



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.....
رقم التسلسل.....

مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير
في الكيمياء العضوية
شعبة المواد العلاجية
تحت عنوان

فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي و

دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبته

Salsola tetragona Del. (Chenopodiaceae)

تحت إشراف الأستاذة:
كعبوش زهية

تقديم الطالب:
خطاف عبد الكريم

أعضاء لجنة المناقشة

رئيسا
مقررة
ممتحنة
ممتحنا

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

الدكتور كعبوش احمد
الدكتورة كعبوش زهية
الدكتورة بومعزة وهيبة
الدكتور نسيب يوسف

الإهداء

اهدي ثمرة عملي هذا:

إلى من وصى بهما ربي إلى من هما الغالين على قلبي و عند ربي رمز الحب و التضحية أمي و أبي
حفظهما الله.

إلى من تتلمذت على أياديهم و إلى من أمدوني بنصائحهم و توجيهاتهم

" أساتذتي "

إلى كل إخوتي الأعزاء من أكبرهم إلى أصغرهم حفظهم الله

"إخوتي "

إلى كل أفراد عائلتي دون استثناء

إلى كل أفراد المخبر و زملائي في الدراسة

و إلى كل الأحاب و الأصحاب.....و شكرا

تشكرات

الحمد لله الذي علم بالقلم، علم الإنسان ما لم يعلم، و الصلاة و السلام على معلم البشر، و على أله و صحبه أجمعين.

أولا و قبل كل شيء أتقدم بأسمى عبارات الشكر و الامتنان و التقدير إلى من يعجز لساني عن إيجاد العبارات المناسبة لشكره، إلى من سدد خطاي و أنار طريقي، إلى واهبي الحياة، إلى ربي، رب العزة جلّ جلاله.

و أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة الغالية كعبوش زهية على كل ما قدمته لي من توجيهات، نصائح و معلومات خلال تواجدي بالمخبر و في كل مراحل البحث و لم تبخل علي بتقديم الدعم المادي و المعنوي لإنهاء هذا العمل في هذه الفترة. أتوجه بالشكر الجزيل إلى الأستاذة الغالية توافق وسيلة التي لم تبخل عليا بتوجيهاتها و نصائحها القيمة و الثمينة طوال مراحل انجاز لهذا العمل.

أتوجه بالشكر الجزيل إلى الأستاذ كعبوش أحمد الذي لم يبخل علينا بجهده الكبير الذي يتمثل في جلب النباتات المراد دراستها رغم صعوبتها و على كل المساعدات التي قدمها لي خلال فترة البحث و كذلك مساعدته لي في مناقشة البنى الكيميائية للمركبات المستخرجة و اشكره أيضا على قبوله رئاسة لجنة المناقشة. كذلك أتوجه بشكري إلى الأستاذة المحترمة بومعزة وهيبة و الأستاذ المحترم نسيب يوسف على قبولهما المشاركة في لجنة المناقشة.

كما أتقدم بالشكر الخالص إلى جميع أفراد مخبر

على ما قدموه لي من نصائح و مساعدات و إلى كل من اعتبرهم بمثابة إخوتي و أخواتي L.O.S.T زملائي الأعزاء و أتمنى لهم جميعا كل التوفيق و النجاح.

الاختصارات

AcAc	Acétylacetone
AcOEt	Acétate d' éthyle
MEC	Méthyléthylcétone
AcOH	Acide Acétique
Tol	Toluene
CAT	Catalase
CC	Chromatographie sur Colonne.
CP	Chromatographie sur papier
CCM	Chromatographie sur couche Mince
CLHP	Chromatographie Liquide A Haute Performance.
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Doublet.
dd	Doublet de doublet.
t	Triplet
DPPH	2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl
EI	Impact électronique
ES	ElectroSpray
FAB	Fast Atom Bombardment
Hz	Hertz.
J	Constante de Couplage
L	Leaves
ppm	Partie par million
R_f	Rapport Frontal

Rha	Rhamnose
Glu	Glucose
RMN ¹H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
UV	Spectrophotométrie UV-Visible
RMN ¹³C	Resonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
NADPH	Nicotinamide adénine dinucleotide phosphate
IC₅₀	Concentration inhibitrice médiane
SOD	Superoxide dismutase
GPX	Glutathione peroxidase
DEPT	Distortionless Enhancement Polarization Transfer
NV	Noire violant

فهرس الجداول، الأشكال و المخططات

- مخطط 1 : تكوين حمض ((C₆-C₃) Ac.p-coumarique) انطلاقا من الغلوكوز و مرورا بحمض الشيكيميك.....7
- مخطط 2 : بعض الهياكل الفلافونويدية التي تنحدر من الشالكون.....9
- مخطط 3 : أقسام الفلافونويدات14
- مخطط 4 : مخطط عام لإستخلاص الفلافونيدات.....16
- الجدول 1 : بعض الأنظمة المستعملة كمملصات بالنسبة للسيليكاجال19
- الجدول 2 : يوضح العلاقة بين البنية الفلافونويدية و عامل الانحباس (R_f).....21
- الجدول 3 : يوضح العلاقة بين لون المركب تحت (UV) وبنيته الكيميائية.....21
- الجدول 4 : أهم الانزياحات الملاحظة للعصابتين I و II في الوسط الميثانولي.....23
- مخطط 5 : المعقد المتشكل بين الفلافونيد و (H₃BO₃ + NaOAc).....24
- مخطط 6 : المعقدات الثابتة و غير الثابتة بين الفلافونيد و AlCl₃ قبل و بعد إضافة HCl.....25
- الجدول 5 : يوضح مختلف التأثيرات المحتملة على طيف UV و تفسيراتها قبل و بعد إضافة الكواشف 25
- الجدول 6 : الإنزياح الكيميائي و ثابت التزاوج لبروتونات الحلقة A.....27
- الجدول 7 : الانزياح الكيميائي و ثابت التزاوج لبروتونات الحلقة B.....27
- الجدول 8 : قيم الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1" لبعض الفلافونيدات أحادية السكر....28
- الجدول 9 : قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأنوميرية "H-1" ، "H-1" لبعض الغليكوزيدات ثنائية السكر في DMSO-d₆.....29
- الشكل 1 : صيغ بعض التربينات الأحادية.....37
- الشكل 2 : الاصطناع الحيوي للتربينات الأحادية انطلاقا من GPP ... 39
- الشكل 3 : صيغ بعض السيسكويتربينات40
- الشكل 4 : الاصطناع الحيوي لحلقة γ -lactone42
- الشكل 5 : نماذج لجزيئات ذات فعالية ضد السرطان.....43
- الشكل 6 : تكوين Geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP).....45
- الشكل 7 : الاصطناع الحيوي لهيكل جاتروفان Jatrophane بدءا من GGPP46
- الشكل 8 : مختلف هياكل التربينات الثنائية47
- الشكل 9 : بعض أهم هياكل التربينات الثلاثية48

- الشكل 10 : الاصطناع الحيوي لهيكل السكوالين Squalene 49.....
- الشكل 11 : تشكيل 2,3-époxydosqualene من أكسدة السكوالين 49.....
- الشكل 12..... 50
- الجدول 1 : الفعالية البيولوجية للجنس *Salsola* 59
- الجدول 2 : المركبات الفلافونيدية المعزولة من جنس *Salsola* 64
- الجدول 3 : المركبات التربينية المعزولة من جنس *Salsola* 64.....
- الجدول 4 : مختلف المركبات المعزولة من جنس *Salsola* 67.....
- مخطط عام لاستخلاص الفلافونيدات 80
- الجدول 1 : الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي للمستخلص الأسيتاتي 81.....
- الجدول 2 : الكسور المحصل عليها بعد عملية الجمع 81.....
- الجدول 3 : الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي 82.....
- الجدول 4 : الكسور المتحصل عليها من الطور البيتانولي 84
- الجدول 5 : جمع الكسور المتحصل عليها في الجدول 4 85.....
- الجدول 6 : الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي للكسر StB5 86.....
- الشكل(1):تفاعل الـ DDPH مع الفينول..... 87.....
- الشكل 2 : طيف تجربة ^{13}C RMN (DMSO, 100MHz) للمركب St1 92.....
- الشكل 3 : طيف تجربة (135) DEPT (DMSO, 400MHz) للمركب St1 93.....
- الشكل 4 : طيف تجربة HMQC (DMSO, 400 MHz) الممدد للمركب St1 94.....
- الشكل 5 : طيف تجربة ^{13}C RMN (DMSO, 100MHz) الممدد للمركب St1 95.....
- الشكل 6 : طيف تجربة HMBC (DMSO, 400 MHz) الممدد للمركب St1 96.....
- الشكل 7 : طيف تجربة ^1H - ^1H COSY (DMSO, 400 MHz) للمركب St1 98.....
- الشكل 8 : طيف ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) الممدد للمركب St1 99.....
- الشكل 9 : طيف تجربة HMBC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1 100.....
- الشكل 10 : طيف تجربة HMQC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1 101.....
- الشكل 11 : طيف تجربة HMQC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1 101.....

- الجدول 1-2 : السلوك الكروماتوغرافي: معامل الاحتباس (R_f) 103
- الجدول 2-2 : مطيافية الأشعة فوق بنفسجية – المرئية للمركب St2 103
- الشكل 12 : سلاسل أطياف UV للمركب St2 في الميثانول و مختلف المتفاعلات 104
- الجدول 3-2 : مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ($RMN-^1H$) 105
- الشكل 13 : نتائج الاماهة الحمضية للمركبين St2 و St3 106
- الشكل 14 : طيف $RMN ^1H$ للمركب St2 108
- الشكل 15 : طيف $RMN ^1H$ للمركب St2 (تكبير المجال 8.5-5 ppm) 109
- الجدول 1-3 : السلوك الكروماتوغرافي: معامل الاحتباس (R_f) 110
- الجدول 2-3 : مطيافية الأشعة فوق بنفسجية – المرئية للمركب St3 110
- الشكل 16 : سلاسل أطياف UV للمركب St3 في الميثانول و مختلف المتفاعلات 111
- الجدول 3-3 : مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ($RMN-^1H$) 112
- الشكل 17 : نتائج الاماهة الحمضية للمركبين St2 و St3 115
- الشكل 18 : طيف $RMN ^1H$ للمركب St3 116
- الشكل 19 : طيف $RMN ^1H$ للمركب St3 (تكبير المجال 4-8 ppm) 117
- جدول 1 : الاختلاف بين قدرتي الأسر الجذري للمستخلص البيتانولي وكذا الكيرستين 118
- الشكل 20 : مقارنة مفعول الأسر لجذر لكل من المستخلص البيتانولي و الكيرستين عند تراكيز كتلية مختلفة 119
- الشكل 21 : النسبة المئوية لإرجاع المستخلص البيتانولي لجذر DPPH بدلالة التركيز 119

الفهرس

1.....مقدمة

3.....المراجع

القسم النظري

الفصل الأول: المركبات الفلافونيدية و طرق دراستها

4-1 تعريف الفلافونويدات.....

5-2 خواص والفعالية البيولوجية للفلافونويدات.....

5-3 الاصطناع الحيوي للفلافونويدات.....

10-4 تثبيت المجموعات الاستبدالية على الهيكل الفلافونيدي.....

12-5 أقسام الفلافونويدات.....

14-6 طرق دراسة المركبات الفلافونيدية.....

14-1-6 طرق إستخلاص، فصل و تنقية المركبات الفلافونيدية.....

14-1-1-6 الاستخلاص.....

17-2-1-6 الفصل.....

20-3-1-6 التنقية.....

20-7 الدراسة البنيوية لمركبات الفلافونيدات.....

20-1-7 معامل الانحباس R_f

21-2-7 اللون الإشعاعي.....

22-3-7 طرق التحليل الطيفي.....

22-1-3-7 مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV.....

26-2-3-7 مطيافية الرنين النووي المغناطيسي: $RMN^{13}C$ و RMN^1H

- 29.....3-3-7 مطيافية الكتلة
- 31.....4-7 - الإماهة الحمضية
- 33.....المراجع

الفصل الثاني: المركبات التربينية و طرق دراستها

- 36.....1- مقدمة
- 36.....2- تعريف التربينات
- 36.....3- التربينات الأحادية
- 36.....1-3- تعريفها
- 37.....2-3- الاصطناع الحيوي للتربينات الأحادية
- 39.....4- السيسكويتربينات
- 39.....1-4- تعريفها
- 41.....2-4- الاصطناع الحيوي للسيسكويتربينات اللاكتونية
- 42.....3-4- خصائص و أهمية السيسكويتربينات اللاكتونية
- 44.....5- التربينات الثنائية
- 44.....1-5- تعريفها
- 45.....2-5- الاصطناع الحيوي للتربينات الثنائية
- 46.....3-5- أنماط الهياكل الرئيسية للتربينات الثنائية
- 47.....6- التربينات الثلاثية
- 47.....1-6- تعريفها
- 48.....2-6- أنواع الهياكل الرئيسية للتربينات الثلاثية
- 48.....3-6- الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية

- 50.....4-6- خصائص و أهمية التربينات الثلاثية
- 51.....7- التربينات العالية Terpène superieur
- 52.....المراجع

الفصل الثالث: مسح مكتبي للجنس *Salsola*

- 56.....1- عموميات على العائلة الرمرامية (Chenopodiaceae)
- 56.....1-1- مقدمة
- 56.....2-1- الوصف النباتي
- 57.....3-1- الصفات المميزة للفصيلة
- 57.....4-1- الأهمية الاقتصادية لنباتات هذه الفصيلة
- 58.....2- دراسة ببليوغرافية لجنس *Salsola*
- 58.....1-2- وصف نباتي للجنس *Salsola*
- 58.....2-2- الخصائص البيولوجية و استعمالاتها
- 60.....3-2- الدراسة الكيميائية للجنس *Salsola*
- 60.....2-3-1- المركبات الفلافونيدية المعزولة من جنس *Salsola*
- 63.....2-3-2- المركبات التربينية المعزولة من جنس *Salsola*
- 67.....3-3-2- المركبات الأخرى المعزولة من جنس *Salsola*
- 71.....المراجع

الفصل الرابع: الفعالية البيولوجية

- 75.....1- مضادات الأكسدة
- 75.....1-1- عائلة الجزيئات ذات الفاعلية المضادة للأكسدة
- 76.....2-1- الأسباب البيئية المسببة لتكوين الجذور الحرة
- 76.....3-1- أضرار الجذور الحرة

77.....المراجع

القسم العملي

الفصل الأول: الدراسة النباتية و الكيميائية لـ *Salsola tetragona*

78.....1- الدراسة النباتية

79.....2- الدراسة الكيميائية

91.....المراجع

الفصل الثاني: مناقشة النتائج

92.....1- التحليل البنوي للمركب St1

103.....2- التحليل البنوي للمركب St2

110.....3- التحليل البنوي للمركب St3

1184- قياس فاعلية ضد الأكدسة باستعمال DPPH

120.....5- تحديد المركبات الفينولية التامة

121.....المراجع

122.....الخاتمة

الملخص

مقدمة:

لعل اهتمام الإنسان بالنباتات الطبية والعطرية والسامة قد بدأ مع خلقه ووجوده، فقد استطاع الإنسان بفطرته البحث عن ما يخفف آلامه وأمراضه باستخدام النباتات المحيطة به، وتمكن بالتجربة من التعرف على النباتات التي يمكن أن يستخدمها في تسميم الرماح لتمكينه من اصطياد الحيوانات. كما أدرك نوعية النباتات التي تعطي اللحم النكهة والطعم المقبولين وكذلك النباتات التي تمكنه من المحافظة على اللحوم من التلف، ومع تطور المجتمع البشري تخصص بعض أفراد "الذين عرفوا بالعشَّابين" في جمع الأعشاب والنباتات الطبية، وكان من مهامهم تحضير الأدوية من الأعشاب ووصفها للحالات المرضية. وقد كان للحضارة المصرية القديمة دور ملموس في معرفة فوائد النباتات الطبية وخصائصه، حيث دونت المعلومات عن النباتات الطبية في برديات أشهرها بردية ايبرس (يزيد عمرها عن 3500 عام) التي احتوت على وصف لكثير من العقاقير والنباتات الطبية واستعمالاتها ما زال بعضها مستخدماً حتى وقتنا الحاضر، ونذكر من تلك العقاقير قشر الرمان والحناء وبذور الكتان.

وقد أسهم الرومان والإغريق في التطور العلمي للنباتات الطبية حيث ضمنت مراجعهم وصفاً لنحو 5000 نوع من النباتات والمواد الطبية، ثم جاء العلماء العرب والمسلمون وكان لهم الدور المرموق في إثراء المعرفة عن الأعشاب والنباتات الطبية نذكر منهم ابن سينا ومرجعه " القانون في الطب " وكذا ابن البيطار وكتابه " مفردات الأدوية والأغذية " [1].

النباتات الطبية هي تلك النباتات التي تستخدم في علاج الأمراض والآلام وتحتوي مواد ذات فعالية وتأثير فسيولوجي تعرف بالمواد الفعالة. كما تشمل النباتات الطبية أيضاً النباتات التي نحصل منها على المواد أو المركبات المستخدمة في الصناعة الصيدلانية لتحضير الأدوية بأشكالها المختلفة، ومن أمثلة تلك المواد الصمغ العربي المستخدم في تحضير الأقراص والمستحلبات، وكذلك الزيوت العطرية مثل زيت قشر البرتقال وزيت الليمون والتي تضاف إلى الأدوية لتحسين مذاقها ونكهتها.

من الواضح أن النباتات الطبية والعطرية كانت وما زالت تمثل عنصراً أساسياً في حياة الإنسان، وبنظرة سريعة ندرك أننا نستخدم الكثير منها في حياتنا اليومية العادية. فمعظمنا يتناول كأساً من الشاي أو قهلاً من القهوة لما يحتويانه من الكافين ذي التأثير المنبه والمنشط. ونعلم كذلك فوائد النعناع والبابونج والهيل لما تحتويه من زيوت عطرية، ولا يخلو منزل الأم المرضعة من بذور الحلبة لفائدتها في إدرار اللبن، أما ثمار الكراوية والينسون والشمر فتستخدم بعد غليها مع الماء لتخفيف وعلاج المغص المعوي لدى الأطفال. تلك أمثلة من النباتات الطبية شائعة الاستخدام إلا أن هناك المئات من العقاقير والنباتات الطبية التي تستخدم لعلاج

الأمراض والأسقام المختلفة والكثير منها شديد السمية ومن الواجب والضروري عدم استعمالها بدون وصفة طبية، محدد بها مقدار الجرعة ووقت تعاطيها، كما أن عدم اتخاذ الحذر والحيطه في استخدامها يكون عادة مصحوباً بمخاطر كبيرة.

مع تقدم الكيمياء بصفة عامة تمكن الصيادلة و الكيمائيين من التوصل إلى التركيب الكيميائي و معرفة شكل و تركيب جزيء المادة الفعالة و أمكن في بعض الحالات تخليق تلك المواد الفعالة كيميائياً.

تركز اهتمامنا في هذا البحث على العائلة الرمرامية (*Chenopodiaceae*) و الذي يضم الجنس *Salsola* الذي يشتهر بغناه بالمركبات الطبيعية (الفلافونويدات، التربينات، القلويدات؛ الصابونين، الأملاح و الأحماض العضوية) [2]، و لقد ركزنا في بحثنا هذا على الدراسة الكيميائية لنبته *Salsola tataragona* [3].

وقد قسمنا بحثنا هذا إلى قسمين هما:

القسم النظري و يشمل أربعة فصول و قد خصص الفصل الأول للمركبات الفلافونيدية، و طرق دراستها، الثاني للمركبات التربينية و طرق دراستها، الثالث مسح مكتبي للجنس *Salsola* و الرابع للفعالية البيولوجية. و القسم الثاني هو القسم العملي و يحتوي على فصلين:

الفصل الأول خاص بالدراسة النباتية و الكيميائية للنبته *Salsola tetragona*. ثم نتناول في الفصل الثاني النتائج الكيميائية المتمثلة في تحديد الصيغ الكيميائية للمركبات المعزولة و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و معايرة الفينولات لنبته *Salsola tetragona*.

المراجع

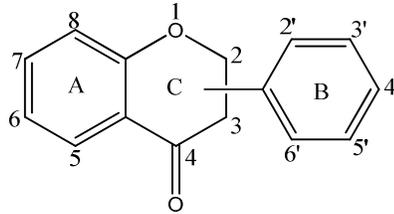
- 1-Mahmoud, S.S.A., Younes, M.H. (2003). Université du Roi Faisal. Saudi Arabia.
- 2- Saratkov, A. S., Vengerovskii, A. I., Chuchalin, V. S., Tomask, S.T.T. (2004).
- 3- Ozenda, P. (1958). Flore du sahara septentional et central. Ed. C.N.R.S. Paris

1- تعريف الفلافونيدات:

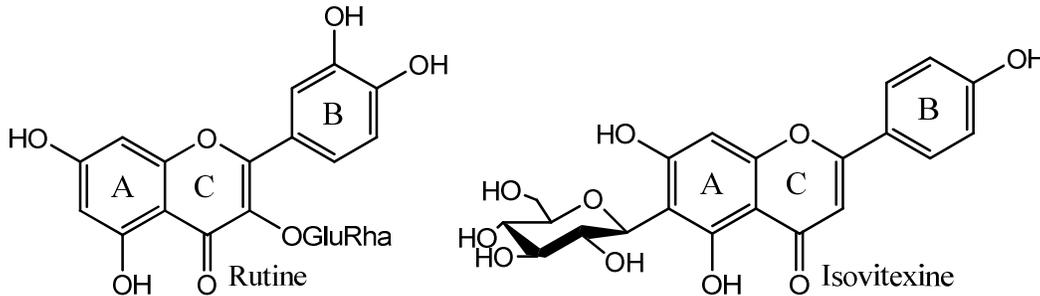
الفلافونويد (بالإنجليزية: Flavonoid من الإغريقية: flavus وتعني اللون الأصفر): هي مجموعة مركبات عضوية قابلة للإنحلال في الماء، ينتجها الأيض الثانوي للنبات، وتتنمي لفئة متعددة الفينول. تلعب هذه المركبات أدوار متعددة في النباتات، فهي مثلا تقوم بحمايتها من التأثير الضار للأشعة فوق البنفسجية والطفيليات، ومنها أيضا مركبات الأنتوسيان وهي تشكل خضاب بعض الأزهار والفواكه. و تعتبر الفلافونويدات من أهم المركبات حيث تم عزل أكثر من 6400 مركب في صورة ايثيروزيدية أو اجليكونية و هذا من أنواع مختلفة من النباتات [1،2].

للفلافونويد بنية كيميائية عامة في شكل هيكل كربوني على النموذج: $C_6-C_3-C_6$ ويحمل اسم نواة (فينيل بنزوبيران) (phenylbenzopyrane) و حسب موضع التحام الحلقة الأروماتية (الفينيل) على شطر البنزوبيران تنقسم هذه المركبات إلى ثلاثة أقسام: [3]

- على الكربون رقم 2 : الفلافونويد (2-benzopyranes) flavonoides
- على الكربون رقم 3 : الإيزوفلافونويد(iso flavonoides (3-benzopyranes)
- على الكربون رقم 4 : النيوفلافونويد (4-benzopyranes) neoflavonoides



قد تكون وحدة السكر مرتبطة بذرة أكسجين مجموعة الهيدروكسيل مثل مركب الـ rutine أو مرتبطة مباشرة بإحدى ذرات كربون الحلقة العطرية مثل مركب الـ isovitexine. وأغلب السكريات الأحادية المتواجدة في بناء الفلافونويدات هي الجلوكوز، الجالاكتوز، الأرابينوز و الزيلوز.

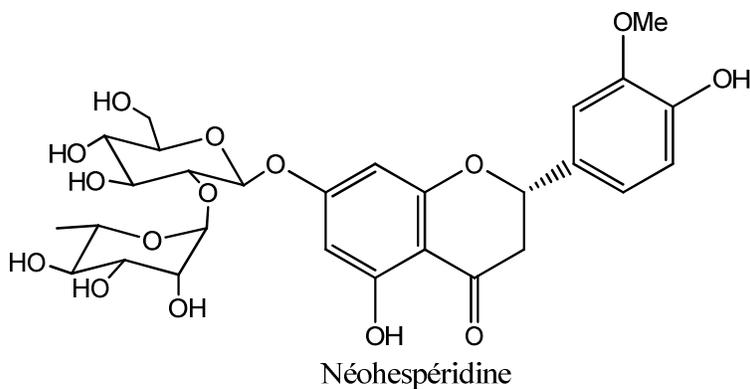


2- خواص والفعالية البيولوجية للفلافونويدات:

الفلافونويدات ذوابة في القواعد القوية لكونها مركبات فينولية و تمتاز بصفتها الحمضية الضعيفة، و تزيد قطبيتها إذا كانت تحتوي على عدد اكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو جزيئة سكر أو أكثر و هذا ما يجعلها ذوابة في المذيبات القطبية مثل الميثانول، الايثانول، ثنائي مثيل سلفوكسيد، الأسيتون و الماء. وجود السكر في جزيئ المركب يجعله أكثر ذوبانية في الماء، أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونويد و كذلك الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الايثر و الكلوروفورم [4].

تمتلك الفلافونويدات عدة خصائص فعالة [5] من بينها الخصائص التالية: مضادات للأكسدة، مضادات للإلتهاب، مضادات للفيروسات، مضادات لتسمم الكبد و مضادات للبكتيريا.

فالعديد من الأدوية التقليدية والنباتات الطبية تحتوي على الفلافونويدات كمركبات فعالة بيولوجيا. فالخصائص المضادة للأكسدة للفلافونويدات تكون موجودة في الفواكه الطازجة و الخضار، حيث يعتقد بأنه يساهم في الوقاية من السرطان وأمراض القلب. الـ Rutine مركب فلافونويدي جليكوزيدي يوجد في العديد من النباتات مثل *Sophora japonica*، *Ruta graveolens* و *Fagopyrum esculentum*، فهو من المحتمل أن يكون المركب الأكثر دراسة من بين كل الفلافونويدات، إذ يدخل في تركيب مختلف متعددات الفيتامين (multivitamine)، فلافونويد آخر هو الـ Néohesperidine والمستخلص من نبتة *Citrus peels* يدخل في تركيب المضافات الغذائية وكذلك يستعمل في معالجة النزيف الشعري (hémorragie capillaire) [5].



3- الإصطناع الحيوي للفلافونويدات:

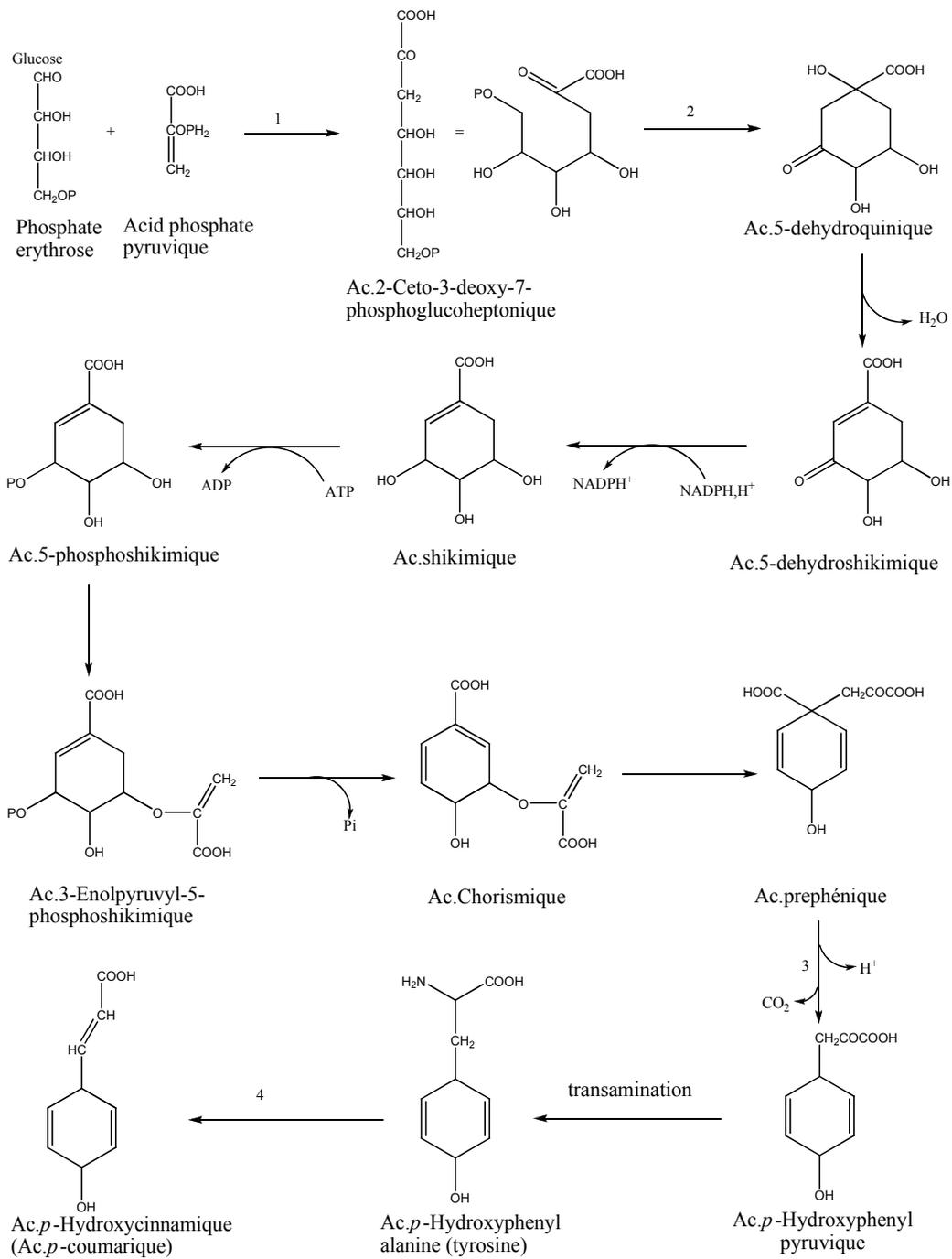
إن الإنتشار الواسع للفلافونويدات و أهميتها، أثار اهتمام الباحثين من الكيميائيين، البيولوجيين وعلماء الوراثة و قاموا بتوجيه أبحاثهم لمعرفة أصل التطور الوراثي لهذه المركبات، أي كيف يتم تصنيعها داخل النبات. إن تجارب الوسم بـ ^{14}C المشع هي التي أعطت النتائج الهامة فيما يخص الإصطناع الحيوي للفلافونويدات.

و لمتابعة آلية هذا الأخير تم إجراء تجارب عدة باستعمال النظائر الموسومة بـ ^{14}C المشع، فمثلا لاحظ الباحث "Robinson" سنة 1936 [6] أن استبدال النواتين البنزينيتين للمركبات الفلافونيدية مختلف جوهريا فاستنتج انه ليس لهما نفس الأصل الوراثي الحيوي و عليه تتم عملية الاصطناع الحيوي على ثلاث مراحل:

المرحلة الأولى:

طريقة حمض الشيكيميك:

اثبت "Davis" سنة 1955 [7] دور حمض الشيكيميك في تكوين الحلقة (B) و السلسلة الكربونية الثلاثية (C_3) و ذلك بدءا من الغلوكوز، كما هو موضح في المخطط (1):



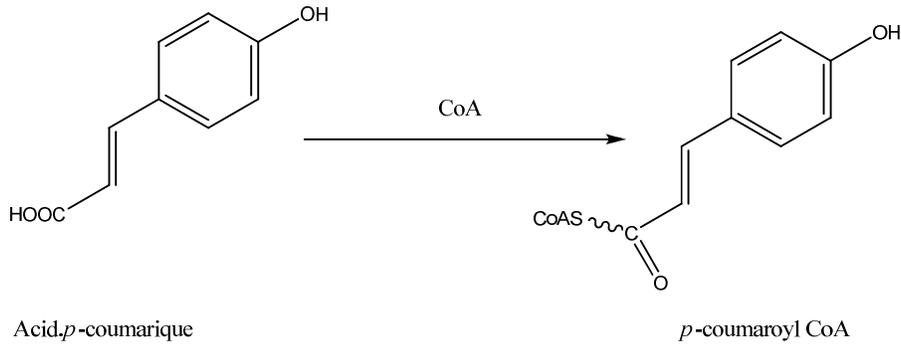
1- aldolase,3-déoxy-O-arabinoheptulosonate-7-phosphate synthase ou DHAP synthase.

2- déshydroquininate synthase. 3- préphénate déshydrogénase

4- tyrosine ammonia-lyase.

مخطط 1 : تكوين حمض (Ac.p-coumarique) ((C₆-C₃)) انطلاقاً من الغلوكوز و مروراً بـ حمض الشيكيميك

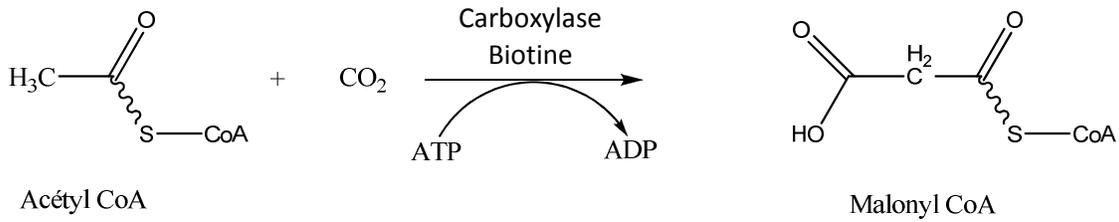
يليه تحول الناتج و المتمثل في $Ac.p\text{-coumaroyl-CoA}$ الذي يكون جاهزا للاتحاد مع $Malonyl\text{-CoA}$ الذي يكون في المرحلة القادمة.



المرحلة الثانية:

طريق الخلات:

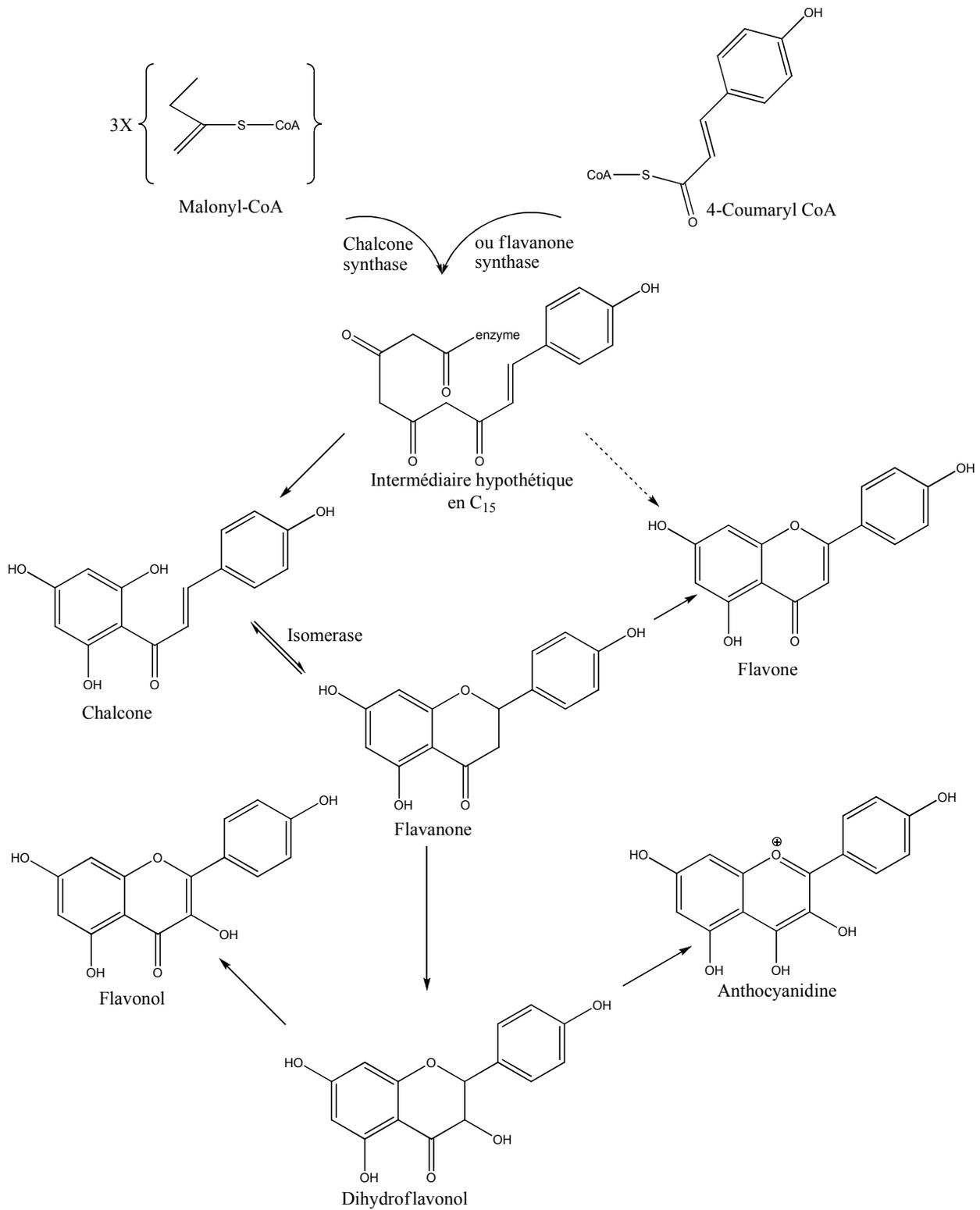
تتشكل الحلقة (A) من تكاثف ثلاث وحدات من $Malonyl\text{-CoA}$ الناتجة من تثبيت مجموعة كربوكسيل مع أستيل مرافق-أنزيم ($Acétyl\text{-CoA}$).



المرحلة الثالثة:

طريق الشالكون:

يعتبر الشالكون النواة الرئيسية التي تنحدر منها مختلف هياكل الفلافونويدات و الذي يكون من تكاثف ثلاث وحدات من $Malonyl\text{-CoA}$ مع 4-Coumaroyl-CoA و المخطط (2) يوضح ذلك [8].



مخطط 2 : بعض الهياكل الفلافونويدية التي تنحدر من الشالكون

4- تثبيت المجموعات الاستبدالية على الهيكل الفلافونيدي:

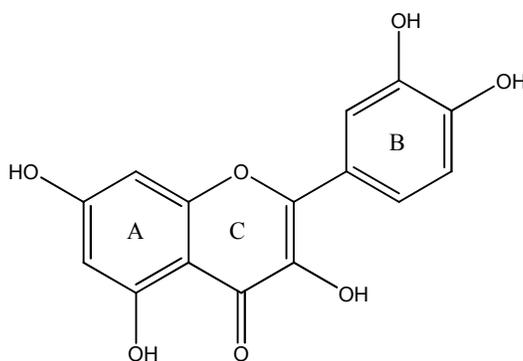
إن تثبيت مجموعة (-OH) أو (-OMe) أو جزيئات السكر بصورة عامة ستتم عند نهاية الاصطناع الحيوي للفلافونيدات، لأن عملية تثبيت هذه المجموعات تؤثر في بعض الفلافونيدات و لا تأثر في البعض الآخر [9].

4-1- تثبيت مجموعات الهيدروكسيل (L'hydroxylation):

الحلقة (A) عادة ما تكون مستبدلة بمجموعتي (-OH) في الموضعين 5 و 7 و التي تعتبر غالب الأحيان مجموعات أصلية (يتم تثبيتها قبل تكوين نواة الشالكون).

يمكن للحلقة (A) أن تكون أحادية الاستبدال أو على العكس بان تكون عديدة الاستبدال، في حين هيدروكسيلات الحلقة (B) في معظم الحالات تتموضع على ذرة C-4' و هو الهيدروكسيل الوحيد الذي يتم تثبيته قبل مرحلة الشالكون [10، 11].

أما إذا انتقلنا إلى الموضعين C-3 و C-3' فنلاحظ تثبيت مجموعة (-OH) في الوضع C-3 يتم في مرحلة تشكيل الشالكون، بينما يتم تثبيتها في الموضع C-3'، بعد غلق الحلقة المتباينة (C) أي بعد مرحلة الشالكون في حين هيدروكسيلات المواضع C-6' ، C-8 ، C-6 يتم تثبيتها بعد تكوين الفلافونيد [11].
مثال على ذلك:



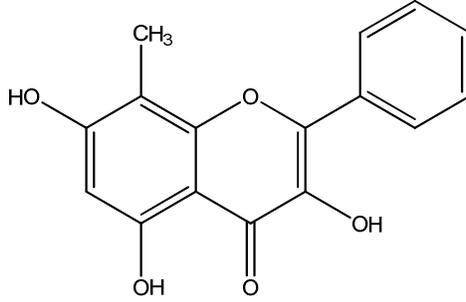
Quercétine

4-2- تثبيت مجموعات الميثيل (La méthylation):

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

الحالة الأولى: (C- methylation)

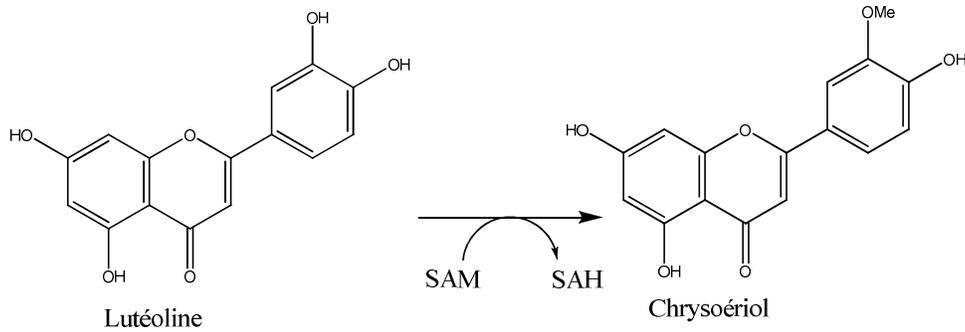
تكون الرابطة بين كربون الميثيل و كربون النواتين (A) و (أو) (C)، في هذه الحالة ارتباط جذر الميثيل بإحدى النواتين يتم في الموقع C-8, C-7, C-6 بالنسبة للنواة (A) أو في الموقع C-3 بالنسبة للنواة (C).



