

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة قسنطينة 1

قسم الكيمياء

كلية العلوم الدقيقة

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

مقدمة لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية
كيمياء النباتات

:

دراسة فيتوكيميائية لنوعين من النباتات الطبية ذات الأصل الجزائري
لعائلة الخيمية مع دراسة فعاليتيها البيولوجية
Reutera lutea (Apiaceae)
Daucus aureus (Apiaceae)

تقديم : مخلوفي الهاني

لجنة المناقشة:

رئيسا
مقررا
ممتحنا
ممتحنا

أستاذ بجامعة قسنطينة 1
أستاذ بجامعة قسنطينة 1
أستاذ بجامعة أم البواقي
أستاذ محاضر بجامعة تبسة

د. مجروبي كمال
د. عكال صالح
د. زلاقي عمار
د. بن أحمد مرزوق

إهداء

أهدي ثمرة عملي هذا :

إلى من وصى بهما ربي إلى من هما الغالين على قلبي وعند ربي رمز الحب و التضحية أمي و

أبي حفظهما الله و أدخلهما الجنة.

إلى رفيقة دربي زوجتي الغالية أدمها الله لي و حفظها

إلى إبني الكتكوت الصغير أنيس

إلى كل أختي الأعماء من أكبرهم إلى أصغرهم حفظهم الله

إلى أختي و زوجها و أولادها

وكل أفراد عائلة مخلوفي و رحيم

إلى كل أفراد المخبر.

و إلى كل الأهل و الأصدقاء و شكرا.

تشكرات

الشكر الكبير و الأول و الأخير إلى من يسر لي أمري و وفقني حتى الآن، فلك الشكر ولك الحمد ربي حتى ترضى و لك الحمد إذا رضيت و لك الحمد بعد الرضى.

أولا أتقدم بجزيل الشكر و خالص الامتنان للأستاذ المشرفه صالح محال و الذي كان نعم الأستاذ، و لك جزيل الشكر على كل النصائح و المساعدات، و على كل المجهودات في توفير كل الإحتياجات و المتطلبات التي يحتاج إليها إنجاح هذا البحث فلك جزيل الشكر و الحمد لله ربي العالمين.

كما أتقدم بجزيل الشكر إلى الأستاذ جمال مجروبي على كل المساعدات و على كل نصائح و الإرشادات و على حرصه على توفير كل متطلباتنا كما أتقدم له بجزيل الشكر لقبوله رئاسة اللجنة فلك جزيل الشكر.

كما أتقدم بالشكر الخالص إلى الأستاذ زلاقي عمار على قبوله مناقشة الرسالة.

كما أتقدم بالشكر الخالص إلى الأستاذ بن أحمد مرزوق على قبوله مناقشة الرسالة.

كما أتقدم بالشكر إلى الأستاذ لخضر جوي على كل المساعدة التي حظيت بها من قبله جازاك الله خيرا.

كما أتقدم بالشكر إلى الأستاذ حسين لعور و على كل مجهوداته في توفير المادة النباتية.

و أتقدم بكل معاني الشكر و الإحترام إلى الأستاذة Elisabeth Seguin على إستضافتها لي بمخبرها الكائن

بـ (Université de Rouen, France) و على المعاملة الطيبة التي حظيت بها من قبلها.

كما لا يفوتني أن أوجه تشكراتي الخالصة إلى الأستاذ Hakim El Omari على المساعدات الكبيرة

التي حظيت بها من قبله أثناء تربيتي بنفس المخبر.

الشكر الخالص للأستاذ مصطفى لفضل على كل مساعداته.

الشكر الخالص للأستاذ يحيى أحمد عبد الرحيم على كل مساعداته.

كما أشكر كل أفراد المخبر: زين العابدين، سليمة، سميلة، فاطمة الزهراء، أمال، راضية و إبتسام ... و

كل من ساندني من قريب أو من بعيد.

الفهرس

1	مقدمة
	الفصل الأول: الفلافونيدات
	: يدات
4	.1
4	2. ماهية الفلافونيدات و تقسيمها
9	3. خواص الفلافونيدات و أهميتها
11	4. طرق تحضير الفلافونيدات
11	5. الإصطناع الحيوي للفلافونيدات
11	1.5. : طريق حمض الشيكيميك
13	2.5. ثانية : طريق الخلات
14	3.5. : طريق الشالكون
15	.6
15	1.6. تصنيع الشالكون
16	2.6. تصنيع ثنائي هيدروشالكون
16	3.6. تصنيع الفلافون
18	4.6. تصنيع الفلافانول
18	5.6. تصنيع الفلافونول و الأورون
19	6.6. تصنيع ثنائي هيدروفلافونول
19	7.6. تصنيع الأورون
20	8.6. تصنيع إيزوفلافون
22	7. تثبيت المجموعات الاستبدالية على الهيكل الفلافونيدي
22	1.7. تثبيت مجموعات الهيدروكسيل
22	2.7. تثبيت مجموعات الميثيل
23	3.7. تثبيت جزيئات السكر
24	8. الكشف عن الفلافونيدات
25	ثانيا: الإستخلاص، الفصل و التنقية
25	.1
27	.2

27	1.2. كروماتوغرافيا العمود (CC)
28	2.2. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)
29	3.2. كروماتوغرافيا الورق (CP)
29	4.2. كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)
30	5.2. تقنية الكروماتوغرافيا الغازية المتصلة بمطياف الكتلة (GC-MS)
30	3. التنقية
31	: الدراسة البنوية للفلافونيدات
31	1. الخواص الكروماتوغرافية
31	1.1.
32	2.1. Rf
32	2. طرق التحليل الطيفي
32	1.2. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية
33	1.1.2. طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي
34	2.1.2. NaOH
34	3.1.2. NaOAc
34	4.1.2. NaOAc+H3B03
35	5.1.2. AlCl3
35	6.1.2. : AlCl3 + HCl AlCl3
37	2.2. مطيافية الكتلة
37	1.2.2. تقنية القذف الإلكتروني (IE)
38	2.2.2. تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B)
39	3.2.2. تقنية الإلكتروسبراي (ES)
39	3.2. طيافية الرنين النووي المغناطيسي
39	1.3.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون $^1\text{H-NMR}$
42	2.3.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون $^{13}\text{C-NMR}$
42	3.3.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ثنائية البعد
43	3. الحلمة الحمضية
44	4.
	: دراسة ببلوغرافية للعائلة الخيمية و <i>Daucus Reutera</i> ين
49	1.
49	2. وصف لنباتات العائلة الخيمية
51	3. تواريخها و توزيعها الجغرافي

52	4. إحصائيات للعائلة الخيمية
54	5. التصنيف النظامي للعائلة
54	6. أهمية العائلة الخيمية
55	7. المركبات المفصولة من العائلة الخيمية
55	1.7. المركبات الفلافونيدات
64	2.7. الكومارينات
64	3.7. المركبات الأستيلينية
65	4.7. المركبات التربينية
68	5.7. المركبات السييكويتربينية اللاكتونية
70	6.7. الزيوت العطرية (الأساسية)
	الدراسة البيبليوغرافية للجنس <i>Daucus</i>
72	1. <i>Daucus</i> L
72	2. المكونات الكيميائية للجنس <i>Daucus</i>
73	3. مركبات الأيض الثانوي المفصولة من بعض أنواع الجنس <i>Daucus</i>
73	1.3. <i>Daucus carota</i> L.
76	2.3. <i>Daucus glaber</i> Forssk.
78	3.3. <i>Daucus littoralis</i> Smith.
79	4.3. <i>Daucus crinitus</i> Desf.
80	5.3. المركبات الفلافونيدية المعزولة من الجنس <i>Daucus</i>
85	6.3. الفوائد العلاجية للجنس (<i>Daucus</i>)
	الدراسة البيبليوغرافية للجنس <i>Reutera</i>
87	1. <i>Reutera</i>
88	2. المكونات الكيميائية للجنس <i>Reutera</i>
89	المراجع
	ثالث: دراسة فيتو كيميائية للنبتين
97	الدراسة الكيميائية <i>Reutera lutea</i> Desf.
97	1. المادة النباتية
97	2. التصنيف النظامي للنبته
98	3.
98	4. <i>Reutera lutea</i>
99	5. التوزيع الجغرافي للنوع <i>Reutera lutea</i>
100	6. <i>Reutera lutea</i>
102	7.

103	8. الفصل و التنقية
113	الدراسة الكيميائية <i>Daucus aureus</i> Desf.
113	1. المادة النباتية
113	2. التصنيف النظامي للنبتة
114	3.
114	4. <i>Daucus aureus</i>
114	5.
116	6. التوزيع الجغرافي للنوع <i>Reutera lutea</i>
116	7. <i>Reutera lutea</i>
119	8.
120	9. الفصل و التنقية
127	المراجع
	:
128	1. التحليل البنوي للمركب H509
139	2. التحليل البنوي للمركب H510
150	3. التحليل البنوي للمركب H607
158	4. التحليل البنوي للمركب H608
166	5. التحليل البنوي للمركب H609
177	6. التحليل البنوي للمركب H610
185	7. التحليل البنوي للمركب H612
193	8. التحليل البنوي للمركب H613 مع المركبات تم التعرف عليها عن طريق CPG-MS
	خامس: الفعالية البيولوجية Anti AGEs <i>Daucus aureus</i> Desf.
208	1.
209	2. التفاعلات اللاأنزيمية لـ Maillard
210	3. (AGEs) و مساهمتها في الإختلال الوظيفي
210	4. الطريقة المتبعة
212	5. نتائج فحص الفعالية (AGEIB)
213	6. تحليل نتائج فحص الفعالية (AGEIB)
215	7.
216	
217	

CC	Chromatographie sur colonne
CCM	Chromatographie sur couche mince
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ¹H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ¹³C	Résonance Magnétique Nucléaire de carbone 13
DEPT 135	carbone 13 réalisé en Distortionless Enhancement by Polarisation transfer
HMBC	Corrélation des liaisons Multiples Hétéronucléaires
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
COSY	Spectroscopie de corrélation
°C	Degré celsius
d	doublet
dd	Doublet des doublets
s	Singlet
m	Multiplet
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
SM	Spectrométrie de Masse
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CPG-MS	Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse
UV	Ultraviolet
ES	Electrospray
DMSO	Dimethylsulfoxyde
MeOH	Méthanol
DMF	Dimethylformamide
ppm	Partie par million Déplacement chimique
nm	Nanomètre
Hz	Hertz
J	constant de couplage
ppm	Partie par million
R	Radical
Rt	Temps de Rétention
s	Singlet
TLC	Chromatographie sur couche mince
AGEs	les produits terminaux avancés de glycation
AGEIB	Advanced Glycation end-Products Inhibitors and Breakers
BSA	Albumine de Sérum de Boeuf
IC₅₀	Concentration Inhibitrice 50 %
FI	Intensité de Fluorescence
LDL	Lipoprotéines de Basse Densité

مقدمة

مرت البشرية بمراحل متعددة سيطرت فيها أساليب الطب المختلفة واستخدمت العقاقير العديدة للسيطرة على الأمراض، بدءاً من الأعشاب الطبية ونهاية بالمستخلصات الكيميائية المعقدة، التي لم تعد أضرارها الجانبية تخفى على أحد. وقد كان العلاج بالأعشاب قديماً يحل محل صيدليات اليوم، ولكن هل حقا أغنت صيدليات اليوم عن اللجوء إلى الأعشاب الطبية وهل صيدليات اليوم قادرة على شفاءنا تماماً بالمستحضرات الكيميائية إذا وقع أحدنا فريسة للمرض؟ وما هي نسبة الأمان في استخدام الأدوية الكيميائية الحديثة؟

اعتقد الكثيرون أن هذه الأدوية المصنعة سوف تحل محل النباتات الطبية المستعملة في الطب والشعبي ولقد كان من المتوقع أن يتراجع المرض أمام الثورة الصناعية الكاسحة التي شهدها العالم في الخمسين سنة الأخيرة، لكن العكس تماماً هو الذي حدث فقد عرف الإنسان الحديث أمراضاً فتاكة لم تكن معروفة أو منتشرة بهذا الشكل من قبل، والإحصائيات التي تمت عام 1997م في الولايات المتحدة أظهرت أنه في عام 1995م أفرط حوالي 6 مليون أمريكي في تناول العقاقير التي وصفها لهم الأطباء لعلاج حالات القلق مما تسبب في إدمان غالبيتهم لهذه الأدوية.

وفي سنة 1997م تم حجز أكثر من اثنين مليون أمريكي في الأقسام المختلفة بالمستشفيات نتيجة الأضرار الجانبية للأدوية الكيميائية. والإحصائيات العالمية تؤكد أن الأضرار التي يسببها سوء استخدام الأدوية الكيميائية الموصوفة للمرضى السبب الرابع للوفاة بعد أمراض القلب، والسرطان، والجلطات المخية. وبالتالي أثرت هذه الأدوية على صحة الإنسان وقوته، ومناعته في مقاومة الأمراض، كذلك فإن الأدوية المصنعة ما زال الكثير منها يفتقر إلى معلومات أوفى. بينما أبت حكمة الخالق عز وجل إلا وأن تجعل المواد الفاعلة في النباتات بتركيزات مخفضة سهلة، يمكن للجسم البشري التفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية.

قال الله سبحانه وتعالى في كتابه الكريم: " ألم تروا أن الله سخر لكم ما في السماوات وما في الأرض وأسبغ عليكم نعمه ظاهرة وباطنة "

ولقد قال أبو قراط منذ 4500 عام (ليكن غذاؤك دواءك ، وعالجوا كل مريض بنبات أرضه ، فهي أجلب لشفائه).

إذا ستظل النباتات والأعشاب الطبية رحمة كبرى إذا ما قورنت بالأدوية الكيميائية والتي تشبه إلى حد كبير سكيناً ذو حدين يقطع هنا ويخرب هناك وهذه الأدوية الكيميائية تنكشف جوانبها السلبية المظلمة يوماً بعد يوم.

فالنباتات الطبية عرفها الإنسان بالتجربة، واهتدى إلى علاج أمراضه بواسطتها عن طريق التجربة أيضاً واستخدمتها شعوب العالم قاطبة المتحضرة منها والبدائية، فطب الأعشاب هو أقدم شكل معروف من الطب وقد استخدم أكثر من 80% من سكان الأرض الأعشاب في معالجة أمراضهم، ولا تزال الأعشاب الطبية هي العلاج الأساسي للكثير من الشعوب حتى وقتنا الحاضر.

إن التداوي بالأعشاب هو مستقبل العالم العلاجي، وهو الدواء الناجع المأمون لأمراض الإنسان والحيوان في كل مكان وزمان فالنباتات هي زرع الله الشافي وقد استخدمتها الحضارات البشرية عبر التاريخ.

ومع تقدم الكيمياء بصفة عامة تمكن الصيادلة والكيميائيين من التوصل إلى التركيب الكيميائي ومعرفة شكل وتركيب جزيء المادة الفعالة وهو غايتنا في هذا البحث. وكما أمكن في بعض الحالات تخليق تلك المواد الفعالة كيميائياً.

و لقد وقع اختيارنا للمادة النباتية *Reutera lutea* و *Daucus aureus* على أساس معايير كيميائية و أخرى بيولوجية:

و قد تم تقسيم هذه الرسالة إلى خمسة فصول و خاتمة:

: هو مدخل للفلافونويدات تعريفاً، تصنيفاً، تصنيعاً، طرق الفصل و التنقية، و أخيراً الطرق

الفيزيوكيميائية للتعين البنوي للمركبات الفلافونويدية.

: خصص لإحصاء الفلافونويدات و مركبات المشكلة لأبيض الثانوي عند العائلة الخيمية و

عند الجنسين *Reutera* و *Daucus* .

: خصص للطريقة العملية المخبرية المتبعة خلال هذا البحث من استخلاص و فصل و تنقية.

: خصص لتقديم النتائج المحصل عليها و مناقشتها.

: خصص لدراسة الفعالية البيولوجية للنوع *Daucus aureus*.

و أخيراً : قيمنا فيها نتائج هذا البحث.

الفصل الأول

الفلا فونيدات

___ : الفلافونيدات

1. :

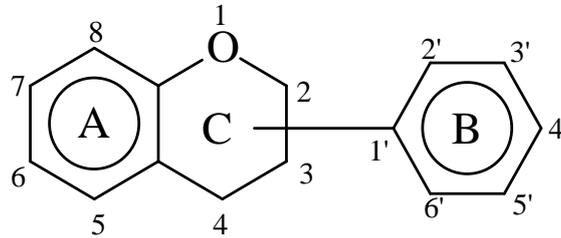
تمثل المركبات الفينولية قسما بالغ الأهمية في حقل المنتجات الطبيعية وذلك لتعددتها و تباين هيكلها البنائية، من هذه المركبات منتجات أيضا ثانوية تسمى: الفلافونويدات. حيث اهتم العلماء الباحثين بالفلافونيدات منذ زمن بعيد، نظرا لفوائدها المتعددة واستعمالاتها الكثيرة في ميادين حيوية متنوعة، إذ يمثل القسم الأكبر منها الأيض الثانوي للنبات، و قد تم استخراجها طبيعيا من النباتات في صورتها الإيتروزيدية و الأجليكونية و قد تم الإحصاء منها مت يزيد عن 8000 نوع من الفلافونيدات [1].

وهي عبارة عن صبغات متواجدة في النباتات و تنتشر في أجزائها النباتية المختلفة من جذور و خاصة الأوراق و الزهور إذ تنسب لها خاصية تلونها [2]، أما على مستوى الخلية فتتواجد بشكل إيتروزيدات ذوابة في الماء متمركزة في حويصلة الخلية، و بشكل أجليكونات في الأنسجة السطحية للأوراق، أما عديدة الميثوكسيل فتتواجد في سيتوبلازم الخلية [3].

2. ماهية الفلافونيدات و تقسيمها:

أصل تسمية Flavonoide يرجع إلى الكلمة الإغريقية flavus التي تعني اللون الأصفر [4]، تنتشر الفلافونويدات في الأجزاء النباتية المختلفة، خاصة في الأوراق و البراعم و الأزهار أي في الأجزاء الهوائية للنباتة، توجد في معظم الأصناف النباتية بالأخص الراقية منها، و منعدمة تقريبا عند الطحالب [5,6,7].

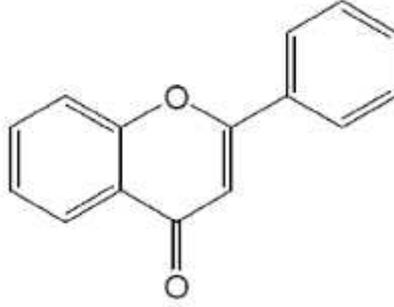
تحتوي جميع الفلافونيدات على " 15 " ذرة كربون في هيكلها الأساسي موزعة على شكل ثلاث حلقات من الشكل " C₆-C₃-C₆ "، حلقتين عطريتين A و B تجمعهما حلقة غير متجانسة C. "الشكل 01" [8].



الشكل 01: الهيكل الفلافونيدي

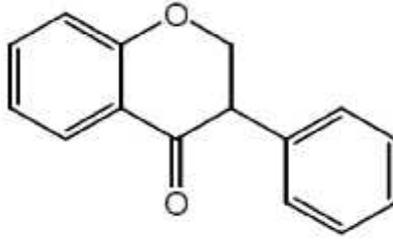
يمكن تقسيم الفلافونيدات على حسب جهة ارتباط مع الحلقة C إلى:

- فلافونويدات: إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون 2.



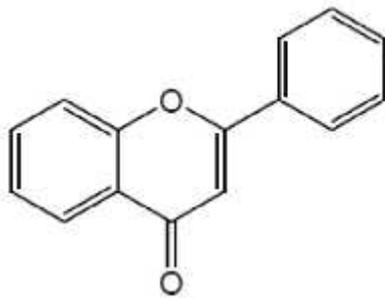
الشكل 02: هيكل الفلافونويد

- إيزو فلافونويدات: إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون 3.



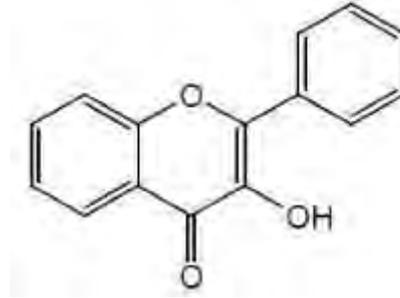
الشكل 03: هيكل إيزو فلافونويد

كما يمكن تقسيمها وفقا لدرجة تأكسد الحلقة C إلى فلافونات و فلافونولات و أيضا فلافانونات Flavanones و Dihydroflavonols التي تتميز بغياب الرابطة الثنائية "C₃=C₂" و غيرها و نبين بعضا منها [9,10,11,12] في الشكل 04:



FLAVONE

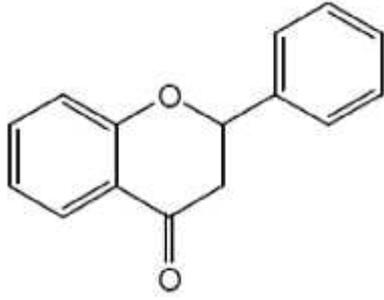
وجود بروتون في الموقع 3



FLAVONOL

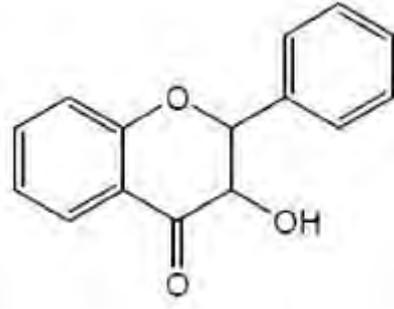
وجود هيدروكسيل في الموقع 3

04: الهياكل الأساسية لفلافونيدات

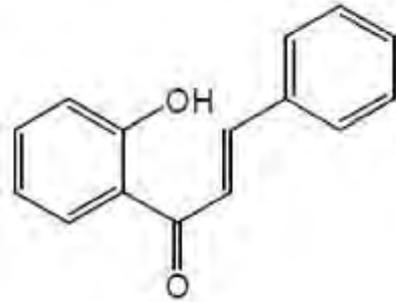


FLAVANONE

غياب الرابطة الثنائية $C_2=C_3$ ووجود مركز لا تناظر

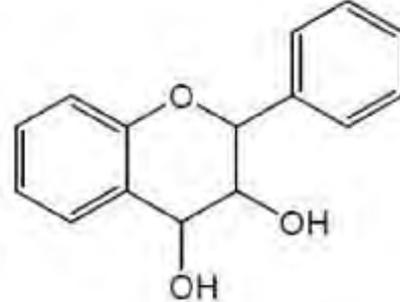


DIHYDROFLAVONOL



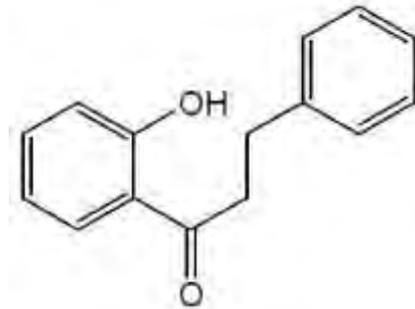
CHALCONE

غياب الحلقة C



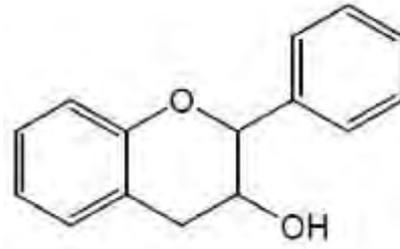
FLAVAN-3,4-DIOL

هيدروكسيل في الموقع 4



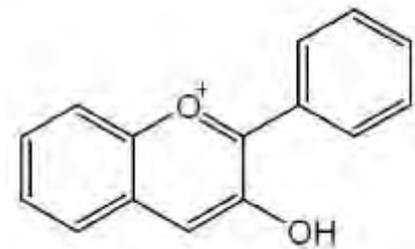
DIHYDROCHALCONE

غياب الحلقة C و الرابطة الثنائية $C_2=C_3$



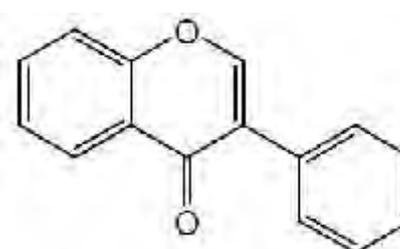
FLAVAN-3OL

غياب وظيفة السيتون في الموقع 4



ANTHOCYANIDINE

لفلافونيدات ()

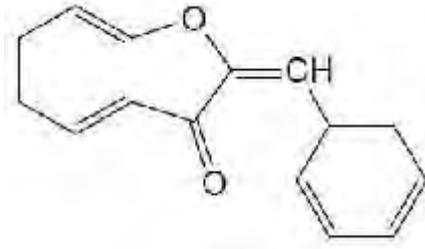


ISOFLAVONE

إرتباط الحلقة B مع الحلقة C في الموقع 3

04: الهياكل الأساسية

بالإضافة إلى الأورونات (Aurones) التي تتميز بوجود حلقة خماسية غير متجانسة.



