الطيف 11 (DEPT (135) الخاص بالمركب H₂₂)

I-2-3- طيف ^1H RMN :

يبين طيف ^1H RMN في كل من الأطياف رقم (12،13). على التوالي :

- وجود بروتونين عطريين عند ($\delta_{\text{H}}=6.6\text{ppm}$ و $\delta_{\text{H}}=6.7\text{ppm}$). على شكل إشارة أحادية ما يبين أنهما متموضعين على شكل (para).
- إشارة ثنائية بثابت تزاوج ($J=6.8\text{Hz}$) وتكامل 3H عند ($\delta_{\text{H}}=1.5\text{ppm}$).
- إشارة رباعية بثابت تزاوج ($J=6.8\text{Hz}$). وتكامل 1H عند ($\delta_{\text{H}}=4.4\text{ppm}$).

هذا يؤدي إلى تسلسل من الشكل $\text{CH}-\text{CH}_3$. مع غياب بروتونات من شأنها التزاوج مع بروتونات الذرات المجاورة لذرة الـ CH .

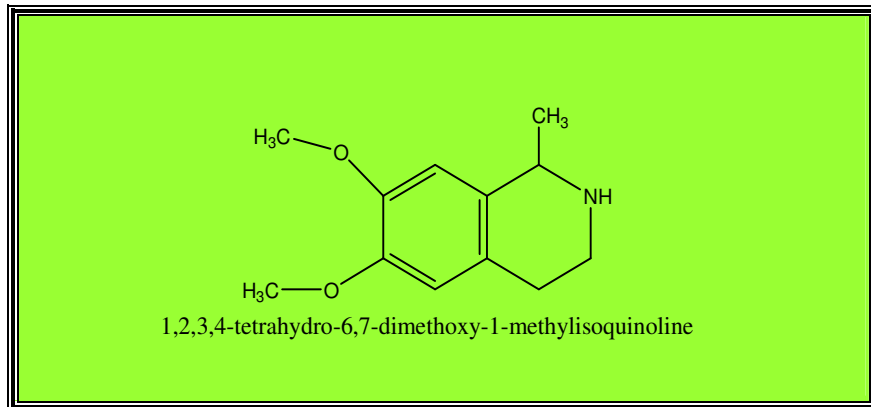
- يبين الطيف كذلك وجود مجموعتي ميثيل تشكل نظام (AA'). (BB'). وهذا يقودنا إلى وجود $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$. مع غياب بروتونات أخرى للذرات المجاورة التي من شأنها التزاوج معها.

- يبين الطيف كذلك عند 3.7ppm إشارة أحادية بتكامل 6H موافقة لوجود 2 ميتوكسيل

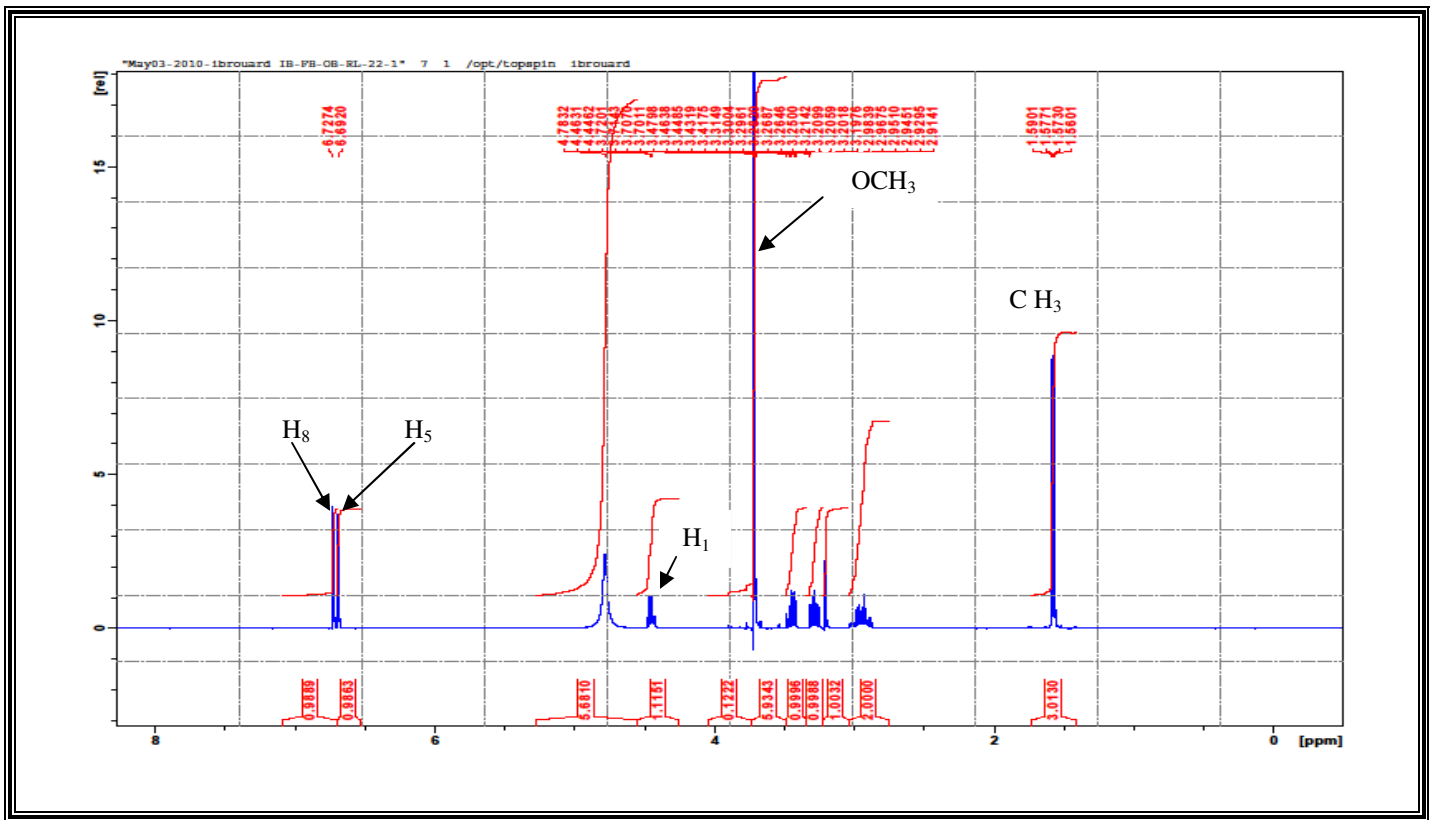
- في هذا المركب .