8-C-méthylgalangine

الحالة الثانية: (O-methylation)

هي مثيلية المجموعات الهيدروكسيلية التي تم تثبيتها من قبل (O-methylation) وهذا في وجود أنزيم (O-methyltransférase) كمانح للمثيل [12] و الشكل التالي يبين ذلك :



SAM : S – adénosyl méthionine

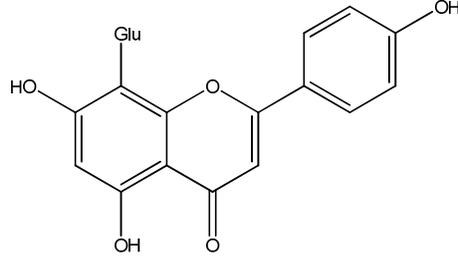
SAH : S – adénosyl homocysteine

3-4- تثبيت السكريات:

توجد المركبات الفلافونيدات على هيئة جليكوزيدات، أي أن بناءها يحتوي على وحدات سكرية أحادية أو ثنائية كما يمكن أن يدخل في البناء أكثر من مستبدل سكري . هناك حالتين لتثبيت جزيئات السكر على ركيزة الاجليكون :

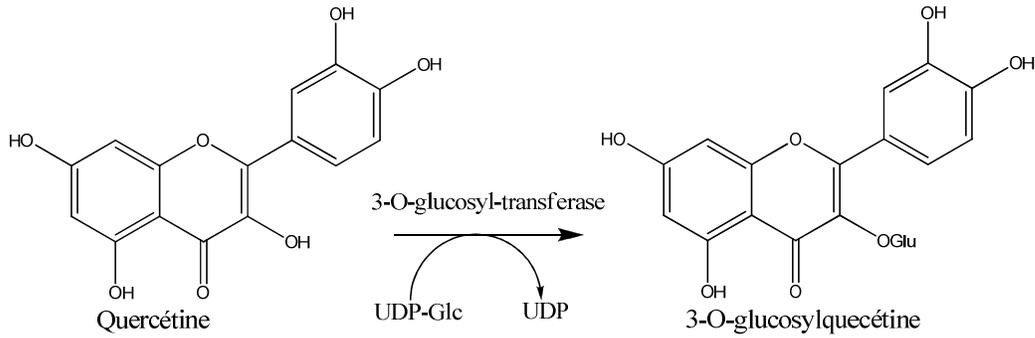
1- الرابطة تكون بين كربون جزيئه السكر و كربون الاجليكون أي من نوع (C-glycoside) حيث تكون جد مقاومة للأحماض [13].

هذا النوع من الروابط يلاحظ خاصة في الأوضاع C-6 و (أو) C-8 وغالبا ما تكون عبارة عن فلافون و يتم تشكيلها بعد تكوين الشالكون مباشرة. [14،15]



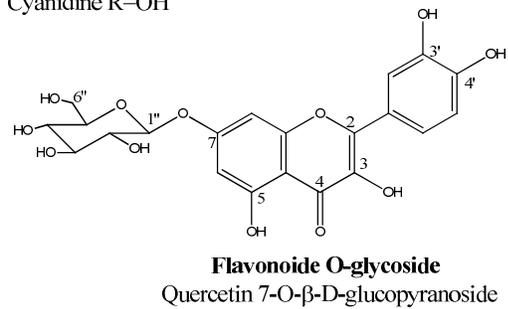
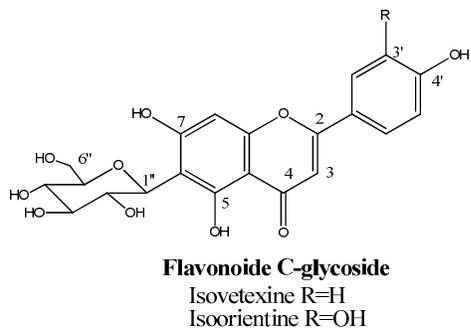
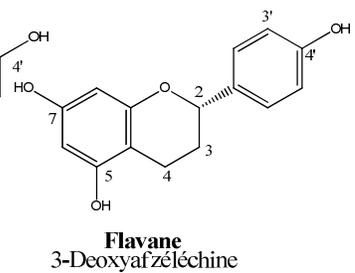
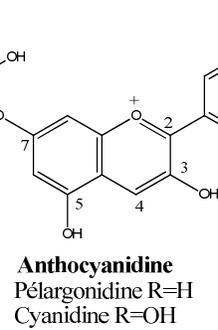
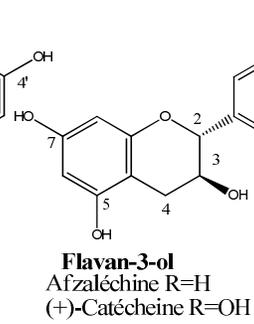
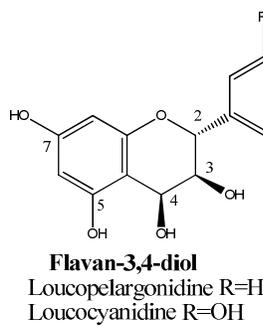
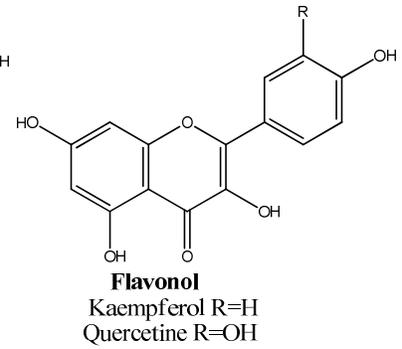
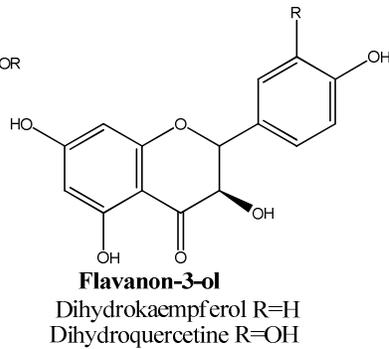
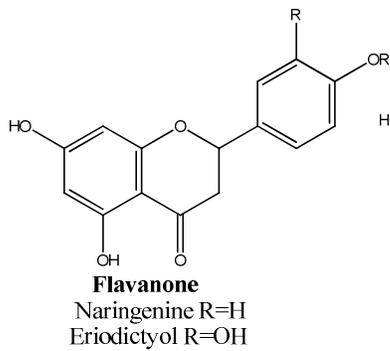
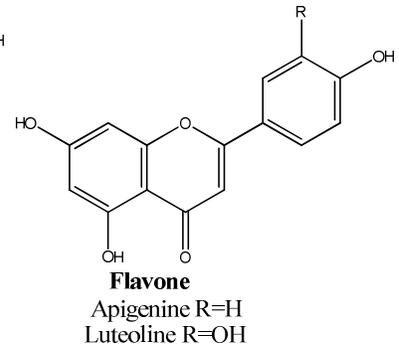
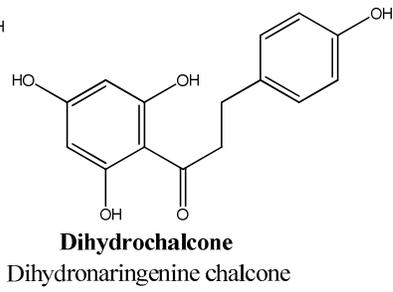
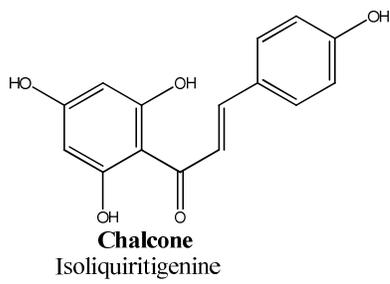
Vitexine

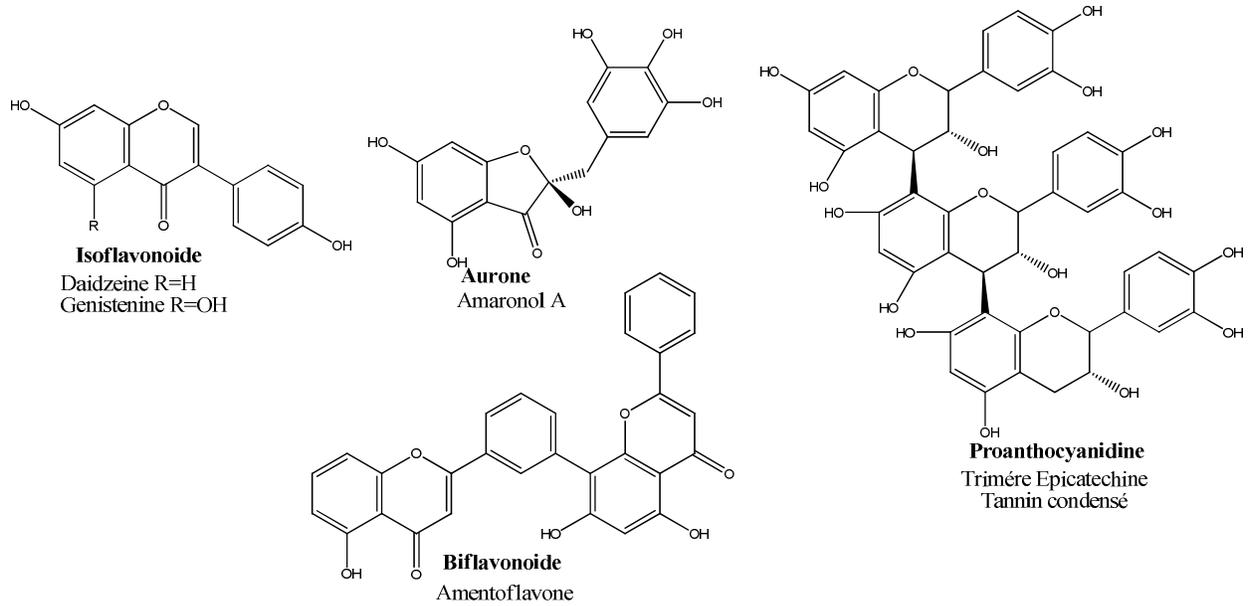
2- ترتبط وحدة السكر بذرة أكسجين مجموعة الهيدروكسيل مباشرة أي من نوع (O-heterosidique) و عادة يكون هيدروكسيل الموضع C-7 للفلافونات و هيدروكسيل الموضع C-3 للفلافونولات و يتم تثبيت السكر في وجود إنزيم "O-glucosyl-transférase" و مانح للسكر مثل :
"UDP-glu" (Uridine diphosphate glucose) [9] والشكل التالي يوضح ذلك:



5- أقسام الفلافونيدات

نستطيع أن نقسم الفلافونويدات انطلاقاً من الاصطناع الحيوي لها، فبعضها يعتبر وسائط ومركبات نهائية في الاصطناع الحيوي مثل الشالكونات، الفلافانو-3-أول و فلافان-3,4-ديول. بعضها الآخر تعرف فقط بالمركبات النهائية في الاصطناع الحيوي كأنثوسيانينات، الفلافانونات و الفلافونولات. معظم الفلافونويدات ملخصة في الهياكل التالية: [5]





مخطط 3 : أقسام الفلافونويدات

6- طرق دراسة المركبات الفلافونيدية:

1-6 طرق استخلاص، فصل و تنقية المركبات الفلافونيدية

1-1-6 الاستخلاص:

قبل الشروع في عملية الاستخلاص لابد من تجهيز النبتة المراد دراستها و ذلك بـ:

1- تجفيفها في الظل و بعيدا عن الرطوبة.

2- تنقيتها من الشوائب و فرز أجزائها.

3- طحنها.

قد تستعمل جميع أجزاء النبتة، كما قد يؤخذ كل جزء لوحده (الجزء الهوائي، الجذور، الثمار و الأزهار).
بعد تجفيف و طحن النبتة المراد دراستها، تعامل بمذيب مناسب للاستخلاص، و أكثر المذيبات استخداما بهذا الصدد هو الكحول و الماء بالنسب التالية (3/7) أو (2/8) في حالة المادة النباتية الجافة و الكحول لوحده في حالة المادة النباتية الغضة (الخضراء)، و أغلب الكحولات المستعملة هي الميثانول أو الايثانول.

تتم عملية الاستخلاص على مراحل :

1- نأخذ النبتة المطحونة و نزنها ثم نغمرها بالمحلول الهيدروكحول، على البارد و نتركها لمدة لا تقل على 24 ساعة، بعدها نرشح و نركز الراشح، تكرر العملية 3 مرات أو أكثر و في كل عملية نرشح و نركز الراشح و ذلك بتبخير أكبر كمية ممكنة من المحلول الهيدروكحولي أين نتحصل على المستخلص الخام.

2- يعالج المستخلص الخام بالماء المقطر المغلي ثم يترك ليلة كاملة بعدها يرشح المحلول.

3- تعامل الرشاحة المتحصل عليها بالايثر ثم ثنائي كلور الميثان و هو الاستخلاص من نوع سائل-سائل و هذا قصد التخلص من المركبات الطبيعية ذات القطبية الضعيفة المتبقية و نذكر منها (الكلوروفيل، الدهون و التربينات)، كما أن هذه الرشاحة لا تهمل لأنها قد تحتوي على بعض الفلافونيدات الغير قطبية (اجليكونات ميثوكسيلية) [17،16].

أما الطور المائي فيعامل بواسطة خلات الايثيل لنتحصل على طور الخلات ثم بواسطة البيتانول العادي لنتحصل على طور البيتانول.

عند الانتهاء من عملية الاستخلاص نركز الأطوار المتحصل عليها حتى الجفاف و يتم هذا تحت ضغط منخفض، و تكون بذلك المستخلصات جاهزة لعمليات الفصل المختلفة. عموما تتوزع الفلافونيدات الاغليكونية في طور CH_3Cl و $AcOEt$ و احادية السكر في طور $AcOEt$ بينما يكون الطور $n-BuOH$ غني خاصة بالفلافونيدات السكرية. و يمكن تمثيل هذه المراحل في المخطط 4 التالي:

المادة النباتية جافة و مطحونة

1- إستخلاص بواسطة (7/3) MeOH/ H₂O
2- تبخير المستخلص الهيدروكحولي.

المستخلص الخام

1- معالجته بالماء المقطر المغلي.
2- ترشيحه بعد ليلة كاملة من الراحة

الطور المائي

إستخلاص بواسطة إيثر البترول

الطور المائي

مستخلص الإيثر البترول

إستخلاص بواسطة الكلوروفورم (CHCl₃)

الطور المائي

مستخلص الكلوروفورم

إستخلاص بواسطة اسيتات الاثيل (AcOEt)

الطور المائي

مستخلص الاسيتات (Ac-OEt)

إستخلاص بواسطة البيتانول (n-BuOH)

الطور المائي

مستخلص البيتانول (n-BuOH)

مخطط 4 : مخطط عام لإستخلاص الفلافونيدات

6-1-2- الفصل:

التقنية المستعملة في الفصل هي الكروماتوغرافيا بمختلف أقسامها، حيث تستخدم كلمة الكروماتوغرافيا للإشارة إلى تقنيات الفصل المختلفة، تعتمد جميعها على توزيع المادة المراد دراستها بين طورين أحدهما ثابت و الآخر متحرك، و الطور الثابت قد يكون جامدا أو سائلا محملا على دعامة جامدة، أما الطور المتحرك فعادة ما يكون سائلا عضويا [18].

تنقسم تقنيات الفصل الكروماتوغرافي إلى أربعة أنواع رئيسية:

أ- كروماتوغرافيا العمود (CC) .

ب- كروماتوغرافيا الورق (CP).

ج- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).

د- كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC).

أ- كروماتوغرافيا العمود (CC):

تعتبر أكثر الطرق استعمالا في المخبر لفصل المركبات و الهدف منها الحصول على تنقية أولية حيث تستخدم لفصل الكميات الكبيرة و الأكثر تعقيدا. حيث يستخدم السيليكاجال لفصل الفلافونيدات الأقل قطبية، أما السليليوز فقد أثبت فعاليته في فصل الفلافونيدات الغليكوزيدية عن تلك المجردة من السكر، غير أن متعدد الأמיד لقي تطبيقا واسع النطاق في فصل الفلافونيدات الغليكوزيدية بعضها عن بعض. و يمكن تلخيص هذه التقنية فيما يلي:

يؤخذ العمود الذي تختلف أبعاده باختلاف كمية المستخلص و يثبت بواسطة حامل و يوضع القطن في الأسفل و يعبأ بالطور الثابت المشبع بالمذيب الأقل قطبية و يوضع القليل من الرمل الخاص (de fontainebleau sable) حوالي 1 سم و هذا لتسوية السطح جيدا.

ثم نقوم بوضع المستخلص و هناك طريقتان أساسيتان لوضع المستخلص في العمود:

1- على شكل مسحوق: أين يتم تدوير المستخلص في أقل كمية من الميثانول، نضيف كمية من مسحوق البولي أميد (SC₆) و نركز هذا الخليط حتى الحصول على مسحوق جاف، نقوم بسحبه جيدا ثم يضاف إلى العمود الكروماتوغرافي، مع الحرص دائما على أن تكون طبقة المستخلص قليلة السمك.

2- على شكل سائل: يذاب المستخلص في أقل كمية ممكنة من الميثانول، و بواسطة ماصة باستور يتم وضعه على سطح الرمل مع الحرص على عدم إتلافه. بعد ذلك يضاف المصلص الذي يكون في البداية مذيب أقل قطبية ثم ترفع قطبيته بإضافة مذيب قطبي تدريجيا إلى غاية الوصول إلى قطبية عالية.

ب- كروماتوغرافيا الورق (CP) :

تعتبر هذه التقنية من أقدم الطرق و في نفس الوقت من التقنيات كثيرة التداول في المخابر، خاصة في تحليل الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي. و هي تعد من أحسن التقنيات الكروماتوغرافية لفصل المركبات الفلافونيدية (خاصة القطبية منها مثل الفلافونيدات السكرية) [19].

يستعمل في هذا النوع من الفصل ورق واتمان (Whatman) رقم 1 أو 3، حيث يوضع الخليط بواسطة ماصة على كامل عرض الورقة على مسافة قصيرة من الحافة العلوية مع ترك هامش صغير (2 سم)، بعد أن يجف يغمس الورق في المملص أين تبدأ الحزم بالهبوط تسلسليا، بعد جفاف الكروماتوغرام و بالاستعانة بمصباح (UV) يتم تحديد الحزم التي تقص إلى قطع صغيرة و تغمس في الميثانول، أين ترشح و تركز ثم تفحص بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، و هذا للتأكد من نقاوة الحزم.

الأنظمة المستعملة في هذه الطريقة:

BAW: n-BuOH / AcOH / H₂O (4/1/5)

TBA: t-BuOH / AcOH / H₂O (3/1/3)

Forestal: AcOH / H₂O / HCl (30/10/3)

AcOH / H₂O (10/25/90/75)

ج- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM):

نستعمل في هذه التقنية شرائح الزجاج أو البلاستيك أو الألمنيوم (20x20)، يوضع المركب على طول الشريحة على بعد 1.5 من البداية، بواسطة ماصة شعرية، نتركها تجف ثم توضع في أحواض تحتوي على مملص، بعد انتهاء هجرة هذا الأخير تجفف الصفائح و يتم تحديد الحزم المفصولة بواسطة مصباح (UV)، بعدها نقوم بكشط الحزم كل واحدة على حدى، نقوم بغسلها بالميثانول ثم نرشحها و نركزها بعدها نقوم بعملية الفحص المتعدد للتأكد من نقاوته. و الأنظمة المستعملة كمملصات هي:

بالنسبة لمتعدد الأמיד:

H₂O / MeOH / Acétylacétone / MEC : (13 / 3 / 3 / 1)

Toluène / MEC / MeOH: (4 / 3 / 3)

MeOH / H₂O / AcOH: (18 / 1 / 1)

بالنسبة للسيليكاجال: (الجدول 1)

الجدول-1:- بعض الأنظمة المستعملة كمملصات بالنسبة للسيليكاجال

نوع الفلافونويد	المملص
Flavonoides aglycones	EtOAc-i-PrOH-H ₂ O, 100:17:13 EtOAc-CHCl ₃ , 60:40 CHCl ₃ -MeOH, 96:4 Toluène-CHCl ₃ -MeCOMe, 8:5:7 Toluène-HCOOEt-HCOOH, 5:4:1 Toluène-EtOAc-HCOOH, 10:4:1, 58:33:9 Toluène-EtCOMe-HCOOH, 18:5:1 Toluène-dioxane-AcHO, 90:25:4
Flavonoides glycosides	n-BuOH-AcHO-H ₂ O, 65:15:25, 3:1:1 AcOEt-MeOH-H ₂ O, 50:3:10 AcOEt-MeOH-HCOOH-H ₂ O, 50:2:3:6 AcOEt-EtOH-HCOOH-H ₂ O, 100:11:11:26 AcOEt-HCOOH-H ₂ O, 9:1:1, 6:1:1 et 50:4:10 AcOEt-HCOOH-AcHO-H ₂ O, 100:11:11:26 25:2:2:4 THF-Toluène-HCOOH-H ₂ O, 16:8:2:1 CHCl ₃ -MeCOMe-HCOOH, 50:33:17 CHCl ₃ -AcOEt-MeCOMe, 5:1:4 CHCl ₃ -MeOH-H ₂ O, 65:45:12, 40:10:1 MeCOMe-butanone-HCOOH, 10:7:1 MeOH-butanone-H ₂ O, 8:1:1
Flavonoides glucuronides	AcOEt-Et ₂ O-dioxane-HCOOH-H ₂ O, 30:50:15:3:2 AcOEt-EtCOMe-HCOOH-H ₂ O, 60:35:3:2
Flavanone aglycones	CH ₂ Cl ₂ -AcHO-H ₂ O, 2:1:1
Flavanone glycosides	CHCl ₃ -AcHO, 100:4 CHCl ₃ -MeOH-AcHO, 90:5:5 n-BuOH-AcHO-H ₂ O, 4:1:5 (la couche supérieure)
Chalcones	AcOEt-hexane, 1:1
Isoflavones	CHCl ₃ -MeOH, 92:8, 3:1
Isoflavone glycosides	n-BuOH-AcHO-H ₂ O, 4:1:5 (couche supérieure)
Dihydroflavonoles	CHCl ₃ -MeOH-AcHO, 7:1:1
Biflavonoides	CHCl ₃ -MeCOMe-HCOOH, 75:16.5:8.5 Toluène-HCOOEt-HCOOH, 5:4:1

Anthocyanidines et anthocyanines	AcOEt –HCOOH–2 M HCl, 85:6:9 n-BuOH–AcHO–H ₂ O, 4:1:2 AcOEt Me–HCOOEt–HCOOH–H ₂ O, 4:3:1:2 AcOEt –butanone–HCOOH–H ₂ O, 6:3:1:1
Proanthocyanidines	EtOAc–MeOH–H ₂ O, 79:11:10 EtOAc–HCOOH–AcHO–H ₂ O, 30:1.2:0.8:8

د- كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء (HPLC):

كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء هي طريقة من بين الطرق المستعملة في التحليل الكروماتوغرافي التجزئي الذي يتطلب استخدام ضغوط عالية لدفع المذيب خلال عمود رفيع، و يتميز هذا الأسلوب بقدر كبير من الفصل كما يستخدم في عمليات تجزئة وفصل الخلائط المعقدة. هذه الطريقة تعتمد في فصل المركبات على جاذبيتها بالنسبة إلى الطور الثابت أو الطور المتحرك على حسب قطبيته.

أهم المذيبات المستعملة هي: الماء / الاسيتونيتريل / حمض الخل: بانسب (40/100/900) و (40/800/200) و الماء / حمض الخل: (2/100).

يجر المملص معه المركبات في العمود بصفة انتقائية فتتزل المركبات ثنائية السكر ثم تليها أحادية السكر و في الأخير عديمة السكر. إذن كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء تعطي معلومات بنيوية [20].

و بالنسبة للأجليكونات التي تحتوي على الأكسجين في الحلقة (B) فيملص المركب الذي يحتوي على ثلاث مجموعات هيدروكسيل في الحلقة (B) قبل المركب الذي يحتوي على مجموعتي هيدروكسيل و هذا الأخير قبل الذي يحتوي على هيدروكسيل واحد دائما في الحلقة (B) [21].

3-1-6- التنقية:

من أجل الحصول على مركبات نقية بعد عملية الفصل، نقوم بعملية تنقية لهذه المركبات و ذلك باستعمال:

1- عمود صغير من متعدد الاميد (SC₆).

2- عمود صغير من السيفاداكس (LH-20 Sephadex).

7- الدراسة البنيوية لمركبات الفلافونيدات

1-7- معامل الانحباس R_f:

نلجأ في غالب الأحيان إلى المعامل (R_f) لتقريب البنية الجزيئية المحتملة، و هذا لوجود علاقة بين (R_f) و طبيعة المركب، حيث أن قيمته تتأثر بالمستبدلات و مواقعها على الجزيئ [22].

يعرف ثابت الانحباس (R_f) بأنه النسبة بين المسافة المقطوعة من طرف المركب انطلاقاً من نقطة البداية و المسافة المقطوعة من طرف المملص أو المذيب من نفس النقطة و هو يعطى بالعلاقة التالية:

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

فانطلاقاً من قيم (R_f) يمكننا التمييز بين الجليكوزيدات و الاجليكون من جهة و من جهة أخرى بين الجليكوزيدات الأحادية، ثنائية السكر أو متعددة السكر. كذلك يمكن التمييز بين الاجليكونات البسيطة، متعددة الهيدروكسيل أو متعددة الميثوكسيل. كما هو موضح في الجدول 2 : [24،23].

الجدول 2 : يوضح العلاقة بين البنية الفلافونيدية و عامل الانحباس (R_f)

R_f	البنية الفلافونيدية
نقصان قيمة R_f في الأنظمة العضوية	الزيادة في عدد (HO-) (استبدال)
R_f يزيد في الأنظمة المائية، R_f ينقص في الأنظمة العضوية	الجليكوزيدات
زيادة في قيمة R_f في الأنظمة العضوية (و الأنظمة المائية)	استبدال (HO-) بمجموعة (CH ₃ O-)
R_f ينقص في الأنظمة العضوية	مثيلة هيدروكسيل الموضع C-5

2-7- اللون الإشعاعي:

إن كل المركبات الفلافونيدية ترى تحت الأشعة فوق البنفسجية ذات طول الموجي (254-365 نم)، و هي أول المعطيات التي تقودنا إلى تحديد الصيغة البنوية التقريبية.

توجد هناك علاقة بين اللون الإشعاعي للمركبات و طبيعتها و كذا طبيعة مستبدلاتها، و الجدول 3 يوضح ذلك [25،19].

الجدول 3 : يوضح العلاقة بين لون المركب تحت (UV) و بنيته الكيميائية

لون المركب تحت الأشعة (UV)	التراكيب البنوية المحتملة
بنفسجي مسود	- فلافون، فلافون مع (5-OH). - فلافون مستبدل في الموضع 3. - 7,6,5 أو 8,7,5 ثلاثي هيدروكسي فلافون.
أزرق (بنفسجي، نيلي)	- فلافون أو فلافون بدون (5-OH). - فلافونول مستبدل في 3 وبدون (5-OH).
أصفر أو أصفر باهت	- فلافونول غير مستبدل مع أو بدون (5-OH)
برتقالي لامع	- إيزوفلافون.

- أوران.	أصفر مخضر
- بعض الشالكونات.	أخضر

3-7- طرق التحليل الطيفي:

1-3-7 مطيافية الأشعة فوق البنفسجية:

من أهم الوسائل المستعملة للتعرف على البنية الكيميائية للفلافونيدات هي مطيافية الأشعة فوق البنفسجية، وهي من أهم الوسائل المستعملة و هذا لسهولة تحقيقها، كما أنها لا تتطلب كمية كبيرة من المركب، و تعطي بالمقابل معلومات قيمة عن بنيته الكيميائية و مواقع المستبدلات على الأنوية الفلافونيدية. و قد نشرت أبحاث كثير بهذا الصدد [2،12،26-28].

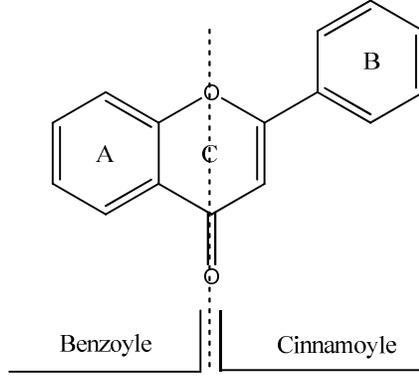
مبدأ هذه التقنية يتركز على أنه لكل مركب فلافونيدي طيف امتصاص خاص به في وسط كحولي ويتغير هذا الأخير بإضافة كواشف معروفة سواء كانت قواعد قوية أو أحماض [12]. فإضافة كواشف مختلفة مثل (H_3BO_3 و $AlCl_3$)، إلى الوسط الميثانولي للمركب الفلافونيدي يعطي ألوانا مميزة مع هذه الكواشف، و هذه الألوان تكون نتيجة تكوين معقدات مع هذه الكواشف، و يمكن ملاحظة إزاحة حزم الامتصاص التي تعطي دلالات جيدة عن نوع المجموعات و مكان ارتباطها.

1-1-3-7 طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي :

إن لكل مركب فلافونيدي طيف امتصاص مميز في وسط الميثانول، حيث أن طيف الامتصاص في الميثانول لـ (فلافون و فلافانول) يعطي عصابتين أساسيتين:

العصابة الأولى: تقع بين (300-400 نم) و تعود إلى امتصاص الشكل (cinnamoyl) و ذلك نتيجة للرنين الناتج عن ترافق مجموعة كربونيل C-4 مع الحلقة البنزينية (B).

العصابة الثانية: تقع بين (250-280 نم) و تعود إلى امتصاص الشكل (benzoyl) للمركب و ذلك نتيجة للرنين الناتج عن ترافق مجموعة كربونيل C-4 مع الحلقة البنزينية (A)، كما هو موضح في الشكل التالي:



ترافق مجموعة الكربونيل مع كل من الحلقتين A و B

إن الموقع الدقيق و شدة العصابتين I و II للطيف المنجز في الميثانول يعتمد على عدد و مواقع مجموعات الهيدروكسيل البديلة، مما يسمح لنا بالكشف عن طبيعة المركب الفلافونيدي و كيفية استبداله و هذا حسب الجدول 4 إضافة مجموعة هيدروكسيل حر يصاحبه عموما انزياح باثوكرمومي و يكون هذا واضحا بالمقارنة بين الفلافون و الفلافانول في الحزمة أو العصابة I، أما استبدال مجموعة الهيدروكسيل بمجموعة ميتوكسيل في الموضع C-3، C-5، C-7 و C-4 أو استبدال مجموعة هيدروكسيل بوحدات سكر ، يصاحب انزياح هيبسوكرومي نسبيا.

الجدول 4 : أهم الانزياحات الملاحظة للعصابتين I و II في الوسط الميثانولي [19]

نوع الفلافونيد	العصابة I	العصابة II
فلافون	350-310	280-250
فلافونول OH-3 مستبدل	360-330	280-250
فلافونول OH-3 حر	385-350	280-250
ايزوفلافون	330-310 نتوء قمة في	275-245
ايزوفلافون (5-deoxy-6, 7-dioxygénés)	320	
فلافانول و ديهيدروفلافانول	330-300 نتوء	295-275
شالكون	390-340	270-230 شدة منخفضة
اورون	430-380	270-230 شدة منخفضة
انتوسيانيدين و انتوسيانين	560-456	280-270

7-3-1-2- الامتصاص في وجود الكواشف:

- الامتصاص في وجود NaOH أو NaOMe:

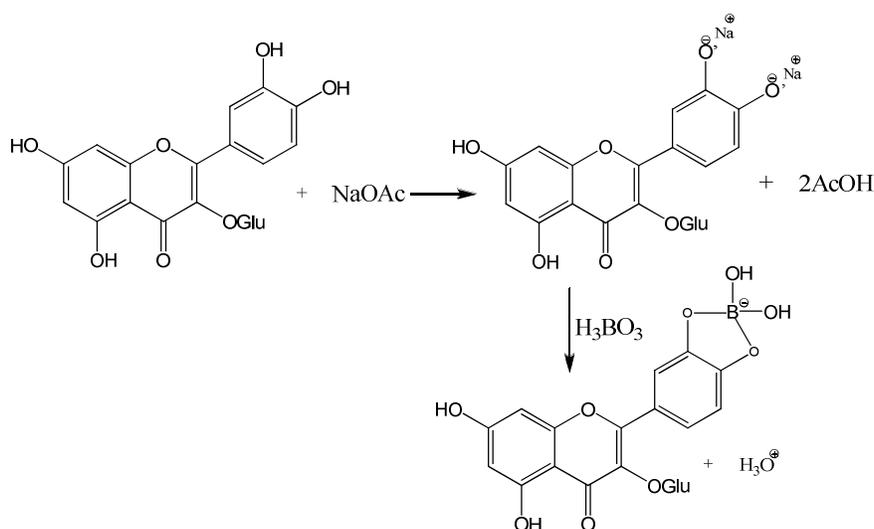
هيدروكسيد الصوديوم قاعدة قوية جدا فهي تأين جميع هيدروكسيلات الفلافونيد، و إضافتها لـ (المركب + ميثانول) ينتج عنها ازاحة باثوكرومية، و تأثيرها يظهر خاصة على العصابة I.

- طيف الامتصاص في وجود NaOAc :

خلات الصوديوم أساس ضعيف بالمقارنة مع هيدروكسيد الصوديوم، وعلى هذا فهي تأين مجموعات الهيدروكسيل الأكثر حمضية فقط الموجودة في الموقع C-7، C-3، و C-4 [29]. و بصورة خاصة يعتبر NaOAc كاشف نوعي لهيدروكسيل موضع C-7، إذ أن حدوث إزاحة باثوكرومية (+5 إلى +20) للعصابة II، يشير إلى وجود (OH) حر في الموضع C-7.

- طيف الامتصاص في وجود اسيتات الصوديوم و حمض البوريك (H₃BO₃ + NaOAc):

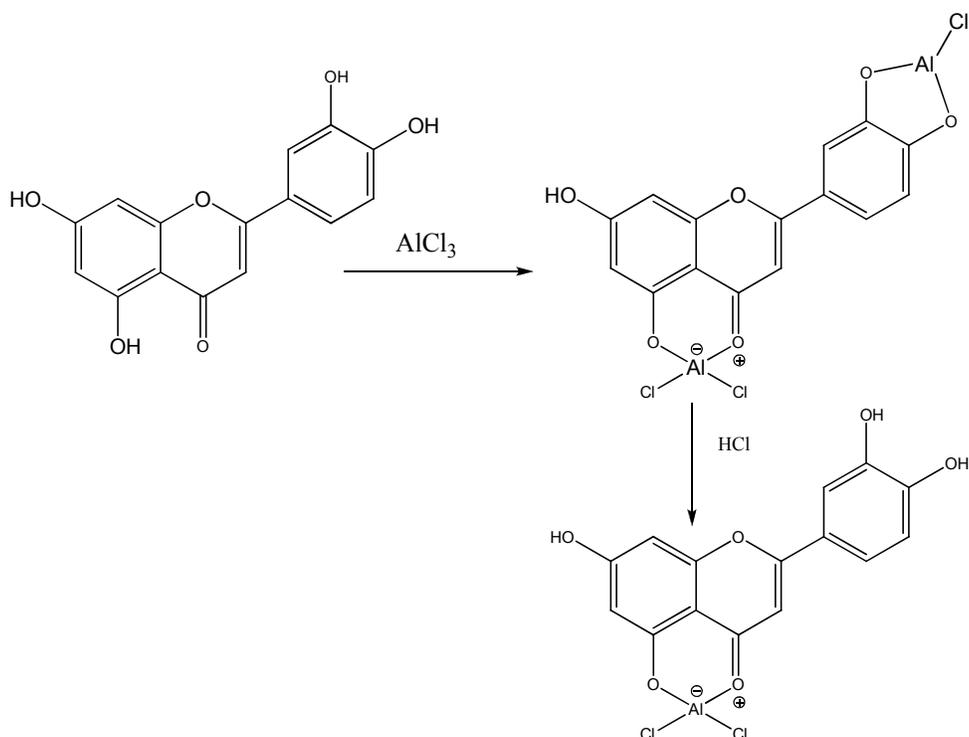
يستعمل هذا المحلول للكشف عن أرثو ثنائي الهيدروكسيل، إذ أنه في وجود مجموعة أورثو ثنائي هيدروكسيل باستثناء الموضع C5-C6 [30،31]، تتشكل معقدات مذبذبة و الشكل التالي يوضح ذلك:



مخطط 5 : المعقد المتشكل بين الفلافونيد و (H₃BO₃ + NaOAc)

- طيف الامتصاص في وجود AlCl₃ و (AlCl₃ + HCl):

كلوريد الألمنيوم (AlCl₃) يكون معقدات ثابتة مع كربونيل الموضع C-4 و هيدروكسيل الموضع C-3 أو C-5، و يفسر هذا التأثير بانزياح باثوكرومي للعصابة I، و تبقى هذه المعقدات ثابتة بعد إضافة حمض HCl. كما يشكل نفس الكاشف (AlCl₃) مع مجموعة أورثو ثنائي هيدروكسيل معقدات تكون غير ثابتة بعد إضافة حمض HCl [2] و الشكل التالي يوضح هذه المعقدات:



مخطط 6 : المعقدات الثابتة وغير الثابتة بين الفلافونيد و AlCl₃ قبل وبعد إضافة HCl

يوضح الجدول 5 مختلف التأثيرات المحتملة على طيف UV و تفسيراتها قبل وبعد إضافة الكواشف [34-31].

الجدول 5 : يوضح مختلف التأثيرات المحتملة على طيف UV و تفسيراتها قبل وبعد إضافة الكواشف

التعليل	الإزاحة الملاحظة (نم)		الكاشف
	العصابة (I)	العصابة (II)	
فلافون	350-310	280-250	MeOH
فلافونول (3-OR)	360-330	280-250	
فلافونول (3-OH)	385-350	280-250	
3,4'-OH أو أورثو ثنائي OH على الحلقة A أو ثلاثة OH متجاورة على الحلقة B	استمرار تناقص شدة الامتصاص بمرور الزمن (تفكك الطيف)		NaOMe (NaOH)
4'-OH	45+ إلى 60 دون نقصان في شدة الامتصاص		
3-OH, 4'-OR	45+ إلى 60 مع نقصان في شدة الامتصاص		
7-OH	عصابة جديدة بين 335-320		

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	5 + إلى 20 + إزاحة صغيرة طيف يتفكك بمرور الوقت	$\Delta\lambda(I) < \Delta\lambda(I)$ NaOAc / NaOMe	NaOAc
ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A (6,7- 7,8)		12+ إلى 36 +	NaOAc+H ₃ BO ₃
ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A (إضافة إلى ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B)		30+ إلى 40+ مقارنة بطيف (AlCl ₃ +HCl) 20+ إلى 25+ مقارنة بطيف (AlCl ₃ +HCl)	AlCl ₃
5-OH مع وجود مجموعة أكسجينية في C6 5-OH مع عدم وجود مجموعة أكسجينية في C6 3-OH أو 3-OH و 5-OH إمكانية 5-OH و مجموعة برينيل في C6		17+ إلى 20+ 35+ إلى 55+ 50+ إلى 60+ بدون تغيير	AlCl ₃ +HCl

7-3-2- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي: $RMN^{13}C$ و RMN^1H :

تستعمل هذه التقنية في التحليل الكيفي للفلافونيدات و من خلالها نتعرف على :

- 1- درجة تأكسد الحلقات (A)، (B) و (C)
- 2- عدد السكريات الموجودة في المركب و نوع الرابطة α أو β بين السكر و الأجليكون.
- 3- عدد و مواقع مجموعات الميتوكسيل على الهيكل الفلافونيدي [35,34].
فمثلا البروتونات المجاورة لمجموعة هيدروكسيلية أو ميتوكسيلية تظهر بإزاحة كيميائية تتراوح بين (6.6-
7.1 ppm)، بينما يظهر البروتون المحاط بمجموعتي هيدروكسيل أو ميتوكسيل عند حوالي (6.1 ppm).
أما إذا وجدت مجموعة أكسجينية على الموضع رقم C-6، و كان الموضع رقم C-5 غير مستبدل فإن
بروتون هذا الموضع يظهر عند قيمة (7.4 ppm) تقريبا و ليس ضمن المجال (6.6 - 7.1 ppm).