AURONE

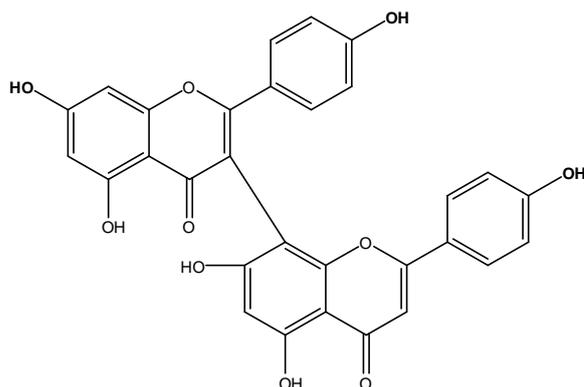
الحلقة C خماسية

والجدول 01 يوضح بعض النماذج عن انواع مختلفة من الفلافونيدات [13].

01: بعض النماذج للفلافونيدات:

Group	3	5	6	7	8	3'	4'	5'	C ₂ =C ₃
Flavones									
Apigenin	H	OH	H	OH	H	H	OH	H	+
Diosmin	H	OH	H	Glu- Rham	H	OH	OH	H	+
Luteolin	H	OH	H	OH	H	OH	OH	H	+
Flavonol									
Quercetin	OH	OH	H	OH	H	OH	OH	H	+
Kaempferol	OH	OH	H	OH	H	H	OH	H	+
Galangin	OH	OH	H	OH	H	H	H	H	+
Fisetin	OH	H	H	OH	H	OH	OH	H	+
Myricetin	OH	OH	H	OH	H	OH	OH	OH	+
Vitexicarpin	OCH ₃	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	H	+
Flavanone									
Naringenin	H	OH	H	OH	H	H	OH	H	-
Eriodictyol	H	OH	OH	OH	H	OH	OH	H	-
Pinocembrin	H	OH	H	OH	H	H	H	H	-
Liquiritigenin	H	H	H	OH	H	H	OH	H	-
Flavanonol									
Taxifolin	H	OH	H	OH	H	OH	OH	H	-
Isoflavone									
Genistein	-	OH	H	OH	H	H	OH	H	+
Tectorigenin	-	OH	OCH ₃	OH	H	H	OH	H	+
Daidzein	-	H	H	OH	H	H	OH	H	+
Formononetin	-	H	H	OH	H	H	OCH ₃	H	+
Flavan-3-ols									
(+) Catechin	βOH	OH	H	OH	H	OH	OH	H	-
(-) Epicatechin	αOH	OH	H	OH	H	OH	OH	H	-
(-) Epigallocatechin	αOH	OH	H	OH	H	OH	OH	OH	-

كما يمكن للفلافونيدات أن ترتبط فيما بينها لتشكيل مركبات ثنائي الفلافونيد، يكون هذا الارتباط في الموقع 6 أو 8، و أغلبية هذه الفلافونيدات الثنائية هي عبارة عن ديمرة بين الفلافون والفلافونول ثلاثي الاستبدال عند المواقع 6، 5 و 4' أين تكون الرابطة الفلافونيدية إما من نوع كربون-كربون (3،8) كما في Fukugetine أو من نوع كربون - أكسجين كما في hinokiflavone ، و يكمن أن تكون عديدة الجزيئة، و تعرف عندئذ بـ Tannins.

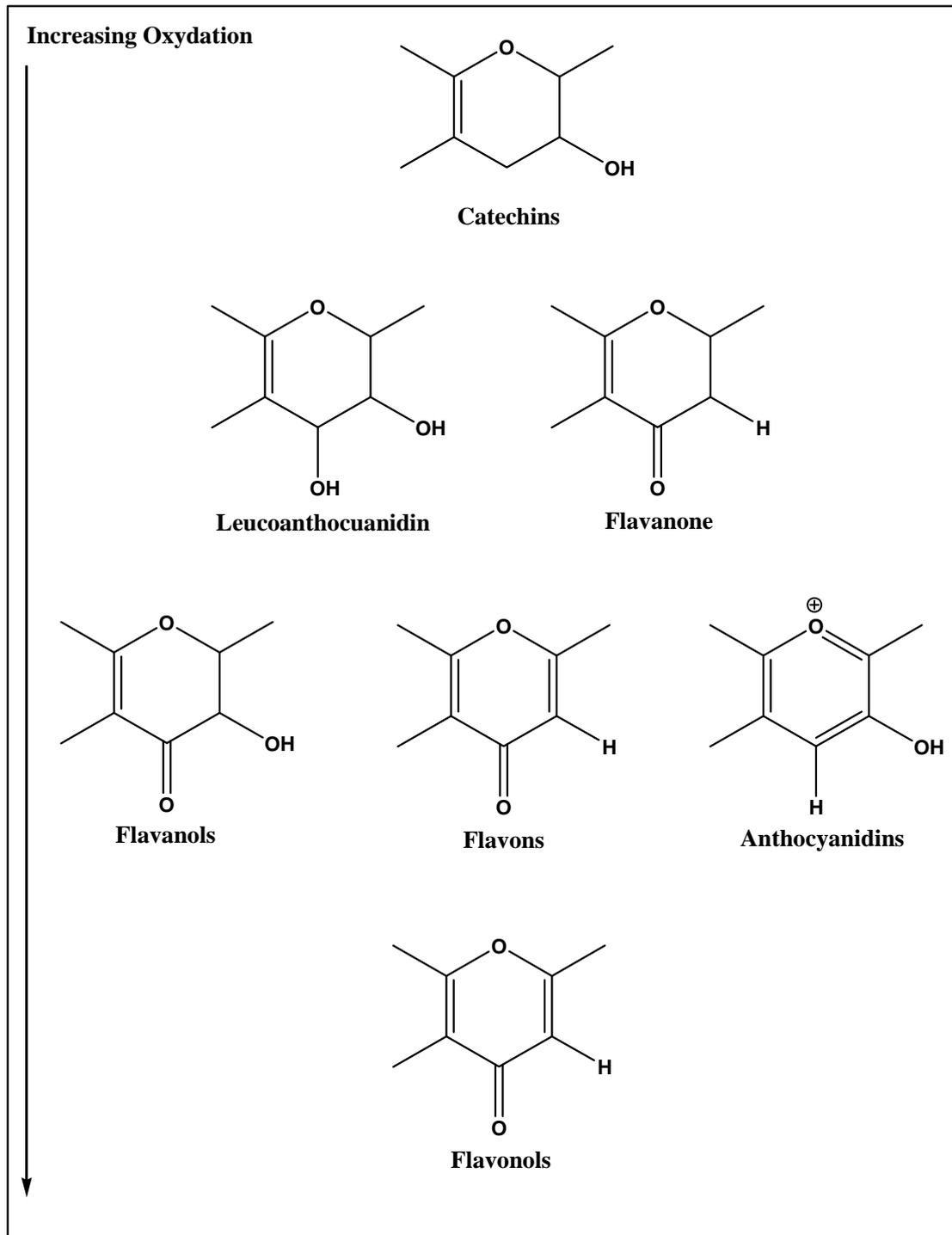


(I-3,II-8)-biapigenine (Fukugetine)

كما أن أغلبية الفلافونيدات تتواجد على شكل أجليكونات مرتبطة مع جزء سكري [14] هذا الأخير قد يكون أحادي، ثنائي أو ثلاثي السكر.

كما تم التعرف على أكثر من 350 مركب من النوع كربون- إيثيروزيد [15]، حيث تتكون الرابطة بين الكربون الأنوميري للسكر الذي غالبا ما يكون جلوكوز كما قد يكون جلاكتوز أو بنتوز وكربون الجزء الأجليكوني في الموقع 6 أو 8. وفي هذه الحالة تكون مركبات هذا النوع من الجليكوزيدات مقاومة للتمييه الحمضي [16].

واعتمادا على درجة تأكسد الحلقة المركزية C_3 (نواة البيران Pyrane) نحصل على الأقسام المختلفة للفلافونيدات والشكل 05 يوضح ذلك [17].



05: مختلف أقسام الفلافونيدات حسب درجة تأكسد الحلقة البيروانية

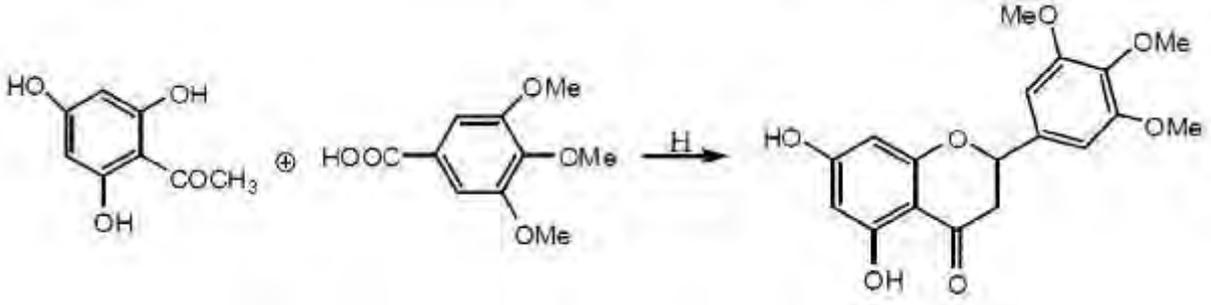
3. الفلافونيدات و أهميتها:

- تتميز الفلافونيدات أنها مركبات هيدروكسيلية و من ثم تتصف بخواص الفينولات ذات الصفة الحمضية الضعيفة تذوب في القواعد القوية مثل NaOH.

- تزداد قطبيتها كلما كانت تحتوى على عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو جزيئة سكر أو أكثر و هذا ما يجعلها ذوابة في المذيبات القطبية مثل : الميثانول، الإيثانول، الأستون والماء. و وجود السكر في الجزيء المركب يجعله أكثر ذوبانا في الماء ، أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل: الايزوفلافونات وكذلك الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الإيثر و الكلوروفورم و الايثر [18].
- تتواجد في أغلب الأحيان على شكل جليكوزيدات مرتبطة بوحدة سكر أو أكثر [19].
- أصباغ مسؤولة عن إعطاء الألوان المختلفة لنباتات بالإضافة إلى كونها تجذب انتباه الحشرات المساهمة في تلقيح النباتات [20].
- توفر الحماية للنباتات من الأشعة فوق البنفسجية [19].
- وبحكم غنى المركبات الفلافونيدية بمجاميع فينولية فهي قادرة على تثبيت بعض البروتينات والإنزيمات عند خلايا النبات ومن ثم تغيير التوازنات الإنزيمية.
- مؤخرا كثر الاهتمام بالفلافونويدات بسبب خواصها المضادة للأكسدة، وقد وجد أن لها خاصة مميزة وأنها مضادات للأكسدة، وهذا لقدرتها على أكسدة الجذور الحرة للأكسجين وهذه الأخيرة التي لها تأثير كبير على عمل العديد من الجزيئات الحيوية في الجسم.
- إن الفلافونيدات ذات تأثير مضاد للالتهاب وذلك أن بعض الأمراض المتميزة بزيادة النفاذية أو ضعف الشعيرات الدموية يمكن أن تعالج بمستخلصات الليمون الغنية بالفلافونيدات [21]، إذ تعتبر الفلافونيدات منشطات للأوردة بالإضافة إلى خواصها المضادة للالتهاب ولهذا تستعمل في التداوي لحماية الأوعية ومقوي للأوردة ضد الأمراض القلبية الوعائية [22].
- أثبتت تجارب أجريت على الفئران أن النظام الغذائي الغني بالفلافونيدات خاصة الأنتوسيانين لها آثار وقائية من إحتشاء عضلة القلب، وهذا في انتظار تعميم هذه النتائج على البشر [23].
- تمنع بعض الفلافونيدات الإصابة بمرض السكري أو الإنقاص من الإصابة به وهذا عن طريق قدرتها على تثبيط الإنزيم المسبب له Aldose réductase [24].
- هناك فلافونيدات تعمل على إحداث توازن بين هرمون الأستروجين المفيد والأستروجين الضار حيث أن زيادة الأستروجين المعروف باسم الإستراديول، قد يتسبب في حدوث أنواع من السرطانات والاضطرابات الهرمونية فالفلافونيد يساعد الجسم على تحويل الاستراديول إلى إستيريول وهو صورة آمنة من الاستروجين أي الصورة المفضلة له [25].

4. طرق تحضير الفلافونيدات:

هناك العديد من الطرق التي تم تبنيتها في المختبر لتحضير أو لتشكيل هيكل فلافونيد منها طريقة روبنسون ورفقاء والتي تم استخدامها لتحضير العديد من الفلافونيات بغية المقارنة بينها وبين فلافونيات طبيعية من حيث الخواص، إذ تلخص هذه الطريقة في تسخين مشتق ارثوهيدروكسي فينون مصدر الحلقة A مع خليط من ملح الصوديوم وحمض عطري مستبدل لامائي مصدر الحلقة B كما يوضحه الشكل 06. [26].



05: ي تحضير الفلافونيدات.

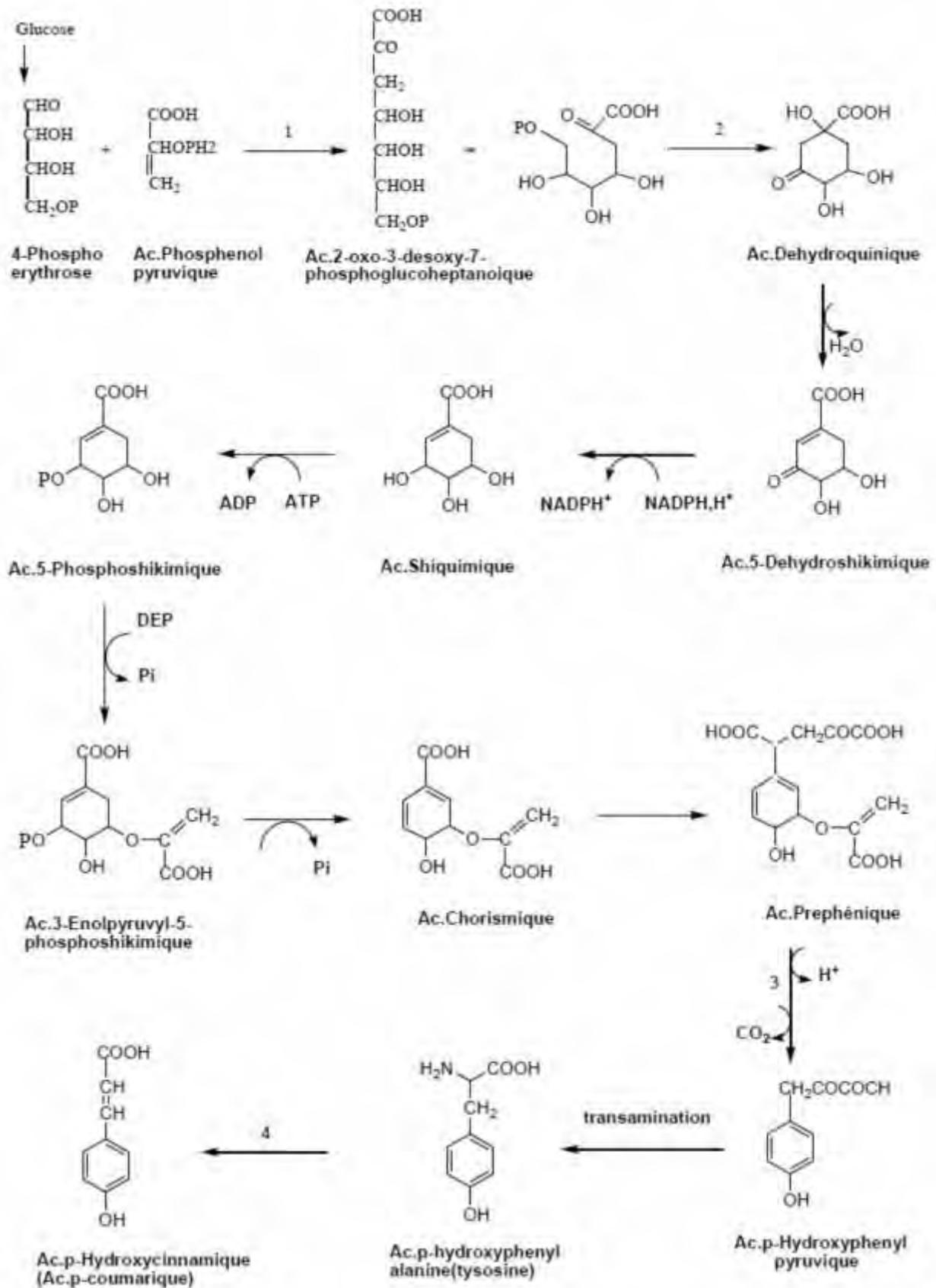
5. الإصطناع الحيوي للفلافونيدات:

إن الإصطناع الحيوي للمركبات الطبيعية ليس إلا الطريقة التي تتكون بواسطتها هذه المركبات داخل مصادرها الطبيعية وذلك عن طريق تفاعلات الأكسدة، الإرجاع وغيرها وهذا طبعا بتوافر إنزيمات خاصة تساعد في سير هذه التفاعلات. و لمتابعة آلية هذه التفاعلات تم إجراء تجارب عدة باستعمال النظائر الموسومة بـ ^{14}C المشع، فمثلا لاحظ الباحث "Robinson" سنة 1936 [27] أن استبدال النواتين البنزينيتين للمركبات الفلافونيدية مختلف جوهريا فاستنتج أنه ليس لهما نفس الأصل الوراثي الحيوي و عليه تتم عملية الاصطناع الحيوي خلال ثلاث مراحل:

1.5. _____:

• طريق حمض الشيكيميك:

أثبت الباحث " Davis " سنة 1955 [28] دور حمض الشيكيميك في تكوين الحلقة (B) و السلسلة الكربونية الثلاثية (C_3) و ذلك بدءا بالغلوكوز، كما هو موضح في الشكل 06:

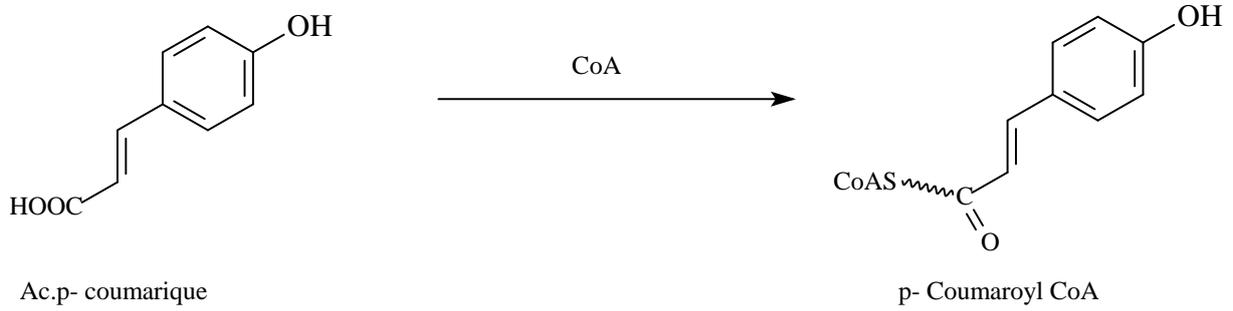


الشكل 06: تكوين حمض Ac.p-Coumarique انطلاقاً من الغلوكوز و مروراً بـحمض الشيكيميك.

الإنزيمات المستخدمة لتكوين حمض Ac.p-Coumarique :

1	Aldolase,3-désoxy-O-arabinoheptulose-7- phosphate synthase ou DHAP synthase.
2	Déshydroquinone synthase.
3	Préphénate déshydrogénase.
4	Tyrosine ammonia-lyase.

يليه تحول الناتج و المتمثل في Ac.p-coumaroyl (Ac.p-coumarique) إلى p-coumaroyl-CoA الذي يكون جاهزا للإتحاد مع Malonyl-CoA في مرحلة قادمة كما موضح في الشكل 07.

