



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](mailto: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 لنبته**

*Stachys ocymastrum* (L).Briq  
(Lamiaceae)

تحت إشراف الأستاذ : كعبوش أحمد

تقديم الطالب : لكل هشام

**لجنة المناقشة:**

رئيسة	أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة	الدكتورة كعبوش زهية
مقرر	أستاذ محاضر بجامعة منتوري قسنطينة	الدكتور كعبوش أحمد
ممتحنة	أستاذة محاضرة بجامعة منتوري قسنطينة	الدكتورة مكيو رتيبة
ممتحنة	أستاذة محاضرة بجامعة منتوري قسنطينة	الدكتورة بومعزة وهيبة

29 جوان 2008

# الإهداء

إلى من كان خلقه القرآن ، سيدي وحببي وقرّة عيني ،

"رسول الله محمد صلى الله عليه وسلم "

إلى اللذين أخذوا بيدي ووفروا لي سبيل التعلم وكانا لي الوجه الطافح حبا وحنانا،

"والداي الكرنمين "

إلى من تتلمذت على أياديهم ، وإلى من أمدوني بنصائحهم، وتوجيهاتهم،

" أساتذتي "

إلى من كانوا لي حشدا لهمتي كلما رأوا ضجرا أو توان مني في بحثي ،

"إخوتي "

إلى كل أفراد دفعتي دون إستثناء ،

إلى كل هؤلاء أهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع

# تشكرات

الحمد لله الذي علم بالقلم، علم الإنسان ما لم يعلم، و الصلاة و السلام على معلم البشر، و على آله 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 أثار طريقي، إلى واهبي الحياة، إلى ربي، ربه العزة جلّ جلاله.

و أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ الغالي كعبوش أحمد، الذي لم يبخل علي بتوجيهاته و نصائحه القيمة و الثمينة طوال مراحل إنجازنا لهذا العمل.

كما أتوجه بجزيل الشكر إلى الأستاذة الغالية كعبوش زهية التي كان لها الفضل في توفير كل الإمكانيات التي نحتاجها في بحثنا هذا .

كذلك أتوجه بشكري إلى الأستاذة مكيو رتيبة و الأستاذة بومعزة وهيبة على قبولهما المشاركة في لجنة المناقشة.

كما أتوجه بالشكر الخاص إلى الأستاذ كعبوش كمال الذي لم يبخل علينا بجهده الكبير الذي يتمثل في جلب النباتات المراد دراستها رغم صعوبتها جزاه الله عنا كل خير .

كما أتقدم بالشكر الخالص إلى جميع أفراد مخبر L.O.S.T على ما قدموه لي من نصائح و مساعدات، خاصة نعيمة ، فيروز، وسيلة ثم أسيا ونجوى، دون أن أنسى الذين أعتبرهم بمثابة اخوتي و أخواتي الأعزاء أفراد دفعتي و أتمنى لهم جميعا كل التوفيق و النجاح.

كما لا أنسى كل من ساعدني من قريب أو بعيد.

## الفهرس

- 6.....المقدمة.
- 8.....المراجع.

### الفصل الأول: مدخل لبعض المركبات الأيض الثانوي الموجودة في الجنس *Stachys*.

- 10..... I. مقدمة

#### II. الإيريدييدات

- 11..... 1- تعريفها
- 13..... 2- تصنيفها
- 15..... 3- فعاليتها البيولوجية
- 16..... 4- الإصطناع الحيوي لها
- 18..... 5- الإيريدييدات المعزولة من جنس *Stachys*

#### III. الفينيل بروبانويدات

- 21..... 1- تعريفها
- 22..... 2- الإصطناع الحيوي لها
- 24..... 3- الفينيل بروبانويدات المعزولة من جنس *Stachys*

#### IV. الفلافونيدات

- 27..... 1- تعريفها
- 27..... 2- خواصها وفعاليتها البيولوجية
- 28..... 3- الإصطناع الحيوي لها
- 30..... 4- تثبيت المجموعات الإستبدالية على الهيكل الفلافونيدي
- 33..... 5- أقسامها
- 35..... 6- المركبات الفلافونيدية المعزولة من جنس *Stachys*
- 50..... المرجع

### الفصل الثاني: طرق دراسة المركبات الفلافونيدية

#### I. طرق إستخلاص، فصل وتنقية المركبات الفلافونيدية

- 54..... 1- الإستخلاص
- 2- الفصل والتنقية
- 57..... 1-2- الفصل

57.....	1-2- أ- كروماتوغرافيا العمود (CC)
58.....	1-2- ب- كروماتوغرافيا الورق (CP)
59.....	1-2- ج- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)
61.....	1-2- د- كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)
62.....	2-2- التنقية
	II. الدراسة البنوية للمركبات الفلافونيدية
62.....	1- الخصائص الكروماتوغرافية
	2- طرق التحليل الطيفي :
63.....	أ- مطيافية الأشعة فوق بنفسجية
69.....	ب- مطيافية الكتلة
71.....	ج- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي
74.....	د- الإمهاء الحمضية
77.....	المراجع
	<b>الفصل الثالث : الدراسة الكيميائية النباتية لـ <i>Stachys ocymastrum(L.) Briq</i></b>
	I. الدراسة النباتية :
80.....	1- المادة النباتية
80.....	2- وصف النبتة
81.....	3- التصنيف النباتي للنبتة
	II. الدراسة الكيميائية للنبتة :
81.....	1- إستخلاص النبتة
83.....	2- طريقة الفصل والتنقية
86.....	3- معالجة الكسور المتحصل عليها
	<b>الفصل الرابع : النتائج والمناقشة</b>
88.....	1- التحليل البنوي للمركب S1
109.....	2- التحليل البنوي للمركب F57-B
115.....	3- التحليل البنوي للمركب F70-2
121.....	4- التحليل البنوي للمركب S75
141.....	الخاتمة
142.....	الملخص

## المقدمة :

طبُّ الأعشاب طريقة قديمة لعلاج الأمراض التي تُصيب الإنسان. تعود هذه الطريقة في المعالجة إلى أزمنة بعيدة ضاربة في القدم، وربما صاحبت تاريخ الإنسان منذ بداية وجوده على الأرض.

كان الإنسان يهتدي في كشف الخواص العلاجية للأعشاب بالصدفة أحياناً، وبالتجربة التي لا تخلو من مخاطر في أحيان أخرى . بل إن معرفة الإنسان القديم للأعشاب كدواء جاءت نتيجة مراقبته لبعض الحيوانات مثل القطط والكلاب وتناولها لأعشاب معينة عندما يلمُّ بها مرض أو ألم .وقد أدَّت الصدفة دوراً كبيراً في اكتشاف العديد من الأعشاب والنباتات التي تعالج الأمراض. وكان الاهداء إلى بعضها يتحقق بوحى من الحدس أو الإحساس الصادق .وهكذا عرف الإنسان قدرة قلف شجر الكينا على معالجة الحمى. وتُعرف المادة المستخلصة من هذا القلف **بالكينين (quinine)**، وبالصدفة أيضاً جاء اكتشاف البنسلين (pénicilline) الذي يُستخلص من نبات فطري يُعرف باسم **بنسليوم نوتاتم (Penicillium notatum)**. اعتمد الإنسان في الحضارات القديمة، خاصة حضارة بلاد ما بين النهرين أو سومر وبابل وآشور وحضارة مصر القديمة، على الأعشاب الطبية في معالجة الأمراض بجانب طرق أخرى منها الرقى والتعاويذ والسحر. لقد كان للعرب السبق في الترجمة والدراسة والتجربة لكل ما جاء في كتب الأقدمين عن المعالجة بالأعشاب. وقد برع منهم الكثيرون في هذا الفن حتى إن مؤلفاتهم ظلت لقرون عديدة مرجعاً للطب والعلاج في أوروبا، وذلك لما تضمنته من معلومات مهمة عن العلاج بالأعشاب والوقاية من الأمراض المختلفة. حديثاً نشطت معاهد البحوث وأجريت الدراسات لتبيين ما لهذه الأعشاب من فوائد وخواص شافية، وتوقر لدى الباحثين قائمة طويلة من هذه الأعشاب. وقد أظهرت البحوث قدرة بعضها على معالجة الأمراض: ففشور الرمان والجميز تحتوي على حمض التنيك وله خاصية وقف نمو الميكروبات ومعالجة القروح. ونبات عرق الذهب يحتوي مادة الزميتين التي تقتل طفيل الزحار (Dysenterie). ويحتوي الثوم على مادة الإيندول (Indole) القادرة على مقاومة حمى التيفوئيد (Typhoïde). وكان الدكتور ديفيد جرينستوك، من جامعة الوليد بأسبانيا، قد أجرى بحثاً على الثوم أكدت قدرته على خفض ضغط الدم وإقلال الدهون السابحة فيه. كما أظهرت الدراسات أن قشر الرمان وثمار الحنظل ونبات سرخس الذكر والشيح والترمس

ونبات الخلة وثمار المانجو تقتل ديدان البطن لما تحتويه هذه النباتات من مواد تعادل مادتي البيلاثيرين (pylatherine) والسانتونين (xanthonine) القاتلتين للديدان. وقد أكدت الدراسات التي أجريت في أمريكا قدرة حبة البركة (الحبة السوداء) في تقوية جهاز المناعة ومقاومة الأمراض التي تصيب الجهاز التنفسي. والجدير بالذكر عن هذه الحبة أن رسول الله صلى الله عليه وسلم قال: الحبة السوداء شفاء من كل داء إلا السام (رواه البخاري ومسلم والسام هو الموت). أما نبات الجنسج (Ginseng) الذي استعمله الصينيون القدماء مهدئا ومقويا، فقد أظهرت أبحاث حديثة قدرته على معالجة المضاعفات الخطيرة التي يسببها مرض السكر، خاصة تلك التي تؤثر على الجهاز العصبي للمريض [1].

تركز إهتمامنا في هذا البحث على فصيلة الشفويات (Lamiaceae) والذي يضم الجنس *Stachys* الذي يشتهر بغناه بالمركبات الطبيعية (الفلافونيدات [2]؛ التربينات [3]؛ فينيل إيتانويد الجليكوزية [4]؛ السابونينات [5] ) وكذلك تميزها بخصائصها العلاجية [6]، [7] ، [8] .

وقد قسمنا بحثنا هذا إلى أربعة فصول هي :

- مدخل لبعض المركبات الطبيعية التي يشتهر بها الأيض الثانوي لجنس *Stachys*.
- طرق دراسة المركبات الفلافونيدية.
- الدراسة النباتية والكيميائية لنبتة *Stachys ocymastrum(L.)Briq*.
- النتائج الكيميائية المتمثلة في تحديد الصيغ البنيوية للمركبات المعزولة.



- [1] El-Chwikhat, Ahmed.,(2004) encyclopedie arabique globale.
- [2] El-Ansari, M.A., Nawwar, M.A., Saleh, N.A.M., (1995).  
Phytochemistry 40, 1543–1548.
- [3] Paternostro, M.P., Maggio, A.M., Piozzi, F., Servettaz, O., (2000).  
Journal of Natural Products 63,1166–1167.
- [4] Nishimura, H., Sasaki, H., Inagaki, N., Chin, M., Mitsuhashi, H.  
(1991). Phytochemistry 30, 965–969.
- [5] Yamamoto, R., Miyase, T., Ueno, A.,( 1994).Chemical and  
Pharmacological Bulletin 42, 1291–1296.
- [6] Hayashi, K., Nagamatsu, T., Ito, M., Hattori, T., Suzuki, Y., (1994).  
Japanese Journal of Pharmacology 65, 143–151.
- [7] Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C., et al., (2000). PDR for  
herbal Medicines, 2nd ed. Medical Economics Company, Montvale, NJ,  
p. 832.
- [8] Vjera , H., Brantner , M.,(2007). Food Chemistry 104 1277–1281.

# الفصل الأول

مدخل لبعض المركبات الطبيعية التي يشتهر بها الأيض  
الثانوي لجنس *Stachys*.

## I-المقدمة:

تعتبر العائلة الشفوية (**Lamiaceae**) من النباتات التي تظهر في حياتنا اليومية والتي تستعمل لعدة أغراض، وميزتها الزيوت الطيارة التي تفرزها الغدد المنتشرة على كافة الأجزاء النباتية، والتي تستعمل في عدة مجالات صناعية من بينها صناعة العطور.

ومن بين هذه الأنواع الخزامة: lavande ؛ الجعدة: Phlomis ؛ النعناع: menthe؛ الإكليل: romarin.

ويعود أصل تسميتها إلى الكلمة اللاتينية **Labium**، والتي تعني الشفتين. معظم هذه النباتات أعشاب حولية أو معمرة، أو شجيرات سيقانها قائمة. أما أوراقها فتكون متقابلة متعامدة بسيطة بلا أدنيات، نوارتها غير محدودة، وقد تكون النورة لولبية، أو بسيطة ذات شعبتين أو عقربية وهي عند كل عقدة، تكون ما يشبه السوار. ويكون شكل النورة إما سنبلي أو عنقودي أو هاملي. زهراتها خنثى وحيدة التناظر سفلية، ويتألف الكأس من خمسة سبلات ملتحمة ومستديمة وهو أنبوبي الشكل أو شفوي أو مسنن. يتألف التويج من خمسة بتلات ملتحمة على شكل شفتين، أما الطلع فيتألف من أربعة أسدية، ويتكون المتاع من كربلتان ملتحمتان وقلم واحد ينتهي بميسمين. أما القرص الغدي فيقع في أسفل المبيض وأحيانا يكون بشكل غدة كبيرة على الجانب الأمامي، يوجد في المبيض حجرتان لكل واحدة منهما بويضتان. أما الثمرة فتتكون من أربع ثمرات تقع بداخل الكأس، وتكون البذرة أندوسبيرمية وكثيرا ما يمتصها الجنين.

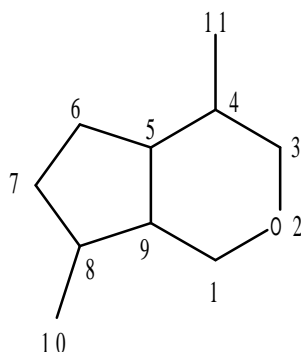
تشمل هذه الفصيلة حوالي 200 جنس و 6000 نوع تنتشر في جميع أنحاء العالم خصوصا حوض البحر الأبيض المتوسط. تحتوي هذه العائلة على جنس *Stachys* والذي يحتل المرتبة الثانية، حيث يشمل أكثر من 300 نوع منتشرة في شمال أوروبا وحوض البحر الأبيض المتوسط [1]، [2].

يتميز جنس *Stachys* بغناه بالمركبات الطبيعية، وهي الإيريدييدات [3]، فينيل بروبانويد و الفلافونيدات [4].

## les iridoïdes الإريديديات-II

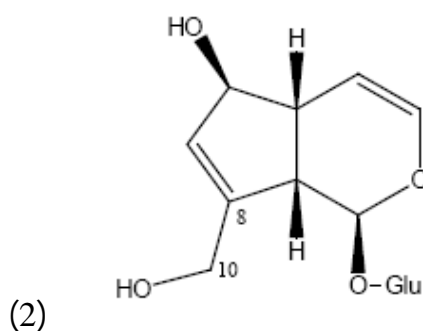
### II-1- شكل الإريديديات

هذه المركبات تتميز بهيكل cyclopenta[c]pyranique غالبا ما يوصف بكلمة iridane (cis-2-oxabicyclo-[4,3,0]-nonane) شكل (1)، يتمثل أساسا على هيئة جليكوزيد

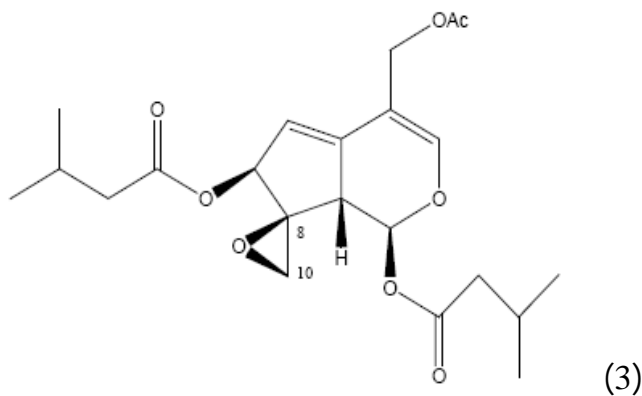


(1)

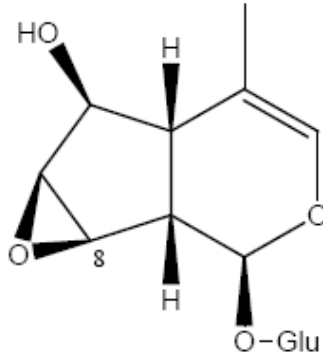
مجموعة الميثيل (C-10) بصفة عامة تكون محمولة على الكربون (C-8)، أكثر أو أقل أكسدة: هيدروكسي ميثيل (aucuboside) (2)، إيبوكسيد (valtrate) (3)، ناذرا كما في حالة deutzioside (4)[5]



(2)

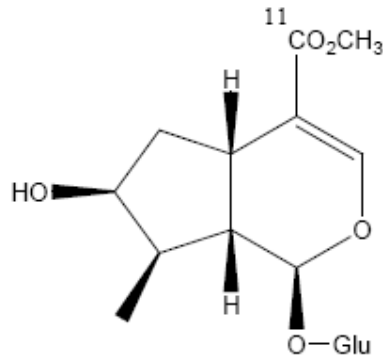


(3)

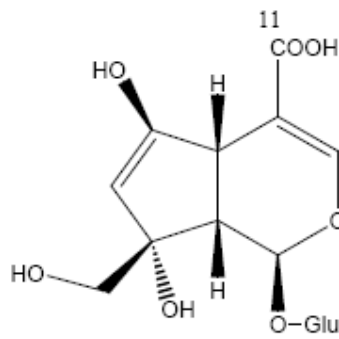


(4)

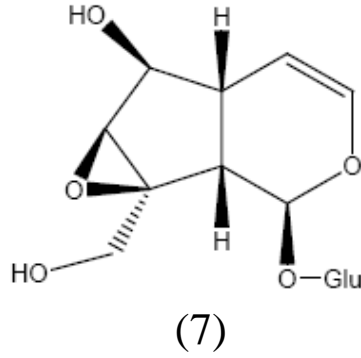
لقد إشتق إسم iridoïde من إسم النملة التي تنتمي إلى جنس *Iridomirmex* ، إطلاقا من المركب الذي تفرزه أثناء دفاعها عن نفسها.  
 بصفة عامة iridoïdes تتشكل من 10 ذرات كربون، الكربون C-11 عادة ما يدخل ضمن مجموعة الكاربوميتوكسيل كما في حالة loganoside (5) أو الكاربوكسيليك كما في حالة monotropéoside (6) ، في بعض الحالات يكون الكربون C-11 غائبا كما في حالة Catalpol (7) [5].



(5)



(6)

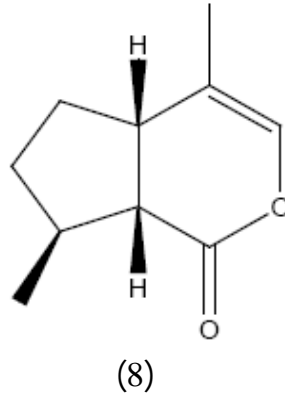


## II-2-تصنيفها

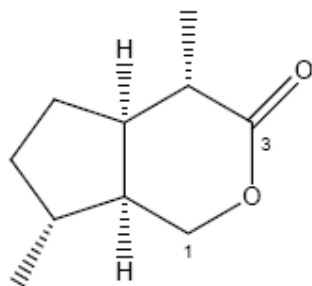
توجد أربع مجموعات أساسية للإيريديديات، إيريديديات بسيطة ليست إيتيروزيدية ، تختصر فقط على جزء ال génine أو aglycone ، إيريديديات جليكوزية و الأكثر وفرة ال-séco-iridoïdes و bis-iridoïdes [6] .

### 2-1-الإيريديديات البسيطة

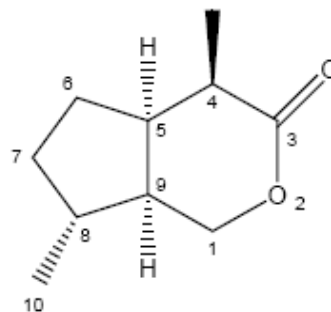
يمكن أن تكون عبارة عن قلويدات ، حلقات غير متجانسة ، إسترات أو إيثيرات داخلية [5]. البنى الأكثر بساطة تكون معروفة لدى النباتات، مثال على ذلك مركب népétalactone (8) وهو مركب يوجد بوفرة في نبتة *Nepeta cataria* L. ، وسميت بعشبة القط ، وذلك لتميزها برائحة هذا المركب التي تجلب القطط [7] .



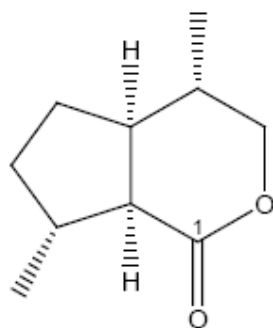
تنقسم الإيريديديات اللاكتونية إلى مجموعتين من نوع I و II حسب التماكب الفراغي لللاكتون بالنسبة إلى النواة السيكلوبنتانية [8] . في حالة المجموعة I تمثل ب *Iridomyrmex* (9) و *isoiridomyrmecine* (10) المعزولين من *Iridomyrmex nitidus* Mayr و *humilis* Mayr المجموعة الكربونية اللاكتونية على الكربون C-3 . أما المجموعة II كما في حالة المركبين *dihydronepetalactone* (11) و *isodihydronepetalactone* (12) هاته الأخيرة تكون في موضع الكربون C-1 [8] .



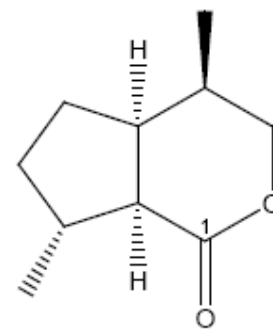
(10)



(9)



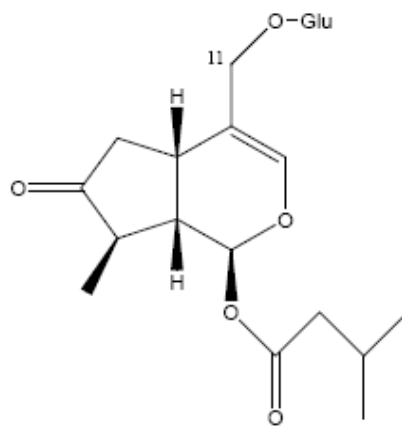
(12)



(11)

### 2-2 الإيريديديات السكرية

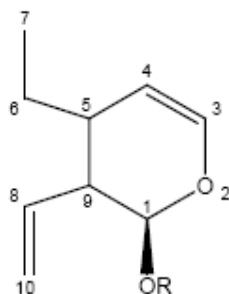
أغلبية سكرياتها الجليكوز، حيث تتشكل الرابطة الإيتروزيدية بين الهيدروكسيل المحمول على الكربون الأنوميري للجليكوز و هيدروكسيل الكربون C-1 للجينين ، كما في حالة loganoside (5) ، حيث يشكل هذا الأخير النواة الأساسية لأغلبية الإيريديديات، بينما نادرا ما تتشكل هذه الرابطة مع هيدروكسيل الكربون C-11 كما في حالة ébuloside (13) [5] .



(13)

### 3-2 ال Séco-iridoïdes

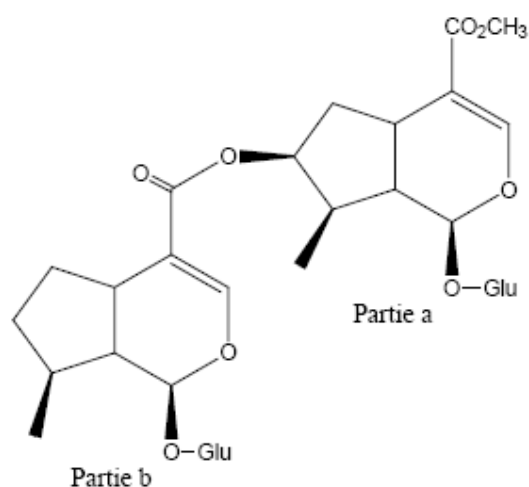
وهي تتشكل نتيجة لقطع الرابطة بين C-7 و C-8 للنواة السيكلوبنتانية كما في الشكل (14) [11] .



(14)

## Bis-iridoïdes ال 4-2

كما في حالة picconioside I والذي يتشكل من جزئين a و b شكل (15) [12].



(15)

## II -3- فعاليتها البيولوجية

إن إستعمال النباتات في الطب الشعبي يشكل النواة الأساسية بما نسميه حاليا الطب البديل. إن الإكتشافات الفيتوكيميائية المحققة على النباتات المستعملة في الطب الشعبي، أفضت إلى إكتشاف العديد من المركبات الفعالة والمستعملة كدواء، توجد الإريدويدات في العديد من العائلات النباتية ، حيث تغطي جانبا كبيرا من ناحية فعاليتها البيولوجية [13] .

فنبته *Harpagophytum procumbens* التي تنمو في جنوب إفريقيا، ناميبيا، مدغشقر والتي تستعمل في الطب الشعبي لمعالجة إلتهاب المفاصل الضموري و الروماتيزم، عسرالهضم ، ألم الظهر . هذه النبتة تحتوي على نسبة تقدر ب 0.5-3 بالمئة من الإريدويدات الجليكوزية [14]. بالإضافة إلى ذلك تتميز بعدة خصائص علاجية منها : مضادة لتسمم الكبد،



cholérétique، مخفضة للسكر، hypolipidémique ، antispasmodique ، مضادة للسرطان ، مضادة للفيروسات [15].

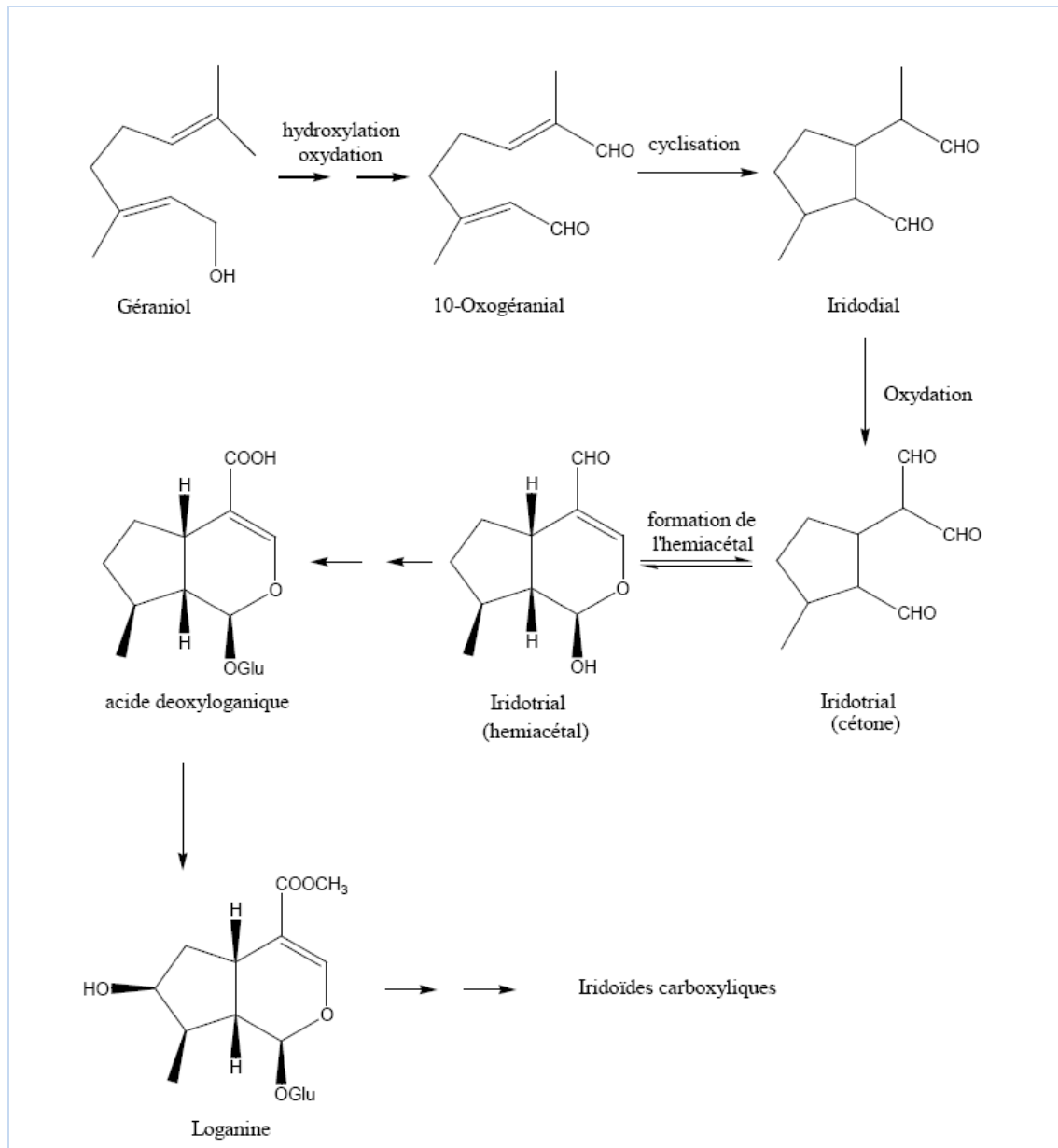
## II-4- الإصطناع الحيوي للإيريدييدات

إن العناصر الأساسية للتربينات هي وحدات الإيزوبرين ( $C_5$  - isoprène) تحت شكل إيزوبنتيل بيروفوسفات (IPP) و ديميثيل أليل بيروفوسفات (DMAPP). الإيريدييدات هي تربينات أحادية  $C_{10}$  مشتقة من ال géranol [16]. الوحدات الإيزوبرينية يمكن أن يتعرف عليها بكل سهولة عند أغلبية التربينات وهيكل ال iridane يوضح ذلك (16).



(16)

أغلبية الإيريدييدات الكربوكسيلية مشتقة من ال 8- $\beta$ -loganine (5). إن تحول ال géranol إلى loganine يمر بعدة مراحل والمخطط-1 يوضح ذلك [17].



**مخطط-1: مخطط الإصطناع الحيوي لمركب loganine**

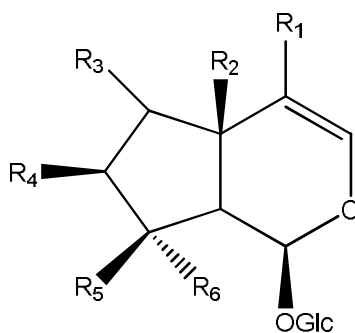
## 5-II - الأريثويدات المفصولة من جنس *Stachys* :

لقد تم عزل 16 إريثويدا من جنس *Stachys* ، كلها من الإريثويدات السكرية وهي مدونة في الجدول-1 :

### جدول-1: الإريثويدات المعزولة من جنس *Stachys*

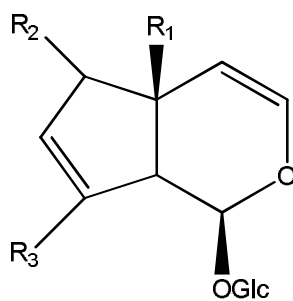
المركبات المعزولة	النوع	البنية	المرجع
harpagide	<i>S. spinosa.</i> <i>S. grandidentata.</i> <i>S. betonicaeflora.</i> <i>S. macrantha</i> <i>S. iberica.</i> <i>S. sylvatica.</i> <i>S. palustris.</i> <i>S. alpina.</i> <i>S. annua.</i>	1a	3 18 19 20 21 22
Ajugol	<i>S. spinosa.</i> <i>S. grandidentata.</i> <i>S. macrantha.</i> <i>S. inflata.</i> <i>S. iberica.</i>	2a	3 18 20 21
Ajugoside	<i>S. macrantha.</i> <i>S. inflata.</i> <i>S. iberica.</i>	3a	20 21
7-O-acetyl-8-epi-loganique acide	<i>S. spinosa.</i>	4a	3
acide loganique	<i>S. ionica</i>	5a	24
gardoside		13	
8-O-acetylharpagide	<i>S. grandidentata.</i> <i>S. betonicaeflora.</i> <i>S. macrantha.</i> <i>S. iberica.</i>	6a	18 19 20 21
reptoside	<i>S. macrantha.</i>	7a	20
allobetonicoside		10b	
macranthoside		1	
5-desoxy-harpagide	<i>S. grandidentata.</i>	8a	18
5-desoxy-8-acetyl-harpagide		9a	
monomelittoside		11b	

melittoside	<i>S. sieboldii</i> Miq.	12b	23
catalpol		14	
stachyoside A		16	



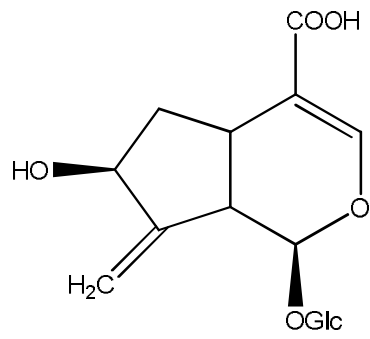
**a**

<b>a</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>
1	H	OH	▶OH	H	OH	Me
2	H	H	▨OH	H	OH	Me
3	H	OH	OH	H	OAc	Me
4	COOH	H	H	OAc	H	Me
5	COOH	H	H	OH	Me	H
6	H	OH	OH	H	OAc	Me
7	H	OH	H	H	OAc	Me
8	H	H	▶OH	H	OH	Me
9	H	H	▶OH	H	OAc	Me

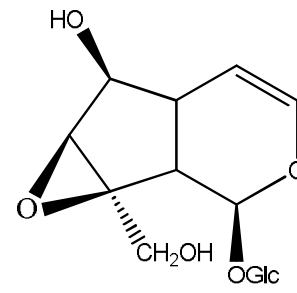


**b**

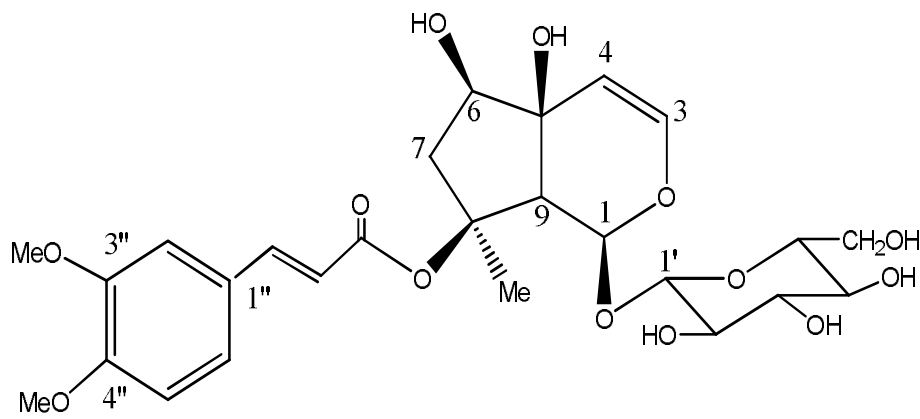
<b>b</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>
10	O-Allose	≡O	Me
11	OH	▶OH	CH <sub>2</sub> OH
12	OGlc	▶OH	CH <sub>2</sub> OH



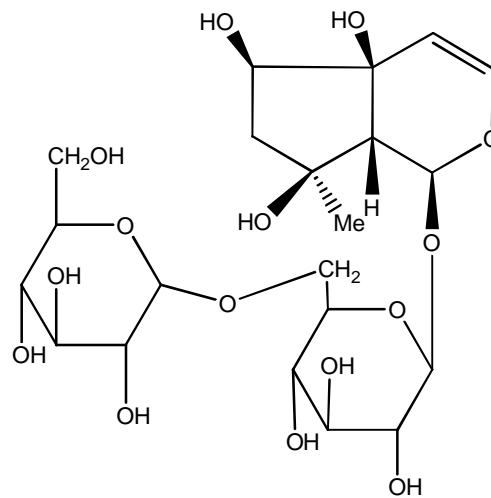
**13**



**14**



**15**



**16**

### III- الفينيل بروبانويد les Phenylpropanoides

#### III-1- تعريف:

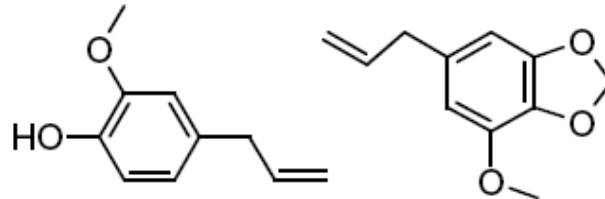
تتشكل المركبات التي تتصف بالخاصية الفينولية والمستخلصة من النباتات حيزا كبير في حقل المنتجات الطبيعية نظرا لكثرة عددها ولتباين الهياكل البنائية لها[11]، وهي توجد بصفة خاصة في النباتات التي تتميز بإنتاجها الوفير للزيوت الطيارة (Lamiaceae، Apiaceae، Lauraceae، Myrtaceae، Rutaceae) [14].

من المركبات الفينولية الطبيعية، الفينولات البسيطة وكذلك المركبة، هاته الأخيرة أكثر تعقيدا في بنائها من المركبات الفينولية البسيطة و الأكثر إنتشارا في الطبيعة . من أهم المركبات الفينولية: فينيل بروبانويد، الكومارينات ، الفلافونويدات ، ليجنين (lignans) ، التانينات (tanins) [25].

الفينيل بروبينات هي مكونات هامة للعديد من الزيوت الطيارة، ويعتبر eugenol أحد هذه المركبات حيث يشكل المركب الرئيسي لزيت القرنفل (oil of cloves) الذي يستخلص من نبات *Eugenia caryophyllata* أو *Syzygium aromaticum* كما أنه يستعمل كمسكن لآلام الأسنان.