• و يتم الحصول على طيف RMN^1H باستعمال مذيبات مختلفة مثل $CDCl_3$ الذي يعطي نتائج جيدة مع الفلافونيدات غير القطبية ومذيب CD_3OD و $DMSO-d_6$ الذي يعطي نتائج جيدة مع معظم الغليكوزيدات و الأجليكونات [9].

• تقاس قيم الانزياح الكيميائي (δ) بالنسبة لقيمة الانزياح الكيميائي لـ TMS الذي يؤخذ اصطلاحا مساويا للصفر $\delta(TMS) = 0$.

الجدولان (7,6) يبينان بعض الانزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة (A) و (B) [36]:

الجدول 6 : الانزياح الكيميائي وثابت التزاوج لبروتونات الحلقة A

(H-8)	(H-6)	(H-5)	بروتونات الحلقة A طبيعية الفلافونويد
δ (ppm); (m) ; J(Hz)	δ (ppm); (m) ; J (Hz)	δ (ppm); (m) ; J (Hz)	
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-O-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 7 : الانزياح الكيميائي وثابت التزاوج لبروتونات الحلقة B

(H-3' / H-5')	(H-2' / H-6')	بروتونات الحلقة B طبيعية الفلافونويد
δ (ppm); m ; J (Hz)	δ (ppm); m ; J (Hz)	
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)

بالنسبة لبروتون الحلقة (C) في الفلافون فهو يعطي إشارة أحادية في المنطقة (6.2-6.4 ppm) و بالتالي تتداخل مع إشارة بروتوني الحلقة (A) (H-6) أو (H-8) في حالة 5,7,8-OH (أو 5,6,7-OH). أما بروتونات الميثوكسيل فتظهر في المجال (3.5-4.1 ppm).

كما يمكن التعرف على نوع السكر من خلال بروتونه الأنوميري، ذو إنزياح كيميائي يعتمد أساسا على طبيعة الفلافونيد و موقع و نوع الرابطة بين السكر و الأغليكون، و الجدول (8) يعطي قيم الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1 لبعض الفلافونيدات أحادية السكر.

الجدول 8 : قيم الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1 لبعض الفلافونيدات أحادية السكر [37]

طبيعة السكر	$\delta(\text{ppm}) \text{H-1}''$
3-O- β -D-Glucoside	5,25 – 5,56
3-O- β -D- Galactoside	5,6
3-O- β -D- Glucuronide	5,48
3-O- β -D-Xyloside	5,37
3-O- β -D-Alloside	5,67 – 5,68
3-O- α -L- Glucoside	5,63
3-O- α -L-Rhamnoside	5,31
5-O- β -D- Glucoside	4,56 – 4,79
7-O- β -D- Glucoside	4,95
7-O- β -D- Glucuronide	5,10 – 5,30
7-O- α -L-Rhamnoside	5,22 – 5,75
7-O- β -D-Xycoside	4,98
8-O- β -D- Glucoside	4,65
8-O- β -D- Glucuronide	4,82
2'-O- β -D- Glucuronide	5,00 – 5,11
3'-O- β -D- Glucoside	4,92 – 5,00
3'-O- α -L-Rhamnoside	5,37 – 5,43
4'-O- β -D- Glucoside	4,8 – 5,04
4'-O- β -D-Galactoside	5,00
3'-5'-O-Di-O- β -D- Glycoside	5,24
6-C- β -D- Glucoside	4,58 – 4,90
6-C- β -D- Rhamnoside	4,85 – 5,26
6-C- α -L-Arabinoside	4,67
8-C- β -D- Glucoside	4,64 – 4,88
6,8-di-C- β -D- Glucoside	4,84
8-C- β -D- Rhamnoside	4,64 – 4,88
8-C- α -L- Arabinoside	4,75 – 4,89

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 Hz) ناتج عن تزاوج ثنائي محوري مع "H-2 كما يمتاز الراموز برابطة قد تكون α بإشارة ثنائية لـ "H-1 بثابت تزاوج

(J = 2 Hz) نتيجة الإقتران إستوائي-إستوائي. كما يمكن التعرف على سكر الراموز بظهور إشارة ثنائية لميثيل السكر بثابت تزاوج (J = 6 Hz) في المجال (ppm 1.2-0.8) [2]. 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 ou 3-O-rutinosides) في المجال (4.2-4.4 ppm) بثابت تزاوج (J=2 Hz) مع إشارة ميثيل الراموز في المنطقة (1 - 0.7 ppm)، في حين تظهر إشارة (7 ou 3-O-neohesperidine) في المجال (4.9-5 ppm) بثابت تزاوج (J = 2 Hz) مع ظهور إشارة ميثيل الراموز في المنطقة (1.1-1.3) و الجدول 9 يعطي قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأنوميرية "H1 ، "H-1 لبعض من الغليكوزيدات ثنائية السكر [35]:

الجدول 9 : قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأنوميرية "H-1 ، "H-1 لبعض الغليكوزيدات ثنائية السكر في DMSO-d6

السكر الأول	δ (ppm) H-1"	السكر النهائي	δ (ppm)H-1"
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- Galactoside	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

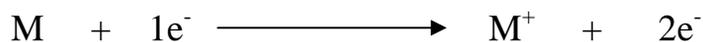
7-3-3- مطيافية الكتلة:

مطيافية الكتلة هي طريقة فيزيائية تستعمل للتعرف على البنية الكيميائية لمركب ما، فهي تسمح بمعرفة الوزن الجزيئي كما أنها تسمح بتحديد الأيون الجزيئي و الشظايا التي تعطي عموماً عدد و طبيعة المستبدلات

الهيدروكسيلية أو الميتوكسيلية [38]، و هذه التقنية لا تتطلب كمية كبيرة من المركب المراد دراسته، و من بين التقنيات المستعملة في هذا المجال:
 تقنية القذف الإلكتروني (EI).
 تقنية القذف السريع للذرات (F.A.B).
 تقنية الألكتروسبراي (ES).

7-3-3-1- تقنية القذف الإلكتروني (EI) [40,39]:

هي من أهم التقنيات المستعملة و تعتمد هذه التقنية على تطهير المركب في غرفة التأين في درجة حرارة 100-300 °م، ليذف بعدها بسيل من الإلكترونات لتأينه و بالتالي نحصل على أيونات موجبة حسب المعادلة التالية:



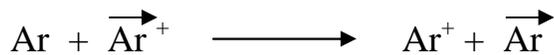
و كنتيجة للطاقة التي يكسبها الأيون الجزيئي (M⁺) برتبة (70 eV) تحدث له تشظيات من خلالها نحصل على الأيونات المميزة للمركب تحت الدراسة، و تعتبر هذه التقنية صالحة إلا مع الأغليكونات لأن الإيتيروزيديت تفتقر إلى خاصية التطهير و كذلك لاحتوائها على المستبدلات السكرية التي لا تتحمل الطاقة القوية التي تتطلبها هذه التقنية.

7-3-3-2- تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B):

تعتبر هذه التقنية من أفضل التقنيات المستعملة في حالة المركبات الجليكوزيدية، فمن خلالها يتم تأيين المركبات دون تسخين، مما يسمح بثباتها و دراستها و عليه فان تطبيقها يمكننا من الحصول على معلومات فيما يخص طبيعة الجزيئ السكري، كما تسمح لنا بمعرفة الأيون الجزيئي [41].
 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 انتقال الشحنة بين Ar و Ar⁺ حسب التفاعل:



حيث تبقى الذرات الناتجة \overrightarrow{Ar} محافظة على طاقتها و عند الخروج من غرفة الصدم نحصل على خليط من (Ar⁺, \overrightarrow{Ar})، يتم بعدها عزل (Ar⁺) باستعمال لوح مكثفة لنحصل في النهاية على سيل من ذرات الأرجون (\overrightarrow{Ar}) التي تدخل غرفة التأين لتصدم 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 [42]:

تكوين أيونات المركب دون تشحين العينة.

تكوين أيونات شبه جزيئية (Quasi moléculaires).

تكوين أيونات موجبة و سالبة.

مدة حياة طويلة للعينة.

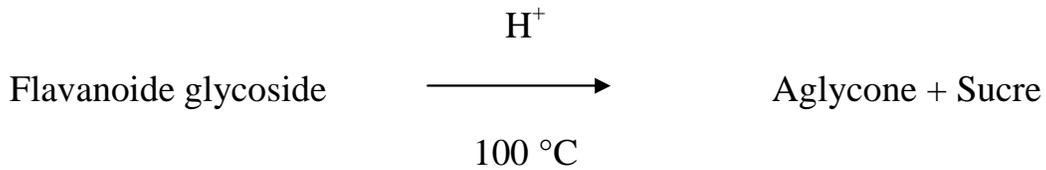
تطبيق هذه التقنية (FAB) مع الغليكوزيدات يمكننا من الحصول على معلومات فيما يخص الجزء السكري منها، و إضافة إلى أيونات التشظية العادية المميزة للفلافونيدات نحصل على قمم موافقة لأيونات شبه الجزيئية من الشكل، $[M+H]^+$ ، $[M+Na]^+$ ، $[M+K]^+$ ، $[M-H]^-$...

7-3-3-3- تقنية الإلكتروسبراي Electrospray :

تعتبر هذه التقنية أحدث من (F.A.B) و تختلف عنها في الطريقة العملية، حيث تسمح بدراسة الجزيئات ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة من البروتينات و الجزيئات الصغيرة سهلة التكسير مثل المضادات الحيوية و المبيدات [43]. أما بالنسبة للفلافونيدات فتستعمل تقنية الإلكتروسبراي (ES) لدراسة المركبات سهلة التكسير مثل : O-glycoside و يتميز طيف الكتلة المحصل عليه بوجود قمة الأيون الجزيئي $[MH]^+$ و قمم موافقة لأيونات شبه الجزيئية من الشكل $[M+Li]^+$ ، $[M+Na]^+$... [23].

8- الإمالة الحمضية:

تستعمل هذه الأخيرة لمعرفة طبيعة السكر المرتبط بالمركبات الغليكوزيدية المعزولة.



و تتلخص خطوات هذه العملية في:

1 - نأخذ كمية قليلة من الفلافونيد الجليكوزيدي المذاب في الميثانول، أو أي مذيب آخر ثم يضاف له 2 ملل من حمض الكلور بتركيز 2 أو 4 نظامي في أنبوبة اختبار و يسخن المزيج في حمام مائي لمدة ساعة تحت درجة حرارة 100 °م.

2- يستخرج الأنبوب و يترك ليبرد ثم نقوم بعملية الاستخلاص من نوع سائل - سائل، نستعمل أولا الإيثر ثنائي الإيثيل حيث نضع 2 ملل من المذيب العضوي في الأنبوب و نخلط جيدا ثم نفصل الطبقة العضوية عن

المائية، و تكرر العملية ثلاث مرات، حيث يتواجد الجزء الأجليكوني في الطبقة العضوية و السكر يكون في الطور المائي، و للتأكيد من عدم بقاء أي جزء أجليكوني أو جليكوزيدي لم يتم فصله نقوم بعملية استخلاص ثانية بأستات الإيثيل ثلاث مرات و بواسطة البوتانول مرة أو أكثر.

3- تجمع الطبقات العضوية كلا علي حدا و تركز تحت ضغط منخفض ثم يتم تحليل الجزء الاجليكوني المنفصل عن الجليكوزيد بتسجيل طيف UV في الميثانول و أحيانا نلجا إلي أجزاء السلسلة الطيفية مع كل الكواشف، وهذا حسب موضع السكر في المركب كما نقوم بإجراء إختبار كروماتوغرافي (CCM) مع شواهد أجليكونية، نشير إلي أنه يكفي أن نحلل الطور إيثر ثنائي الإيثيل.

4-من اجل التعرف على الجزء السكري المنفصل عن الجليكوزيد يتم أولا تحضير الصفيحة الكروماتوغرافية، التي تكون من البولي أميد، ترش هذه الأخيرة بمحلول (NaH_2PO_4) بتركيز 0.1 نظامي و تترك لتجف في الهواء ثم توضع في الفرن لمدة ساعة تحت درجة حرارة 100 °م، فتصبح الطبقة جاهزة للاستعمال.

5- بواسطة ماصة شعرية توضع نقاط من الطبقة المائية المحتوية علي السكر حتي تركز مع شواهد سكرية معروفة، و نحضر النظام أستون - ماء (9 : 1) لتمليص الكروماتوغرافيا، بعد ذلك يجفف و يرش بكاشف ملونات الأنيلين و يترك ليحف ثم يوضع في الفرن لمدة 5 دقائق دائما تحت حرارة 100 °م أين تبدأ بقع السكريات بالظهور فتكون بنية في الضوء المرئي و صفراء تحت مصباح UV. كل سكر يكون له R_f خاص به.

المراجع

- 1- Rauha, J.P., Vuoral, H., Kostianen, R. (2001). J. Mass. Spectrom. 36, 1269.
- 2- Harborne, J.B. (1988). The flavanoids Chapman and Hall London. 539.
- 3- Grotewold, E. (2006). The Science of Flavonoids. Published by Birkhäuser.
- 4- El Hazimi, H. (1995). Natural Products. Université du Roi Saoud, Djeddah.
- 5- Satyajit, D. (2007). Chemistry for Pharmacy Students. John Wiley & Sons Ltd, England.
- 6- Robinson, R. (1936). Nature. 137, 1172.
- 7- Davis, B.D. (1955). Adv. Enzym. (16), 227.
- 8- Robinson, T. (1957). The organic constituents of higher plants. Sixth Edition. 188.
- 9- Nazemiyeh, H., Shoeb, M., Movahhedin, N., Kumarasamy, Y., Talebpour, A.H., Delazar, A., Lutfun, N., Satyajit, D., Sarker. (2000). Biochem. Syst. Ecol. 34, 721.
- 10- Harborne, J.B. (1973). Flavanoids in Phytochemistry. Organic metabolites. Eds. Lawrece. P. Miller. 11, 34.
- 11- Ahmed, Z.F., Rizk, A. M., Hamouda, F.M. (1970). Postep Dzieddzinie LZKU Rost. Pr. Ref. Dosw , Wygloszone symp. 20.
- 12- Jurd, L . (1962). The chemistry of flavonoid compounds. Geissman, Pergamon press, New- York.
- 13- Chopin, J., Actualités de phytochimie fondamentale. 2^{ème} série. C. Mentaza. Ed. Masson, Paris (1966). 119.
- 14- Lardy, C., Bouillant, M.L. (1984). J. chromato. (219), 307.
- 15- Harborne, J.B. (1967). Comparative biochemistry of flavanoids. academic press, London.
- 16- Lebreton, P., Jay, M., Voirin, B. Bouchez, M.B. (1967). Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoides. Chim. Analyt. Fr. 49(7), 376.

- 17- Gonnet, J.F. (1973). *J. Chromato.* 68, 192.
- 18- Abd Elchakour, A.S. (1987). *Chimie organique moderne et pratique.* Université du Roi Abdel Elaziz, Djeddah (ed en arabe).
- 19- Markham, K.R. (1982). *Techniques of flavonoids identification.* Academic Press. London.
- 20- Combier, H., Jay M., Voirin, B., Lebreton, P. (1974). Lyon. France.
- 21- Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. (1970). *The systematic identification of flavonoids.* Springer-Verlag, Berlin.
- 22- Bate-smith, E.C, Westall, R. G. (1950). *Biochem. Biophys. Acta.* (4), 427.
- 23- Voirin, B., (1970). Thèse de doctorat, université de Lyon.
- 24- Combier, H., (1968). Thèse de doctorat, université de Lyon.
- 25- Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H. (1975). *The flavonoids. Tome I,* Academic.press. London.
- 26- Harborne, J.B. (1967). *Comparative biochemistry of the flavonoids.* Academic. press. London.
- 27- Jay, M., Gonnet, J.F., Wollenweber, E., Voirin, B. (1975). *Phytochemistry.* 14, 1605.
- 28- Voirin, B. (1983). *Phytochemistry.* 22, 2107.
- 29- Markham, K.R., Mabry, T.J. (1976). *Ultra-Violet visible and proton magnetique resonance spectroscopy of flavonoids in the flavanoids.* Chapman. Hall. pp. 45-77.
- 30- Bacon, J.D., Mabry, T.J., Mears, J.A. (1976). *Latino. Amer. Quinn.* 7, 83.
- 31- Riberau-Gayon, P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux.* Dunod, Paris.
- 32- Markham, K.R., Mabry, T.J. (1975). *In the flavonoids.* Harborne. J.B, Mabry, T.J Mabry.H. Chapman. Hall. London.

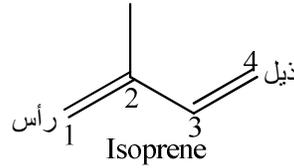
- 33- Wollenweber, E., Dietz, V. H. (1980). *Biochemical Bystematic & Ecology*. 8, 21.
- 34- Wilson, R.G., Bowie, J.H., Williams, D. H. (1968). *Tetrahedron*. 24, 1407.
- 35- Rodriguez, E., Carman, N. J., Mabry, T. J. (1972) *Phytochemistry*., 11, 409.
- 36- Markham, K. R., Geiger, H. (1994). ^1H NMR Spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. In *the flavonoids*. Harborne, J.B, Chapman and Hall, London.
- 37- Akkal, S. (2001). These doctorat. University Mentouri-constantine.
- 38- Nielson, J.G., Moller, J. (1970). *Acta. Chem. Scand*. 24, 2665.
- 39- Audier, H. (1966). Etude des composés flavoniques par spectrométrie de masse. *Bull. Soc. Chim. Fr*. 9, 2892.
- 40- Goudard, M., Bouvin, J. F., Chopin, J. (1978). *Phytochemistry*. 17, 145.
- 41-Becchi, M., Fraisse, D. (1989). Fast atom Bombardment and Fast atom Bombardment collision actived- dissociation / mass- Analysis ion kinetic energy analysis of C-glycosidic flavonoids. *Biomed & environmental mass spectromet*. 18, 122.
- 42- Constantin, E., Schenell, A. (1986). *Spectrométrie de masse principes et applications*. Lavoisier. Paris.
- 43- Marghem, R. (1995). Les facteurs anti-nutritionnels (F.A.N) phénoliques de *Pisum sativum* et de *Vica faba* (Leguminosae) : Aspects structuraux. Thèse de doctorat. Univ. Claude Bernard. Lyon I.

1- مقدمة:

هناك عديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات التمثيل الغذائي للكربوهيدرات و البروتينات و الدهون وتشمل كلا من التربينات والفينولات والقلويدات وغيرها. تمثل تلك المركبات أهمية كبيرة أيضا للإنسان حيث تستخدم تكنولوجيا في كثير من الصناعات الهامة مثل الصناعات الدوائية وصباعة الجلود وصناعة الصابون واستخراج الزيوت العطرية وفي صناعات التجميل وفي الصناعات الغذائية كمكسبات للطعم والرائحة وفي صناعة المطاط ... الخ.

2- تعريف التربينات:

تؤلف التربينات المجموعة العظمى من منتجات المملكة النباتية. فالكثير من الزيوت الطيارة في النباتات العطرية تحتوي مركبات ذات صيغ كيميائية يدخل في هياكلها مضاعفات من 5 ذرات كربون أي مضاعفات وحدة الايزوبرين (2-مثيل-1،3-بيوتاديين).



يطلق على مثل هذه المركبات التي تحتوي عددا من ذرات الكربون 10، 15، 20 أو 25، و هلم جرا التربينات، كما يطلق على هذه القاعدة، قاعدة الايزوبرين. و وفقا لهذه القاعدة تقسم التربينات إلى: تربينات أحادية (Monoterpènes)، سيسكويتربينات (Sesquiterpènes)، تربينات الثنائية (Diterpènes)، سيسترتربينات (Sesterpènes)، تربينات الثلاثية (triterpènes)، تربينات عالية (terpènes superieurs)

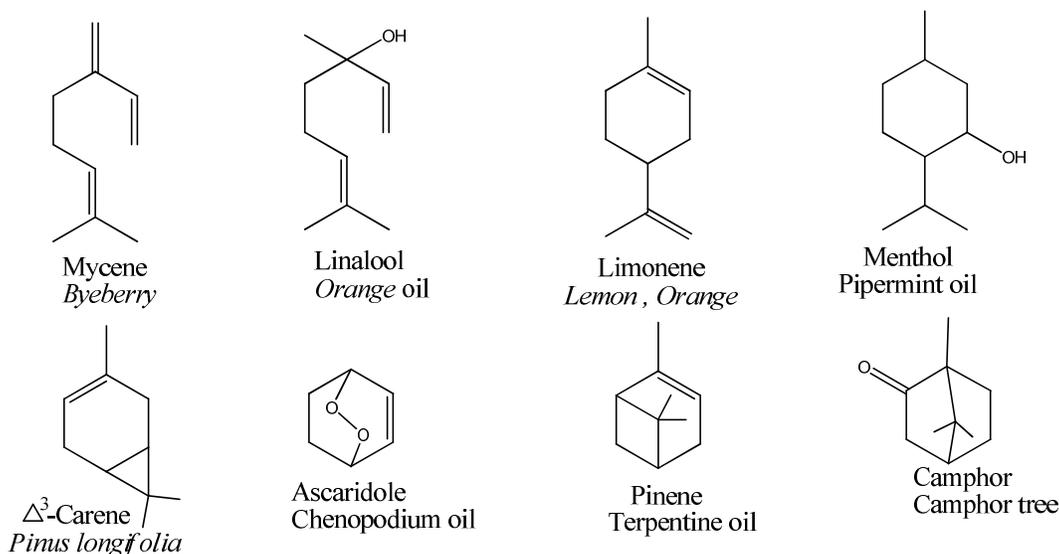
3- التربينات الأحادية:

1-3- تعريفها:

التربينات الأحادية مركبات طيارة يعزى إليها في المقام الأول الرائحة الزكية التي يتميز بها كثير من النباتات. و الكثير من التربينات الأحادية له أهميته التجارية حيث يستخدم في العطور، كما يستخدم البعض منها في الطب و في أغراض مختلفة. التربينات الأحادية الطبيعية منها ما هو حلقي، و منها المركبات المفتوحة، كما أن الحلقي منها يتميز بهياكل بنائية مختلفة. فالتربينات الأحادية الحلقية تقسم إلى أحادية الحلقة و ثنائية الحلقة. كما أن المركبات ثنائية الحلقة قد تقسم إلى ثلاث أقسام رئيسية و ذلك وفقا لحجم الحلقات الداخلة في البناء.

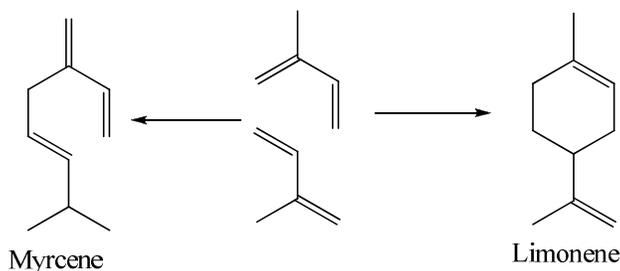
- ثنائية الحلقة: احدهما سداسية و الأخرى ثلاثية.
- ثنائية الحلقة: احدهما سداسية و الأخرى رباعية
- ثنائية الحلقة: احدهما سداسية و الأخرى خماسية.

يوجد بعض التربينات الأحادية في الطبيعة على هيئة أكسيد، مثل الاسكاردول (ascaridole)، كما قد يحوي بعض هذه التربينات الطبيعية حلقة عطرية في بنائه و الشكل (1) يضم بعض الأمثلة عن التربينات الأحادية المختلفة البناء .



الشكل 1 : صيغ بعض التربينات الأحادية

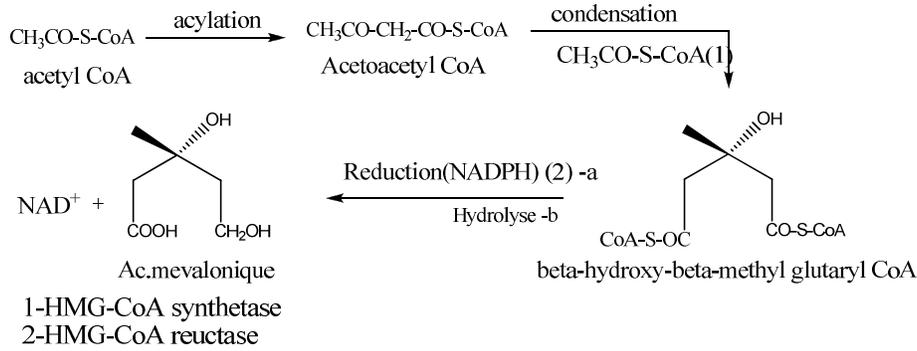
يتألف بناء التربين الأحادي من وحدتين ايزوبرين تتحدان بعضهما مع بعض وفقا لقاعدة الايزوبرين، أي باتحاد أحد طرفي وحدة ايزوبرين (الرأس) إلى الطرف الآخر (الذيل) في الوحدة الأخرى، كما يتضح من تكوين التربينات البسيطة التالية:



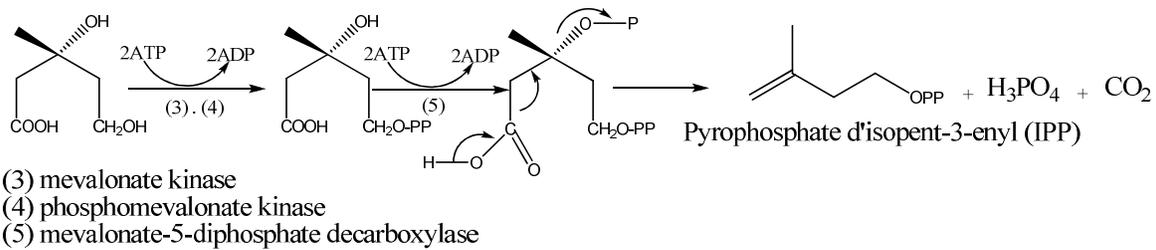
2-3- الاصطناع الحيوي للتربينات الأحادية:

أمكن عن طريق الأبحاث الخاصة بالنظائر المشعة لـ ^{14}C تتبع التفاعلات الخاصة بتكوين التربينات الأحادية بدأ من Acetyl CoA .

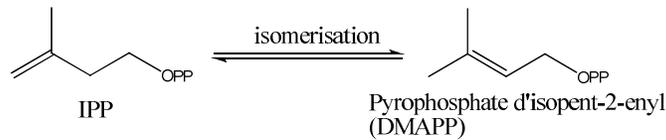
يتحول أستيل مرافق أنزيم (A) إلى حمض ميفانوليك وذلك بتكافئه مع أسيتوأسيتيل مرافق أنزيم (A) ثم اختزال الناتج بواسطة NADPH حسب الآتي:



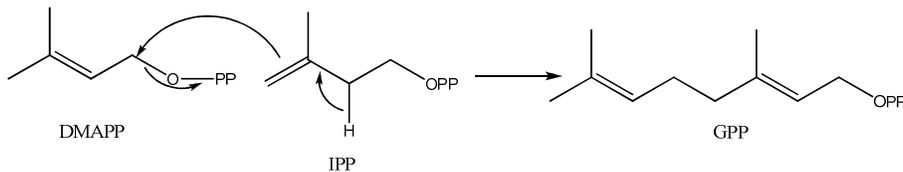
يتحول حمض الميفانوليك (6 ذرات كربون) إلى بيروفوسفات ايزوبنتيل (5 ذرات كربون) وذلك بالفسفرة ثم فقدان ثاني أكسيد الكربون من مجموعة الكربوكسيل.



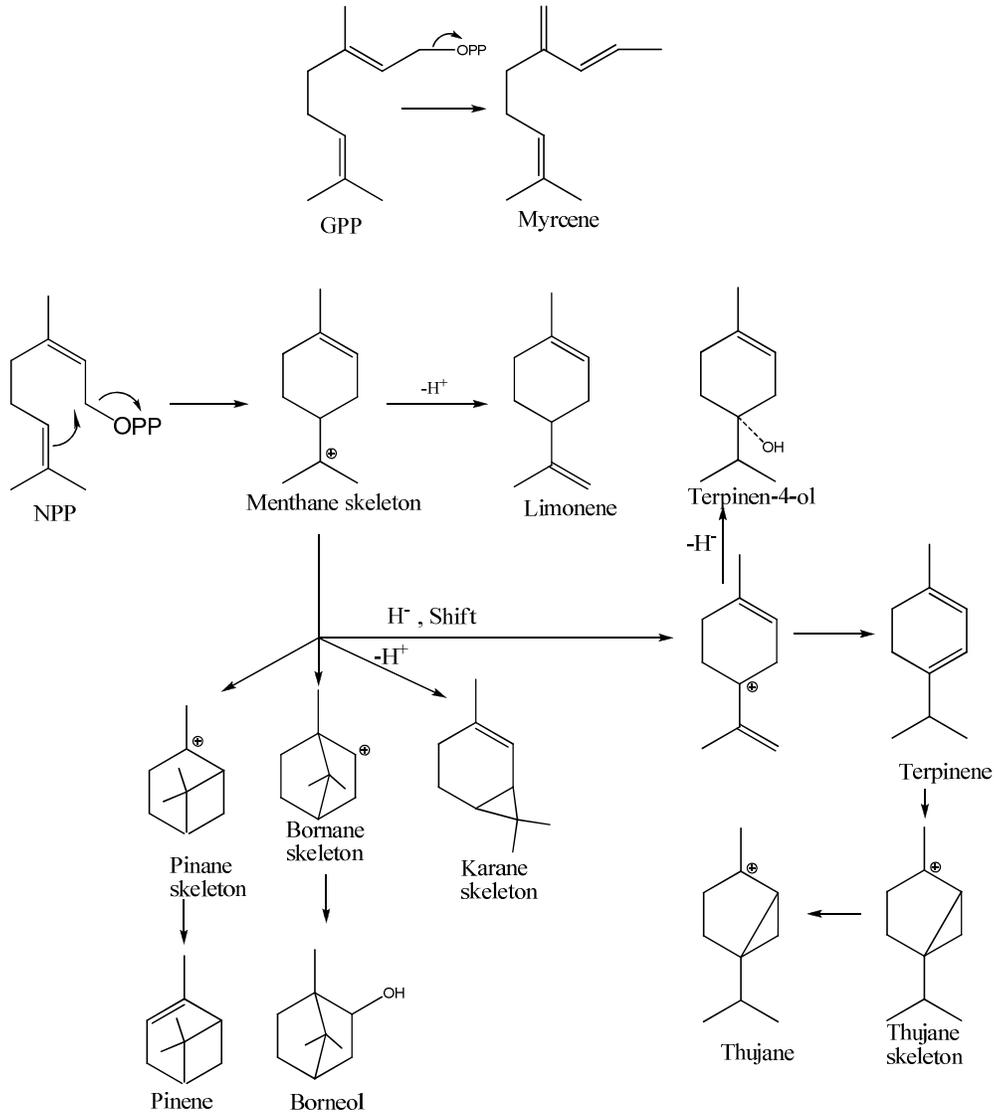
يتماكب isopent-3-enyl إلى DMAPP (β, β -dimethyl allyl pyrophosphate) حيث الرابطة الثنائية أكثر استقرار.



بعدها تنشأ بلمرة ثنائية (ديمرة)، وذلك بأن تحدث إضافة باحثة عن النواة الالكترونيات π في IPP إلى ذرة الكربون الطرفية في DMAPP مؤدية إلى تكوين Geranyl pyrophosphate (GPP)، و هو المركب الأم في الاصطناع الحيوي للتربينات الأحادية.



أن ميكانيكية تخليق التربينات الأحادية الحلقية انطلاقاً من المركب الأم (GPP) فيشتمل على مواد وسيطية أيونية كما يبدو من الشكل (2).



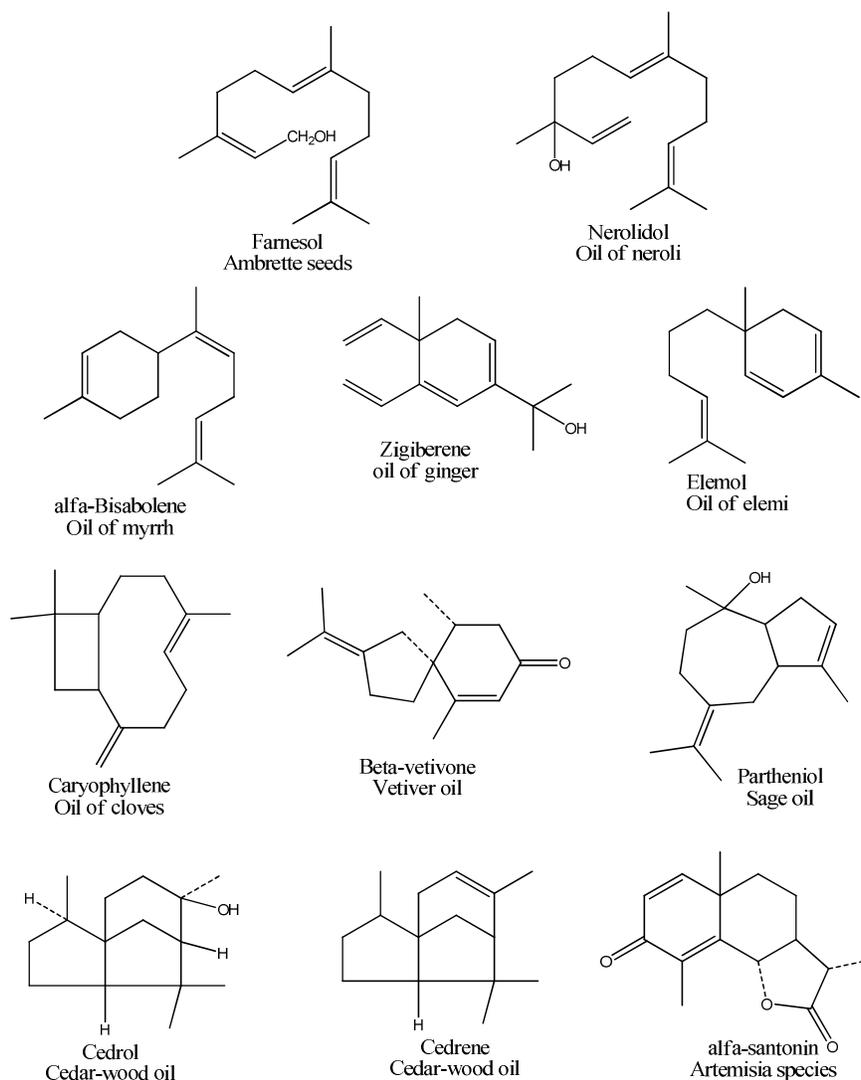
الشكل 2 : الإصطناع الحيوي للتربينات الأحادية انطلاقاً من GPP

4- السيسكويتربينات:

4-1- تعريفها:

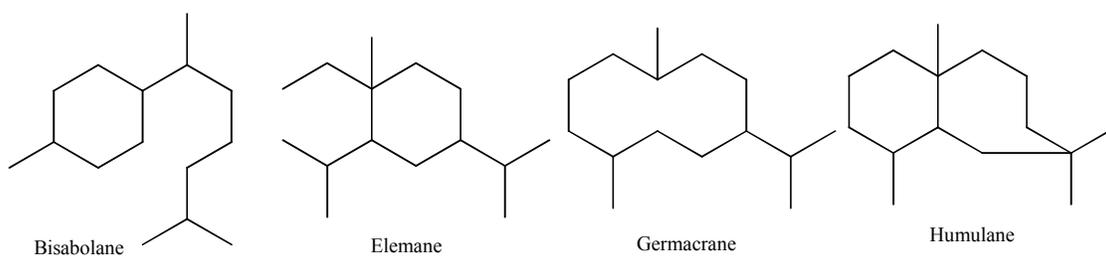
الزيوت الطيارة في النباتات العطرية ما هي إلى تربينات أحادية و سيسكويتربينات، و تؤلف الأخيرة ذلك الجزء من الزيت الطيار الذي له درجة غليان أعلى. السيسكويتربينات يدخل في هيكلها 15 ذرة كربون أي ثلاث وحدات ايزوبرين. تتحد هذه الوحدات مع بعضها بطرق مختلفة، و ينتج عن هذا الاتحاد سيسكويتربينات مختلفة البناء قد تكون مفتوحة أو حلقية، أحادية أو ثنائية أو ثلاثية الحلقة. و تنقسم هذه

التربينات وفقا لذلك إلى أربع مجموعات. و يحوي الشكل (3) أمثلة على سيسكويتربينات حلقة و غير حلقة، الأكسجينية منها و غير الأكسجينية.



الشكل 3 : صيغ بعض السيسكويتربينات

السيسكويتربينات أحادية الحلقة أكثر انتشارا في الطبيعة من نظيرتها غير الحلقية إذ يعرف منها الكثير، و تتمثل صيغها في أربعة هياكل بنائية هي:

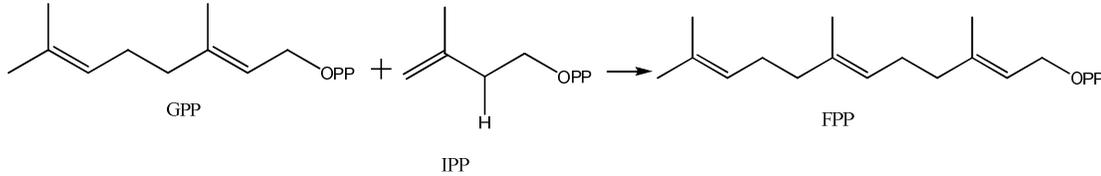


يشتهر هيكل جيرماكرين في وجوده في الطبيعة على هيئة سسكويتربينات لاكتونية و بصورة عامة فان السيسكويتربينات اللاكتونية هي أكثر هذه الأنواع من التربينات انتشارا في الطبيعة. و تجدر الإشارة هنا إلى إن السيسكويتربينات لاكتونات يتركز وجودها في أجناس نباتات الفصيلة المركبة.

2-4- الاصطناع الحيوي للسيسكويتربينات اللاكتونية:

1-2-4- الاصطناع الحيوي لهيكل الجرماكرانوليدات Germacranolides:

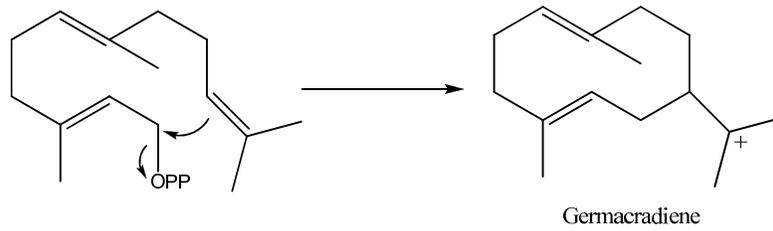
كما في الاصطناع الحيوي للتربينات الأحادية فانه بعد تكوين GPP جيرانيل بيروفوسفات فان يتكاثف مع IPP فيتشكل Farnesylpyrophosphate (FPP) و هو المركب الأم المفضي لتشييد السيسكويتربينات (C-15) داخل الجسم الحي.



بنيات السيسكويتربينات اللاكتونية متنوعة، لكنها جميعا مرتبطة بناتج حلقة المركب 2E, 6E-Farnesylpyrophosphate، و بالرغم من قلة الأدلة العلمية إلا أنه يسلم بأن الهياكل الأساسية تنفرع من Germacranolide.

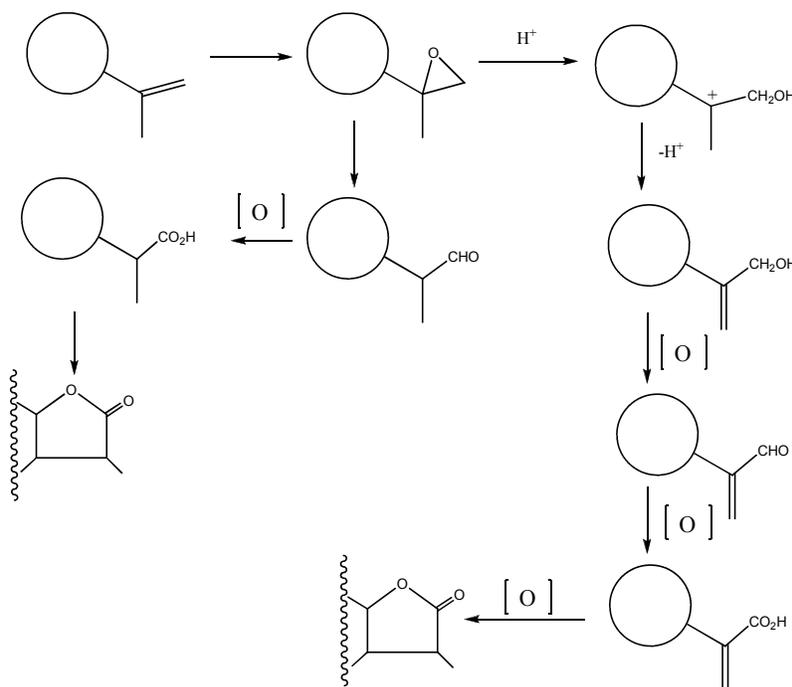
تشير اللاحقة olide المضافة لاسم الهيكل السيسكويتربييني إلى الميزة اللاكتونية.