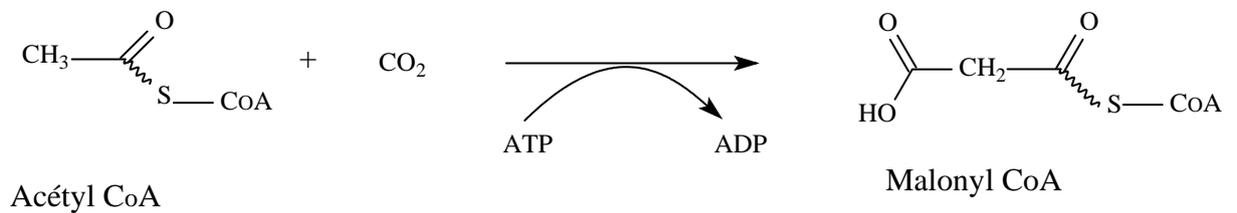


الشكل 07: تحول Ac.p-coumarique إلى p-coumaroyl-CoA.

2.5. المرحلة الثانية:

▪ طريق _____ :

تتشكل الحلقة (A) من تكاتف ثلاث وحدات من Malonyl - CoA الناتجة من تثبيت مجموعة كربوكسيل مع أستيل مرافق- إنزي Acétyl -CoA وهذا ما يوضحه الشكل 08.

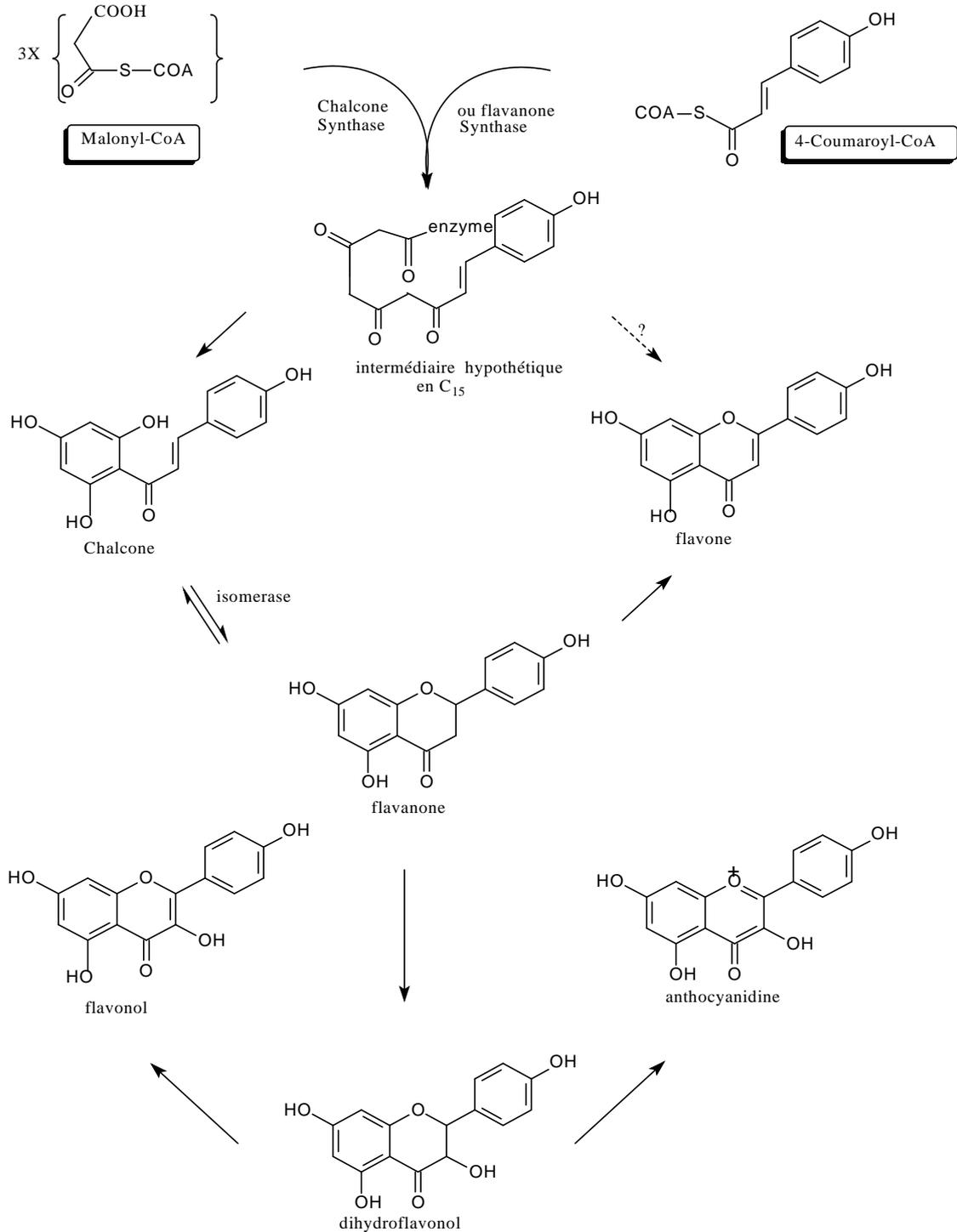


الشكل 08: تشكيل Malonyl CoA انطلاقا من Acétyl CoA و CO₂.

3.5. _____ :

طريه _____ :

يعتبر الشالكون النواة الرئيسية التي تتحدر منها مختلف هياكل الفلافونيدات و الذي يتكون من تكاثف ثلاث وحدات من malonyl-CoA مع coumaroyl-CoA - 4 و الشكل 09 يوضح ذلك [17].

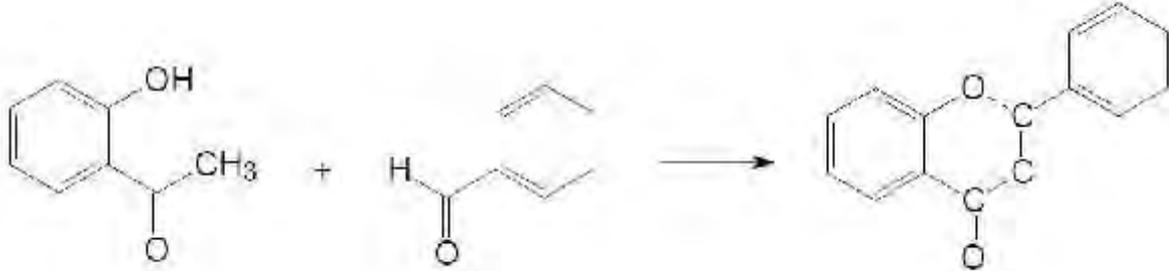


09: بعض الهياكل الفلافونيدية التي تتحدر من الشالكون.

: .6

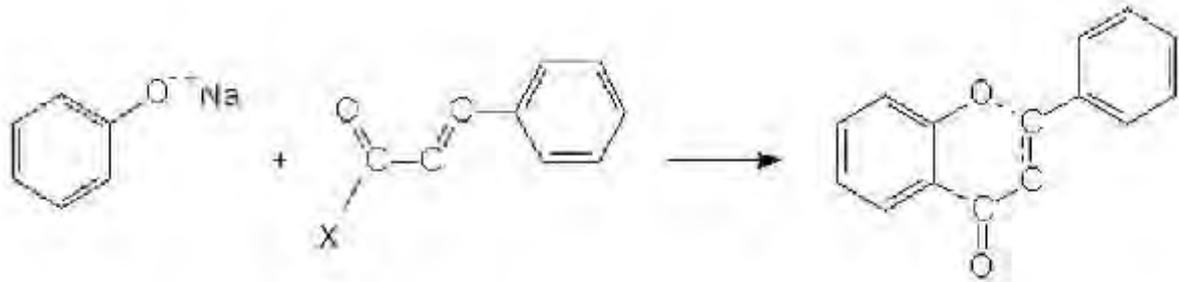
توجد نظريا طريقتين للتصنيع المخبري للفلافونيدات وهي [29]:

- التكاثف الألدولي كما هو موضح الشكل 10:



:10

- أسالة الفينولات كما هو موضح الشكل 11:



:11 أسالة الفينولات.

1.6. تصنيع الشالكون:

يمكن الحصول على الشالكونات و ذلك بالتكاثف الألدولي لـ 2-hydroxyacetophenone مع

المشتقات البنزينية الألهدية benzenaldehydes في الوسط الحمضي او القاعدي الشكل 12.

تحدث عملية تحلق للشالكون و ذلك في الوسط الحمضي الذي يؤدي إلى ظهور الفلافانون وفق تفاعل

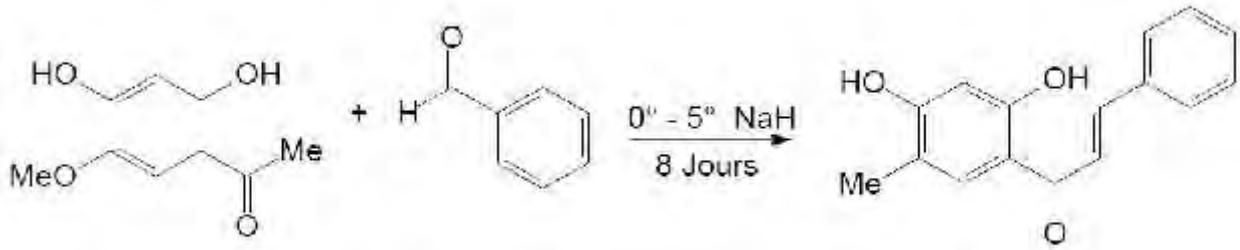
متوازن (شالكون- فلافانون)، إلا أن هذا التوازن ينزاح بشكل شبه كلي إلى جهة الشالكون و هذا في حالة

وجود هيدروكسيل حر في الموقع 4 بالنسبة للشالكون[29].

التفاعل في الوسط القاعدي يجرى تحت الشروط التالية:

- درجة الحرارة بين 0م° – 20 م°.
- تركيز القاعدة 50% و 60%.
- الزمن اللازم للتفاعل بين 15-48 ساعة.

و قد لوحظ أن انعدام مجموعات الميثيل يؤدي إلى مردود جيد.

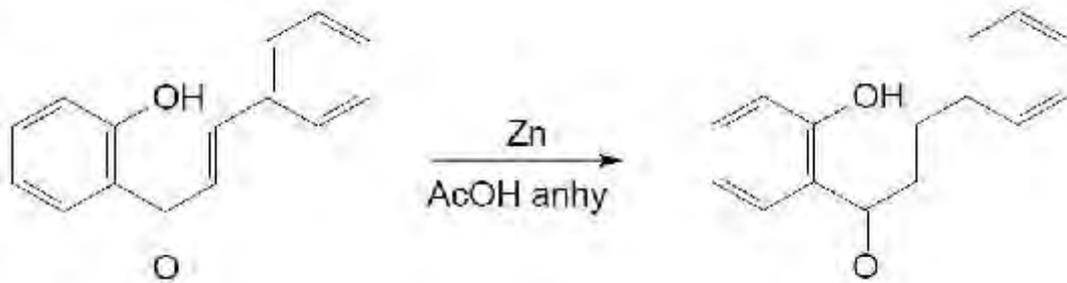


.12

و من أجل الحصول على الشالكونات ذات مجموعات الميثيل انطلاقا من الفلافانون و ذلك بفتح الحلقة في الوسط القاعدي الكحولي ثم الترسيب بالحمض الممدد و تحت حرارة منخفضة و للحصول على مردود جيد ينبغي عدم وجود هيدروكسيل حر في الوضع 5 بالنسبة للفلافانون.

2.6. تصنيع ثنائي هيدرو :

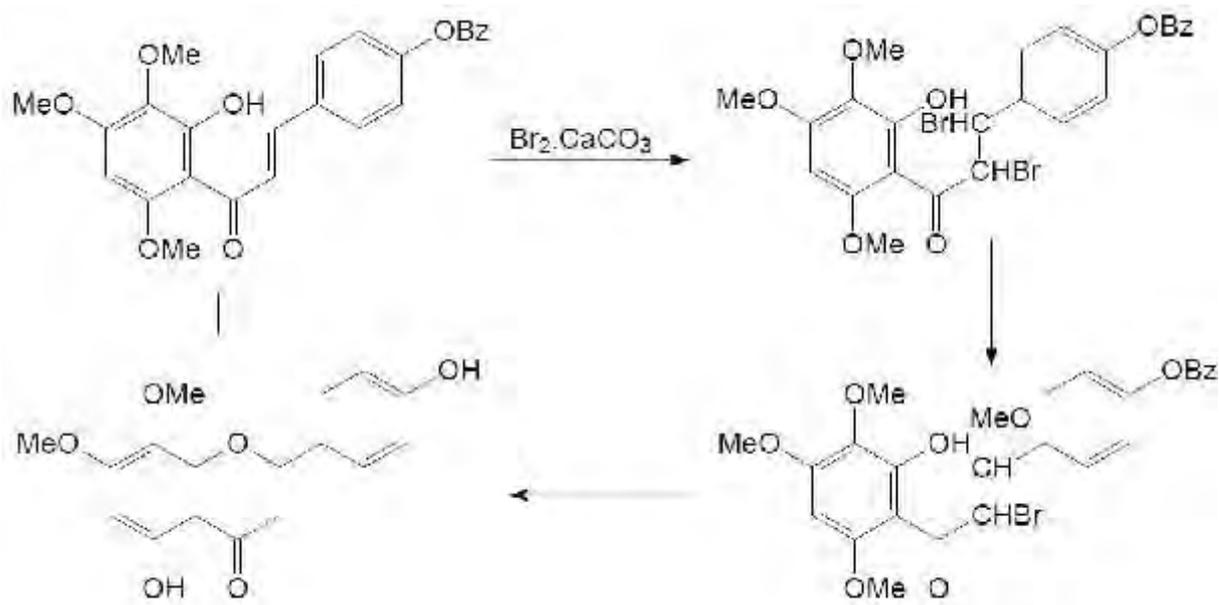
نتحصل على ثنائي هيدروشالكون وذلك من تكاثف الفينولات مع مشتقات حمض ثنائي هيدروسيناميك acide dihydrocinnamique أو بهدرجة الشالكون أو الفلافانون [29] كما في الشكل 13.



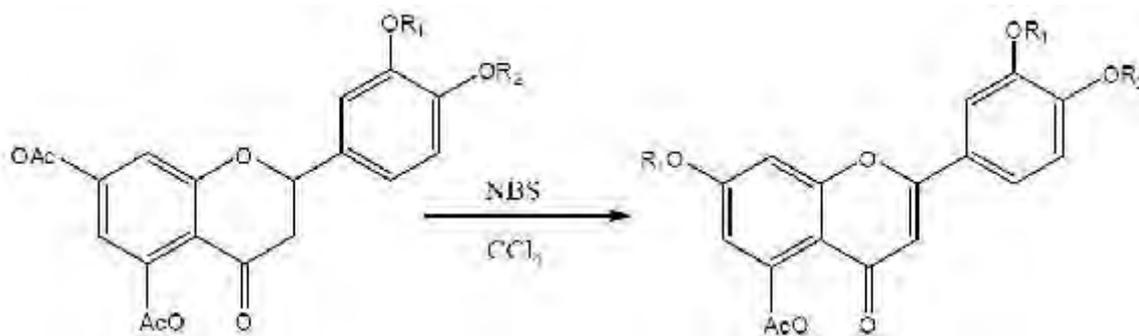
.13

3.6. تصنيع الفلافون:

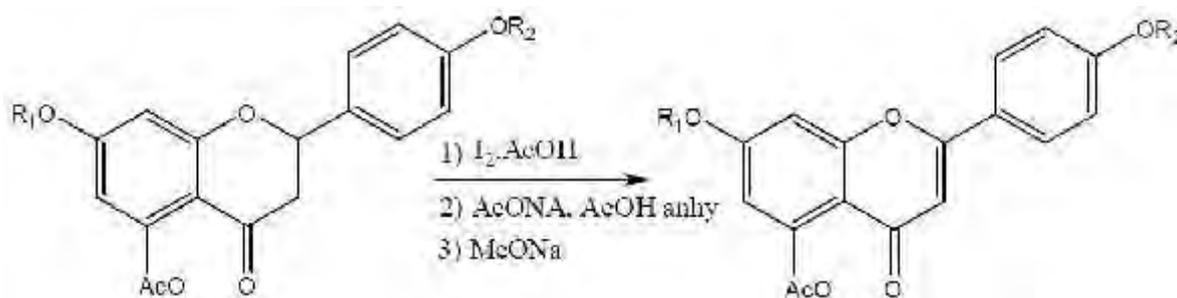
نتحصل على الفلافون [29] كما هو موضح في الشكل 14 و 15:



.14



	R₁	R₂	----->		R₁	R₂
a	Ac	H	----->	A	H	H
b	Me	Ac	----->	B	Me	H
c	Ac	Me	----->	C	H	Me

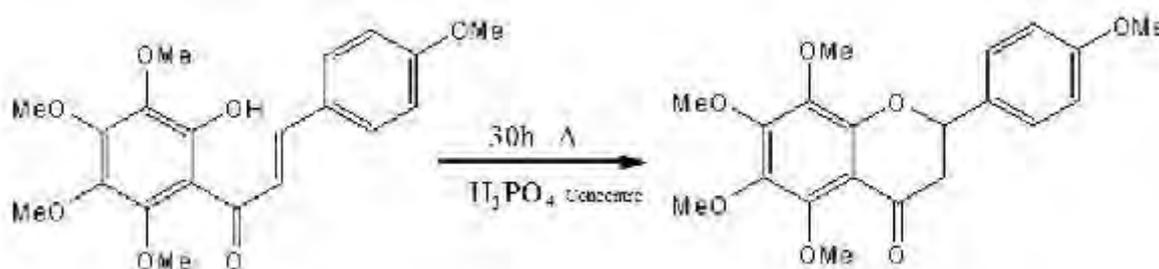


	R₁	R₂	----->		R₁	R₂
a	Sucre	Ac	----->	A	Sucre	H
b	Sucre	Me	----->	B	Sucre	Me

.15

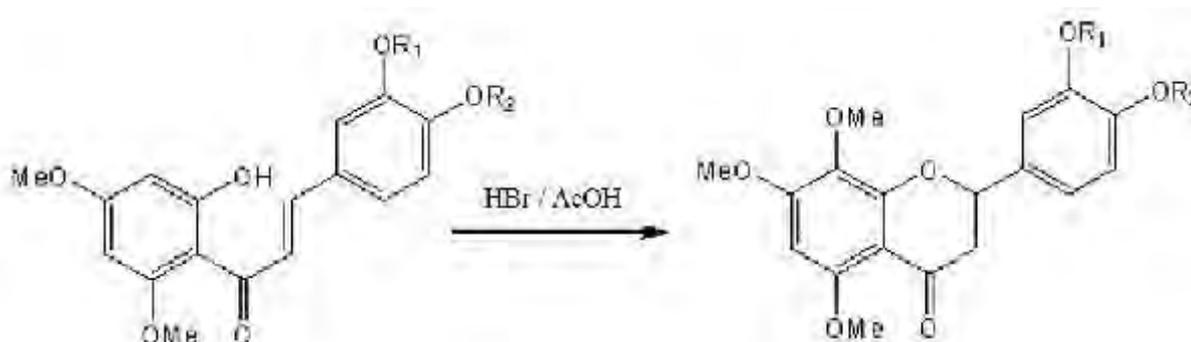
4.6. تصنيع الفلاف :

انطلاقاً من الشالكون يتم الحصول على الفلافانون و هذا بغلق الحلقة و قد لوحظ أن وجود هيدروكسيل حر في الموضع '6' بالنسبة للشالكون يؤدي إلى مردود جيد و يمكن أن نذكر أيضاً أن الفلافانون المستبدل في الموضع 8 لا يمكن الحصول عليه إلا تحت شروط صعبة [29] الشكل 16 يوضح ذلك.



.16

هناك أيضاً تفاعلات خاصة تمكننا من الحصول على فلافانون خاص وهو ما يبينه الشكل 17.

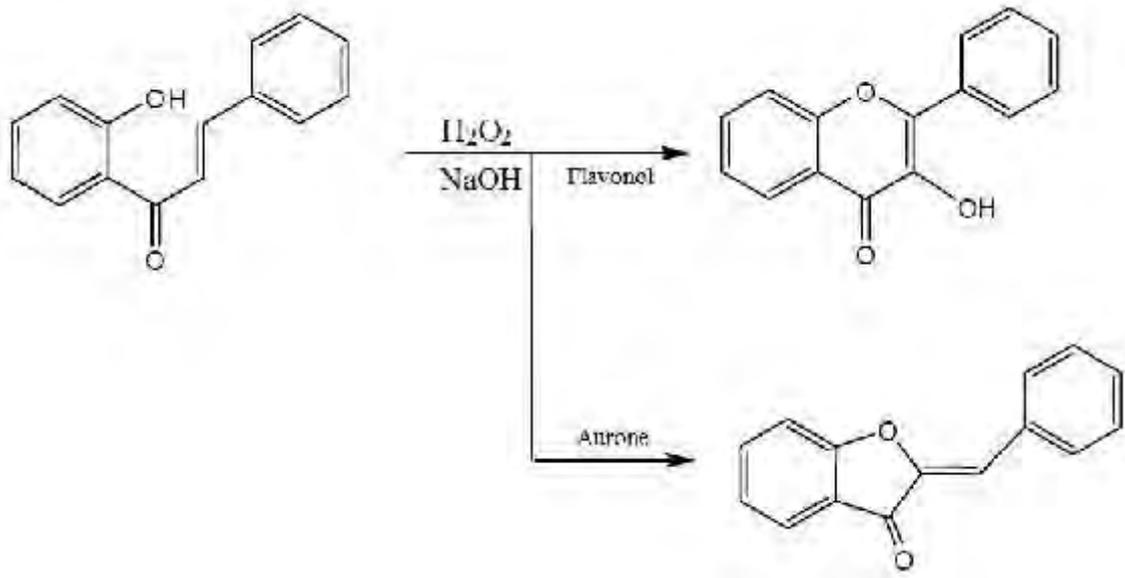


	R ₁	R ₂	----->	R ₁	R ₂
a	Bz	Me	----->	A	Me
b	Me	Bz	----->	B	H

.17

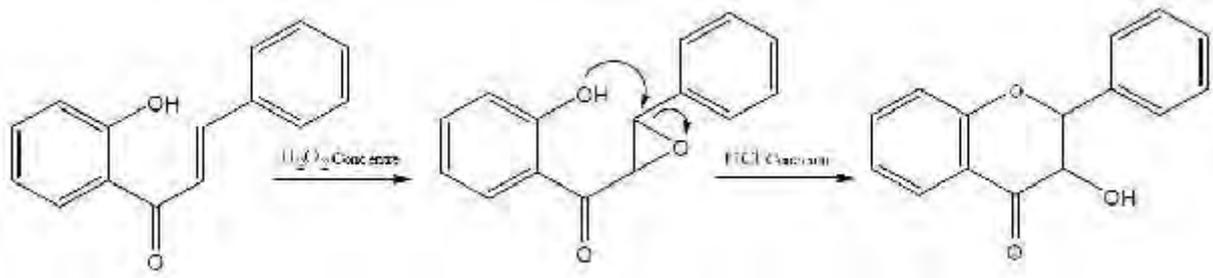
5.6. تصنيع الفلافونول و الأورون:

لوحظ أن شروط التفاعل وجود المستبدلات لها تأثير كبير على مردود التفاعل، فبالنسبة للمستبدلات لوحظ أن وجود هيدروكسيل في الموضع 2 و الموقع 4 بالإضافة إلى مجموعة ميثوكسيل في الموضع '6' فإن مردود التفاعل يزداد باتجاه الحصول على الفلافونول [29] الشكل 18 يوضح هذا. أما الشروط المثالية لحدوث هذا التفاعل فهي: 20% NaOH و H₂O₂ بين 5% - 30%.