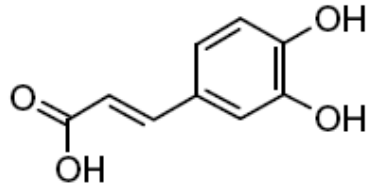
وكذلك مركبي **anéthole** و **myristicine** اللذان يعتبران من المركبات الأساسية لنبته جوزة الطيب (*Myristica fragrans*) [26].

تسمية فينيل بروبانويد تدل على أن ثلاث ذرات كربون للسلسلة الجانبية مرتبطة بحلقة فينول كما تبينه المركبات التالية :

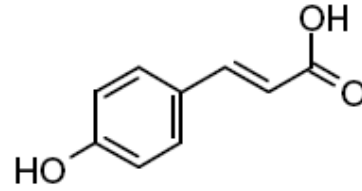


Eugenole

myristicine



Acide caféique



acide P-coumarique

### III -2- الإصطناع الحيوي للفينيل بروبانويد :

يتبع طريق حمض الشيكيميك ، ويعتبر ال phenylalanine النواة الأساسية لحمض السيناميك

وباقى الفينولات الأخرى.

أول مركب يتشكل هو حمض *t*-cinnamique ، والذي بدوره يسير في إتجاه تكوين

خمسة أحماض أخرى (اللون الأزرق) والتي تختلف من حيث درجة المثيلة (اللون الأخضر)

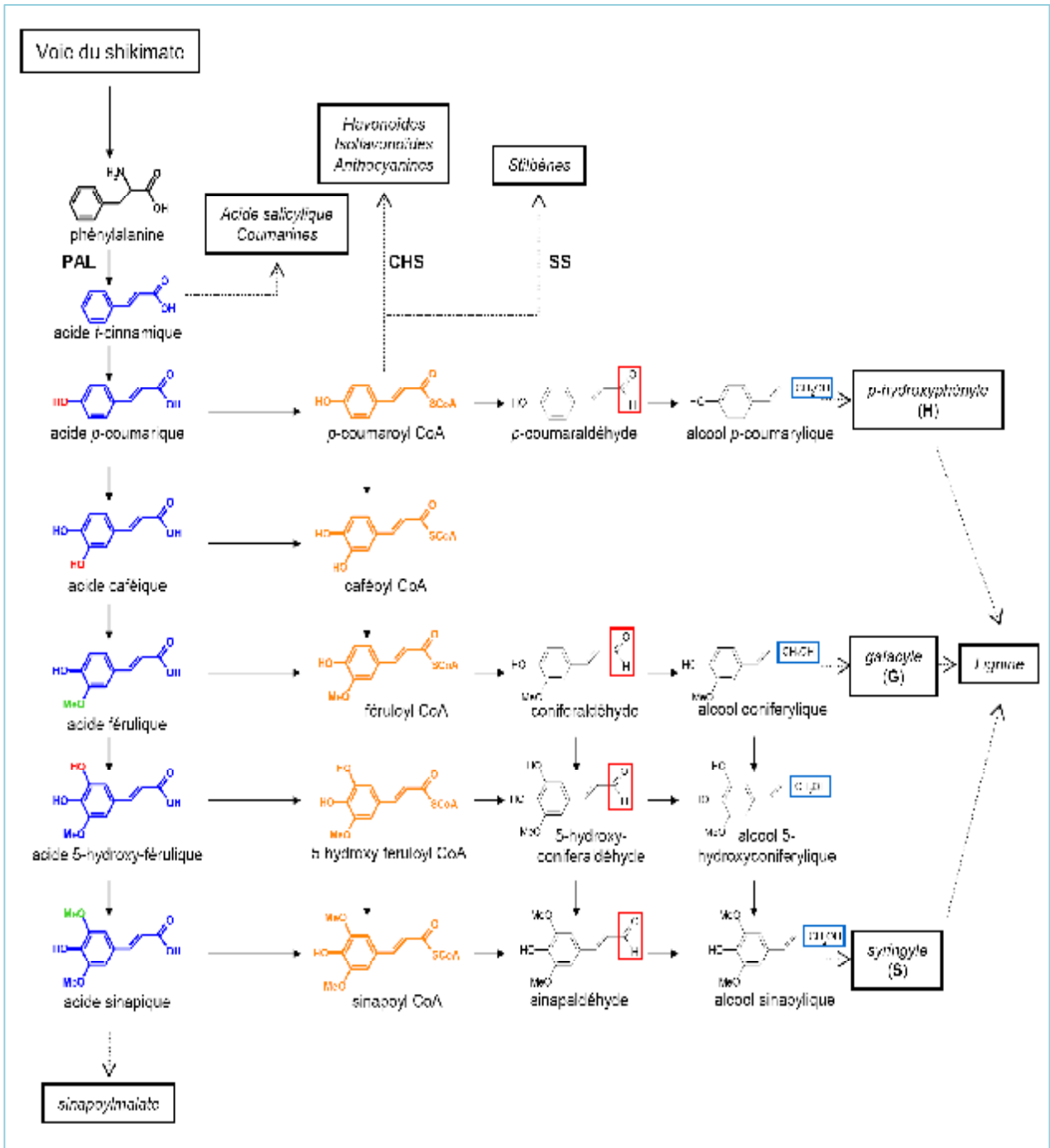
وكذلك وجود مجموعات الهيدروكسيل (اللون الأحمر) . مجموعات إسترات CoA (اللون

البرتقالي) تمثل الوسائط المنشطة لأيض الفينيل بروبانويدات . يمكن أن تتحمل المجموعات

الحمضية المؤسّرة مرحلتين من عملية الإرجاع لإعطاء ألددهيد (المستطيل الأحمر) ثم كحول (

المستطيل الأزرق ) على التوالي. ثلاثة من هذه المركبات الكحولية تمثل النواة الأساسية لتشكيل

مركبات lignine. والمخطط-2 يوضح ذلك [14] :



**مخطط-2: مخطط مبسط لأيض الفينيل بروبانويد [27]**

PAL : phénylalanine ammoniac lyase ; CHS : chalcone synthase ; SS : stilbène synthase.

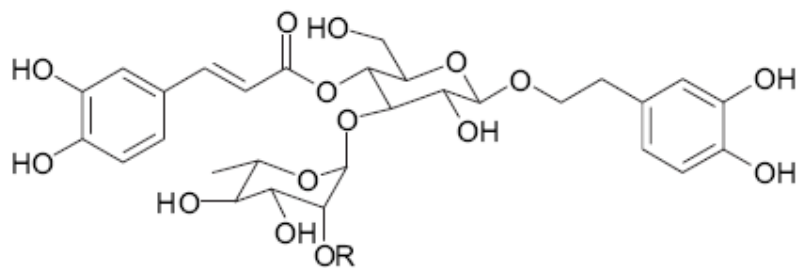


**III-3- الفينيل بروبانويدات المعزولة من جنس *Stachys* :**

حيث تم عزل 13 مركبا والجدول 2- يوضح ذلك:

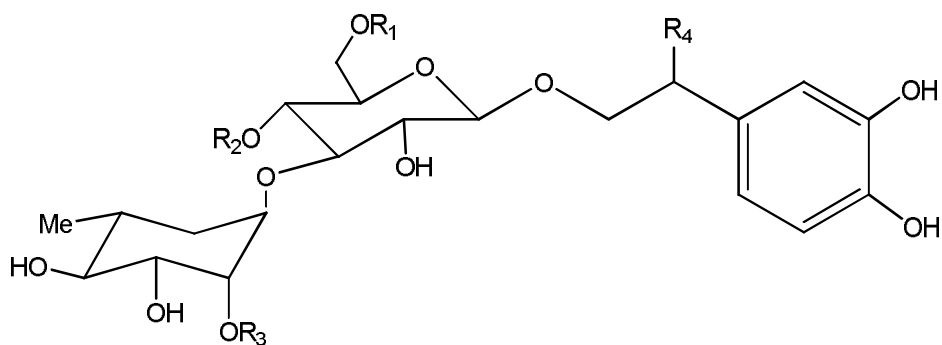
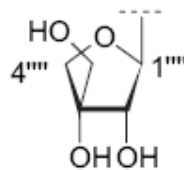
**جدول-2: مركبات الفينيل بروبانويد المعزولة من جنس *Stachys***

المركبات المعزولة	النوع	البنية	المرجع
Verbascoside	<i>S. macrantha.</i> <i>S. schtschegleevii.</i> <i>S. officinalis.</i>	1	20 30 29
Betonyoside	<i>S. schtschegleevii.</i>	2	30
lavandulifolioside	<i>S. macrantha.</i> <i>S. lavandulifolia.</i>	1a	20 28
campneosides II	<i>S. officinalis.</i>	2a	29
forsythoside B		1b	
leucosceptoside B		2b	
betonyosides A		1c	
betonyosides B-C		2c	
betonyosides D		3c	
betonyosidesE		4c	
betonyosides F		5c	
leucosceptoside A	<i>S. macrantha.</i>	3b	20
Martynoside		4b	



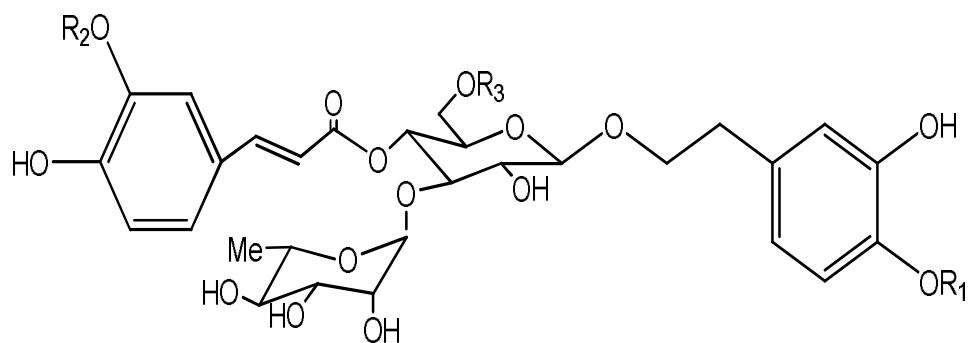
1 R = H

2 R =



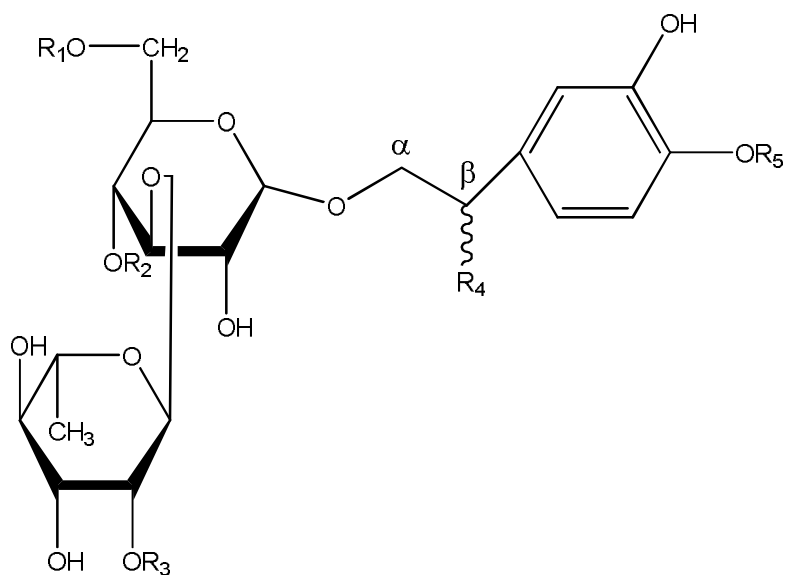
**a**

<b>a</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>
<b>1a</b>	H	Caffeoyl	Ara	H
<b>2a</b>	H	Caffeoyl	H	OH



**b**

<b>b</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1b</b>	H	H	<b>b-Apiosyl</b>
<b>2b</b>	Me	Me	<b>b-Apiosyl</b>
<b>3b</b>	H	Me	H
<b>4b</b>	Me	Me	H



**c**

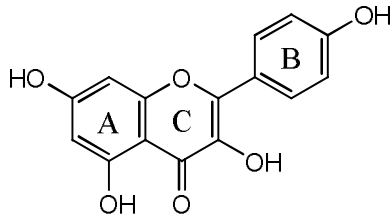
<b>c</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>
<b>9-1c</b>	H	Feruloyl	H	OH	H
<b>10-2c</b>	Feruloyl	H	H	OH	H
<b>11-3c</b>	Api	<i>Cis</i> -Feruloyl	H	H	CH <sub>3</sub>
<b>12-4c</b>	Api	Feruloyl	H	OH	H
<b>13-5c</b>	H	Caffeoyl	Api	H	H

#### IV - الفلافونويدات

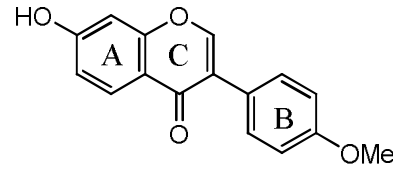
##### IV-1- تعريف:

الفلافونويدات هي مشتقات 1,3-diphenylpropane ، وهي تنتشر في الطبيعة بشكل كبير ، واسعة الإنتشار عند النباتات الراقية لكن تكون ضئيلة عند الطحالب. معظم الفلافونويدات مركبات صفراء اللون حيث تساهم في اللون الأصفر للأزهار والفواكه، فهي توجد في العادة على شكل جليكوزيدات التي قد تكون على هيئة سكر أحادي أو ثنائي ، أو ربما يدخل في بناء السكر أكثر من وحدتي سكر أحادي. لحد الآن يوجد أكثر من 2000 جليكوزيد ( فلافونات ، فلافونولات ) تم عزله ،

كما أن هناك منتجات طبيعية وثيقة الصلة بالتركيب البنائي للفلافونات وهي الإيزوفلافونات مثل (Formononetine) كما في الشكل أدناه ، و فلافونويدات سلفاتية وهي عبارة عن مركبات إستر سولفاتي للعديد من هيدروكسيلات الفلافون أو الفلافونول(kaempferol) أو مثيلاتهم الإيثيرية ، وهي أقل إنتشارا في الطبيعة بخلاف الفلافونات و الفلافونولات المنتشرة على نطاق واسع [14] .

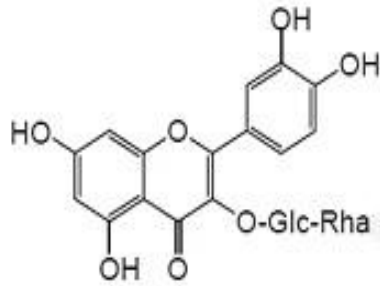


Kaempferol

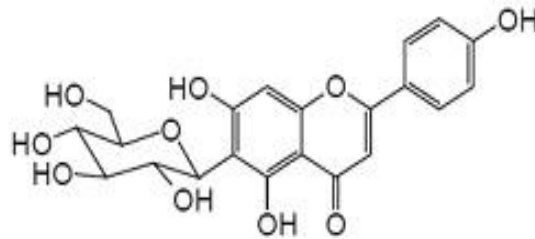


Formononetine

قد تكون وحدة السكر مرتبطة إلى ذرة أكسجين مجموعة الهيدروكسيل مثل مركب ال rutin أو مرتبطة مباشرة بإحدى ذرات كربون الحلقة العطرية مثل مركب ال isovitexine. وأغلب السكريات الأحادية المتواجدة في بناء الفلافونويدات هي الجلوكوز والجالكتوز والأرابينوز و الزيلوز.



Rutin



Isovitexine

##### IV-2- خواص والفعالية البيولوجية للفلافونويدات

بما أن الفلافونويدات مركبات هيدروكسيلية فإنها لا بد أن تتصف بخواص وصفات الفينولات ،فهي مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة ذوابة في القواعد القوية مثل هيدوكسيد الصوديوم وتتصف الفلافونويدات التي تحمل عددا كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحوي على وحدات سكر بالصفة القطبية، وعليه فهي ذوابة في المذيبات القطبية مثل الميثانول

و الإيثانول وثنائي ميثيل سلفوكسيد والأسيتون و الماء. ووجود بقية السكر في جزيء المركب يجعله أكثر ذوبانا في الماء. أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات وكذلك الفلافانونات، الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر .

تمتلك الفلافونويدات عدة خصائص فعالة، من بينها الخصائص التالية [14] :

• مضادات للأكسدة.

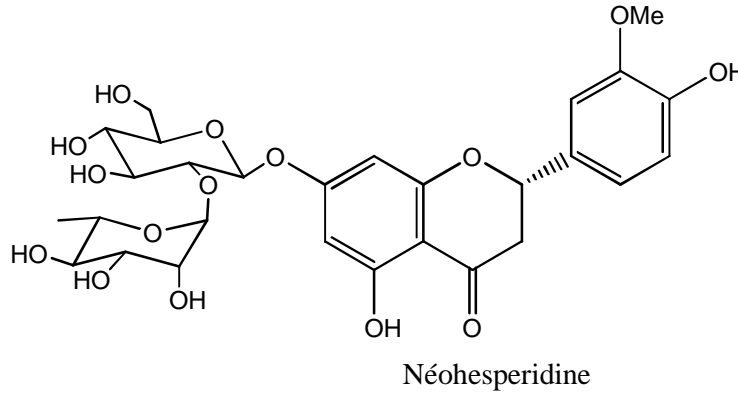
• مضادات للالتهاب .

• مضادات للفيروسات .

• مضادات لتسمم الكبد.

• مضادات للبيكتيريا.

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* و *Fagopyrum esculentum* و *Ruta graveolens* ، فهو من المحتمل أن يكون المركب الأكثر دراسة من بين كل الفلافونويدات ، إذ يدخل في تركيب مختلف متعددات الفيتامين (multivitamin) ، فلافونويد آخر هو الـ Néohesperidine والمستخلص من نبتة *Citrus peels* يدخل في تركيب المضافات الغذائية وكذلك يستعمل في معالجة النزيف الشعري (hémorragie capillaire)[14] .



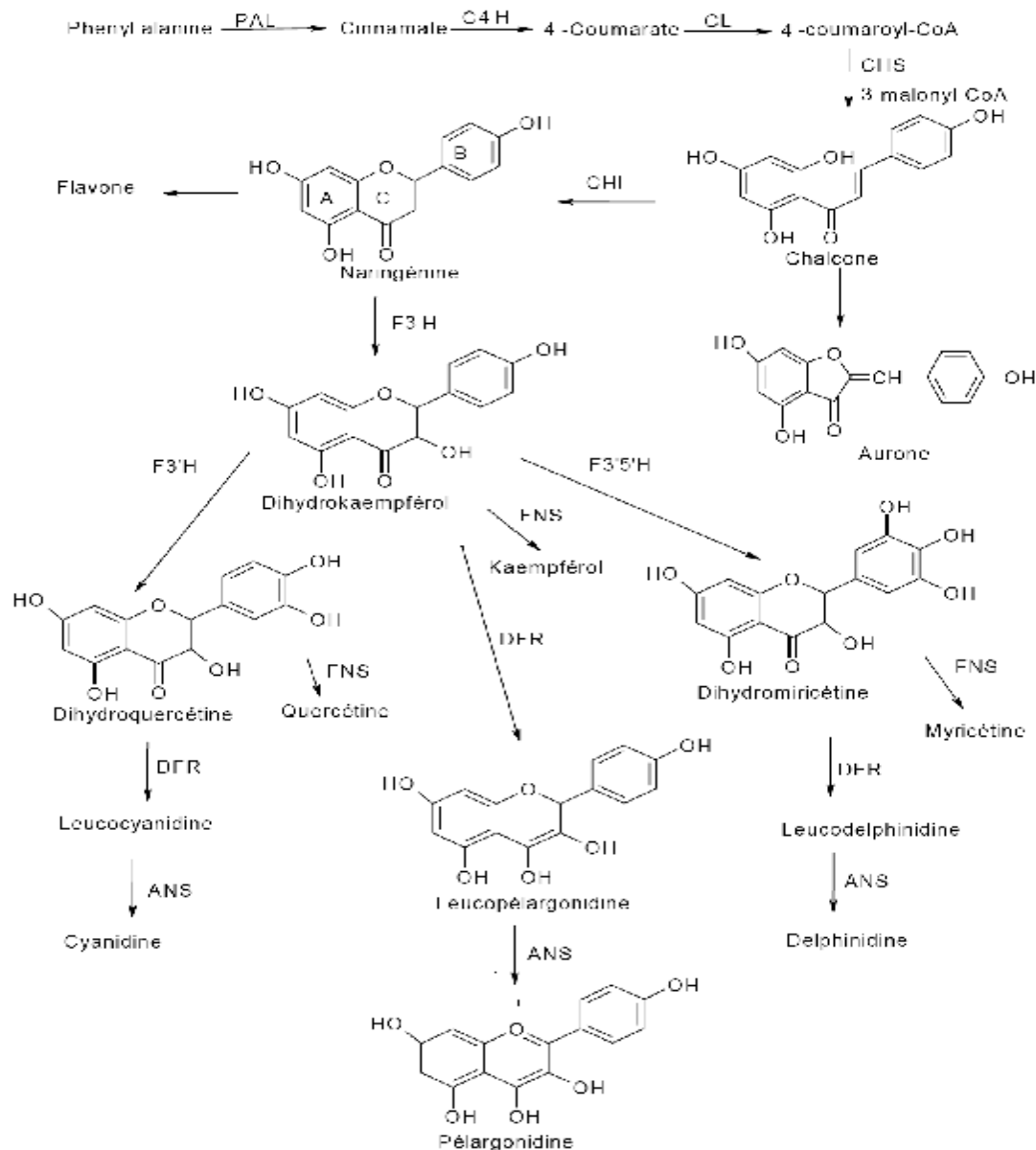
#### 3-IV- الإصطناع الحيوي للفلافونويدات

نظرا لأهمية الفلافونويدات وانتشارها الواسع ، فقد أثار إهتمام الباحثين من كيميائيين ، بيولوجيين وحتى علماء الوراثة وقاموا بتوجيه أبحاثهم لمعرفة أصل التطور الوراثي لهذه المركبات ، أي كيف يتم تصنيعها داخل النبات . فالإصطناع الحيوي للفلافونويدات يتبع عدة مسالك لتكوين النظام الحلقي داخل النباتات الراقية ، ومن أهم تلك المسالك هي :

• مسلك حمض الشيكميك Voie du shikimate

• مسلك الأستيل مالونات Voie du malonate

والمخطط -3 يبين الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونيدية إنطلاقا من الشالكون



### مخطط-3: مخطط الإصطناع الحيوي للفلافونويدات [17]

الإنزيمات الداخلة في التصنيع

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

#### IV-4- تثبيث المجموعات الإستبدالية على الهيكل الفلافونيدي:

إن تثبيث مجموعات الهيدروكسيل، الميتوكسيل أو السكر، بصورة عامة يتم عند نهاية الإصطناع الحيوي للفلافونيدات لأن عملية تثبيث هذه المجموعات تؤثر في بعض الفلافونيدات ولا تؤثر على البعض الآخر [30].

#### IV-4-1- تثبيث مجموعة الهيدروكسيل : [31]

إن تثبيث المجموعات الهيدروكسيلية في الموضعين 5 و 7 يتم قبل تشكيل الحلقة A ، و لهذا فهي تعتبر مجموعات أصلية، نفس الأمر بالنسبة لهيدروكسيل الموقع 4 للحلقة B . أما تثبيث مجموعة الهيدروكسيل في الموضع 3 يتم في مرحلة تكوين الشالكون على خلاف الموضع 3 الذي يتم فيه تثبيث مجموعة الهيدروكسيل بعد مرحلة الشالكون أي بعد غلق الحلقة C .

#### IV-4-2- تثبيث مجموعة المثل :

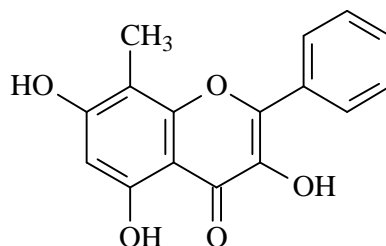
إن تثبيث المثل يأتي بعد تثبيث الهيدروكسيل، و يتم هذا الأخير على هيكل الأجليكون في

حالتين :

#### • الحالة الأولى:

تكون الرابطة بين كربون المثل و كربون النواتين A و(أو) B و مثال

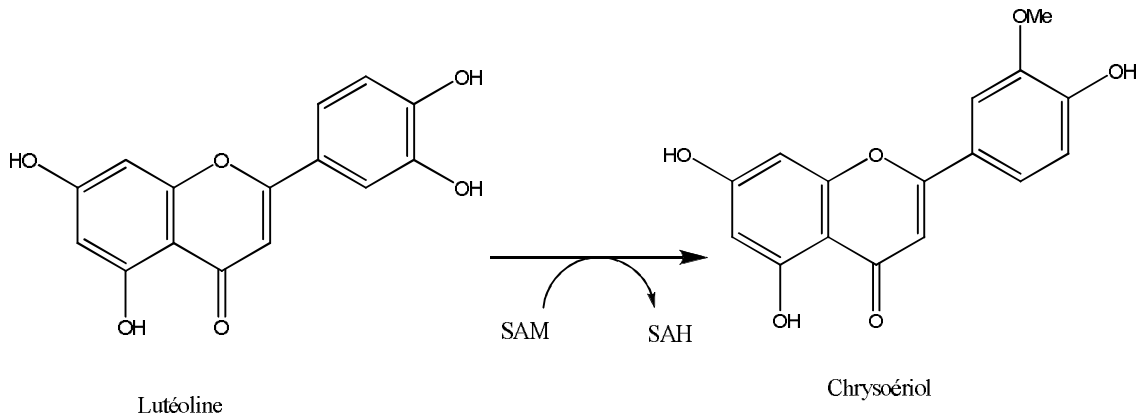
على ذلك المركب



8-C-méthylgalangine

#### • الحالة الثانية:

هي مثيلية المجموعات الهيدروكسيلية التي تم تثبيثها من قبل (O-methylation) و هذا في وجود أنزيم O-methyltransférase كمانح للمثل [31] و الشكل التالي يبين ذلك.



SAM : S – adénosyl méthionine  
adénosyl homocysteine

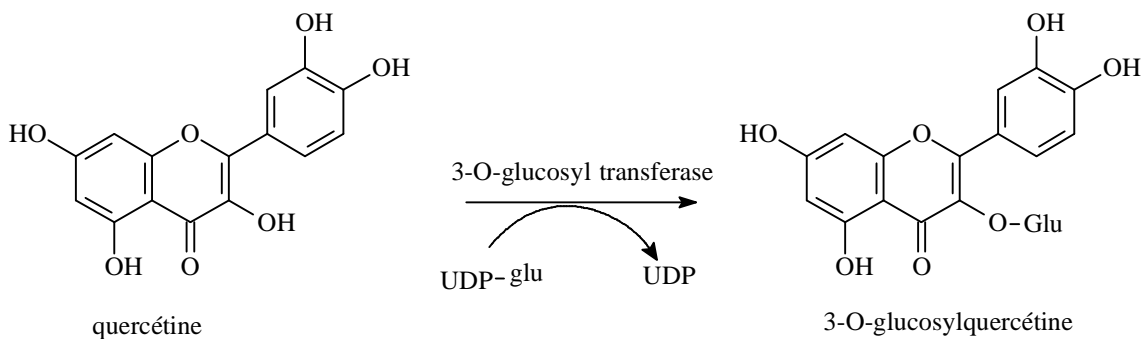
SAH : S –

التحول الإنزيمي لـ lutéoline إلى chrysoériol

IV-3-4- تثبيت السكريات :

توجد المركبات الفلافونيدية على هيئة جليكوزيدات، أي أن بناءها يحتوي على وحدات سكرية قد تكون أحادية أو ثنائية كما يمكن أن يدخل في بناء المركب أكثر من مستبدل سكري. و ترتبط وحدة السكر بذرة أكسجين مجموعة الهيدروكسيل مباشرة أي من نوع (O- heterosidique)

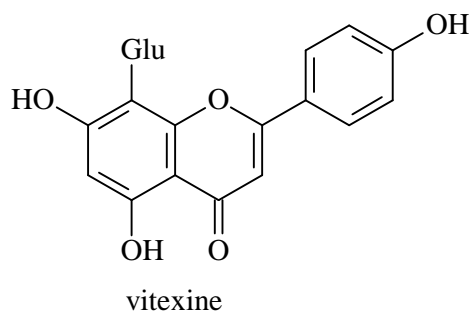
و عادة يكون هيدروكسيل الموضع 7 للفلافونات و هيدروكسيل الموضع 3 للفلافونولات و يتم تثبيت السكر في وجود إنزيم "O-glucosyl transférse" و مانح للسكر مثل :  
"UDP-glu" (Uridine diphosphate glucose) [30] والشكل التالي يوضح ذلك.



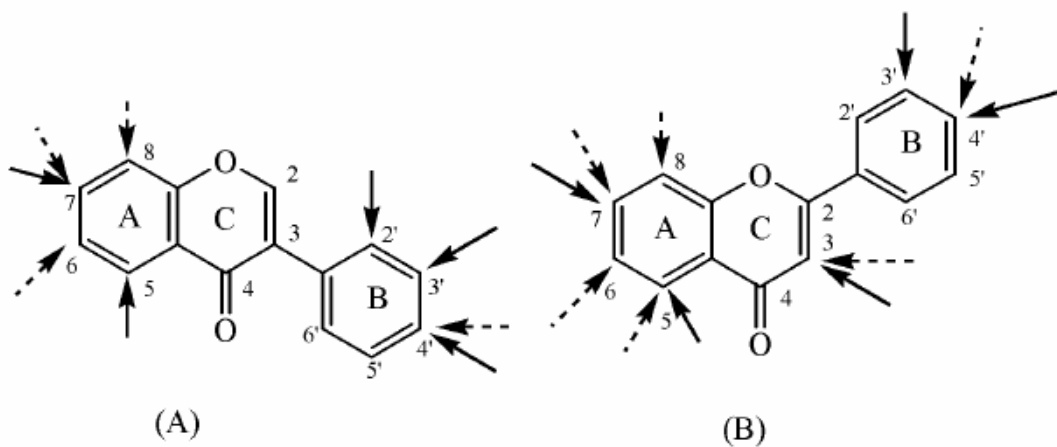
كما قد ترتبط وحدة السكر بإحدى ذرات كربون الحلقة العطرية للهيكل الفلافونيدي أي من نوع (C-hétérosidique) و تتشكل الرابطة في هذه الحالة بين ذرة الكربون



الأنوميري C<sub>1</sub> لجزء السكر و أحد الموضعين C<sub>6</sub> أو C<sub>8</sub> للأجليكون، و تنشأ رابطة من نوع كربون - كربون ، و تتم بعد تكوين الشالكون مباشرة [33] ، و مثال على ذلك المركب vitexine .

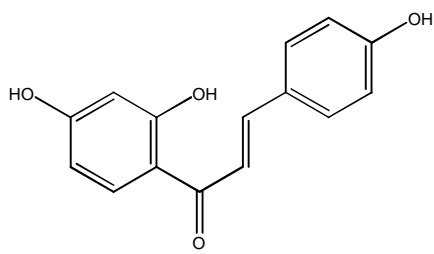


والصورة التالية توضح مواقع الأكثر تكرارا لإرتباط مجموعات الهيدروكسيل (سهم ممتلىء) بالهيكل الفلافونيدي، وكذلك مجموعات السكر من نوع O- glycosylation و/أو C- glycosylation (سهم المتقطع) [34].



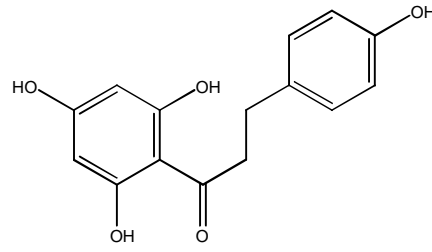
#### IV-5- أقسام الفلافونويدات

نستطيع أن نقسم الفلافونويدات إنطلاقاً من الإصطناع الحيوي لها، فبعضها يعتبر وسائط ومركبات نهائية في الإصطناع الحيوي مثل الشالكونات، الفلافانو-3-أول، فلافان-3,4-ديول. بعضها الآخر تعرف فقط بالمركبات النهائية في الإصطناع الحيوي كأنتوسيانينات، الفلافانونات، الفلافونولات. معظم الفلافونويدات ملخصة في الهياكل التالية [14]:



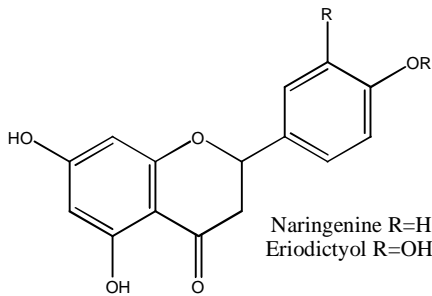
Isoliquiritigenine

#### Chalcone



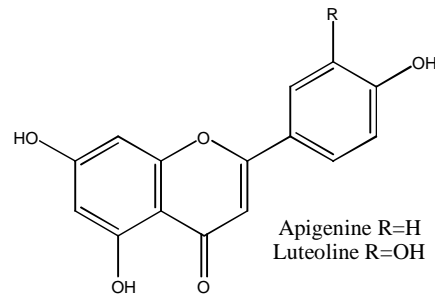
Dihydronaringenin chalcone

#### Dihydrochalcone



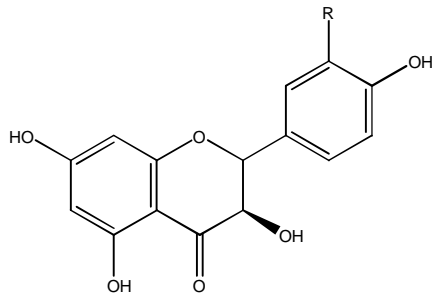
Naringenin R=H  
Eriodictyol R=OH

#### Flavanone



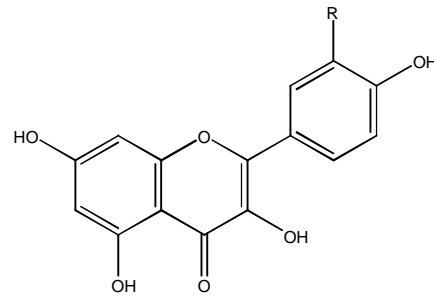
Apigenin R=H  
Luteolin R=OH

#### Flavone



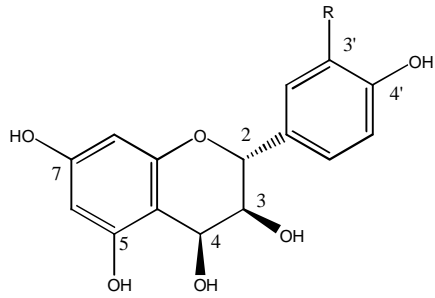
Dihydrokaempferol R=H  
Dihydroquercetin R=OH

#### Flavanon-3-ol



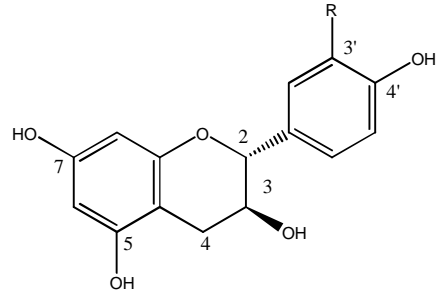
Kaempferol R=H  
Quercetin R=OH

#### Flavanol



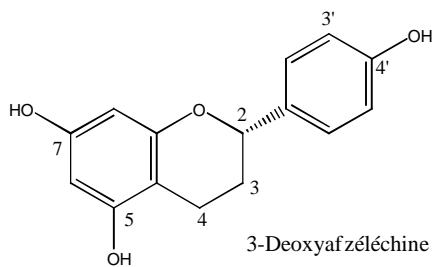
Loucopolargonidine R=H  
Loucocyandine R=OH

**Flavan-3,4-diol**



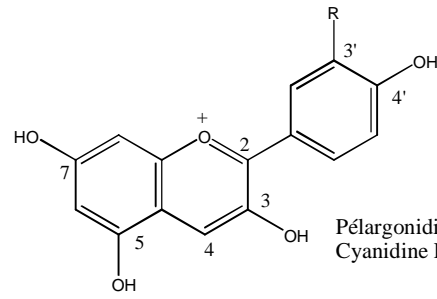
Afzaléchine R=H  
(+)-Catéchine R=OH

**Flavan-3-ol**



3-Deoxyafzaléchine

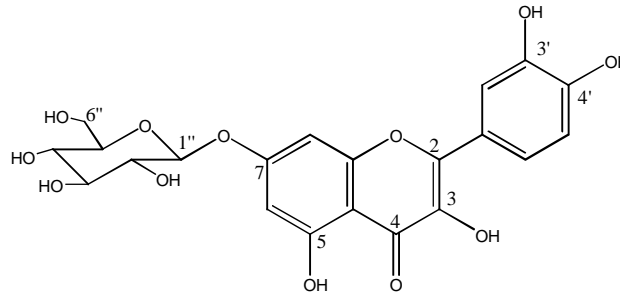
**Flavane**



Pélargonidine R=H  
Cyanidine R=OH

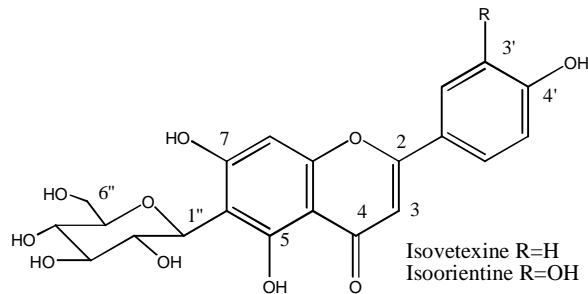
**Anthocyanidine**

**Flavonoïde O-glycoside**

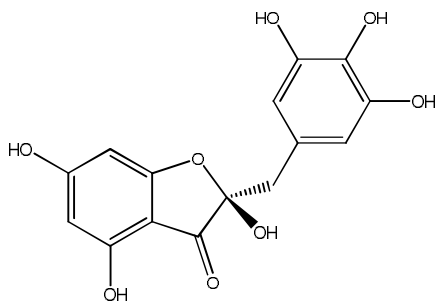


Quercetin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside

**Flavonoïde C-glycoside**

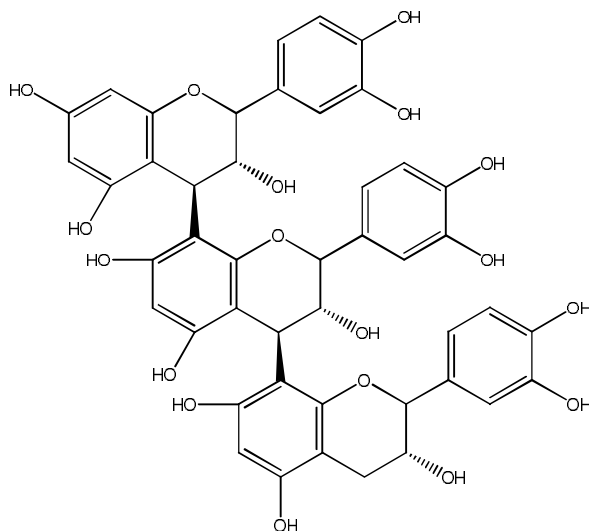


Isovetexine R=H  
Isoorientine R=OH



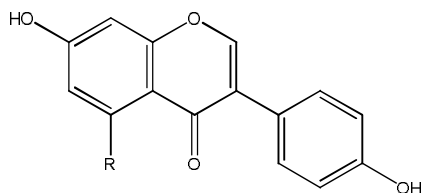
Amaronol A

**Aurone**



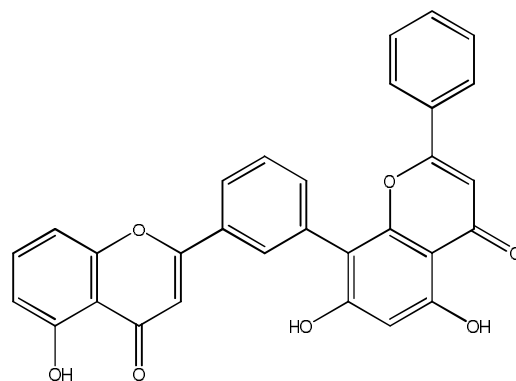
trimère Epicatechine  
Tannin condensé

**Proanthocyanidine**



Daidzeine R=H  
Genisteine R=OH

**Isoflavonoide**



Amentoflavone

**Biflavonoide**

#### **IV-6- المركبات الفلافونيدية المعزولة من جنس *Stachys*:**

حيث تم عزل 59 فلافونيدا معظمها من نوع فلافون ، والجدول-3 يوضح مختلف الفلافونيدات المعزولة من جنس *Stachys* ، وقد تم ترتيبها حسب تواجد الفلافونيد في كل نوع .