مجموعة هذه المعطيات تعطينا سلسلة متكونة من $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_3$. مشكلة حلقة ما بين هذه السلسلة وبين ذرتي الكربون في الموضع ortho. من الحلقة العطرية .

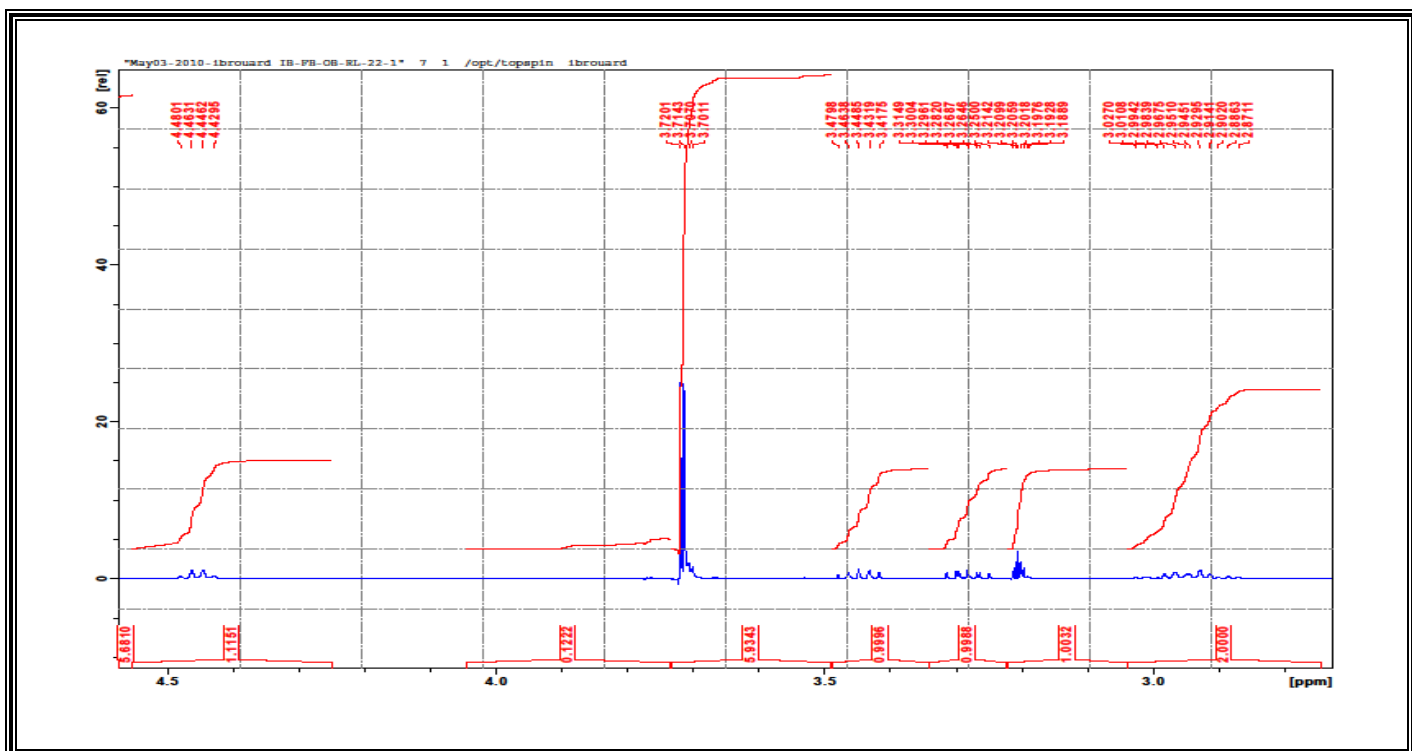
وهذا يسمح لنا باقتراح الصيغة التالية:



-salsolidine- [69]



الطيف 12 (RMN¹H الخاص بالمركب H₂₂)

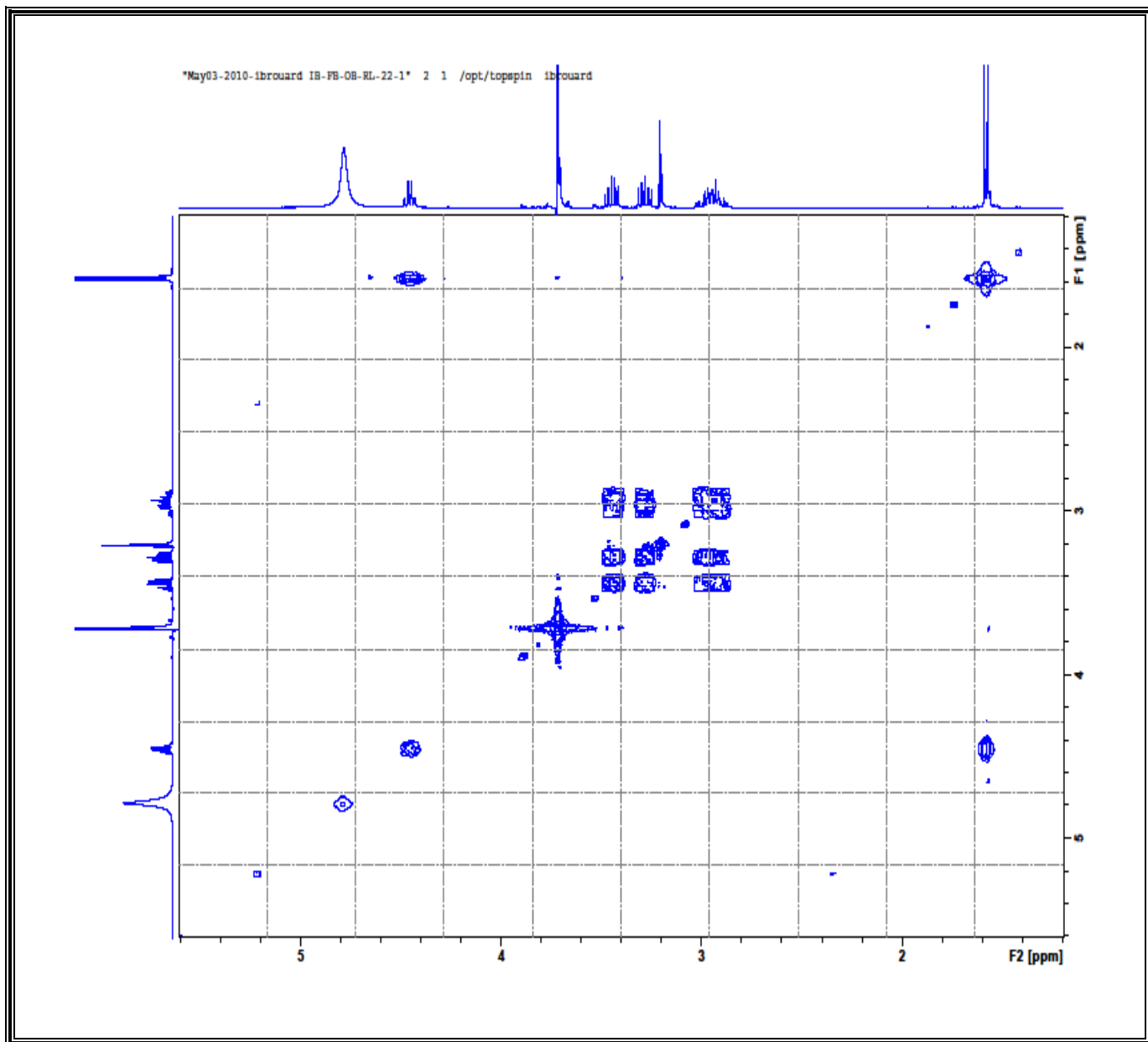


الطيف 13 (^1H RMN الخاص بالمركب H_{22})