6.6. تصنيع ثنائي هيدروفلافونول:

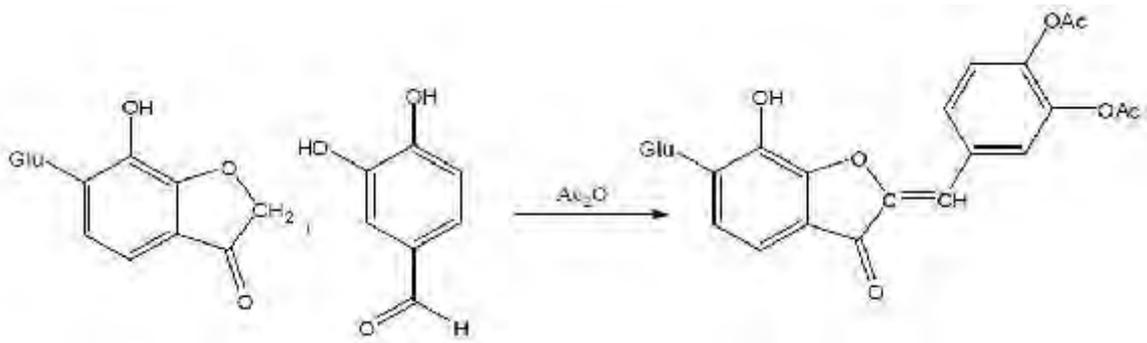
كما في الشكل 19:



يمكن إجراء الخطوة الثانية من هذا التفاعل في وجود حمض HCl المركز كما نستطيع إستعمال HCl النقي و حمض الخل البلوري و هذا في وجود BF_3 و الإثير كمذيب [29].

7.6. تصنيع الأورون:

الطرق العملية المستعملة تقريبا كلها تعتمد أساسا على تكاثف الكومارين مع الألدهيدات العطرية في وسط حمضي (الشكل 20) إلا أنه في حالة وجود سكريات كمستبدلات لا يمكن استعمال هذه الطريقة التي تتطلب وجود حمض HCl لذا فإننا نلجأ إلى تفاعلات أخرى [29].

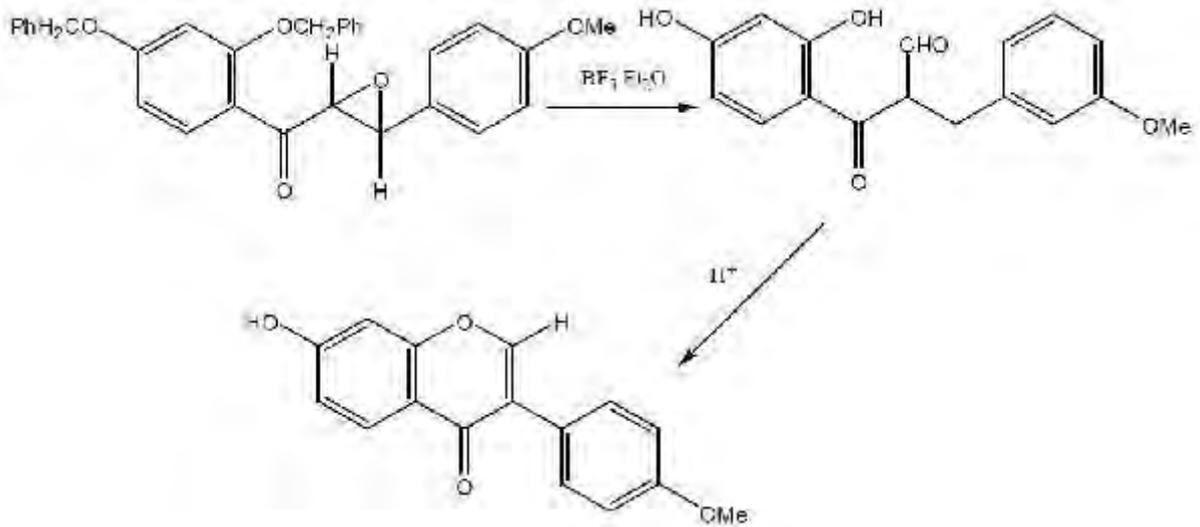


.20

8.6. تصنيع إيزوفلافون:

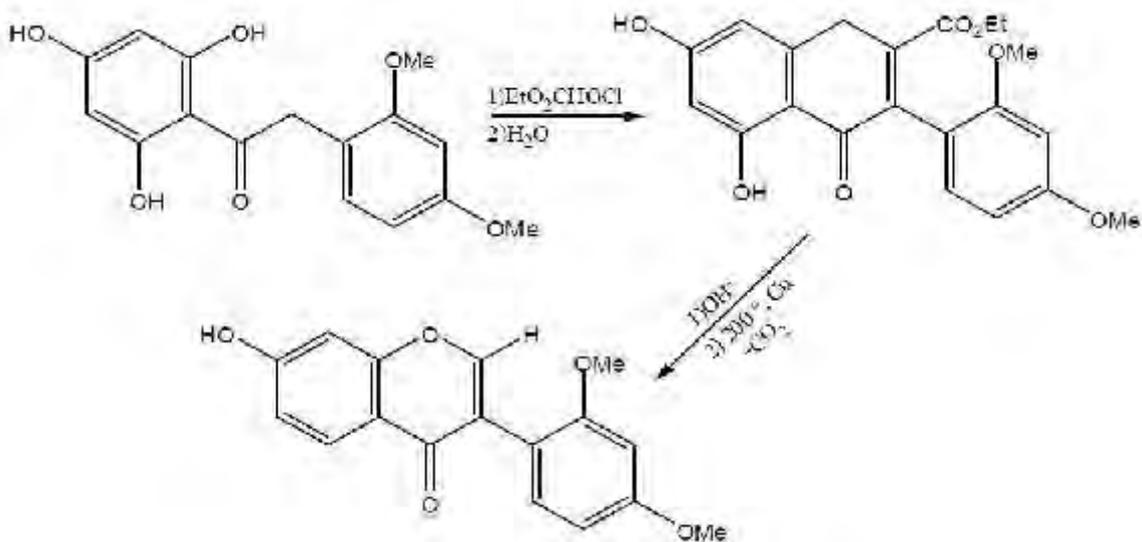
هناك ثلاثة طرق للتصنيع المخبري للإيزوفلافون [29].

- الطريقة الأولى: موضحة في الشكل 21.



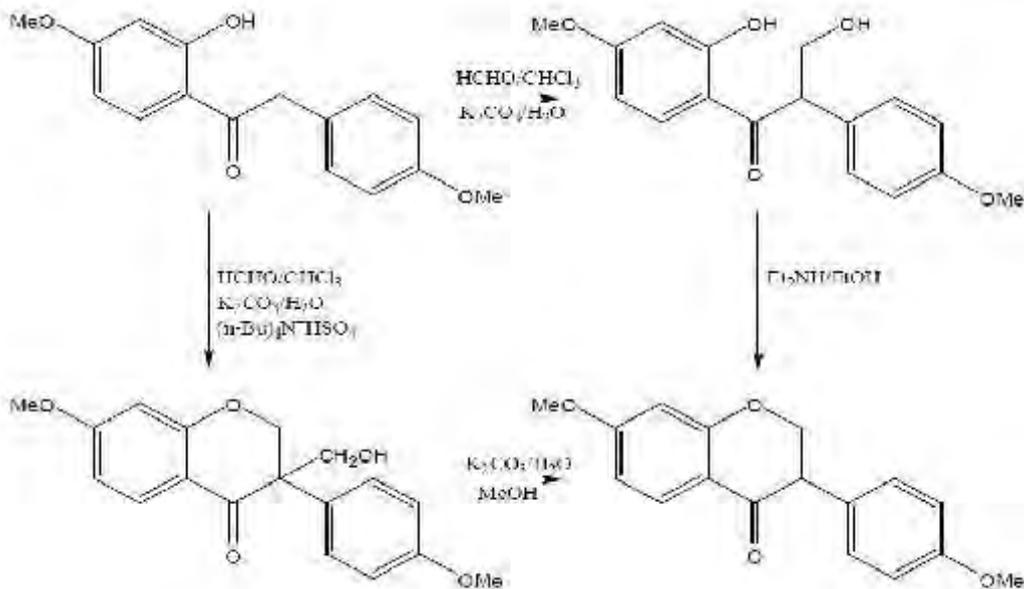
.21

- الطريقة الثانية: موضحة في الشكل 22.



.22

• الطريقة الثالثة: موضحة في الشكل 23 [30].



.23

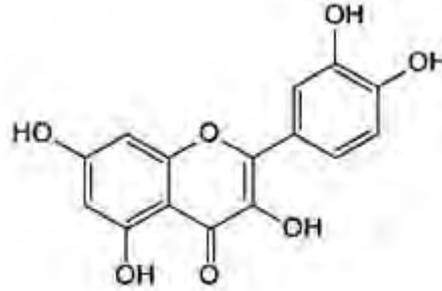
7. تثبيت الاستبدالية هيكل الفلافونيدي:

1.7. تثبيت مجموعات الهيدروكسيل:

إن مجموعات الهيدروكسيل المثبتة في الموضعين 5 و 7 للهيكل الفلافونيدي، تعد مجموعات أصلية، لأنها تتشكل قبل تشكيل الحلقة العطرية (A) [31-32].

أما بالنسبة للحلقة (B) فتكون مستبدلة في الموقع '4 في معظم الحالات وهذا قبل مرحلة تشكيل الشالكون [33].

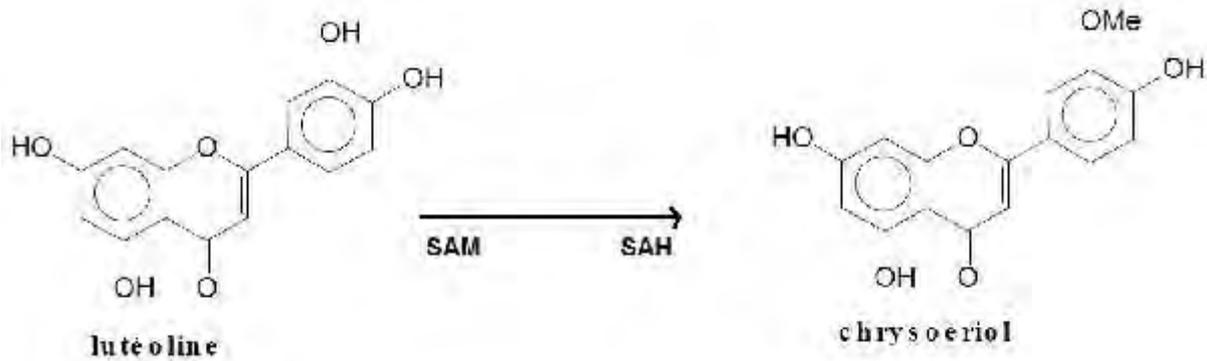
بينما يكون الإستبدال في الموقع 3 لمجموعة الهيدروكسيل في مرحلة تشكيل الشالكون. و بعد مرحلة تشكيل الشالكون إذا كان الإستبدال في المواقع '3 و '5 فإنه يتم بعد غلق الحلقة (C) [34].



Quercétine

2.7. تثبيت مجموعات الميثيل:

إن تثبيت الميثيل يأتي بعد تثبيت الهيدروكسيل و يستوجب هذا وجود إنزيم خاص-O-méthyl-transférase كمانح للميثيل (SAM) [35]، فهذه العملية تتم قبل تكوين الشالكون أو بعد تكوين الفلافونيد في وجود المانح للميثيل ومثال عن ذلك تثبيت ميثيل الموضع méta (3') على الحلقة (B) في مركب Lutéoline كما يوضحه الشكل 24 [36].

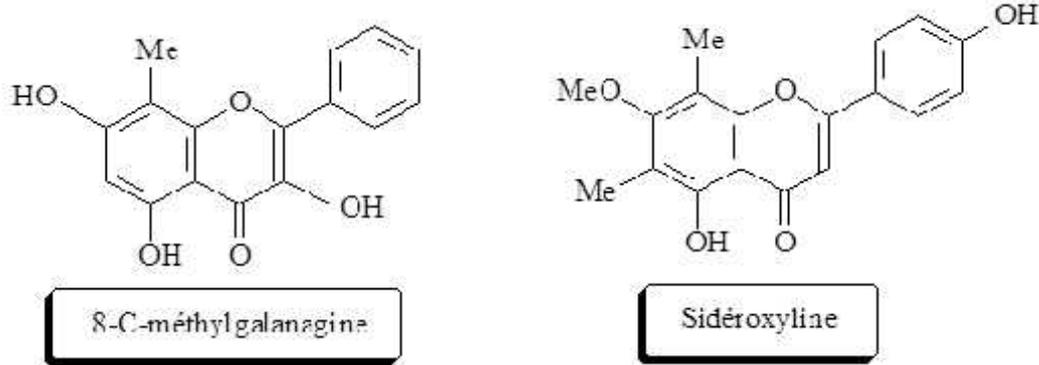


SAM : adénosylméthionine
SAH : adénosylhomocysteine

24: تثبيت مجموعة الميثيل.

من الممكن أن تكون الرابطة بين الأجليكون و الميثيل من النوع كربون - كربون، و يكون هذا النوع من الإستبدال عادة في الموقعين 6 أو 8 و أحيانا في المواقع 3 و 7 مثال عن ذلك [37]:

8-C-méthylgalangine كما ان هناك مركبات تحتوى على نوعين من الإرتباط C-Me و C-OMe مثال عن ذلك: Sidéroxyline.

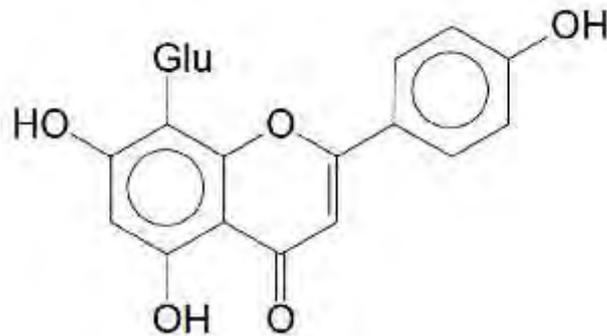


3.7. تثبيت جزيئات:

توجد المركبات الفلافونويدية على هيئة جليكوزيدات، أي تدخل وحدات سكرية في بناءها والتي تثبت على الأجليكون بطريقتين:

• الطريقة الأولى:

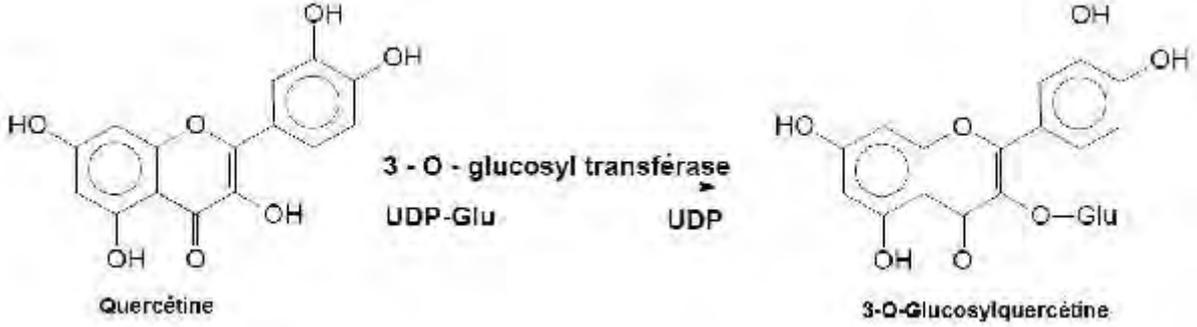
تثبيت جزيئية السكر على الأجليكون بحيث تتشكل رابطة بين ذرة الكربون الأنوميري C₁ للجزيء السكري الذي غالبا ما يكون Glucose أو Galactose و كربون الحلقتين A و B. ينشأ عن هذا النوع من الإرتباط ربطة من نوع كربون - كربون بعد تكوين الشالكون مباشرة وهي ربطة مقاومة للأحماض و هذا الإرتباط عادة ما يكون في الموقعين 6 و 8 للأجليكون الذي في الغالب ما يكون فلافونا و مثال على ذلك الشكل 25 [38].



.Vitexine :25

• الطريقة الثانية:

و يتم الإرتباط فيه لجزيئية السكر بذرة أكسجين مجموعة الهيدروكسل مباشرة أي على الشكل (o-heterosidique) وعادة ما يكون التثبيت في الموقع 7 للفلافونات و في الموقع 3 ويحدث هذا في وجود أنزيم (O-glucoside-transférase) و مانح للسكر الشكل 26 [39]:
من بين السكريات التي ترتبط بهيدروكسل الأجليكون نذكر منها: D-glucose و D-galactose و D-xylose و L-arabinose و L-rhamnose و غيرها.



26: تثبيت جزيئات السكر في وجود إنزيم ومانح السكر.

8. الكشف عن الفلافونيدات:

تستخدم العديد من الكواشف للكشف عن الفلافونيدات، حيث تعطي ألوانا مميزة لكل مجموعة فلافونيدية، فاستخدام محلول كلوريد الألمنيوم (5%) يعطي بقعا صفراء مع الفلافونيدات التي تحوي مجموعة هيدروكسيل في الموضع رقم 5. كما تعطي جميع الفلافونيدات ألوانا صفراء أو برتقالية مع هيدروكسيد الصوديوم. كما يمكن استخدام محلول (vanilline-HCl 5%) للتعرف عن الفلافونيدات حيث يؤدي إلى ظهور بقع حمراء بعد رشه (ظهور البقع يكون في الحال، أو بعد التسخين خفيف) [18].

ثانياً: الإستخلاص، الفصل و التنقية:

1. :

بعد قطف المادة النباتية، تجفف في الظل محفوظة بعيدا عن مؤثرات خارجية (الغبار، الرطوبة، أشعة الشمس..الخ) ثم يلي ذلك تنقيتها وفرز أجزائها ثم طحنها. وقد نستعمل كل أجزاء النبتة، كما قد نؤخذ الجزء الهوائي كاملا أو الجذور لوحدها أو سيقان أو أوراق أو زهور فقط، و عموما تتواجد الفلافونيدات في الأجزاء الهوائية، حيث فيه يتم الاصطناع الحيوي للفلافونيدات و ذلك لارتباطه بالعامل الضوئي.

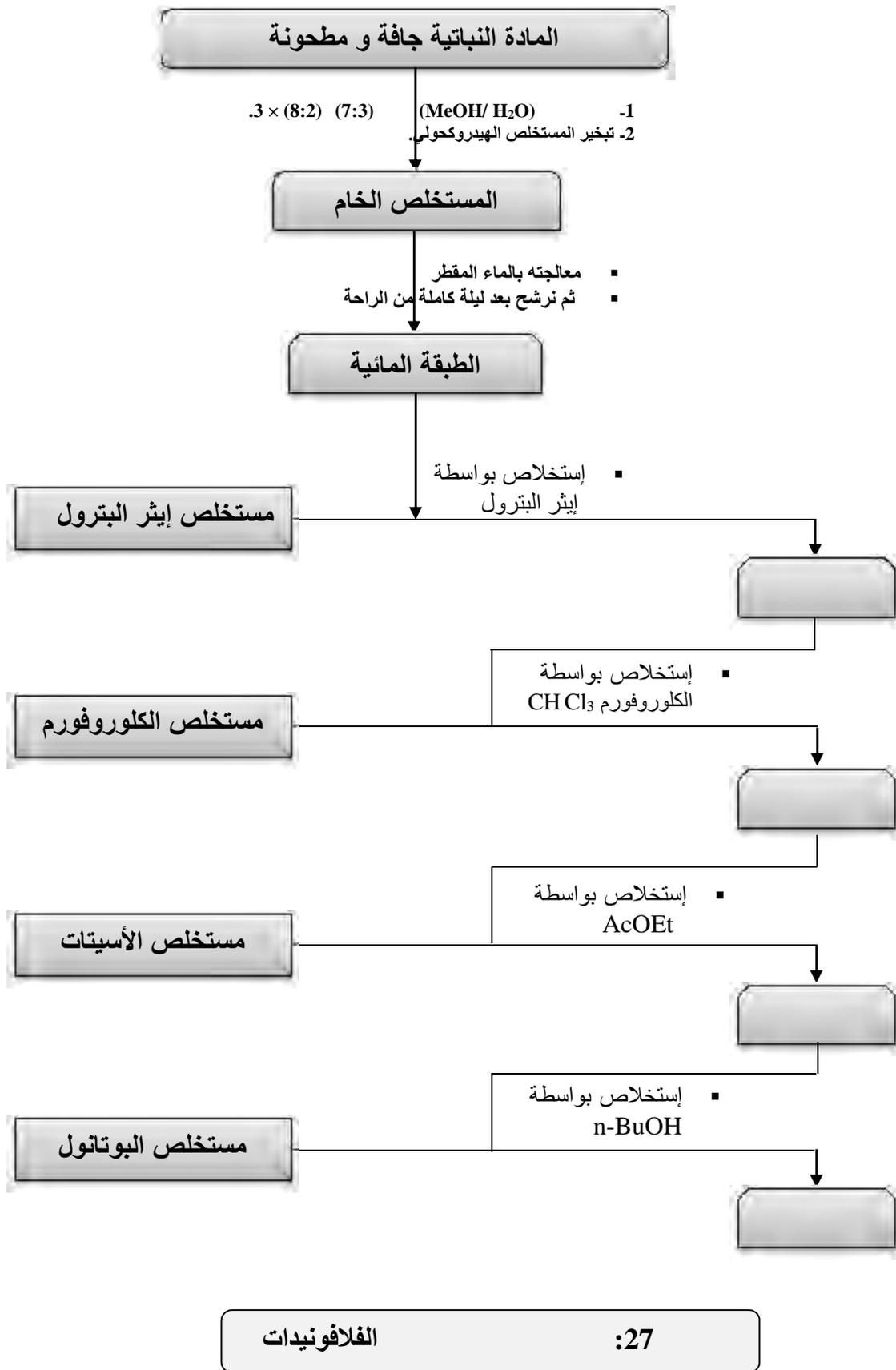
و يتم استخلاص الفلافونيدات وفق بروتوكول حدده العالم (1967) LEBRETON [40] و المعدل من قبل (1972) BOUTARD [41] ثم (1973) GONNET [42] ثم (1975) JAY [43]، إلى أن أصبح هذا البروتوكول يتبع كما هو إلا في بعض الحالات التي يحتاج فيها إلى تغيير في طريقة الاستخلاص لغرض استخلاص مواد أو فئة معينة من المركبات. وتتم عملية الإستخلاص بعدة مراحل:

بعد تجهيز المادة النباتية وبعد طحن أجزائها نبدأ بعملية الاستخلاص الأولية باستعمال خليط من محلولين، و في الغالب ما نستعمل خليط مكون من (ماء-ميثانول) و بنسب (8/2) أو (7/3)، و نستعمل الميثانول بنسبة 100% في حالة ما إذا كانت المادة النباتية طرية.