تكون بنية المركب الناتج من الحلقة مرهونة بالتشكيل الابتدائي المعتمد للحلقة الكبيرة، و بوضعية الرابطين الثنائيتين اللتين تسمحان بتكوين حلقات داخل جزيئة الكتروفية متغيرة.



و على الأنزيم المعني بالتفاعل التحكم في التنوع الفراغي « Stéréospecifique » للتسلسل، وقد أصبحت بعض مخططات الاصطناع الحيوي مستساغة بوجود إصطناعات منسجمة حيويا (synthèse biomimétique) و يتضمن الاصطناع الحيوي لحلقة lactone- γ في إحدى الافتراضات [4,2] الشكل (4)، تأكسد احد مثيلي مجموعة Isopropényl إلى كربوكسيل (انطلاقا من وظيفة ايبوكسيدية)، و يحدث بعدها لهذه الأخيرة لاكتنة (lactonisation) مع مجموعة هيدروكسيل تشكلت بدورها

من أكسدة إحدى مجموعتي α -methylene (C-6 أو C-8) المجاورة لمجموعة Isopropényl ، و تظهر هذه الافتراضية أنها الأكثر جاذبية كطريقة عامة للسيسكويتربينات اللاكتونية .



الشكل 4 : الاصطناع الحيوي لحلقة γ -lactone

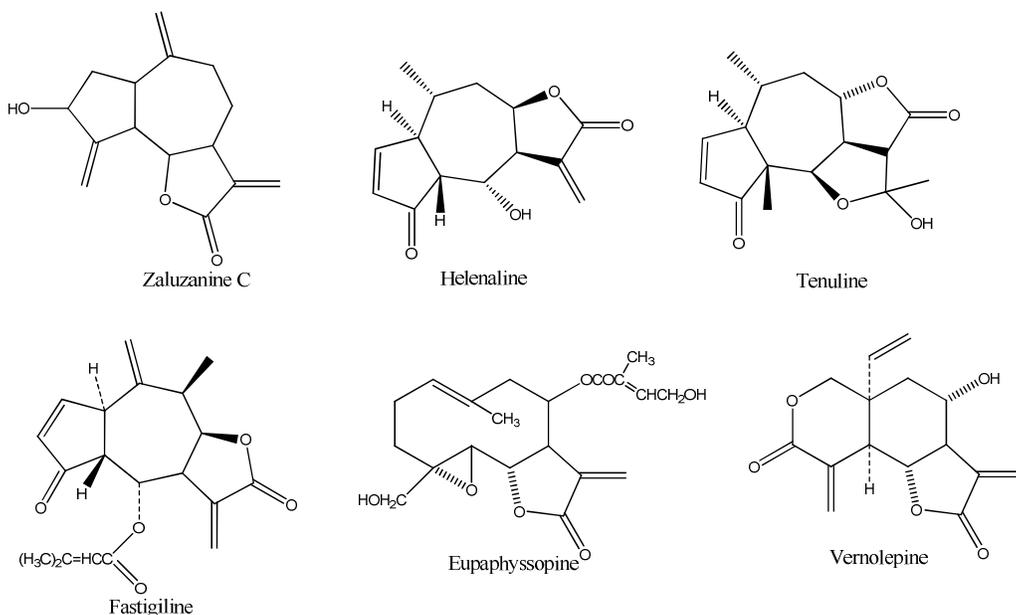
3-2-4- خصائص و أهمية السيسكويتربينات اللاكتونية:

معظم السيسكويتربينات اللاكتونية شديدة المرارة، و الكثير منها سام، و هذه الخصائص توحى بأنها تتضمن حماية ضد آكلات الأعشاب و الطفيليات النباتية، و مع ذلك فمن الصعوبة تقديم دليل قاطع على دورها البيئي [5].

باستثناء مشتقات Artémisine، لا يستعمل الاستطباب المعاصر السيسكويتربينات اللاكتونية، و لم يحتفظ إلى بعدد قليل من الأدوية ذات الأساس السيسكويتريين اللاكتوني، و إن كان الطب الشعبي و التداوي بالأعشاب يستعيان ببعض العقاقير ذات المواد المرة فإنه لا شيء يثبت على الأقل بالنسبة لبعضها أن النجاعة المنسوبة لها مردها لوجود هذا النمط من المكونات في تركيبها، و رغم ذلك فالفائدة الكامنة للسيسكويتربينات اللاكتونية أبعد من أن تكون مهملة، و هو المنطق الذي يتماشى و أهمية فعاليتها.

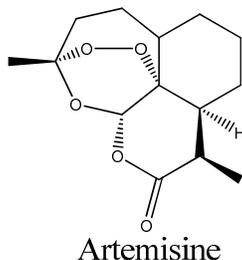
فتتابع α -méthylene- γ -lactone و epoxydes المتكرر في مواقع فعالة اتجاه النوكليوفيلات البيولوجية و بصورة أساسية اتجاه مجموعة ثيول (thiols) و أمينات البروتينات (الأنزيمات) و يتم ألكنة هذه المجموعة

بصور غير عكوسة و هو ما يظهر شساعة مجال فعاليتها البيولوجية، إذ يمكن تسجيل أن بعض البني هي مضادات طفيلية [6] فالـ Artemisine مضاد لحمى الملاريا، [9،7]، و مضادات للالتهاب [11،10]، و مضادات للديدان المعوية Anthelminthiques أو مبيدات للرخويات و هو حال مركبات Pseudoguaianolides لنبات *Ambrosia maritima* كما أن العديد منها مضادات بكتيرية [13،12] و خاصة على الجراثيم ذات الايجابية لغرام (germes à gram positif) [6]، كما عرفت الخواص المثبطة للأنسجة الحيوانية للـ guaianolides منذ 1948 [14]، وأثبت لها دور في تنبيه و تنظيم نمو النباتات [17-15] و قد أدت القدرات المؤكدة alkyllantes لهذه الجزيئات إلى معرفة تأثير سميتها الخلوية (cytotoxicité) المعتبرة [20،18]، و تشير المعطيات إلى أن فعالية السمية الخلوية يمكن أن تحفظ (تصان) عند تقيد المراكز المؤكدة الفعالة بحلقة إيبوكسيدية (époxydation)، خلافا لحالة إرجاعها، إذ يظهر أن وجود α -époxy- γ -lactone في سلسلة من مركبات Helenaline على فعالية السمية الخلوية يكون ضعيفا، بينما إرجاع سيتون β ، α - غير مشبع إلى سيتون مشبع يضعف تلك الفعالية بشكل معتبر [21]. و إذا كان العديد من البني قد أظهر فعالية اتجاه الأنظمة (KB) فان القليل منها فقط أظهر فعالية داخل الكائن الحي (in vivo) [22] كـ بعض الـ Germacranolides [23، 24-15] مثل (paphyssopine) ، و بعض الـ Guaianolides مثل (Hélinaline و Zaluzanine) و الـ Pseudoguaianolides [25] -27 مثل: (Fastigine و Tenuline) و يعتبر (Vernolepine) أكثر أنواع Elémanolides فعالية ضد السرطان [28، 29-31] و الشكل (5) يوضح بعضا من هذه الجزيئات.



الشكل 5 : نماذج لجزيئات ذات فعالية ضد السرطان

و لعل الاستعمال العلاجي لهذه الجزيئات أو تجربتها سريريا يبقى معاقا لسميتها العالية [32] غير أن مشتقات مصنعة مشابهة لـ Artemisine أثبتت فعاليتها و أدت تجربتها السريرية لنتائج مرضية [33].



و مما تجدر ملاحظته بهذا الخصوص أن وجود السمية و الفعالية معا لا يعني بوجه من الوجوه وجود تناقض.

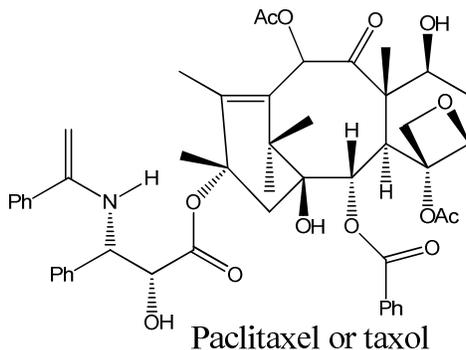
5- التربينات الثنائية:

1-5- تعريفها:

تنتشر التربينات الثنائية بصورة رئيسية في المملكة النباتية، و تختلف في تركيبها البنائي تبعا لاختلاف المصدر الطبيعي و معظمها مواد صلبة.

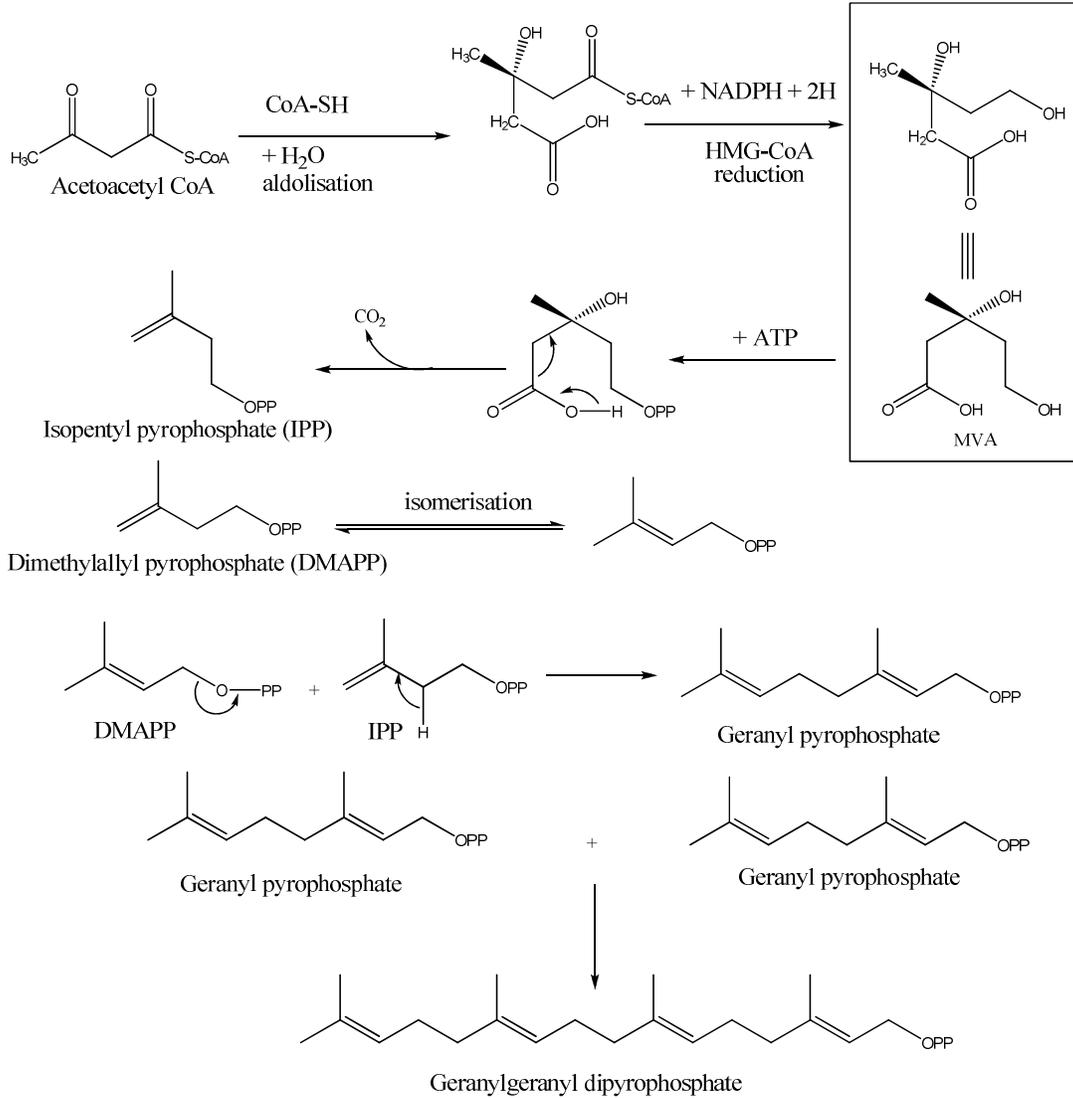
تتكون التربينات الثنائية من أربع وحدات ايزوبرين و أهم المركبات التابعة لهذا القسم مركبان هامان هما: الفيتول و الجرلين، أما الفيتول فهو تربين رباعي ذو سلسلة مفتوحة يدخل في تكوين جزيئ الكلوروفيل حيث تربط حلقة البيروول مع الفيتول و يتم الاتحاد بين مجموعة الكربوكسيل بحلقة البيروول مع مجموعة الهيدروكسيل بالفيتول ليتكون الأستر المعروف باسم الكلوروفيل [34].

كما يدخل الفيتول في تشكيل كل من الفيتامين E (tocopherols) و الفيتامين K [35]. يحتوي الفيتامين A على 20 ذرة كربون و هو من ابرز الأمثلة عن التربينات الثنائية أحادية الحلقة، تستعمل التربينات الثنائية في علاج بعض الأمراض و يعتبر المركب paclitaxel الذي تم عزله من نبات *Taxus brivifolia* (Taxaceae) العقار الأول الذي يستعمل كمضاد للسرطان في الوقت الحالي [35].



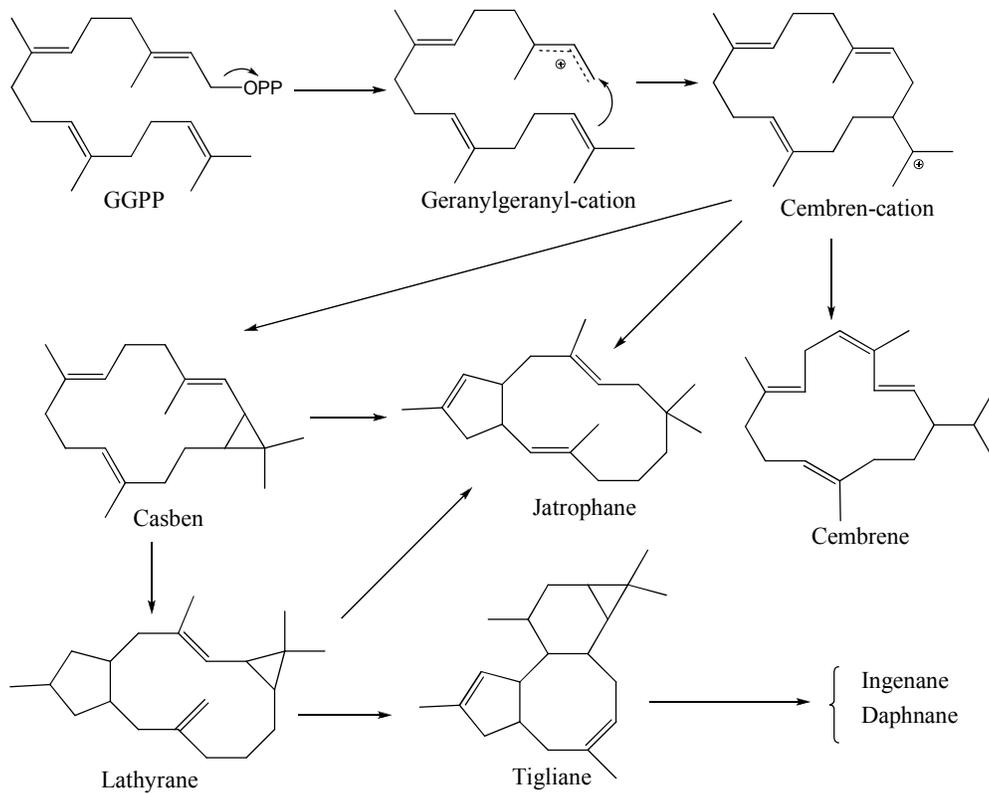
2-5- الاصطناع الحيوي للتربينات الثنائية:

يتم التصنيع الحيوي للتربينات الثنائية انطلاقاً من Geranylpyrophosphate (GPP) الذي يعتبر المركب الأم للتربينات الأحادية حيث يحدث لهذا الأخير ديمرة (ذيل- ذيل) تؤدي إلى تكوين Geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) هو المركب الأم للتربينات الثنائية على النحو التالي كما في الشكل (6).



الشكل 6 : تكوين Geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP)

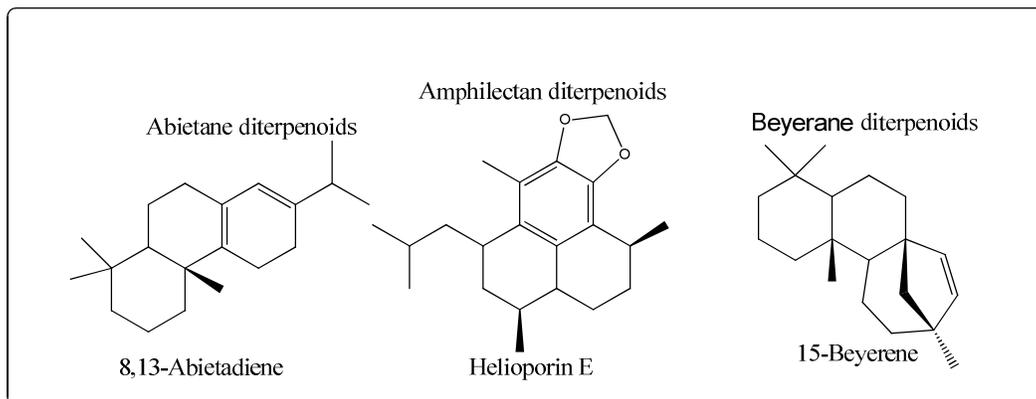
التحلق الحمضي المحفز لـ (GGPP) يعطي ترابينات ثنائية وذلك انطلاقاً من مجموعة البيروفوسفات حيث يتشكل الكربوكتيون. و انطلاقاً من الكربوكتيون تتشكل هياكل التربينات الثنائية على حسب الأنزيمات، الشكل (7) يوضح الإصطناع الحيوي لهيكل جاتروفان Jatrophone بدءاً من GGPP [36].

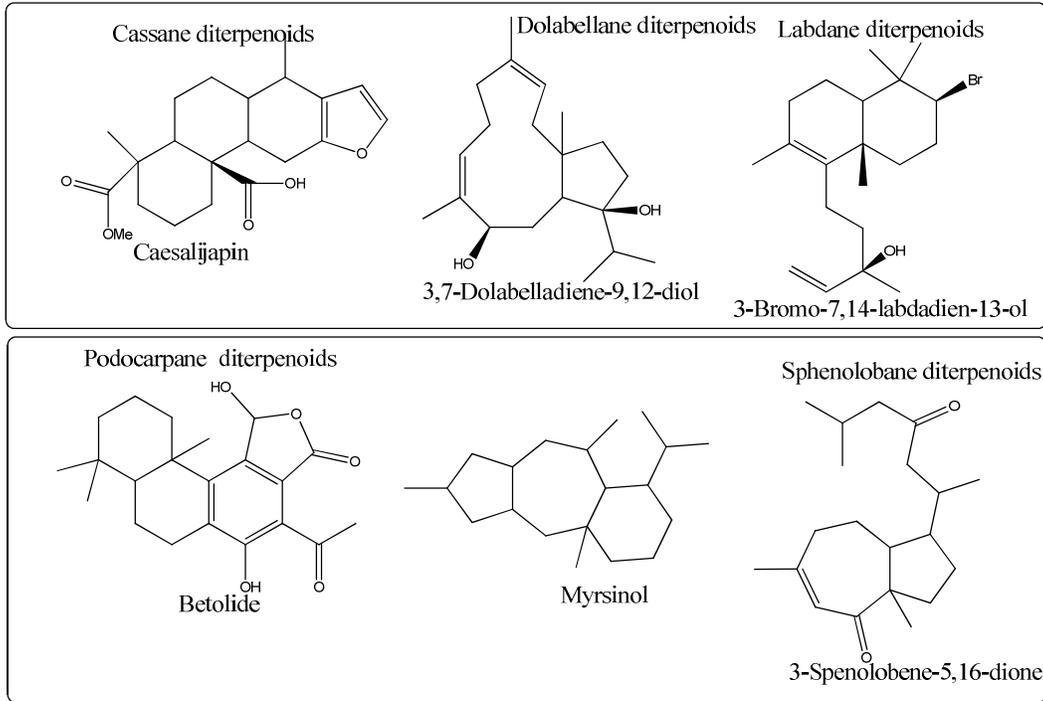


الشكل 7 : الاصطناع الحيوي لهيكل جاتروفان Jatrophone بدءاً من GGPP

3-5- أنماط الهياكل الرئيسية للتربينات الثنائية:

تتشكل التربينات الثنائية الحلقية بحلقة التربينات الثنائية اللاحلقية (مثل phytol) في وجود أنزيمات مختلفة كإنزيمات الأكسدة و هذه مجموعة من الهياكل الرئيسية للتربينات الثنائية الشكل (8) [37].



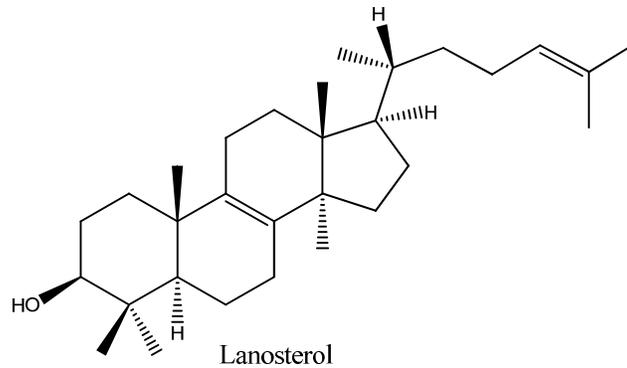


الشكل 8 : مختلف هياكل التربينات الثنائية

6- التربينات الثلاثية:

1-6- مدخل:

لعل أكثر التربينات انتشارا في الطبيعة هي التربينات الثلاثية C₃₀. و تجدر الإشارة إلى أن مركب لانوستيرول (Lanosterol) هو التربين الثلاثي الشائع من أصل حيواني. و يمثل هذا الأخير المصدر الطبيعي للستيرويدات .

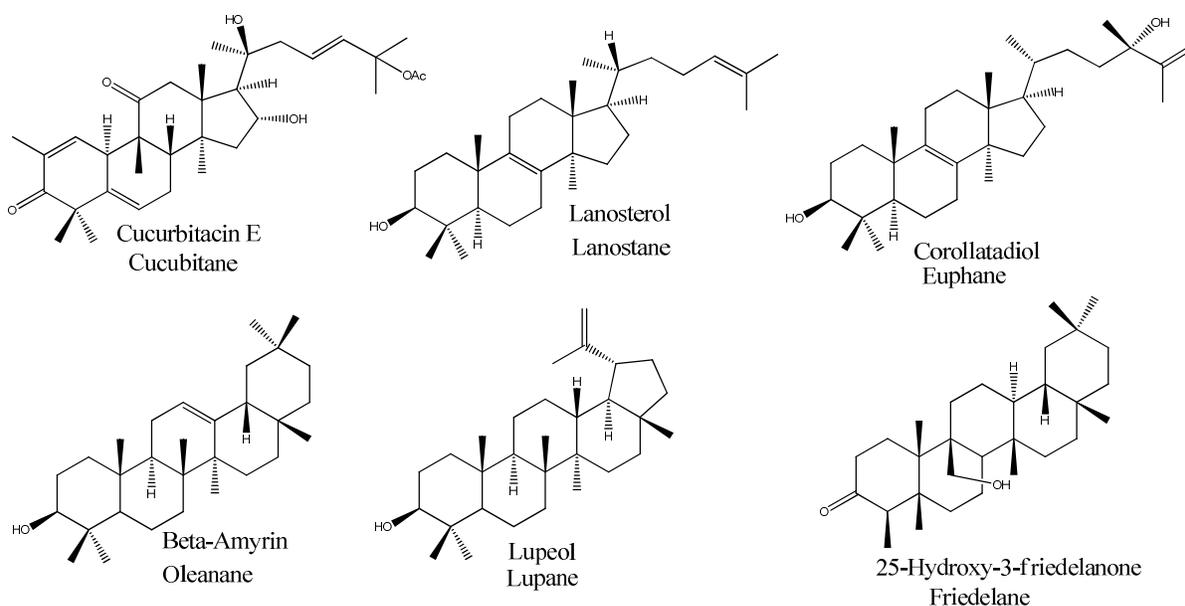


التربينات الثلاثية مركبات صلبة ، بيضاء، أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية، و هي مواد فعالة ضوئيا (متعددة المراكز الكيرالية)، موجودة في الطبيعة في صورة حرة أو ايتوروزيدية، و يدخل في التركيب

البنائي لهذه التربينات أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمسة حلقات في بنائها هي الأكثر وفرة في الطبيعة. و يعرف حتى الوقت الحاضر حوالي 40 هيكلًا بنائياً [38]. يتألف منها التركيب البنائي لجميع التربينات الثلاثية.

2-6- أنواع الهياكل الرئيسية للتربينات الثلاثية:

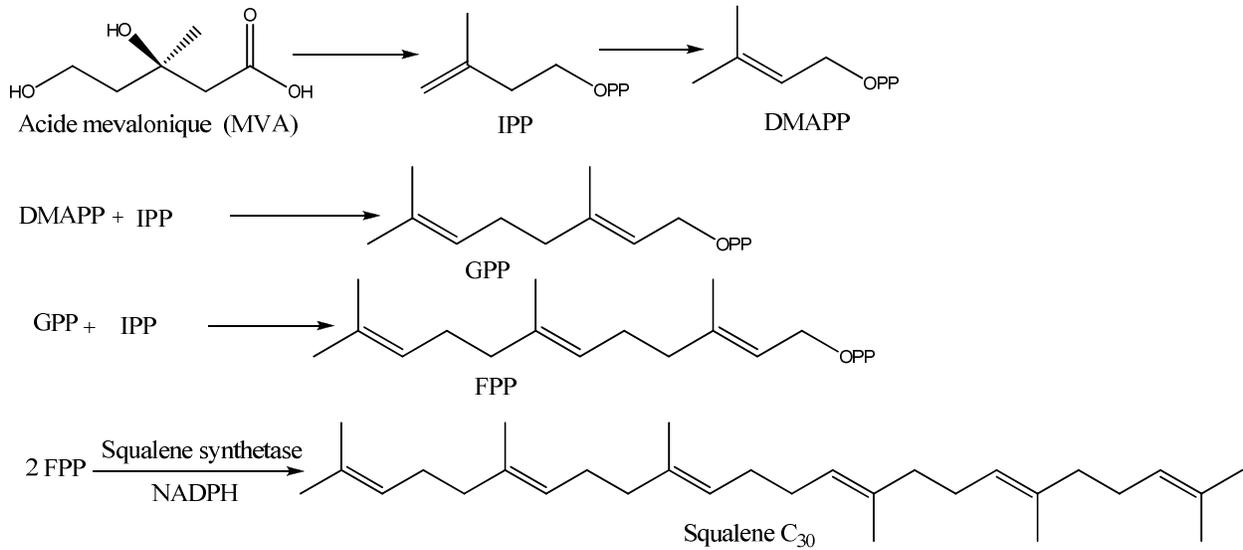
يعتبر السكوالين المصدر الأساسي للتربينات الثلاثية، حيث غالبية التربينات الثلاثية حلقة و لكن يوجد القليل منها على شكل خطي، تتميز التربينات الثلاثية بهياكل بنائية مختلفة مما يؤدي إلى تنوعها و هذه بعض أهم الهياكل.



الشكل 9 : بعض أهم هياكل التربينات الثلاثية

3-6- الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية:

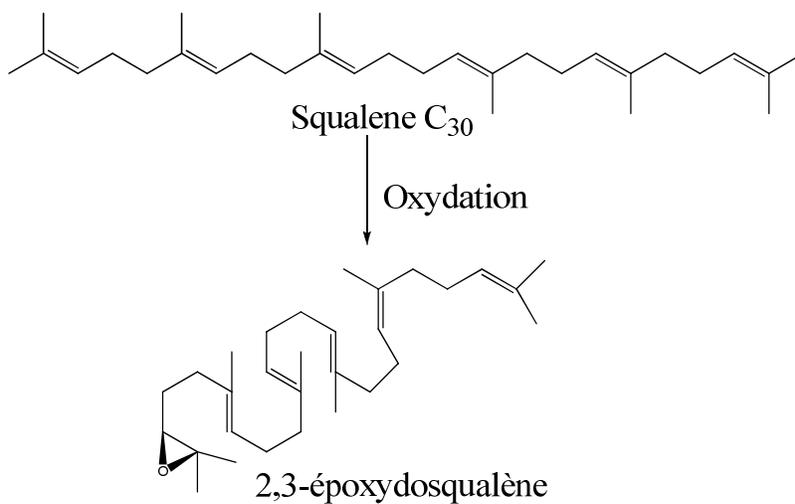
يؤدي ترابط ثلاث وحدات isopentyl pyrophosphate (IPP) (رأس - ذيل)، إلى تكوين Farnesylpyrophosphate (FPP)، و يحدث لهذا الأخير ديمرة (ذيل - ذيل) تقود إلى تكوين السكوالين كما في الشكل (10).



الشكل 10 : الإصطناع الحيوي لهيكل السكوالين Squalene

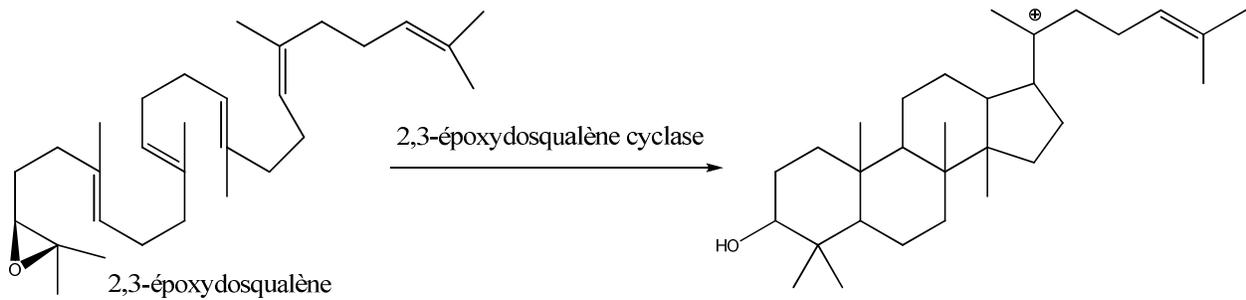
1-3-6- الإصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية انطلاقاً من السكوالين:

بإمكان الأعضاء النباتية أن تحدث حلقة للـ 2,3-epoxysqualene (مادة وسيطة في الإصطناع الحيوي) تقود بوجه خاص إلى تربينات ثلاثية حرة رباعية الحلقة ذات الهيكل المعروف perhydrocyclopentanophenanthrene كما عند Euphorbiaceae أو إلى الصابونين (saponosides) ذات تربين ثلاثي خماسي الحلقة أو إلى تربينات ثلاثية معدلة كما عند Rutaceae كما هو موضح في الشكل (11).



الشكل 11 : تشكيل 2,3-époxydosqualène من أكسدة السكوالين

و يؤدي فتح الإبوكسيد الذي تهيئه الحلقة، و لكي يتم ذلك ينبغي على أنزيم الحلقة أن يثبت على هيئة Polyisopentyl بحيث تكون محبذة لقدرة السكوالين أن يتخذ تشكيلا فراغيا تتوفر فيه الاحتياجات الالكترونية الفراغية كي تتم عملية متضادة في جميع أجزائها، فيتحدد بالتالي توجيه الاصطناع الحيوي تبعا للهيئة الابتدائية التي يكون عليه epoxysqualene على سطح الأنزيم و ذلك نحو الستيرويدات أو نحو التربينات الثلاثية بالمعنى الدقيق من جهة ثانية و من ثم تنغلق الجزيئة بإضافات متعاقبة للروابط الثنائية إلى الكربوكتيون الناتج من الخطوات السابقة كما في الشكل (12).



الشكل 12

4-6- خصائص و أهمية التربينات الثلاثية :

إن الأهمية العلاجية و الاستعمال الصناعي للتربينات الثلاثية و الستيرويدات يجعلان منهما منتوجات الأيض الثانوي ذا أهمية أولي تبرز في :

- أهمية المقويات القلبية الاتروزيديية و التي لم يعوضها أي من المنتوجات الاصطناعية تماما حتى الآن .
- أهمية الـ stigmasterol , sitosterol, saponogenines spirostaniques التي تعتبر مواد أولية ميسورة التثمين بواسطة طرق البيوتكنولوجيا، و تبقى ضرورية لتغطية الاحتياجات الصناعية الصيدلانية للأدوية الستيرويدية (مضاد للالتهابات، مسهلات، موانع الحمل)
- الأهمية العلاجية للعديد من العقاقير الصابونوزيدية (saponosides) المستعملة في استخلاص الجزيئات الفعالة (glycyrrhizine, escine) للحصول علي مستحضرات طبية جاهزة بسيطة أو تلك الخاصة بمستحضرات العلاج النباتي [39] .
- أهمية الصابونوزيدات في كون وجودها يمكن أن ينقص بشكل كبير القيمة الغذائية للكلاً أو يظفي على نباتات محيطنا سمية معتبر (أي حماية ذاتية في كلتا الحالتين).

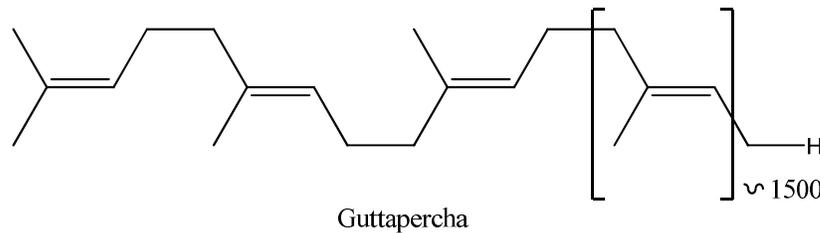
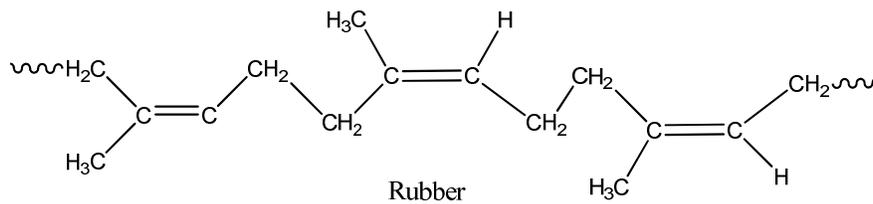
إمكانات علاجية كامنة في مختلف المجالات : موقفات للتكاثر الخلوي [39،40]، مضادات للالتهاب [41،42]، مبيدات حشرية، مبيدات رخوية، مؤثرات على نمو النباتات [39،43-44]، مسكنات للألم [39]، بينها مضادات فيروسية و أيضا مضادات فطرية [45-46]، كما أن للعديد منها فعالية ضد الأورام [47-48] و كذا ضد السرطان [49-51].

وتتميز بعض التربينات الثلاثية بخواصها المذاقية البارزة بالأخص مرارتها الحادة، فالليمونين Limonine هو الأساس المر لثمار الحمضيات ينتمي إلى سلاسل التربينات الثلاثية خماسية الحلقة ذات الطعم المر quassinoids, limonoids و التي تظهر أساسا في الفصائل السذابية Rutaceae، الميلية Meliaceae السيماروبية Simarubacea [52].

كما أنها ذات أهمية معتبرة في التصنيف الكيميائي [53] في حين أن أهمية هرمونات Ecdysones تكمن في أنها مضادات للحشرات و هو ما يتيح للنبات حماية ذاتية من ضراوة الحشرات [54].

7- التربينات العالية (terpènes supérieur):

تتكون التربينات العديدة من اتحاد عدد كبير من وحدات الأيزوبرين (من 500 إلى 50000 وحدة) لتكون ما يعرف بالتربينات العليا **terpènes supérieur** وأهم مركباتها المعروفة هي Rubber، Guttapercha، Balata، جميعها تشبه المطاط في خواصها ويوجد المطاط في حوالي 2000 نوعا نباتيا ولكن كميته تكون محدودة في معظمها يكون موجدا بكمية كبيرة في عدة عائلات نذكر منها Asclepiadaceae، Moraceae، Euphorbiaceae و Compositeae.



المراجع

- 1- El Hazimi, H. (1995). Natural Products. Université du Roi Saoud Djeddah.
- 2- Herout, V. Sorm, F. (1969). In Perspectives in Phytochemistry (Harborne, J.B, and Swain, T eds) P. 142. Academic Press London.
- 3- Geissman, T.A. (1973). Vknije recent advances in Phytochemistry. Vol 6, Academic Press. New York. London.
- 4- Wanger, H. (1977). Israel. J. Chem.16, 32.
- 5- Burnett, Jr., Jones, Jr., Mabry, T.J. and Padolina, W.G. (1974). Biochem. Syst. Ecol. 2, 25.
- 6- Bruneton, J. (1999). Phrmacognosie et Phytochimie des Plants Medicinales Technique et documentation Paris.
- 7- Giordano, O.S., Guerreiro, E. Psetchanber, M.J. (1990). J. Nat. Prod. 53, 803.
- 8- Miller, T. (1983). Am. J. Physiol. 243, 601.
- 9- Trnawaski, A. Hollender. D. (1985). Gastroenterol. 89, 366.
- 10- Grippe. A., Wyrik, S.D., hsiung ler, K., Sherwsburg, R.P and hall, I.H. (1991). Planta Med. 57, 309.
- 11- Abad, A.J., Bermyo, P., Valverde, S and Willer. A. (1994). Planta. Med. 60, 228.
- 12- Goren, N, Woerdenbag, H., J. Johnsson, C.B. (1996). Planta. Med. 62, 419.
- 13- Almagboul, A.Z.I., A.K, Khalid, S.A. Farouk. A. (1997). Fitoterapia LXVIII, 83.
- 14- Haynes, L.J. (1984). Quark. Rev, H6.
- 15- Ange Wandte, G.R. (1973). Chem. Soc. 7009.
- 16- Kupchan, S.M., Hemingway. R.J. (1968). Chem. Ind. 22, 36.
- 17- Minato, H. Hribe, J. (1965). Chem. Soc. 7009.

- 18- Kupchan, S.M., Aynechi, Y., Cassady, J.M., Schnoes, H.H.K., Burlingame, A.M. (1969). *J. Org. Chem.* 34, 3867.
- 19- Woe, I., Denbag, H.J., Mefort Pabreiter, C.M., Schmidt, T.J., Willuhn, G., Uden, W.V., Pras, N., Kampinya, H.H., Konings, A.W.T. (1994). *Planta. Med.* 60, 434.
- 20- Tallez, J.M., Ortega, A., Maldonado, E., Wong, L., Vidales, G., Calzada, L., Salazar, L. Tboada, J. (1995). *Adv. Contraceptive Delev. Syst.* 11, 59.
- 21- Lee, K.H. (1973). *J. Pharm. Sci.* 62, 1028.
- 22- Reinhold, L., Harborne, J.B. Swain, T. (1987). *In progress in Phytochemistry.* Pergamon Press. Ltd. England. P. 277.
- 23- Lee, K.H., Kibuka, T., Huang, H.C. Harris, D.L. (1975). *J. Pharm. Sa.* 64, 1077.
- 24- Pal, R., Kulshreshtha, D.K. Rastoegi, R.P. (1976). *J. Pharm. Sci.* 65, 918.
- 25- Pettit, G.R., Budzinsk, J.C., Cragg, G.M., Brown, P., Johnston, L.D. (1974). *J. Med. Chem.* 17, 1013.
- 26- Pettit, G.R., Herald, C.L., Judd, G.F., Bollinger, G., Thayler, P.S. (1975). *J. Pharm. Sci.* 64, 2032.
- 27- Dominguez, X.A., Marroquin, J., Cardenas, E. (1975). *Planta. Med.* 28, 89.
- 28- Jolad, S.D., Wiedhopf, R.M., Cole, J.R. (1974). *J. Pharm. Sci.* 63, 1321.
- 29- Kupchan, S.M., Hemingway, R.j., Werner, D., Karim, A., Mcphail, A.T. and Sim, G.A. (1986). *J. Am. Chem. Soc.* 79, 3778.
- 30- Toubiana, R., Mompon, B., Ho, C.M. Toubiana, M.J. (1975). *Phytochemistry.* 14, 775.
- 31- Hanson, R.L., Hardy, H.A., Kupchan, S.M. (1970). *Science.* 168, 378.
- 32- Smith, C.H., Larner, J., Thomas, A.M., Kupchan, S.M. (1972). *Biochem. Biophys. Acta.* 276, 94.
- 33- Wanger, H. (1977). *In Biology and Chemistry of the Compositae* (Harborne, J. B. ed) p. 343.