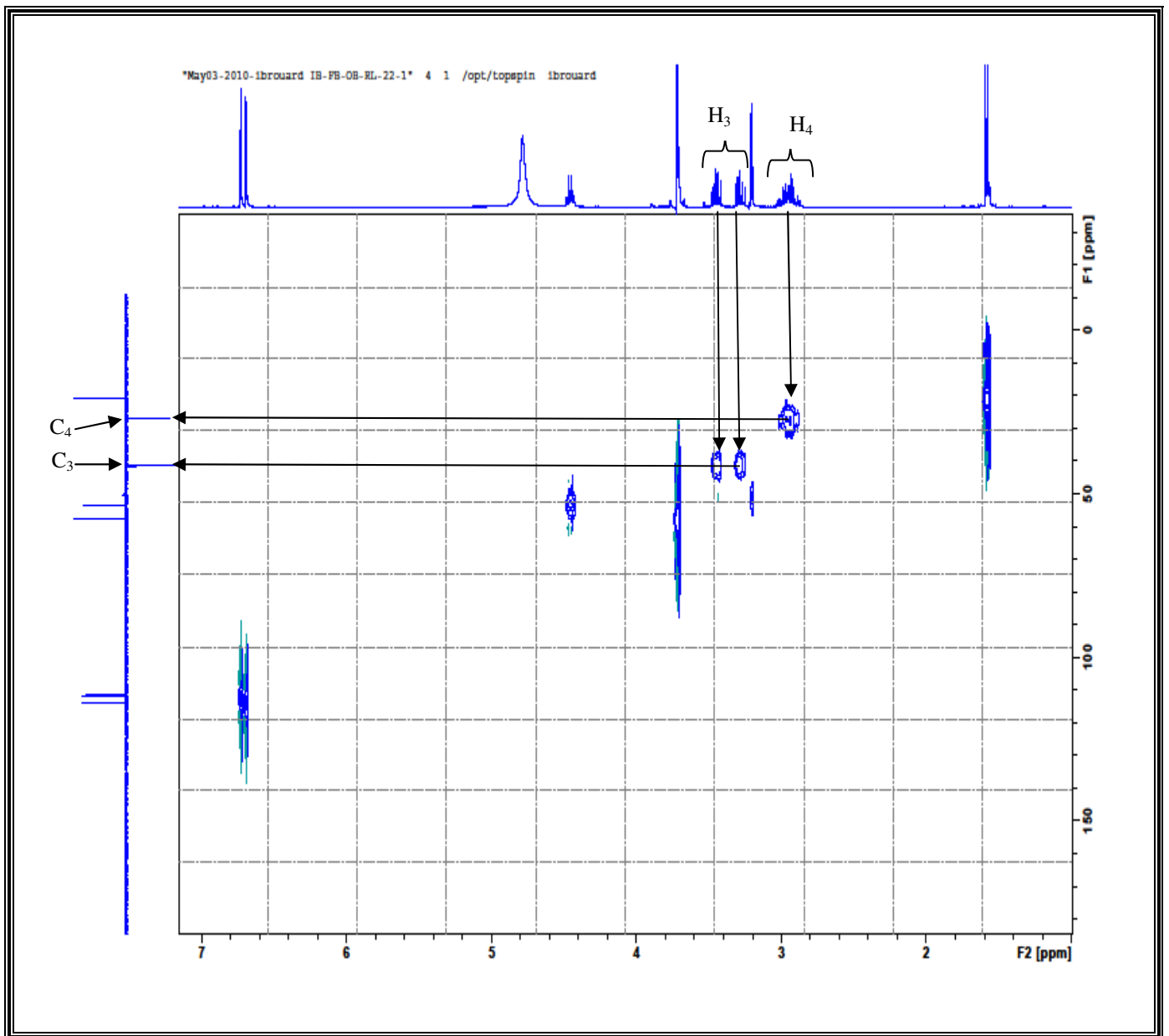
I-4-2- الأطياف ثنائية البعد :

اعتماداً على تجارب مطيافية ثنائية البعد COSY في الطيف رقم (14) . و HSQC في الطيف رقم (15) . و HMBC في الطيف رقم (16) .
تأكدنا من صحة بنية المركب المقترحة سابقاً وذلك :