تغمر المادة النباتية في المحلول الهيدروكولي على البارد و تترك لمدة لا تقل عن 24 ساعة ، ثم يرشح هذا الأخير و يتم تبخيره تحت الضغط المنخفض حتى الجفاف و تكرر هذه العملية ثلاث مرات أو أكثر ثم يعامل المستخلص الخام بواسطة الماء المقطر المغلى و يترك 24 ساعة بعدها يرشح المحلول، أين يتم التخلص من الشوائب كالأتربة إضافة إلى الكلوروفيل، الدهون [44].

لنمر بعدها لعملية الإستخلاص من نوع سائل – سائل و هذا باستعمال مذيبات متفاوتة القطبية قصد فصل المركبات الضعيفة القطبية عن تلك ذات القطبية الكبيرة [45].

وهذا كما يوضحه الشكل 27:



عند الإنتهاء من عملية الاستخلاص نركز كل الأطوار العضوية حتى الجفاف و يتم هذا تحت ضغط منخفض، و تكون بذلك المستخلصات جاهزة لعمليات الفصل المختلفة.

قبل الشروع في عملية الفصل نقوم بعملية كشف أولية عن طبيعة الهيكل الفلافونيدي: بحيث هناك مجموعة من الوسائل التي يتم الاستعانة بها للكشف عن طبيعة الهيكل الفلافونيدي في مستخلصات الخامة منها كروماتوغرافيا الورق و كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، إضافة إلى اللون الإستشعاعي تحت الأشعة فوق البنفسجية التي تعتبر أهم وسيلة للكشف عن ما تحويه هذه المستخلصات من هياكل فلافونيدية محتملة، كما تستخدم العديد من الكواشف للدلالة على وجود الفلافونيدات في المركبات الطبيعية، حيث تقوم بإعطاء ألوانا مميزة على حساب نوع المجموعات المختلفة المتصلة بالهيكل الفلافونيدي. و من بين هذه الكواشف كلوريد الألومنيوم $AlCl_3$ 5 % الذي يعطي بقعا صفراء تحت الأشعة فوق بنفسجية UV عند (365 نم) قبل و بعد الرش بهذا الكاشف ، كما تعطي الفلافونيدات ألوانا صفراء أو برتقالية مع كاشف هيدروكسيد الصوديوم و تعطي ألوانا صفراء إلى برتقالية مع حمض الكبريتيك. و من الكواشف المستخدمة أيضا للتعرف عن الفلافونيدات محلول *anisaldéhyde* أو محلول *Vanilline chlorhydride*. كما تستعمل أبخرة محلول النشادر NH_3 أيضا.

2. :

يعتمد الفصل على تقنية أساسية و هي الكروماتوغرافيا بمختلف أقسامها، و كلمة " كروماتوغرافيا " تستخدم للإشارة إلى تقنيات الفصل المختلفة و التي تعتمد جميعها على توزيع المادة تحت الدراسة بين طورين أحدهما ثابت و الآخر متحرك، حيث الأول قد يكون جامدا أو سائلا ممتازا على دعامة جامدة، أما الثاني في الغالب ما يكون مذيبا عضويا [46].

في سنة 1903 تم اكتشاف الكروماتوغرافيا من طرف العالم الروسي TWEST وهي طريقة تحليلية وتحضيرية لفصل مكونات خليط ما.

وتقسم تقنيات الفصل الكروماتوغرافي إلى عدة أنواع من بينها [47]:

- كروماتوغرافيا العمود (CC).
- كروماتوغرافيا الورق (CP).
- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).
- كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC).
- كروماتوغرافيا الغازية المتصلة بمطياف الكتلة (GC-MS).

1.2. كروماتوغرافيا العمود (CC):

تستعمل هذه طريقة لفصل خليط معقد يحتوي على عدد كبير من المركبات، و الهدف الأساسي منها هو الحصول على كسور أقل تعقيدا يمكن فصلها بالطرق الكروماتوغرافية الأخرى و يستعمل لهذا الغرض كدعامة ثابتة كل من (السيليكاجال، السيليلوز، و متعدد الأמיד).

حيث يعتبر السيليكاجال دعامة جيدة لفصل الفلافونيدات الأقل قطبية، أما السيليلوز فيستخدم لفصل الفلافونيدات الجليكوزيدية خاصة، على عكس متعدد الأמיד الذي يعد أفضل دعامة لفصل المركبات الفلافونيدية على اختلاف أنواعها الجليكوزيدية و غير ذلك.

و يمكن وصف هذه التقنية كما يلي :

يؤخذ العمود الذي تختلف أبعاده باختلاف كمية المستخلص و يثبت بواسطة حامل و يوضع القطن في الأسفل و يعبأ بالطور الثابت المشبع بالمذيب الأقل قطبية و يوضع القليل من الرمل الخاص يسمى (Bleau sable de Fontaine) حوالي 1 سم و هذا لأجل تسوية السطح جيدا. ثم نقوم بوضع المستخلص و هناك طريقتان أساسيتان لوضع المستخلص في العمود.

- _____ : أين يتم إذابة المستخلص في أقل كمية ممكنة من الميثانول ، نضيف لمحلول المستخلص كمية من مسحوق البولي أميد SC6 او السيليكاجال و نركز هذا الخليط حتى نحصل على مسحوق جاف الذي يضاف إلى العمود الكروماتوغرافي، مع الحرص دائما على أن تكون طبقة المستخلص قليلة السمك.

- _____ : يذاب المستخلص المراد فصله في أقل كمية ممكنة من الميثانول، و بواسطة ماصة باستور يتم وضعه على سطح الرمل مع الحرص على عدم إتلافه للتخلص من كمية الميثانول التي ذوبنا فيها المستخلص يتم غسل العمود بكميات من التولوين كافية لإزالة كل الميثانول المستعمل. 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 [48] [49].

2.2. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM):

تستعمل هذه التقنية لفصل عدد قليل من المركبات، ثلاثة حتى أربعة مركبات على الأكثر، و إلا فمن الأفضل الرجوع إلى كروماتوغرافيا العمود.

نستعمل في هذه التقنية شرائح من الزجاج ذات أبعاد (20 × 20 سم) حيث تحضر طبقة رقيقة من الدعامة الصلبة تكون عبارة عن متعدد الأמיד أو السيليكاجال أو السيليلوز على هذه الشرائح.

ثم يوضع الخليط المراد فصله عرضيا على بعد 1.5 سم من حافة الصفيحة، 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، و الأنظمة المستعملة كمملصات هي [46]:

■ بالنسبة لمتعدد الأמיד (كدعامة صلبة) :

H2O / MeOH / MEC / Acétylacétone	13 / 3 / 3 / 1
Toluène / MEC / MeOH	4 / 3 / 3
MeOH / H2O / AcOH	18 / 1 / 1

■ بالنسبة لـ : السيليكاجال (كدعامة صلبة) :

AcOEt/H ₂ O/AcOH	8 / 1 / 1
MeOH/CH ₂ Cl ₂	1 / 9 ou 2 / 8 ou 5 / 5

و يمكن تحديد المسافة التي قطعتها كل بقعة أو حزمة و تعرف النسبة بين هذه المسافة و تلك التي قطعها المذيب باسم معامل الإعاقة أو ثابت الانحباس Rf حيث :

$$Rf = \frac{\text{المسافة التي قطعتها الحزمة من خط الإنطلاق}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب من خط الإنطلاق}}$$

بعد تحديدها بواسطة مصباح UV، و بعد أن تجف الصفائح تكشط كل حزمة و توضع في أرلان أين يتم صب الميثانول و مزج الخليط جيدا لكي يسمح لنا ذلك بإذابة المركب ، ثم يتم ترشيحه في قمع زجاجي به قطن لكي نتخلص من الدعامة الثابتة، بعدها نبخر الرشاحة تحت الضغط المنخفض و نقوم بعدة تحاليل كروماتوغرافية للتأكد من نقاوة المركب، و إن كان غير ذلك فيجب أن نبحث عن نظام فصل آخر.

3.2. كروماتوغرافيا (CP):

تعتبر من أحسن الطرق لفصل المركبات الفلافونيدية وذلك بسبب قدرة الادمصاص الكبيرة كما في حالة ورق واتمان رقم 3 Whatman، تستخدم جمل من المملصات تحتوي على حمض الخل وهذا من أجل تحسين عملية الفصل والمذيبات المستعملة في هذه التقنية:

AcOH	حمض الخل	15 , 20 , 30 %
BAW	BuOH / AcOH / H ₂ O	4 / 1 / 5
TBA	Tertiobutanol / AcOH / H ₂ O	3 / 1 / 1
MAW	MeOH / AcOH / H ₂ O	4 / 1 / 5
Forestal	AcOH / H ₂ O / HCl	30 / 10 / 3

حيث يوضع الخليط بواسطة ماصة على كامل عرض الورقة قريب من الحافة العلوية مع ترك هامش صغير يقدر بـ (2 سم)، و بعد أن يجف تغمس الورقة في المملص أين تبدأ الحزم في الهبوط تسلسليا، 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 [50].

4.2. فيا السائل عالي الأداء (HPLC):

تسمح هذه التقنية بتعيين عدد المركبات التي تحتوي عليها العينة المراد تحليلها في وقت قصير حيث تستخدم ضغوط عالية لدفع المذيب خلال العمود فيجر معه المركبات بصفة انتقائية فتفصل المركبات الأكثر قطبية ثم تليها الأقل لذا فهي نوع من أنواع التحليل الكروماتوغرافي التجزيئي. و هي لا تحتاج إلى

كميات كبيرة من المستخلص وتعطي فصل جيد فيكفي أخذ حجم صغير من المستخلص حوالي (10 – 20 ميكرو لتر) المذاب في الميثانول و يوضع داخل العمود ليعطينا فصلا جيدا لهذا فهي تستعمل في فصل المركبات الطبيعية [51]، و أهم الأنظمة المستعملة في هذه التقنية :

Acétonitrile / H ₂ O / ACOH	10 / 90 / 4
Acétonitrile / H ₂ O / ACOH	80 / 20 / 4

لنحصل في في نهاية الفصل على كروماتوغرام يوضح عدد المركبات الموجودة في المستخلص، ولكل مركب زمن انحباس خاص به.

5.2. تقنية الكروماتوغرافيا الغازية المتصلة بمطياف الكتلة (GC-MS):

تستخدم هذه التقنية لتحليل أو فصل بين طائفة واسعة من المركبات العضوية التي تكون مركبات طيارة ، حيث يحتوي الجهاز GC-MS على عمود الاستشراب الغازي مع الفرن. و لتحليل المركبات المتطايرة يستخدم نظام يكون فيه فخ (piège) يبحث يمكن حجز العينة ويمكن استخدام نظام المكثف (P & T) لإدخال العينات. و تساق المركبات المتطايرة في خط ساخن داخل الفخ وهو عبارة عن عمود به مادة ممتزة عند درجة حرارة الغرفة التي تحمل المركبات من ثم إعادتهم إلى الطور السائل. عندما تسخن المركبات المتطايرة في الفخ ويتم إدخال المركبات إلى العمود GC-MS P&T مناسبة للمركبات المتطايرة (VOCs) ومركبات BTEX (المركبات العطرية المرتبطة بالبتترول).

يتم تحليل المركبات مع التعرف عليها بواسطة تحديد الايون الجزيئي للعينة السائلة والصلبة بواسطة التأين الإلكتروني (EI). كما يمكننا حقن العينة بطريقتان لقياس الوزن الجزيئي: الأولى عن طريق جهاز الـ GC والثانية عن طريق الإدراج المباشر بواسطة وحدة (DI).

ثم نحصل على مطيافية الكتلة MS spectrum لمكونات خليط من مواد عضوية مختلفة، بالإضافة إلى الكروماتوجرام لهذا الخليط وجدول التحليل الكمي له، مثل تحليل الزيوت العطرية والأحماض الدهنية. مقارنة مطياف الكتل للمواد بمطياف قياسية، ومن ثم تعريف المكونات المجهولة. البحث عن مركب محدد بخليط من مركبات عضوية.

3. التنقية:

- وهي عملية مكملة لعملية الفصل وبها يتم التخلص من الشوائب العالقة بالمركبات المعزولة ونستخدم فيها:
- على عمود من متعدد الأמיד SC6: و يتم ذلك باستعمال Toluène كمذيب و إغناؤه قليلا بالميثانول.
- على عمود من السيفادا كس LH20: يستعمل في الغالب مملص واحد من بداية إلى نهاية التنقية، و هذا راجع إلى طبيعة Sephadex LH20 حيث طريقة انتفاخه تختلف من مذيب لآخر [52]. ونستعمل MeOH كمذيب في غالب الأحيان.

و باتباع كل هذه الخطوات يكون قد تم فصل مركبات نقية جاهزة لدراستها بنيويا.

___: الدراسة البنيوية للفلافونيدات:

وتعتمد الدراسة البنيوية الفلافونيدات على:

- 1- الخواص الكروماتوغرافية: وهي المعطيات الأولية و تتمثل في اللون الإستشعاعي و ثابت الانحباس Rf.
- 2- طرق التحليل الطيفي: والتي لها دور مهم في التعرف على بنية المركبات المفصولة، و نخص منها مطيافية الأشعة فوق البنفسجية، أطياف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون 13 و كذا مطيافية الكتلة و غيرها.
- 3- الحلمة الحمضية.

1- الكروماتوغرافية:

1-1 _____:

لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية UV له دور في إعطائنا معلومات أولية على البنية الكيميائية للمركبات الفلافونيدية و الجدول 02 يعطي بعض الأمثلة:
الجدول 02: العلاقة بين لون المركب تحت أشعة UV و بنيته الكيميائية [53][54][55][56]:

لون المركب الفلافونيدي تحت الأشعة	
	- فلافون - فلافون مع OH-5 - فلافونول مستبدل في الموضع 3
بنفسجي نيلي	- فلافونول أو فلافانول يملك هيدروكسيل في الموضع 3 - فلافون أو فلافانول بدون OH في الموضع 5
أصفر أو أصفر باهت	فلافونول مع OH حر في الموضع 3 و مع أو بدون OH في الموضع 5
	إيزو فلافون
	أورون
	بعض الشالكونات
	فلافانول بدون OH في الموضع 5

2-1 Rf

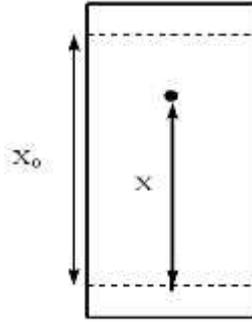
ثابت الإنحباس هو قيمة مميزة لكل مركب في شروط كروماتوغرافية معينة (درجة الحرارة، طبيعة المادة الدامصة، والمملص). وتتأثر هذه القيمة بالمستبدلات ومواقعها على الجزئي فمن خلال قيمة ثابت الإنحباس R_f يمكن التمييز بين الجليكوزيدات أحادية، ثنائية ومتعددة السكر [57] وبين الأجليكونات البسيطة ومتعددة الهيدروكسيل أو متعددة الميثوكسيل.

إن ثابت الانحباس يعبر عن النسبة بين المسافة المقطوعة، من طرف المركب انطلاقاً من نقطة البداية، والمسافة المقطوعة من طرف المملص أو المذيب من نفس النقطة الشكل 28 وهو يعطى بالعلاقة:

$$R_f = \frac{\text{المسافة التي قطعها الحزمة من خط الإنطلاق}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب من خط الإنطلاق}}$$

حيث: x هي المسافة المقطوعة من طرف المركب.

x_0 هي المسافة المقطوعة من طرف المذيب ابتداء من نفس النقطة.



R_f

:28

2- طرق التحليل الطيفي:

1.2. طيفية الأشعة فوق البنفسجية:

تعتبر هذه التقنية مهمة للتعرف على البنية الكيميائية الأولية للفلافونيدات، من حيث مواقع المستبدلات على الهيكل الفلافونيدي، وهي تقنية سهلة، ولا تحتاج الى كميات كبيرة من المركب المراد تحليله. مبدأ هذه التقنية أنه لكل مركب فلافونيدي طيف امتصاص خاص به في وسط كحولي (ميثانول) و يتغير هذا الطيف بإضافة كواشف معروفة سواء كانت قواعد قوية أو أحماض [58]. بحيث تأثر على طيف الامتصاص وتعطينا معلومات على بنية المركب. إضافة كواشف مختلفة مثل $(NaOAc + H_3BO_3)$ ، أو كلوريد الألمنيوم $(AlCl_3)$ إلى الوسط الميثانولي للمركب الفلافونيدي يعطي ألواناً مميزة مع هذه الكواشف، و هذه الألوان تكون نتيجة تكوين معقدات مع هذه الكواشف، و يمكن ملاحظة إزاحة حزم الامتصاص التي تعطي دلالات جيدة عن نوع المجموعات و مكان ارتباطها [59][60].

وتتلخص مراحل و أطوار الفحص في :

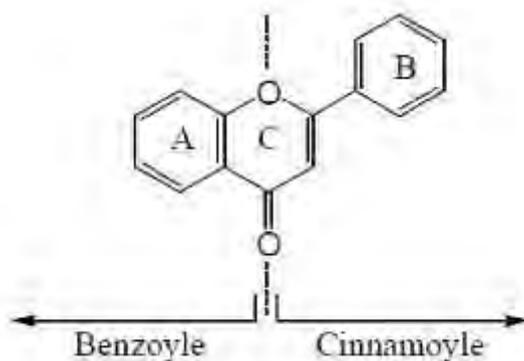
- 1- نضع ميثانول + قطرات من المركب في الخلية ثم نسجل الطيف.
- 2- نفس الخلية السابقة + قطرة أو 2 من NaOH و نسجل الطيف.
- 3- نسجل نفس الطيف السابق بعد 5 دقائق.
- 4- ميثانول + قطرات من المركب ونضيف للخلية قطرات من $AlCl_3$ و نسجل الطيف.
- 5- نضيف للخلية السابقة قطرات من HCl و نسجل الطيف.
- 6- ميثانول + قطرات من المركب ونضيف للخلية NaOAc (على شكل صلب) نسجل الطيف.
- 7- نضيف H_3BO_3 لنفس الخلية السابقة و نسجل الطيف.

1.1.2. يف الامتصاص في الوسط الميثانولي:

يعطي طيف الفلافونيدات التي تحتوي على مجموعة كربونيل في C-4 (فلافونات و فلافونولات) عصابتين مميزتين:

I: محصورة بين (320-380)nm راجعة إلى امتصاص صورة شكل السينامويل (Cinnamoyl) الناتجة من ترافق الحلقة B مع مجموعة الكربونيل.

II: محصورة بين (250-280)nm راجعة إلى امتصاص صورة شكل البنزويل (Benzoyl) الناتجة من ترافق الحلقة A مع مجموعة الكربونيل [59] كما في الشكل 29.



29: ترافق مجموعة الكربونيل مع كل من الحلقتين A B.

إن الوضعية كل من العصابيتين I و II لطيف المنجز في الميثانول يكشف عن طبيعة هيكل المركب الفلافونويدي، إذ تسمح قمة العصابة I بصفة عامة من تمييز الفلافونات عن الفلافونولات [61] و الجدول 03 يوضح أهم الإنزيحات الملاحظة للعصابيتين I و II في الوسط الميثانولي.

03: يوضح قيمة امتصاص الحزمتين I و II لبعض انواع الفلافونيدات في الوسط الميثانولي.

() I max	() II max	نوع الفلافونيد
350 – 310	280 – 250	
360 – 330	280 – 250	" 3-OH "
385 – 350	280 – 250	" 3-OH "
330 – 310	275 – 245	إيزوفلافون
330 – 300	295 – 275	Dihydroflavonol
390 – 340	270 – 230 شدة ضعيفة	
430 – 380	270 – 230 شدة ضعيفة	
560 – 456	280 – 270	أنثوسيانيدين أو أنثوسيانين

تساعدنا إضافة الكواشف المختلفة على تحديد انواع المجموعات البديلة, وكذا مكان ارتباطها في الهيكل الفلافونيدي.

2.1.2. NaOH:

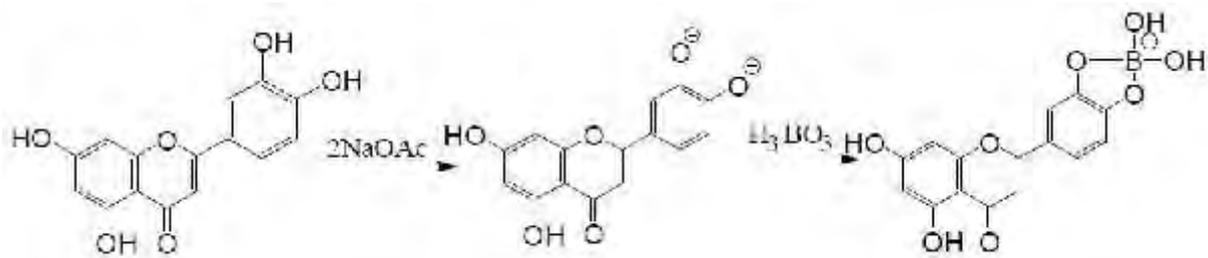
تعتبر كل من NaOH أو NaOMe قواعد قوية تؤين كل هيدروكسيلات الفلافونيد، و إضافتها تحدث إزاحة باثوكرمومية لكل الطيف نتيجة تأثيرها على المجموعات الهيدروكسيل خاصة تلك الموجودة في الموضع 7، 3، 4، [62] و تأثيرها يظهر خاصة على العصابة I.

3.1.2. NaOAc:

يعتبر خلات الصديوم أساسا ضعيفا مقارنة مع NaOH و عليه فهي تؤين مجموعات الهيدروكسيل الأكثر حامضية فقط و التي توجد في المواقع 7، 3، 4! و تعتبر NaOAc كاشفا نوعيا للهيدروكسيل الموجود في الموضع 7 [63].