- 34- François, G., Dochez, C., Jaziri, M. Lanrent, A. (1993). *Planta Med.* 59, 677.
- 35- Audier, H. E., Bengelmans, R., Das, B. C. (1966). *Tetrahydron Lett.* 4341.
- 36- Anjaneyula, A. S. R., Raju, S. N. (1978). *Phytochemistry.* 26.
- 37- Brooks, C. J. W., Knights, B. A., Sucrow, W., Raduchel, B. (1972). *Steroids.* 20, 487.
- 38- Akihisa, T., Shimizu, M., Ghosh, P., Thakur, S., Rosenstein, F. U., Tamura, T., Matsumoto, T. (1978). *Phytochemistry.* 26, 1693.
- 39- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes Médicinales.* 3ème edition. Tech et doc. Paris. p. 758.
- 40- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes Médicinales.* 3ème edition.tech et doc. Paris. p. 528.
- 41- Gonzalez, A.G., Darias, V., Boada, J. Alonso, G. (1977). *Planta Med.* 32, 282.
- 42- Fourie, T.G. Snyckers, F.O. (1989). *J. Nat. Prod.* 52, 1129.
- 43- Takahashi, K., Shibata, S.Y., Ano, S., Harada, M., Saito, H., Tmura, Y. Kumagai, A. (1980). *Chem. Pharm. Bull.* 28, 3449.
- 44- Metcalf, R. L., Metcalf, R.A. Rhodes, A. M. (1980). *Prod. Nat. Acad. Sci.* 77, 3769.
- 45- Yesilada, E., Tamaka, S., Sezik, E. Tabata, M. (1988). *J. Nat. Prod.* 51, 504.
- 46- Chen, K., Shi, Q. Kashiwada, Y. (1992). *J. Nat. Prod.* 55, 340.
- 47- Bywater, M. J. (1978). *Lab. Methods. Antimicrob. Chem. Ether.* 219.
- 48- Ymagishi, T., Zhang, D.C., Chang, J. J., Mcphail, D. R., Mcfail, A. T. Lee, K. H. (1988). *Phytochemistry.* 27, 3213.
- 49- Tokuyama, C. T., Hayashi, Y., Nishizawa, M., Tokaka, S., Chairul, S. M. Hayashi, Y. (1991). *Phytochemistry.* 30, 4105.
- 50- Yusukawa, K., Takido, M., Matsumoto, T., Takenchi, M. Nagakawa, S. (1991). *Oncology.* 48, 72.

- 51- Volisolalao, J., Bang, L., Beck, J. L. Qurisson, G. (1978). Bull. Soc. Chem. Fr. 473.
- 52- Connolly, J.D., Qverton, K. Polonsky. J. (1970). Phytochemistry. 2, 385.
- 53- Dreger, D. L. (1966) Phytochemistry. 5, 367.
- 54- Nabanishi, K., Koreeda, M., Sasaki, S., Chang, M.L. Hus, H.Y. (1966). Chem. Commun. 915.

1- عموميات على العائلة الرمرامية (Chenopodiaceae):

1-1- مقدمة:

العائلة الرمرامية (Chenopodiaceae) هي أسرة نباتية من الفصيلة القطيفية تضم الشمندر و السبانخ والسلق. كانت تصنف كفصيلة منفصلة قبل أن توضع حديثاً ضمن الفصيلة القطيفية. لها القدرة على التأقلم في مختلف الظروف المناخية.

تشمل الفصيلة الرمرامية 100 جنسا، تضم 1400 نوعا منتشرة في جميع أنحاء العالم، وخاصة في المناطق الجافة والملحية. كما أن نباتاتها تتواجد في بيئات قريبة من ساحل البحر تعرف هذه الفصيلة أيضا باسم الفصيلة السرمقية.

توجد أفراد هذه الفصيلة أساسا في المناطق القاحلة، الصحراوية، المواطن المالحة و الساحلية لشمال و جنوب إفريقيا، آسيا، استراليا، أوروبا و أمريكا الشمالية و الجنوبية [1] و في مناطق ملحية في العالم؛ مثل مناطق البحر الأبيض المتوسط وسواحل البحر الأحمر وغيرها. ولأن أفراد هذه الفصيلة تنمو في الأراضي الملحية، لها صفات النباتات الجفافية، كوجود الشعر أو أوراق مختزلة أو أنسجة خازنة وفي كثير من النباتات نجد أن الأوراق اسطوانية أو شبه اسطوانية. وقد تكون الأوراق أثرية والسيقان خالية منها ذات عقد ظاهرة.

يوجد في الجزائر 75 جنس من عائلة (Chenopodiaceae)، من بينها جنس *Salsola*، الذي يضم هو الآخر 17 نوعا، منتشرا في الصحراء [2] و هي:

S. brevifolia, *S. cruciata*, *S. foetida*, *S. fruticosa*, *S. glomerata*, *S. kali*, *S. mollis*

S. oppositifolia, *S. paletziana*, *S. pachoi*, *S. soda*, *S. sieberi*, *S. spinescens*

S. tetrandra, *S. tetragona*, *S. vermiculata*, *S. zygophylla*.

2-1- الوصف النباتي:

معظم نباتات هذه الفصيلة أعشاب حولية أو معمرة، شجيرات، أو شجيرات طويلة نوعا ما. معظمها توجد في الأراضي الملحية (نباتات ملحية).

السيقان: عشبية، خشبية أو عسارية في بعض الأجناس

الأوراق: متبادلة، وبعض الأحيان متقابلة أو شبه متقابلة، عديمة الأذينات، بسيطة. قد تكون الأوراق عسارية. وهي مسطحة أو اسطوانية إلى كروية. مختزلة إلى حراشف أو غائبة في بعض الأجناس و تكون مرتبة في ترتيب حلزوني، والأوراق عموما بسيطة لحمية.

النورة: محدودة ذات شعبتين تتحول في النهاية إلى وحيدة شعبة، وقد تكون وحيدة شعبة من البداية، ولا توجد قنابات غشائية للأزهار.

الأزهار: الغلاف الزهري: محيط واحد، غالبا ما يكون خماسي الأجزاء. وقد يكون أحيانا رباعي الأجزاء، أو غير ذلك السبلات عددها (2-5)، وقد تكون منفصلة أو ملتحمة.



الطلع: الأسدية عددها (2-5) تكون مقابلة للتويج. ويكون عددها مساوي لعدد الأوراق الزهرية. وقد يكون يختلف عدد الأوراق الزهرية وكذلك الأسدية في الجنس الواحد بل وفي النوع الواحد.

المتاع: عبارة عن كربلتين ملتحمتين، ونادرا ما يتكون من خمس كرابل، ويحمل المتاع قلما واحدا ينتهي بميسمين، والمبيض Ovary ذو مسكن واحد، يحوي بويضة واحدة كلوية الشكل. والمتاع علوي ولكن في بنجر السكر *Beta vulgaris* نصف سفلي.

الثمرة: تكون بندقية صغيرة أو فقيرة، محاطة بالغلاف الزهري المستديم بحيث تكون الثمرة محمية بفصوص الغلاف الزهري المستديم التي تكوّن أجنحة، وقد تنشق الثمرة شق مستعرض.

البذرة: البذرة إندوسبيرمية، والجنين إما دائري أو منحنى صغير أو حلزوني كبير يملأ فراغ البذرة. **التلقيح:** ذاتي، وقد يكون خلطي نتيجة لوجود أزهار وحيدة الجنس، والتلقيح الخلطي يكون هوائي بسبب صغر الأزهار ووفرة لقاحها، وتركيب أسديتها، وقد يحدث بسبب اختلاف وقت نضوج الأسدية والمياسم.

3-1- الصفات المميزة للفصيلة:

- النباتات عصيرية، ولا توجد قنابات غشائية .
- الأزهار صغيرة خضراء .
- المتاع ذو حجرة واحدة يحوي بويضة واحدة .
- الجنين لولبي أو منحنى.

4-1- الأهمية الاقتصادية لنباتات هذه الفصيلة :

تعتبر هذه الفصيلة مهمة اقتصاديا، حيث يمكن استخدام بعض نباتاتها كخضار عالية القيمة مثل السبانخ

Spinacia oleracea ونبات القينوى *Chenopodium quinoa* الذي يعد غذاء رئيس لسكان أمريكا الجنوبية، وهو نبات مغذي جدا. يتم الاستفادة من الجذور البيضاء من النوع *Beta vulgaris* لإنتاج سكر البنجر.

بعض أنواعها لها استخدامات طبية مثل نبات الرمرام *Chenopodium ambrosoides* لارتفاع نسبة المادة الفعالة في زيتته، ويعتبر زيت الرمرام أحسن أنواع الزيوت لطرد الديدان الحلقية والشريطية والخطافية، ويحتوي على 70 % من الأسكاريدول الذي له أثر فعال في تخدير الديدان والمساعدة على تخليص الجسم منها. ويستعمل نبات *Halaxylon ammodendron* بشكل واسع في ترميم البيولوجي للصحراء و هناك عدة أنواع مهمة تستعمل كالعلف للحيوانات خاصة في المناطق الصحراوية، الشبه صحراوية و المناطق السهلية [1].

2- دراسة ببليوغرافية لجنس *Salsola*:

1-2- وصف نباتي للجنس *Salsola*:

ينتمي الجنس *Salsola* إلى عائلة الرمرامية (Chenopodiaceae) و هو نوع من الأعشاب تكون على شكل شجيرات، شجيرات صغيرة أو شبه شجيرات. تنمو في إفريقيا، آسيا وأوروبا. هذا النوع من النباتات ينمو عادة في الأراضي ذات التربة الجافة أو القليلة الملوحة، كما توجد بعض الأنواع تنمو في المستنقعات المالحة. الدراسة الجينية الحديثة بينت أن هذا الجنس تقليديا هو paraphyletic، و أن هناك عدة أنواع على الأرجح سيتم تحولها إلى أجناس أخرى في المستقبل.

إقترح علماء النبات ضم أكثر من 100 نوع إلى الجنس *Salsola*، لكن ابتداء من عام 2007 سنة (06) فقط منها سجلت مدونة من طرف GBIF [Global Biodiversity Information Facilites].

2-2 - الخصائص البيولوجية للجنس *Salsola* و استعمالاته:

عدد كبير من أنواع *Salsola* صالح للأكل، حيث أن الأوراق و البراعم غالبا ما تستعمل على شكل سلطة، سوشي أو على شكل مقبلات، كما أن البذور هي الأخرى صالحة للأكل مع انه من الصعب جمع كمية كبيرة منها. هناك أنواع كثيرة من *Salsola* صالح للأكل في أوروبا، و النوع الأكثر انتشارا هو *Salsola soda* المعروفة في إيطاليا باسم Agretti.

حديثا تمكن فريق بحث بلجيكي من عزل المركب الذي يعرف إلى حد الآن باسم مجمع A من النوع *Salsola tuberculiformis* و هي شجيرة ناميبية الأصل.

هذه الجزيئة تملك خصائص مضادة للالتهاب تعادل تأثير المركب الدوائي Dexamethasone دون أن تظهر التأثيرات الجانبية التي تظهرها عادة المعالجة بمركبات Dexamethasone و Cortisone، و يمكن

أن يكون قاعدة لتطوير علاجات التهاب المفاصل الرثياني أو (داء الرثياني) و أمراض مناعة الذاتية أو (أمراض الإنضدادية).

حتى القرن التاسع عشر كانت هذه النباتات الملحية تستخدم لصناعة الصودا، التي يتم استغلالها في صناعة الصابون أو الزجاج.

عدة أنواع من جنس *Salsola* تحتوي على مركبات كيميائية لها فعالية مضادة للبكتيريا (antibactérien)، الفطريات (antifongique) و السمية الخلوية (Activité cytotoxique) [4,3]. قد تم عزل عدة أنواع من التربينات و القلويدات من جنس *Salsola*، تملك خصائص مضادة للأكسدة (antioxydant) و مثبطة لأنشطة التيروسينات (Activité tyrosinase) [6,5].

عدة أنواع من هذا الجنس تستعمل في علاج الأمراض الجلدية و تستخدم أيضا في منع الحمل [7]. جذور أنواع كثير من جنس *Salsola* تستعمل في الطب التقليدي.

تستعمل *Salsola* في الطب المحلي في علاج الدودة الشريطية (ténia) و في علاج عصي الأسنان (tooth sticks). ألياف جذور هذه الأخيرة تستعمل في علاج اللثة (طرد الطفيليات من اللثة).

تستعمل شجيرة *S. tuberculiformis* في تطويل فترة الحمل عند الأغنام و منع الحمل (تحديد النسل) عند الفئران [8]. و لقد اكتشف العالم Ploss سنة 1902 لأول مرة هذه الخاصية [9].

و الجدول (1) يوضح الفعالية البيولوجية لبعض أجناس *Salsola*.

الجدول 1 : الفعالية البيولوجية للجنس *Salsola*:

المرجع	النوع <i>Salsola</i>	النشاط
10	<i>S. inermis</i>	مضاد للأكسدة، مضاد للالتهابات
11	<i>S. collina</i>	مضاد للأكسدة و حماية الكبد
12	<i>S. vermicutata</i>	مضاد للأكسدة و مضاد للميكروبات
13	<i>S. oppositifolia</i>	نشاط السمية للخلايا Activité cytotoxique
14	<i>S. rosmarinus</i>	مضاد للبكتيريا
15	<i>S. kali</i>	مضاد للأكسدة
16	<i>S. komarovi</i>	مثبط للتيروسينات
17	<i>S. baryosma</i>	مضاد للأكسدة
18		مثبط لـ (Butyrylcholinestérase)

19	تثبيط نشاط تحويل أنزيم انجيوتنسين	<i>S. oppositifolia</i> <i>S. soda</i> <i>S. tragus</i>
20	مضاد للميكروبات	<i>S. tetrandra</i>

3-2- الدراسة الكيميائية للجنس *Salsola*:

بعد المسح الببليوغرافي لهذا الجنس وجدنا أنه غني بالمركبات الكيميائية التالية:

الفلافونويدات (Flavonoides) [22،23]، التريتربينات (Triterpenoides et leurs glycoside) [21]، الفلويديات (Alcaloides) [24]، الكومارينات (Coumarines) [25]، الشالكونات (Chalcones) [26]، الغوايانوليدات (Guaianolides) [27].

1-3-2- المركبات الفلافونيدية المعزولة من جنس *Salsola*:

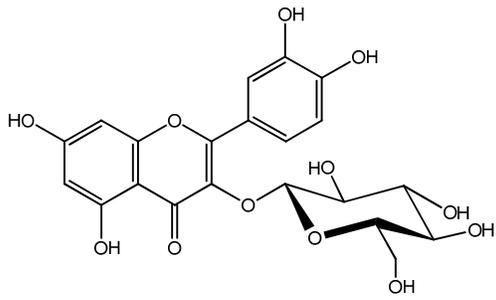
لقد تم استخراج عدة فلافونيدات من الجنس النباتي *Salsola* و قد سمحت الدراسة الببليوغرافية الممثلة في الجدول (2) بالتعرف على الفلافونيدات التي تم استخراجها من هذا الجنس.

الجدول 2 : المركبات الفلافونيدية المعزولة من جنس *Salsola*

المركبات المعزولة و رقم بنيتها	النوع	المرجع
- Quercétin 3-O-β-D-glucoside (1)	<i>S. collina</i>	30
- Isorhamnétin (2)	<i>S. collina</i>	30
- Isorhamnétin 3-O- β-D-glucoside (3)	<i>S. collina</i>	30
	<i>S. kali</i>	31
- Isorhamnétin 3-O-[α-rhamnosyl-(1 → 6)- β-D-glucoside (4)	<i>S. collina</i>	30
	<i>S. kali</i>	32
Isorhamnétin 3-O-rutinoside (5)	<i>S. blauca</i>	32
	<i>S. macera</i>	33
- Tricine (6)	<i>S. collina</i>	30
- Tricine 7-O- β-D-glucoside (7)	<i>S. collina</i>	30

- Threo-4'-O-(β -guaiacylglyceryl)tricine (8) - Erythro-4'-O-(β -guaiacylglyceryl)tricine (9)	<i>S. collina</i>	38
- 5,3'-dihydroxy-6,7,2'-trimethoxyisoflavone (10) - 5,8,3'-trihydroxy-7,2'-dimethoxyisoflavone (11) - 8,3'-dihydroxy-5,7,2'-trimethoxyisoflavone (12) - 5,6,3'-trihydroxy-7,2'-dimethoxyisoflavone (13) - 6,7,3'-trihydroxy-5,2'-dimethoxyisoflavone (14) - 5,8,3'-trihydroxy-2'-methoxy-6,7 methylendioxyisoflavone (15) - 3'-hydroxy-5,6,7,2'-tetramethoxyisoflavone (16) - 7,3'-dihydroxy-5,6,2'-trimethoxyisoflavone (17) - 6,3'-dihydroxy-5,7,2'-trimethoxyisoflavone (18)	<i>S. somalensis</i>	28
- 5,3'-dihydroxy-7,8,2'-trimethoxy isoflavone (19) - 5,3'-dihydroxy-2'-methoxy-6,7- methylenedioxyisoflavone (20) - 5,3'-dihydroxy-6,7,8,2'-tetramethoxyisoflavone (21)	<i>S. somalensis</i>	29
- Salisoflavane (22)	<i>S. imbricata</i>	41

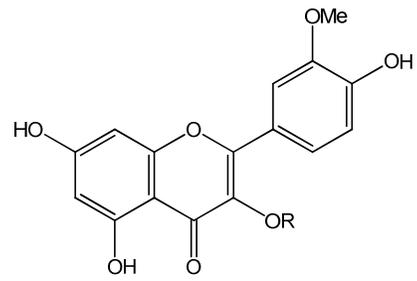
1



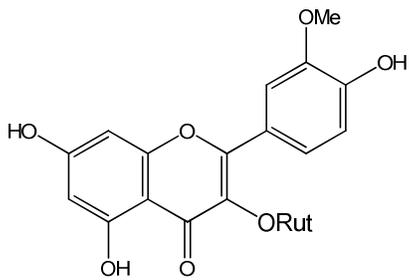
2 - R = H

3 - R = glucose

4 - R = rhamnosylglucoside

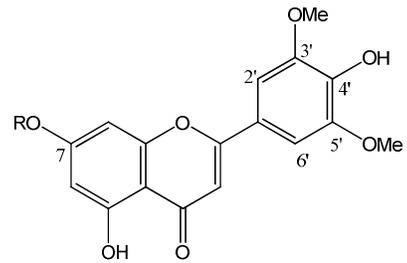


5

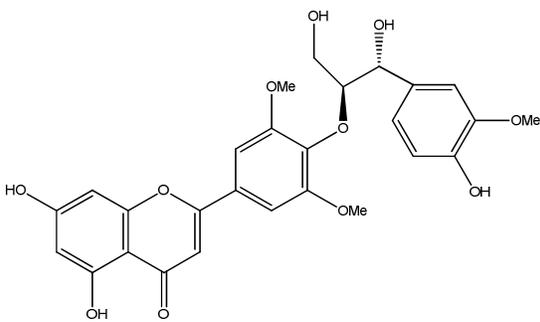


6 - R = H

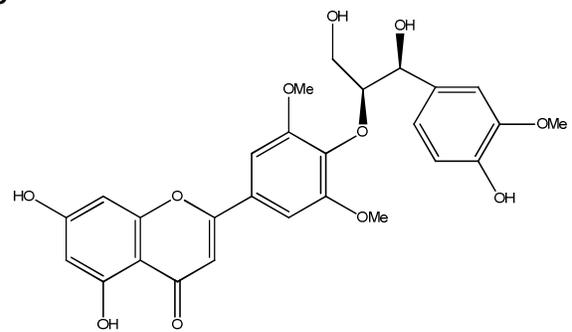
7 - R = glucose



8

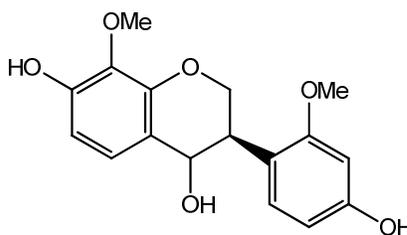


9



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
10	OH	OH	OMe	OMe	H
11	OH	OH	H	OMe	OH
12	OH	OMe	H	OMe	OH
13	OH	OH	OH	OMe	H
14	OH	OMe	OH	OH	H
15	OH	OH	OCH ₂	OCH ₂	OH
16	OH	OMe	OMe	OMe	H
17	OH	OMe	OMe	OH	H
18	OH	OMe	OH	OMe	H
19	OH	OH	H	OMe	OMe
20	OH	OH	OCH ₂	OCH ₂	H
21	OH	OH	OMe	OMe	OMe

22

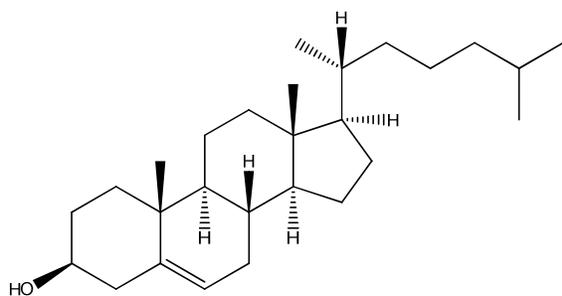
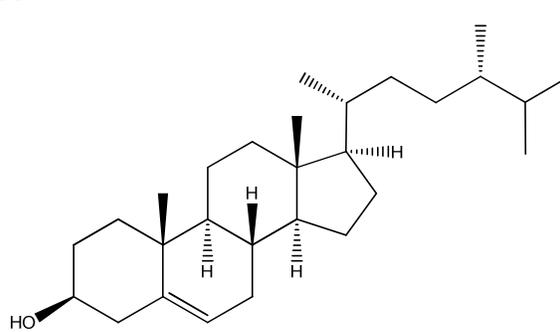
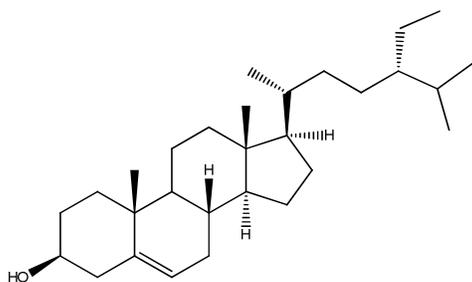
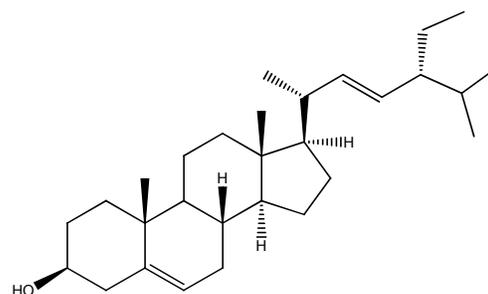
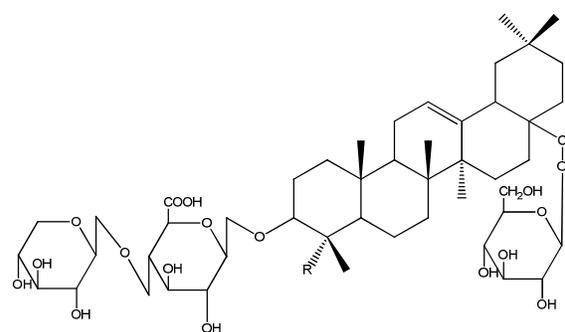
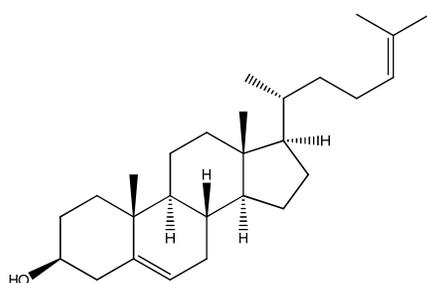


2-3-2- المركبات التربينية المعزولة من جنس *Salsola* :

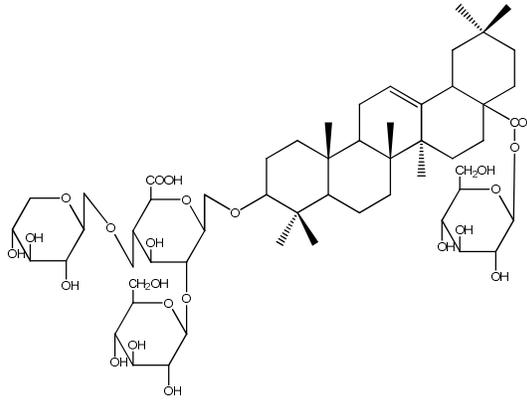
لقد أنجزت مجموعة كبيرة من الأعمال من قبل الباحثين لدراسة جنس *Salsola* و من بين المركبات التي لقيت عناية كبيرة هي المركبات التربينية، حيث تم عزل العديد منها و الجدول (3) يبين مسح للتربينات التي تم عزلها من جنس *Salsola*.

الجدول 3 : المركبات التربينية المعزولة من جنس *Salsola*

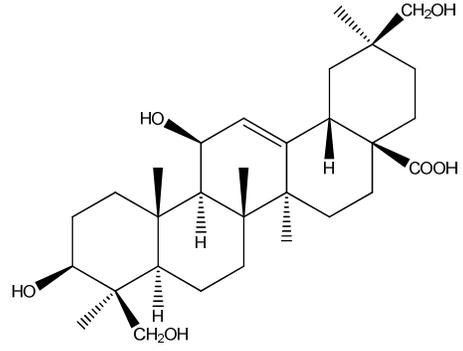
المركبات المعزولة	النوع	المرجع
- Cholesterol (23)	<i>S. collina</i>	35
- Campesterol (24)	<i>S. collina</i>	35 36
- β -sitosterol (25)	<i>S. collina</i> <i>S. collina</i> <i>S. baryosma</i>	35 36 42
- Stigmasterol (26)	<i>S. collina</i>	35 36
- Δ^{5-22} desmosterol (27)	<i>S. collina</i>	35
- Oleanolic acid 28-O- β -D-glucoside 3-O-[[β -D-xylosyl-1-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucuronoside] (28) - Hederagenin 28-O- β -D-glucoside - 3-O-[[β -D-xylosyl-1-(1 \rightarrow 4)- β -D- glucuronoside] (29)	<i>S. micranthera</i>	39
- Oleanolic acid 28-O- β -D-glucoside 3-O-[[β -D-glucosyl-1-(1 \rightarrow 2)] [[β -D-xylosyl-1-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucuronoside} (30)	<i>S. micranthera</i>	37
- 3 β ,11 β ,24,30-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid (31) - 3 β -6 α ,24-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid (32) - 3-O- β -D-Glucosyl-6 β ,11 β ,23,24-tetrahydroxyolean-12-en- 28-oic acid (33)	<i>S. baryosma</i>	42
- 1 α ,2 α ,3 β ,19 α ,23-Pentahydroxyurs-12-en-28-oic acid (34) - Stigmasterol glucoside (35) - β -Sitosterol glucoside (36)	<i>S. baryosma</i>	42

23**24****25****26****27****28- R = CH₃****29- R = CH₂OH**

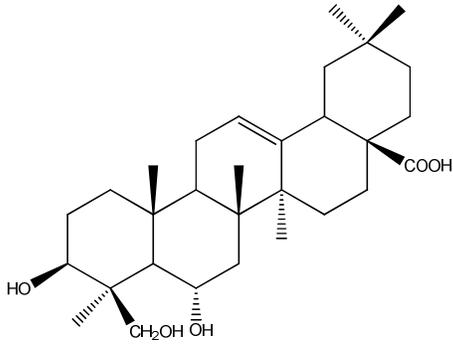
30



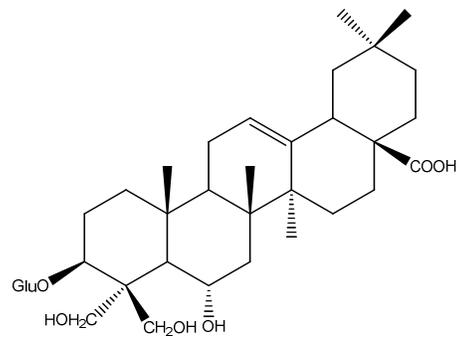
31



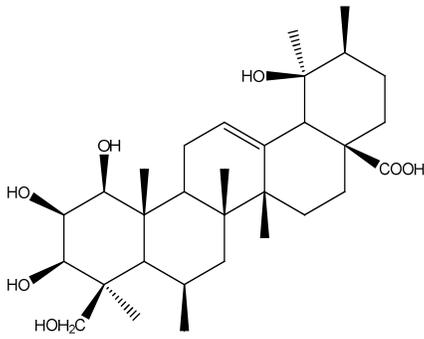
32



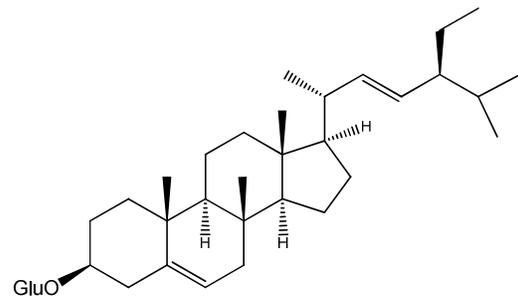
33



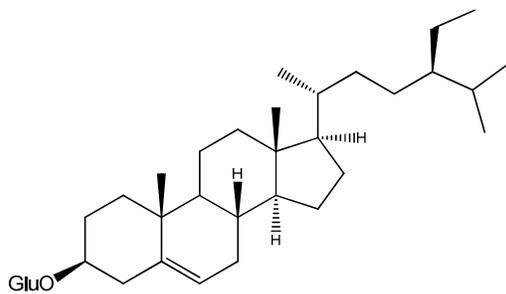
34



35



36



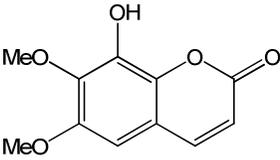
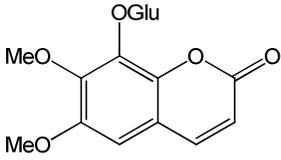
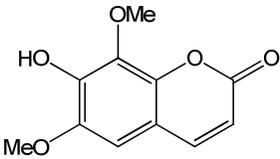
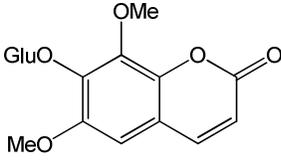
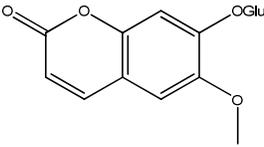
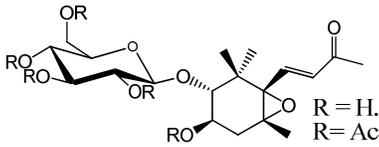
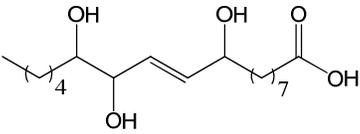
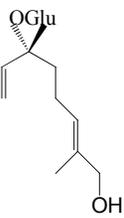
2-3-3- المركبات الأخرى المعزولة من جنس *Salsola* :

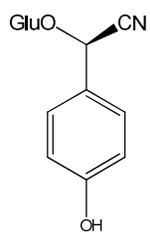
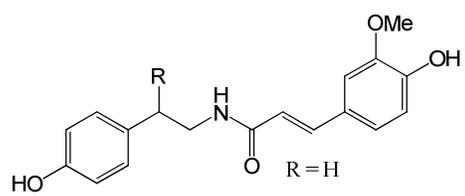
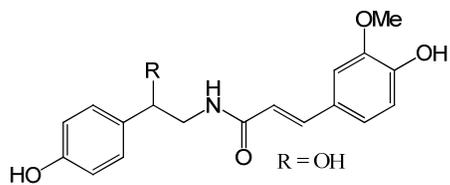
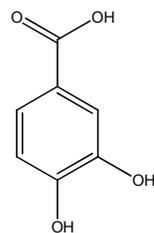
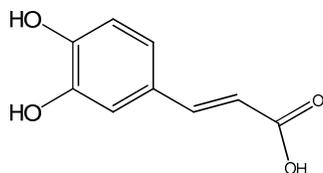
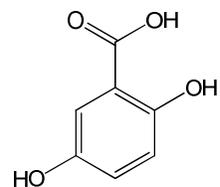
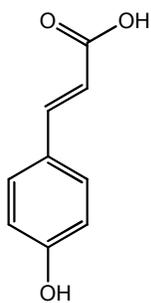
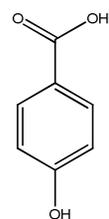
هناك مركبات أخرى تم عزلها من جنس *Salsola* مثل الكومارينات، الأحماض الدهنية و القلويدات من قبل الباحثين و نلخصها في الجدول (4).

الجدول 4 : مختلف المركبات المعزولة من جنس *Salsola*

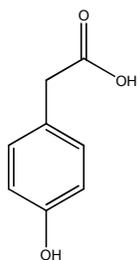
المركبات المعزولة	النوع	المرجع
- Fraxidine (38) - Fraxidin 8-O-β-D-glucoside (39) - Isofraxidine (40) - Isofraxidin 7-O-β-D-glucoside (41) - Scopoletin 7-O-β-glucoside (42)	<i>S. laricifolia</i>	31
- Acide 3α-hydroxy-5R,6R-epoxy-α-ionone-2R-O-β-D-glucoside (43) - 9,12,13-trihydroxyoctadec-10(E),dienoique (44) -9-hydroxylinaloyl glucoside (45) - Taxiphylline (46) - trans-N-feruloyltyramine (47) -S(-)-trans-N-feruloyloctopamine (48)	<i>S. tetrandra</i>	45
- acide Protocatechuique (49) - acide Cafeique (50) - acide Gentisique (51) - acide <i>p</i> -coumarique (52) - acide <i>p</i> -hydroxybenzoique (53) - acide <i>p</i> -hydroxyphenylacetique (54) - acide Syringique (55) - acide Vanillique (56)	<i>S. kali</i>	43

- acide Ferulique (57)		
- acide α -resorcylique (58)		
- Hydroxyphenylglycol (salsolide) (59)	<i>S. baryosm</i>	44
- Salisomide (60)	<i>S. imbricata</i>	41

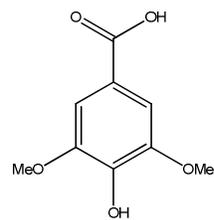
38 	39 
40 	41 
42 	43 
44 	45 

46**47****48****49****50****51****52****53**

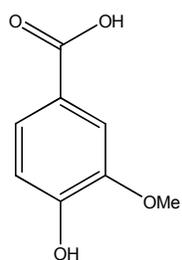
54



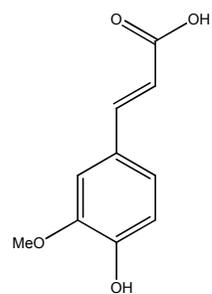
55



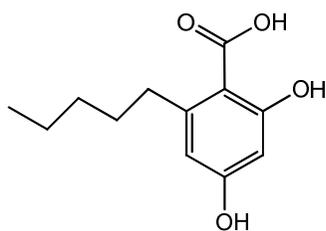
56



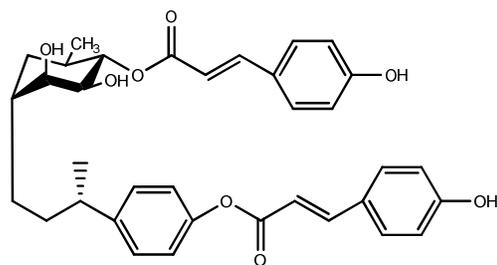
57



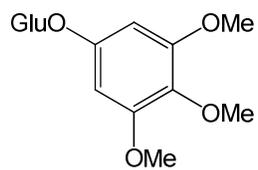
58



59



60



المراجع

- 1- Herbs-A Consise Guide in Colour, F. Stary. V. Jivasek, Hamyn. (1980). (London). 1.
- 2- <http://algerianativeplants.net>
- 3- Paxton, J.D., in "Methods in Plant Biochemistry" K. Hostettmann, Ed. (1991). Academic. Press. London. 6, p. 33.
- 4- Carron, R., Marran, A., Montero, J., Fernandezlago, L. Dominguez, A. (1987). *Plantas Med. et Phytother.* 21, 195.
- 5- Ahmad, Z., Mehmood, S., Fatima, I., Malik, A., Afza, N., Rashid, F., Mahmood, A. Iqbal, L. (2007). *Polish. J. Chem.* 81, 1427.
- 6- Ahmed, S., Ashraf, M., Jabbar, A., Janbaz, K.H., Khan, M.S. Gilani A.H. Choudhary, M.I. (2006). *J. Chem. Soc. Pak.* 28, 82.
- 7- Andhiwal, C.K. Kishore, K. (1984) *J. Ind. Chem. Soc.* LXI. 729.
- 8- Basson, P., Morgenthal, J.C., Bilbrough, R.B., Marais, J.L., Kruger, S.P. (1969). *J. Vet. Res.* 36, 59.
- 9- Brondegaard, V.J. (1973). *Planta Med.* 23, 167.
- 10- Ahlam, H., Mahmoud, Fatma, S., El-Sharbasy. (2007). *J. A. S. M. R.* 2(1), 45.
- 11- Vengerovskii, A. I., Melent'eva, A. N. Burkova, V. N. (2010). *Khim-Farmat. Zhurnal.* 44(3), 29.
- 12- Bouaziz, M., Dhouib, A., Loukil, S., Boukhris, M., Sayadi, S. (2009). *Afric. J. Biotech.* 8(24), 7017.
- 13- Tundis, R., Loizzo, M.R., Bonesi, M., Menichini, F. (2008). *Z. Naturforsch.* 63, 347.
- 14- Mahmoud, M.J., Jawad, A.M., Hussain, A.M., Al-Omari, M., Al-Naib, A. (1989). *Pharm. Biol.* 27(1), 14.
- 15- Riadh, K., Wided, M., Hanen, F., Nejla, T., Mondher, B., Abderrazak, S., Chedly, A. (2008). *Comp. Ren. Biol.* 331(11), 865.

- 16- Moon, J.Y., Yim, E.Y., Song, G., Lee, N.H., Hyun, C.G. (2010). *Euras. J. BioSci.* 4, 41-53.
- 17- Zaheer, Z., Sajid, M., Itrat, F., Abdul, M., Rehana, I., Nighat, A., Lubna, I., Mehreen, L., Nizami, Tanveer A. (2008). *Magn. Chem*, 46(1), 94.
- 18- Ahmad, Z., Mehmood, S., Ifzal, R., Malik, A., Afza, N., Rashid, F., Mahmood, A., Iqbal, L. (2007). *Polish. J. Chem.* 81(8), 1427.
- 19- Loizzo, M.R., Tundis, R., Statti, G.A., Passalacqua, Nicodemo G., Peruzzi, L., Menichini, F. (2007). *Nat. Prod. Res.* 21(9), 846.
- 20- Oueslati, M.H., Ben Jannet, H., Meghri, Z., Chriaa, J., Abreu, P.M. (2006). *J. Nat. Prod.* 69, 1366.
- 21- Annaev, C., Isamukhamedova, M., Abubaikirov, N.K. (1983). *Khim. Prir. Soedin.* 6, 127.
- 22- Mnatsakanyan, V.A., Agababyan, E.Yu. rutyunyan, L.S. (1981), *Khim. Prir. Soedin.* 5, 660.
- 23- Syrchina, I., gorshkov, A.G., Shcherbakov, V.V. (1992). *Chem. Nat. Compd.* 28, 384.
- 24- Wang, R.F., Yang, X.W., Ma, C.M., Cai, S.Q., Li, J.N., Shoyma, Y. (2004). *Hétérocycles.* 63, 1443.
- 25- Narantuyaa, S., Batsuren, D., Batirov, E.Kh., Molikov, V.M. (1986). *Khim. Prir. Soedin.* 2, 243.
- 26- Wollenweber, E. (1982). *Phytochemistry.* 21, 1462.
- 27- Talwar, K.K., Kalsi, P.S. (1989). *Phytochemistry.* 28, 1019.
- 28- Abegaz, B.M., Woldu, Y. (19 91). *Photochemistry,* 30(4), 1281.
- 29- Woldu, Y., Abegaz, B. (1990). *Photochemistry,* 29(6), 2013.
- 30- Syrchina, A.I., Vereshchagin, A.L., Larin, M.F., Semenov, A.A. (1989). *Khim. Prir. Soedin.* (5), 725.
- 31- Markham, K.R., Chari, V.M. (1982). *Chapman and Hall. London.* 19.

- 32- Tomas, F., Morenilla, A., Barberan, F.A.T. (1985). *Fitoterapia*. 56(6), 365.
- 33- Mnatsakanyan, V.A., Agababyan, E.Yu., Arutyunyan, L.S. (1981). *Khim. Prir. Soedin.* (5), 660.
- 34- Narantuyaa, S., Batsurén, D., Batirov, E.Kh., Malikov, V.M. (1986). *Khim. Prir. Soedin.* (2), 243.
- 35- Mayakova, T.I., Leont'eva, V.G., Zharkaya, T. I. Semenov, A.A., Kuznetsova, É É., Chupin, S. P. (1984). *Khim. Prir. Soedin.* (4), 531.
- 36- Syrchina, A.I., Vereshchagin, A.L., Semenov, A.A. (1989). *Khim. Prir. Soedin.* (5), 731.
- 37- Annaev, Ch., Isamukhamedova, M., Abubakirov, N.K. (1964). *Khim. Prir. Soedin.* (1), 65.
- 38- Syrchina, A.I., Gorshkov, A.G., Shcherbakov, V.V., Zinchenko, S.V., Vereshchagin, A.L., Zaikov, K.L., Semenov, A.A. (1992). *Khim. Prir. Soedin.* 2, 182.
- 39- Syrchina, A.I., Chernousova, A.V., Zaikov, K.L., Semenov, A.A. (1992). *Khim. Prir. Soedin.* (3,4), 439.
- 40- Annaev, Ch., Isamukhamedova, M., Abubakirov, N.K. (1983). *Khim. Prir. Soedin.* 6, 727.
- 41- Saleem, M., Akhter, N., Ali, M.S., Nazir, M., Riaz, N., Moazzam, M., Arshad, M., Jabbar, A. (2009). *Magn. Res. Chem.* 47(3), 263.
- 42- Ahmad, Z., Mehmood, S., Fatima, I., Malik, A., Ifzal, R., Afza, N., Iqbal, L., Latif, M., Nizami, T.A. (2008). *Magn. Res. Chem.* 46(1), 94.
- 43- Skolowska-Krzaczek, A., Skalicka-Wozniak, K., Czubkowska, K. (2009). *Acta Soc. Botan. Polon.* 78(3), 197.
- 44- Ahmed, S., Ashraf, M., Riaz, N., Choudhary, M.I., Maharvi, G.M., Afza, N., Khalid Hussain Janbaz, A.J., Shafiq Khan, M. (2008). *J. Chem. Soc. Pak.* 30(1), 110.