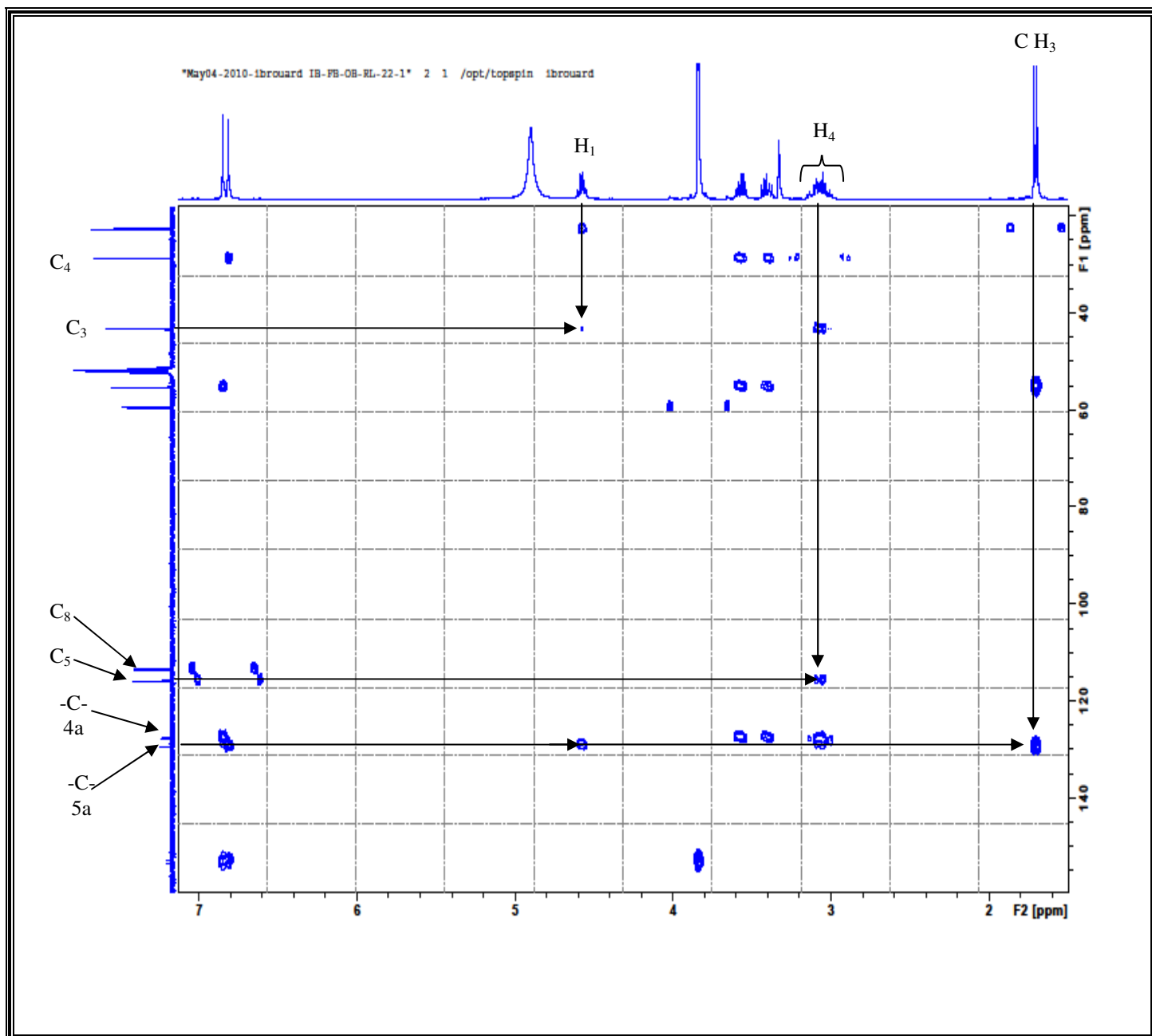
- بوجود نقطة تعالق في طيف HMBC ما بين H_1 و C_3 عند $(\delta = 41.4\text{ppm})$.
الذي يسمح لنا بنسب C_3 واستنتاج C_4 $(\delta = 26.9\text{ppm})$
- وجود نقطة تعالق ما بين بروتونات الميثيل و c عند $(\delta = 129.4\text{ppm})$.
تسمح لنا بربط C_{5a} واستنتاج C_{4a} عند $(\delta = 127.7\text{ppm})$.
- تجربة طيف HSQC، تسمح لنا بتعيين البروتونات المحمولة على الكربونات ،
وتسمح لنا أيضاً بنسب H_3 $(\delta = 3.2\text{ppm})$ و H_4 $(\delta = 4.4\text{ppm})$.
- وجود نقطة تعالق في طيف HMBC ما بين H_4 و C_5 عند $(\delta = 113.9\text{ppm})$.
الذي يسمح لنا بنسب C_5 واستنتاج C_8 $(\delta = 111.5\text{ppm})$



الطيف 14 (COSY الخاص بالمركب H_{22})



الطيف 15 (HSQC الخاص بالمركب H₂₂)



الطيف 16 (HMBC الخاص بالمركب H₂₂)

المعطيات المنسوبة إلى نتائج الأطياف المسجلة مبينة في الجداول رقم (22.21) على التوالي :

الجدول (21) : معطيات طيف البروتون للمركب H₂₂

البروتونات	الإنزياح الكيميائي (δ_H =ppm)	التعددية	J ثابت التزاوج (Hz)
CH ₃	1.5	<i>d</i>	6.8
H-4	3.2	<i>m</i>	-
H-3	3.4	<i>m</i>	-
O-CH ₃	3.7	<i>s</i>	-
H-1	4.4	<i>qd</i>	6.8
H-5	6.6	<i>s</i>	-
H-8	6.7	<i>s</i>	-

الجدول (21) : معطيات طيف الكربون للمركب H₂₂.