4.1.2. NaOAc+H₃BO₃:

يشكل خليط أسينات الصوديوم و حمض البوريك معقدات مخلبية مع هيدروكسيلات المركب الفلافونيدي و هذا في الموقع أرثوثنائي هيدروكسيل باستثناء الموقعين 5 و 6 و الشكل 30 يوضح ذلك [54].



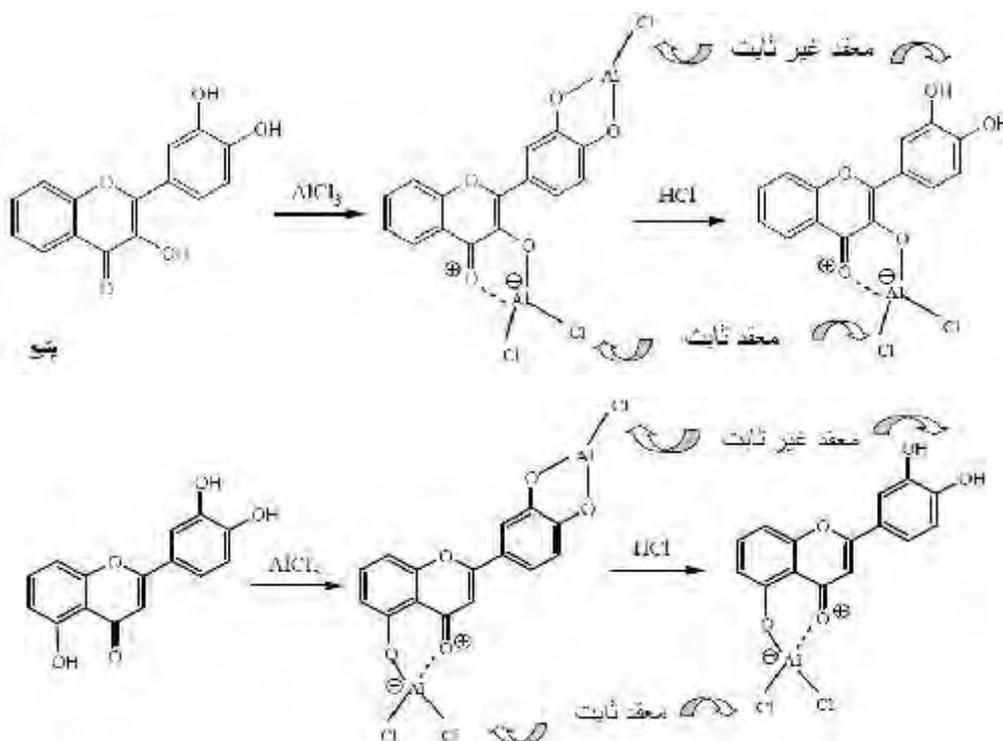
30: المعقد المتكون بين الفلافونيد و خليط $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$

5.1.2 : AlCl_3

يشكل كلوريد الألمنيوم (AlCl_3) معقدات ثابتة مع المركبات التي تحتوي على كربونيل في الموقع 4 و هيدروكسيل الموقع 3 أو 5 في الوسط الحمضي أي بعد إضافة HCl ، ومعقدات غير ثابتة في الوسط الحمضي مع أرثو ثنائي الهيدروكسيل [64] في الموقع (3، '4) أو (7، 8) أو (6، 7).

6.1.2 : $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ AlCl_3

نقارن الطيف المسجل في وجود AlCl_3 مع الطيف المسجل بعد إضافة HCl فيكون انزياح هيبوسكرومي للعصابة I في حالة وجود مركب غير مستقر و هذا معناه وجود أرثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A و B [64] و بذلك يكون طيف AlCl_3 الممثل لتأثير كل المعقدات الثابتة و غير الثابتة أما طيف $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ فطيف المعقدات الثابتة فقط. كما هو مبين في الشكل 31.



31: المعقدات الثابتة وغير الثابتة بين AlCl_3 وبعض الفلافونيدات في وجود و غياب HCl

يمكن تلخيص تأثير كل هذه الكواشف على طيف الأشعة فوق البنفسجية في الجدول 04:

04: يمثل أهم التأثيرات الكواشف على طيف الأشعة فوق البنفسجية.

نيل	الإزاحة الكيميائية		
	II	I	
Flavone	280-250	350-310	MeOH
Flavonol(3-OR)	280-250	360-330	
Flavonol(3-OH)	280-250	385-350	
3,4'-OH أو أرثو ثنائي OH على الحلقة A أو ثلاثة OH متجاورة على الحلقة B	طيف يتحلل مع مرور الوقت.		NaOH
4'-OH	45+ إلى 60+ دون نقصان في شدة الإمتصاص.		
3-OH, 4'-OR	45+ إلى 60 مع نقصان في شدة الإمتصاص.		
7-OH	عصابة جديدة بين 320-335.		
7-OH	5+ إلى 20+ للعصابة II		NaOAc
7-OH مع مستبدل أكسجيني في C ₆ و/أو في C ₈	إزاحة صغيرة للعصابة II		
5,6,7 ; 5,7,8 ; 3,3',4' tri-OH 7-OR في حالتي فلافون 4'-OH, فلافونول فقط	طيف يتفكك بمرور الوقت		
أرثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B	12+ إلى 36+		NaOAc + H ₃ BO ₃
أرثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A (6, 7 أو 7, 8)	إزاحة باتوكرومية ضعيفة		
أرثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B	30+ إلى 40+ مقارنة بطيف HCl+ AlCl ₃		AlCl ₃
أرثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A إضافة إلى أرثو di-OH على الحلقة B	20+ إلى 25+ مقارنة بطيف HCl + AlCl ₃		
5-OH مع وجود مجموعة أكسجينية في C ₆	17+ إلى 20+		AlCl ₃ + HCl
5-OH مع عدم وجود مجموعة أكسجينية في C ₆	35+ إلى 55+		
3-OH أو 3-OH و 5-OH	50+ إلى 60+		
إمكانية 5-OH و مجموعة prenyl في C ₆	دون تغير		

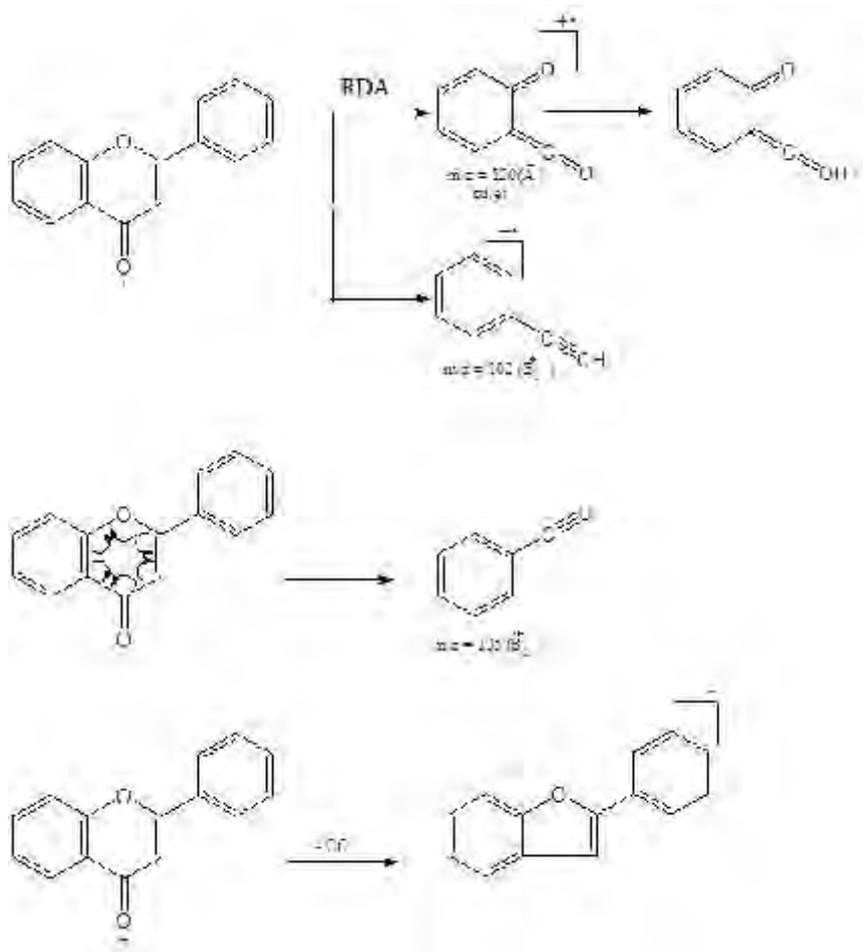
1.2. مطيافية الكتلة:

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

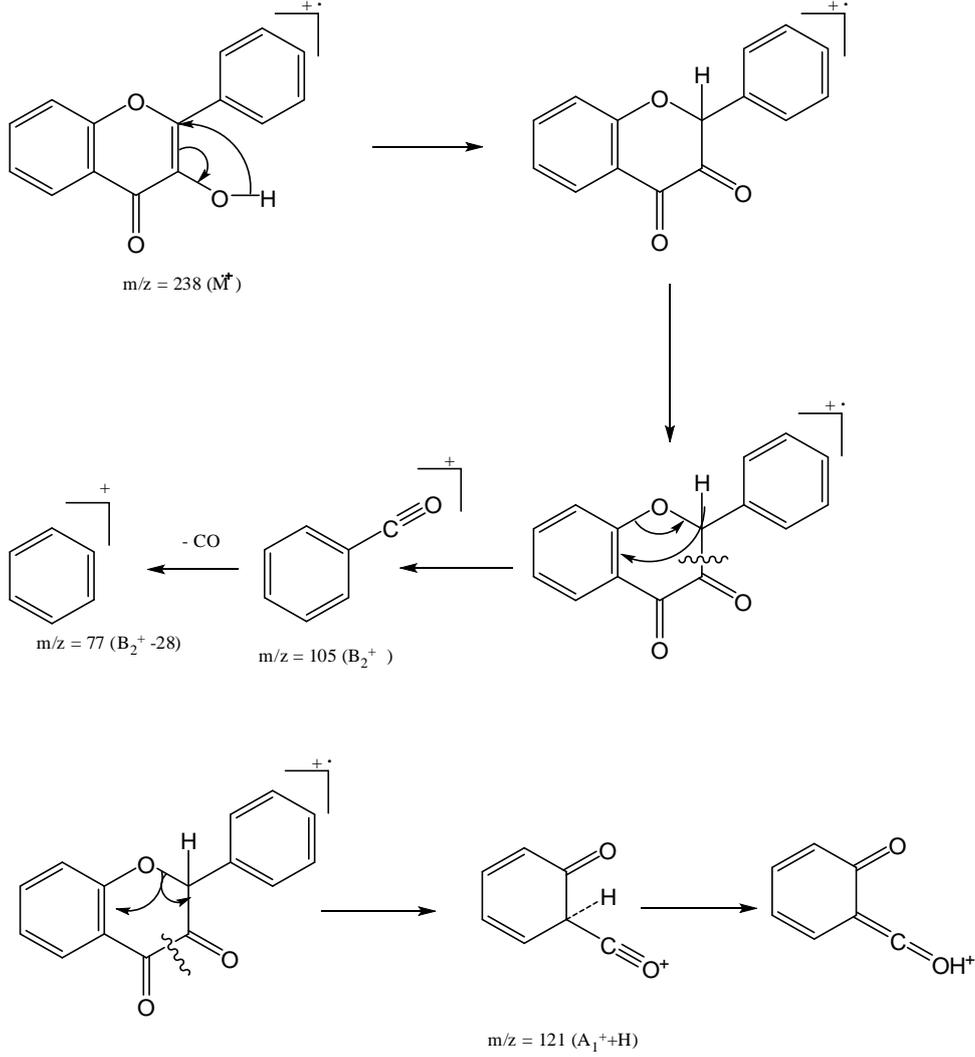
1.2.2. تقنية القذف الإلكتروني (IE):

تستعمل هذه التقنية خاصة في حالة المركبات الأجليكونية [65] [66] ، حيث أن الجليكوزيدات لا تتحمل الطاقة القوية التي تتطلبها هذه التقنية نتيجة للمستبدلات السكرية الموجودة بها، و نتيجة لهذه الطاقة التي يكتسبها الأيون الجزيئي (M^+) تحدث له تشظيات لنحصل بموجبها على الأيونات المميزة للمركب المدروس.

إذن فإن طيف الكتلة IE للأجليكونات وخاصة الفلافون و الفلافونول يحوي على الأيون الجزيئي M^+ و تكون غالبا القمة الأساسية، كما يحتوي على شظايا أخرى تختلف باختلاف نوع الفلافونيد و الشكلين 32 و 33 يوضحان أهم الإنشطارات التي تحدث على الفلافون و الفلافونول.



32: هم الانشطارات التي تحدث على الفلافون.



33: هم الانشطرات التي تحدث على

2.2.2. تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B):

تسمح هذه التقنية بتأين المركبات دون التسخين مما يسمح بثباتها و دراستها. وتطبيق هذه التقنية على المركبات الجليكوزيدات يعطينا معلومات مهمة فيما يخص الجزء السكري منها. اضافة الى ايونات التنشضية العادية للفلافونيدات نحصل على قمم موافقة للايونات شبه الجزيئية من الشكل [67]: $[M+Na]^+$ ، $[M+K]^+$ ، $[M+H]^+$ ، $[M-H]^+$ ، $[M-H+Na]^+$ ويمكن استعمال هاته التقنية FAB^+ او FAB^- ومن مميزاتا :

- تكوين ايونات المركب دون تسخين العينة .

- تكوين ايونات شبه جزيئية.

- تكوين ايونات موجبة وسالبة

- مدة حياة للعينة طويلة.

3.2.2. تقنية الإلتروسبراي (ES):

وهي شبيهة بتقنية FAB لكن وجه الاختلاف يكمن فقط في الطريقة العملية، وتستعمل لدراسة المركبات الطيارة اضافة الى الجزيئات التي تنكسر مثل الجليكوزات O-glucoside. و يتميز طيف الكتلة لهذه التقنية بوجود قمة الأيون الجزيئي $[M+H]^+$ أو $[M-H]^-$.

3.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي:

تستخدم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي لتحديد بنية المركبات و كذلك يمكنها أن تعطينا صيغتها النهائية:

1.3.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي $^1\text{H-NMR}$:

تسمح مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون بإعطاء معلومات عدة حيث تمكننا من إيجاد تموضع البروتونات على الجزيء، كما تمكننا من تحديد عدد البروتونات من خلال التكامل وتحديد عدد مجموعات الميثوكسيل، و أيضا تعيين عدد، طبيعة، و وضعية السكريات الموجودة. تتوزع بروتونات الفلافونيدات بشكل مجموعات محددة هي: بروتونات الحلقة A و بروتونات الحلقة B، و بروتونات الحلقة C في حالة الفلافون، بروتونات أليفاتية (سكريات، مجموعات الميثوكسيل... الخ).

• A:

فيما يلي الجدول 05 يبين بعض الإنزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة A [64]:

05: قيم الإنزياح الكيميائي لبروتونات الحلقة A:

H-8	H-7	H-6	H-5	الفلافونيد
d ($J = 2.5 \text{ Hz}$) δ (6.5 – 6.3 ppm)	-	d ($J = 2.5 \text{ Hz}$) δ (6.2 – 6.0 ppm)	-	5, 7 -OH
d ($J = 2.5 \text{ Hz}$) δ (6.9 – 6.5 ppm)	-	d ($J = 2.5 \text{ Hz}$) δ (6.4 – 6.2 ppm)	-	5-OH, 7 -OR (R = Sucre)
$\delta = 6.3 \text{ ppm (s)}$	-	-	-	5, 6, 7 -OR (R = H, Sucre)
-	-	$\delta = 6.3 \text{ ppm (s)}$	-	5,7,8 -OR (R = H, Sucre)
d ($J = 2.5 \text{ Hz}$) δ (6.7 – 7.0 ppm)	-	dd (9 Hz, 2.5 Hz) $\delta = 6.7 - 7.1 \text{ ppm}$	d ($J = 9 \text{ Hz}$) $\delta = 8 \text{ ppm}$	7 -OR (R = H, Sucre)

• B

تتواجد بروتونات هذه الحلقة في المنطقة ذات الإزاحة (6.7 – 7.9 ppm)، و تتغير قيم الإزاحة حسب المستبدلات الموجودة على الحلقة و كذا درجة تأكسد الحلقة C و حسب طبيعة الفلافونويد.

4: الجدول 06 يوضح ذلك [64]:

جدول 06: الإزاحة الكيميائية لبوتونات الحلقة B حالة الاستبدال في 4:

H-5' , H-3'	H-2' , H-6'	الفلافونيد
δ (6.5 - 7.1 ppm) d (J = 8.5 Hz)	δ (7.7 - 7.9 ppm) d (J = 8.5 Hz)	فلافون (4'-OR)
δ (6.5 - 7.1 ppm) d (J = 8.5 Hz)	δ (7.9 - 8.1 ppm) d (J = 8.5 Hz)	(4'-OR)

3 4: البروتون الموجود في 5' يظهر على شكل ثنائي نتيجة تزاوجه تزواج

أورثو مع بروتون 6'، بثابت تزواج يقدر بـ 8.5 هرتز.

أما البروتونات 2' و 6'-H فإنها تظهر كما هو موضح في الجدول 07 يوضح ذلك [64] [68]:

جدول 07: الإزاحة الكيميائية للبروتونات 2' و 6' للحلقة:

H-6'	H-2'	الفلافونيد
δ (7.3 - 7.5 ppm) dd (J = 8.5, 2.5 Hz)	δ (7.2 - 7.3 ppm) d (J = 2.5 Hz)	3'-OH, 4'-OMe 3',4' OH) (3'-OMe, 4'- OH
δ (7.6 - 7.9 ppm) dd (J = 8.5, 2.5 Hz)	δ (7.5 - 7.7 ppm) d (J = 2.5 Hz)	(3'-OH, 4'-OMe ; 3',4' OH)
δ (7.4 - 7.6 ppm) dd (J = 8.5 , 2.5 Hz)	δ (7.6 - 7.8 ppm) d (J = 2.5 Hz)	(3'-OMe, 4'- OH ; 3',4' OH)

5 4 3 : إذا كان " OR " الموجود في الموقع 3' نفسه في 5' فإن

البروتونين 2'-H و 6'-H يكونا متكافئين و يظهران كإشارة أحادية بين (6.5 – 7.5 ppm)، و نحصل على إشارة ثنائية ذات ثابت تزواج يقدر بـ $J = 2.5$ Hz ، في حالة ارتباط مجموعة ميثوكسيل أو سكر بـ 3'-C أو 5'-C و المستبدلات الأخرى OH على سبيل المثال [69].

• C

في حالة الفلافون يظهر البروتون H-3 كإشارة أحادية في حدود 6.3 ppm أين تتداخل هذه الإشارة

مع البروتونين H-6 أو H-8 للحلقة A [70].

لأفاتيحة:

الميثوكسيل:

تتركز إشارات الميثوكسل و المثيل بصورة عامة كما هو موضح وهذا في المذيب DMSO-d₆:
08: قيم الانزياح الكيميائي لبروتونات بعض المجموعات.

(ppm)		
3.75 - 3.95		O-CH ₃
2.0 - 2.31	Flavone	C-CH ₃
2.0 - 2.1	Flavonol 6	C-CH ₃
2.2 - 2.3	Flavonol 8	C-CH ₃

:

يعتمد الإنزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H-1" على طبيعة الفلافونويد وموقع ونوع الرابطة بين السكر والأجليكون.

1- الجليكوزيدات أحادية السكر:

تظهر إشارة البروتون الأنوميري "H-1" عموماً في مجال أدنى من مجال بقية بروتونات المركب والجدول 09 يعطي بعض قيم الإنزياح الكيميائي لبعض البروتونات الأنوميرية لبعض الجليكوزيدات. الجدول 09: قيم الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري.

الفلافونيد	(H-1") ppm
7-O-glycosylflavonol	4.8 - 5.2
3-O-glycosylflavonol	5.7 - 6.0
7-O-rhamnosylflavonol	5.1 - 5.3
3-O-rhamnosylflavonol	5.0 - 5.1

تستغل قيمة ثابت التزاوج بين "H-1" و "H-2" للتعرف على نوع الرابطة (α أو β) بين السكر والأجليكون، ففي حالة سكر الجلوكوز الذي يعطي دائماً رابطة من النوع β فإن "H-1" يظهر على شكل إشارة ثنائية بثابت تزاوج $J=7$ Hz ناتجة عن تزاوج « محوري- محوري » Di axial مع "H-2" أما في حالة أما في حالة سكر الراموز فإشارة "H-1" تكون ذات ثابت تزاوج $J=2$ Hz وهذا نتيجة تزاوج « استوائي- استوائي » بين "H-1" و "H-2" يعطي دائماً رابطة من النوع α مع العلم أن إشارة مجموعة مثيل الراموز تتموضع في المجال (0.8-1.2 ppm) و تظهر كإشارة ثنائية $J=6.2$ Hz تساعد على التعرف على سكر الراموز [64].

2- الجليكوزيدات ثنائية السكر:

يرن البروتون الأنوميري للسكر المرتبط بالأجليكون في مجال أخفض من البروتون الأنوميري للسكر الثاني المرتبط بالسكر الثاني، والجدول 10 يعطي قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأنوميرية لبعض الجليكوزيدات ثنائية السكر في DMSO-d₆ [68].

10: قيم الإنزياح الكيميائي للبروتونات الأنوميرية لبعض الجليكوزيدات ثنائية السكر.

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

2.3.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ¹³C-RMN:

يمكن لهذه التقنية أن تزودنا بالعديد من المعلومات الخاصة بالهيكل الكربوني للجزيء [54] و نذكر من ذلك:

- معرفة العدد الاجمالي لذرات الكربون للمركب.
- عدد كربونات السكر.
- تحديد طبيعة الرابطة بين السكر و الفلافونيد.
- عدد الكربونات المؤكسجة داخل انوية الفلافونيدات.

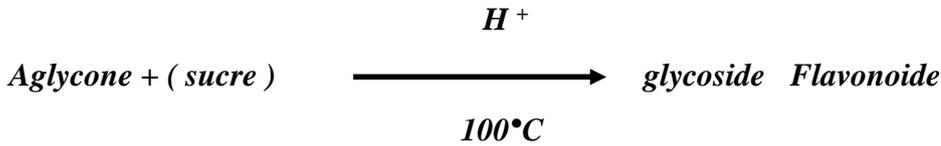
3.3.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ثنائية البعد:

نلجأ إلى مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ثنائية البعد في حال صعب إيجاد أو التعرف على طبيعة المركبات قيد الفحص وهذا بالتقنيات العادية و نذكر منها التقنيات التالية:

- تقنية COSY: تعطينا نقاط تعالق بين البوتون و البروتون المتزاوج معه.
- تقنية HMQC: تعطي تعالق بين البروتون و الكربون الحامل له.
- تقنية HMBC: تعطي تعالق بين البروتون و الكاربونات المجاورة لذرة الكربون الحاملة لهذا البروتون ، و يمتد هذا التعالق حتى الكربون الثالث على الأكثر.