45- Oueslati, M.H., Ben Jannet, H., Meghri, Z., Chriaa, J., Abreu, P.M. (2006). J. Nat. Prod. 69, 1366.

1- مضادات الأكسدة:

- مدخل:

هي نظام دفاعي لحماية خلايا الجسم من أضرارها، وتتكون مضادات الأكسدة من بعض الإنزيمات التي يصنعها الجسم وبعض العناصر الغذائية التي يتناولها الإنسان ضمن طعامه اليومي وتعمل عناصر مضادات الأكسدة بإضافة كم هائل من الالكترونات إلى الأوعية الدموية مما يحقق التوازن للجذور الحرة، ومضادات الأكسدة تزيل الجذور الحرة بعد تكوينها ومقاومتها وتحويلها إلى صورة أخرى فاقدة للمقدرة على الأكسدة. الجذور الحرة عبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي في المدار الخارجي على إلكترون أعزب ($\text{OH}^\bullet, \text{O}^\bullet$)، ($\text{ClO}^\bullet, \text{ONOO}^\bullet, \text{NO}^\bullet, \text{RO}^\bullet, \text{ROO}^\bullet, \text{HOO}^\bullet, \text{N}^\bullet, \text{H}_2\text{O}_2$)، وهذا يجعلها تحاول استعادة الإلكترون المفقودة من مركبات الجسم الأخرى وبذلك تسبب تلف لخلايا الجسم عن طريق تكسير الحاجز الواقي الذي يحيط بالخلايا وذلك من خلال تفاعلها مع الدهون الفسفورية للأغشية الخلوية. مما يؤدي إلى إصابة كل شيء بالضرر بدءاً بالحامض النووي وحتى طبقة الكولاجين بالجلد .

- تعريف:

المضاد للأكسدة هو كل مادة متواجدة بأقل تركيز بالنسبة لتركيز Substrat oxydable، التي تؤخر أو تمنع أكسدة هذا Substrat [1]. كلمة Substrat oxydable تحوي كل المواد المتواجدة في الخلايا الحية كالبروتينات، الدهون، المركبات الهيدروكربونية و الأحماض النووية. و يمكن للمضادات للأكسدة أن تعمل بعدة ميكانيزمات مختلفة التي يمكن أن تكون الحذف المباشر للأكسجين ، صيد الأنواع الأكسجينية أو الأزوتية الفعالة NOS و ROS ، تثبيط تكوين أنواع ROS و NOS، إزالة الأيونات المعدنية الضرورية لتكوين ROS أو حث الدفاع الداخلي المضاد للأكسدة [1]. إن لفظي الأنواع الأكسجينية و الأزوتية الفعالة تحوي كل الجذور الحاملة للأكسجين أو الأزوت، و أيضا بعض المركبات اللغير جذرية التي هي عوامل مؤكسدة و/أو التي هي سهلة التحول إلى عناصر جذرية. هذا النوع الثاني يحتوي خاصة على بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 و بيروكسي نترت NO_3^- .

1-1- عائلة الجزيئات ذات الفاعلية المضادة للأكسدة:

إن الأنظمة الخلوية الدفاعية ضد الهجمات الجذرية تتكون من إنزيمات خاصة و التي هي (SOD، GPX)، (CAT) ، و الجزيئات " الصغيرة " ذات مصدر غذائي كفيتامين E و فيتامين C. هناك مركبات أخرى ذات مصدر غذائي ذات فعالية مضادة للأكسدة جد هامة. من بينها Carotenoids و المركبات الفينولية التي تحتوي على الأحماض الفينولية، الفلافونيدات و tanins.

2-1- الأسباب البيئية المسببة لتكوين الجذور الحرة:

- أشعة التآين الصادرة من الصناعة .
- التعرض لأشعة الشمس والأشعة الكونية .
- أشعة X.
- الأوزون ،عوادم السيارات ، المعادن الثقيلة (الزئبق ،الكاديوم ،الرصاص، الكيماويات الأخرى).
- التدخين .
- تعاطي المشروبات الكحولية .
- الدهون غير المشبعة والكيماويات التي تلوث الماء والهواء والغذاء ومبيدات الحشرات.

3-1- أضرار الجذور الحرة:

- زيادة سرعة أعراض الشيخوخة.
- أمراض القلب والأوعية الدموية.
- أمراض الجهاز الهضمي.
- أمراض العيون واضطرابات الرؤية.
- أمراض الكلى.
- الأمراض الجلدية.
- الاضطرابات العصبية.
- أمراض الكبد. [2،3]

المراجع

- 1-Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., Aruoma, OI. (1995). The characterization of antioxidants. Food. Chem. Toxicol. 33 (7), 601.
- 2- Drog, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Cell Physiol. 82, 42.
- 3- Ciulel, I. (1983). Methodology for analysis of vegetable drug. Romania. 1

1- الدراسة النباتية

1-1 المادة النباتية:

تم قطف و جمع النبتة في أواخر شهر ماي من سنة 2009 وقد تعرف عليها البروفسور Gérard de Bélair (جامعة عنابة) ، أجريت لها عملية التجفيف بوضعها في أماكن خاصة تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة، بعد ذلك طحنت فكانت الكتلة المتحصل عليها 1989 غ.



صورة فوتوغرافية لنبتة : *Salsola tetragona*

1-2- وصف النبتة:

Salsola tetragona نبات شجيري لا يتعدى ارتفاعه 50 سم، أوراقه متقابلة، قصيرة، حرشفية، رمادية، زغبية، كثيفة على الغصن. الغصون رباعية الزوايا (*Salsola tetragona*) أو شبه أسطوانية (*Salsola tetrandra*)، ينتشر في المناطق الصحراوية من المحيط إلى شبه الجزيرة العربية.

3-1- التصنيف النظامي للنبتة:

Royaume	Plantes	المملكة
Sous royaume	Caryophyllidae	تحت المملكة
Embranchement	Spermatophytae	الفرع
Division	Magnoliophytes	القسم
Classe	Magnoliopsidae	الصف
Sous- classe	Caryophyllidae	تحت الصف
Ordre	Caryophyllales	الرتبة
Famille	Chenopodiaceae	العائلة
Genre	<i>Salsola</i>	الجنس
Espèce	<i>Salsola tetragona</i> Del.	النوع

2- الدراسة الكيميائية :

1-2- استخلاص النبتة:

بعد تنقية النبتة تم طحنها، فكان وزنها (1989 غ)، تم نفعها بعد ذلك في خليط هيدروكولي من الايثانول والماء (2:8) لمدة 24 ساعة، بعد عملية الترشيح قمنا بتركيز الراشح عند درجة حرارة 35 م°، كررت هذه العملية 3 مرات للحصول على مستخلص الخام وزنه (380 غ) .
بعد ذلك خفف المستخلص الخام بالماء المقطر (900 مل) لإجراء عملية استخلاص سائل- سائل و نلخص هذه العملية في المخطط التالي:

مسحوق نبتة *Salsola tetragona* (1189 غ)

1- إستخلاص بواسطة (8/2) MeOH/ H₂O
2- تبخير المستخلص الهيدروكحولي.

المستخلص الخام

1- معالجته بالماء 900 مل.

الطور المائي

استخلاص بواسطة إيثر البترول 3 مرات (300 مل)

مستخلص الإيثر البترول 0.66 غ

الطور المائي

استخلاص بواسطة الكلوروفورم (CHCl₃)
3 مرات (300 مل)

مستخلص الكلوروفورم (CHCl₃) 2.64 غ

الطور المائي

استخلاص بواسطة اسيتات الاثيل (AcOEt)
3 مرات (300 مل)

مستخلص الاسيتات (AcOEt) 6.55 غ

الطور المائي

إستخلاص بواسطة البيتانول (n-BuOH) 3
مرات (300 مل)

طور البيتانول (n-BuOH) 30.5 غ

الطور المائي

مخطط عام لاستخلاص الفلافونيدات و نواتج أخرى

2-2- طريقة الفصل و التنقية:

2-2-1- دراسة المستخلص الأسياتي:

قبل الشروع في عملية الفصل قمنا بإجراء فحص تحليلي بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) و ذلك لتحديد المملص الذي يعطي فصل جيد، فكان بالنسبة لهذا المستخلص الكلوروفورم مع إشباعه تدريجيا بالميثانول.

و قد تم اختيار تقنية كروماتوغرافيا العمود السريعة (VLC)، لغرض فصل مكونات المستخلص، و ذلك باستعمال السيليكاجال كدعامة ثابتة أما المملص فكان الكلوروفورم مع إشباعه تدريجيا بالميثانول. وضعنا المستخلص الذي يزن (6.55 غ) على شكل صلب في العمود لتبدأ عملية الفصل الأولية، حيث كان يتراوح حجم الكسور بين 300 مل إلى 600 مل و الكسور المحصل عليها مدونة في الجدول (1).
الجدول 1 : الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي للمستخلص الأسياتي.

الملاحظة	النظام %		الحجم (مل)	رقم الكسور
	CHCl ₃	MeOH		
خليط معقد	100	0	600	L ₁
خليط قابل للفصل	80	20	600	L ₂
خليط قابل للفصل	50	50	450	L ₃
خليط قابل للفصل	20	80	300	L ₄
بقايا	0	100	600	L ₅

باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) في النظام ((MeOH)/(CHCl₃)) بالنسب (2-8) للكسور المتحصل عليها في الجدول 1، تم جمعها كما يلي الجدول (2).

الجدول 2 : الكسور المحصل عليها بعد عملية الجمع.

الملاحظة	الكسور بعد جمعها	الكسور
خليط معقد	S ₁	L ₁
خليط من ثلاث مركبات	S ₂	L ₂ → L ₄
بقايا	S ₃	L ₅

بعد معالجة الكسور و جمعها كما في الجدول 2 لاحظنا أن المركبات الموجودة في الكسر S2 قابلة للفصل و ذلك باستخدام تقنية كروماتوغرافيا العمود، مستعملين السيليكاجال كدعامة ثابتة أما المملص فكان الكلوروفورم مع إشباعه تدريجيا بالميثانول.

- معالجة الكسر S2:

يؤخذ العمود الكروماتوغرافي و يثبت بواسطة حامل و يوضع القطن في الأسفل و يعبأ بالطور الثابت المشبع بالمذيب الأقل قطبية و هو الكلوروفورم (CHCl₃). يوضع القليل من الرمل الخاص (Sable de fontainebleau) حوالي 1 سم و هذا لتسوية السطح جيدا. يوضع الكسر S₂ (4.07غ) بشكل صلب في أعلى العمود الكروماتوغرافي، يضاف بعدها المملص الذي يكون في البداية الكلوروفورم (CHCl₃ 100 %) ، ثم نرفع قطبيته تدريجيا بإضافة الميثانول إلى غاية الوصول إلى 100 % ميثانول. يتم استقبال الكسور، و تركز تحت ضغط منخفض. باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)، تم جمع الكسور المتشابهة حيث أعطت النتائج الملخصة في الجدول (3).

الجدول 3 : الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي للكسر S2.

الملاحظة	النظام %		اسم الكسر	الكسور
	ميثانول	كلوروفورم		
خليط معقد غير قابل للفصل	0	100	F1	26-1
خليط معقد	3	97	F2	64-27
راسب + خليط معقد	3	97	F3	67-65
خليط معقد	3	97	F4	96-68
خليط قابل للفصل	5	95	F5	132-97
خليط قابل للفصل	20	80	F6	152-133
خليط غير قابل للفصل	30	70	F7	180-153
خليط معقد	40	60	F8	205-181
بقايا	50	50	F9	224-206
لاشيء	100	0	F10	230-225

يتميز الكسر (F3: 750 مغ) بوجود مركب رئيسي على شكل راسب أبيض، لمعالجة هذا الراسب قمنا بترشيحه و غسله بدفقات متتالية من الميثانول لنتحصل عليه في صورته النقية و كان وزنه بعد التجفيف (25 مغ) و هو المركب (St1).

بعد مقارنة الكسرين F5 و F6 المتحصل عليهما من الكسر S2 للمستخلص الأسياتي مع المستخلص البيتانولي باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) في نظام كلوروفورم – ميثانول (8-2)، وجدنا أنهما متشابهان فقمنا بجمعهما و معالجتهما مع الطور البيتانولي.

2-2-2- دراسة المستخلص البيتانولي:

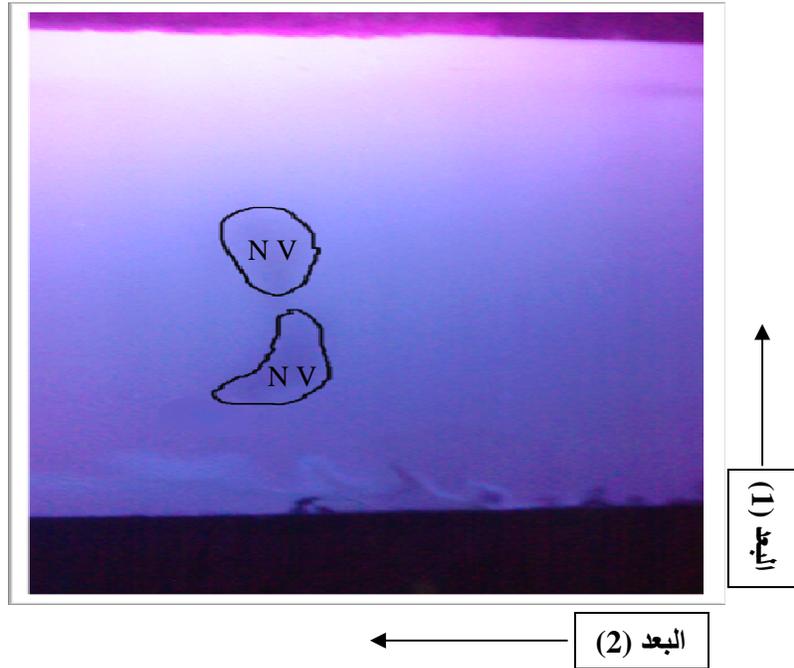
قبل الشروع في عملية الفصل قمنا بإجراء فحص تحليلي بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) ثنائية البعد للمستخلص البيتانولي باستخدام جملة المذيبات التالية:

- الطبقة العضوية

البعد (1): Toluene/MeOH/MEC (4/3/3)

البعد (2): H₂O/MeOH/MEC/Acetylacetone (13/3/3/1)

قمنا برسم الخريطة الكروماتوغرافية، التي تبين توزيع المركبات الموجودة في المستخلص البيتانولي، و ذلك بالاستعانة بمصباح الأشعة فوق بنفسجية (UV):



رسم يبين الخريطة الكروماتوغرافية ثنائية البعد للمستخلص البيتانولي

أخذنا من المستخلص البيتانولي كتله وزنها (12 غ) و أجرينا لها عملية فصل باستعمال كروماتوغرافيا العمود، مستعملين البولي أميد كدعامة ثابتة أما المملص فكان الطويلان مع إشباعه تدريجيا بالميثانول، و نتيجة لهجرة الحزم المفصولة التي نتبع تطورها بواسطة مصباح الأشعة فوق البنفسجية نغير قطبية المملص في كل مرة.

وضعنا المستخلص على شكل صلب، و كان حجم الكسور المتحصل عليها بين 200-250 مل، و التي دونت في الجدول (4).

الجدول 4 : الكسور المتحصل عليها من المستخلص البيتانولي

الملاحظة	النظام %		اسم الكسر	الكسور
	ميثانول	توليان		
خليط معقد غير قابل للفصل	0	100	B1	11-1
خليط معقد كمية قليلة	2	98	B2	14-12
خليط معقد	5	95	B3	17-15
خليط معقد	10	90	B4	20-18
خليط قابل للفصل	15	85	B5	31-21
خليط قابل للفصل	20	80	B6	37-32
خليط قابل للفصل	25	75	B8	43-38
خليط قابل للفصل	30	70	B9	48-44
خليط قابل للفصل	35	65	B10	53-49
مركب غير نقي	45	55	B11	60-54
مركب غير نقي	55	45	B12	65-61
مركب غير نقي	65	35	B13	70-66
بقايا	75	25	B14	75-71
لاشيء	100	0	B15	82-76

تم اختبار الكسور المتحصل عليها في الجدول 4 باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) في نظام كلوروفورم - ميثانول (2-8)، تم جمع الكسور المتشابهة حيث أعطت النتائج الملخصة في الجدول (5).

الجدول 5 : جمع الكسور المتشابهة المتحصل عليها في الجدول 4.

الكسور	الكسور بعد جمعها	الملاحظة
11-1	StB1	خليط معقد غير قابل للفصل
14-12	StB2	خليط معقد (كمية قليلة)
17-15	StB3	خليط معقد
20-18	StB4	خليط معقد
53-21	StB5	خليط قابل للفصل
70-54	StB6	مركب غير نقي
75-71	StB7	بقايا
82-76	StB8	لاشيء

2-2-2-1- معالجة الكسر StB6:

تبين كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لهذا الكسر وجود مركب واحد في حالة غير نقية (100 مغ) باستعمال كروماتوغرافيا العمود، مستخدمين البولي أميد كدعامة ثابتة و الطوليان كمملص ثابت مع إشباعه تدريجياً بالميثانول استطعنا الحصول على (18 مغ) من المركب (St2) في شكل نقي.

2-2-2-2- معالجة الكسر StB5:

يؤخذ العمود الكروماتوغرافي و يثبت بواسطة حامل و يوضع القطن في الأسفل و يعبأ بالطور الثابت المشبع بالمذيب الأقل قطبية وهو الكلوروفورم ($CHCl_3$)، يوضع الكسر StB5 (1.1 غ) بشكل صلب في أعلى العمود الكروماتوغرافي، يضاف بعدها المملص الذي يكون في البداية الكلوروفورم ($CHCl_3$ 100 %) ، ثم نرفع قطبيته تدريجياً بإضافة الميثانول إلى غاية الوصول إلى 100 % ميثانول. يتم استقبال الكسور، و تركز تحت ضغط منخفض، باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)، تم جمع الكسور المتشابهة حيث أعطت النتائج الملخصة في الجدول (6).

الجدول 6 : الكسور المتحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي للكسر StB5.

الملاحظة	النظام %		اسم الكسر	الكسور
	ميثانول	كلوروفورم		
خليط معقد غير قابل للفصل	0	100	StF1	26-1
مركب رئيسي	10	90	StF2	64-27
خليط غير قابل للفصل	20	80	StF3	80-65
بقايا	30	70	StF4	89-81
لاشيء	100	0	StF5	102-90

لتنقية المركب الرئيسي الموجود في الكسر (StF2: 68 مغ) قمنا بإجراء كروماتوغرافيا العمود مستعملين البولي أميد كدعامة ثابتة أما المملص فكان الطوليان مع إشباعه تدريجيا بالميثانول، فتحصلنا على المركب (St3 = 15 مغ) في صورته النقية.

3- الإماهة الحمضية:

للتعرف على السكريات المرتبطة بالمركبات الجليكوزيدية المتحصل عليها قمنا باستعمال طريق الإماهة الحمضية.

طريقة العمل:

➤ نأخذ (0.5 مل) من الفلافونيد الجليكوزيدي المذاب في الميثانول، يضاف له 2 ملل من حمض الكلور بتركيز 2 نظامي في أنبوبة اختبار و يسخن المزيج في حمام مائي لمدة ساعة تحت درجة حرارة 100 °م.

➤ يستخرج الأنبوب و يترك ليبرد ثم نقوم بعملية الاستخلاص من نوع سائل - سائل، نستعمل أولا الإيثر ثنائي الإيثيل حيث نضع 2 ملل من المذيب العضوي في الأنبوب و نخلط جيدا ثم نفصل الطبقة العضوية عن المائية، و تكرر العملية ثلاث مرات، حيث يتواجد الجزء الأجليكوني في الطبقة العضوية و السكر يكون في الطور المائي، و للتأكيد من عدم بقاء أي جزء أجليكوني أو جليكوزيدي لم يتم فصله نقوم بعملية استخلاص ثانية بأستات الإيثيل ثلاث مرات و بواسطة البوتانول مرة أو أكثر.

➤ تجمع الطبقات العضوية كلا علي حدا و تركز تحت ضغط منخفض ثم يتم تحليل الجزء الاجليكوني المنفصل عن الجليكوزيد بتسجيل طيف UV في الميثانول و أحيانا نلجأ إلي أجزاء السلسلة الطيفية مع كل الكواشف، وهذا حسب موضع السكر في المركب كما نقوم بإجراء إختبار كروماتوغرافي (CCM) مع شواهد أجليكونية، نشير إلى أنه يكفي أن نحلل الطور إيثر ثنائي الإيثيل.

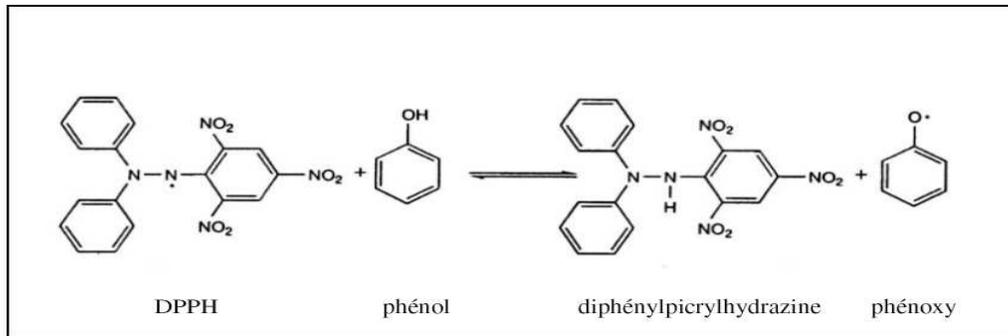
➤ من اجل التعرف على الجزء السكري المنفصل عن الجليكوزيد يتم أولا تحضير الصفيحة الكروماتوغرافية، التي تكون من البولي أميد، ترش هذه الأخيرة بمحلول (NaH₂PO₄) بتركيز 0.1 نظامي و تترك لتجف في الهواء ثم توضع في الفرن لمدة ساعة تحت درجة حرارة 100 °م، فتصبح الطبقة جاهزة للاستعمال.

➤ بواسطة ماصة شعرية توضع نقاط من الطبقة المائية المحتوية علي السكر حتي تركز مع شواهد سكرية معروفة، و نحضر النظام أستون - ماء (9 : 1) لتمليص المركبات، بعد ذلك يجفف و يرش بكاشف ملونات الأنيلين و يترك ليحجف ثم يوضع في الفرن لمدة 5 دقائق دائما تحت حرارة 100 °م أين تبدأ بقع السكريات بالظهور فتكون بنية في الضوء المرئي و صفراء تحت مصباح UV. كل سكر يكون له R_f خاص به.

4- قياس فاعلية ضد الأكسدة باستعمال DPPH:

1- مبدأ التفاعل [1]:

يعتمد هذا التفاعل على أساس إرجاع جذر الـ DPPH للجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين للمستخلص النباتولي (الجزيئات المضادة للأكسدة)، حيث يتم إرجاع جذر DPPH باقتناصه لذرة هيدروجين إلى مركب DPPH-H ويصاحب ذلك تغير في اللون من البنفسجي إلى الأصفر، يترجم هذا التغير بنقص في الامتصاص بدلالة الزمن عند طول موجة 517 نم. وهذا حسب التفاعل التالي :



الشكل(1):تفاعل الـ DPPH مع الفينول

2- طريقة العمل:

- تم تحضير محلول ميثانولي ذو تركيز $C1 = 40$ مغ/مل للمستخلص البيتانولي، وانطلاقاً من هذا الأخير حضرت التخفيفات التالية $C2 = 20$ مغ/مل، $C3 = 3$ مغ/مل، $C4 = 2$ مغ/مل، $C5 = 1$ مغ/مل، $C6 = 0.5$ مغ/مل، $C7 = 0.25$ مغ/مل، $C8 = 0.125$ مغ/مل.

- في أنابيب اختبار اخذ حجم قدره $30 \mu l$ لكل تركيز من تراكيز المحلول الميثانولي للمستخلص البيتانولي (كل تركيز على حدا) ويضاف له 3 مل من المحلول الميثانولي لجذر الـ $(C_{18}H_{12}N_5O_6, M=394.33)$ DPPH بتركيز 100 ميكرومول/لتر ($100 \mu M$)، بعد الخلط الجيد يوضع الخليط التفاعلي في الظلام لمدة 15 دقيقة وفي درجة حرارة المخبر، ثم تقرا الكثافة الضوئية عند 517 نانومتر مقابل الشاهد المحضر في نفس الشروط التجريبية لكن باستعمال الميثانول بدلا من محلول المستخلص.

- إن التراكيز التي تأخذ بعين الاعتبار لتقييم النشاط الأيوني للجذر DPPH هي تلك الموجودة في الخليط التفاعلي أي بعد التخفيف، فالتركيز $C1 = 40$ مغ/مل يوافق التركيز التالي:

التركيز قبل التخفيف \times الحجم قبل التخفيف = التركيز بعد التخفيف \times الحجم بعد التخفيف

40 مغ/ل $\times 0.030$ مل ($30 \mu l$) = التركيز بعد التخفيف $\times 3.030$ مل

التركيز بعد التخفيف أو في الخليط التفاعلي هو: 0.396 مغ/مل

- تتم مقارنة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص البيتانولي بتلك الخاصة بالفلافونويد التجاري Quercétine حيث حدد النشاط المضاد للأكسدة لهذا الأخير بنفس البروتوكول التجريبي الخاص بالمستخلص.

3- تقييم النشاط الأيسر للجذور الحرة

لتقييم النشاط المضاد للأكسدة، حددت قدرة المستخلص البوتانولي على اسر و التقاط الجذور الحرة بالنسبة المئوية لإرجاع الجذر الحر الثابت DPPH ومقارنة هذه النسبة بتلك الخاصة بـ Quercétine.

• تحدد النسبة المئوية لإرجاع الجذر الحر الثابت DPPH بالعلاقة التالية:

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\text{blank} - \text{sample}}{\text{blank}} \times 100$$

حيث:

Blank: الكثافة الضوئية لجذر DPPH في المحلول الميثانولي.

Sample: الكثافة الضوئية لجذر DPPH بحضور المستخلص البيتانولي في المحلول الميثانولي.

5- تحديد المركبات الفينولية التامة (Folin Ciocalteu):

تتنتمي المركبات الفينولية إلى نواتج الأيض الثانوي تتميز بوجود حلقة عطرية التي تحمل مجموعات الهيدروكسيل حرة أو غير حرة، و هي مشتقات غير آزوتية حيث تتركب الحلقات العطرية بشكل أساسي من تفاعلات لحمض الشكليك.

1- مبدأ التفاعل:

تعتمد هذه المعاييرة على تحديد المركبات الفينولية المتواجدة في النبات، و يعبر عن النتيجة بالنسبة المئوية للمركبات الفينولية (غ / 100 غ من pyrogallol)، تقارن هذه النتيجة عنها بمركب مرجعي هو Pyrogallol. استعملت في هذه التجربة طريقة Folin-Ciocalteu [3،2].

2- طريقة العمل:

أ- قياس الكثافة الضوئية لـ pyrogallol:

- نأخذ كمية m_2 (50 مغ) من pyrogallol، نضيف إليه 100 مل من الماء المقطر، نجري عليها عملية تخفيف (20/1) نتحصل على المحلول A.
- في أنبوب آخر نضع 2 مل من المحلول A.
- نضيف على التوالي:

- 1 مل من Réactif Folin-Ciocalteu

- 10 مل من الماء المقطر

- 12 مل (290 غ / لتر) من Carbonate de sodium

- بعد الخلط جيدا يوضع هذا الأنبوب في الظلام مدة 30 دقيقة

- نقرأ DO (الكثافة الضوئية) عكس الماء المقطر و ذلك على طول موجة 760 nm.

ب- قياس الكثافة الضوئية للمستخلص البوتانولي:

- نأخذ كمية m من مستخلص البوتانولي، نضيف إليه 2 مل من الميثانول و 13 مل من الماء المقطر و بالتالي نحصل على محلول B .

- في أنبوب آخر نضع 2 مل من المحلول B.

- نضيف على التوالي:

- 1 مل من Réactif Folin-Ciocalteu

- 10 مل من الماء المقطر

- 12 مل (290 غ / لتر) من Carbonate de sodium

- بعد الخلط الجيد يوضع هذا الأنبوب في الظلام مدة 30 دقيقة .
- نقرأ DO (الكثافة الضوئية) عكس الماء المقطر و ذلك على طول موجة 760 nm.
- تحسب نسبة المركبات الفينولية الممثلة في الجدول -2- كما يلي :

1 - حساب m1:

$$m1 = (m \times 25 \times 50) / 15$$

2 – حساب Polyphénols totaux (%) حسب المعادلة التالية:

حيث:

$$\text{Polyphénols totaux} = \frac{(62.5 \times DO_1 \times m_2)}{DO_2 \times m_1}$$

m1 : كتلة المستخلص البوتانولي

DO1 : الكثافة الضوئية للمستخلص البوتانولي

m2 : كتلة الـ pyrogallol

DO2 : الكثافة الضوئية للـ pyrogallol

المراجع

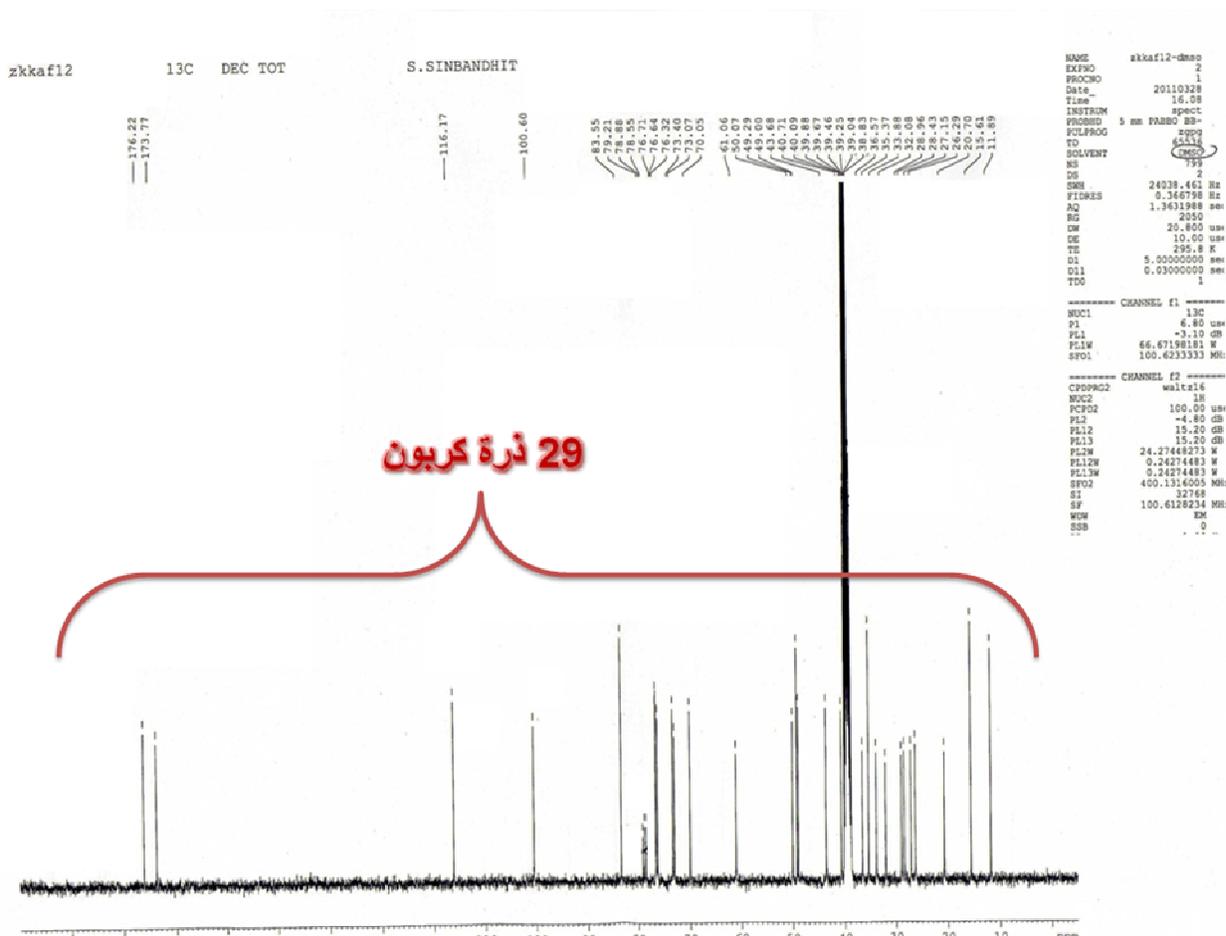
- 1- Koleva, Van Beek T.A., Linssen, J.P.H. (2002). Extracts for antioxidant activity : a comparative study on three testing methods. *Phytochem. Analysis.* 15, 8.
- 2- Kujala, T. S., Loponen, J. M., Klika, K. D., Pihlaja, K. (2000). Phenolic and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *Food Chem.* 48, 5338.
- 3- Sanchez-Moreno, C., Satué-Garcia, M. T., Frankel, E. N. (2000). Antioxidant activity of selected spanish wines in corn oil emulsions. *Agric. Food. Chem.* 48, 5581.

3- الدراسة البنوية للمركب St1

- نلاحظ في طيف الكتلة لهذا المركب أيون جزيئي عند m/z (599.2883) والذي يوافق الصيغة المجملة $C_{29}H_{44}O_9$. و هو مركب يحتوي على 7 وحدات من عدم التشبع (7 insturations).

الكربون ^{13}C (RMN):

اثبت طيف ^{13}C RMN (DMSO, 100MHz) الشكل (9) للمركب St1 عن وجود 29 ذرة كربون في هذه الجزيئة.

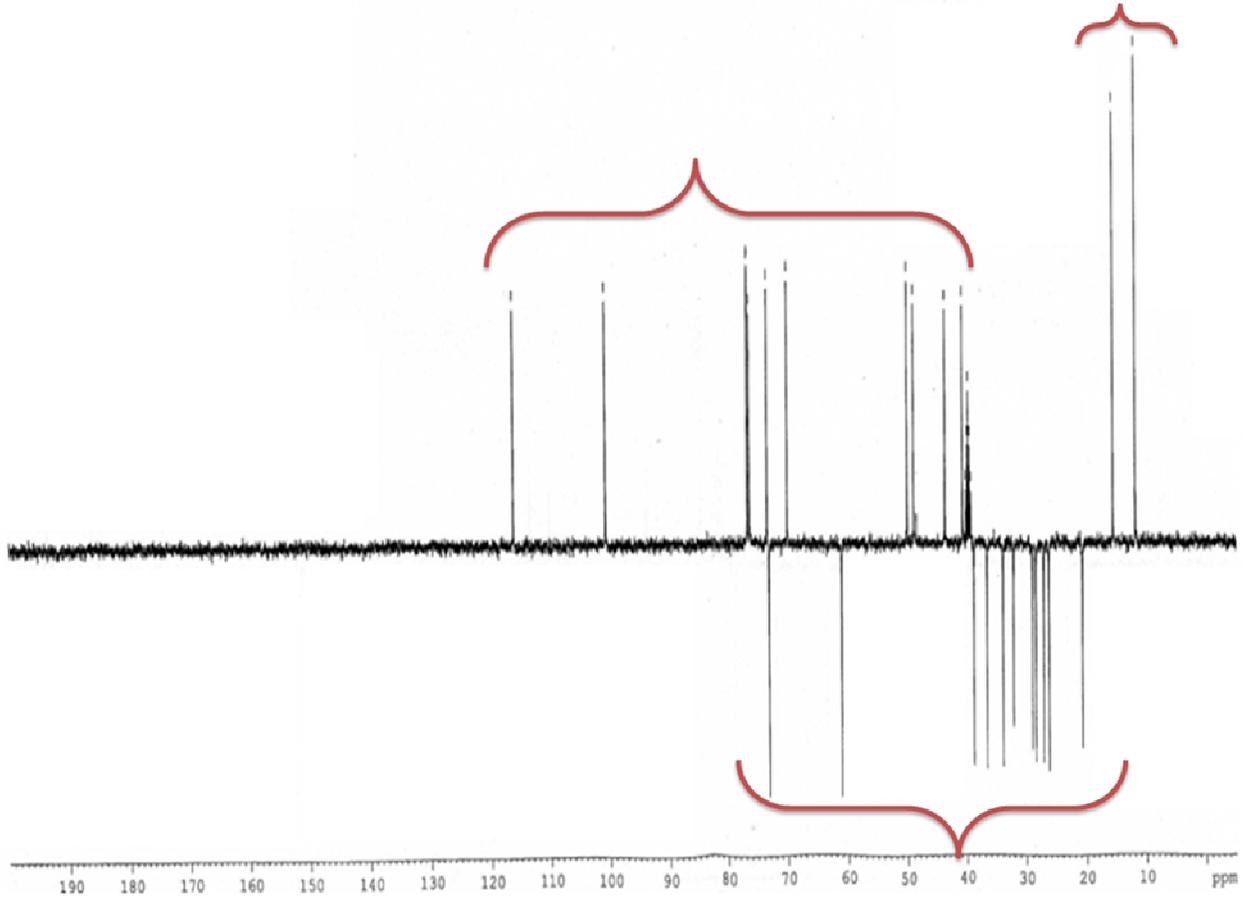


الشكل 2 : طيف تجربة ^{13}C RMN (DMSO, 100MHz) للمركب St1

و من خلال طيف ^{13}C RMN (DMSO, 100MHz) الشكل (9) و طيف تجربة DEPT(135) الشكل (10) للمركب St1 تم توزيع ذرات الكربون كما يلي:

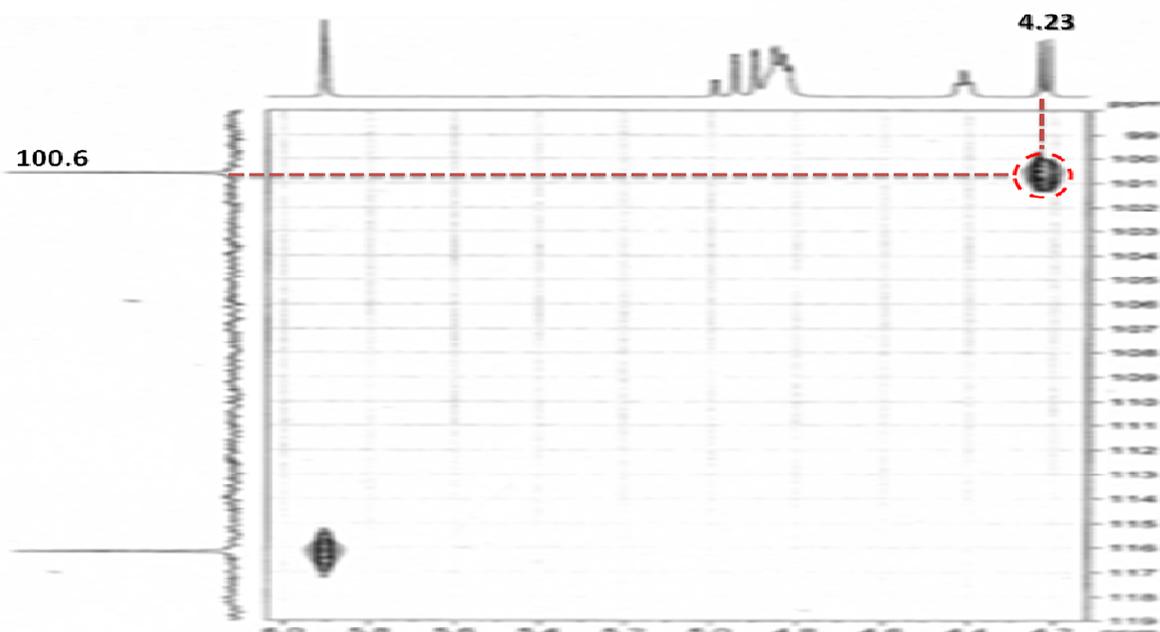
- مجموعتي ميثيل عند $\delta_{C19} = 11.8$ ppm و $\delta_{C18} = 15.6$ ppm

- 11- مجموعة ميثيلين (CH_2)
 11 - مجموعة ميثين (CH) (من بينها كربون ايثيليني عند $\delta_{\text{C22}} = 116.1 \text{ ppm}$)
 5 - ذرات كربون رباعية (C)



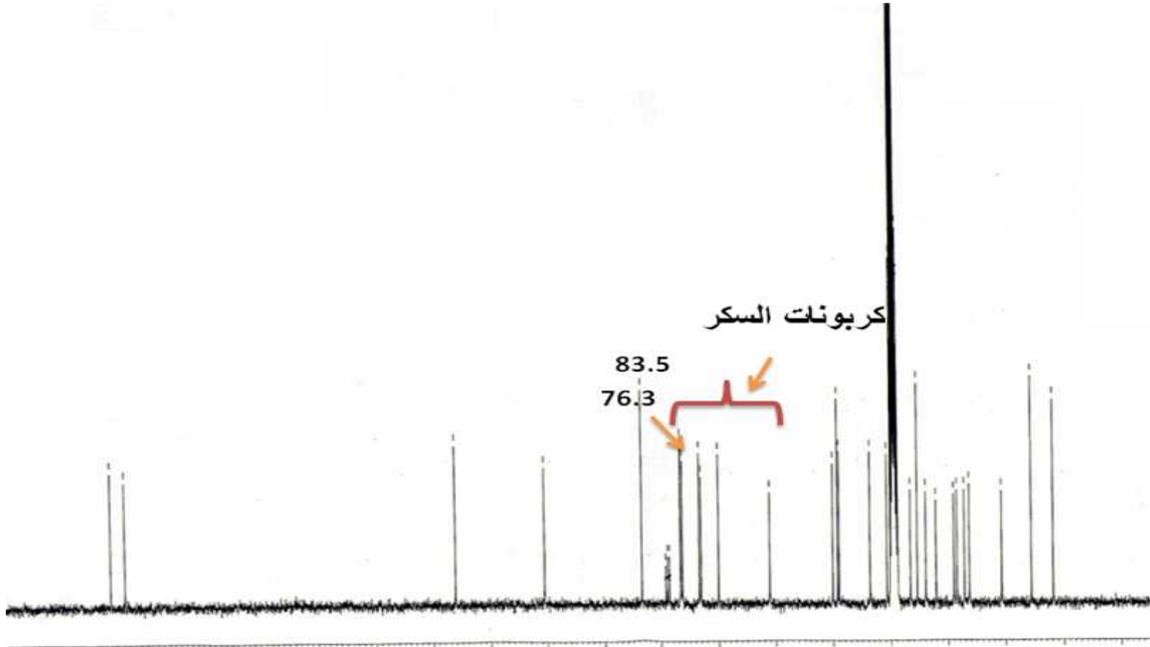
الشكل 3 : طيف تجربة DEPT (135) (DMSO, 400MHz) للمركب St1

يظهر طيف HMQC المسجل في (DMSO 400 MHz) الشكل (11) بقعة تعالق بين الإشارة الثنائية التي ترن عند ($\delta = 4.23 \text{ ppm}$) و الكربون الذي يرن عند ($\delta = 100.6 \text{ ppm}$). دلال على وجود كربون و بروتون أنوميري.