الكربونات	الإنزياح الكيميائي (δ_C =ppm)
1	20.8
3	41.4
4	26.9
4a	127.7
5a	129.4
5	113.9
6	>150
7	>150
8	111.5
CH ₃	53.39
O-CH ₃	57.6-57.4

المراجع

[1]- www.elnabatate.fr

[2] أندرو شوفاليه ، (1996م)، ترجمة عمر الأيوبي ، الطب البديل : التداوي بالأعشاب
و النباتات الطبية ، لندن

[3] www.nobel.se/medicine/laureates/1937/Szent-Gyorgyi-bio.html

[4] Bruneton , J . (1993), Pharmacognosie ,phytochimie , plantes medicinales ,
eds Techniques et documentation , 2^{ème} édition Lavoisier.

[5] Harborne, J. B. (1973). Flavonoids in phytochemistry, eds, J. B. Litton
educational publishing inc. London.

[6] El hazemi, (1995), Natural Product, 149-190. H, eds Univesity of King
Saoud.

[7] Harborne, J. B. (1975). The flavonoids, V.2, eds Chapman and Hall,
London.

[8] Pitshke, L., Grisebach, H. Y. (1965). Naturforsch. 20b, 1039-1042

[9] Grisebash, H., Barz, W. (1969). Naturwiss, 56, 538-544

[10] Harborne, J.B. (1964). Biochemistry of phenolcs compounds Academic
press, New York.

[11] Davis, B. D. (1955). Advancedas in Enzymology. 16, 227.

[12] Richter, G. (1993), Metabolism des végéteaux, Physiologie et biochimie,
eds press polytechniques et Universitaire Romandes , Lausanne

[13] Jensen, S.R., Franzyk, H. et Wallander, W. (2002). Phytochemistry, 60,
213-231.

[14] Turner, M. J., Smith, B. W., Haslam, E. J. (1975). Chem. Soc. perkin
52, 5

[15] Deluca, V., Ibrahim, R. K. (1985). Arch. Biochem. Biophys, 606.

- [16] Jurd, L . (1962). The chemistry of flavonoid compounds. Geissman, Peragmon press, New- York.
- [17] Chopin, J. (1966). Actualités de phytochimie fondamentale, 2^{ème} Série, éd, Masson, Paris, 119.
- [18] Palazón, J. , Cusidó, R.M., Morales, y C. Metabolismo y significación biológica de los polifenoles del vino, Grupo de Biotecnología Vegetal, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona.
- [19] MARFAK, A.G.(2003). Thèse de doctorat ,Université de Limoges.
- [20] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F. (1999) Life Sciences Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. 65(4), 337-353.
- [21] Pietta P. (2000)."Journal of Natural Products". Flavonoids as Antioxidants. 63(7), 1035-1042.
- [22] Melcent, R. (2003). Chimie organique hétérocyclique, eds, EDP sciences.
- [23] Bruneton, J. (1987). Elément de phytochimie et de pharmacognosie, eds, technique et documentation, 1^{ère} edition, Lavoisier.
- [24] Kelly, E. H., Anthony, R. T., Dennis, T. (2002). The journal of nutritional biochemistry. 13, 572-572.
- [25] Medelton, E. Jr. (1984). The flavonoids. 2, 335-338.
- [26] Hertog M. G. (1995)." Archives of Internal Medicine" Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. Vol. 155 N°4.
- [27] Yochum, L. (1999). " American Journal of Epidemiology ". Dietary Flavonoid Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. 149:10