جدول-3: الفلافونيدات المعزولة من جنس *Stachys*

المركبات المعزولة	النوع	البنية	المرجع
chrysoeriol.	<i>S.aegyptiaca</i> L . <i>S. candida</i> Bory. <i>S. candida</i> <i>Chaubard</i> . <i>S.chrysantha</i> Boiss. <i>S.chrysantha</i> Heidr.	1a	36 41
apigenine.	<i>S. ionica</i> . <i>S. aegyptiaca</i> L . <i>S. neglecta</i> . <i>S. officinalis</i> L .	2a	24 36 42 43
apigenin-7- <i>O</i> -(3"- <i>p</i> -coumaryl)-glucoside.	<i>S. aegyptiaca</i> L .	3a	37
hypolaetin-7-[6'''-acetylallopyranosyl-(1→2)-3"-acetylglucopyranoside]		4a	36
apigenin-7-[6'''-acetylallopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside].		5a	36
luteolin-7-[6'''-acetylallopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside].		6a	36
apigenin-7- <i>O</i> -D-glucopyranoside	<i>S. schtschegleevii</i> . <i>S. neglecta</i> .	7a	30 50
chrysoeriol-7- <i>O</i> -β-D-(3"- <i>E</i> - <i>p</i> -coumaroyl)-glucopyranoside	<i>S. candida</i> Bory. <i>S. candida</i> Chaubard . <i>S.chrysantha</i> Boiss. <i>S.chrysantha</i> Heidr.	8a	41

chrysoeriol-7-O-β-D-glucopyranoside	<i>S. aegyptiaca</i> L. <i>S.candida</i> Bory. <i>S.candida</i> Chaubard . <i>S.chrysantha</i> Boiss. <i>S.chrysantha</i> Heildr.	9a	36 41
luteoline	<i>S. neglecta</i> .	10a	24
Luteolin-7-O-D-Glucopyranoside	<i>S. aegyptiaca</i> L. <i>S.candida</i> Bory. <i>S.candida</i> Chaubard . <i>S.chrysantha</i> Boiss. <i>S.chrysantha</i> Heildr. <i>S. neglecta</i> .	11a	36 41  50
luteolin-7-diglucoside	<i>S. aegyptiaca</i> L.	12a	36
5,6-dihydroxy-4'-methoxy-7-(O-b-D-glucopyranosyl)flavone (Stachannine A)	<i>S. annua</i> L.	1b	51
stachannoside		2b	57
salvigenine	<i>S. ionica</i> .	3b	24
4'-methoxyscutellarein	<i>S. palustris</i> L.	4b	44
Scutellarein	<i>S. palustris</i> L. <i>S. inflata</i> L.	5b	44 53
cirsimaritine	<i>S. schtschegleevii</i> .	6b	30

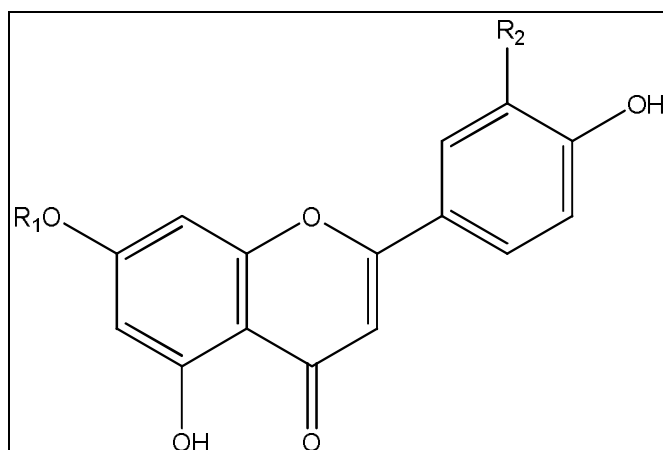
5,6,4'-trihydroxyflavone-7-O-β-D-glucopyranoside.	<i>S. officinalis</i> L .	7b	43
isoscutellarein-7-O-β-(6'''-O-acetyl-2''-allosyl)-glucoside	<i>S. aegyptiaca</i> L. <i>S. anisochila</i> Vis. <i>S. anisochila</i> Pancic. <i>S. recta</i> L. <i>S. ionica</i> . <i>S. leucoglossa</i> Griseb. <i>S. beckeana</i> . <i>S. baldaccii</i> . <i>S. parolinii</i> Vis. <i>S. labiosa</i> Bertol. <i>S. angustifolia</i> M.B. <i>S. mentifolia</i> Vis. <i>S. subcrenata</i> Vis. <i>S. tetragona</i> Boiss. <i>S. tetragona</i> Hayek. <i>S. sieboldii</i> Miq	1c	36 37 38 39 40         45
3'-hydroxy-4'-O-methylisoscutellarein-7-O-(2''-O-6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl)-β-D-glucopyranoside	<i>S. neglecta</i> . <i>S. leucoglossa</i> Griseb. <i>S. labiosa</i> Bertol. <i>S. subcrenata</i> Vis. <i>S. anisochila</i> Vis. <i>S. anisochila</i> Pancic. <i>S. recta</i> L.	2c	24 40  49 47
4'-O-methylisoscutellarein-7-O-(2''-O-6'''-O-acetyl-β-D-allopyranosyl)-β-D-glucopyranoside.	<i>S. ionica</i> . <i>S. beckeana</i> Do'rfler. <i>S. beckeana</i> Hayek . <i>S. parolinii</i> Vis. <i>S. leucoglossa</i> Griseb. <i>S. baldaccii</i> (Maly) <i>S. mentifolia</i> Vis. <i>S. labiosa</i> Bertol. <i>S. subcrenata</i> Vis. <i>S. angustifolia</i> M.B. <i>S. tetragona</i> Boiss. <i>S. tetragona</i> Hayek. <i>S. annua</i> L. <i>S. sieboldii</i> Miq. <i>S. recta</i> L. <i>S. atherocalyx</i>	3c	24 40           42 45 47 48

Isoscutellarein-8- <i>O</i> -(6 <sup>''</sup> - <i>trans-p</i> -coumaryl)- $\beta$ -D-glucoside.	<i>S. aegyptiaca</i> L.	1d	37
isoscutellarein-7- <i>O</i> -allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-glucopyranoside.		2d	36
5,4'-dihydroxy-6,7,8,3'-pentamethoxyflavone		3d	36
Vicénine-2		4d	36
lucénine-2		5d	36
Isoscutellarein	<i>S. inflata</i> L.	6d	53
isoscutellarein-7-[6 <sup>'''</sup> - <i>O</i> -acetyl- $\beta$ -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-6 <sup>''</sup> - <i>O</i> -acetylglucopyranoside]	<i>S.candida</i> Bory. <i>S.candida</i> Chaubard . <i>S.chrysantha</i> Boiss. <i>S.chrysantha</i> Heildr.	7d	41
4'-methoxyisoscuteallarein	<i>S. inflata</i> L.	<b>8d</b>	<b>53</b>
xanthomicrol	<i>S. ionica.</i> <i>S. schtschegleevii</i> <i>S. aegyptiaca</i> L <i>S. candida</i> Bory <i>S. candida</i> <i>Chaubard</i> <i>S.</i> <i>chrysantha</i> Boiss. <i>S. chrysantha</i> <i>Heildr.</i>	<b>9d</b>	<b>24</b> <b>30</b> <b>36</b> <b>41</b>
5-hydroxy-3,6,7,8,4'-pentamethoxyflavone.	<i>S. aegyptiaca</i> L.	<b>10d</b>	<b>36</b>
5,3',4'-trihydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavone		<b>11d</b>	<b>36</b>



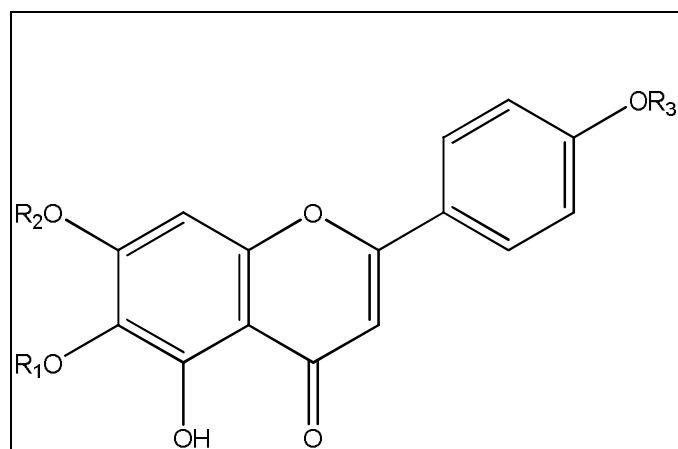
5,4'-dihydroxy-7,3',5'-trimethoxyflavone	<i>S. officinalis</i> L .	12d	43
Sideritiflavone	<i>S. aegyptiaca</i> L.	13d	36
calycopterine.	<i>S. aegyptiaca</i> L. <i>S. candida</i> Bory. <i>S. candida</i> Chaubard . <i>S.chrysantha</i> Boiss. <i>S.chrysantha</i> Heidr.	14d	36 41
chrysosplenetine.	<i>S. ionica</i> . <i>S. aegyptiaca</i> L.	15d	24 36
casticine	<i>S. ionica</i> .	16d	24
luteolin 3',4'-dimethylether-7-O-β-D-glucoside	<i>S.aegyptiaca</i> L .	17d	52
3'-hydroxyisoscuteollarein-7-O-(6'''-acetyloxy)-β-allopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside	<i>S. schtschegleevii</i> .	1e	30
apigenin-7-O-(6''-O-E-p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside	<i>S. ionica</i> . <i>S. schtschegleevii</i> . <i>S. aegyptiaca</i> L.	2e	24 30 37
chrysoeriol-7-O-[6' (E)-p-coumaroyl]-β-D-glucopyranoside	<i>S. schtschegleevii</i> .	3e	30
6-O-D-acylglucobioside-7-methoxybaicalein	<i>S. neglecta</i> .	1f	50
Palustrin [=5-(glycuroglucosyl)-methoxybaicalein].	<i>S. palustris</i> L.	2f	46
palustrinoside [=5-(glycuronosyl)-7-methoxybaicalein]		3f	

Tricin 7-O-glucuronide	<i>S. scardica</i> Griseb.	1j	56
Tricin 7-O-glucoside		2j	
Selgin 7-O-glucoside		3j	
Tricetin 3',4',5'-trimethyl ether 7-O-β-glucopyranoside		4j	
Stachyspinoside	<i>S. spinosa</i> L.	1h	3
stachyspinoside peracetate		2h	55
naringenine	<i>S. aegyptiaca</i> L.	1	37
Diapigenin-7-O-(6"-trans-6"-cis-p,p'-dihydroxy-μ-truxinyl)-glucoside (Stachysetin)		2	36
hypolaetin-7-O-[6"-O-acetyl-β-D-allopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranoside].	<i>S. anisochila</i> Vis. <i>S. anisochila</i> Pancic.	3	49
spectabiflaside	<i>S. atherocalyx</i> <i>S. spectabilis</i>	4	48 53
Diacetylspectabiflaside	<i>S. atherocalyx</i>	5	54



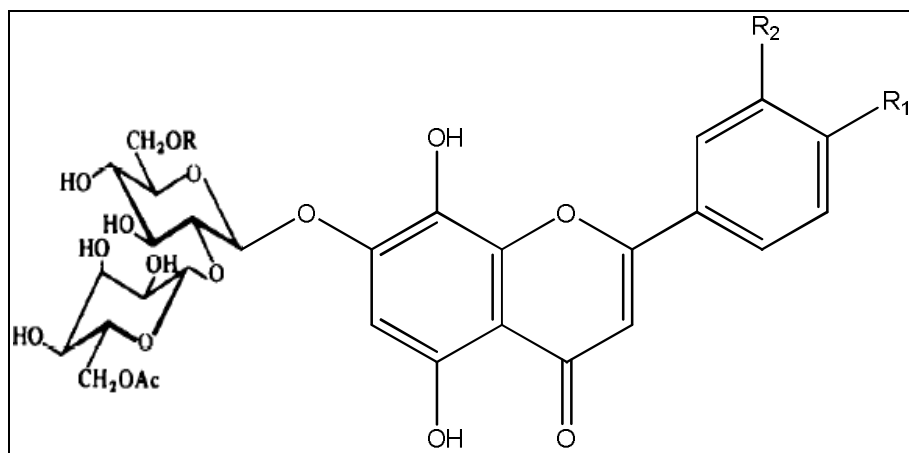
**a**

<b>a</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>
<b>1</b>	H	OMe
<b>2</b>	H	H
<b>3</b>	3"-O-p-coumaroylglucoside	H
<b>4</b>	AcAlloAcGlc	OH
<b>5</b>	AcAlloGlc	H
<b>6</b>	glucopyranoside	H
<b>7</b>	AlloGlc	H
<b>8</b>	coumaroylglucoside	OMe
<b>9</b>	glucopyranoside	OMe
<b>10</b>	H	OH
<b>11</b>	Glc	OH
<b>12</b>	glucopyranoside	OH
<b>13</b>	GlcOGlc	OH



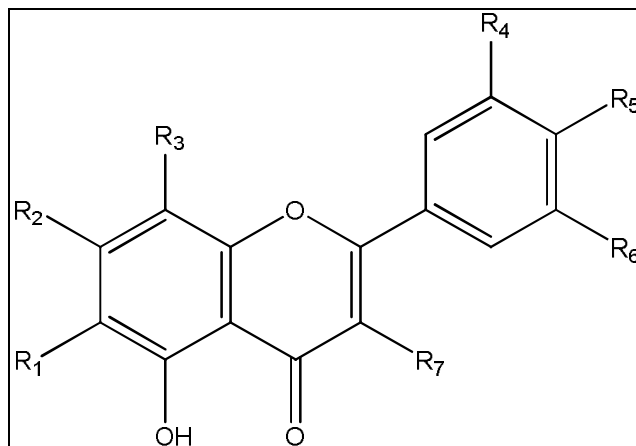
**b**

<b>b</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1</b>	H	glucopyranosyl	Me
<b>2</b>	H	Glucopyranosyl- mannopyranoside	Me
<b>3</b>	Me	Me	Me
<b>4</b>	H	H	Me
<b>5</b>	H	H	H
<b>6</b>	Me	Me	OH
<b>7</b>	H	glucopyranosyl	H



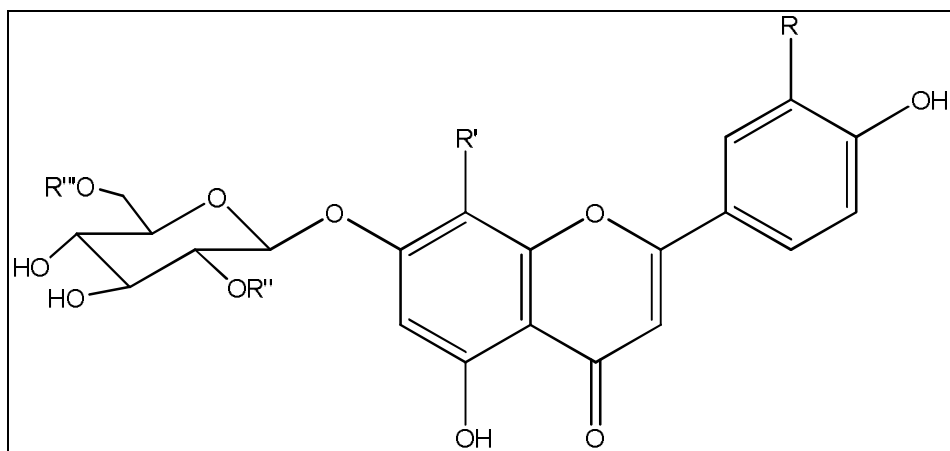
**c**

<b>c</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R</b>
<b>1</b>	OH	H	H
<b>2</b>	OMe	OH	H
<b>3</b>	OMe	H	H



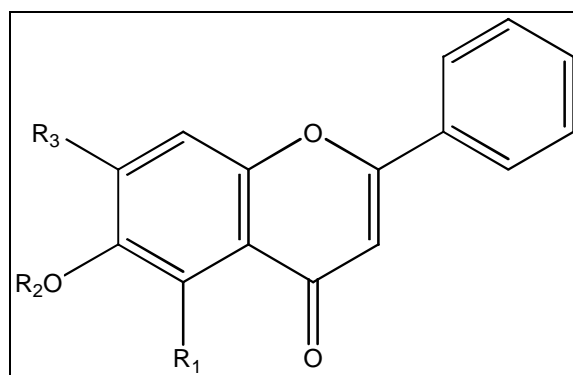
**d**

<b>d</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>R6</b>	<b>R7</b>
<b>1</b>	H	HO	OCouGlc	H	OH	H	H
<b>2</b>	H	OAlloGlc	OH	H	OH	H	H
<b>3</b>	OMe	OMe	OMe	OMe	OH	H	H
<b>4</b>	Glc	OH	Glc	H	OH	H	H
<b>5</b>	Glc	OH	Glc	H	OH	H	H
<b>6</b>	H	OH	OH	H	OH	H	H
<b>7</b>	H	AcAlloAcGlc	OH	H	OH	H	H
<b>8</b>	H	OH	OH	H	OMe	H	H
<b>9</b>	OMe	OMe	OMe	H	OH	H	H
<b>10</b>	OMe	OMe	OMe	H	OMe	H	OMe
<b>11</b>	OMe	OMe	OMe	OH	OH	H	OMe
<b>12</b>	H	OMe	H	OMe	OH	OMe	H
<b>13</b>	OMe	OMe	OMe	H	OH	OH	H
<b>14</b>	OMe	OMe	OMe	H	OH	H	OMe
<b>15</b>	OMe	OMe	H	H	OMe	OMe	OMe
<b>16</b>	OMe	OMe	H	OH	OMe	H	OMe
<b>17</b>	H	OGlc	H	OMe	OMe	H	H



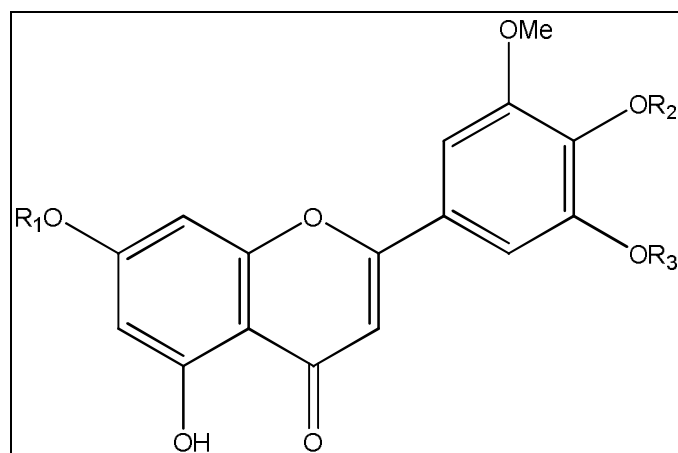
**e**

<b>e</b>	<b>R</b>	<b>R'</b>	<b>R''</b>	<b>R'''</b>
<b>1</b>	OH	OH	6-acetyloxy-allopyranosyl	H
<b>2</b>	H	H	H	H
<b>3</b>	H	H	H	<i>p</i> -coumaroyl
<b>4</b>	OMe	H	H	<i>p</i> -coumaroyl



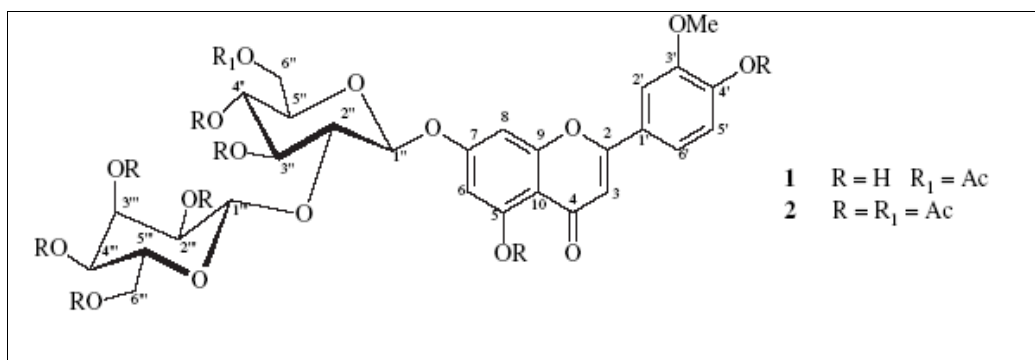
**f**

<b>f</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1</b>	OH	acylglucobioside	OMe
<b>2</b>	glycuroglucosyl	H	OMe
<b>3</b>	glycuronosyl	H	OMe



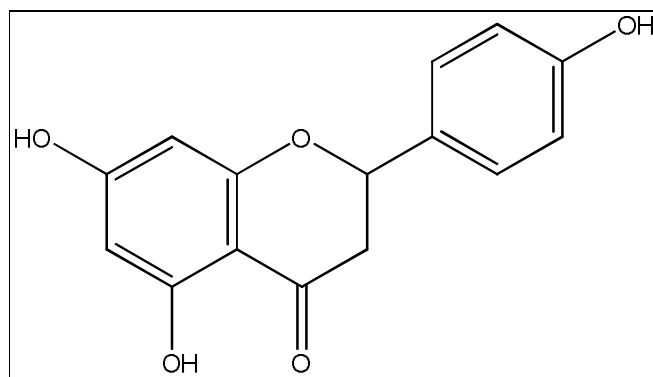
**j**

<b>j</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1</b>	GlcA	H	Me
<b>2</b>	Glc	H	Me
<b>3</b>	Glc	H	H
<b>4</b>	Glc	Me	Me

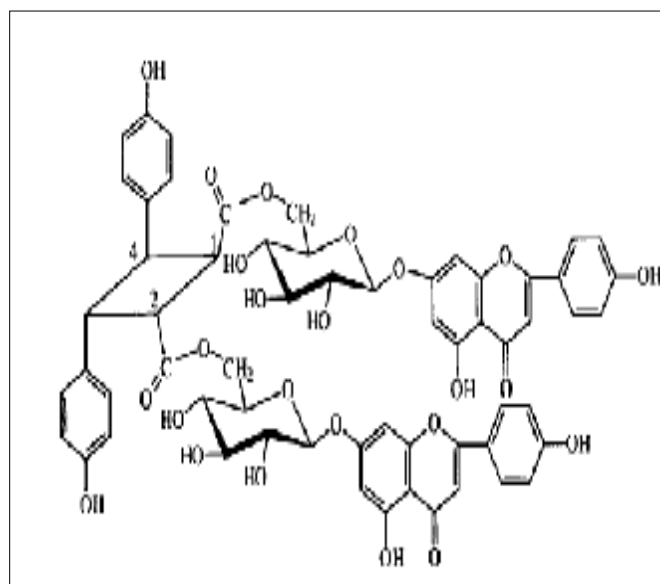


**h**

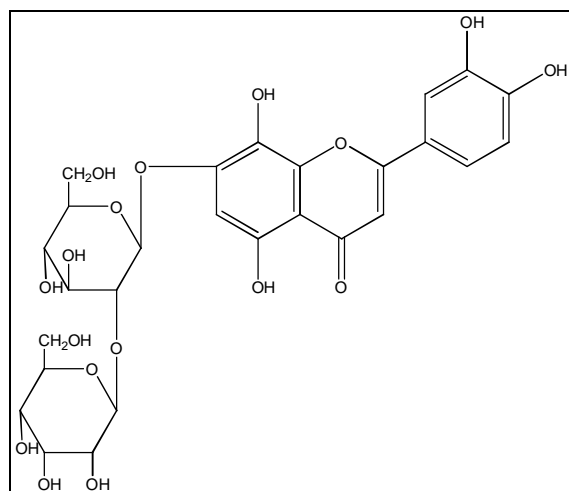




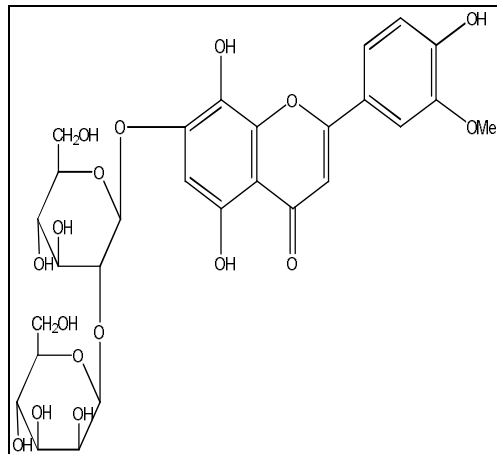
**1**



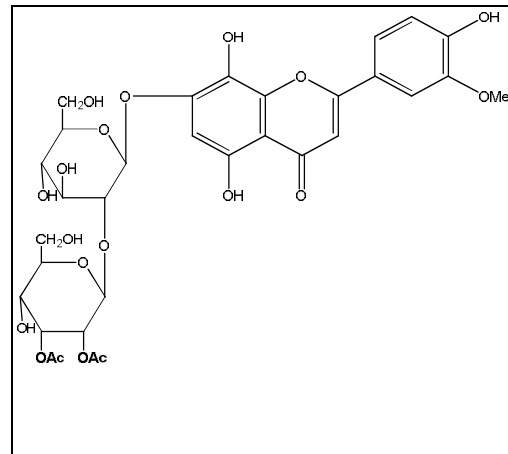
**2**



**3**



**4**



**5**

- [1] Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (1968). *Flora Europaea*, vol. 3. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 126-157.
- [2] Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.I., Ferreres, F., Tomas-Lorente, F.(1992). *Phytochemistry* 31, 3097.
- [3] Kotsos, M.P., Aligiannis, N., Mitakou, S., Skaltsounis, A.L., Charvala, C.(2001). *Nat. Prod. Lett.* 15, 377–386.
- [4] Basaran, A. A., Calis, I., Anklin, C., Nishibe, S., Sticher, O.(1988). *Helv Chim Acta* , 71(6), 1483-90.
- [5] Bruneton, J.(1999). *Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales*, 3 eme ed. Tec & Doc, Paris.
- [6] Bianco, A.(1990). Elsevier Science Publishers, 7, 329,
- [7] Takeda, Y., Morimoto, Y. Matsumoto, Y.J.(1995). *Nat Prod.*, 58, 1217-1221.
- [8] Nangia, A. Prasuna, G.(1996). *Tetrahedron*, 52, 3435.
- [9] Pavan, M.(1955). *Chim. Industr*, 37, 625.
- [10] Fusc, R., Trave, R. et Vercellone, A. (1955). *Chim. Industr*, 37, 251.
- [11] Brown, R.T. et C.L. Chapple, C.L.(1976). *Tetrahedron Letters*, 17, 787-790.
- [12] Damtoft, S., Franzyk, H. Jensen, S.R.(1997) .*Phytochemistry*, 45, 743–750.
- [13] Boros, C.A. Stramitz, F.R. J.(1991). *Nat. Prod.*, 54, 1173.
- [14] Satyajit, D.(2007). *Chemistry for Pharmacy Students*, John Wiley & Sons Ltd, England.
- [15] Ghisalberti, E.L.(1998). *Phytomedicine*, 5, 147–163.
- [16] Dewick, P.M.(2002). *Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach*, 2 ème ed. England.
- [17] Jensen, S.R., Franzyk, H. et Wallander, W. (2002). *Phytochemistry*, 60, 213-231.
- [18] Munoz, O., Pena, R., Montenegro, G.(2001). *Journal of Biosciences*, 56(9/10), 902-903.
- [19] Isamukhamedova, M. P., Pulatova, T. P.(1992). *Uzb.Khim.Prir Soe*,(5), 586-587.
- [20] Calis, I., Basaran, A. A., Saracoglu, I., Sticher, O.(1991). *Phytochemistry* , 31(1), 167-9.
- [21] Komissarenko, N. F., Derkach, A. I., Sheremet, I. P., Pakaln, D. A.(1979). *Khim.Prir.Soedin*.(1), 99-100.
- [22] Adema, F.(1968) . *Acta Botanica Neerlandica*,17(5), 423-30.

- [23] Miyase, T., Ueno, A., Kitani, T., Kobayashi, Kawahara, Y., Yamahara, J. (1990). *Yakugaku Zasshi*, 110(9), 652-7.
- [24] A. Meremeti, A. Karioti, H. Skaltsa, J. Heilmann, O. Sticher. (2004). *Biochem. Syst. & Ecol* 32, 139–151.
- [25] Elhazemi, H. (1995). Natural product, eds university of king Saud.
- [26] Leland J. Cseke., Ara Kirakosyan., Peter B. Kaufman., Sara L. Warber. (2006). *Natural Products from Plants. Second Edition. CRC Press Taylor & Francis Group.*
- [27] Douglas, C. J. (1996). *Trends Plant. Sci.* 1, 171-178.
- [28] Basaran, A. A., Calis, I., Anklin, C., Nishibe, S., Sticher, O. (1988). *Helv. Chim. Acta*, 71(6), 1483-90.
- [29] Miyase, T., Yamamoto, R., Ueno, A. (1996). *Phytochemistry*, 43(2), 475-479.
- [30] Nazemiyeh, H., Shoeb, M., Movahhedineh, N., Kumarasamy, Y., Talebpour A.H., Delazar, A., Lutfun, N., Satyajit, D. Sarker. (2000). *Biochem. Syst. And. Ecol* 34, 721-723.
- [31] Jurd, L. (1962). *The chemistry of flavonoid compounds. Geissman, Peragmon press, New- York.*
- [32] Forkmann, G. (1980). *Biochem. Genet.* 18, 519.
- [33] Jay, M. (1983). *Z. Naturforsch.* 38c, 413.
- [34] Harborne, J.B. (1967). *Comparative biochemistry of the flavonoids. Academic press. London.*
- [35] Harborne, J. B., Williams, C. A. (2000). *Advances in flavonoid research since 1992, Phytochemistry* 55, 481–504.
- [36] El-Ansari, M.A., Barron, D., Abdalla, M.F., Saleh, N.A.M., Le Quere, J.L. (1991). *Phytochemistry* 30, 1169–1173.
- [37] El-Ansari, M.A., Nawwar, M.A., Saleh, N.A.M. (1995). *Phytochemistry* 40, 1543–1548.
- [38] Sharaf, M. (1998). *Fitoterapia* 69 (4), 355–357.
- [39] A. Meremeti, A. Karioti, H. Skaltsa, J. Heilmann, O. Sticher. (2004). *Biochem. Syst. And. Ecol* 32, 139–151.
- [40] Lenherr, A., Meier, B., Sticher, O. (1984). *Planta Med.* 50, 403–409.
- [41] Skaltsa, H., Bermejo, P., Lazari, D., Silvan, A.-M., Skaltsounis, A.-L., Sanz, A., Abad, M.J. (2000). *Biol. Pharm. Bull.* 23, 47–53.
- [42] Zinchenko, T.V. (1969). *Farm. Zh.* 72, 39756.
- [43] Kobzar, A. Ya. (1986). *Khim. Prir. Soedin.* 2, 239.

- [44] Ross, S.A., Zinchenko, T.V.(1975).Borzunov. Ukr.Khim.Zhur.,(Russian Edition), 41(10), 1108-111.
- [45]Takeda, Y., Fujita, T., Satoh, T., Kakegawa, H. (1985). Yakugaku Zasshi 105, 955–959 .
- [46] Zinchenko, T.V. (1970). Khim. Prir. Soedin. 6, 266–267.
- [47] Lenherr, A., Lahloub, M.F., Sticher, O.(1984). Phytochemistry 23, 2343–2345.
- [48] Kostyuchenko, O. I., Komissarenko, N. F., Zinchenko, T. V.,Derkach, A. I. Beloruss. Gos.(1981). Khim.Prir.Soedin .3, 389-90.
- [49] Lenherr, A., Mabry, T.J.(1987). Phytochemistry 26, 1185–1188.
- [50] Zinchenko, T.V.(1970). Farm. Zh. 25, 81–82.
- [51] Sheremet, I.P., Komissarenko, N.F.(1971). Khim. Prir. Soedin. 5, 583–587. [52] S. K. El-Desoky, Usama W. Hawas, M. Sharaf.(2007).Chemistry of Natural Compounds, 43, 542-543.
- [53] Komissarenko, N. F.,Derkach, A. I., Sheremet, I. P.,Kovalev, I. P., Gordienko, V. G., Pakaln, D. A.(1978). Khim.Prir.Soedin. 4,521.
- [54] Derkach, A.I., Komissarenko, N.F., Gordienko, V.G., Sheremet, I.P., Kovalem, I.P., Pakaln, D.A.(1980). Khim. Prir. Soedin. 2, 172–174.
- [55] Kotsos,M., Nektarios A., Mitakou, S.( 2007). Biochem.Syst.&.Ecol. 35. 381-385.
- [56] Petar, D., Marin, R. J., Grayer, S. G.,Geoffrey, C. Kite, N.C. V.(2004). Phytochemistry 65.1247–1253.
- [57] Sheremet, I. P.,Komissarenko, N. F. (1971).Khim. Prir. Soedin. , 7(6), 845-6.

# الفصل الثاني

طرق دراسة المركبات الفلافونيدية

## - طرق استخلاص، فصل، و تنقية المركبات الفلافونيدية :

بما أن المركبات المعزولة أثناء دراستنا لنبته *Stachys ocymastrum(L)Briq* كانت من المركبات الفلافونيدية ، فإنه يجدر بنا في هذا الفصل إلى ذكر طرق دراستها من الإستخلاص ،الفصل ،التنقية إلى الدراسة البنوية لها.

### I -1- الإستخلاص :

قبل القيام بعملية الاستخلاص لا بد من تجهيز النبتة المراد إجراء عليها العملية و ذلك بـ :

ü تجفيفها في الظل و بعيدا عن الرطوبة

ü تنقيتها

ü طحنها

قد تستعمل النبتة بجميع أجزائها، كما قد يؤخذ الجزء الهوائي لوحده أو الجذور أو الثمار فقط، و عموما تتواجد الفلافونيدات في الجزء الهوائي؛ إذ في هذا الأخير بالذات يتم الاصطناع الحيوي للفلافونيدات و ذلك لارتباطه بالعامل الضوئي.

وتتم عملية الإستخلاص بنقع الأجزاء النباتية المراد استخلاص الفلافونيدات منها في مذيب مناسب و أكثر المذيبات استعمالا خليط من الكحول / الماء بنسب معينة (3/7) أو (2/8) في حالة المادة النباتية الجافة، و يفضل الكحول لوحده في حالة المادة النباتية الغضة (الخضراء)، و أغلب الكحولات المستعملة هي الميثانول و الإيثانول .  
و تتم عملية الاستخلاص على مراحل :

### المرحلة الأولى :

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

## المرحلة الثانية :

يؤخذ المستخلص الخام و يعامل بالماء المقطر المغلى ثم يترك مدة ليلة كاملة بعدها يرشح على ورق الترشيح ويحتفظ بالراشح.