3- الحلمهة الحمضية:

تستعمل الحلمهة الحمضية للتعرف طبيعة و عدد السكريات المرتبط بالمركبات الغليكوزيدية المعزولة، حيث يتم تمييزه هذه الأخيرة في وسط حمضي حيث يتم تحطيم الرابطة (كربون / أكسجين) بين السكر والأجليكون.



و تتم هذه العملية عبر المراحل التالية:

- نأخذ كمية قليلة من الفلافونيد الجليكوزيدي المذاب في الميثانول، أو أي مذيب آخر ثم يضاف له 1 ملل من حمض الكلور بتركيز 2 أو 4 نظامي في أنبوب اختبار، يسخن المزيج في حمام مائي لمدة ساعة تحت درجة حرارة 100°م.
- يستخرج الأنبوب و يترك ليبرد ثم نقوم بعملية استخلاص من نوع سائل-سائل، نستعمل أولاً الإيثر ثنائي الإيثيل حيث نضع 1 ملل من المذيب العضوي في الأنبوب و نخلط جيداً ثم نفصل الطبقة العضوية عن المائية، حيث يتواجد الجزء الأجليكوني في الطبقة العضوية و السكر يكون في الطور المائي، و للتأكد من عدم بقاء أي جزء أجليكوني أو جليكوزيدي لم يتمه نقوم بعملية استخلاص ثانية بأستات الإيثيل ثم و بواسطة البوتانول.
- تجمع الطبقات العضوية كلا على حدى و تركز تحت ضغط منخفض ثم يتم تحليل الجزء الأجليكوني المنفصل عن الجليكوزيد بتسجيل طيف UV في الميثانول و أحياناً نلجأ إلى إجراء السلسلة الطيفية مع كل الكواشف و هذا حسب موضع السكر في المركب، كما نقوم بإجراء اختبار كروماتوغرافي (CCM) مع شواهد أجليكونية و هذا للتعرف على الجزء الأجليكوني.
- من أجل التعرف على الجزء السكري المنفصل عن الجليكوزيد يتم أولاً تحضير الصفيحة الكروماتوغرافية، التي تكون من السيليكاجال، ترش هذه الأخيرة بمحلول (NaH₂PO₄) بتركيز 0.1 نظامي و تترك لتجف في الهواء ثم توضع في الفرن لمدة ساعة تحت درجة 100°م، فتصبح الطبقة جاهزة للاستعمال.
- بواسطة ماصة شعرية توضع نقاط من الطبقة المائية المحتوية على السكر مع شواهد سكرية معروفة، و نحضر النظام أستون - ماء (9 : 1) لتقليص الكروماتوغرام، بعد ذلك يجفف و يرش بكاشف (مالونات الأنيلين) و يترك ليحجف ثم يوضع في الفرن لمدة 5 دقائق دائماً تحت درجة حرارة 100°م أين تبدأ بقع السكريات بالظهور فتكون بنية في الضوء المرئي و صفراء تحت مصباح UV. و لكل سكر يكون له R_f خاص به.

-
- [1]. Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes. *chem.biol.interact.* 139, 1-21.
- [2]. Harborne, J.B. (1988). The flavonoids. *Chapman and Hall. London.* 620.
- [3]. Wollenweber, E., Dietz, V. H. (1980). *Biochem. Syst. & Ecol.* 8, 21.
- [4]. Guignard, J.L., Cosson, L. and Henry, M., (1985), *Abrégé de phytochimie, ed Masson.* 121, 128-203.
- [5]. Haslam, E. (1979). in comprehensive organic chemistry. eds D. H. R. Barton and. W. D. Ollis, pergamon, oxford. 5, 1167-1205.
- [6]. Gibson, F., Pittard, J. (1968). Pathways of biosynthesis of aromatic amino acids and vitamins and their control in microorganisms . *Bacteriol, Rev.* 32, 465-492.
- [7]. Crombie, L., Holden, I. (1986). *N. Van Brggen and whiting, A. chem. Soc,* 1063-5.
- [8]. Harbone, J.B. (1973). Flavonoids-in phytochemistry- eds J. B. Litton educational publishing inc. 100-116.
- [9]. Harborne, J.B. (1988). The anthocyanins. In: Harborne JB. ed *The flavonoids- Advances in Research Since 1980. London: Chapman and Hall.* 1-20.
- [10]. Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol;* 32, 1141-1148.
- [11]. Harborne, J.B. (1986). Nature, distribution and function of plant flavonoids. In: Cody V, Middleton Elliott Jr, Harborne JB (eds). *Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure activity relationship. New York, USA:Alan R Liss, Inc.* 15-24.
- [12]. Harborne, J.B., Baxter, H. (1999). The handbook of natural flavonoids. *New York: John Wiley and son.* 1154, 390-399.
- [13]. Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 7, 1089-1099.

- [14]. Richter, G. (1993). Métabolismes des végétaux (physiologie et biochimie). *Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne*. 526.
- [15]. Riberau-gayou, J.B. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- [16]. Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H. (1975). The flavonoids. Ed. J.B. Harborne et al Part 2. *New York: Academic Press*.
- [17]. Trevor, R.(1957). The organic constituents of higher plants, 6th Edition. University of Massachusetts USA. 188.
- [18]. El Hazimi, H. (2002). Natural Products 3rd Ed. *Alkheraiji Library, Riyadh, Saudi Arabia*.
- [19]. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Ed Tec Doc.
- [20]. Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs, Ed Y. Dacosta, 669 références bibliographiques, Paris. 317.
- [21]. Szent-Gyorgyi, A., Ruzsnyak, S. (1936). A. Vitamin P: flavonols as vitamins. *Nature*. 138, 27.
- [22]. Keli, S.O., Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Kromhout, D. (1996). *Br, J. Nutr.* 24, 1033.
- [23]. Hertog, M.G., Feskens, E.J., P. C., Chollman M.B., Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study. *Lancet*. 342, 1007-1011.
- [24]. Chaudhry, P.S., Cabrera, J., Juliani, H.R., Varma, S.D. (1983). Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin , *Biochem Pharmacol.* 32, 1995-1998.
- [25]. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales 3^{ème} édition Tec&Doc Lavoisier, Paris. 1120.
- [26]. El Hazimi, H. (2002). Natural Products 3rd Ed. *Alkheraiji Library, Riyadh, Saudi Arabia*. 149-190.
- [27]. Robinson, R. (1936). Formation of anthocyanins in plants. *Nature. Lond.* 137-172.
- [28]. Davis, B.D. (1955). Intermediates in amino acid biosynthesis. *Adv Enzymol Relat Subj Biochem*, 16, 247-312.

- [29]. Harborne. J.B. (1989). The flavonoids advances in research since 1980, *eds Chapman and Hall, New -York.*
- [30]. Harborne, J.B. (1980). The flavonoids, *Academic press, London.*
- [31]. Harborne, J.B. (1988). The flavonoids. *Chapman and Hall. London.* 620.
- [32]. Ahmed, Z.F., Rizk, A.M., Hamouda, F.M. (1970). Postep dziedzinie Lzkurosl. pr. Ref. *Dosw. Wygloszone symp.* 20-23.
- [33]. Harborne, J.B. (1979). Flavonoids in phytochemistry, eds, J.B. *Litton educational publishing inc, London.*
- [34]. Gorkmann, G., Dangelmayr, B. (1980). Genetic control of chalcone isomerase activity in flowers of *Dianthus caryophyllus*. *Biochem Genet.* 18, 519-527.
- [35]. Jay, M., De Luca, V., Ibrahim, R. (1983). Meta-methylation of flavonol rings ,A(8-) and B(3'-) is catalysed by two distinct O-methyltransferaseis in *Lotus corniculatus*. *Z Naturforsch.* 38, 413-417.
- [36]. Anzellotti, D., Ibrahim. R.K. (2000). Novel flavonol 2-oxoglutarate dependent dioxygenase: affinity purification, characterization, and kinetic properties. *Arch. Biochem. Biophys.* 382, 161-172.
- [37]. Wollenweber, E., Jay, M. (1988). Flavones and flavanols in «The flavonoids, Advances in research sience 1980», (Harborne, J. B. ed). *Chapman and Hall, London.* 233-302.
- [38]. Harborne, J.B. (1964). Biochemistry of phenolics compounds. *Academic press, New-York.* 618.
- [39]. Jurd, L. (1962). The chemistry of flavonoids compounds. *Pergamon press, New-York.* 317-352.
- [40]. Lebreton, P., VOIRIN, B. (1967). Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoides. *Chim. Anal. Fr.* 49, 375-383.
- [41]. Kanko, C., Koukouaa, G., N'Guessana, Y.T., Fournierb, J. (2004). Contribution à l'étude phytochimique de *Lippia multiflora* (Verbenaceae). *Comptes Rendus Chimie.* 7, 1029-1032.
- [42]. Jay, M., Gonnet, J.F., Wollenweber, E., Voirin, B. (1975). Sur l'analyse qualitative des aglycones flavoniques dans une optique chimiotaxinomique. *Phytochemistry.* 14, 1605-1612.

- [43]. Burret, F., Lebreton, P., Voirin, B. (1982). Les Aglycones Flavoniques De Cactees: Distribution, Signification. *Journal of Natural Products*. 45, 687-693.
- [44]. Tissut, M. (1967). Étude spectrophotométrique et chromatographique des flavonols. *Phytochemistry*. 6, 1291-1296.
- [45]. Munier, R.L., Drapier, A. M., Longchambon, F.B. (1974). chromatographie sur couche mince. *J. Chromatographia*. 7, 698-707.
- [46]. Abd Elchakour, A.S. (1987). Chimie organique moderne et pratique. Université du Roi Abdel Elaziz, Djedda .
- [47]. Glueckauf, E. (1955). Theory of chromatography. Part 10. Formulæ for diffusion into spheres and their application to chromatography. *Trans. Faraday. Soc.* 51, 1905-1971.
- [48]. El hazemi, H. (1995). *Natural Product*.149-190.
- [49]. Jurd, L., Horwitz, R. (1962). Spectral properties of flavonoid compounds In Geissman, T.A. The chemistry of flavonoid compounds. *Pergamon Press New-York*. 107-155.
- [50]. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie phytochimie plants médicinales , *ed. Lavoisier, Paris*. 150.
- [51]. Browning, D.R. (1971). Chromatographie, *Ed . Masson et Cie*. 152.
- [52]. Hostettmann, K., Hostettmann, M. (1982). Isolation techniques of flavonoids in “The flavonoids”. Harborne, J. B ., Mabry, T. J. Ed. *Chapman and Hall London*. 1-18.
- [53]. Markham, K.R. (1989). Flavones, Flavonols and their glycosides in « methods in plant biochemistry». *Academic Press*. 1, 197-232.
- [54]. Markham, K.R. (1982). Techniques of flavonoid identification. *Academic Press London*. 3, 36-51.
- [55]. Randerath, K. (1971). Chromatographie sur couches minces. *Ed . Gauthier-Villars. Paris*. 87-109.
- [56]. Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H. (1975). The flavonoids Tome (I). *Ed. Chapman and Hall, London*. 45-77.
- [57]. Markham, K. R. (1982) Technique of flavonoid identification, Academicpress, London.

- [58]. Jurd, L. (1962). Spectral Properties of flavonoid compounds (Geissman, T.A., ed.). *Biochem. Biophys. Acta.* 151-154.
- [59]. Jurd, L., Horwitz, R. (1962). Spectral properties of flavonoid compounds. In the chemistry of flavonoid compounds (Geissman T. A). *Pergamon Press, New-York.* 107-155.
- [60]. Voirin, B. (1983). UV Spectral differentiation of 5-hydroxy-and 5- hydroxy-3-methoxyflavones with mono -(4'), di-(3',4') or tri-(3',4',5')-substituted B-rings. *Phytochemistry.* 22, 2107-2145.
- [61]. Mabry, T.J. (1969). In Perspectives in Phytochemistry. Ed. Harborne, J. B., Swain, T. *Academic Press, London.* 236.
- [62]. Harbone, J.B. (1975). The flavonoids. *Chapman and Hall, London.* 1056-1095.
- [63]. Harborne, J.B., Swain, T. (1969). Perspectives in phytochemistry. *Academic press, London.*
- [64]. Mabry, T.J., Markham, K. R., Thomas, M.B. (1970). The systematic identification of flavonoids. *Springer-Verlag, Berlin.* 13.
- [65]. Gonnet, J.F., Daniere, C. (1989). Individual variation in the flavonoid aglycones excreted on the leaves of *Alnus glutinosa*. *Boichem. System. Ecol.* 17, 239.
- [66]. Audier, H. (1966). Etude des composés flavoniques par spectrométrie de masse, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 9, 2892-2899.
- [67]. Becchi, M., Fraisse, D. (1989). Fast atom bombardment and fast Atom Bombardment, Alision Activated- dissociation /mass-analysis ion Kinetic energy analysis of C- Glycosidic flavonoids. *Biomed. Environm. Mass electrom.* 18, 122-130.
- [68]. Markham, K.R., Geiger, H. (1994). ¹H NMR Spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. In (the flavonoïdes) Ed. Harborne, J. B (1993) *Chapman and Hall, London.* 452.
- [69]. Markham, K.R., Mabry, T.J. (1975). The flavonids. Ed. Harborne, J.B et al. *Chapman and Hall, London.* 78-126.
- [70]. Mabry, T.J. (1969). The Ultra-Violet and nuclear magnetic resonance analysis of flavonoids perspectives in Phytochemistry, *Ed. Harborne, J. B.* 1-45.

الفصل الثاني

الدراسة البيئيوجغرافية للعائلة

الخيمية **.APIACEAE**

و للزوعين المدروسين

Reutera lutea (Apiaceae)

Daucus aureus (Apiaceae)

الدراسة البيولوجية الجغرافية للعائلة الخيمية (Apiaceae)

1. مدخل:

العائلة الخيمية (Apiaceae) ويطلق عليها أيضا إسم (Umbelliferae) وهي عائلة تنتمي إلى الصف

ثنائية الفلقة تكون متجانسة نسبيا، إسمها مشتق من كلمة إنجليزية Umbella Parasol

شمسية [1] العائلة الخيمية في الانجليزية Parsley Family () عظم نباتاتها

عشبية تتميز غالبيتها بوجود رائحة عطرية، وهذا جميع

نباتات العائلة الخيمية على نطاق واسع في الطب التقليدي بها العلاجية [2]:

Ammi visnaga: كمدر للبول و طارد للديدان و أيضا مضاد للربو.

Anethum graveolens: كمدر للبول و طارد للريح و مضاد للتشنج.

Petroselinum crispum: فهو أيضا مدر للبول و مضاد للتشنج.

وتضم هذه العائلة خضروات أعشاب و حشائش و أشجار وغيرها و معظم نباتاتها اعشاب من أهم نباتاتها

(الينسون ...) وهي غنية بالمركبات الكيميائية الناتجة عن عملية

الأيض الثانوي مما يكسبها فعالية بيولوجية كبيرة، ومن أهم هذه المركبات: الفلافونيدات [3]

السيكويتربينات اللاكتونية [4]، الكومارينات [5]، الأستيلينات [3]، الزيوت الأساسية [6]، التربينات

[7]، السيكويتربينات [8].

2. وصف لنباتات العائلة الخيمية:

تتواجد العائلة الخيمية على شكل نباتات عشبية في الغالب ونادرا ما تتوجد على شكل شجيرات، لها

خيمية مركبة عادة مشيمي قمي والثمرة منشقة خيمية بها

الثميرات [9].

سيقانها: والاوراق مركبة ومتبادلة غالبا، وعميقة التفصيص، حيانا.

النورات : خيمية مركبة عادة ونادرا ما تكون بسيطة يحيط نهاية محور

involucre وعند نهاية كل فرع من الفروع التي تخرج من المحور الأصلي توجد مجموعة

من القنبيات عند قواعد الأزهار تعرف بالقليفة involucrel.

الزهرة : تكون على شكل مظلة مقلوبة ومحمولة على معاليق تنمو كلها في نقطة واحدة وتتجه

المظلة بحيث يصير مجموع الزهر فيها مستوى مسطح تقريبا، و تكون الخيمة مركبة و نادرا ما تكون

بسيطة، لونها في الغالب أبيض وهي ويحيط بها جميعها جملة قنابات تسمى بالقلافة.

الكأس : 5 لكنها عادة غائبة أو تمثل بأسنان.

التويج : 5 أسدنية متبادلة مع البتلات.

المتاع : من كربلتين ملتحمتين والمبيض ملتحم مع التخت ومكون من حجرتين وبكل حجرة

بويضة واحدة يوجد قرص غذي أعلى المبيض ويخرج منه قلمين منفصلين.

التلقيح : شرات بالرغم من أن الأزهار صغيرة جمع الأزهار على هيئة نورة خيمية تجذب

يها والتي تمتص الرحيق المفرز من الغدة الرحيقية الموجودة أعلى المبيض.

الثمرة : منشقة خيمية يوجد على جدار الثميرات نتوءات أو زوائد مختلفة بواسطتها يمكن تمييز الأجناس



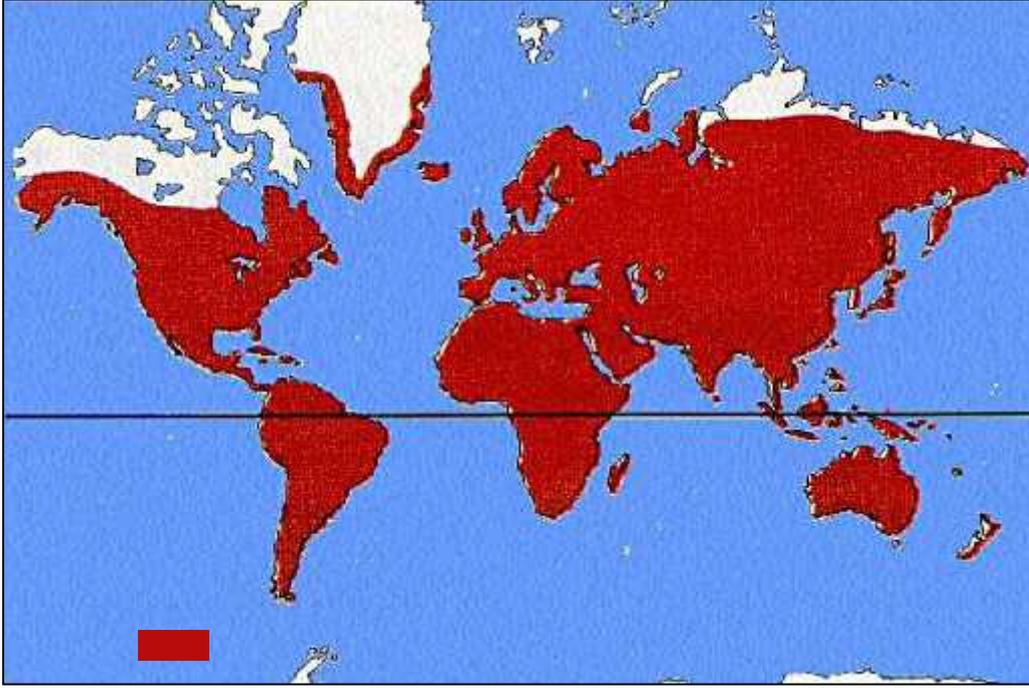
الشكل 34: صورة توضيحية للنباتات العائلة الخيمية.

3. تواجدها و توزيعها الجغرافي:

تعد العائلة الخيمية (Apiaceae) من العائلات الراقية وتضم هذه العائلة 3000 3700

[10] وجدت في جميع أنحاء العالم، ولكن أساسا في المناطق المعتدلة ونادرا في المناطق الاستوائية

35 [11].



الشكل 35: التوزيع الجغرافي للعائلة الخيمية [6] Apiaceae.

و قد عرفت العائلة الخيمية عند حضارات الصينية و الهندية القديمة، كذلك عند الهنود الحمر و الرومان و الإغريق، و تعتبر من أول العائلة النباتية التي أهتم بها علماء النبات و هذا في أواخر القرن السادس

كما أنها ول مجموعة نباتية تخضع لمراجعة تصنيفية نشرتها Robert Morison 1672 [11].

هاته العائلة مختلف القارات بأغلبية للقارة الآسيوية [12] كما هو

:11

الجدول 11: يوضح توزيع أجناس العائلة الخيمية في العالم [12].

الأنواع النادرة	عدد الأجناس	مكان التواجد
159	265	القارة الآسيوية
52	197	الأمريكية
29	139	روبية
50	126	القارة الأفريقية
11	36	القارة الأسترالية

4. إحصائيات للعائلة الخيمية:

تضم هذه العائلة حوالي 300 450 genres 3000 3700 espèces [10]

[14]، تمثل في الفلورا الفرنسية بـ 70 [13]، و في الفلورا المصرية بـ 25 [9].

كما تتخذ هذه العائلة مكانة مهمة في الفلورا الجزائرية 56 130 (24 منها نادر) كما

26 [1].