- [28] Chaudhry, P.S., Cabrera, J., Juliani, H.R., Varma, S.D. (1983). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and Indomethacin *Biochem Pharmacol.* 32:1995.
- [29] Ferraro, G.E. (1983), *Acta farm. Bonaerense*, V.2, N°2, p.97-103.
- [30] Dae, S.J., Muriel, C., Michael, E.H. (2002), *Phytochemistry*, V. 61, N°7, p. 867- 868.
- [31] Lebreton, P., Jay, M., Voirin, B. et Bouchez, M. B. (1967). Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoides. *Chim. Analyt. Fr.*, 49(7), 376
- [32] Gonnet, J.F. (1973). A propos de la photographie en couleur de Chromatographie sur couches minces en lumière de wood. *J. of chromat.* 68, 192
- [33] Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical Methods*, Chapman and Hall London
- [34] LOISELEUR, J. (1973). "Techniques de laboratoire, Chimie physique, Chimie Biologique", Tome 1, Editeurs MASSON et CIE.
- [35] Wang, H. K. Lin, S. Y. Hwang, K. M. Tylor. G and Lee, K. M. (1994), *Bioorg, MED chem.* 2, 1397.
- [36] Francisco, A., Tomas-Barberan, F., et coll.(1990). High performance liquid chromatography, thin layer chromatography and ultra violet behaviour of flavone aglycone with unsubstituted rings. *Phytochemistry. Anal.* I, 44.
- [37] Combier, H., Jay, M., Voirin, B., Lebreton, P.(1974). Influence des 6 et /ou des 8- substitutions sur le comportement spectrométrique et des chromatographique flavonoides. Assemblée annuelle du « Groupe polyphénols ». Lyon, France
- [38] Mabry, T. J., Markham, K. R., Thomas, M.B.(1970). The systematic identification of flavonoids. Springer- Verlag, Berlin
- [39] Anderson, R. A., Sowers, J. A. (1968), "Phytochemistry". 7, 115-126
- [40] Endres, H., Hormann, H. (1963). " *Angew. Chem*", 2, 254, Ed. intrnatl.

- [41] Vernin, G. (1970), La chromatographie en couche mince, Techniques et application en chimie organiques, Dunod, Paris.
- [42] Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. (1970).
" Springer- verlag" The systematic Identification of Flavonoids.,
New-York
- [43] Markham, K.R.(1982). Techniques of flavonoids identification.
Academic press. London
- [44] Alain, B.(1972). La chromatographic et ses applications. Dunod, Paris.
- [45] Harborne J.B. (1988).The flavonoids, Advances in research since 1980.
Chapman & Hall.London
- [46] Harborne, J. B. (1967). Comparative biochemistry of the flavonoids.
Academic press. London
- [47] Jay, M. Gonnet, J. F., Wollenweber, E. , Voirin, B. (1975).
Phytochemistry. 14, 1605
- [48] Voirin, B. (1983). Phytochemistry. 22, 2107
- [49] Harborne, J. B. Swain, T. (1969). Prespectives in phytochemistry.
Academic press. London.
- [50] Bacon, J.D. and Mabry, T. A. (1976)." Rev. Latinoamer, Quim".UV
Spectral procedures for distinguishing free and substituted 7-hydroxyl
groups in flavones and flavanols., 7,83-86.
- [51] Riberau- Gayon, P.(1968). Les composés phénoliques des végétaux .
Dunod, Paris.
- [52] Markham, K.R ., Mabry, T.J.(1975). In the flavonoids. Harborne, J.B,
Mabry, T.J and Mabry .H, Chapman and Hall, London.
- [53] Wollenweber, E., Jay, M.(1971). In the flavonoids. Harborne, J. B.
Chapman and Hall, London.
- [54] Audier, H.(1966).Etude des composés flavoniques par spectrométrie de
masse. Bull. Soc . Chim. Fr., 9, 2892.
- [55] Goudard, M ., Bouvin, J. F., Chopin, J .(1978).Phytochemistry., 17, 145.

- [56] Constantin, E., Schenell, A.(1986).Spectrométrie de masse, principes et applications, Lavoisier, Paris
- [57] Harborne, J.B. (1988). The flavonoids advances in research. since 1980. Chapman and Hall. New-York
- [58] Becchi, M., Fraisse, D.(1989). Fast atom Bombardment and Fast atom Bombardment, collision activated- dissociation/ mass- Analysis ion kinetic energy analysis of C-glycosidic flavonoids . Biomed. & environmental mass spectromet. 18, 122.
- [59] Markham, R.(1995). Les facteurs anti –nutritionnels (F.A.N) phénoliques de *Pisum sativum* et de *Vicia faba* (Leguminosae) : Aspects structuraux. Thèse de doctorat, univ. Claude Bernard, Lyon I.
- [60] Pawank, A. (1992). NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligo saccharids glycosides phytochemistry. 10, 3307-3330.
- [61] Markham, K.R ., Geiger, H .(1994). ¹H NMR Spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide .In the flavonoids, Harborne, J.B, Chapman and Hall, London .
- [62] Nielson, J.G ., Moller, J.(1970). Acta . Chem. Scand., 24, 2665.
- [63] Harowitz, R. M., Gentili, B., (1966). Chem. Ind., London p 625.
- [64] Rodriguez, E., Carman, N.J ., Mabry, T.J.(1972). Phytochemistry., 11, 409.
- [65] Markham,K,R.,Tenai,B., Geiger H.,Mabry,T.J. (1978)" Tetrahedron" Carbon-13 NMR.Studies of flavonoids III., 34,1389-1397.
- [66] [http :fr.wikipedia.org/wiki/Chenopodiaceae](http://fr.wikipedia.org/wiki/Chenopodiaceae)
- [67] Quezel,P.and Sanata,S.(1962),Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I , C.N.R.S. Paris
- [68] Multon.J.L. (ed) (1992) . Lesucres, les sucres, les edulcorants et les glucides de charge dans les I.A.A , Tec. & Doc. Lavoisier, Paris.
- [69] These BOUMAZA.O , (2006), recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de *Haloxylon scoparium* (Chenopodiaceae) .