## المرحلة الثالثة :

تتم عملية الاستخلاص من نوع سائل - سائل للراشح بدءاً بالإيثربيتروكول كي يتم التخلص من المركبات الطبيعية ذات القطبية الضعيفة مثل الدهون و التربينات و الكلوروفيل و قد يحتوي طور الهكسان على بعض الفلافونيدات ذات القطبية الضعيفة الذي تجرى له عملية تبخير، أما الطور المائي فيعامل بواسطة خلأت الإثيل مرة واحدة لنتحصل على طور الخلات الذي يبخر تحت ضغط منخفض؛ إضافة إلى الطور المائي الذي يعامل فيما بعد بالبوتانول العادي و تكرر العملية ثلاث مرات، و بعد تبخير طور البوتانول يكون لدينا في النهاية :

ü المستخلص الجاف للإيثربيتروكول.

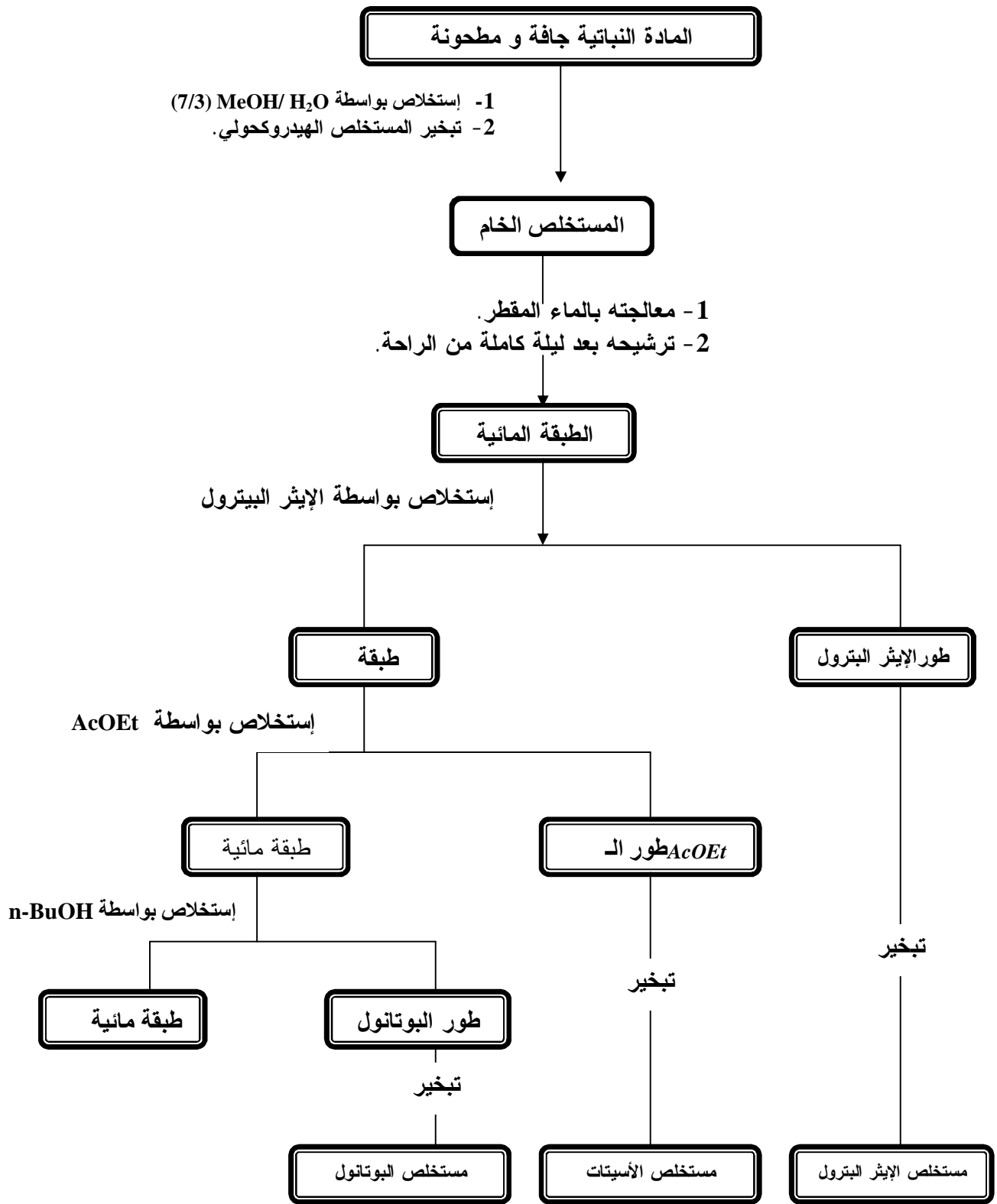
ü المستخلص الجاف لخلأت الإثيل.

ü المستخلص الجاف للبوتانول العادي.

ü المستخلص المائي.

ويمكن تمثيل هذه المراحل في المخطط التالي [1] :





مخطط-1 - مخطط عام لإستخلاص الفلافونيدات.

## I-2- الفصل و التنقية:

### I-2-1- الفصل :

التقنية الأساسية المستعملة لذلك هي الكروماتوغرافيا بمختلف أقسامها، حيث تستخدم كلمة كروماتوغرافيا للإشارة إلى تقنيات فصل مختلفة، تعتمد جميعها على توزيع المادة المراد دراستها بين طورين أحدهما ثابت و الآخر متحرك؛ و الطور الثابت قد يكون جامداً أو سائلاً محملاً على دعامة جامدة، أما الطور المتحرك فعادة ما يكون سائلاً عضوياً [2].

- إن هدف الفيتوكيميائي هو الحصول على مركبات نقية لأجل ذلك يستعمل طرق فصل متتالية أهمها:

- كروماتوغرافيا العمود (CC).
- كروماتوغرافيا الورق (CP).
- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).
- كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC).

### I-2-1-أ- كروماتوغرافيا العمود:

هي طريقة كلاسيكية، الهدف منها هو فصل خليط معقد من المركبات الفلافونيدية و

يستعمل لهذا الغرض كدعامة ثابتة :

السيليكاجال، السيليلوز، و متعدد الأميد.

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

و يتلخص طريق إجراء هذه التقنية فيما يلي :

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

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

**Sable de fontainebleau** بسمك 0.5 سم، بعدها تحضر العينة حيث يذاب المستخلص المراد فصله في أقل كمية ممكنة من الميثانول، و بواسطة ماصة باستور يتم وضعه على سطح الرمل مع الحرص على عدم إتلافه، أو باتباع طريقة أخرى و التي تستعمل في حالة ما إذا تطلبت إذابة المستخلص الجاف كمية كبيرة من الميثانول، ففي هذه الحالة نضيف لمحلول المستخلص كمية من مسحوق البولي أميد SC<sub>6</sub> و نركز هذا الخليط حتى نحصل على مسحوق جاف الذي يضاف إلى العمود الكروماتوغرافي، بعد ذلك يضاف المملص الذي يكون في البداية مذيب أقل قطبية ثم ترفع قطبيته بإضافة مذيب قطبي تدريجيا إلى غاية الوصول إلى قطبية عالية، و يتم مراقبة الحزم باستعمال مصباح الأشعة فوق البنفسجية UV حيث تستقبل أسفل العمود و تركز حتى الجفاف.

### **I-2-1-ب-كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية ( CP ):**

#### **(1) كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية ذات بعد واحد:**

قد تستعمل هذه التقنية مباشرة على المستخلص في حالة عدم غنائه بالمركبات الفلافونيدية .

كما تستعمل لجمع و فصل الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي. و ورق الواتمان المستعمل؛ يكون من نوع 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 تغمس الورقة في المملص أين تبدأ الحزم في الهبوط تسلسليا، بعد جفاف الكروماتوغرام و بالاستعانة بمصباح UV يتم تحديد الحزم التي تقص إلى قطع صغيرة و تغمس في الميثانول؛ أين ترشح و يجفف الراشح لتجرى له عملية فحص متعددة بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للتأكد من نقاوة المركب الذي تم فصله .

و أهم الأنظمة المستعملة في هذه التقنية هي :

**BAW :** n-BuOH / AcOH / H<sub>2</sub>O ( 4 / 1 / 5 ) الطبقة العضوية

**TBA :** t-BuOH / AcOH / H<sub>2</sub>O ( 3 / 1 / 1 )

## 2) كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية ثنائية البعد:

تستعمل هذه التقنية مباشرة لإختبار مدى غنى المستخلص المراد فصله بالمركبات، كما نستعملها في حالة ما إذا كان بعدا واحدا غير كاف لتجزئة أو فصل الخليط فصلا كاملا . حيث يكون البعد الأول عمودي على البعد الثاني، فبعد إجراء الفصل على البعد الأول، تخرج الورقة و تترك لتجف ثم تدار بمقدار 90° و تغمس في مذيب آخر ؛ حيث يكون البعد الأول عادة عضوي مثل الطبقة العضوية للنظام BAW و البعد الثاني مائيا كالنظام AcOH / H<sub>2</sub>O.

### ج- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM):

تستعمل في هذه التقنية شرائح من الزجاج أو البلاستيك ذات الأبعاد ( 20x20 سم) لتثبت عليها دعامة صلبة ثم يوضع الخليط المراد فصله عرضيا على بعد 1.5 سم من خط الانطلاق، بعدها توضع الصفائح في حوض به مملص، و أثناء هجرته يمر بالعينة الموضوعة أين يجر معه مختلف المركبات في شكل حزم التي يتم تحديدها بواسطة مصباح UV، بعد أن تجف الصفائح تكشط الحزم كلاً على حدى و توضع في قمع زجاجي لتغسل جيدا بالميثانول، يركز الراشح و تجرى له عمليات فحص متعددة للتأكد من نقاوته و الأنظمة المستعملة كملصات هي :

بالنسبة لمتعدد الأמיד (كدعامة صلبة) :

**H<sub>2</sub>O / MeOH / MEC / Acétylacétone : ( 13 / 3 / 3 / 1 )**

**Toluène / MEC / MeOH : ( 4 / 3 / 3 )**

**MeOH / H<sub>2</sub>O / AcOH : ( 18 / 1 / 1 )**

أما بالنسبة لـ : السيليكاجال ( كدعامة صلبة ) فهي ملخصة في الجدول (1)[3]:

نوع الفلافونويد	المملص
<b>Flavonoides aglycones</b>	EtOAc-i-PrOH-H <sub>2</sub> O, 100:17:13 EtOAc-CHCl <sub>3</sub> , 60:40 CHCl <sub>3</sub> -MeOH, 96:4 Toluène-CHCl <sub>3</sub> -MeCOMe, 8:5:7 Toluène-HCOOEt-HCOOH, 5:4:1 Toluène-EtOAc-HCOOH, 10:4:1 Toluène-EtOAc-HCOOH, 58:33:9 Toluène-EtCOMe-HCOOH, 18:5:1 Toluène-dioxane-HOAc, 90:25:4
<b>Flavonoides glycosides</b>	n-BuOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 65:15:25 n-BuOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 3:1:1 EtOAc-MeOH-H <sub>2</sub> O, 50:3:10 EtOAc-MeOH-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 50:2:3:6 EtOAc-EtOH-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 100:11:11:26 EtOAc-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 9:1:1 EtOAc-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 6:1:1 EtOAc-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 50:4:10 EtOAc-HCOOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 100:11:11:26 EtOAc-HCOOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 25:2:2:4 THF-Toluène-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 16:8:2:1 CHCl <sub>3</sub> -MeCOMe-HCOOH, 50:33:17 CHCl <sub>3</sub> -EtOAc-MeCOMe, 5:1:4 CHCl <sub>3</sub> -MeOH-H <sub>2</sub> O, 65:45:12 CHCl <sub>3</sub> -MeOH-H <sub>2</sub> O, 40:10:1 MeCOMe-butanone-HCOOH, 10:7:1 MeOH-butanone-H <sub>2</sub> O, 8:1:1
<b>Flavonoides glucuronides</b>	EtOAc-Et <sub>2</sub> O-dioxane-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 30:50:15:3:2 EtOAc-EtCOMe-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 60:35:3:2
<b>Flavanone aglycones</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -HOAc-H <sub>2</sub> O, 2:1:1
<b>Flavanone glycosides</b>	CHCl <sub>3</sub> -HOAc, 100:4 CHCl <sub>3</sub> -MeOH-HOAc, 90:5:5 n-BuOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 4:1:5 (la couche supérieur)
<b>Chalcones</b>	EtOAc-hexane, 1:1

<b>Isoflavones</b>	CHCl <sub>3</sub> -MeOH, 92:8 CHCl <sub>3</sub> -MeOH, 3:1
<b>Isoflavone glycosides</b>	n-BuOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 4:1:5 (couche supérieure)
<b>Dihydroflavonoles</b>	CHCl <sub>3</sub> -MeOH-HOAc, 7:1:1
<b>Biflavonoïdes</b>	CHCl <sub>3</sub> -MeCOMe-HCOOH, 75:16.5:8.5 Toluène-HCOOEt-HCOOH, 5:4:1
<b>Anthocyanidines et anthocyanines</b>	EtOAc-HCOOH-2 M HCl, 85:6:9 n-BuOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 4:1:2 EtCOMe-HCOOEt-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 4:3:1:2 EtOAc-butanone-HCOOH-H <sub>2</sub> O, 6:3:1:1
<b>Proanthocyanidines</b>	EtOAc-MeOH-H <sub>2</sub> O, 79:11:10 EtOAc-HCOOH-HOAc-H <sub>2</sub> O, 30:1.2:0.8:8

### I-2-1-d - كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC):

تسمح هذه التقنية بتحديد المحتوى الفينولي للعينة المراد تحليلها، و هي نوع من أنواع التحليل الكروماتوغرافي التجزيئي الذي يتطلب استخدام ضغوط عالية لدفع المذيب خلال العمود، و هي التقنية الأفضل لفصل و تحليل الخلائط المعقدة في وقت قصير [4] ، و أهم المذيبات المستعملة هي :

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

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

- يجر المملص معه المركبات في العمود بصفة انتقائية فتتزل المركبات ثنائية السكر قبل أحادية السكر؛ و هذه الأخيرة قبل الأليكونات [5] .

- و بالنسبة للأجلكونات التي تحتوي على الأوكسجين في الحلقة B فيملص المركب الذي يحتوي على ثلاث مجموعات (OH) في الحلقة B قبل الذي يحتوي على مجموعتي (OH) و هذا الأخير قبل الذي يحتوي على (OH) واحدة دائما على الحلقة B [6] .

### 2-2-I - التتقية :

من أجل تتقية المركبات المفصولة بالتقنيات الكروماتوغرافية السابقة (ك.ط.ر) أو (ك.و) لا بد من أن ترشح على :  
أولا : عمود صغير من متعدد الأמיד (SC<sub>6</sub>)، و يتم ذلك باستعمال Toluène كمذيب و إغناؤه قليلا بالميثانول.

ثانيا : عمود صغير من (Sephadex LH20) باستعمال MeOH كمذيب.

### II-الدراسة البنيوية للفلافونيدات :

تتركز الدراسة البنيوية للمركبات الفلافونيدية على عنصرين أساسيين :

### II-1- الخصائص الكروماتوغرافية :

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

و يعرف هذا الأخير ( $R_f$ ) بأنه النسبة بين المسافة المقطوعة من طرف المركب انطلاقا من نقطة البداية والمسافة المقطوعة من طرف المذيب من نفس النقطة، و هو قيمة مميزة لكل مركب في شروط كروماتوغرافية معينة (درجة الحرارة، المذيب،...) و ترتبط قيمة  $R_f$  بطبيعة المجموعات الاستبدالية على المركب [7] ، [8] .

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

**النظام 1 : ( 4 / 3 / 3 ) : Toluène / méthanol / méthyléthylcétone**

**النظام 2 : ( 13 / 3 / 3 / 1 ) : eau / méthanol / méthyléthylcétone / Acétylacétone**

**النظام 3 : 15 % : Acide acétique**

ومن خلال قيم  $R_f$  في مختلف الأنظمة يمكن معرفة ما إذا كان المركب أجليكونا أو إيتيروزيديا، كذلك معرفة ما إذا كان أحادي، ثنائي أو ثلاثي السكر [7] [9] .

فمثلا :

قيمة  $R_f$  تزداد لأن مجموعات الهيدروكسيل الحرة قليلة في نظام مذيب عضوي، و العكس في نظام مذيب مائي [8] .

إذا كان المذيب مستبدل بسكر واحد أو أكثر ، فإن قيمة  $R_f$  تزداد في نظام مائي و تنقص في نظام عضوي .

2- كما أن لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية يزودنا بمعلومات حول طبيعة

المركب و الجدول -2 يوضح ذلك :

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 فلافونون بدون (5-OH). فلافونون مستبدل في 3 وبدون (5-OH).
أصفر أو أصفر باهت	فلافونون غير مستبدل مع أو بدون (5-OH)
برتقالي لامع	إيزوفلافون.
أصفر مخضر	أورون.
أخضر	بعض الشالكونات

جدول (2): يوضح العلاقة بين لون المركب تحت (UV) وبنيته الكيميائية [7]، [28]

## II-2 طرق التحليل الطيفي:

### أ- مطيافية الأشعة فوق بنفسجية:

الفلافونيدات واحدة من المركبات القادرة على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية، و ذلك لاحتوائها على مجموعات مسؤولة عن ذلك تدعى بـ chromophores (وهذه الأخيرة عبارة عن مواقع غنية بالإلكترونات كما قد تكون عبارة عن مجموعات كيميائية مثل مجموعة الهيدروكسيل "OH-" و مجموعة الميثوكسيل "OCH<sub>3</sub>-" (...).



و تعتبر مطيافية الأشعة فوق البنفسجية من أهم الوسائل المستعملة للتعرف على البنية الكيميائية للمركبات الفلافونيدية، و قد نشرت أبحاث كثيرة بهذا الصدد [9، 10، 11، 12، 13].

و تكمن أهميتها في :

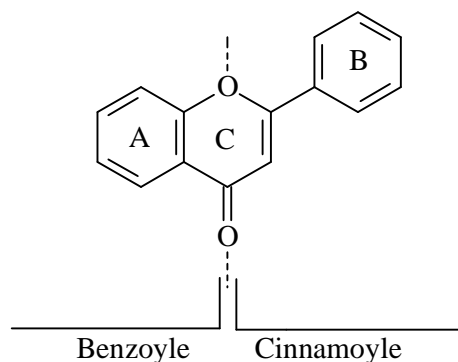
- سهولة و سرعة تحقيقها.
- لا تحتاج إلى كمية كبيرة من المركب لإنجازها.
- كما أنها تعطي معلومات وافية عن البنية الكيميائية للمركب.

و يعتمد أساس هذه التقنية في كون كل مركب فلافونيدي له طيف امتصاص مميز في الوسط الميثانولي، و إضافة كواشف مختلفة مثل هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)، أوكلوريد الألمنيوم ( $AlCl_3$ ) إلى الوسط الميثانولي للمركب الفلافونيدي يعطي لون مع هذه الكواشف، و هذا اللون قد يكون نتيجة تكوين معقدات مع هذه الكواشف، و يلاحظ مقدار إزاحة حزم الامتصاص الذي يعطي دلالات جيدة على نوع المجموعات البديلة و مكان ارتباطها.

### أ-1- طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي:

إن طيف الامتصاص في الميثانول للصيغة الفلافونيدية (فلافون و فلافونول) يعطي عصابتين أساسيتين:

- العصبة I :** تقع بين (300 - 400 نم) و تعود إلى امتصاص الشكل cinnamoyle و ذلك نتيجة للرنين الناتج عن ترافق مجموعة كربونيل  $C_4$  مع الحلقة البنزينية B .
- العصبة II :** تقع بين (250 - 280 نم) و تعود إلى امتصاص الشكل Benzoyle للمركب و ذلك نتيجة للرنين الناتج عن ترافق مجموعة كربونيل  $C_4$  مع الحلقة البنزينية A .
- كما هو موضح في الشكل (1)



الشكل (1): ترافق مجموعة الكربونيل مع كل من الحلقتين A و B

- إن التمييز بين بنية ( flavones ) و ( flavonols ) يكون من خلال وضعية العصابة I في الطيف الميثانولي [9] .

فالحزمة I تظهر بين ( 305 - 350 نم ) بالنسبة للفلافون و بين ( 350 - 385 نم ) بالنسبة للفلافونول .

- كما سمحت المقارنات التي أجريت بين أطيف مختلف الفلافونيدات بالاستنتاجات التالية :

• تثبيت مجموعة OH على الحلقة B يغير إزاحة العصابة I أكثر مما لو كان تثبيت المجموعة على الحلقة A.

استبدال مجموعة OH بمجموعة (OCH<sub>3</sub> أو O— suc) في المواقع C<sub>3</sub>، C<sub>7</sub>، C<sub>4</sub>، يترتب عنه انزياح hypsochrome للعصابة I يتراوح بين ( 3 - 10 نم ) في حالة C<sub>4</sub>، و بين ( 12-17 نم ) في حالة C<sub>3</sub>، و بين ( 5-15 نم ) للعصابتين في حالة C<sub>7</sub>، و يكون التأثير ضعيفا عند كون الاستبدال في المواقع الأخرى. يتأثر الطيف بطبيعة جزيء السكر المرتبط بالأجليكون إلا في حالة سكر الرانوز [16] .

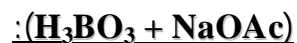
### أ-2- طيف الامتصاص في وجود NaOH أو ( NaOMe ) :

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

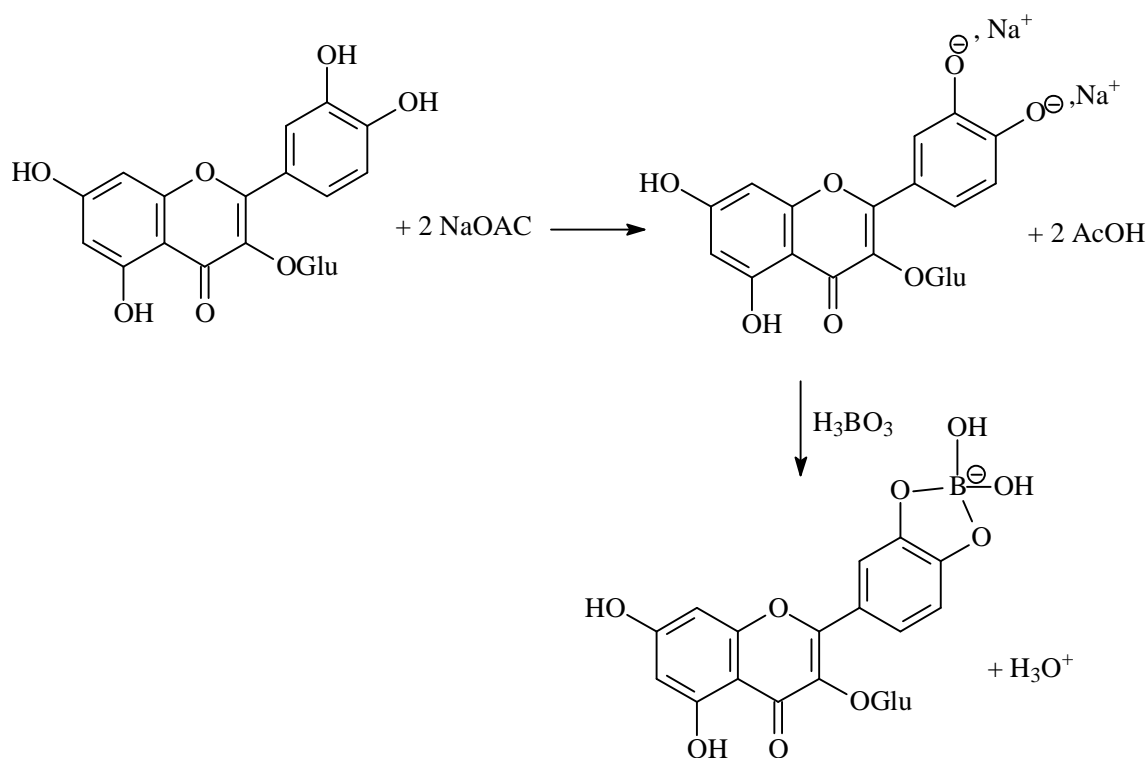
### أ-3- طيف الامتصاص في وجود NaOAc :

أسيئات الصوديوم ( NaOAc ) قاعدة ضعيفة، تؤين الهيدروكسيلات الأكثر حامضية فقط و يعتبر NaOAc كاشفا نوعيا لهيدروكسيل الموضع C<sub>7</sub> ، إذ أنه يحدث إزاحة باثوكرومية (+5 إلى +20 نم) للعصابة II ، يشير إلى وجود OH حر في الموضع C<sub>7</sub> .

أ-4- طيف الامتصاص في وجود أسيتات الصوديوم و حمض البوريك



يستعمل هذا المحلول للكشف عن أرثو ثنائي الهيدروكسيل، إذ أنه في وجود مجموعة أرثو ثنائي هيدروكسيل باستثناء الموضع  $\text{C}_5\text{-C}_6$ ، [14]، [15]. تتشكل معقدات مذبذبة و الشكل (2) يوضح ذلك:

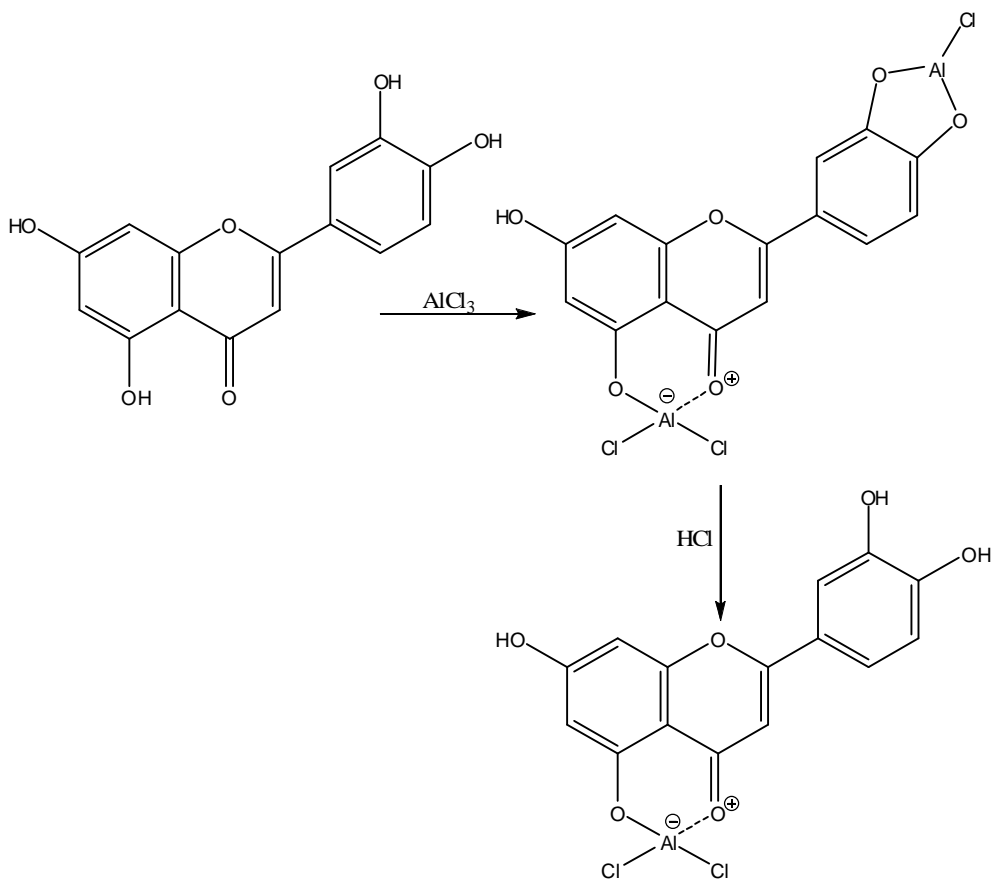


الشكل(2): المعقد المتشكل بين الفلافونيد و  $(\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{NaOAc})$

أ-5- طيف الامتصاص في وجود  $\text{AlCl}_3$  و  $(\text{AlCl}_3 + \text{HCl})$

كلوريد الألمنيوم ( $\text{AlCl}_3$ ) يكون معقدات ثابتة مع كربونيل الموضع  $\text{C}_4$  و هيدروكسيل الموضع  $\text{C}_3$  أو  $\text{C}_5$ ، و يفسر هذا التأثير بانزياح باثوكرومي للعصابة I، و تبقى هذه المعقدات ثابتة بعد إضافة حمض  $\text{HCl}$ . كما يشكل نفس الكاشف  $\text{AlCl}_3$  مع مجموعة أرثو

ثنائي هيدروكسيل معقدات تكون غير ثابتة بعد إضافة حمض HCl [9] و الشكل (3) يوضح هذه المعقدات:



الشكل (3): المعقدات الثابتة وغير الثابتة بين الفلافونيد و AlCl<sub>3</sub> قبل وبعد إضافة HCl

والجدول التالي يوضح مختلف التأثيرات المحتملة على طيف UV و تفسيراتها قبل وبعد إضافة الكواشف [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25].

الجدول - 3 :

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

## ب- مطيافية الكتلة

تستعمل مطيافية الكتلة 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 [18]، و تكمن أهمية هذه التقنية في كون أنها لا تحتاج إلى كميات كبيرة من العينة ( المركب الفلافونيدي )، و من بين التقنيات المستعملة في هذا المجال :

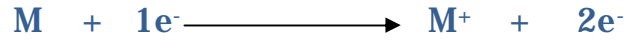
- تقنية القذف الإلكتروني ( EI ) .

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

- تقنية الإلكترون سبراي ( ES ) .

### ب-1- تقنية القذف الإلكتروني ( EI ): [19]. [20] .

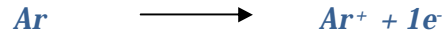
تعتمد هذه التقنية على تطهير المركب في غرفة التأين في درجة حرارة 100-300 °م، ليقذف بعدها بسيل من الإلكترونات لتأيينه و بالتالي نحصل على أيونات موجبة حسب المعادلة التالية :



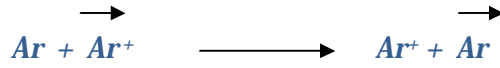
و كنتيجة للطاقة التي يكسبها الأيون الجزيئي (  $M^{+}$  ) برتبة ( 70 eV ) تحدث له تشظيات من خلالها نحصل على الأيونات المميزة للمركب تحت الدراسة، و تعتبر هذه التقنية صالحة إلا مع الأغليكونات لأن الإيتيروزيدات تفتقر إلى خاصية التطهير و كذلك لاحتوائها على المستبدلات السكرية التي لا تتحمل الطاقة القوية التي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

### ب-2- تقنية القذف السريع بالذرات ( F.A.B ):

تعتبر تقنية القذف السريع بالذرات ( F.A.B ) تقنية حديثة تسمح بمعرفة الأيون الجزيئي وطبيعة السكر [21]. بالنسبة للمركبات الإيتيروزيدية القطبية ذات الأوزان الجزيئية المرتفعة، التي لا نستطيع دراستها بواسطة تقنية ( EI ) [19,22] .  
فباستعمال تفريغ ( كاثود ) يتم تأيين ذرات غاز الأرغون لنحصل على أيونات (  $Ar^{+}$  )



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



حيث تبقى الذرات الناتجة  $\overrightarrow{Ar}$  محافظة على طاقتها و عند الخروج من غرفة الصدم نحصل على خليط من (Ar, Ar<sup>+</sup>)، يتم بعدها عزل (Ar<sup>+</sup>) باستعمال لوح مكثفة لنحصل في النهاية على سيل من ذرات الأرجون (Ar) التي تدخل غرفة التأيين لتتصادم ذرات العينة (المركب المدروس) الموضوعة على لوح معدني فنحصل على أيونات للمركب التي يتم قلعها و تسريعها و تحليلها بعد ذلك، و من مميزات هذه التقنية [22] :

- 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، وإضافة" إلى أيونات التنشيطية العادية المميزة للفلافونيدات نحصل على قمم موافقة للأيونات شبه الجزيئية من الشكل، [M+K]<sup>+</sup>، [M+Na]<sup>+</sup>، [M+H]<sup>+</sup>، ...[M-H]<sup>-</sup>

### ب-3- تقنية الإلكتروسبراى 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 [23].

أما بالنسبة للفلافونيدات فتستعمل تقنية الإلكترولوسبراي (ES) لدراسة المركبات سهلة التكسير مثل : O-glycosides و يتميز طيف الكتلة المحصل عليه بوجود قمة الأيون الجزيئي  $[MH]^+$  و قمم موافقة للأيونات شبه الجزيئية من الشكل  $[M+Li]^+$ ،  $[M+Na]^+$  ... [24]

### ج- مطيافية الرنين المغناطيسي النووي: $RMN^{13}C$ و $RMN^1H$

استخدمت مطيافية الرنين المغناطيسي النووي في نطاق واسع لدراسة المنتجات الطبيعية كالفلافونيدات فمن خلالها يمكن معرفة :

- درجة تأكسد الحلقات A ، B ، C .
  - عدد السكريات الموجودة في المركب و نوع الرابطة  $\alpha$  أو  $\beta$  بين السكر و الألكون.
  - عدد و مواقع مجموعات الميتوكسيل على الهيكل الفلافونيدي [25, 26].
- 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 أكسيجينية على الموضع رقم 6، و كان الموضع رقم 5 غير مستبدل فإن بروتون هذا الموضع يظهر عند قيمة 7.4ppm تقريبا و ليس ضمن المجال 6.6 - 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 ( $\delta$ ) بالنسبة لقيمة الانزياح الكيميائي لـ TMS الذي يؤخذ اصطلاحا مساويا للصفر  $\delta(TMS) = 0$ .

• و فيما يلي جدولين ( 4,5) يبينان بعض الانزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة A و B :[27]



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

**الجدول-4: الإنزياح الكيميائي وثابت التزاوج لبروتونات الحلقة A**

(H-3' / H-5')		(H-2' / H-6')		بروتونات الحلقة B طبيعة الفلافونيد
$\delta$ ,ppm	J,Hz	$\delta$ ,ppm	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)

**الجدول-5: الإنزياح الكيميائي وثابت التزاوج لبروتونات الحلقة B**

- أما بالنسبة لبروتون الحلقة C في الفلافون فهو يعطي إشارة أحادية في المنطقة ( 6.4-6.2 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) .
- بروتونات الميثوكسيل تتموضع في المجال ( 4.1-3.5 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 الأجليكون، و الجدول التالي يعطي قيم الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1 لبعض الفلافونيدات أحادية السكر.

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

**الجدول-6 : قيم الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1 لبعض الفلافونيدات أحادية السكر**

يمكن التعرف على نوع الرابطة  $\alpha$  أو  $\beta$  بين السكر و الأجليكون من خلال ثابت الإقتران لـ "H-1، "H-2 حيث يمتاز الغلوكوز بالرابطة  $\beta$  و يظهر "H-1 بإشارة ثنائية بثابت تزواج ( $J = 7 \text{ Hz}$ ) ناتج عن تزواج ثنائي محوري مع "H-2 كما يمتاز الراموز برابطة قد تكون  $\alpha$  بإشارة ثنائية لـ "H-1 بثابت تزواج ( $J = 2 \text{ Hz}$ ) نتيجة الإقتران إستوائي-إستوائي. كما يمكن التعرف على سكر الراموز بظهور إشارة ثنائية لميثيل السكر بثابت تزواج ( $J = 6 \text{ Hz}$ ) في المجال (ppm) 1.2 - 0.8 [9]. بالإضافة إلى الغليكوزيدات الأحادية، فهناك غليكوزيدات ثنائية السكر، أغلب هذه المركبات يكون الجزء السكري فيها إما Rutine أو Neohesperidine، و يمكن التفريق بينهما بظهور إشارة

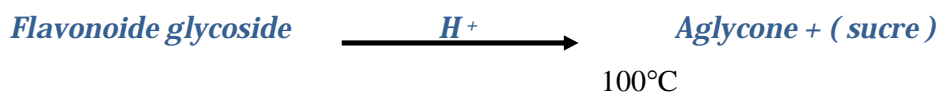
(7,3-O-rutinosides) في المجال (ppm) 4.2 - 4.4 بثابت تزواج ( $J = 2 \text{ Hz}$ ) مع إشارة ميثيل الراموز في المنطقة (ppm) 0.7 - 1، في حين تظهر إشارة 7,3-O- neohesperidine في المجال (ppm) 4.9 - 5 بثابت تزواج ( $J = 2 \text{ Hz}$ ) مع ظهور إشارة ميثيل الراموز في المنطقة (1.3-1.1) و الجدول التالي يعطي قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأنوميرية "H-1، "H-1 لبعض من الغليكوزيدات ثنائية السكر [26]:

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

**الجدول-7 :** قيم الإزياج الكيميائي للبروتونات الأنوميرية H-1" ، H-1" لبعض الغليكوزيدات ثنائية السكر في DMSO-d6

#### د-الإماهة الحمضية :

تستعمل هذه الأخيرة لمعرفة طبيعة السكر المرتبط بالمركبات الغليكوزيدية المعزولة.



كما أنها تعطينا فكرة عن ما إذا كان المركب غليكوزيدا من نوع (O-glycosyl) أو (C-glycosyl) لأن الرابطة من النوع الثاني أي (C-glycosyl) مقاومة للتحليل الحمضي؛ فيستفاد من هذه الخاصية في تمييز هذا النوع من الروابط عن النوع الأول (أي O-glycosyl).