الشكل 4 : طيف تجربة HMQC (DMSO, 400 MHz) الممدد للمركب St1

- كما بين طيف الكربون ^{13}C RMN (DMSO, 100MHz) الشكل (12) وجود 5 إشارات مميزة للسكر من نوع (Hexose) في المجال ($\delta_{\text{C}} = 61-77 \text{ ppm}$). و كذلك ظهور إشارتين ترن إحداهما عند ($\delta_{\text{C}} = 76.3 \text{ ppm}$) موافق لكاربون ثلاثي أكسيجيني و الأخرى ترن عند ($\delta_{\text{C}} = 83.5 \text{ ppm}$) موافق لكاربون رباعي أكسيجيني.



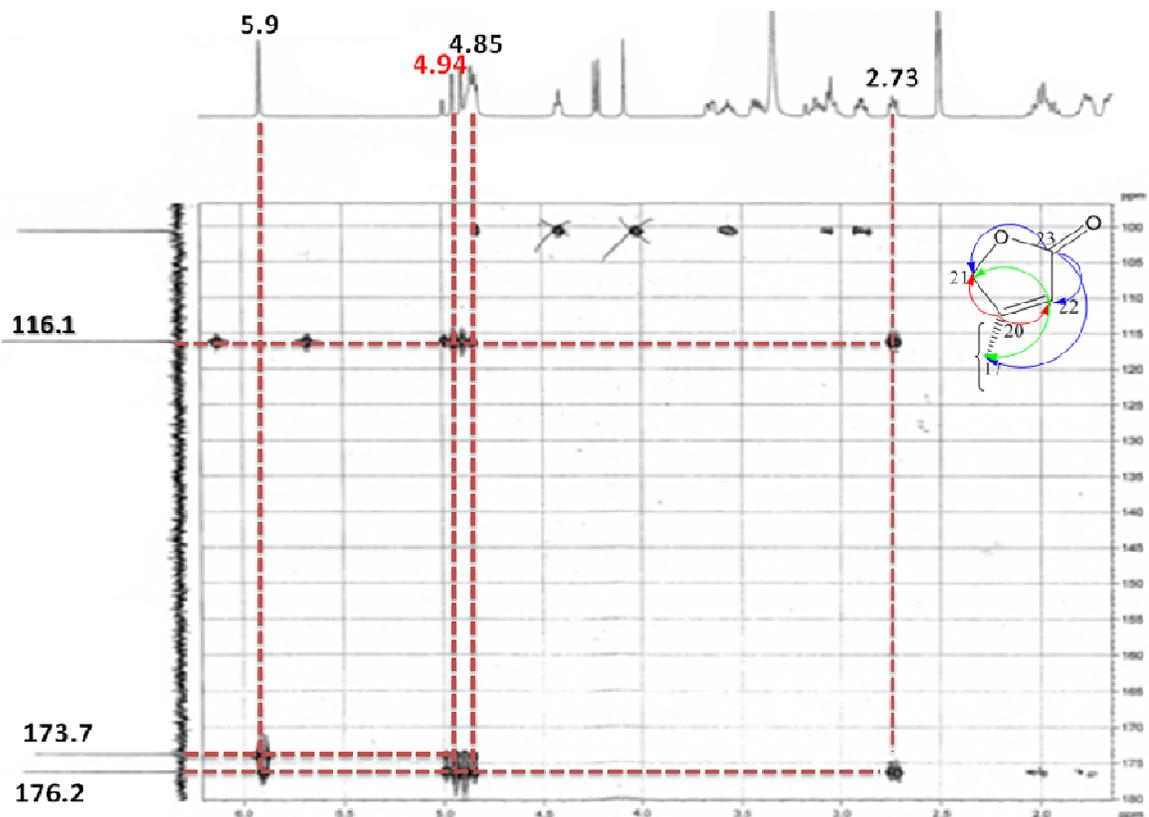
الشكل 5 : طيف تجربة ^{13}C RMN (DMSO, 100MHz) الممدد للمركب St1

- أعطى طيف تجربة HMBC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1 (الشكل 13) التعلقات عن بعد بين الكربونات و البروتونات التالية:

- تعالق بين الكربون الذي يرن عند ($\delta_{\text{C}} = 116.1$ ppm) و البروتونات التي ترن عند ($\delta_{\text{C}} = 4.94, 4.85, 2.73$ ppm)

- تعالق بين الكربون الذي يرن عند ($\delta_{\text{C}} = 173.7$ ppm) و البروتونات التي ترن عند ($\delta_{\text{C}} = 5.92, 4.94, 4.85$ ppm)

- تعالق بين الكربون الذي يرن عند ($\delta_{\text{C}} = 176.2$ ppm) و البروتونات التي ترن عند ($\delta_{\text{C}} = 5.92, 4.94, 4.85, 2.73$ ppm).

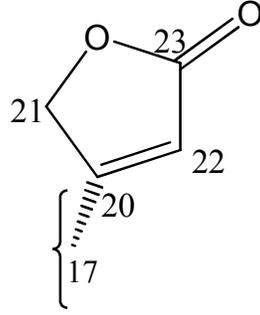


الشكل 6 : طيف تجربة HMBC (DMSO, 400 MHz) الممدد للمركب St1

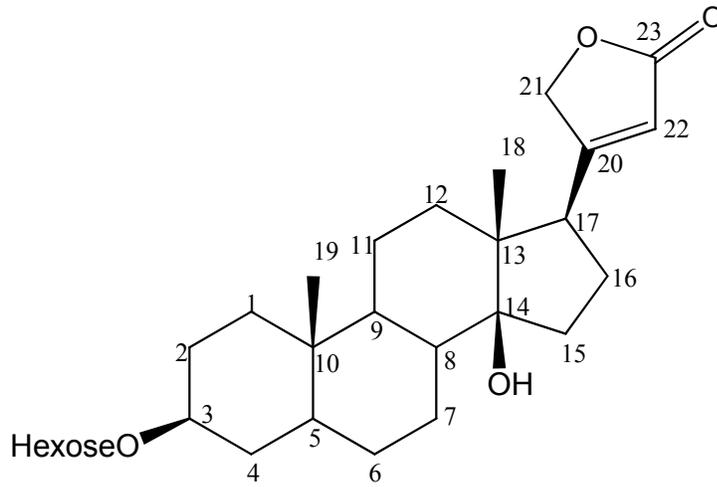
- أعطى طيف الكتلة لهذا المركب الصيغة المجملة $C_{29}H_{44}O_9$ و هو مركب يحتوي على 29 ذرة كربون و 7 وحدات من عدم التشبع.

- أثبت طيف الكاربون ^{13}C RMN وجود 29 ذرة كربون و من خلال طيف الـ DEPT 135 تم توزيع هذه الذرات كمايلي:

- ذرتين كربون مثيل (CH_3)
- 11 ذرة كربون ثنائي (CH_2)
- 11 ذرة كربون أحادي (CH)
- 5 ذرات كربون رباعية (C)
- كما بين طيف الكاربون ^{13}C RMN ظهور 5 إشارات مميزة للسكر (Hexose).
- أعطى طيف تجربة HMBC (DMSO, 400 MHz) الشكل (6) صيغة اللاكتون:



من خلال هذه المعطيات يمكننا أن نعطي البنية الأولية للمركب (St1) وهو عبارة عن ستيرويد من نوع Cardénolide.



Cardénolide 3-O-Hexose

أعطى طيف تجربة $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY (DMSO, 400 MHz) بقع تعالق مكنتنا من توزيع بروتونات السكر على النحو التالي:

- تعالق بين البروتون الانوميري (H-1') الذي يرن عند ($\delta_{\text{H}} = 4.23 \text{ ppm}$) و البروتون (H-2') الذي يرن عند ($\delta_{\text{H}} = 2.89 \text{ ppm}$).

- تعالق بين البروتون (H-2') الذي يرن عند ($\delta_{\text{H}} = 2.89 \text{ ppm}$) و البروتون (H-3') الذي يرن عند ($\delta_{\text{H}} = 3.12 \text{ ppm}$).

- تعالق بين البروتون (H-3') الذي يرن عند ($\delta_{\text{H}} = 3.12 \text{ ppm}$) و البروتون (H-4') الذي يرن عند ($\delta_{\text{H}} = 3.17 \text{ ppm}$).

- تعالق بين البروتون (H-4') الذي يرن عند ($\delta_{\text{H}} = 3.17 \text{ ppm}$) و البروتون (H-5') الذي يرن عند

$(\delta_H = 3.1 \text{ ppm})$.

- تعالق بين البروتون (H-5') الذي يرن عند $(\delta_H = 3.1 \text{ ppm})$ و البروتون (H-6'a) الذي يرن عند

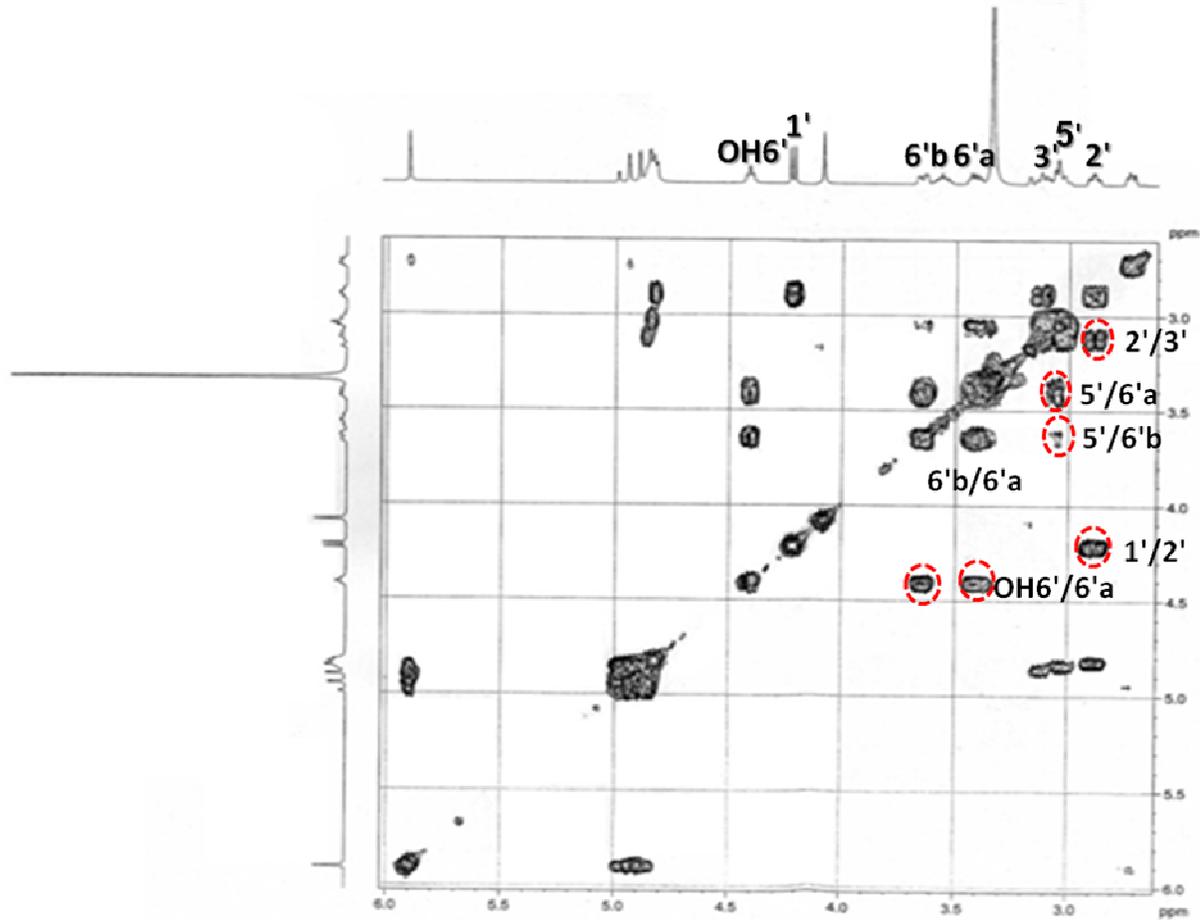
$(\delta_H = 3.42 \text{ ppm})$ و (H-6'b) الذي يرن عند $(\delta_H = 3.65 \text{ ppm})$.

- تعالق بين البروتون (H-6'a) الذي يرن عند $(\delta_H = 3.42 \text{ ppm})$ و البروتون (H-6'b) الذي يرن عند

$(\delta_H = 3.65 \text{ ppm})$.

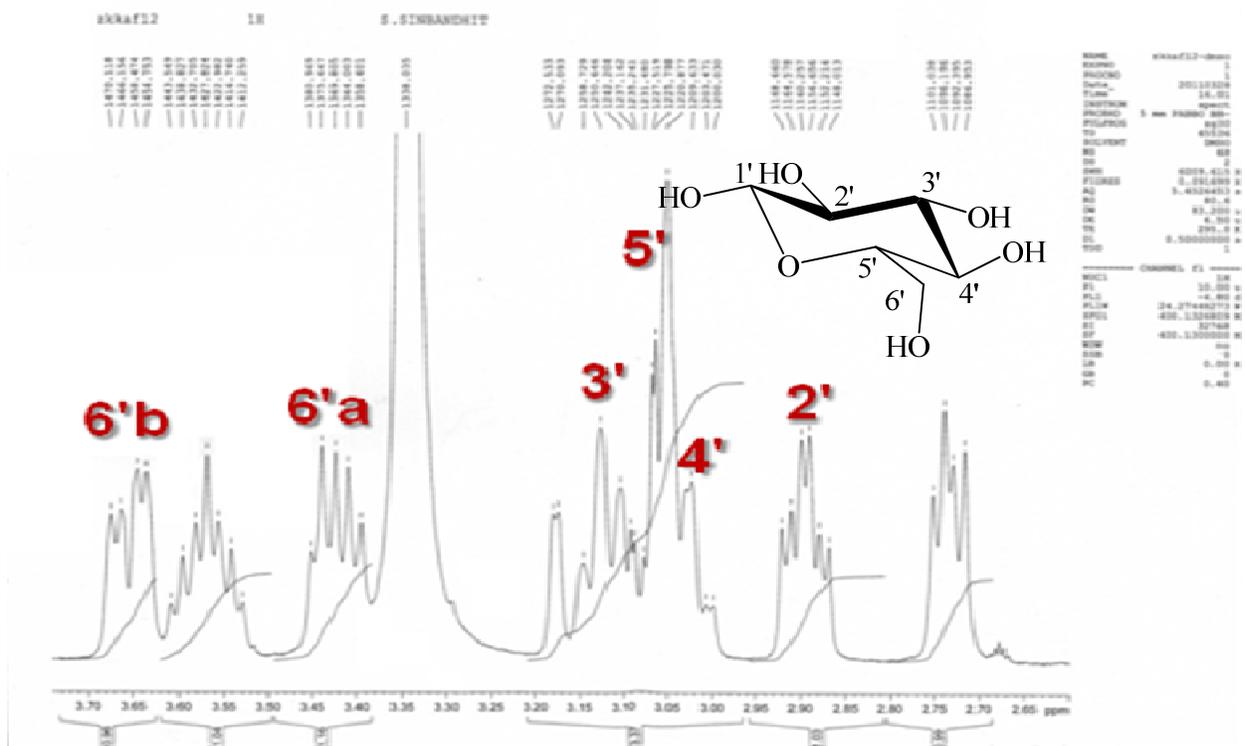
- تعالق بين البروتون (H-6') للهيدروكسيل الذي يرن عند $(\delta_H = 4.41 \text{ ppm})$ و البروتون (H-6'a) الذي

يرن عند $(\delta_H = 3.42 \text{ ppm})$ و (H-6'b) الذي يرن عند $(\delta_H = 3.65 \text{ ppm})$.



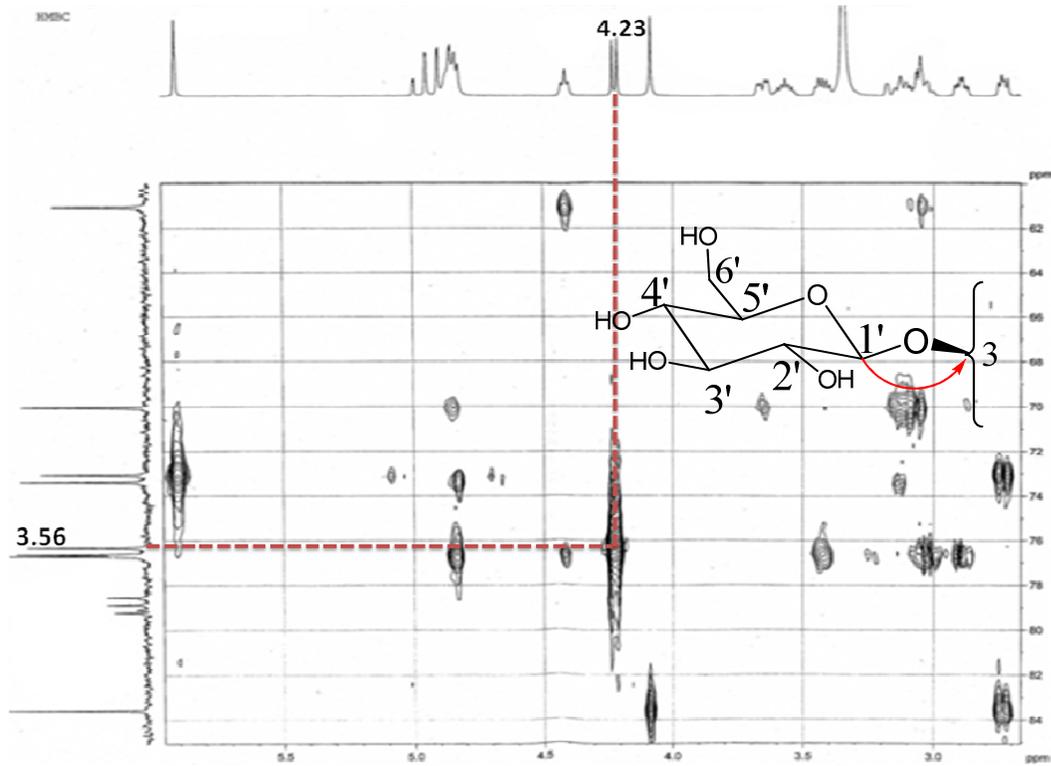
الشكل 7 : طيف تجربة $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY (DMSO, 400 MHz) للمركب St1

من خلال طيف ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) الشكل (15) لهذا المركب تم حساب ثوابت السكر و بالإضافة إلى معطيات السابقة من طيف الـ $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY تبين انه لدينا سكر من نوع الجلوكوز أسندت مختلف إشاراته على النحو التالي:



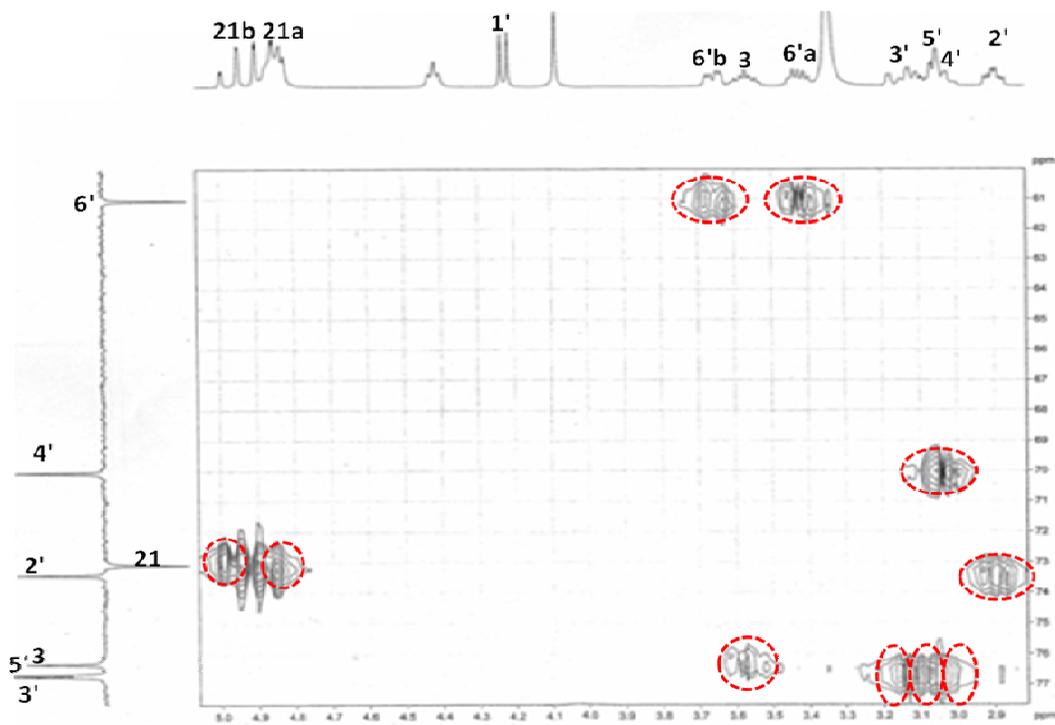
الشكل 8 : طيف ^1H RMN (DMSO, 400 MHz) الممدد للمركب St1

- أعطى طيف تجربة HMBC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1 (الشكل 16) بقعة تعالق بين البروتون $\text{H}-1'$ الذي يرن عند ($\delta = 4.22$ ppm) والكربون C-3 عند (76.3 ppm) تؤكد ارتباط السكر بالكربون 3 للاجليكون.

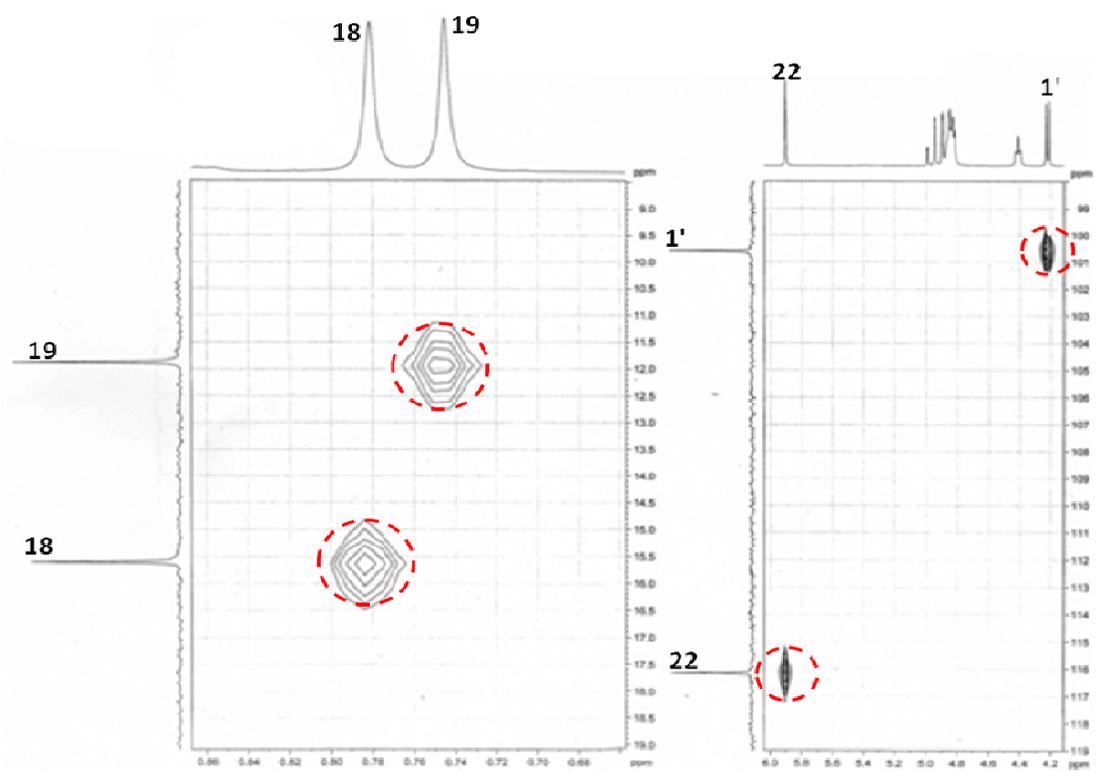


الشكل 9 : طيف تجربة HMBC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1

- أعطى طيف تجربة HMQC (DMSO, 400 MHz) الشكل (18.17) بقع تعالق مكنتنا من ربط كل بروتون بالكربون الحامل له.



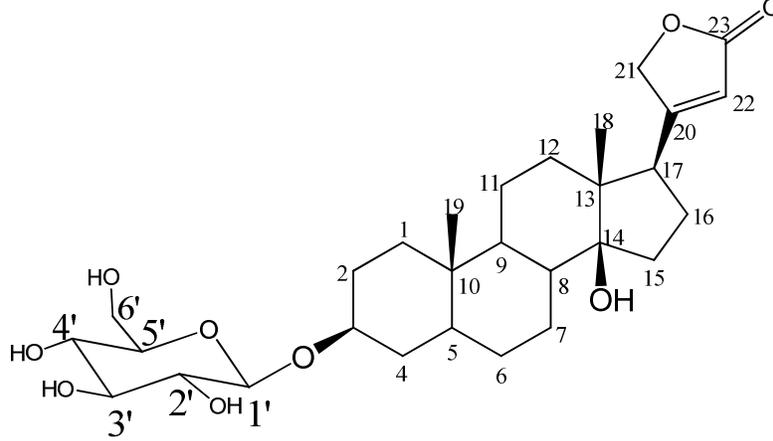
الشكل 10 : طيف تجربة HMQC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1



الشكل 11 : طيف تجربة HMQC (DMSO, 400 MHz) للمركب St1

من كل هذه المعطيات و بمقارنة هذه النتائج أيضا من تلك المنشورة لمركب Digitoxigenine من طرف Rathore سنة 1985 و Chaung et al سنة 1981. تمكنا من وضع صيغة جزيئية لهذا المركب و هي:

Digitoxigenin-3-O-β-D-glucoside



Digitoxigenin-3-O-β-D-glucoside

- عزل هذا المركب لأول مرة من جنس *Salsola* لكنه كان معروفا من قبل حيث عزل من نبات *Digitalis lanata* من طرف Rostogi و Singh سنة 1970.

- هذا المركب يشكل جزءا من الجليكوزيدات القلبية المعروفة بفعاليتها (Activité cardiotonique)

- هذه الجزيئة معروفا أيضا بسميتها و لقد أظهرت الدراسات الحديثة فعاليتها ضد HIV [4].

1- التحليل البنوي للمركب St2:

الجدول 1-2 : السلوك الكروماتوغرافي: معامل الاحتباس (R_f)

الجملة	SI	SII
R_f	0.38	0.41
اللون الإستشعاعي	بنفسجي مسود	

SI : Toluène/MEC/MeOH (4 / 3 / 3)

SII : H₂O/MeOH/MEC/Acétyl acétone (13 / 3 / 3 / 1)

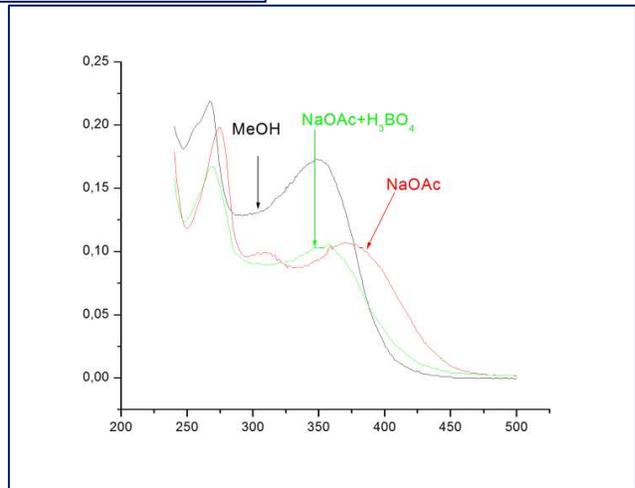
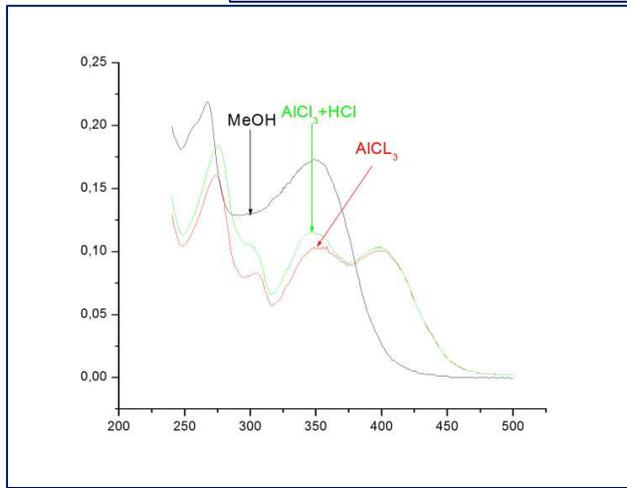
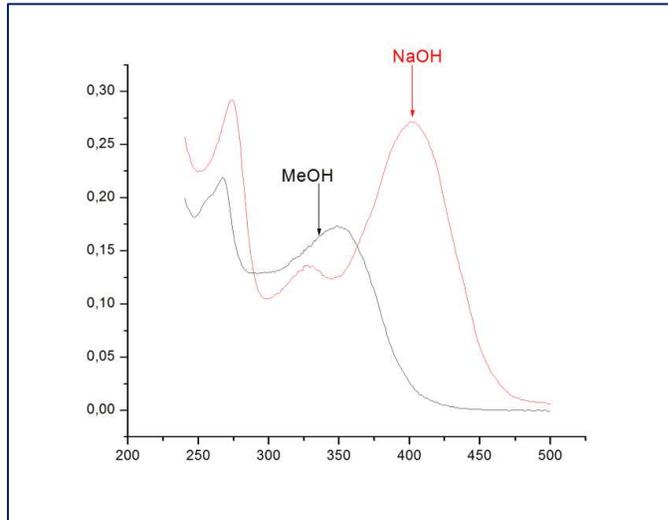
الجدول 2-2 : مطيافية الأشعة فوق بنفسجية – المرئية للمركب St2

الكواشف	العصابة I	العصابة II	عصابات جديدة
MeOH	352	267	
NaOH	402	273	327
NaOH (5 min)	مستقر		
AlCl ₃	400	273	348 304
AlCl ₃ + HCl	399	279	350 303
NaOAc	386	274	310
NaOAc + H ₃ BO ₄	357	270	

التعليل :

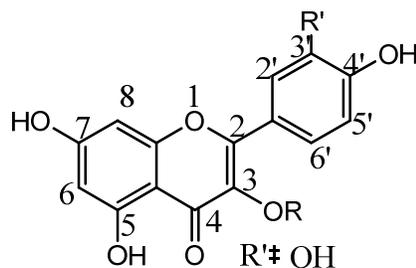
- يشير السلوك الكروماتوغرافي حسب قيم R_f في الجدول أعلاه على كون المركب جليكوزيدي.
- اللون البنفسجي المسود تحت الأشعة UV و كذلك قيمة العصابة (I) في الميثانول ($\lambda_1 = 352 \text{ nm}$)، يدلان على وجود فلافونون مستبدل في الوضع (3-OR).

- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) المقدره بـ $\Delta\lambda_1 = +50 \text{ nm}$ والمترتبة عن إضافة الكاشف NaOH، مع زيادة في الشدة الضوئية دليل على وجود 4'-OH، كما أن ظهور قيمة جديدة في نفس الكاشف عند $\lambda = 327 \text{ nm}$ يدل على وجود 7-OH.
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (II) $\Delta\lambda = +7 \text{ nm}$ الناتجة عن المقارنة الطيفية لـ NaOAc بـ MeOH فهي تؤكد وجود 7-OH.
- عدم وجود الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) المترتبة عن مقارنة طيف AlCl_3 بـ $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ دليل على عدم وجود نظام أرتو ثنائي هيدروكسيل في الحلقة B. أما الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) $\Delta\lambda = +47 \text{ nm}$ الناتجة عن المقارنة الطيفية لـ $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ بـ MeOH فهي دليل على وجود 5-OH.



الشكل 12 : سلاسل أطياف UV للمركب St2 في الميثانول و مختلف المتفاعلات

من هذه المعطيات يمكننا أن نعطي بنية أولية للمركب St2 وهي كالتالي:



الجدول 2-3 : مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H -RMN (DMSO, 250 MHz) للمركب St2

البروتون الموافق	$J(\text{Hz})$	التعددية	التكامل	الإزاحة (δ ppm)
H-6', H-2'	8.8	d	2H	8.04
H-3', H-5'	8.8	d	2H	6.88
H-8	2.1	d	1H	6.42
H-6	2.1	d	1H	6.19
H-1''	7.2	d	1H	5.46
بروتونات السكر	/	/	6H	3.1-3.8

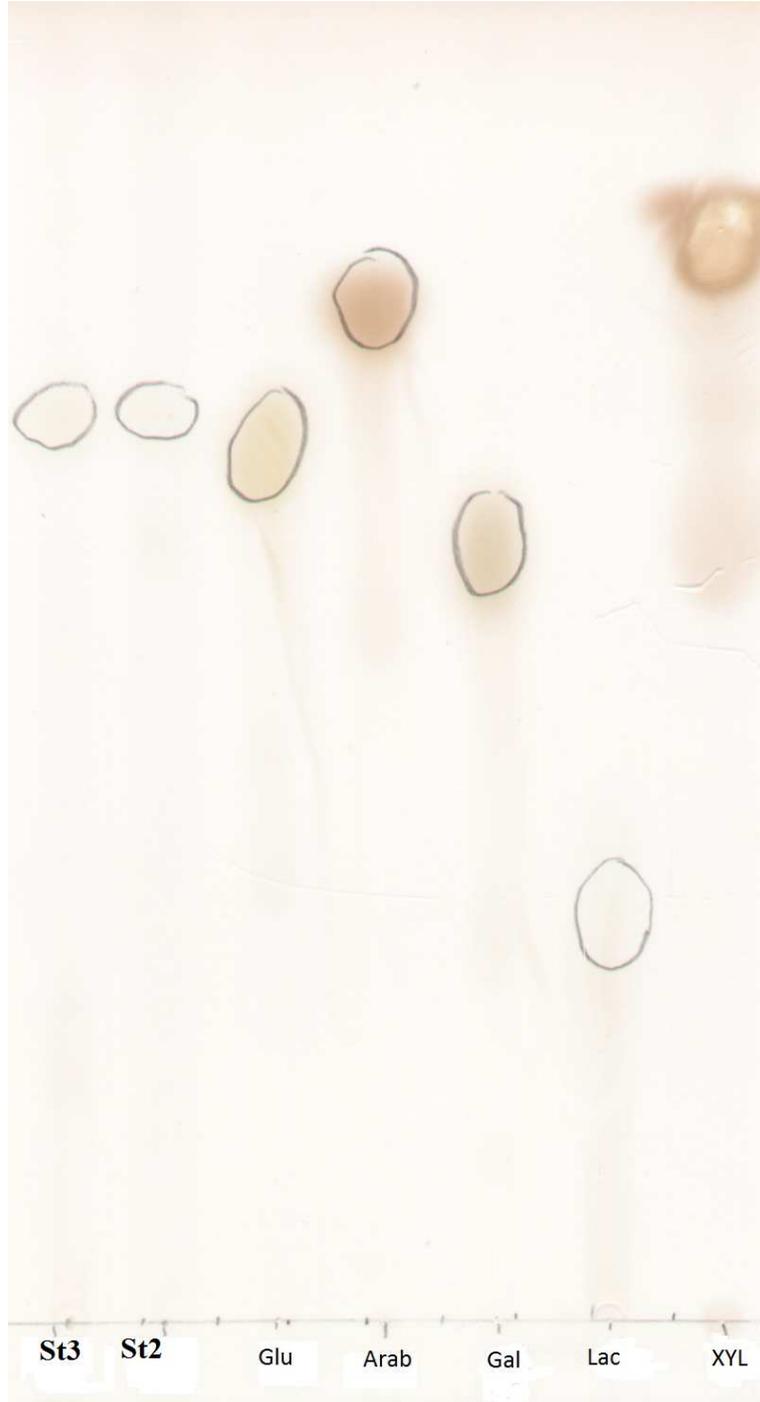
طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب StB1 يبين :

- وجود إشارتين ثنائيتين عند $\delta = 8.04$ ppm و $\delta = 6.88$ ppm بتكامل يساوي 2H لكل من الإشارتين وتدل قيمة J المقدره ب 8.8 Hz على أن التزاوج بين البروتونين من نوع أورثو وبالتالي تنسب الإشارة الثنائية الأولى للبروتونين H-2', H-6' والإشارة الثنائية الثانية للبروتونين H-3', H-5'. و منه نستنتج أن C3' غير مستبدل.

- وجود إشارتين ثنائيتين بتكامل 1H لكل منهما حيث تظهر الأولى عند $\delta = 6.42$ ppm والثانية عند $\delta = 6.19$ ppm بحيث ثابت التزاوج يساوي $J = 2.1\text{Hz}$ يشير إلى تزاوج من نوع ميتا وتنسب الإشارتين على التوالي إلى H-8 و H-6.

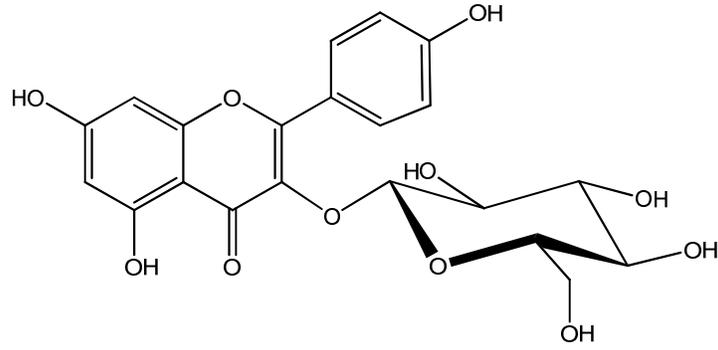
- وجود إشارة ثنائية عند $\delta = 5.46$ ppm بتكامل يساوي 1H ($J = 7.2$ Hz) خاصة بالبروتون اللأنوميري و بقيت الإشارات التي تظهر في المجال [3.8 – 3.1] تدل على أن المستبدل عبارة عن سكر.