[70] Buchi C.A & Pomilio A.B., J.Nat. (1982) , Prod., , 45, 557-559.

الختمة

الخاتمة

يعد هذا العمل كامتداد لبحاث بدأها مخبرنا في إطار الكشف عن المواد الفعالة للنباتات الطبية الجزائرية، وقد انصب اهتمامنا حول منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لما تحضى به من فعالية بيولوجية عظمية .

نهدف من خلال هذا البحث إلى فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي

لنبته *Haloxylon scoparium* (Chénopodiaceae) .

قمنا أولاً ببحث بيبلوغرافي عن الفلافونيدات ، وعن الطرق المستخدمة في فصل و

تنقية هذه المركبات وكذلك الطرق الفيزيائية لتحديد بنيتها .

اتبعنا في عملية الفصل جملة من الخطوات ابتداءً من الاستخلاص يليه فصل أولي

بواسطة كروماتوغرافيا العمود بعدها القيام باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة. و أخيراً

عملية التنقية عن طريق استخدام عمود صغير من السيفادكس. و من أجل التحديد البنيوي

للمركبات استخدمنا مطيافية الأشعة فوق البنفسجية، و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي.

فكانت الحصيصة استخلاص ثمانية مركبات و تحديد مركبين منها لحد الآن.

5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O- rutinosyl flavones.

1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimethoxy-1-methylisoquinoline

لقد قمنا بالمشاركة بهذا العمل ،في الملتقى العلمي *اليوم الثامن للصيدلة و اليوم
السادس لربيع الألم * بجامعة باتنة.2010/06/03 .

Résumé

Ce travail fait partie de notre programme de recherche sur les plantes médicinales algériennes.

Cette étude portant sur l'investigation phytochimique de *Haloxylon scoparium* a été menée dans le but de rechercher les métabolites secondaires de l'extrait *n*-butanol de la plante.

Après extraction hydroalcolique, concentration et affrontements successifs au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au *n*-butanol de 1000g des fleurs et feuilles de cette plante, 67g de l'extrait *n*-butanol recueillis a été soumis à la séparation et la purification par chromatographie sur colonne et sur couche mince de gel de silice 60 HF₂₅₄. Ce travail a mené à l'obtention de huit produits à l'état pur et natif. L'établissement de leurs structures a été réalisé par la combinaison des méthodes modernes d'analyse et a permis la détermination de deux composés :

5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-*O*- rutinoyl flavones.

1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimethoxy-1-methylisoquinoline

Mots clés: *Haloxylon scoparium*, métabolites secondaires, flavonoïdes, alcaloïdes.

Summary

This work belongs to our research program on the Algerian medicinal plants.

This study, which concerns the phytochemical investigation of *Haloxylon scoparium* in the aim of the research of secondary metabolites of *n*-butanol extract.

After hydroalcoholic, concentration and successive extractions with chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol of 1000g of aerial parts of this plant. 67g of *n*-butanol extract was submitted to separation and purification by column and thin layer chromatography on silica gel 60 HF₂₅₄. This work led to the isolation of eight pur compounds. Their structures were established by the combination of modern analysis methods, which leads to this two compounds:

5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-*O*-rutinosyl flavones.

1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimethoxy-1-methylisoquinoline.

Key words:: *Haloxylon scoparium*, secondary metabolites, flavonoïds, alcaloïds.

ملخص

يندرج هذا العمل ضمن برنامج بحث النباتات الطبية الجزائرية للجنس *Haloxylon* من العائلة (Chénopodiaceae)، بغرض تحديد الأيض الثانوي من النوع الفلافونيدات في نبات *Haloxylon scoparium*.

بعد عملية الاستخلاص بخليط من الماء و الكحول و التركيز المتبوعين باستخلاص متتالي بواسطة الكلوروفرم، خلات الإثيل و البوتانول (الكحول العادي) لكتلة من الأزهار و الأوراق قدرها 1000 غ، حصلنا على 67 غ من مستخلص البوتانول. خلصت دراسة هذا الأخير بعد الفصل عن طريق كروماتوغرافيا العمود والتنقية بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية السيليكاجال على ثمان مركبات نقية. تم التحليل البنوي لهذه المركبات بواسطة الطرق الطيفية الحديثة حيث سمحت بتحديد صيغة مركبين وهما:

5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxy-3-O- rutinosyl flavones.

1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimethoxy-1-methylisoquinoline

الكلمات المفتاحية: *Haloxylon scoparium* ، الأيض الثانوي ، الفلافونيدات ،

القالويدات .