#### ✓ الطريقة العملية :

تؤخذ كمية قليلة من الغليكوزيد المذابة في مذيب معين، و يضاف إليها 2 ملل من حمض كلور الماء (HCl , 4N) في أنبوب اختبار، يسخن الخليط في حمام مائي ( 100 ° م )

لمدة ساعة، بعد التبريد يستخرج الأنبوب و يضاف له حوالي ( 2 ملل ) من ثنائي إيثيل الإثير، و يرج جيدا ثم يترك ليهدأ حتى ظهور خط الفصل بين الطورين المائي و العضوي، و تفصل الطبقة العضوية ( ثنائي إيثيل الإثير ).

تكرّر العملية مرة أخرى مع ثنائي إيثيل الإثير، و مرتين مع أسيتات الإيثيل ؛ حيث دائما تفصل الطبقة العضوية عن المائية، ليضاف إلى هذه الأخيرة ( 2 ملل ) من البوتانول العادي مرة أولى ثم مرة ثانية.

بعد تجميع الطبقات العضوية كلا على حدى يتم تجفيفها ليصبح لدينا :

- الطبقة العضوية الخاصة بثنائي إيثيل الإثير .
- الطبقة العضوية الخاصة بأسيتات الإيثيل .
- الطبقة العضوية الخاصة بالبوتانول العادي .

عموما الطبقة العضوية لثنائي إيثيل الإثير هي التي تحتوي على الأجليكون ، أما الجزء السكري من الغليكوزيد فيبقى مذابا في الطبقة المائية التي يتم تجفيفها.

- التعرف على الأجليكون يكون بواسطة تسجيل الطيف ( UV ) له في الميثانول كما يمكن التعرف عليه بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة باستعمال شواهد.
- أما الجزء السكري فيتم التعرف عليه باتباع الخطوات التالية:

### **1-تحضير العينة:**

نقوم بتبخير الطور المائي المتحصل عليه و الذي يحتوي على الجزء السكري حتى الجفاف و ذلك باستعمال مضخة خاصة (pompe à palettes)، لنعيد تذيبه في كمية قليلة جدا من الماء و بذلك يكون جاهزا للإستعمال فيما بعد.

## 2-تحضير اللوح الكروماتوغرافي من نوع (Gel de silice 60F 254):

يرش هذا الأخير بمحلول من  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0.2 M) ، ثم يترك ليجف في الهواء بضع دقائق قبل وضعه في فرن تحت درجة حرارة  $100^\circ\text{C}$  لمدة ساعة، بعدها وباستعمال ماصة توضع نقاط من الطور المائي المحتوي على السكر (المحضر سابقا) مع بعض شواهد سكرية معروفة، ليغمس اللوح في مملص يحتوي على (أسيتون : ماء) بنسبة (9 : 1)، و بعد 150-180 دقيقة يستخرج الكروماتوغرام و يترك ليجف مدة ساعة، ليعاد وضعه مرة ثانية في نفس المملص السابق و لنفس المدة السابقة، يستخرج بعدها ليجف مدة ساعة، عندها يرش بواسطة كاشف مالونات الأنيلين (حمض المالونات 1 غ - حمض الفوسفوريك 3ملل - الأنيلين 1ملل - الإيثانول 100ملل ) و يترك بضع دقائق ليجف في الهواء بعد ذلك يوضع في الفرن تحت درجة حرارة  $100^\circ\text{C}$  لمدة 5 دقائق، حيث تبدأ بقع السكريات في الظهور فتكون بنية اللون بالعين المجردة و صفراء عند رؤيتها تحت أشعة UV ، عندها يتم التعرف على السكريات التي بحوزتنا و ذلك بمقارنتها مع الشواهد السكرية المستعملة.

- [1] Markham, K.R.( 1982). Techniques of flavonoids identification. Academic press. London.
- [2] Abd Elchakour, A.S.(1987). Chimie organique moderne et pratique. Université du Roi Abdel Elaziz, Djedda (ed en arabe).
- [3] Andersen Øyvind M., Markham, Kenneth R.(2006). Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications. CRC Press Taylor & Francis Group.
- [4] Francisco, A., Tomas-Barberan, F., et coll.(1990). High performance liquid chromatography, thin layer chromatography and ultra violet behaviour of flavone aglycone with unsubstituted rings . Phytochemistry. Anal. I, 44.
- [5] Combier, H., Jay, M., Voirin, B., Lebreton, P.(1974). Influence des 6 et /ou des 8-substitutions sur le comportement spectrométrique et chromatographique des flavonoides. Assemblée annuelle du « Groupe poly- phénols ». Lyon, France.
- [6] Mabry, T. J., Markham, K. R., Thomas, M.B.(1970). The systematic identification of flavonoids. Springer- Verlag, Berlin.
- [7] Markham, K.R.(1982). Techniques of flavonoids identification. Academic press. London.
- [8] Alain, B.(1972). La chromatographic et ses applications. Dunod, Paris.
- [9] Harborne J.B. (1988).The flavonoids, Advances in research since 1980. Chapman & Hall. London.
- [10] Jurd, L .(1962). The chemistry of flavonoid compounds. Geissman, Pergmon press, New- York.
- [11] Harborne, J.B.(1967). Comparative biochemistry of the flavonoids. Academic press. London.
- [12] Jay, M., Gonnet, J.F., Wollenweber, E., Voirin, B.(1975). Phytochemistry., 14, 1605.
- [13] . Voirin, B. (1983). Phytochemistry, 22, 2107.
- [14] Bacon, J.D, Mabry, T. J., Mears, J.A .(1976). Latino. Amer. Quinn., 7, 83.
- [15] Riberau- Gayon, P.(1968). Les composés phénoliques des végétaux . Dunod, Paris.

- [16] Markham, K.R ., Mabry, T.J.(1975). In the flavonoids. Harborne, J.B, Mabry, T.J and Mabry .H, Chapman and Hall, London.
- [17] Wollenweber, E., Dietz, V.H.(1980).Biochemical Bystematic &Ecology , 8, 21.
- [18] Nielson, J.G ., Moller, J.(1970). Acta . Chem. Scand., 24, 2665.
- [19] Audier, H.(1966).Etude des composés flavoniques par spectrométrie de masse. Bull. Soc . Chim. Fr., 9, 2892.
- [20] Goudard, M ., Bouvin, J. F., Chopin, J .(1978).Phytochemistry., 17, 145.
- [21] Becchi, M., Fraise, 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.
- [22] Constantin, E., Schenell, A.(1986).Spectrométrie de masse, principes et applications, Lavoisier, Paris.
- [23] Markham, R.(1995). Les facteurs anti –nutritionnels (F.A.N) phénoliques de *Pisum sativum* et de *Vica fabal* ( Leguminosae) : Aspects structuraux. Thèse de doctorat, univ. Claude Bernard, Lyon I.
- [24] Voirin, B.(1970).Thèse de doctorat, université de Lyon.
- [25] Wilson, R.G., Bowie, J.H., Williams , D.H.(1968). Tetrahedron, 24, 1407.
- [26] Rodriguez, E., Carman, N.J ., Mabry, T.J.(1972). Phytochemistry., 11, 409.
- [27] Markham, K.R ., Geiger, H .(1994). <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide .In the flavonoids, Harborne, J.B, Chapman and Hall, London .
- [28] Harborne, J. B., Mabry, T.J., Mabry, H.(1975). The flavonoids. Tome I, Academic press. London.

# الفصل الثالث

الدراسة النباتية والكميائية لنبته  
*Stachys ocymastrum(L.)Briq*



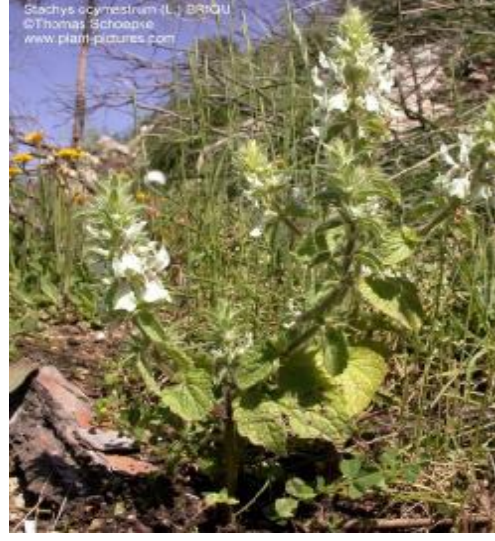
## الدراسة النباتية و الكيميائية لـ *Stachys (Lamiaceae) ocymastrum(L.)Briq*

### I-الدراسة النباتية :

#### I -1- المادة النباتية:

تم قطف و جمع النبتة في أواخر شهر ماي من سنة 2005 من طرف الأستاذ كعبوش كمال من منطقة بكيرة بقسنطينة، 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 890 غ.

#### I -2- وصف النبتة:



### صورة فوتوغرافية لنبتة *Stachys ocymastrum(L.)Briq*

فهي نبتة حولية ، بجذور نحيفة وطويلة ، ذات تويج بشفة علوية مهمشة أكثر صغرا (10-15 مم ) ، مائلة إلى الصفرة مذبية بسمرة على العنق ، كأس مثمر طوله يتراوح بين 9-10 مم بأسنان حادة . أوراق بيضوية غالبا ما تكون عقدية في القاعدة ، أزهار متتالية بطول يتراوح بين 1.5-1.7 مم ، تتواجد في كل القطر الجزائري [1].

---

[1] Quezel, P. and Sanata, S, Nouvelle Flore de L'algérie et des Régions Désertiques et Méridionales, 1963 ; Tome II, CNRS, Paris.

### I-3- التصنيف النظامي للنباتة:

Royaume	Plantes	المملكة
Sous royaume	Tracheobiontes	تحت المملكة
Embranchement	Spermatophytes	الفرع
Division	Magnoliophytes	القسم
Classe	Magnoliopsides	الصف
Sous classe	Asteridae	تحت الصف
Ordre	Lamiales	الرتبة
Famille	Lamiaceae	العائلة
Genre	<i>Stachys</i>	الجنس
Espèce	<i>Stachys ocymastrum(L.)Briq</i>	النوع

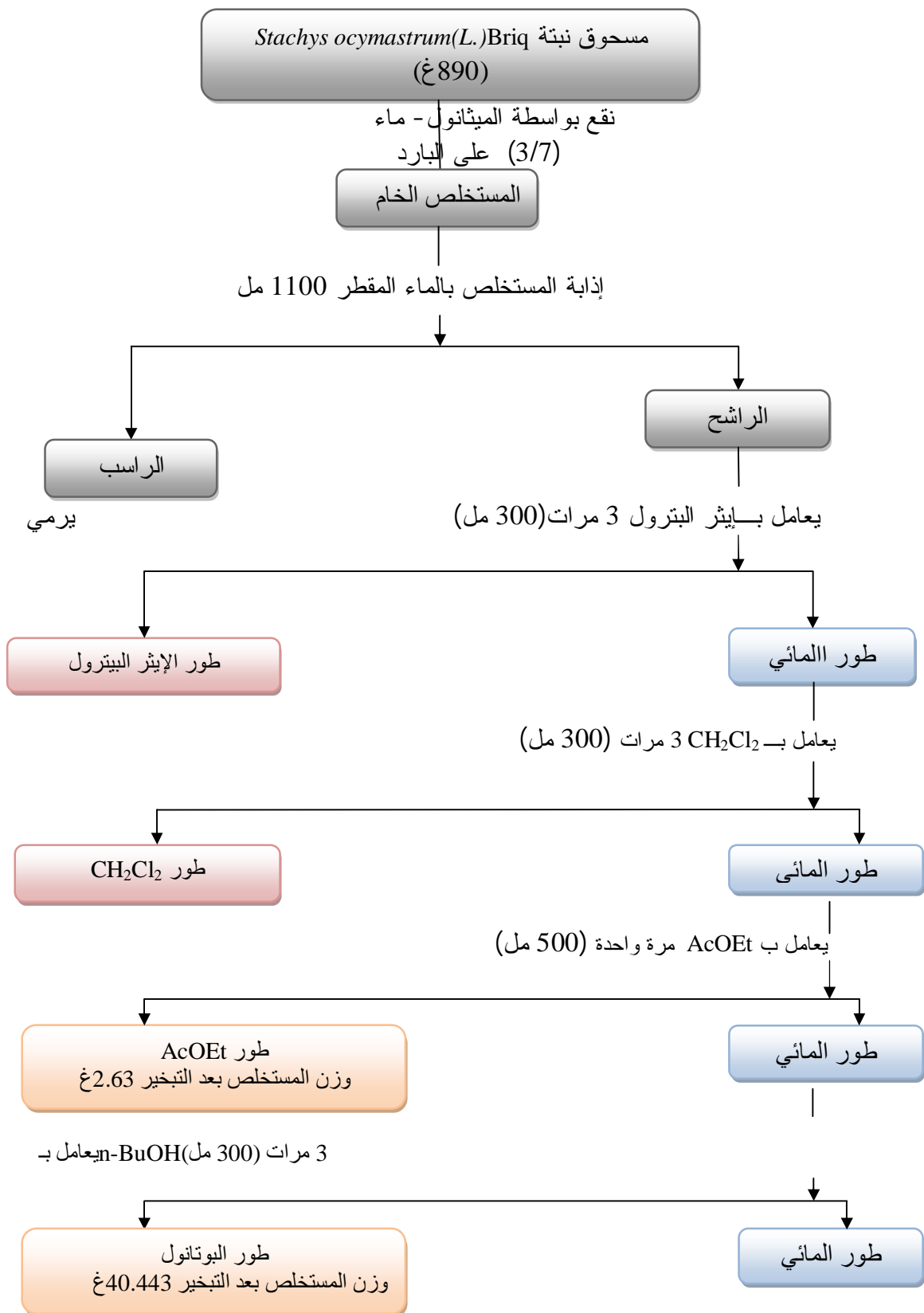
### II- الدراسة الكيميائية :

#### 1- إستخلاص النباتة:

بعد قطع وطحن الأجزاء النباتية الجافة (890 غ)، نقعت في خليط من الميثانول و الماء (7:3) ثم تركت لمدة 24 ساعة، رشح و ركز المحلول تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة لا تتجاوز 40 درجة مئوية. أعيدت هذه العملية 3 مرات مع تجديد المذيب كل 24 ساعة.

الخلاصة المتحصل عليها تم إذابتها بالماء المقطر (1100 مل) وترشيحه للتخلص من الشوائب و الأتربة . قمنا بعد ذلك باستخلاص من نوع سائل - سائل في قمع فصل باستعمال مذيبات متفاوتة القطبية: إيثير البيترول، ديكلوروميثان، خلات الإيثيل، البيوتانول.

و الشكل -1- يمثل مختلف خطوات الاستخلاص:



**مخطط استخلاص نبتة *Stachys ocymastrum*(L.)Briq**

## 2- طريقة الفصل والتنقية :

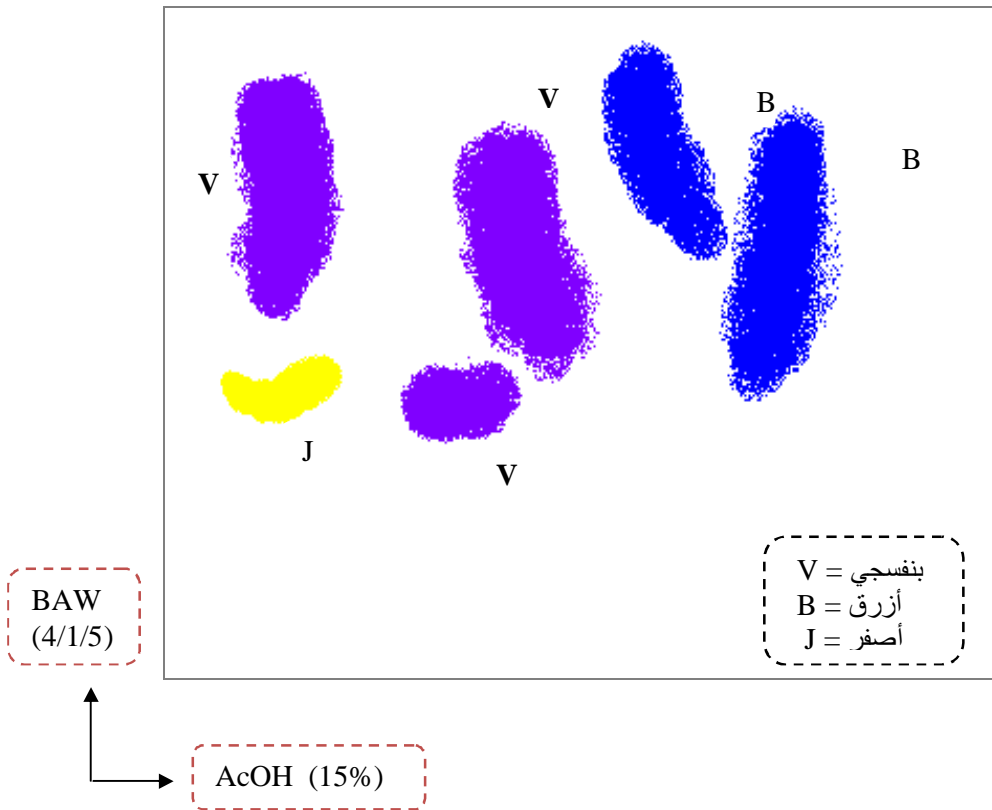
بعد عملية إختزال المستخلص الأسيتاتي ، وعند إعادة إذابته في كمية معتبرة من الميثانول ظهر لنا راسب أصفر، تم عزله وغسله بدفعات من الميثانول فكان وزنه  $S1=0.194$ غ.

قبل عملية الفصل قمنا بإجراء عمليات إختبار لمستخلصي البوتانولي و الأسيتاتي أحادي البعد بإستعمال ورق wathman رقم 3 وذلك بإستخدام نظامين مختلفين هما :

(1) n- BuOH : HOAc : H<sub>2</sub>O (BAW) 4 : 1 : 5 ( الطبقة العضوية )

(2) AcOH 15 %

فتبين لنا أن هناك تقارب بين هاذين المستخلصين ، فتم جمعهما معا(طور البوتانول 12 غ + طور الأسيتات 2.4 غ ) ، والخريطة الكروماتوغرافية ثنائية البعد التالية ، التي تم رسمها بالإستعانة بمصباح UV تبين توزع المركبات الموجودة في المستخلصين معا :



تم إختيار تقنية كروماتوغرافيا العمود لغرض فصل مكونات المستخلص، و ذلك باستعمال البولي أميد كدعامة ثابتة أما المملص فكان التولين مع إشباعه تدريجيا بالميثانول، و نتيجة لهجرة الحزم المفصولة و المشاهدة بمصباح الأشعة فوق البنفسجية نغير قطبية المملص في كل مرة.

وضعنا المستخلص على شكل سائل في العمود لتبدأ عملية الفصل الأولية،حيث كان يتراوح حجم الكسور بين 100مل إلى 200 مل و الكسور المحصل عليها مدونة في الجدول التالي .

الكسور المتحصل عليها	Toluène (%)	MeOH (%)
F1.....F6	100	0
F7.....F8	98	2
F9.....F13	94	6
F14.....F16	92	8
F17.....F18	90	10
F19.....F51	85	15
F52.....F60	83	17
F61.....F64	80	20
F65.....F67	75	25
F68.....F69	70	30
F70.....F71	60	40
F72.....F74	50	50
F75.....F76	40	60
F77.....F79	30	70
F80.....F81	20	80
F82.....F84	0	100

بعد إجراء إختبارات للكسور المحصل عليها وذلك باستعمال نظامين هما :  
 - 9 : 1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH كملص على صفائح من السيليكاجال  
 (CCM)

- 30% من حمض الخل كملص ورق Wathman

تم جمع الكسور على النحو التالي :

الملاحظة	الكسور بعد الجمع
خليط بتركيز ضعيفة لم يعالج	12.....1
	14.....13
خليط	21.....15
	24.....22
	32.....25
	34.....33
خليط	39.....35
خليط	52.....40
وجود مركب رئيسي	57.....53
خليط بتركيز ضعيفة	64.....58
- عزل راسب أصفر من F70 و F71 - تم معالجة كل كسر على حدى بعد ذلك تم جمع المتشابه منها	71.....65
خليط، كما تم عزل راسب أصفر من F72	74.....72
خليط، كما تم عزل راسب أصفر	75
خليط	79.....76
خليط	84.....80

### 3- معالجة الكسور المتحصل عليها:

ü الكسور التي تم جمعها من F53 حتى F57 ، وباستعمال الطبقة الرقيقة التحضيرية للسيليكا جال، مستعملين في ذلك النظام (9/1)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$  . تم فصل المركب النقي F57-B .

ü كما تم فصل المركب F70-2 من الكسر F70 مستعملين في ذلك ورق واثمان والمملص كان (30%)  $\text{AcOH}$  .

ü كما تم عزل الراسب S1 من الطور الأسيتاتي و الراسب S75 من الكسر F75 والذان تم تنقيتهما بغسلهما بدفعات متتالية من الميثانول.

#### ملاحظة

هناك مركبات تم فصلها من الكسور F65 , F66 , F67-69 , F71 , F72-74 , F75 لم نتطرق إليها هنا ، فهي قيد البحث عن البنية الكيميائية لها.

# الفصل الرابع

## النتائج و المناقشة

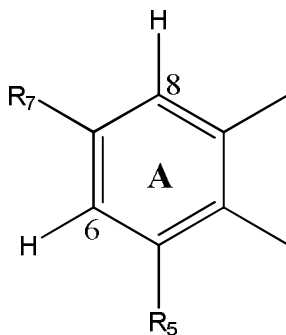


### 3- التحليل البنوي للمركب S1 :

- طيف الكتلة (masse à haute résolution) [طيف رقم:1] بتقنية الإلكتروسبراى الموجبة تظهر إشارة عند  $m/z=601.1$  توافق  $[M+Na]^+$  و الثانية عند  $m/z=623.1$  توافق  $[M-H+Na+K]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أن الكتلة الجزيئية هي 578 الموافقة للصيغة المجملية  $C_{30}H_{26}O_{12}$  .

- يظهر طيف  $^1H$  RMN [طيف رقم:2] إشارات في المجال بين [8-6]ppm توافق البروتونات الأوليفينية و البروتونات العطرية وكذلك الإشارات الموجودة في المجال [4-3]ppm مع ظهور إشارة ثنائية عند  $J= 5.17$ ppm (6.9Hz) للهيدروجين المرتبط بالكربون الذي إشارته تظهر عند 99.37 ppm وذلك بالإستناد إلى طيف HMQC [طيف رقم:1-7] و بالتالي يوافقان البرتون والكربون الأثوميري بتشكيل من نوع  $\beta$  ، وهذا الإسناد يؤكد طيفا  $^{13}C$  RMN و الـ Dept-135 [طيف رقم:3-4] . والذان يسمحان لنا بملاحظة 4 إشارات في المجال بين [69.87-76.4] ppm والتي تخص السكر بالإضافة إلى ذلك إشارة أكثر حصانة والتي تظهر عند 63.33ppm الموافقة للمجموعة  $CH_2OR$  للسكر .  
دراسة أكثر تعمقا للطيف  $^1H$  RMN تعطينا :

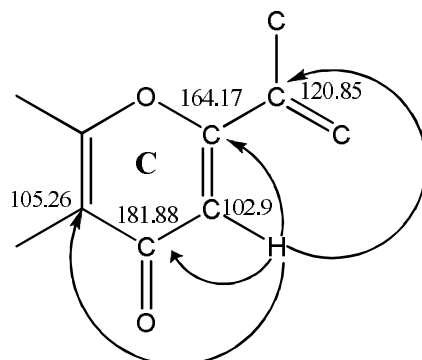
- إشارتان ثنائيتان بتكامل 1H لكل واحدة، الأولى عند  $\delta=6.47$  ppm والثانية عند  $\delta=6.82$  ppm بثابت تزاوج  $J=1.8$ Hz . ونتأكد من هذا التزاوج بواسطة طيف  $^1H-^1H$  COSY الذي يظهر بقعة تعالق بين الإشارتين حيث تسند الأولى إلى H-6 و الثانية إلى H-8 للحلقة A المستبدلة في الموقعين C-5 و C-7 .



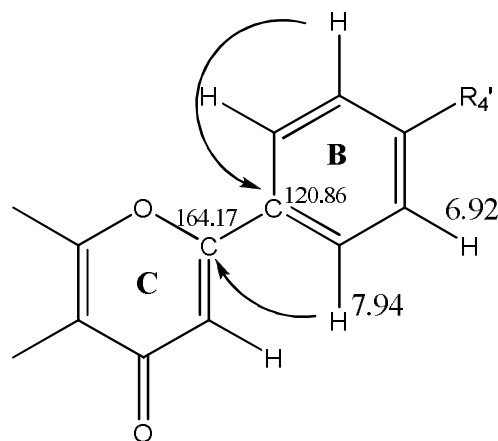
- إشارتين بتكامل 2H لكل واحدة، الأولى عند  $\delta=6.92$  ppm والثانية عند  $\delta=7.94$  ppm بثابت تزاوج 8.7 Hz يقودنا للقول أن التزاوج من نوع أرتو للبروتونات العطرية وبالتالي فإن الحلقة B مستبدلة مرتين وذلك في الموقع بارا .  
- وجود حلقة بنزينية ثانية ، ثنائية الاستبدال في الموقع بارا يؤكد وجود إشارتين ثنائيتين بتكامل 2H لكل واحدة، الأولى تظهر عند  $\delta=6.67$  ppm والثانية عند  $\delta=7.36$  ppm بثابت تزاوج  $J=8.5$  Hz

- إشارة أحادية عند  $\delta=6.83\text{ppm}$  بتكامل 1H والتي تتصل بالكربون الكربونيلي والذي يظهر عند  $\delta=181.88\text{ ppm}$  وذلك بالإعتماد على طيف HMBC [طيف رقم: 1-6] وهذه القيمة تقودنا للقول أن مجموعة الكربونيل تكون مترافقة مع الرابطة الثنائية.

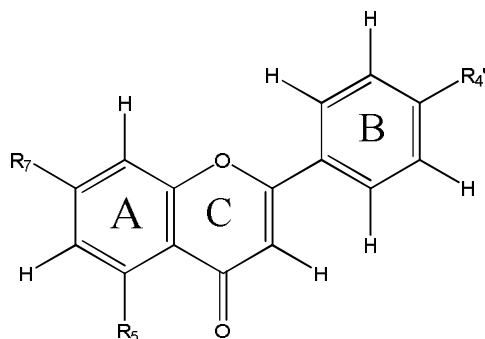
- بالإضافة إلى ذلك طيف الـ HMBC [طيف رقم: 3-6/2-6/1-6] يعطينا 3 إشارات لكاربونات رباعية حسب طيف الـ Dept-135 [طيف رقم: 4] والتي تظهر عند  $\delta=105.26\text{ ppm}$  و  $\delta=120.85\text{ ppm}$  و  $\delta=164.17\text{ ppm}$  تكون على علاقة بالبروتون الذي يظهر عند  $\delta=6.83\text{ppm}$  وهذه المعلومات تقودنا لإقتراح الحلقة C.



- إشارة البروتونين للحلقة ثنائية الإستبدال في الموقع بارا التي تظهر عند  $\delta=7.94\text{ ppm}$  تكون على علاقة مع الكربون الحلقة الغيرمتجانسة والذي يظهر عند  $\delta=164.17\text{ ppm}$  وكذلك إشارة البروتونين التي تظهر عند  $\delta=6.92\text{ ppm}$  تكون على علاقة مع الكربون الذي يظهر عند  $\delta=120.85\text{ ppm}$  ونستنتج أن الإشارة الثنائية التي تظهر عند  $\delta=7.94\text{ ppm}$  تسند إلى H-2' و H-6' والبروتونين H-3' و H-5' توافق الإشارة التي تظهر عند  $\delta=6.92\text{ppm}$  مما يقودنا لإقتراح النواة البنزينية B لهيكل الفلافونيدات ، وهذه الإشارات لطيف HMBC [طيف رقم: 6/1-6-3] تؤكد الإسنادات السابقة .



مجموع هذه المعطيات تقودنا إلى البنية الأولية للجزء الأجليكوني للمركب S1 التالية :



- إن معطيات طيفي HMBC [طيف رقم: 6-1 إلى 3-6] و HMQC [طيف رقم: 3-7/2-7] تسمح بإسناد كل الكربونات للأجليكون فعلى سبيل المثال الإزاحة الكيميائية للبروتونين H-6 ( $\delta=6.47$  ppm) و H-8 ( $\delta=6.82$  ppm) يقودنا لإستنتاج الإزاحة الكيميائية للكربون C-7 ( $\delta=162.58$  ppm) والكربون C-10 ( $\delta=105.26$  ppm)

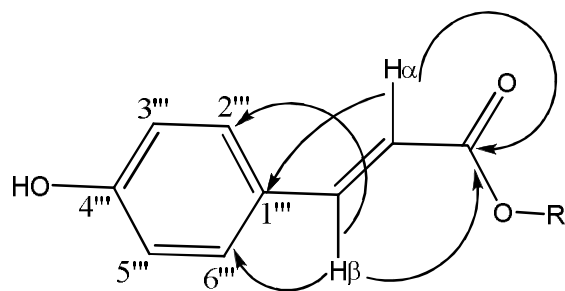
- الإشارة التي تظهر عند  $\delta=12.97$  ppm لطيف البروتون تدل على وجود مجموعة هيدروكسيل في الموقع 5 للحلقة A .

- طيف الكربون يبين لنا إشارة عند  $\delta=166.37$  ppm تقودنا للقول بوجود مجموعة كربوكسي تكون مترافقة مع رابطة ثنائية .

- طيف البروتون [طيف رقم: 2] يسمح لنا كذلك بملاحظة إشارتين ثنائيتين بتكامل 1H لكل واحدة، الأولى تظهر عند  $\delta=6.32$  ppm والثانية عند  $\delta=7.49$  ppm وبثابت تزاوج 15.9Hz وهي من نظام AX خاص بالرابطة الثنائية، وهي من الشكل مفروق " trans " .

- طيف الـ HMBC [طيف رقم: 3-6/1-6] يسمح لنا من جهة بربط كربون مجموعة الكربوكسي ببروتونين  $\alpha$  و  $\beta$  للرابطة الثنائية والذين يظهران عند  $\delta=6.32$  ppm و  $\delta=7.49$  ppm على التوالي، ومن جهة أخرى يبين تعالقات لنفس البروتونين بالكربونات التي تظهر عند  $\delta=124.78$  ppm و  $\delta=130$  ppm للحلقة البنزينية الثانية ثنائية الإستبدال في الموقع بارا حيث تسند القيمة الأولى لـ C-1''' و القيمة الثانية لـ C-2''' و C-6''' المتكافئتين، كما يبين طيف HMBC بقع تعالق بين H-2''' و H-6''' والكربون C4''' والذي يرن عند 159.68 .

مختلف التعالقات التي ذكرت توضح وجود مجموعة Coumaroyl .



- طيف الـ  $^1\text{H}-^1\text{H}$  Cosy [طيف رقم: 2-5] يسمح لنا بملاحظة مجموعة من الإشارات الكبيرة التي تتزاوج مع بعضها والتي تخص البروتونات المتجاورة تبين تزاوج من نوع محوري- محوري وبالتالي نستنتج أن طبيعة السكر هي جليكوز. إشارات الخاصة بالسكر مدونة في الجدول 1.

- طيف الـ HMBC [طيف رقم: 4-6] يسمح لنا من ناحية بتعيين الكربون الذي يربط الجليكوز بمجموعة الـ Coumaroyl ومن ناحية أخرى موقع إرتباطه بالكربون الأجليكوني .

بالفعل نجد بقعة تعالق بين البرتون الأنوميري الذي يرن عند  $\delta=5.16\text{ppm}$  والكربون الذي يرن عند  $\delta=162.58\text{ppm}$  الموافق للكربون C-7 كما هو موضح سابقا .

- كما نلاحظ بقعتي تعالق لبروتني الكربون C-6'' للجليكوز والذين يرنان عند  $\delta=4.16\text{ppm}$  على شكل ثنائي-ثنائي ( $J=11.9\text{Hz}$  ;  $7.2\text{Hz}$ ) وعند  $\delta=4.47\text{ppm}$  على شكل ثنائي عريض ( $J=11.9\text{Hz}$ ) مع كربون الكربونيل للـ Coumaroyl .

- إن إرتباط الـ Coumaroyl بالجليكوز يدل على أن الكربون C-4' للأجليكون مستبدل بمجموعة هيدروكسيل.