لمعرفة نوعية السكر المرتبط بالمركب St2 استعمالنا طريق الاماهة الحمضية الممثل في الشكل (13) و التي تبين من خلال قيم الـ R_f أن السكر عبارة عن جلوكوز.

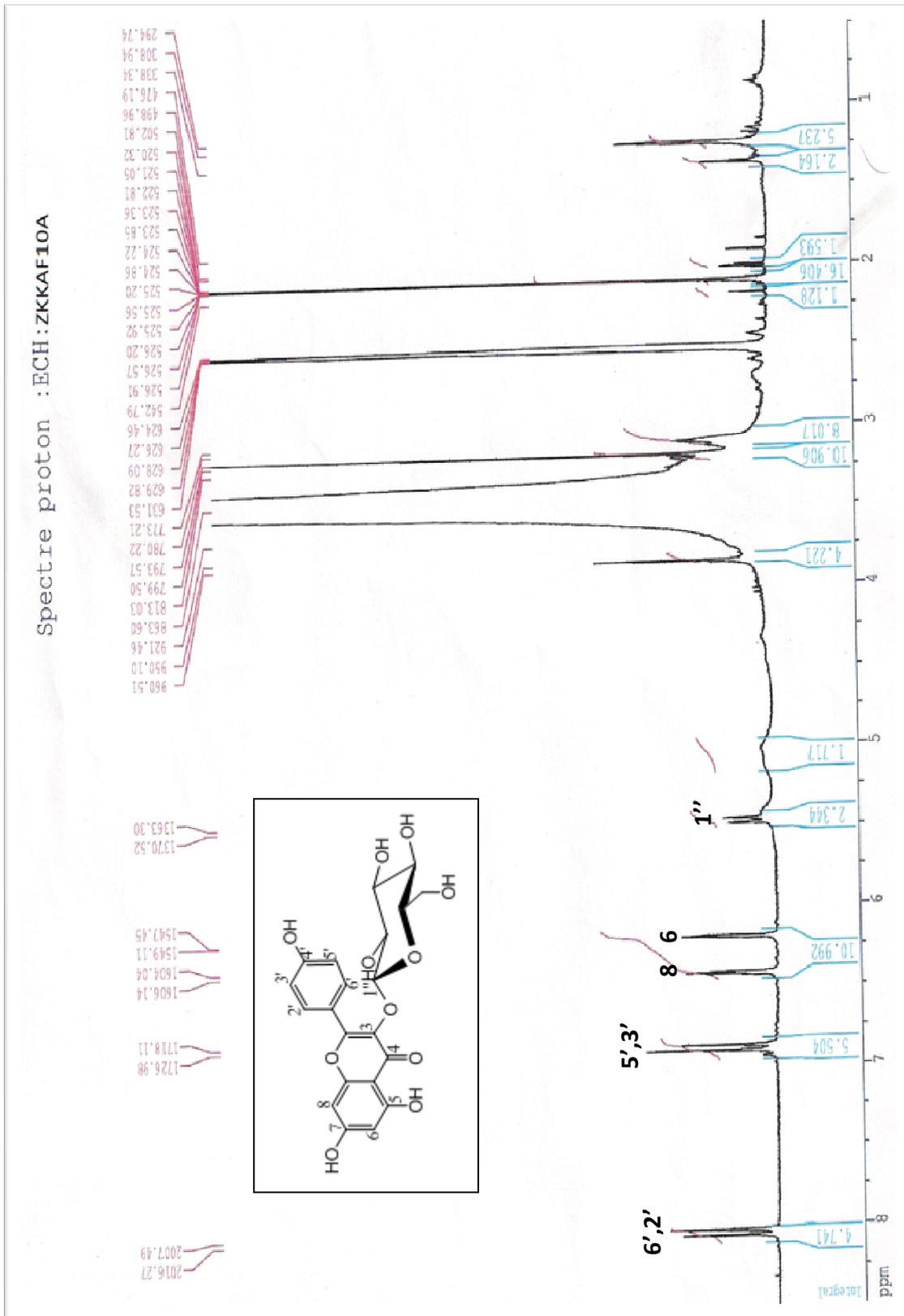


الشكل 13 : نتائج الاماهة الحمضية للمركبين St2 و St3

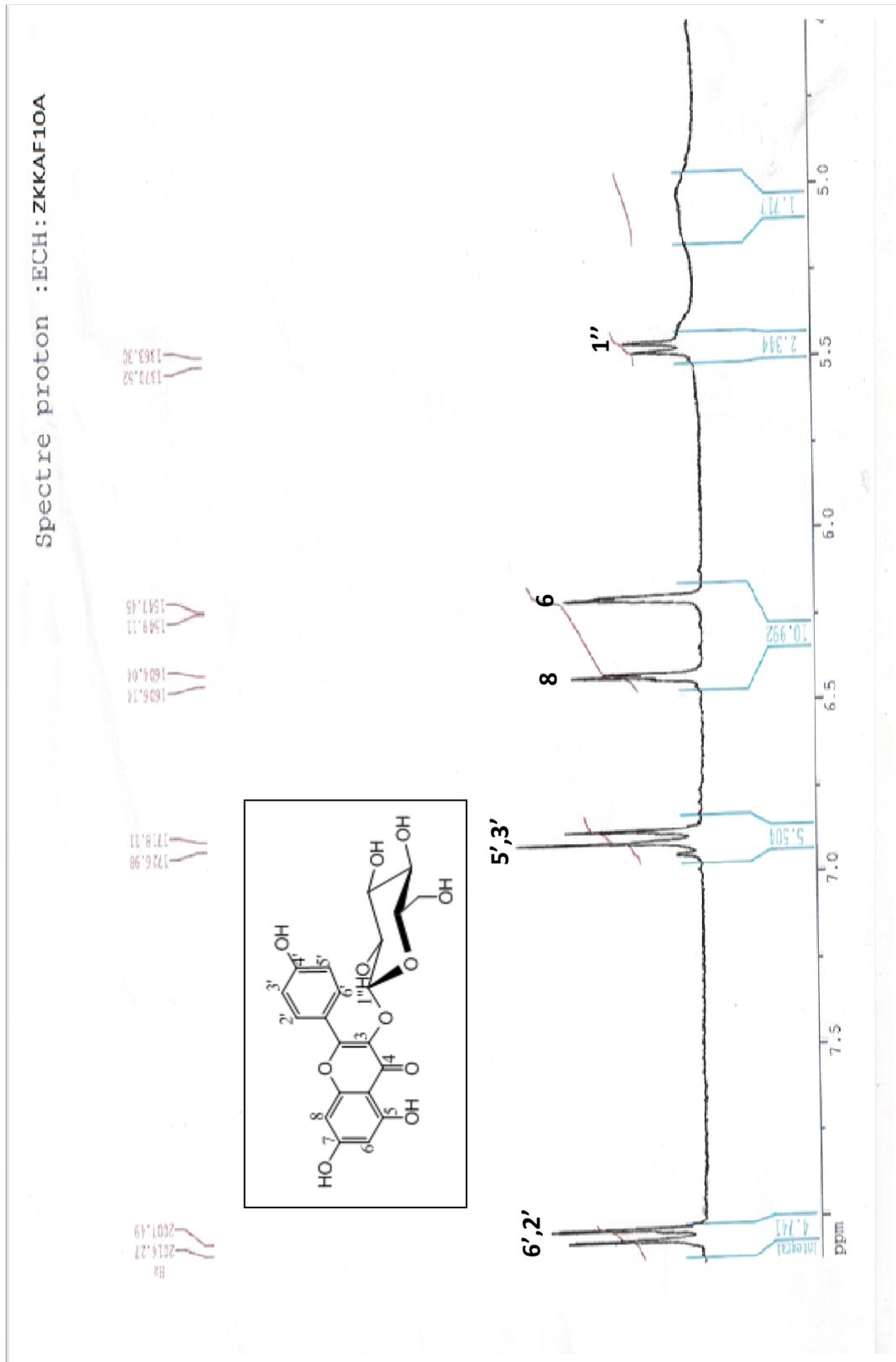
من كل هذه المعطيات يمكن إعطاء صيغة نهائية للمركب St2 وهي:



Kaempférol 3-O-β-D-glucoside



الشكل 14 : طيف ^1H RMN للمركب St2



الشكل 15 : طيف ^1H RMN للمركب St2 (تكبير المجال 5-8.5 ppm)

- التحليل البنوي للمركب St3:

الجدول 1-3 : السلوك الكروماتوغرافي: معامل الاحتباس (R_f)

الجملة	SI	SII
R_f	0.187	0.23
اللون الإستشعاعي	بنفسجي مسود	

SI : Toluène/MEC/MeOH (4 / 3 / 3)

SII : H₂O/MeOH/MEC/Acétyle acétone (13 / 3 / 3 / 1)

الجدول 2-3 : مطيافية الأشعة فوق بنفسجية – المرئية للمركب St3

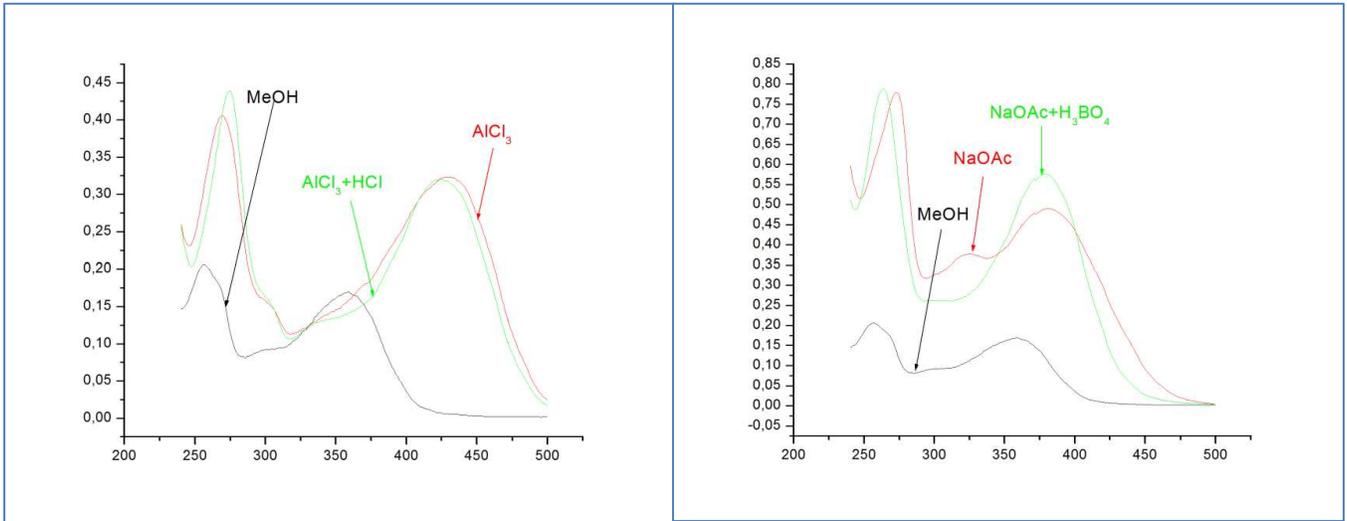
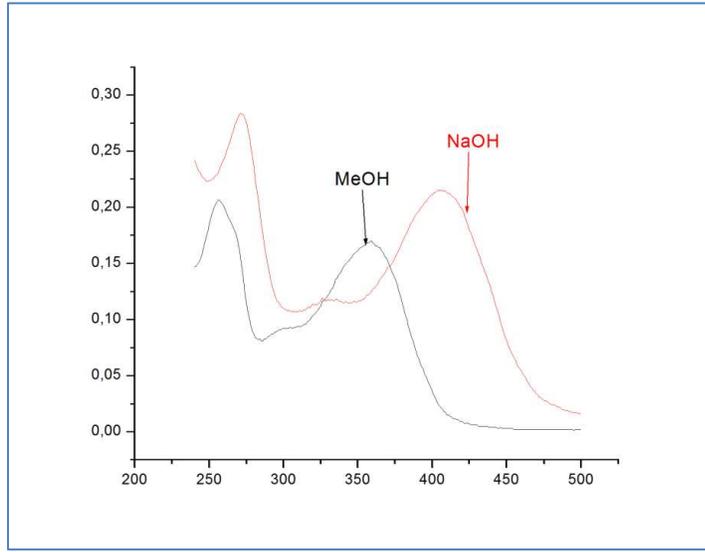
الكواشف	العصابة I	العصابة II	عصابات جديدة
MeOH	357	256	
NaOH	405	272	327
NaOH (5 min)	مستقر		
AlCl ₃	429	270	
AlCl ₃ + HCl	398	274	
NaOAc	380	273	322
NaOAc + H ₃ BO ₄	378	263	

التعليل :

- يشير السلوك الكروماتوغرافي حسب قيم R_f في الجدول أعلاه على كون المركب جليكوزيدي.
- اللون البنفسجي المسود تحت الأشعة UV و كذلك قيمة العصابة (I) في الميثانول ($\lambda_1 = 357 \text{ nm}$) ، يدلان على وجود فلافونون مستبدل في الوضع (3-OR).
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) المقدره بـ $\Delta\lambda_1 = +48 \text{ nm}$ والمرتتبة عن إضافة الكاشف NaOH دليل على وجود -OH'4، كما أن ظهور قيمة جديدة في نفس الكاشف عند $\lambda = 327 \text{ nm}$ يدل على وجود هيدروكسيل حر في الموضع 7 (-OH).

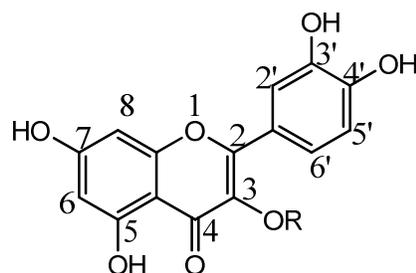
و يتأكد هذا من الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (II) المقدرة بـ $\Delta\lambda = 17 \text{ nm}$ المترتبة عن مقارنة الطيف المسجل في الميثانول بالطيف المسجل بعد إضافة NaOAc.

- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) المقدرة بـ $\Delta\lambda = 31 \text{ nm}$ المترتبة عن مقارنة الطيف AlCl_3 بـ $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ تدل على وجود نضام أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B.
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) $\Delta\lambda = +49 \text{ nm}$ الناتجة عن المقارنة الطيفية لـ $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ بـ MeOH دليل على وجود 5-OH.



الشكل 16 : سلاسل أطياف UV للمركب St3 في الميثانول و مختلف المتفاعلات

من هذه المعطيات يمكننا أن نعطي بنية أولية للمركب St3 وهي كالتالي:



الجدول 3-3 : مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN (DMSO, 250 MHz) للمركب St3

الإزاحة (δ ppm)	التكامل	التعددية	J(Hz)	البروتون الموافق
7.70	1H	d	2.1	H-2'
7.59	1H	dd	8.3, 2.1	H-6'
6.85	1H	d	8.3	H-5'
6.42	1H	d	1.9	H-8
6.21	1H	d	1.9	H-6
5.47	1H	d	7.0	H-1''
4.13	1H	d	5.6	H-1'''
3-3.7	12H	/	3-3.7	بروتونات السكر

طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب St3 يبين :

- وجود نظام من نوع ABX والذي أعطانا إشارة ثنائية عند $\delta = 6.85$ ppm بثابت تزاوج 8.3 Hz والتي نسبت إلى البروتون H-5' وإشارة ثنائية عند $\delta = 7.7$ ppm بثابت تزاوج 2.1 Hz والتي نسبت إلى البروتون H-2' وأخيرا الإشارة الثنائية-الثنائية عند $\delta = 7.59$ ppm بثبتي تزاوج 8.3 Hz و 2.1 Hz والتي نسبت إلى البروتون H-6'.

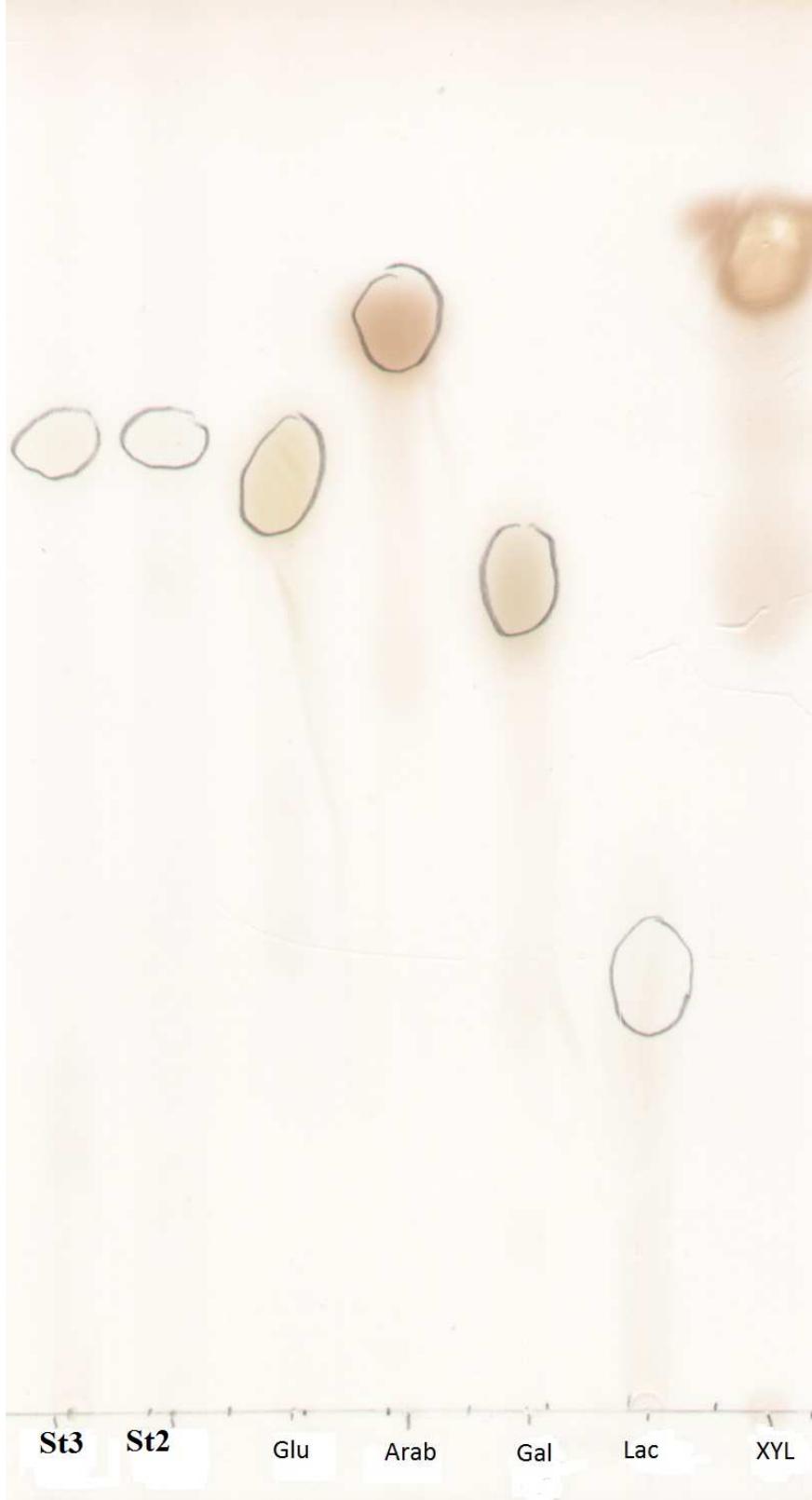
- وجود إشارتين ثنائيتين بتكامل 1H لكل منهما حيث تظهر الأولى عند $\delta = 6.21$ ppm والثانية عند

$\delta = 6.42$ ppm بحيث ثابت التزاوج يساوي $J = 1.9$ Hz يشير إلى تزاوج من نوع ميتا وتنسب الإشارتين على التوالي إلى H-6 و H-8.

- وجود إشارتين ثنائيتين عند $\delta = 5.47$ ppm بثابت تزاوج $J = 7$ Hz و $\delta = 4.13$ ppm بثابت تزاوج $J = 5.6$ Hz بتكامل يساوي 1H لكل منهما دليل على أن المركب ثنائي السكر. بمقارنة قيم إشارات البروتونيين الانوميريين مع قيم المرجع الجدول (9) تمكنا من استنتاج أن السكر عبارة عن جليكوز-جليكوز بارتباط في الموضع "6 مع "1.

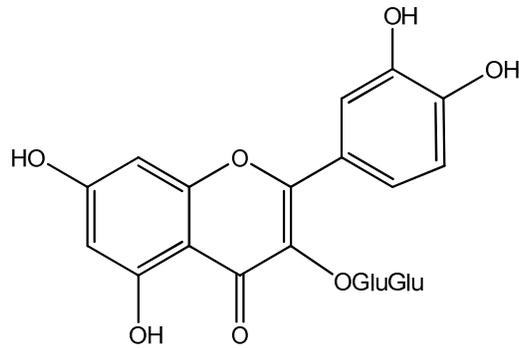
- بقية بروتونات السكر تظهر في المجال [3-3.7 ppm]

للتأكد من أن السكر المرتبط بالمركب St3 هو جزيء جليكوز-جليكوز قمنا باستعمال طريق الإماهة الحمضية الممثل في الشكل (17):

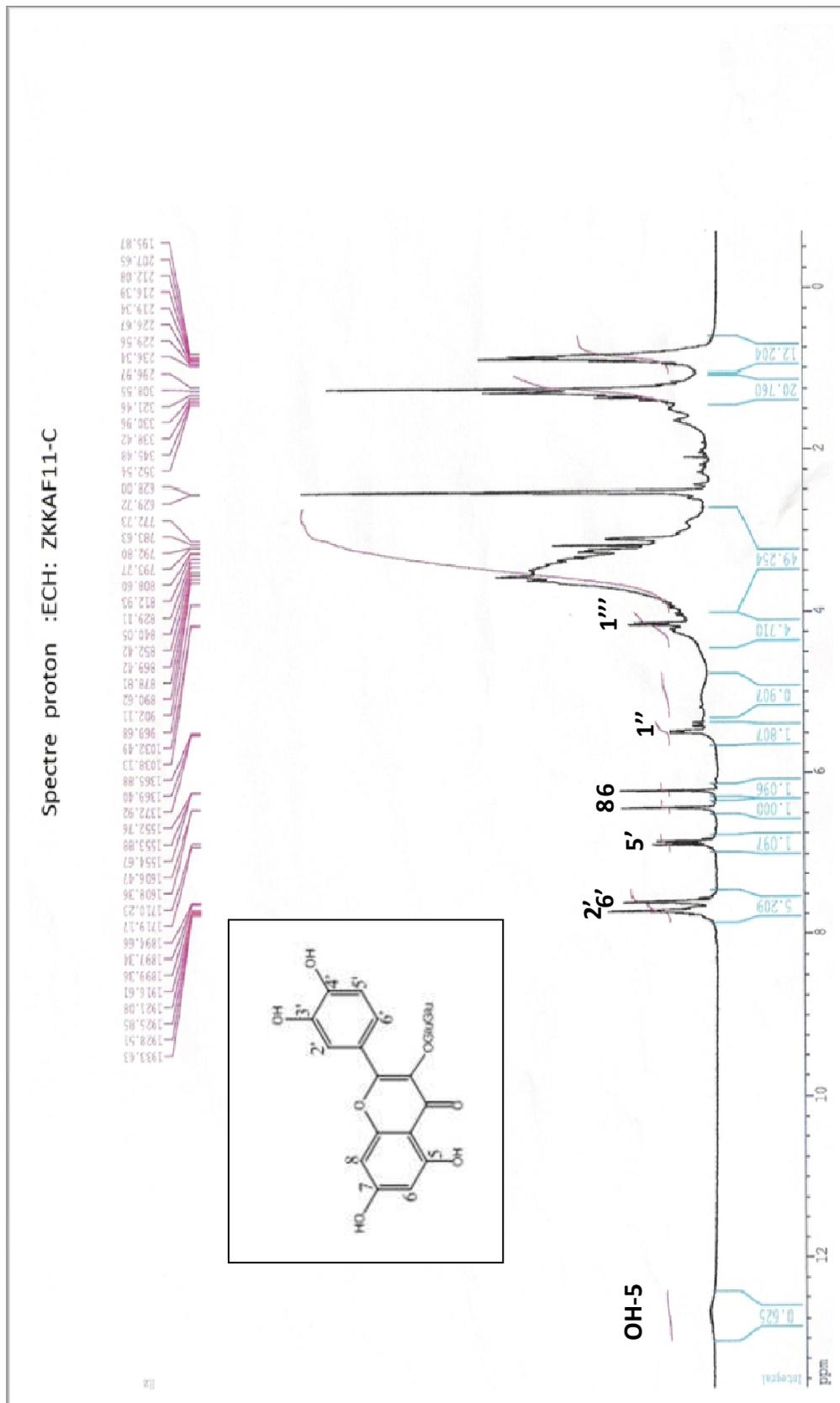


الشكل 17 : نتائج الاماهة الحمضية للمركبين St2 و St3

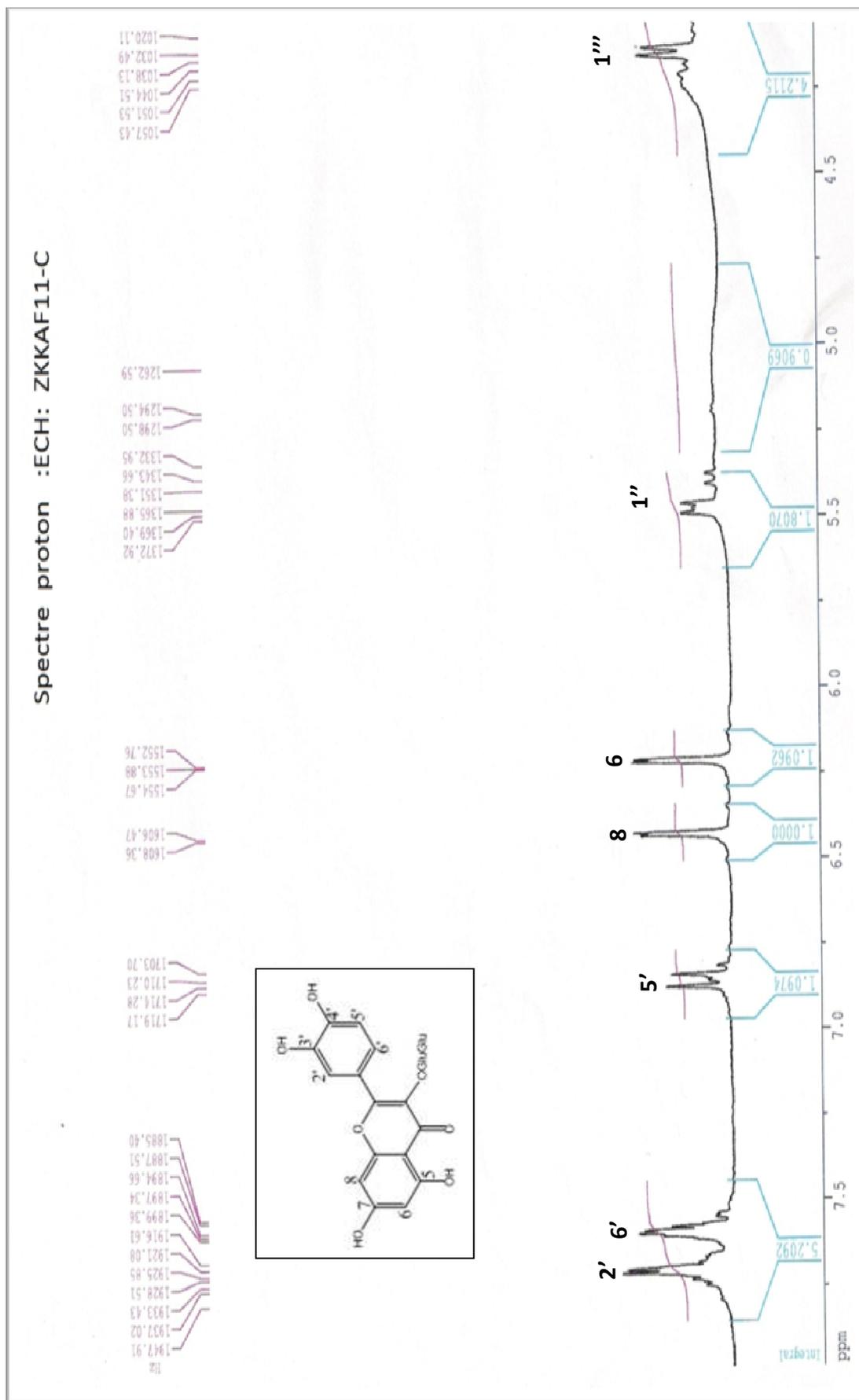
من كل هذه المعطيات يمكن إعطاء صيغة نهائية للمركب St3 وهي:



Quercétine 3-O-[[β -D-glucosyl (1 \rightarrow 6)- β -D- glucoside]



الشكل 18 : طيف ^1H RMN للمركب St3



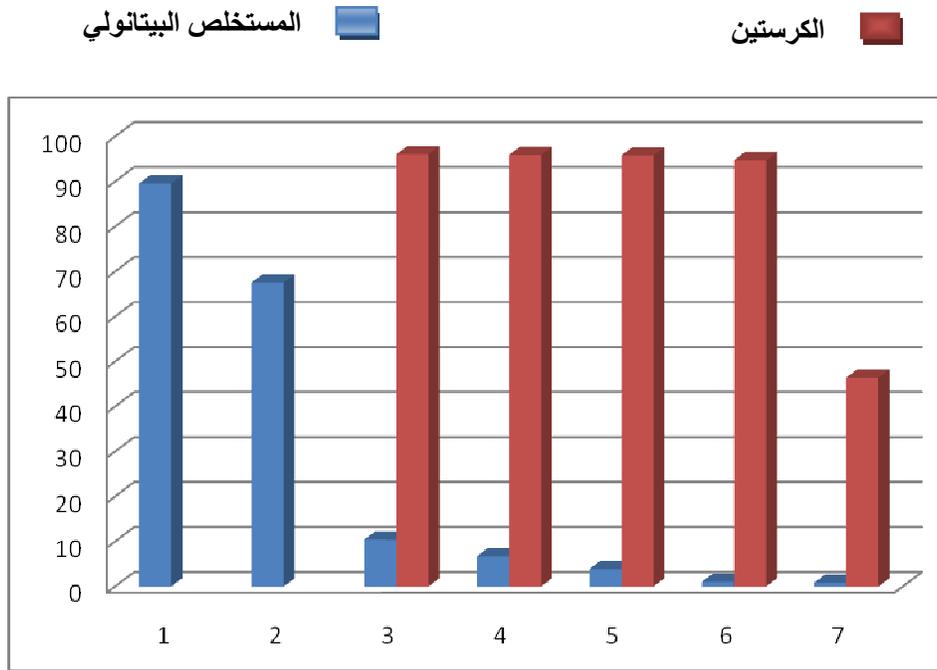
الشكل 19 : طيف ^1H RMN للمركب St3 (تكبير المجال 4-8 ppm)

4- قياس فاعلية ضد الأكسدة باستعمال DPPH:

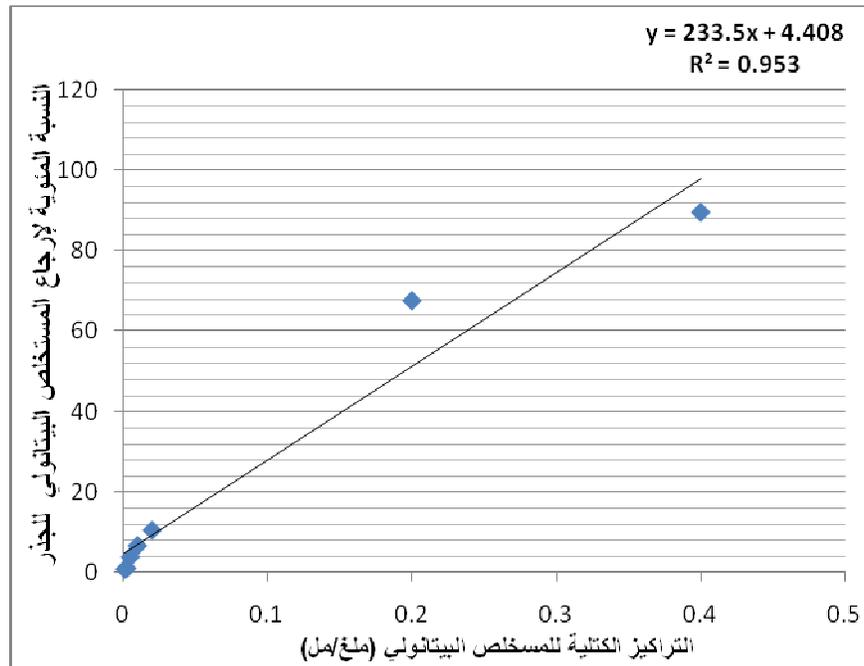
حددت قدرة المستخلص البيتانولي على اسر والتقاط الجذور الحرة بالنسبة المئوية لإرجاع الجذر الحر الثابت DPPH ومقارنة هذه النسبة بتلك الخاصة بالكيرستين (Quercétin)، الاختلاف بين قدرتي الأسر الجذري للمستخلص البيتانولي وكذا الكيرستين لجذر DPPH بدلالة مختلف التراكيز الكتلية موضحة في الجدول (1):

جدول 1 : الاختلاف بين قدرتي الأسر الجذري للمستخلص البيتانولي وكذا الكيرستين

% لإرجاع DPPH		تراكيز المستخلص البيتانولي و الكيرستين (مغ/مل)	
الكيرستين	المستخلص البيتانولي	التركيز في الخليط التفاعلي	التركيز الابتدائي
/	89.57	0.4	40
/	67.57	0.2	20
96.06	10.4	0.02	2
95.91	6.67	0.01	1
95.81	3.84	0.005	0.5
94.72	1.03	0.0025	0.25
46.45	0.84	0.00125	0.125



الشكل 20 : مقارنة الفعل الأسر لجذر DPPH لكل من المستخلص البوتانولي و Quercétine عند تراكيز كتلية مختلفة



الشكل 21 : النسبة المئوية لإرجاع المستخلص البوتانولي لجذر DPPH بدلالة التركيز

2- تحديد قيمة IC₅₀

من خلال المنحنى البياني تم حساب قيمة التركيز الموافق لـ 50% اعتمادا على معادلة المنحنى التالية :

$$y = 233.5x + 4.408$$

إذا كانت y نسبة الإرجاع المقدر بـ 50% تكون قيمة IC₅₀ كما يلي :

$$x = (50 - 4.408) / 233.5 = 0.195$$

عند النسبة 50% قدر تركيز المستخلص البتانولي لنبته *Salsola tetragona* بـ

$$IC_{50} = 0.195 \text{ mg/ml}$$

أثبتت النتائج المحصل عليها عدم فعالية المستخلص البتانولي لنبته *Salsola tetragona* في أسر و إنتقاط الجذور الحرة، حيث قدر التأثير الأسر لجذر DPPH بـ 89.49 % وهذا عند التركيز 0.4 مغ/مل ولم يبقي تأثير هذا المستخلص ذو فعالية عند التراكيز الجد منخفضة المستعملة، حيث قدر التركيز الأسر لـ 50 % - IC₅₀ بـ 0.195 مغ/مل. وعند مقارنة الفعالية المانعة للأكسدة للمستخلص البتانولي بتلك الخاصة بافلافونويد التجاري الكيرسيتين و الذي يعرف بأنه من أكفاء الفلافونويدات المضادة للأكسدة نجد انه عند التركيز 0.02 مغ/مل قدرت نسبة إرجاع جذر DPPH بالمستخلص بـ 10.49 % في حين سجلت عند نفس التركيز بـ 96.06 % للكيرسيتين، أي أن تأثير المستخلص كان حوالي تسع ذلك الملاحظ للفلافونويد الكيرسيتين.

5- تحديد المركبات الفينولية التامة:

النتائج المحصل عليها بالنسبة للمعايرة الفينولية لمستخلص الاسيتاتي هي :

$$4.26 \pm 0.57 \text{ (g/100g pyrogallol)}$$

النتائج المحصل عليها بالنسبة للمعايرة الفينولية لمستخلص البتانولي هي :

$$1.27 \pm 0.24 \text{ (g/100g pyrogallol)}$$

من خلال هذه النتائج تبين أن مستخلص الاسيتاتي و البتانولي يحتويان على كمية قليلة من المركبات الفينولية و هذا يوافق النتيجة المحصل عليها في الدراسة السابقة المتعلقة بالفعالية المضادة للأكسدة.

المراجع

4- Prinsloo, J.J. G., Meyer, M., Hussein, A. A., Munzo, E., Sanchez, R. (2010).
Nat. Prod. Reseach. 24(18), 1746.

الخاتمة

إن الغاية الرئيسية من هذا البحث هي التعرف على نواتج الأيض الثانوي لنبات *Salsola tetragona*.

خلال إنجازنا لهذا البحث قمنا بدراسة ببليوغرافية حديثة عن الفلافونيدات و التربينات من تعريف، اصطناع حيوي، فعالية بيولوجية، إلى الدراسة الإحصائية.

كما قمنا بدراسة ببليوغرافية عن الفلافونويدات، التربينات و عن الطرق المستخدمة في فصل و تنقية هذه المركبات و الطرق الفيزيو كيميائية لتحديد بنيتها.

اتبعنا في عملية الفصل جملة من الخطوات ابتداء من الاستخلاص يليه فصل أولي بواسطة كروماتوغرافيا العمود بعدها القيام بعملية الفصل باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و الورق.

من أجل التحديد البنوي للمركبات استخدمنا مطيافية الأشعة فوق البنفسجية، مطيافية الرنين النووي المغناطيسي و مطيافية الكتلة. و قد تم فصل أربعة مركبات و تم تحديد ثلاثة مركبات منها هي:

- 1 - Kaempférol 3-O- β -D-glucoside
- 2 - Quercétine 3-O- β -D glucosyl-glucoside
- 3 - Digitoxigenine 3-O- β -D-glucoside

وهي مركبات جديدة بالنسبة للجنس *Salsola*. بينما المركب 3 جديد بالنسبة للعائلة.

كما تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و معايرة متعدد الفينول للنوع *Salsola tetragona*.

الملخص

يندرج هذا العمل ضمن برنامج بحث للنباتات الطبية الجزائرية للجنس *Salsola* من العائلة الرمرامية (Chenopodiaceae).

إن هدفنا الرئيسي من هذا البحث هو الفصل و التعرف على نواتج الأيض الثانوي للنباتة *Salsola tetragona* (Chenopodiaceae).

وقد تمكنا من فصل أربع مركبات قمنا بتشخيص ثلاث منها، باستعمال مختلف التقنيات الكروماتوغرافية (كروماتوغرافيا العمود CC، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM، كروماتوغرافيا الورق CP). وأستخدمت مختلف الطرق الفيزيائية من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV، مطيافية الكتلة ES، و مطيافية الرنين النووي المغناطيس (RMN ¹H، COSY ¹H-¹H، مطيافية الكتلة ¹³C RMN، HMBC، HMQC) في تحديد بنى المركبات الثلاثة المفصولة:

- Kaempferol 3-O-β-D-glucoside
- Quercétine 3-O-β-D-glucosylglucoside
- Digitoxigénine 3-O-β-D-glucoside

كما تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و معايرة متعدد الفينول للنوع *Salsola tetragona*.

الكلمات المفتاحية : *Salsola tatragona*، Chenopodiaceae، الفلافونيدات، التربينات، النشاط المضاد للأكسدة و متعدد الفينول.

Résumé

Ce travail fait partie de notre programme de recherche sur les plantes médicinales algériennes du genre *Salsola* (Chenopodiaceae).

L'objectif principal de ce travail est d'identifier les métabolites secondaires de la plante *Salsola tetragona*.

L'utilisation des différentes méthodes de séparations chromatographiques (colonne, papier, couche mince) a permis d'isoler quatre composés, parmi lesquels trois produits ont été identifiés :

- Kaempférol 3-O- β -D-glucoside
- Quercétine 3-O- β -D-glucosylglucoside
- Digitoxigénine 3-O- β -D-glucoside

Les structures de ces flavonoïdes ont été bien établies grâce à l'utilisation des méthodes spectrales usuelles (UV, ES, RMN ^1H , RMN ^{13}C , COSY ^1H - ^1H , HMBC, HMQC).

L'activité antioxydante et le dosage polyphénols de l'espèce *Salsola tetragona* est également étudié.

Mots clés : Chenopodiaceae, *Salsola tetragona*, flavonoïdes, terpènes, activité antioxydante, Polyphénols.

abstract

The principal aim of the present work consisted to identify the secondary metabolites of *Salsola tetragona* belonging to the Chenopodiaceae family.

The use of the different chromatographic methods (column, paper, thin layer) permitted the isolation of four compounds, including three products have been identified:

- Kaempferol 3-O- β -D-glucoside
- Quercetin 3-O- β -D-glucosylglucoside
- Digitoxigenin 3-O- β -D-glucoside

The structures of these compounds were well established using the usual spectral methods (UV, ES, ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, HMBC, HMQC).

The antioxidant activity and polyphenols of spices *Salsola tetragona* have been also studied.

Key words : Chenopodiaceae, *Salsola tetragona*, flavonoids, terprns, Antioxidant activity and polyphenols.