والجدول 1 و الجدول-2 يلخصان كل المعطيات السابقة :

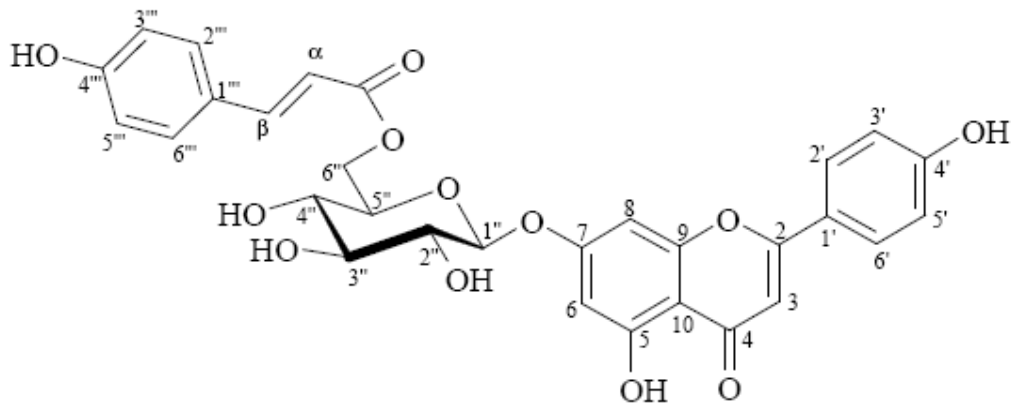
**جدول (1) : معطيات أطياف  $^1\text{H}$  RMN ، HMBC ، HMQC للمركب S1**

البرتون	d (ppm)	الكربون الذي يرتبط به البرتون (ppm)	ذرات الكربون المجاورة ( 2 إلى 3 روابط )
OH-5	<b>12.97</b>	<b>161.02</b> (C5)	<b>105.26(C10) ; 99.34(C6)</b>
H-2' , H-6'	<b>7.94</b> (d) 8.7Hz	128.45 (C2'-C6')	<b>164.17(C2) ; 161.28(C4') ; 128.45(C2'-C6')</b>
H $\beta$	<b>7.49</b> (d) 15.9Hz	<b>144.85</b> (C $\beta$ )	<b>166.37(C=O) ; 124.78(C1''') ; 130(C2'''-C6''') ; 113.61(C<math>\alpha</math>)</b>
H-2''', H-6'''	<b>7.36</b> (d) 8.5Hz	<b>130.00</b> (C2'''-C6''')	<b>159.68(C4''') ; 144.85(C<math>\beta</math>)</b>
H-3' , H-5'	<b>6.92</b> (d) 8.7Hz	<b>115.90</b> (C3'-C5')	<b>161.28(C4') ; 120.86(C1') ; 115.90(C3'-C5')</b>
H-3	<b>6.83</b> (s)	<b>102.30</b> (C3)	<b>181.88(C4) ; 164.17(C2) ; 105.26(C10) ; 120.86(C1')</b>
H-8	<b>6.82</b> (d) 1.8Hz	<b>94.60</b> (C8)	<b>162.58(C7) ; 156.80(C9) ; 99.34(C6) ; 105.26(C10)</b>
H-3''', H-5'''	<b>6.67</b> (d) 8.5Hz	<b>115.57</b> (C3'''-C5''')	<b>115.57(C3'''-C5''') ; 159.68(4''') ; 124.78(1''')</b>
H-6	<b>6.47</b> (d) 1.8Hz	<b>99.34</b> (C6)	<b>162.58(C7) ; 161.02(C5) ; 105.26(C10) ; 94.60(C8)</b>
$\alpha$	<b>6.33</b> (d) 15.9 Hz	<b>113.61</b> (C $\alpha$ )	<b>166.37(C=O) ; 124.78(C1''')</b>
H-1''	<b>5.17</b> (d) 6.9 Hz	<b>99.37</b> (C1'')	<b>162.58(C7)</b>
H-6''	H-6'' <sub>a</sub> ( $\delta=4.16$ ) dd : 11.9Hz 7.2Hz	<b>63.33</b> (C6'')	<b>166.37(C=O)</b>
	H-6'' <sub>b</sub> ( $\delta=4.47$ ) d : 11.6 Hz		

جدول (2) : معطيات أطياف  $^1\text{H}$ ,  $\text{RMN}$   $^{13}\text{C}$  للمركب S1

	المركب	
	S1	
	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
<b>apigénine</b>	$\delta$ (ppm)	
2	-	<b>164.17</b>
3	<b>6.83</b> (s)	<b>102.90</b>
4	-	<b>181.88</b>
5	<b>12.97</b>	<b>161.02</b>
6	<b>6.47</b> (d, $J=1.8\text{Hz}$ )	<b>99.34</b>
7	-	<b>162.58</b>
8	<b>6.82</b> (d, $J=1.8\text{Hz}$ )	<b>94.60</b>
9	-	<b>156.80</b>
10	-	<b>105.26</b>
1'	-	<b>120.86</b>
2'-6'	<b>7.94</b> (d, $J=8.7\text{Hz}$ )	<b>128.45</b>
3'-5'	<b>6.92</b> (d, $J=8.7\text{Hz}$ )	<b>115.90</b>
4'	-	<b>161.28</b>
<b>glucose</b>		
1"	<b>5.17</b> (d, $J=6.9\text{Hz}$ )	<b>99.37</b>
2"	3.35m	<b>72.84</b>
3"	3.33m	<b>76.11</b>
4"	3.26m	<b>69.87</b>
5"	3.84m	<b>73.70</b>
6"	<b>a : 4.16</b> (dd, $J=11.9-7.2\text{ Hz}$ ) <b>b : 4.47</b> (d, $J=11.6\text{Hz}$ )	<b>63.33</b>
<b>coumaroyl</b>		
$\alpha$	<b>6.32</b> (d, $J=15.9\text{Hz}$ )	<b>113.61</b>
$\beta$	<b>7.49</b> (d, $J=15.9\text{Hz}$ )	<b>144.85</b>
1'''	-	<b>124.78</b>
2'''-6'''	<b>7.36</b> (d, $J=8.5\text{Hz}$ )	<b>130.00</b>
3'''-5'''	<b>6.67</b> (d, $J=8.5\text{Hz}$ )	<b>115.57</b>
4'''	-	<b>159.68</b>
<b>CO</b>	-	<b>166.37</b>

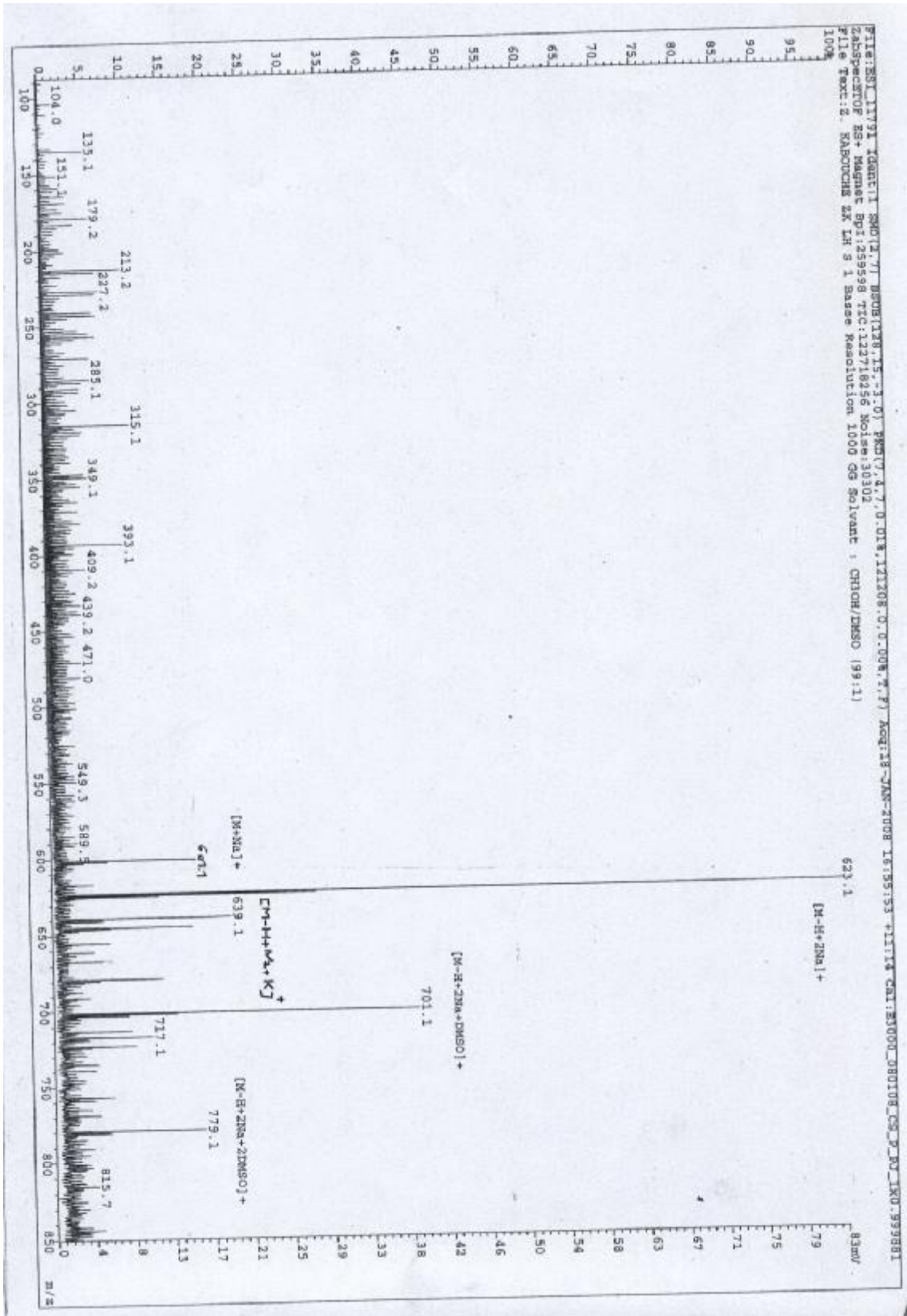
كل هذه المعطيات سمحت باستنتاج بنية المركب على كونها :



7-O- $\beta$ -D[-6''-E-p-Coumaroyl]-glucopyranoside apigénine

بنية المركب S1

طيف رقم-1: طيف الكتلة (SM : ES) للمركب S-1

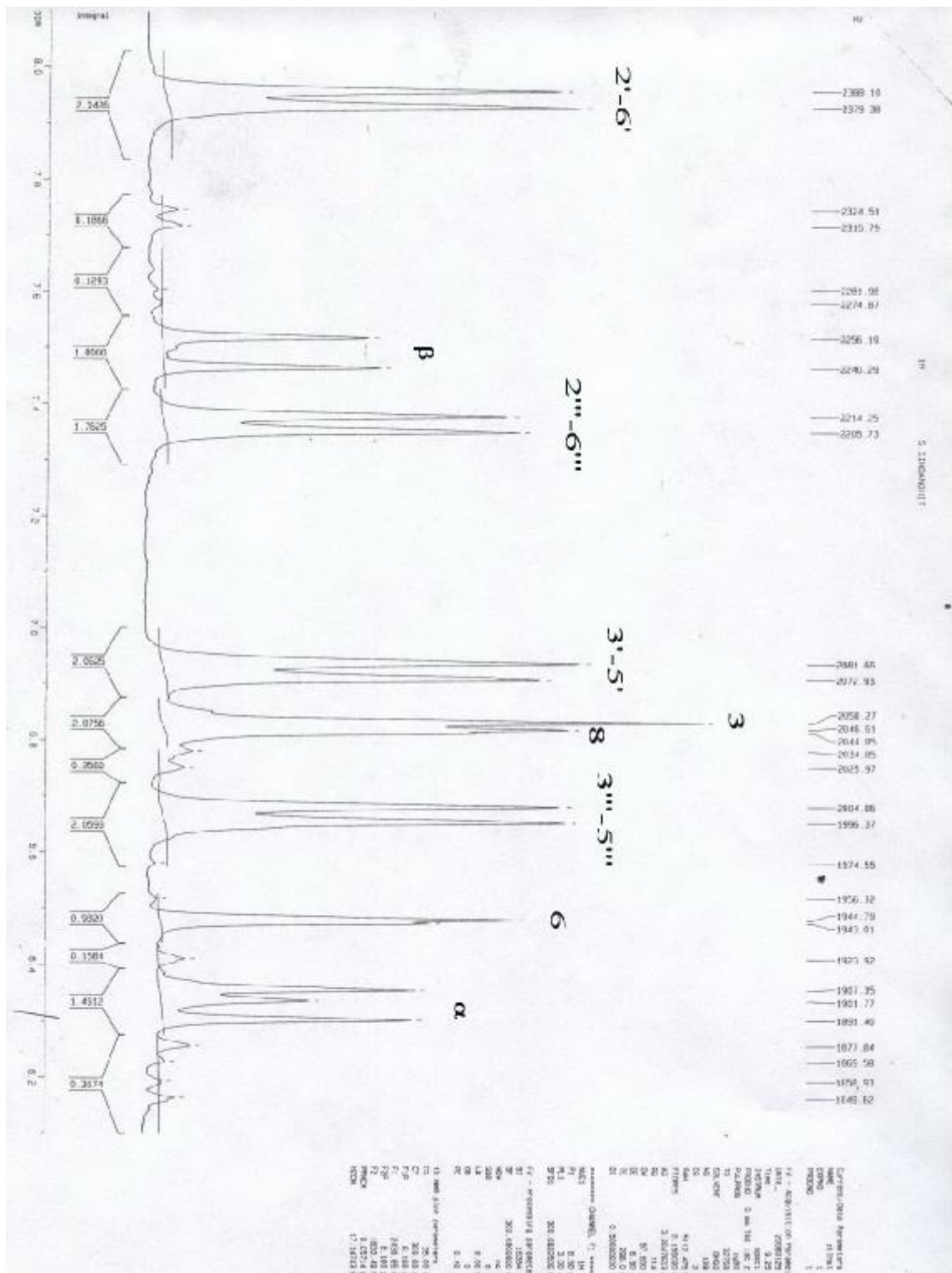








**طيف رقم-2: تكبير لطيف البروتون للمركب S-1  
 في المجال [ 8-6 ] ppm**



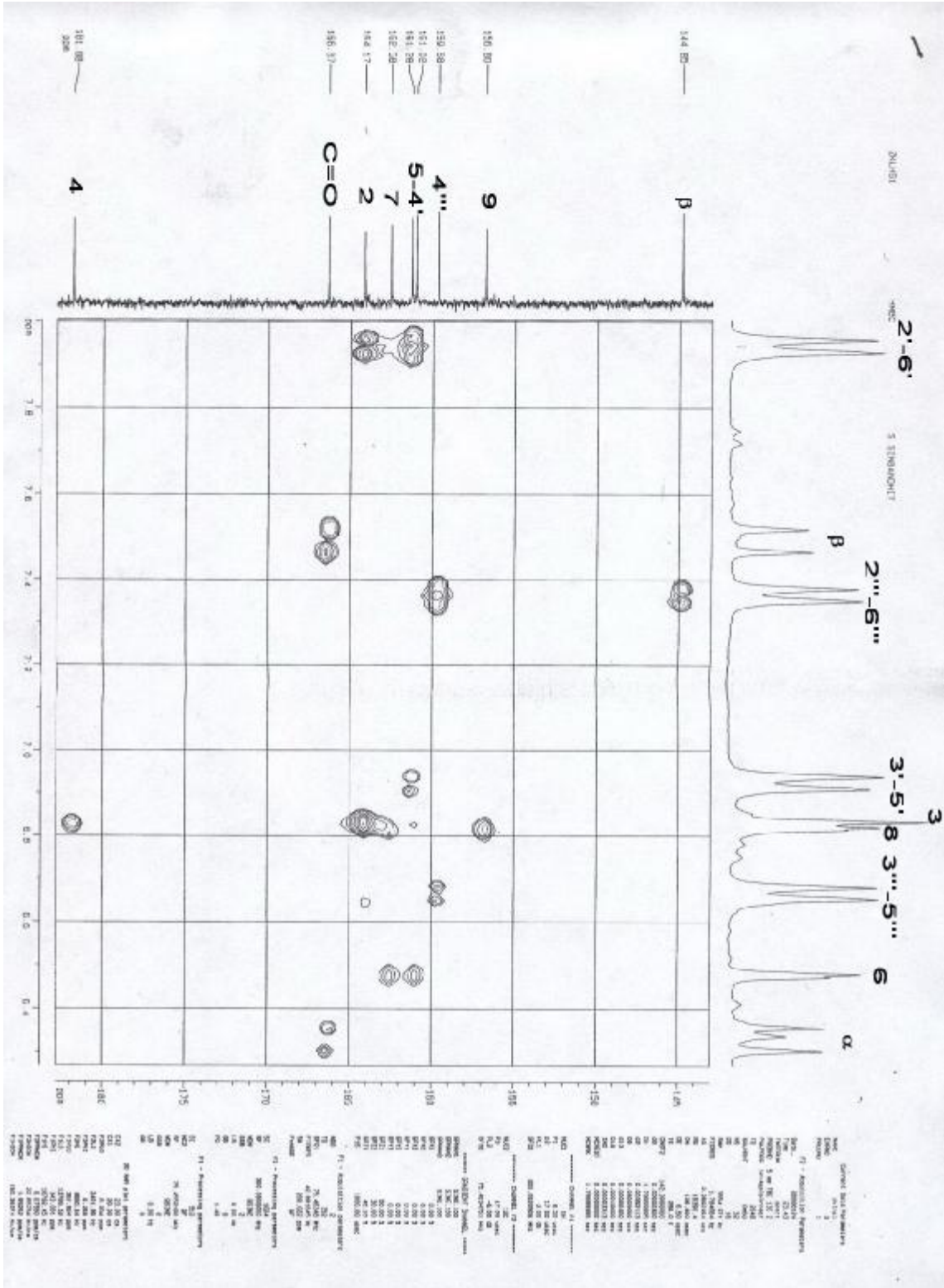




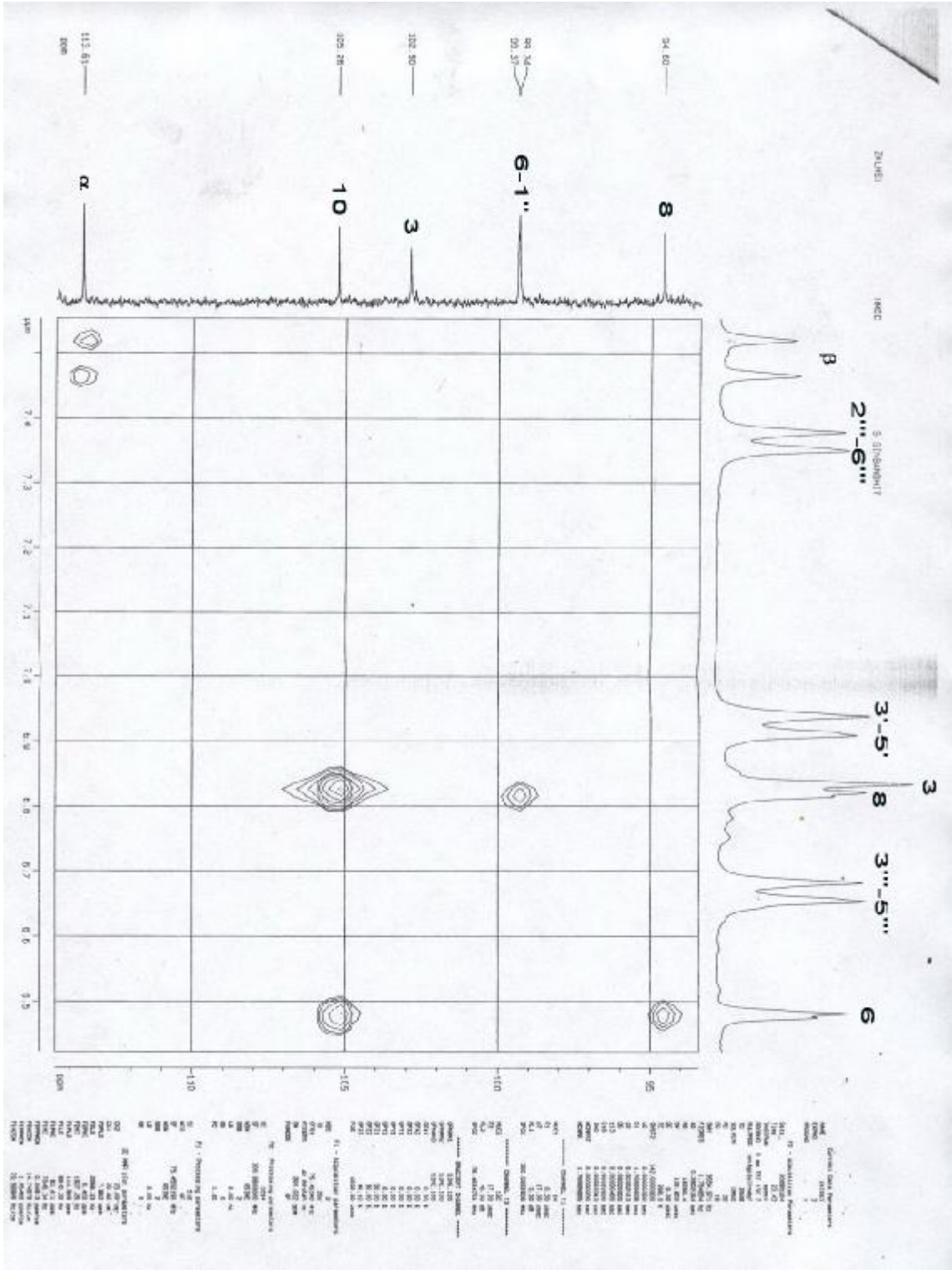




طيف رقم 6-1: طيف الـ HMBC للمركب S-1

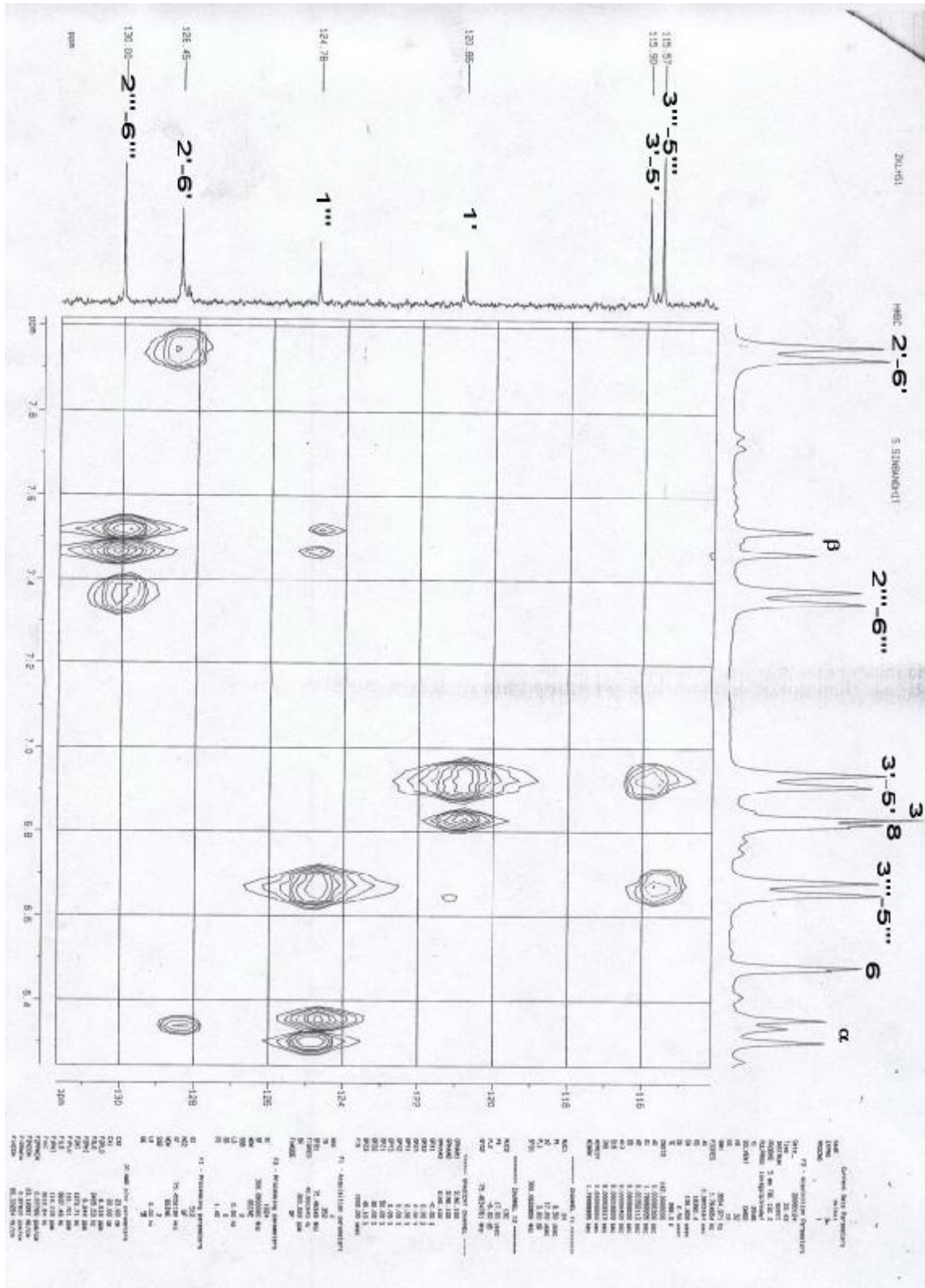


طيف رقم 6-2: طيف الـ HMBC للمركب S-1



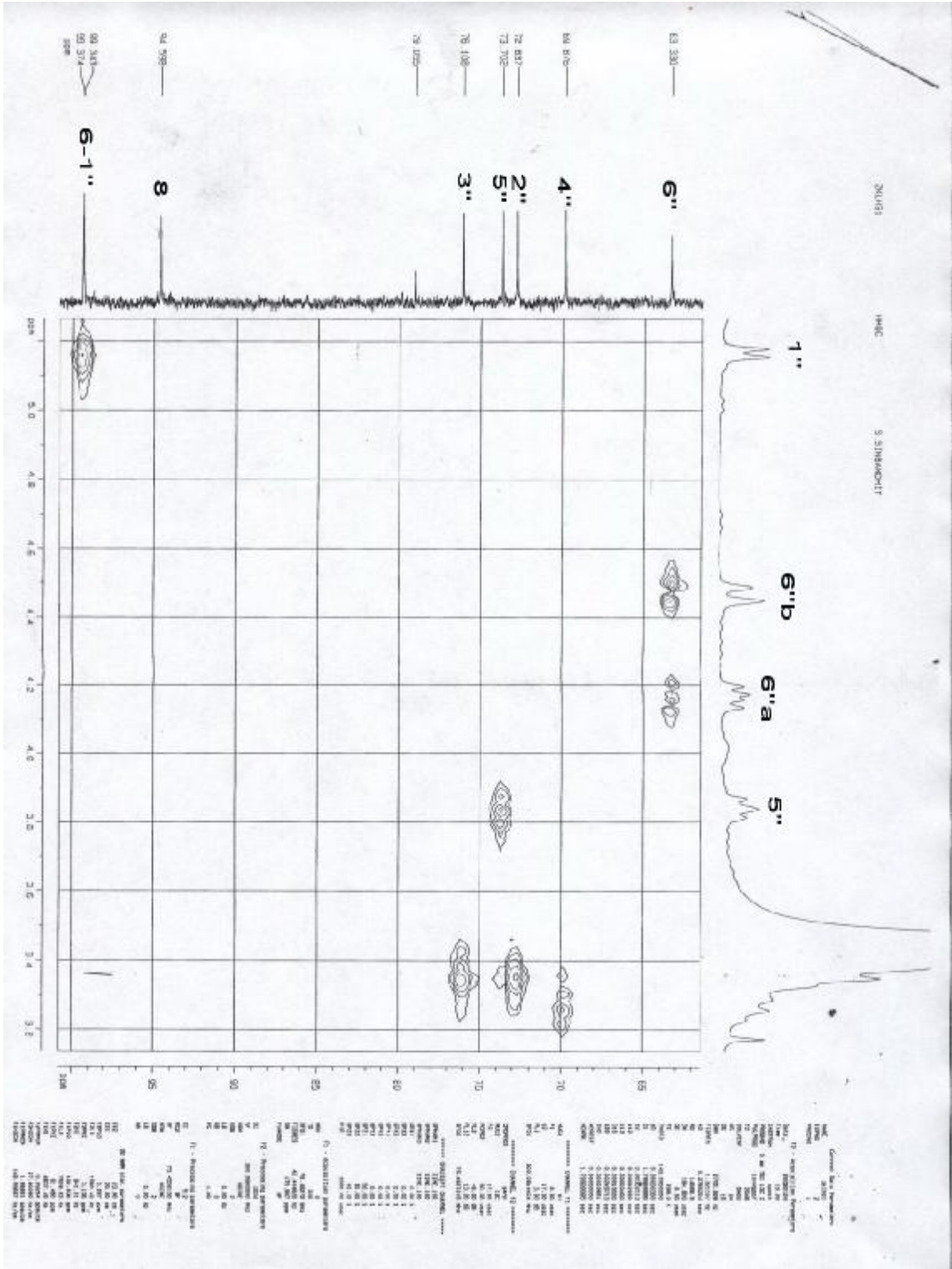


طيف رقم 3-6: طيف الـ HMBC للمركب S-1

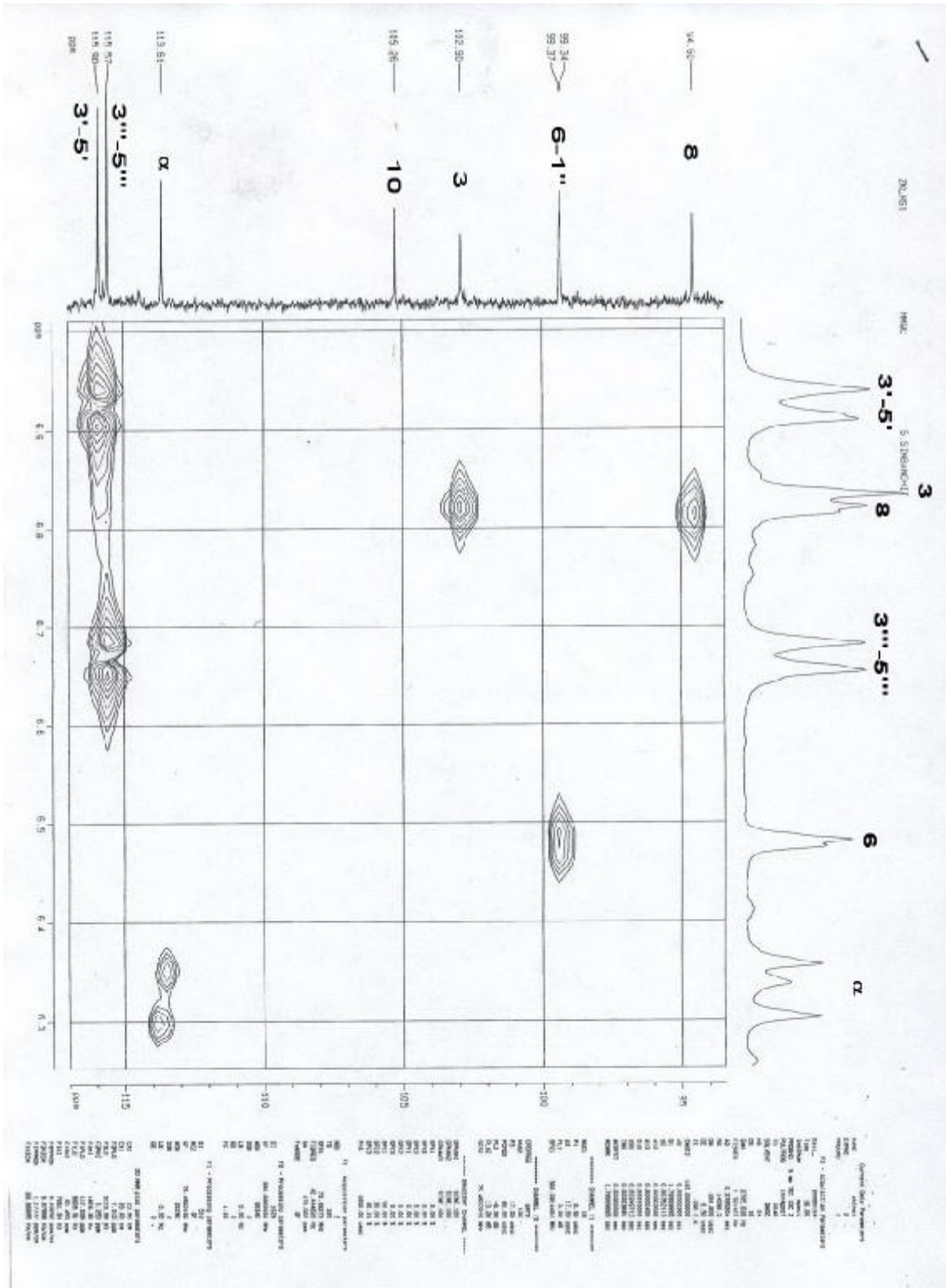




طيف رقم 7-1: طيف الـ HMQC للمركب S-1

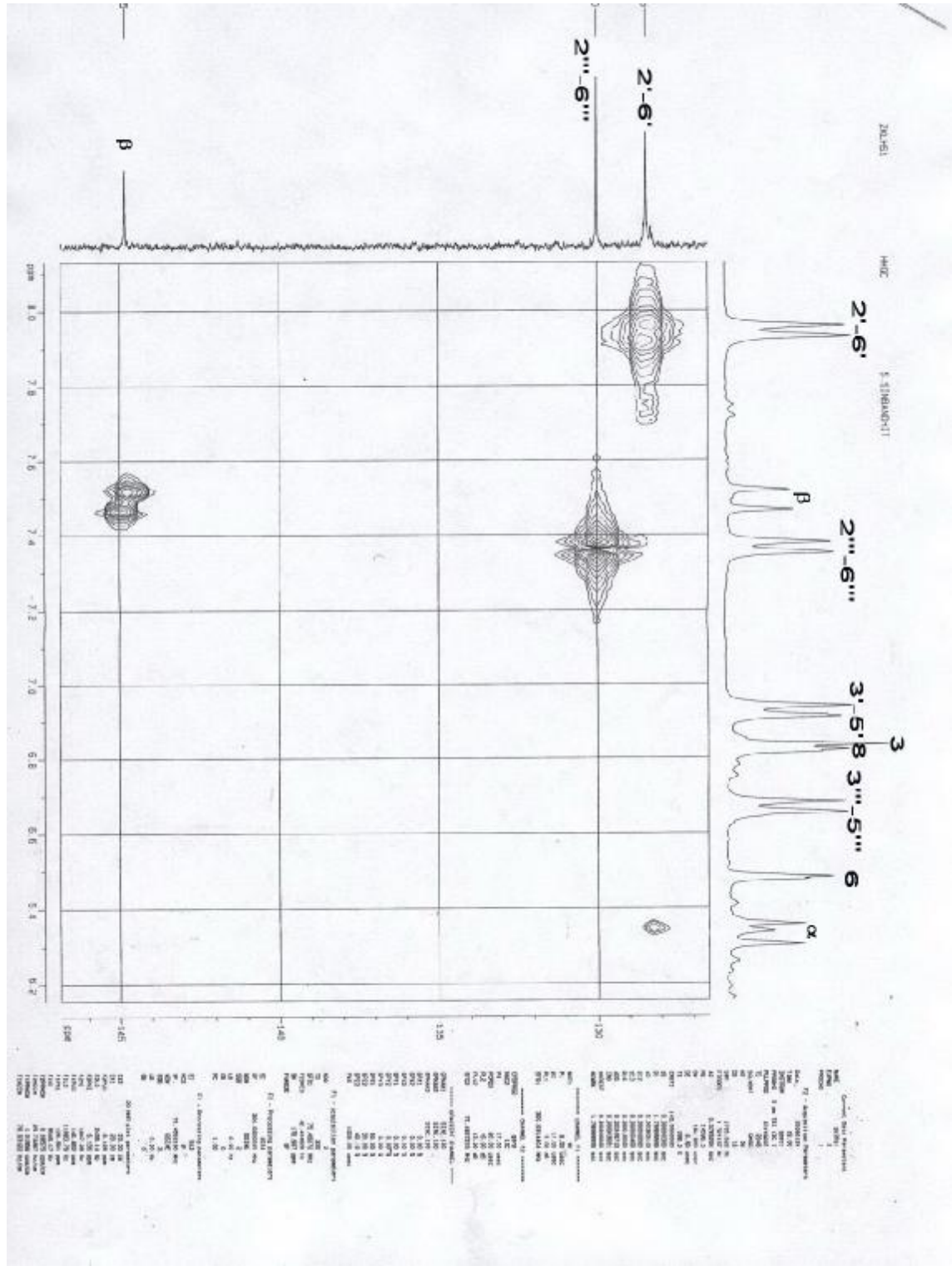


طيف رقم-7-2: طيف الـ HMQC للمركب S-1





طيف رقم-7-3: طيف الـ HMQC للمركب S-1



### 1- التحليل البنوي للمركب : F57-B

يقيم السلوك الكروماتوغرافي كما تلخص المعطيات الطيفية للمركب في الجدول (3) و(4):

الجدول (3) : السلوك الكروماتوغرافي

SII	SI	الجملة
0.05	0.65	R <sub>f</sub>
بنفسجي		اللون الإستشعاعي

SI : Toluène/MEC/MeOH (4 / 3 / 3 )

SII : H<sub>2</sub>O/MeOH/MEC/Acétyl acétone (13 / 3 / 3 / 1 )

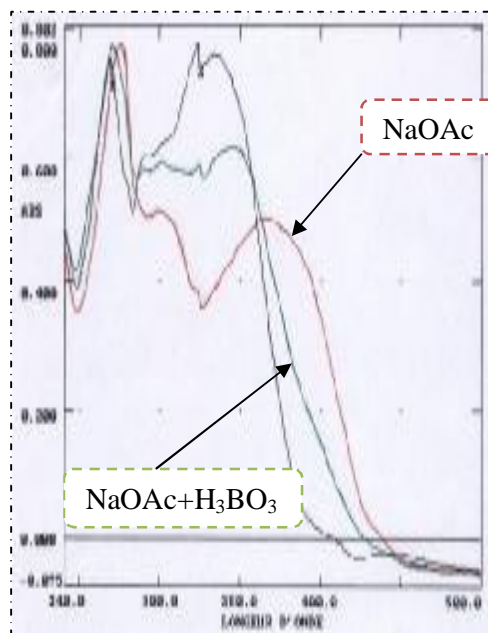
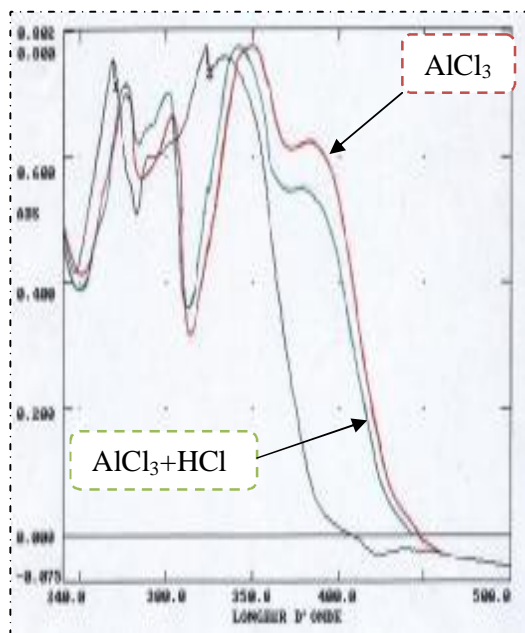
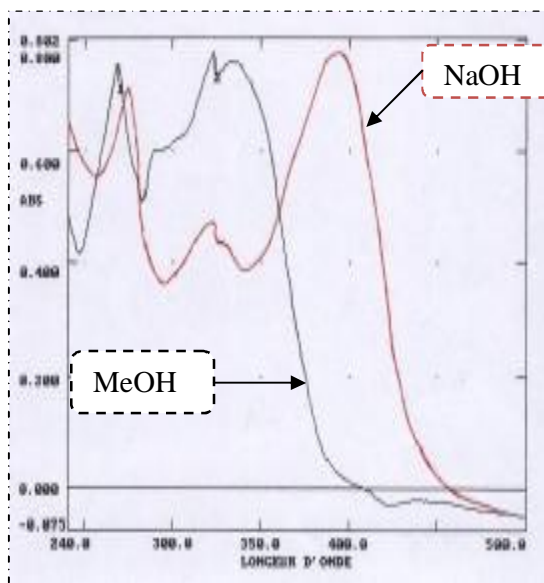
الجدول (4) : مطيافية الأشعة فوق بنفسجية - المرئية

الكواشف	العصابة I (nm)	العصابة II (nm)	قمم (nm)
MeOH	334	269	
NaOH	393	275	323
AlCl <sub>3</sub>	384	276	303-348
AlCl <sub>3</sub> +HCl	380	277	301-343
NaOAc	387	275	299
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	347	270	
NaOH بعد 5 دقائق : مستقر			

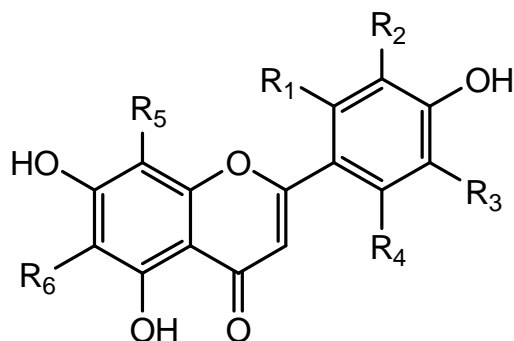
#### التعليل :

- يدل السلوك الكروماتوغرافي حسب قيم R<sub>f</sub> في الجدول أعلاه على كون المركب أجليكونا .
- اللون البنفسجي تحت الأشعة UV يدل على عدم وجود 3-OH ويتأكد ذلك من قيمة العصابة (I) في الميثانول (λ<sub>1</sub>= 334 nm) .
- الإزاحة الباثوكرومية المقدره ب Δλ<sub>1</sub>=+59 nm والمرتبة عن إضافة الكاشف NaOH مع زيادة في الشدة الضوئية دليل على وجود 4-OH ، كما أن ظهور قيمة جديدة في نفس الكاشف عند 323 nm يدل على وجود 7-OH .
- الإزاحة الهيبسوكرومية للعصابة (I) ب Δλ = 4 nm المترتبة عن مقارنة طيف AlCl<sub>3</sub> ب AlCl<sub>3</sub>+HCl دليل على عدم وجود نظام أرتو ثنائي هيدروكسيل في الحلقة B .
- أما الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) Δλ = +56 nm الناتجة عن المقارنة الطيفية لـ AlCl<sub>3</sub>+HCl ب MeOH فهي دليل على وجود 5-OH .

سلسلة أطراف UV للمركب F57-B في مختلف الكواشف



من هذه المعطيات يمكننا أن نعطي بنية أولية للمركب F57-B وهي كالتالي :



طيف الرنين النووي المغناطيسي يبين :

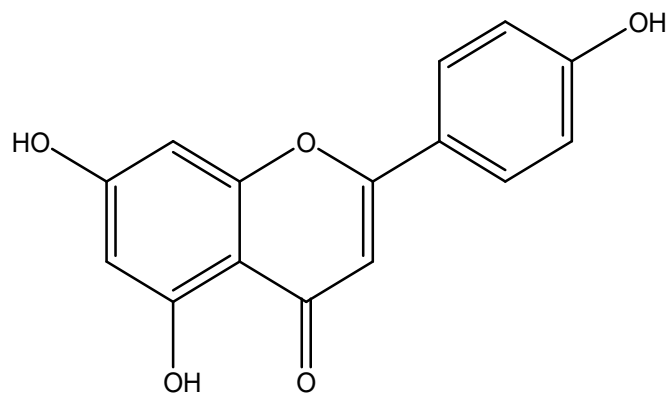
- وجود إشارتين ثنائيتين عند  $\delta=6.95$  ppm و  $\delta=7.87$  ppm بتكامل يساوي 2H لكل من الإشارتين وتدل قيمة J المقدره ب 8.8 Hz على أن التزاوج بين البروتونين من نوع أورتو وبالتالي تنسب الإشارة الثنائية الأولى للبروتونين  $H_5'$  ,  $H_3'$  والإشارة الثنائية الثانية للبروتونين  $H_2'$ ,  $H_6'$  .
- إشارة أحادية عند  $\delta=6.6$  ppm تنسب إلى البروتون  $H_3$  .
- إشارتين ثنائيتين بتكامل 1H لكل منهما حيث تظهر الأولى عند  $\delta=6.20$  ppm والثانية عند  $\delta=6.44$  ppm بحيث ثابت التزاوج يساوي  $J = 2Hz$  يشير إلى تزاوج من نوع ميتا وتنسب الإشارتين على التوالي إلى  $H_6$  و  $H_8$  .

مطابقة الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ( $^1H$ -RMN)

البروتون الموافق	J(Hz)	التعددية	التكامل	الإزاحة $\delta$ (ppm)
H6	2	d	1H	6.20
H8	2	d	1H	6.44
H3	-	s	1H	6.6
H3', H5'	8.8	d	2H	6.95
H6', H2'	8.8	d	2H	7.87

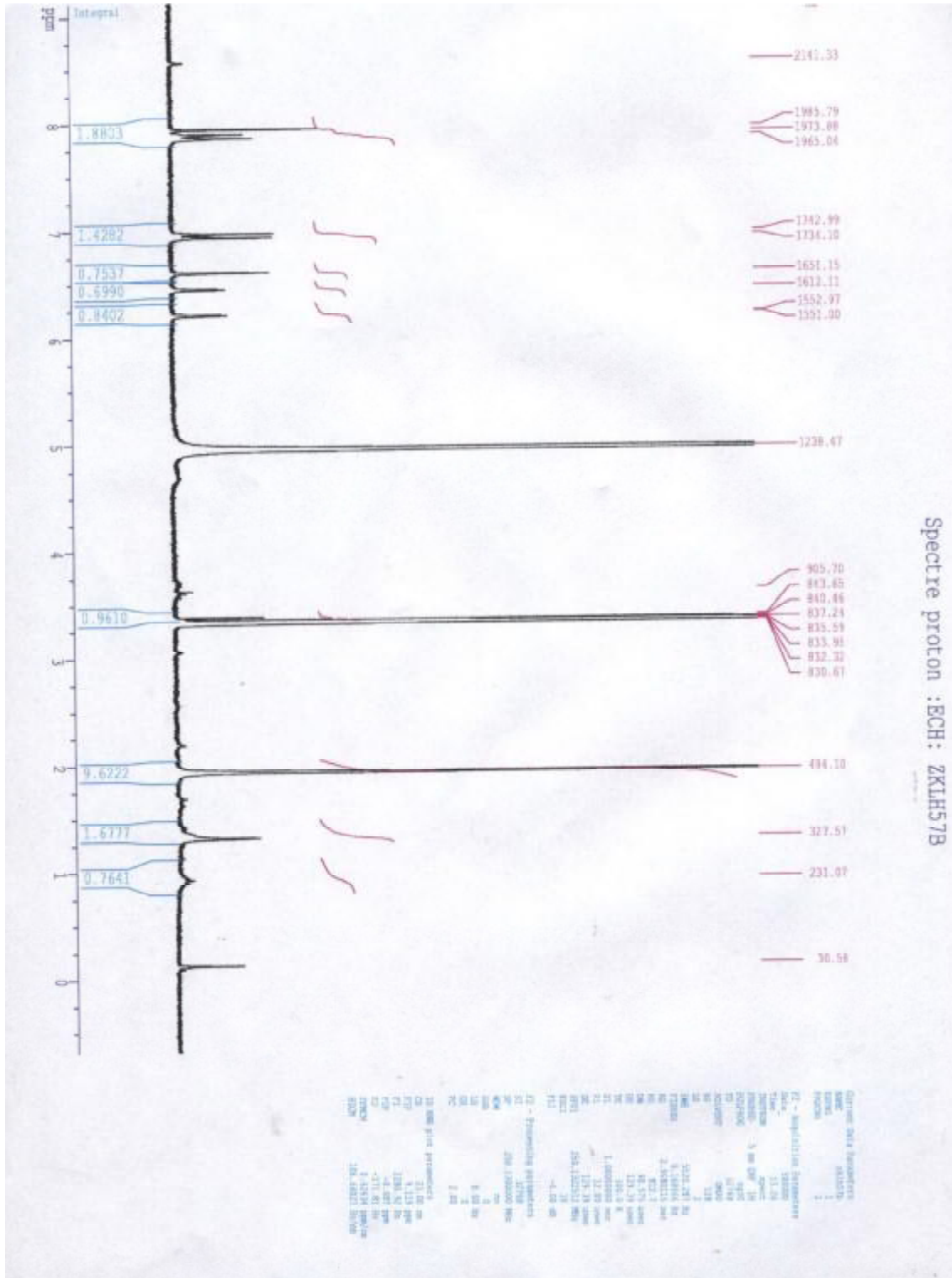


من كل هذه المعطيات يمكن إعطاء صيغة نهائية للمركب F57-B وهي :

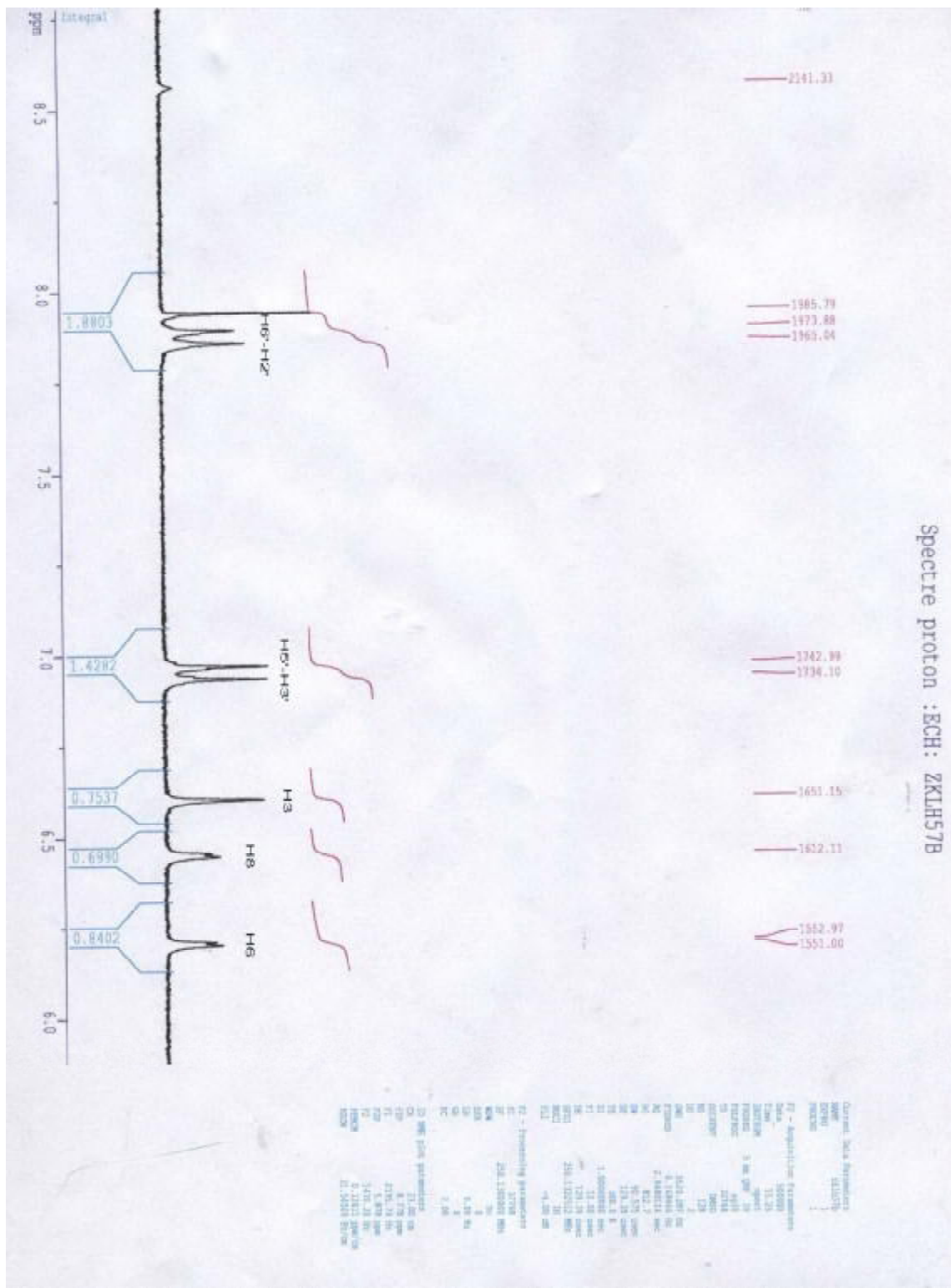


**4', 5, 7-trihydroxyflavone (apigénine)**

طيف رقم 1-8 :  $^1\text{H}$  RMN للمركب F57-B (250 MHz ,DMSO)



طيف رقم 8-2 : تكبير طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب F57-B  
(250 MHz ,DMSO)



## 2- التحليل البنوي للمركب F70-2 :

التحليل البنوي للمركب F70-2 يقيم السلوك الكروماتوغرافي كما تلخص المعطيات الطيفية للمركب في الجداول 6 و 7

الجدول 6: السلوك الكروماتوغرافي

الجملة	SI	SII
R <sub>f</sub>	0.33	0.03
اللون الإستشعاعي	بنفسجي	

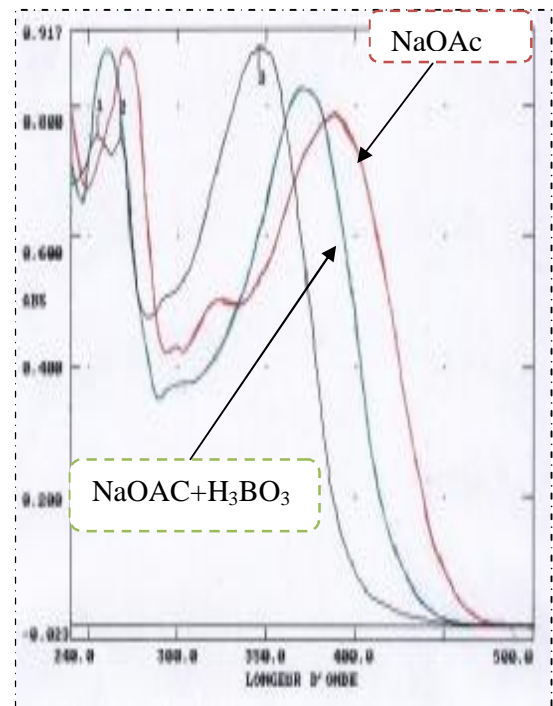
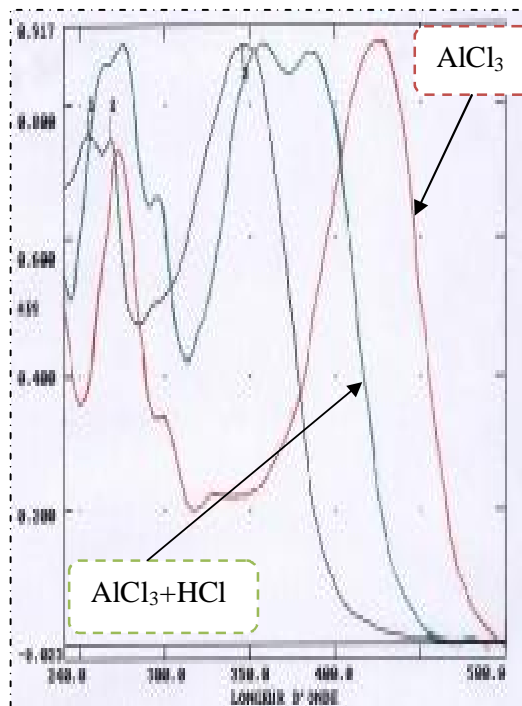
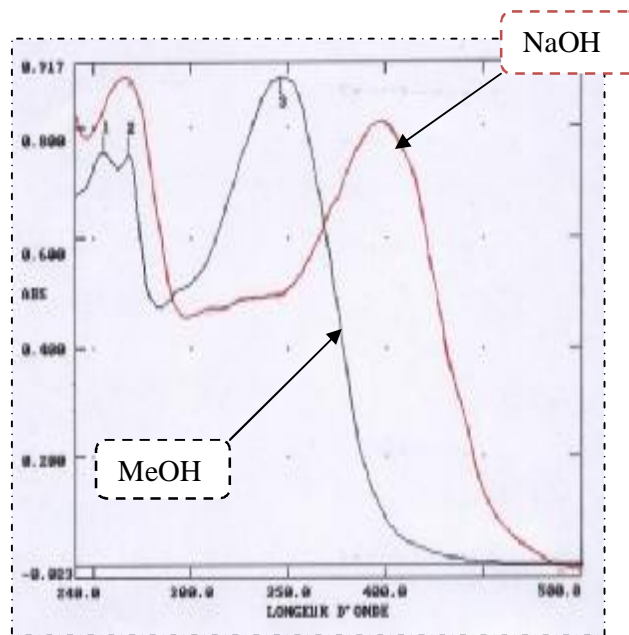
الجدول 7: مطابفة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية

الكواشف	العصابة I (nm)	العصابة II (nm)	قمم (nm)
MeOH	346	255	
NaOH	397	267	
AlCl <sub>3</sub>	425	273	300
AlCl <sub>3</sub> +HCl	386	275	296-357
NaOAc	388	271	
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	371	261	
NaOH بعد 5 دقائق : مستقر			

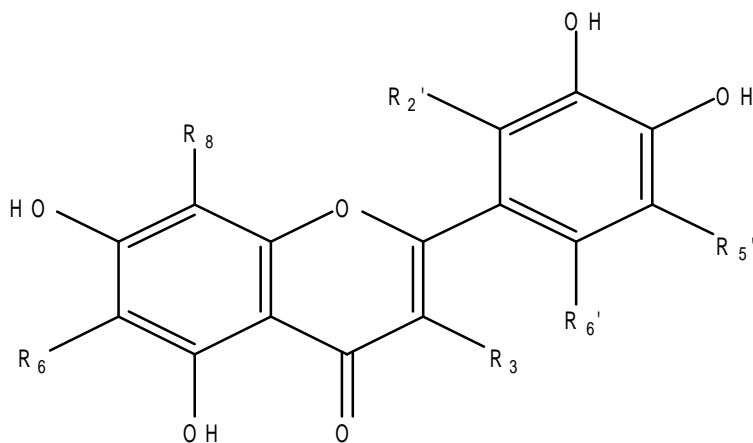
### التعليل :

- يدل السلوك الكروماتوغرافي على كون المركب أجليكونا .
- اللون البنفسجي تحت الأشعة UV ، قيمة العصابة (I) في الميثانول حيث  $\lambda_1 = 346 \text{ nm}$  يدلان على وجود 3-OR أو 3-H.
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I) المقدره ب  $\Delta\lambda_1 = +25 \text{ nm}$  والمترتبة عن إضافة الكاشف NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> يدل على وجود نظام أرثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B ، وهذا ماتؤكد الإزاحة الهيبسوكرومية للعصابة (I) المقدره ب  $39 \text{ nm}$ - عند مقارنة الطيف المسجل في AlCl<sub>3</sub> لوحده وبعد إضافة HCl .
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (II) المقدره ب  $\Delta\lambda_1 = 16 \text{ nm}$  والمترتبة عن إضافة الكاشف NaOAc تدل على وجود 7-OH .
- أما الإزاحة الباثوكرومية للعصابة (I)  $\Delta\lambda = +40 \text{ nm}$  الناتجة عن المقارنة الطيفية ل AlCl<sub>3</sub>+HCl ب MeOH فهي دليل على وجود 5-OH .

سلسلة أطيف UV للمركب F70-2 في مختلف الكواشف



من هذه المعطيات يمكننا أن نعطي بنية أولية للمركب F70-2 وهي كالتالي :



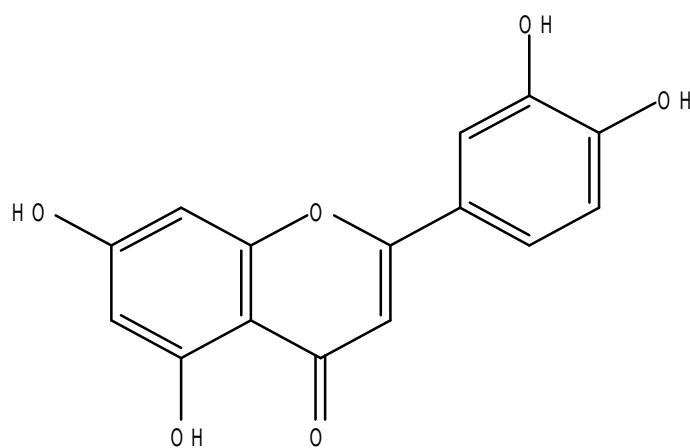
طيف البروتون يظهر 6 إشارات بتكامل 1H لكل إشارة وذلك في منطقة البروتونات العطرية المتواجدة في المجال 6ppm و 8 ppm حيث نلاحظ على الطيف البروتون :

- إشارتين ثنائيتين عند  $\delta=6.24$  ppm و  $\delta=6.50$  ppm بثابت تزاوج 1.9 Hz تشير إلى تزاوج من نوع ميتا حيث نسبت الإشارة الأولى إلى البروتون H<sub>6</sub> والثانية إلى البرتون H<sub>8</sub> .
- إشارة أحادية عند  $\delta=6.72$  ppm والتي نسبت إلى البروتون H<sub>3</sub> وهذا ما يؤكد اللون الإستشعاعي البنفسجي للمركب تحت مصباح الأشعة فوق بنفسجية .
- وجود نظام من نوع ABX والذي أعطانا إشارة ثنائية عند  $\delta=6.94$  ppm بثابت تزاوج 8.3Hz والتي نسبت إلى البروتون H<sub>5</sub> والإشارة الثنائية عند  $\delta=7.46$  ppm بثابت تزاوج 1.9 Hz والتي نسبت إلى البروتون H<sub>2</sub> و أخيرا الإشارة الثنائية-الثنائية عند  $\delta=7.48$  ppm بثابتي تزاوج 8.3 Hz و 1.9 Hz والتي نسبت إلى البروتون H<sub>6</sub> .

مطابقة الرنين النووي المغناطيسي للبروتون للمركب F70-2 (RMN-<sup>1</sup>H)

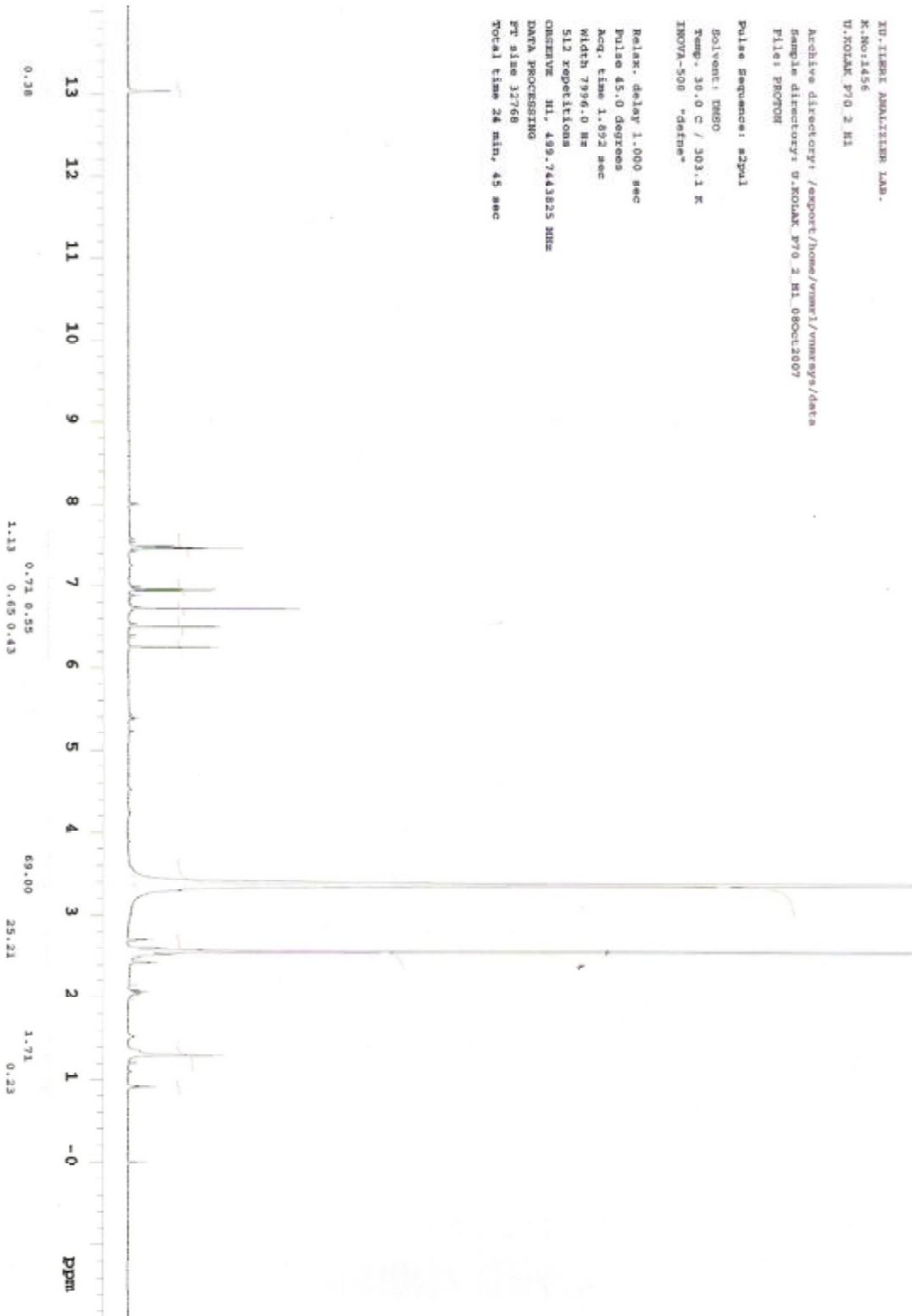
البروتون الموافق	J(Hz)	التعددية	التكامل	الإزاحة $\delta$ (ppm)
H6	1.9	d	1H	6.24
H8	1.9	d	1H	6.50
H3	-	s	1H	6.72
H5'	8.3	d	1H	6.94
H2'	1.9	d	1H	7.46
H6'	8.3, 1.9	dd	1H	7.48

من كل هذه المعطيات يمكن إعطاء صيغة نهائية للمركب F70-2 وهي :



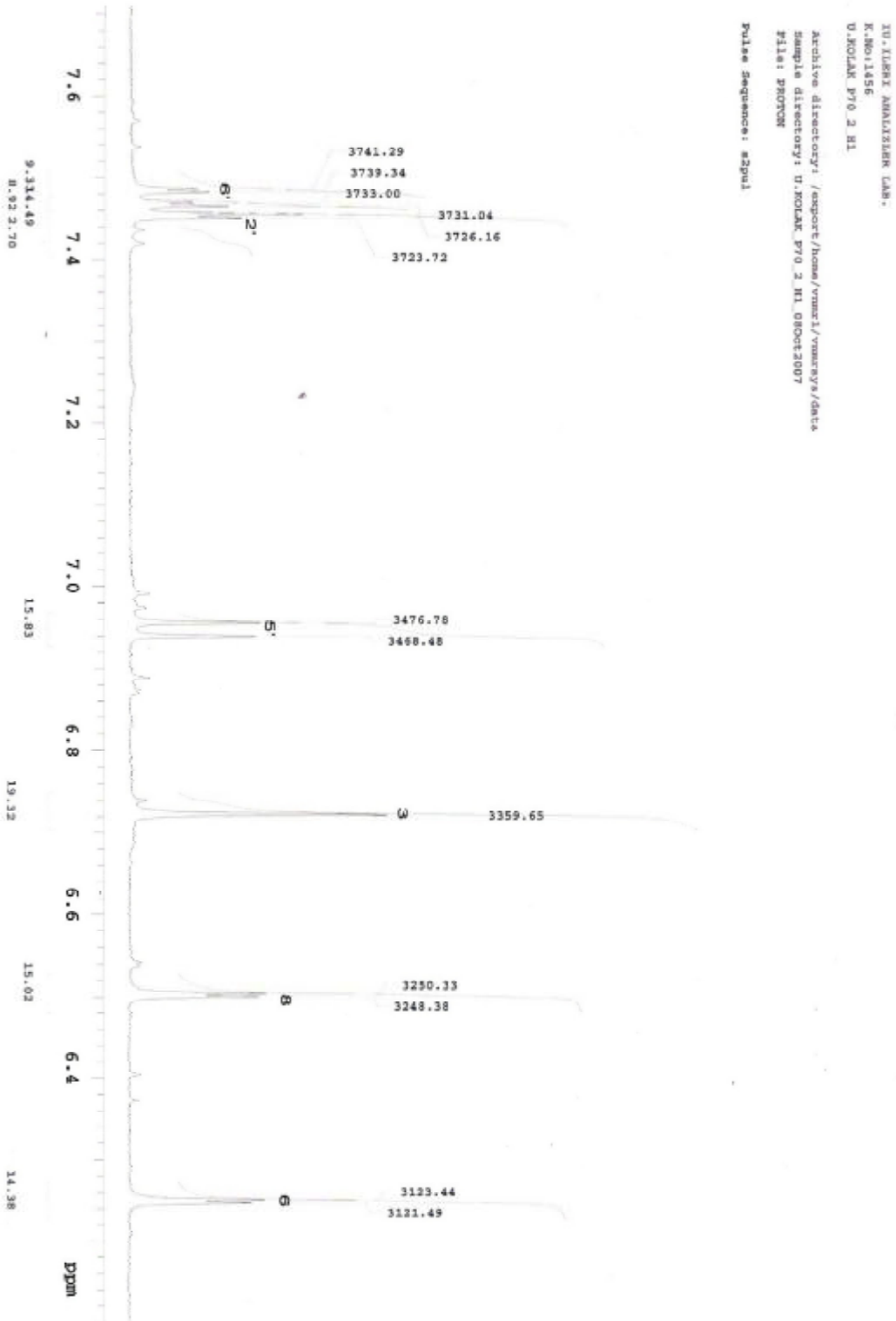
7,5,3',4'-tetrahydroxy flavone ( lutéoline )

طيف رقم 1-9 :  $^1\text{H}$  RMN للمركب F70-2  
(500 MHz ,DMSO)





طيف رقم 2-9 : تكبير  $^1\text{H}$  RMN للمركب F70-2  
(250 MHz ,DMSO)



#### 4- التحليل البنوي للمركب S-75

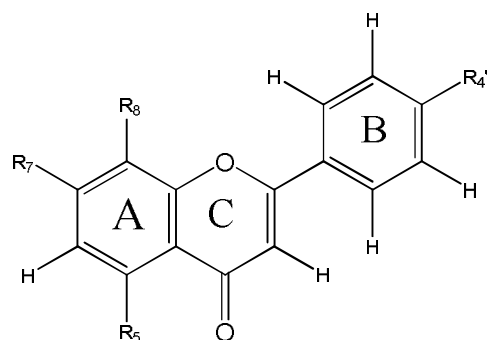
طيف الكتلة بتقنية الإلكتروسبراي الموجبة [طيف:رقم10] تظهر لنا إشارة عند  $m/z=633.1$  للأيون الجزيئي  $[M+Na]^+$  وإشارة أخرى عند  $m/z=655.1$  للأيون الجزيئي  $[M- H+2Na]^+$  وبالتالي فإن الكتلة الجزيئية هي  $M=610$  الموافقة للصيغة المجملية  $C_{27}H_{30}O_{16}$

- طيف  $^1H$  RMN [طيف:رقم11] وطيف الـ  $^1H-^1H$  Cosy [طيف:رقم14-1] يعطينا إشارتان ثنائيتان بتكامل 2H لكل واحدة ، الأولى عند  $\delta=6.96$  ppm والثانية عند  $\delta=7.99$  ppm بثابت تزواج يساوي 8.8 Hz ، يدل على أن التزاوج من نوع أرتو للنوات البنزينية ثنائية الاستبدال في الموقع بارا

- إشارة أحادية عند  $\delta=6.85$  ppm توافق البروتون المرتبط بذرة الكربون الذي يظهر عند  $\delta=102.58$  ppm وذلك بملاحظة طيف الـ HMQC [طيف:رقم15-1].بالإضافة إلى ذلك حسب طيف الـ HMBC [طيف:رقم16-1] يكون البروتون على إتصال بمجموعة الكربونيل والتي تظهر عند  $\delta=182.3$  وهذا يقودنا إلى إسناد الإشارة إلى البروتون المحمول على ذرة الكربون C-3 للهيكل الفلافونيدي .

- إشارة أحادية عند  $\delta=12.04$  ppm الخاصة بالبروتون الهيدروكسيلي في الموقع C-5 والذي يشكل رابطة هيدروجينية مع مجموعة الكربونيل C-4 و يتصل بثلاث ذرات كربون التي تظهر عند  $\delta=152.35$  ppm ،  $\delta=105.11$  ppm ،  $\delta=98.65$  ppm وذلك حسب طيف الـ HMBC [طيف:رقم16-3].

إن الإشارة التي تظهر عند  $\delta=152.35$  ppm توافق كربون مرتبط بذرة أكسجين تكون حتما ذرة كربون C-5 ، والإشارة التي تظهر عند  $\delta=105.11$  ppm حتما يكون كربون رباعي لأنه لا يظهر في طيف الـ Dept-135 [طيف:رقم13] والذي أسند إلى ذرة الكربون C-10 ، والإشارة المتبقية و التي تظهر عند  $\delta=98.65$  ppm تتعلق بالإشارة التي تظهر عند  $\delta=6.65$  ppm حسب طيف الـ HMQC [طيف:رقم15-1].وهذه الأخيرة تظهر بوضوح على شكل إشارة أحادية في طيف  $^1H$  RMN وتسندها إلى البروتون H-6 ، ونستنتج من هذا أن الحلقة A للفلافونيد مستبدلة في خمسة مواقع وبالتالي يمكن إقتراح صيغة أولية للمركب S-75 وهي :



الذرات المتبقية للبروتون والكربون للأجليكون يمكن توزيعها بالإستعانة بمعطيات الطيفية لتجربة الـHMQC [طيف:رقم15] وHMBC [طيف:رقم16] ، والجدول 8- يوضح ذلك :

**جدول 8: تعالقات الـHMBC والـHMQC للمركب S75**

البروتون	<sup>1</sup> H d (ppm)	الكربون الذي يرتبط به البروتون HMQC d (ppm)	الكربون الذي يجاوره HMBC d (ppm)
5-OH	12.04 (s)	-	152.35 (C5) ; 105.11 (C10) ; 98.65 (C6)
4'-OH	10.42 (s)	-	115.91 (C3'-C5') ; 161.24 (C4')
8-OH	8.35 (s)	-	151.13 (C7) ; 144.24 (C9) ; 127.02 (C8)
H-2'. H-6'	7.99 (d , J= 8.8Hz)	128.56	163.98 (C2) ; 161.24 (C4')
H-3'. H-5'	6.96 (d , J= 8.8Hz)	115.91	161.24 (C4') ; 121.17 (C1')
H-3	6.85 (s)	102.58	182.3 (C=O) ; 163.98 (C2) ; 121.17 (C1') ; 105.11 (C10)
H-6	6.65 (s)	98.63	152.35 (C5) ; 151.13 (C7) ; 127.02 (C8) ; 105.11 (C10)

- طيف  $^1\text{H}$  RMN يسمح لنا بملاحظة إشارة ثنائية الأولى عند  $\delta=5.11$  ppm بثابت تزاوج  $J=7.5\text{Hz}$  والإشارة الثانية عند  $\delta=4.91$  ppm بثابت تزاوج  $J=8$  Hz وتوافق كل منها بروتونا واحدا والليذان يرتبطان بذرتي الكربون على التوالي عند  $\delta=99.46$  ppm وذلك بملاحظة طيف الـ HMQC [طيف:رقم1-15] وهذه القيم تدل على أنهما يمثلان البروتونان الأنومريان وبالتالي فإن المركب يحتوي على سكرين. وما يؤكد ذلك وجود إشارات في المجال بين  $3.87-3.21$  ppm لطيف  $^1\text{H}$  RMN وكذلك الإشارتين اللتان تظهران عند  $\delta=60.44$  ppm و  $\delta=60.9$  ppm الموافقة للكربونات الثنائية  $\text{CH}_2\text{OH}$  وذلك بملاحظة طيف الـ Dept-135 [طيف:رقم13].

بالإستعانة بطيف الـ  $^1\text{H}-^1\text{H}$  Cosy [طيف:رقم2-14] يمكننا من ربط البروتون  $^1\text{H}$  الذي يظهر عند  $\delta=5.11$  ppm بستة بروتونات أخرى والخاصة بالسكر سداسي الأول. وبقع التعالقات الكبيرة تترجم القيم الكبيرة لثابت التزاوج وتدل بأن البروتونات السكرية تكون محورية وبالتالي فإن السكر هو الجليكوز بتشكيل من نوع  $\beta$  بثابت تزاوج يقدر ب  $J=7.5$  Hz. البروتون الأنوميري الثاني  $^1\text{H}$  الذي يظهر عند  $\delta=4.91$  ppm يمكننا من ربط 6 بروتونات أخرى والتي تخص السكر السداسي الثاني. وهذا بالإستعانة بطيف الـ  $^1\text{H}$  Cosy.

والجدول-9 يوضح الإزاحات الكيميائية للمركب S-75 للبروتون والكربون. أما بقع التعالقات الصغيرة بين البروتونين  $^1\text{H}-2$  و  $^1\text{H}-3$  وبين البروتونين  $^1\text{H}-3$  و  $^1\text{H}-3$  و  $^1\text{H}-4$  فتترجم قيم صغيرة لثوابت التزاوج وبالتالي تدل على إتجاه إستوائي للبروتون  $^1\text{H}-3$  ومنه نستنتج أن السكر عبارة عن ألوز (Allose) بتشكيل من نوع  $\beta$  لأن ثابت التزاوج للبروتون الأنوميري يقدر ب  $J=8\text{Hz}$ .

يبقى تعيين مواقع إرتباط السكر بالأجليكون وفيما بينهما ويتم ذلك بالإعتماد على طيف الـ HMBC [طيف:رقم1-16] والذي يظهر بقعة تعالق بين الكربون الذي يظهر عند  $\delta=151.13$  ppm والمسند سابقا إلى الكربون C-7 والبروتون الأنوميري الذي يظهر عند  $\delta=5.11$  ppm وهذا يعني أن الجليكوز يرتبط بالكربون C-7 للأجليكون وتظهر أطياف  $^1\text{H}-^1\text{H}$  [طيف:رقم14-2/3-14] بالنسبة للجليكوز التعالقات الآتية بين :  
- البروتون  $^1\text{H}$  ( $\delta=5.11$  ppm) والبروتون  $^1\text{H}$  الذي يظهر عند  $\delta=3.63$  ppm.

- البروتون  $H-2''$  والبروتون  $H-3''$  الذي يظهر عند  $\delta=3.49$  ppm .
- البروتون  $H-3''$  والبروتون  $H-4''$  الذي يظهر عند  $\delta=3.36$  ppm .
- البروتون  $H-4''$  والبروتون  $H-5''$  الذي يظهر عند  $\delta=3.51$  ppm .
- البروتون  $H-5''$  والبروتونين  $H-6''a$  و  $H-6''b$  اللذان يظهران عند  $\delta=3.49$  ppm

و

$\delta=3.74$  ppm على التوالي .

ويظهر طيف  $^1H-^1H$  Cosy [طيف:رقم14-2] بالنسبة للألوز (Allose) التفاعلات التالية بين :

- البروتون  $H-1'''$  ( $\delta=4.91$  ppm) والبروتون  $H-2'''$  الذي يظهر عند  $\delta=3.21$  ppm .
- البروتون  $H-2'''$  والبروتون  $H-3'''$  الذي يظهر عند  $\delta=3.87$  ppm .
- البروتون  $H-3'''$  والبروتون  $H-4'''$  الذي يظهر عند  $\delta=3.34$  ppm .
- البروتون  $H-4'''$  والبروتون  $H-5'''$  الذي يظهر عند  $\delta=3.64$  ppm .
- البروتون  $H-5'''$  والبروتون  $H-6'''a$  و  $H-6'''b$  اللذان يظهران عند  $\delta=3.52$  ppm

و  $\delta=3.42$  ppm على التوالي .

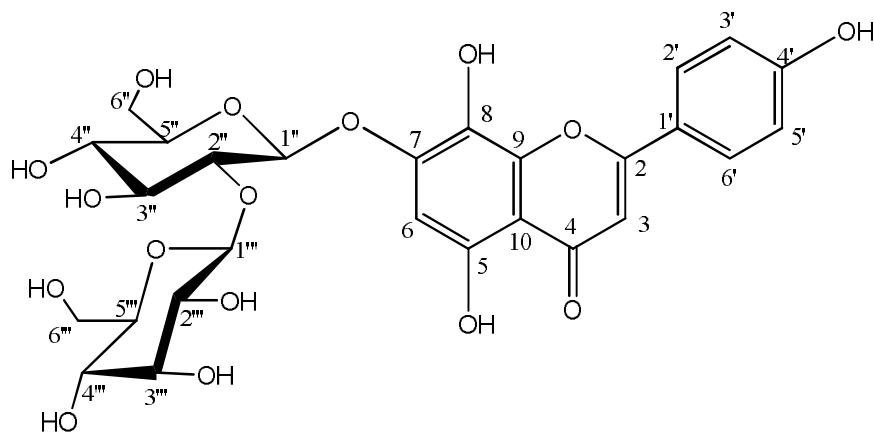
يبين طيف الـ HMBC [طيف:رقم16-4] بقعة تعالق بين البروتون الأنوميري للألوز والكربون الذي يظهر عند  $\delta=81.17$  ppm ويمكن إسناده للكربون  $C-2''$  للجليكوز وذلك بإعتمادنا على طيف HMQC [طيف:رقم15-2] لأنه على إتصال بالبروتون  $H-2''$  الموافق للإشارة التي تظهر عند  $\delta=3.63$  ppm كما حدد سابقا ، وظهور إشارة الكربون  $C-2''$  في المجال المنخفض دلالة على إستبداله بالألوز.

وفي نهاية الأمر يمكننا القول أن دراسة أطياف RMN ثنائية البعد  $^1H-^1H$  Cosy ، HMBC ، HMQC، سمحت لنا بإسناد إشارات مختلف الأنوية والمعطيات الطيفية لـ  $^1H$  RMN و  $^{13}C$  RMN مدونة في الجدول - 9 .

جدول-9

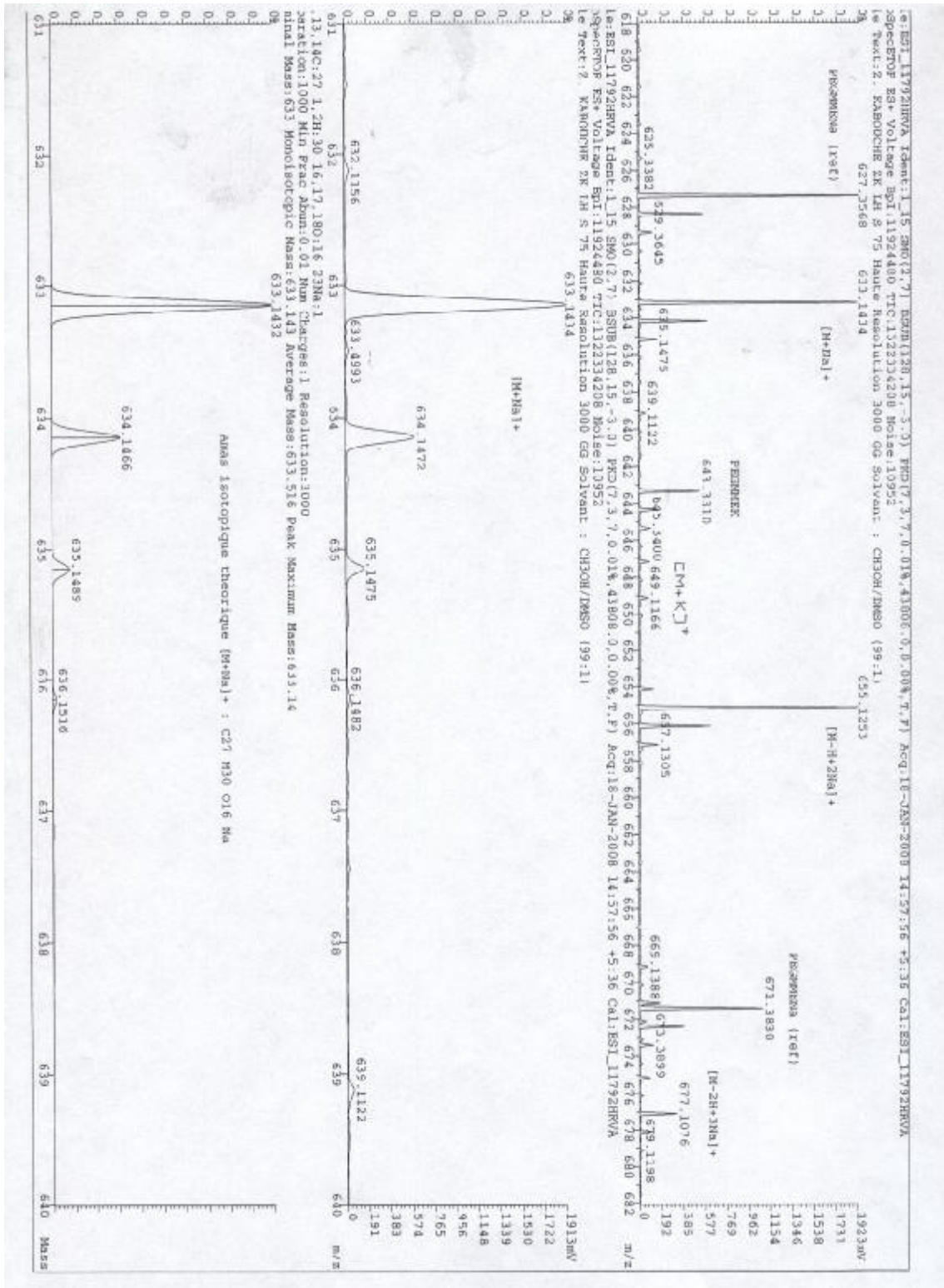
S-75 المركب		
	<sup>1</sup> H d (ppm)	<sup>13</sup> C d (ppm)
<b>apigénine</b>		
2	-	163.98
3	6.85 (s)	102.5
4	-	182.3
5	-	152.35
6	6.65 (s)	98.65
7	-	151.13
8	-	127.02
9	-	144.24
10	-	105.11
1'	-	121.17
2'-6'	7.99 (d , J=8.8Hz)	128.56
3'-5'	6.96 (d , J=8.8Hz)	115.91
4'	-	161.24
<b>glucose</b>		
1''	5.11 (d , J=7.5Hz)	99.5
2''	3.65	81.17
3''	3.49	76.94
4''	3.36	69.17
5''	3.51	75.59
6''	3.49m - 3.74m	60.4
<b>Allose</b>		
1'''	4.91 (d , J=8Hz)	101.6
2'''	3.21m	71.5
3'''	3.87m	70.9
4'''	3.34m	67.1
5'''	3.64	74.5
6'''	3.52 – 3.42	60.9

وقد سمح مجموع هذا التحليل البنيوي باستنتاج البنية النهائية للمركب S-75 وهي كالتالي :



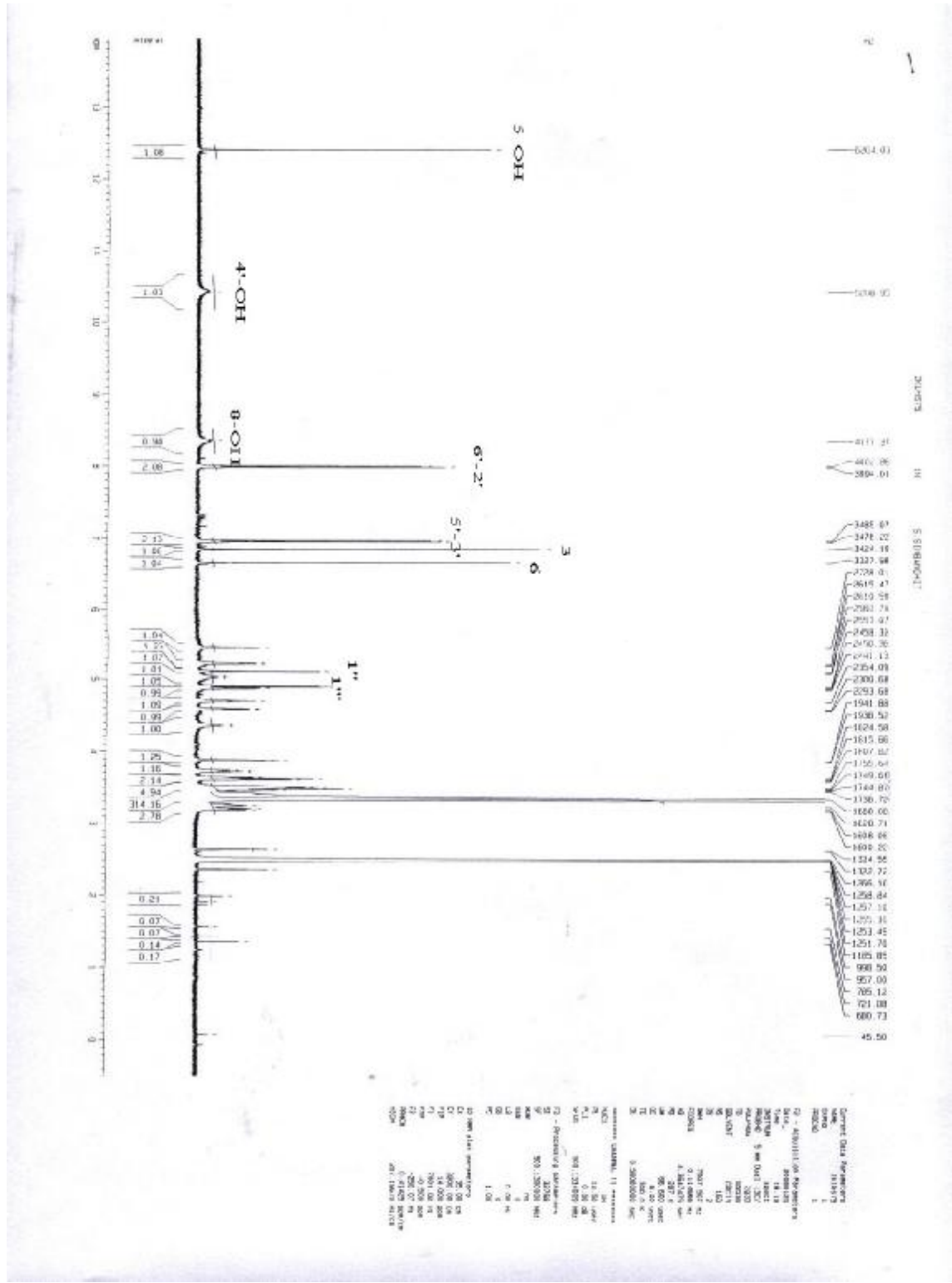
7-O-β-D-allopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside isoscutellareine

طيف رقم 10: طيف الكتلة (SM : ES) للمركب S-75

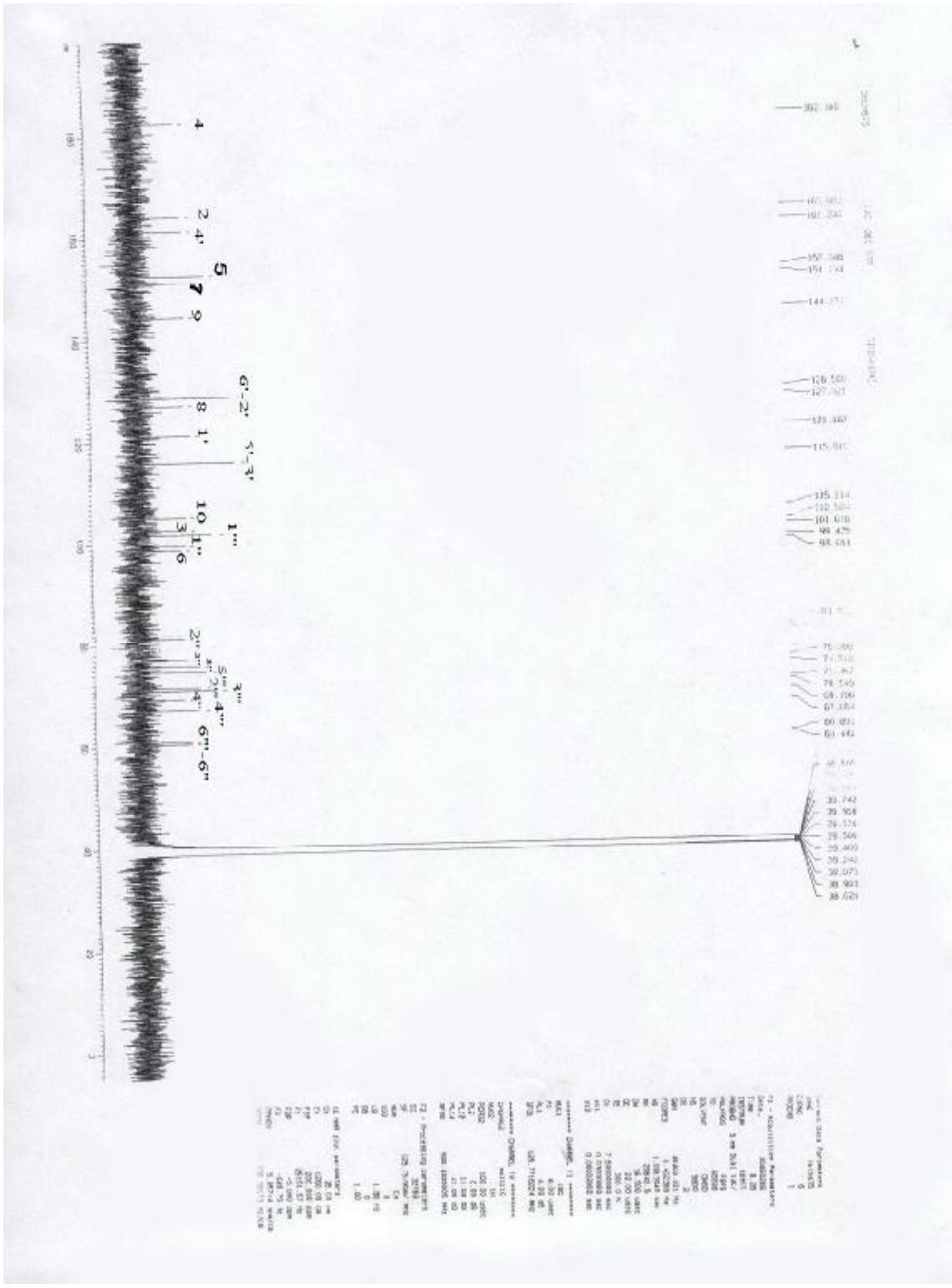




طيف رقم 11: طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب S-75 (300Mz-DMSO)



طيف رقم 12: طيف الكربون للمركب S-75 ( 125Mz-DMSO )





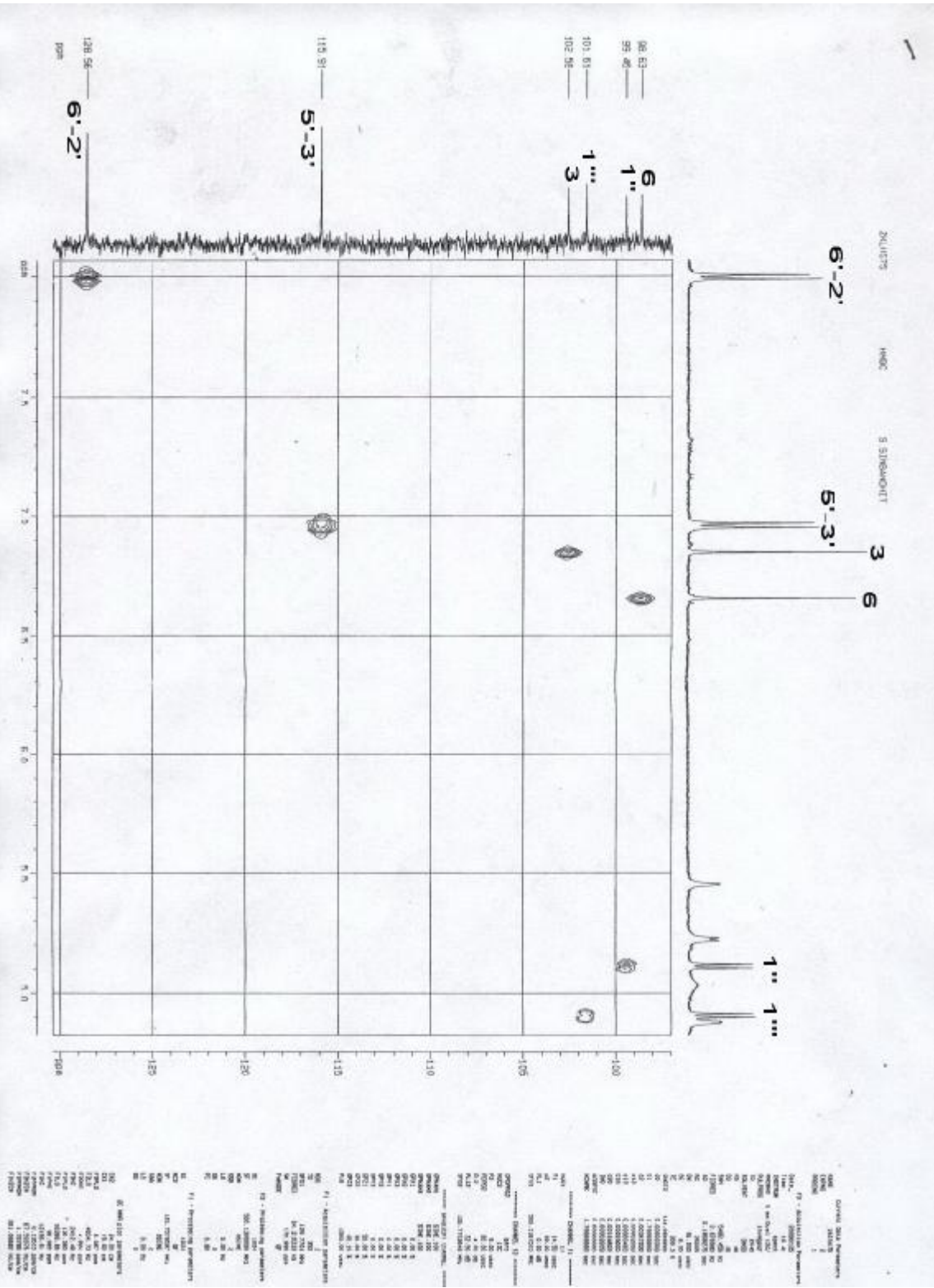




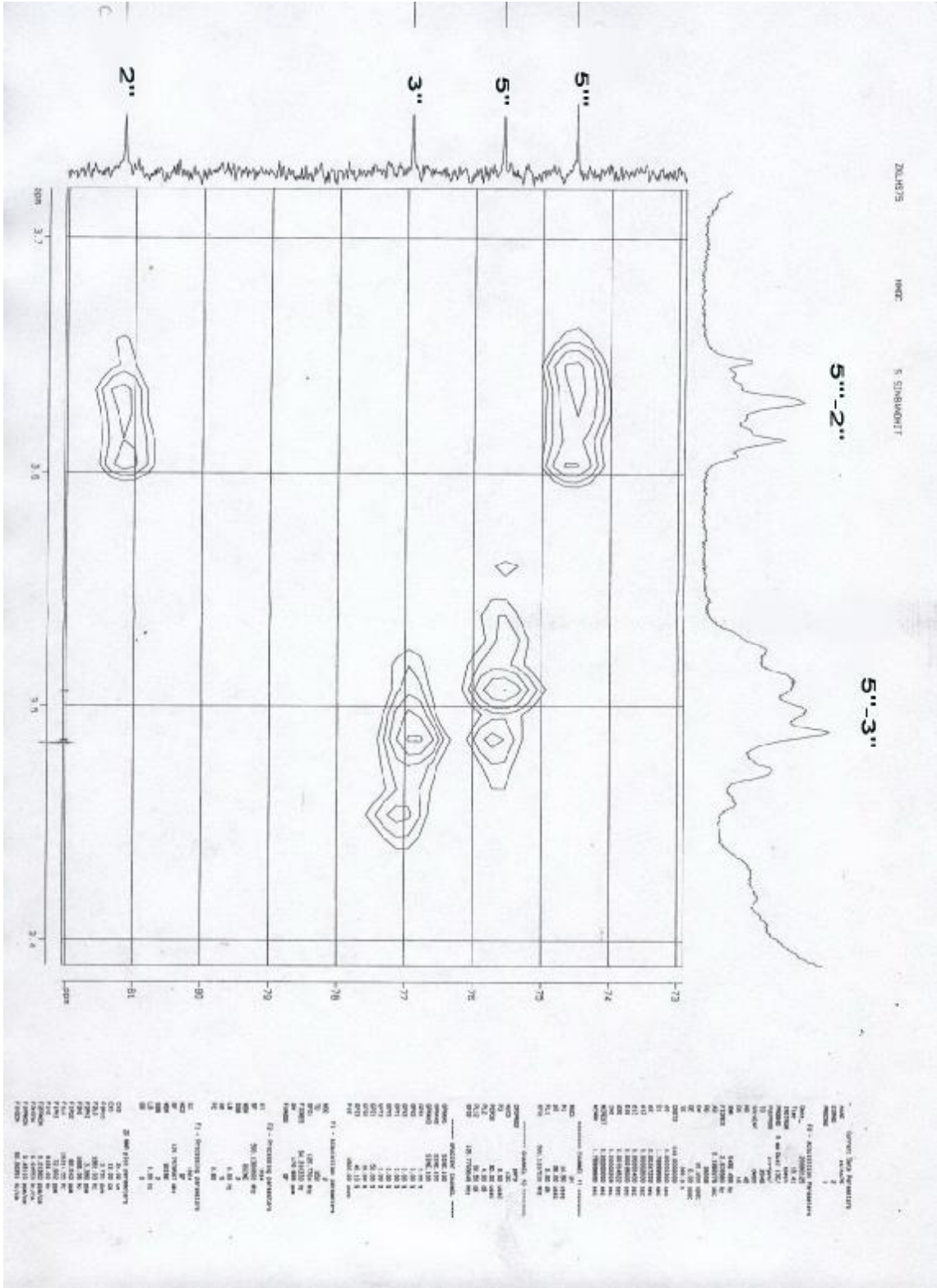




طيف رقم 15-1: طيف الـ HMQC للمركب S-75

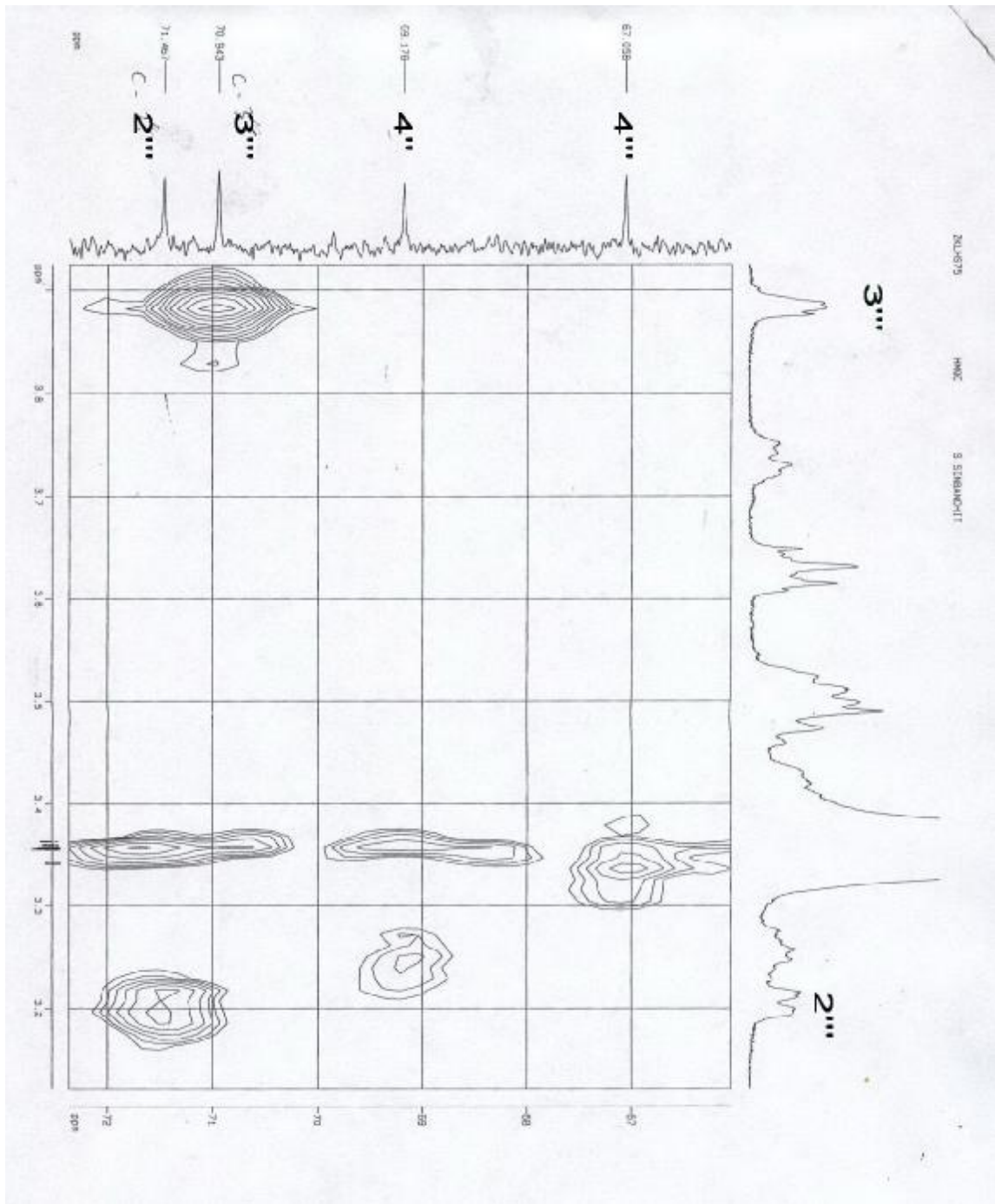


طيف رقم 15-2: طيف الـHMQC للمركب S-75



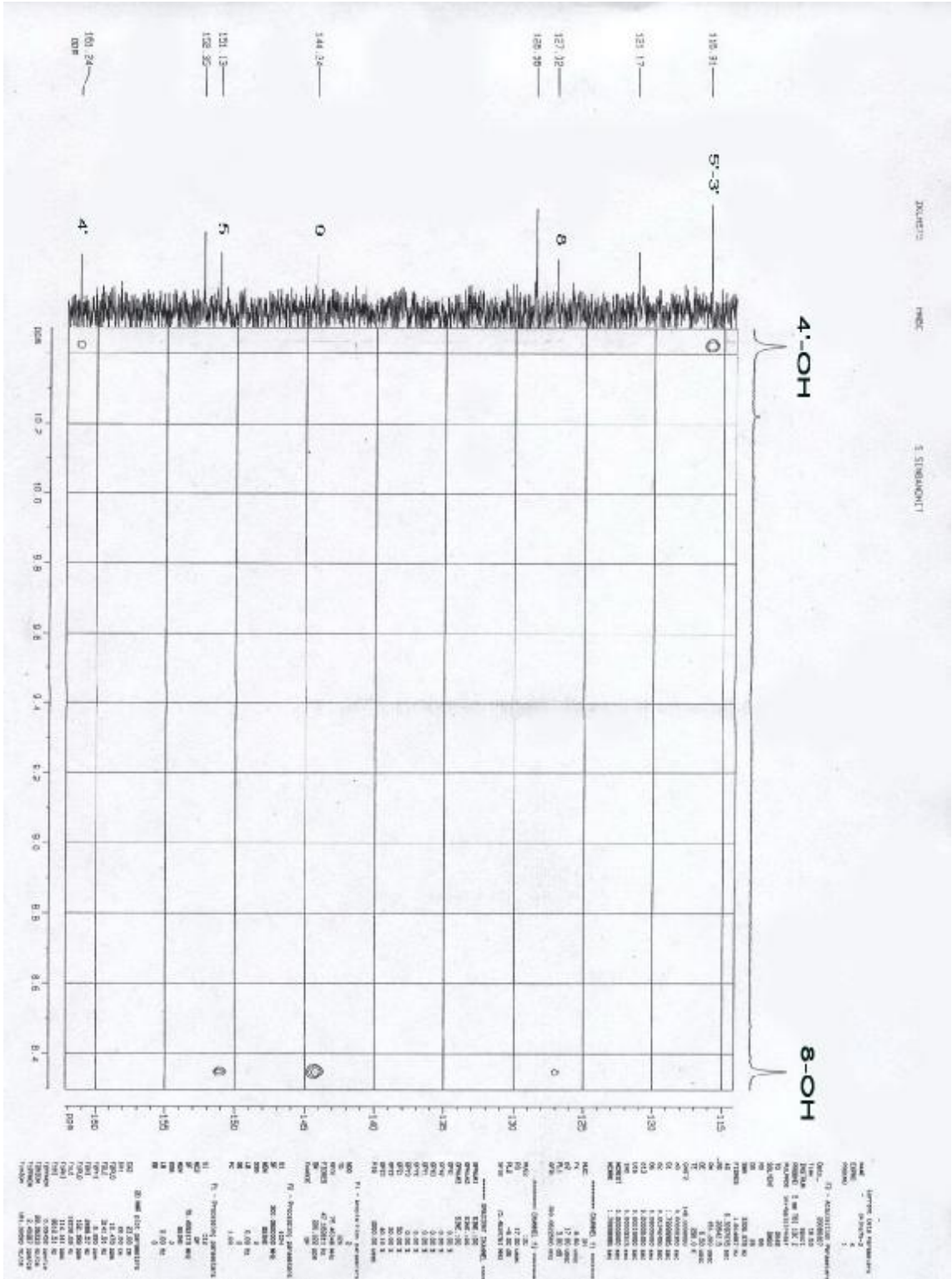


طيف رقم 15-3: طيف الـHMQC للمركب S-75



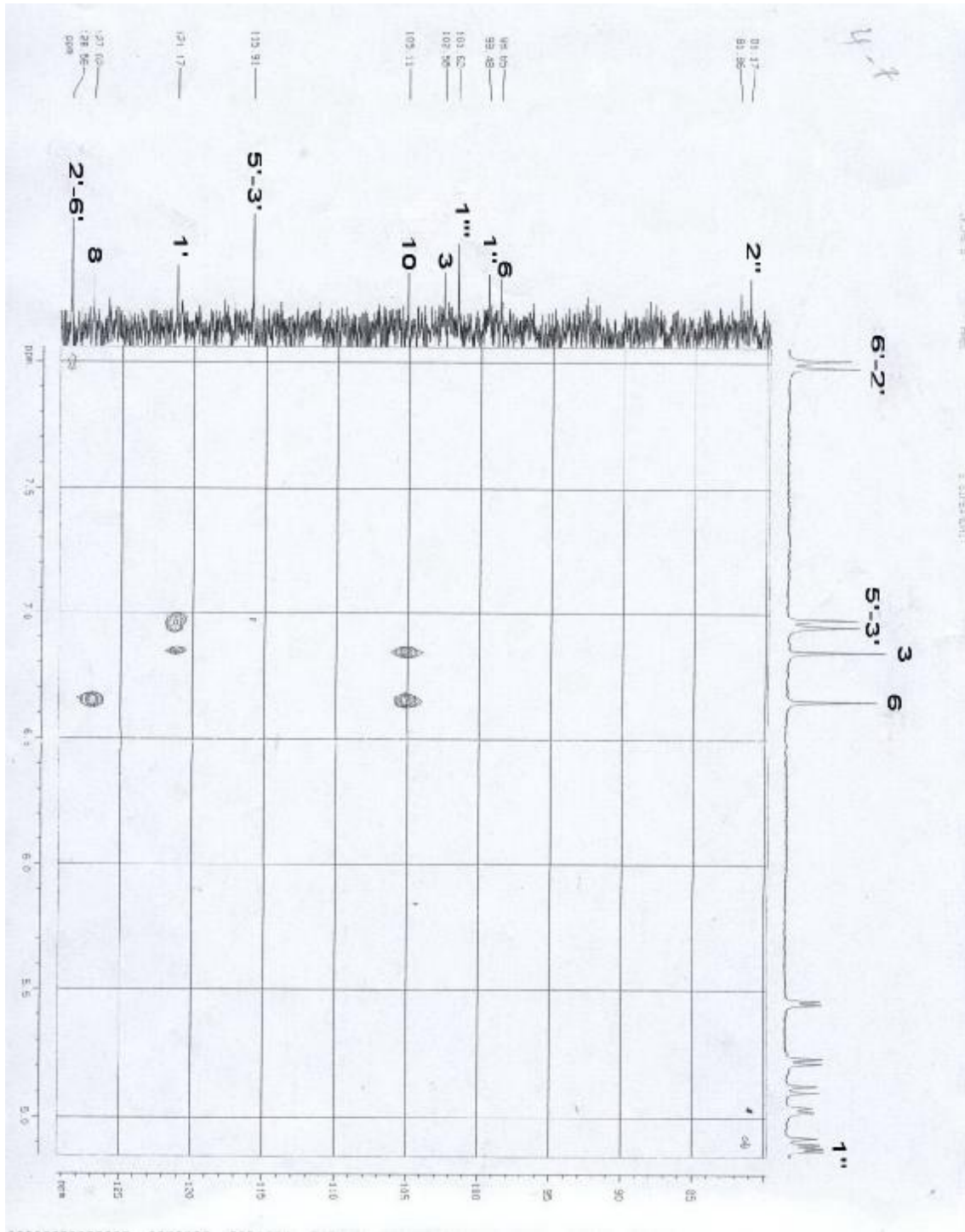


طيف رقم 16-2: طيف الـ HMBC للمركب S-75





طيف رقم 16-4: طيف الـHMBC للمركب S-75



## الختامة

إن الغاية الرئيسية من هذا البحث هي التعرف على نواتج الأيض الثانوي لنبات *Stachys ocymastrum*(L.)Briq.

خلال إنجازنا لهذا البحث قمنا بدراسة ببليوغرافية حديثة عن الإريثويدات، الفينيل بروبانويد والفلافونيدات من تعريف ، اصطناع حيوي، فعالية بيولوجية، إلى الدراسة الإحصائية.

كما قمنا بدراسة ببليوغرافية عن الفلافونويدات، 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 البنيوي للمركبات استخدمنا مطيافية الأشعة فوق البنفسجية، مطيافية الرنين النووي المغناطيسي و مطيافية الكتلة. و قد تم فصل و تحديد أربعة مركبات فلافونيدية هي :

ü 7-O-  $\beta$ -D-(6''-E-p-coumaryl)-glucopyranoside apigénine : S1.

ü 4', 5, 7-trihydroxyflavone (apigénine) : F57-B .

ü 7,5,3',4'-tetrahydroxyflavone (lutéoline) : F70-2.

ü 7-O-b- D-allopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside isoscutellareine : F-75

وهي مركبات جديدة بالنسبة للنوع ، والمركب الأول يعتبر جديد بالنسبة للجنس.



# الملخص

إن هدفنا الرئيسي من هذا البحث هو الفصل و التعرف على نواتج الأيض الثانوي للنبتة *Stachys ocymastrum(L.)Briq* التي تنتمي إلى العائلة الشفوية، وقد تمكنا من فصل أربع مركبات فلافونيدية 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 (  $^1\text{H}$  RMN ,  $^{13}\text{C}$  RMN , COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  , HMBC, ) (HMQC) في تحديد بنى المركبات الأربعة المفصلة :

- ü 7-O-  $\beta$  -D- (6''-*E*-p-coumaryl)glucopyranoside apigénine .
- ü 4', 5, 7-trihydroxyflavone (apigénine) .
- ü 7,5,3',4'-tetrahydroxyflavone (lutéoline) .
- ü 7-O- $\beta$ -D-allopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside isoscutellareine

وهي مركبات جديدة بالنسبة للنوع ، والمركب الأول يعتبر جديد بالنسبة للجنس.

# Résumé

L'objectif principal de ce travail est d'identifier les métabolites secondaires de la plante *Stachys ocymastrum*(L.)Briq appartenant à la famille des Lamiaceae.

L'utilisation des différentes méthodes de séparations chromatographiques (colonne, papier, couche mince) a permis d'isoler quatre composés flavoniques :

- ü 7-O-  $\beta$ -D- (6''-*E*-p-coumaryl)glucopyranoside apigénine .
- ü **4', 5, 7-trihydroxyflavone (apigénine)** .
- ü 7,5,3',4'-tetrahydroxyflavone ( lutéoline ) .
- ü 7-O- $\beta$ -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-glucopyranoside isoscutellarein .

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



# *abstract*

The principal aim of the present work consisted to identify the secondary metabolites of *Stachys ocymastrum*(L.)Briq belonging to the Lamiaceae family.

The use of the different chromatographic methods ( column, paper, thin layer ) permitted the isolation of four flavonoids :

- ü Apigénin 7-O-  $\beta$ -D-(6''-E-p-coumaryl) glucoside .
- ü **4', 5, 7-trihydroxyflavone (apigenin)** .
- ü 7,5,3',4'-tetrahydroxy flavone ( luteoline ) .
- ü isoscutellarein 7-O- $\beta$ -D-allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-glucoside .

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