12 يبين الأجناس المتواجدة في الجزائر للعائلة الخيمية [1]:

		2	<i>Ammi</i>
		1	<i>Ammiopsis</i>
		1	<i>Ammodaucus</i>
1 (<i>A. atlantica</i>)		2	<i>Ammooides</i>
		1	<i>Anethum</i>
		2	<i>Anthriscus</i>
		1	<i>Apium</i>
1 (<i>B. glaberrima</i>)		1	<i>Balansaea</i>
		1	<i>Bifora</i>
		2	<i>Brachyapium</i>
4 (<i>B. fontanesii, B. chaberti, B. elatum, B. crassifolium</i>)		7	<i>Bunium</i>
5 (<i>B. plantagineum, B. atlanticum, B. montanum, B. balansae, B. oligactis</i>)		14	<i>Bupleurum</i>
		1	<i>Capnophyllum</i>
2 (<i>C. montanum, C. foetidum</i>)		2	<i>Carum</i>
1 (<i>C. bifrons</i>)		4	<i>Caucalis</i>

		1	<i>Chaerophyllum</i>
		1	<i>Conium</i>
		1	<i>Conopodium</i>
		1	<i>Coriandrum</i>
		1	<i>Crithmum</i>
		1	<i>Cuminum</i>
		1	<i>Danaa</i>
1 (<i>D. reboudii</i>)	8	11	<i>Daucus</i>
		1	<i>Echinophora</i>
		2	<i>Elaeoselinum</i>
		7	<i>Eryngium</i>
2 (<i>F. Cossoniana, F. vesceritensis</i>)		5	<i>Ferula</i>
	3	1	<i>Foeniculum</i>
		3	<i>Helosciadium</i>
	2	1	<i>Heracleum</i>
	2	1	<i>Hippomarathrum</i>
		2	<i>Hohenackeria</i>
		1	<i>Hydrocotyle</i>
		1	<i>Kundmannia</i>
		2	<i>Magydaris</i>
	1	1	<i>Malabaila</i>
		1	<i>Margotia</i>
1 (<i>Oe. Virgata</i>)		6	<i>Oenanthe</i>
		3	<i>Orlaya</i>
		1	<i>Petroselinum</i>
1 (<i>P. munbyi</i>)		3	<i>Peucedanum</i>
		1	<i>Physocaulos</i>
1 (<i>P. battandieri</i>)		2	<i>Pimpinella</i>
4 (<i>P. reboudii, P. scoparius, P. battandieri, P. chloranthus</i>)	5	4	<i>Pituranthos</i>
		1	<i>Reutera</i>
		1	<i>Ridolfla</i>
		1	<i>Sanicula</i>
	2	3	<i>Scandix</i>
		4	<i>Seseli</i>
		1	<i>Sison</i>
		2	<i>Smyrniium</i>
		3	<i>Thapsia</i>
		1	<i>Tinguarra</i>
		1	<i>Tordylium</i>
	3	2	<i>Torilis</i>
		1	<i>Turgenia</i>

في محتويات هذا الجدول ه يوجد تنوع في أجناس العائلة الخيمية في الجزائر

نلاحظ ان الجنس *Daucus Bupleurum* هما الأغنى من حيث الأنواع حيث يمثلان 14 11 على التوالي بينما يمثل الأغلبية بنوع او نوعين.

5. التصنيف النظامي للعائلة:

التصنيف النظامي للعائلة الخيمية حسب CRONQUIST [15] يكون كالتالي:

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae

6. أهمية العائلة الخيمية:

الأهمية الاقتصادية: بعض النباتات العائلة الخيمية تعتبر ذات أهمية إقتصادية بحيث تستغل منتجاتها ، توبل، دواء، نباتات للزينة. والبعض منها يعتبر سام وهذا لحتوائها على قلويدات (خاصة

القلويدات البيريديية) وهي سامة إذا أكلت ومن بين النباتات ذات الأهمية الاقتصادية نذكر:

[16]: (*Daucus carota*) الجزر الأبيض (*Pastinaca sativa*)

(*Petroselinum crispum*) (*Apium graveolens*).

بهارات : الكراوية (*Carum carvi*) (*Cuminum cyminum*)

(*Foeniculum vulgare*) و اليانسون (*Pimpinella anisum*) و غيرها.

: (*Conium*) يقال أنه أستخدمها سقراط .

(*Cicuta*).

[2] : (Ammi visnaga) تستعمل لتوسيع الأوعية الدموية و الكمون (Cuminum)

(Anethum graveolens) كمدرد للبول و طارد للريح و (cyminum)

و كنباتات للزينة: نذكر منها ذات الزهور المزرکشة (Trachymene) حشيشة الملاك (Angelica)

(Eryngium).

7. المركبات المفصولة من العائلة الخيمية:

تعتبر العائلة الخيمية غنية بالمركبات الكيميائية الناتجة عن عملية الأيض الثانوي ومن أهم هذه

المركبات: الفلافونيدات [3]، السيسكويتربينات اللاكتونية [4]، الكومارينات [5]، الأستيلينات [3]

الزيوت الأساسية [6]، التربينات [7]، السيسكويتربينات [8].

1.7. المركبات الفلافونيدات:

ببليوغرافي حول الفلافونيدات المعزولة من العائلة الخيمية تم التوصل أنه في 44

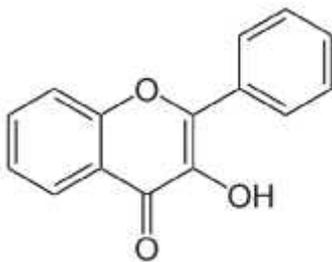
مدرس من هذه العائلة تم عزل 47 نوع من مركبات الفلافونيدية منها 36 نوع على شكل جليكوزيدي و

11 أنواع على شكل أجليكون و هي مصنفة حسب كونها: Flavones, Flavonols, Flavanones,

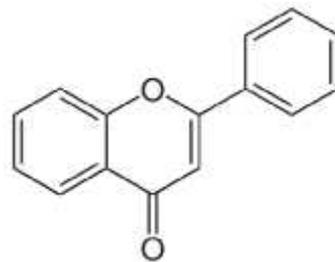
.Anthocyanidines

حيث من بين الفلافونيدات المعزولة من العائلة يوجد : 24 (Flavones) 20 (Flavonols)

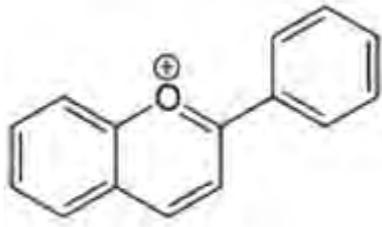
2 (Flavanones) 1 (Anthocyanidines).



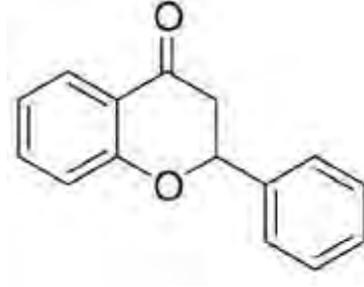
20 Flavonols



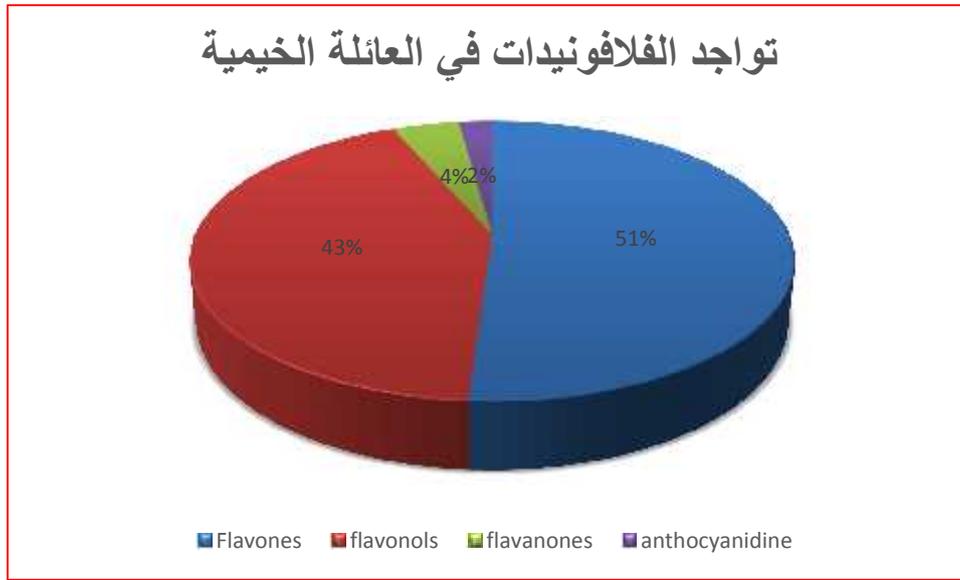
24 Flavones



1 Anthocyanidine



2 Flavanones



الشكل 36 : نسبة تواجد أصناف الفلافونيدات في 44 نوع مدروس.

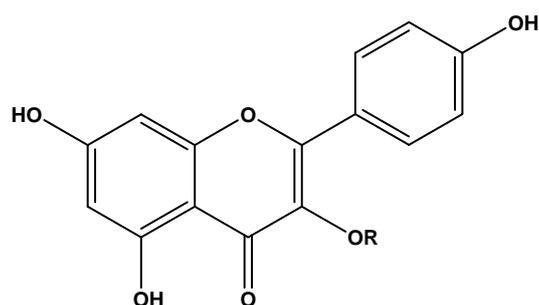
الفلافونيدات الجليكوزيدية: من بين 44 نوع التي وجدت فيها الفلافونيدات تم إحصاء 36 فلافونيدي جليكوزيدي، ونلخصها في الجدول التالي:

13: الفلافونيدات الجليكوزيدية المعزولة من العائلة الخيمية.

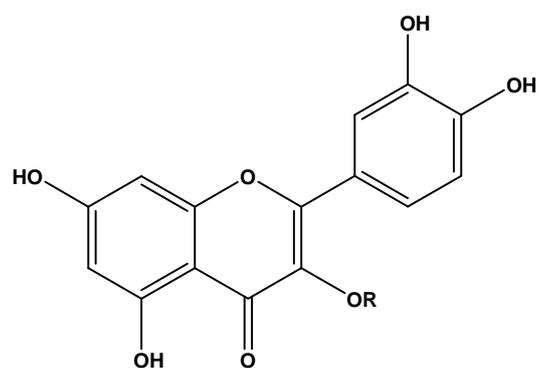
المرجع	التوزيع	البنية	الفلافونيد
			Kaempférol
[17]	<i>Daucus carota</i>	A1	Kaempferol 3-glucoside
[18]	<i>Bifora testiculata</i>	A2	Kaempferol 3-rutinoside
[19]	<i>Foeniculum vulgare</i>	A3	Kaempferol 3-glucuronide
[19]	<i>Foeniculum vulgare</i>	A4	Kaempferol 3-arabinoside
[17]	<i>Daucus carota</i>	A5	Kaempferol 3-diglucoside

		Quercétine	
[18]	<i>Hydrocotyle ssp</i>	B1	Quercetin 3-glucoside
[19]	<i>Buplenrum falcatum</i>	B2	Quercetin 3-rutinoside
[20]	<i>Foeniculum vulgare</i>	B3	Quercetin 3-glucuronide
[20]	<i>Foeniculum vulgare</i>	B4	Quercetin 3-arabinoside
[3]	<i>Orlaya kochii</i>	B5	Quercetin 3-galactoside
[18]	<i>Pimpinella procumbens</i>	B6	Quercetin 3-rhamnoside
[21]	<i>Oenanthe crocata</i>	B7	Quercetin 3-sulfate
		Isorhamnetine	
[22]	<i>Buplenrum multinerve</i>	C1	Isorhamnetin 3-rutinoside
[23]	<i>Pastinaca sativa</i>	C2	Isorhamnetin 3-rutinoside-4'-rhamnoside
[24]	<i>Oenanthe stolonifera</i>	C3	Isorhamnetin 3-potassium hydrogen sulphate
		Apigénine	
[18]	<i>Pencedanum villosum</i>	D1	Apigenin 7-glucoside
[3]	<i>Apium graveolens</i>	D2	Apigenin 7-apiosylglucoside
[25]	<i>Torilis ssp.</i>	D3	Apigenin 7-rhamnosylglucoside
[25]	<i>Pseudorlaya pumila</i>	D4	Apigenin 7-diglucoside
[25]	<i>Pseudorlaya pumila</i>	D5	Apigenin 7-arabinosylrhamnosylglucoside
[25]	<i>Orlaya daucorlaya</i>	D6	Apigenin 7-glucosylglucuronide
		Lutéoline	
[18]	<i>Daucus carota</i>	E1	Luteolin 7-glucoside
[26]	<i>Petroselinum crispum</i>	E2	Luteolin 7-apiosylglucoside
[27]	<i>Torilis ssp.</i>	E3	Luteolin 7-rhamnosylglucoside
[27]	<i>Torilis nodosa</i>	E4	Luteolin 7-diglucoside
[27]	<i>Torilis leptophylla</i>	E5	Luteolin 7-triglucoside
[27]	<i>Turgenia latifolia</i>	E6	Luteolin 4'-glucoside
[27]	<i>Turgenia latifolia</i>	E7	Luteolin 4'-diglucoside
[21]	<i>Daucus carota</i>	E8	Luteolin 4'-sulphate
[28]	<i>Torilis, daucus</i>	E9	Luteolin 5-glucoside
		Chrysoeriol	
[25]	<i>Pseudorlaya pumila</i>	F1	Chrysoeriol 7-glucoside
[25]	<i>Pseudorlaya pumila</i>	F2	Chrysoeriol 7-diglucoside
[29]	<i>Apium graveolens</i>	F3	Chrysoeriol 7-apiosylglucoside

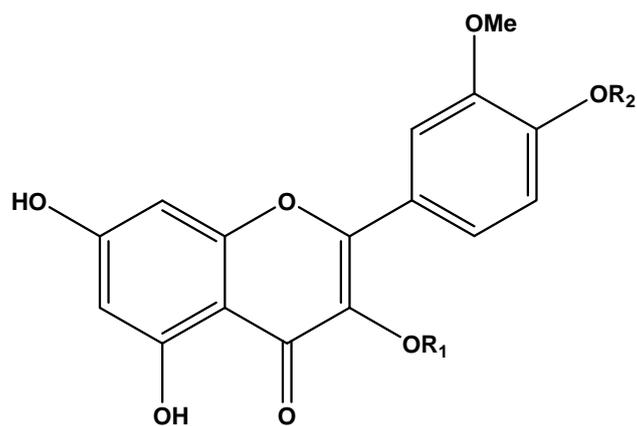
		Diosmetine	
[30]	<i>Trinia glauca</i>	G1	Diosmetin 7-rutinoside
		Rhamnetine	
[21]	<i>Ammi visnaga</i>	H1	Rhamnetin 3-sulphate
		Rhamnocitrine	
[21]	<i>Ammi visnaga</i>	K1	Rhamnocitrin 3-sulphate



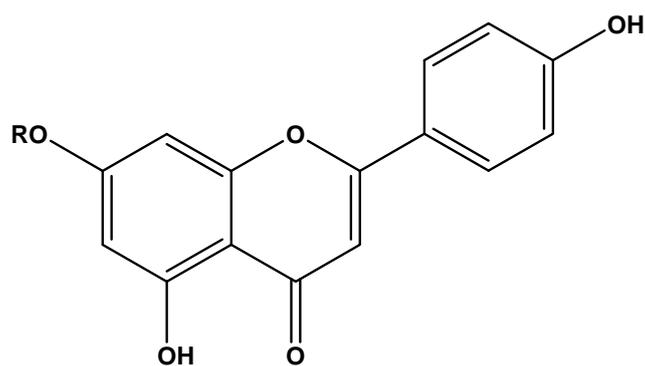
R	
A1	Glucoside
A2	Rutinoside
A3	Glucuronide
A4	Arabinoside
A5	DiGlucoside



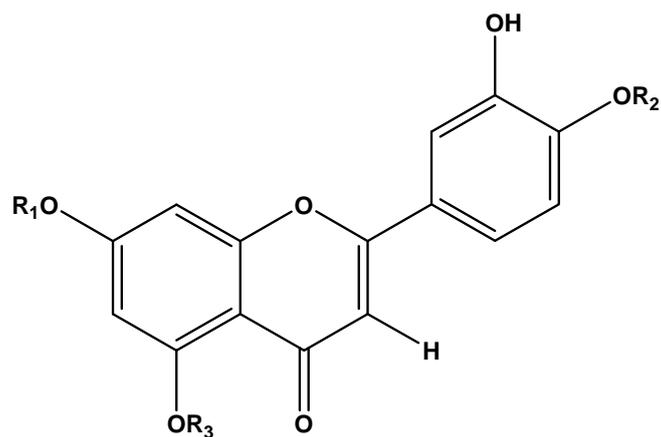
R	
B1	Glucoside
B2	Rutinoside
B3	Glucuronide
B4	Arabinoside
B5	Galactoside
B6	Rhamnoside
B7	Sulfate



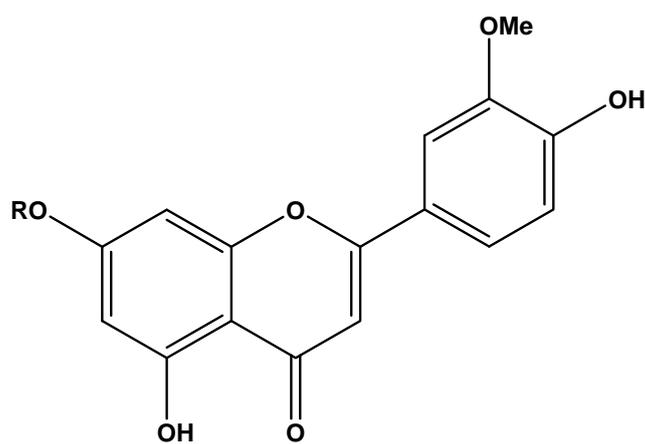
R ₁		R ₂
C1	Rutinoside	H
C2	Rutinoside	Rhamnoside
C3	potassium hydrogen sulphate	H



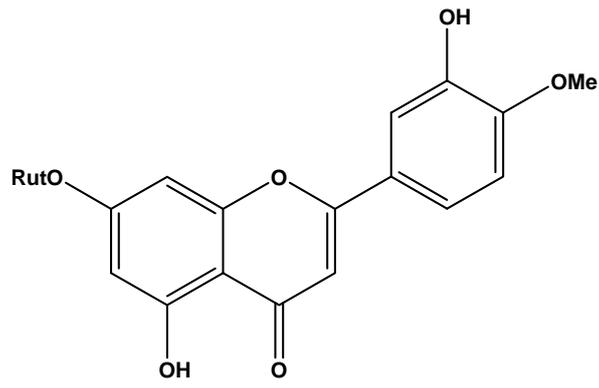
R	
D1	Glucoside
D2	ApiosylGlucoside
D3	Rhamnosylglucoside
D4	DiGlucoside
D5	ArabinosylRhamnosylGlucoside
D6	GlucosylGlucuronide



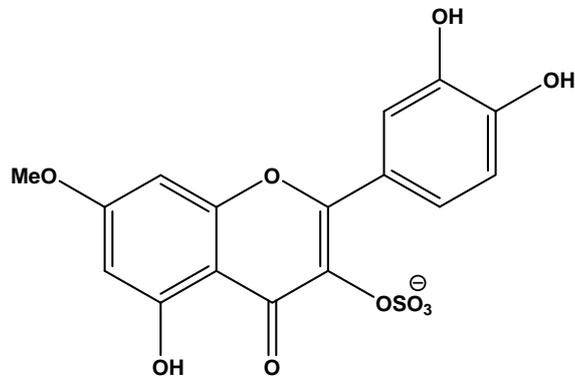
	R ₁	R ₂	R ₃
E1	Glucoside	H	H
E2	ApiosylGlucoside	H	H
E3	RhamnosylGlucoside	H	H
E4	DiGlucoside	H	H
E5	TriGlucoside	H	H
E6	H	Glucoside	H
E7	H	DiGlucoside	H
E8	H	Sulphate	H
E9	H	H	Glucoside



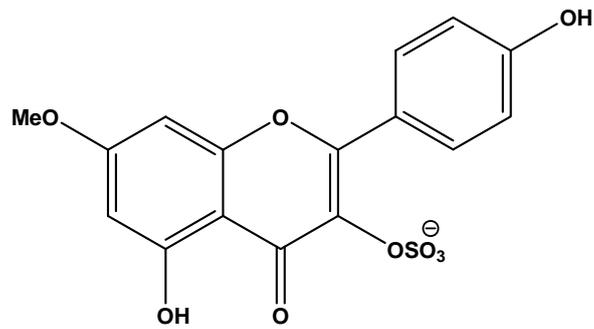
R	
F1	Glucoside
F2	DiGlucoside
F3	ApiosylGlucoside



المركب G1



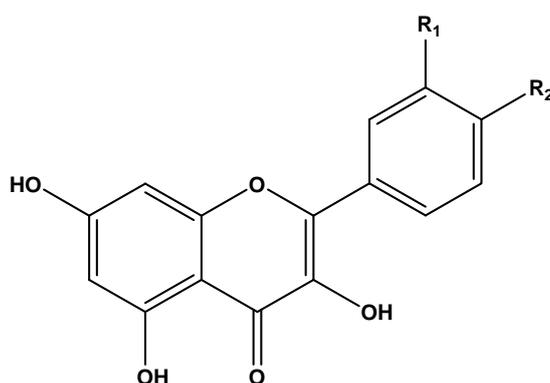
المركب H1



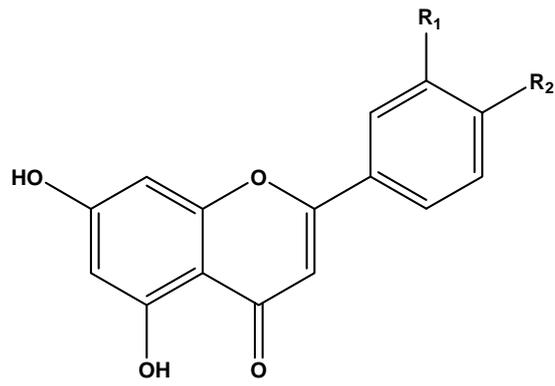
المركب K1

14: الفلافونيدات الأجليكونية المعزولة في عدة أنواع من العائلة الخيمية.

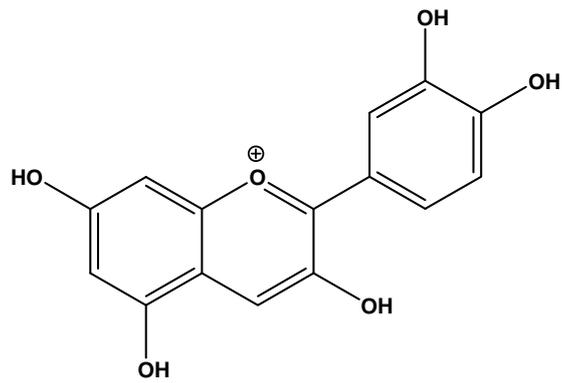
المرجع	التوزيع	البنية	الفلافونيد
			Flavonols
[31]	<i>Buplenrum, Oenanthe, Pastinaca</i>	L1	Isorhamnetin
[31]	<i>Buplenrum, Ammi</i>	L2	Quercetin
[33]	<i>Foeniculum vulgare</i>	L3	Kaempferol
			Flavones
[18]	<i>Apium, Daucus, Laserpitium</i>	M1	Apigenin
[19]	<i>Apium, Daucus, Torilis, turgenia</i>	M2	Chrysoeriol
[20]	<i>Angelica, Cnidium, Conopodium</i>	M3	Diosmetin
[20]	<i>Ammi visnaga</i>	M4	Acacetin
[32]	<i>Ammoides atlantica</i>	M5	Luteolin
			Anthocyanidine
[22]	<i>Torilis, Daucus, Heracelum</i>	N1	Cyanidin
			Flavanones
[18]	<i>Cnidium silaifolium</i>	O1	Hesperitin
[3]	<i>Selinum vaginatum</i>	O2	Selinone



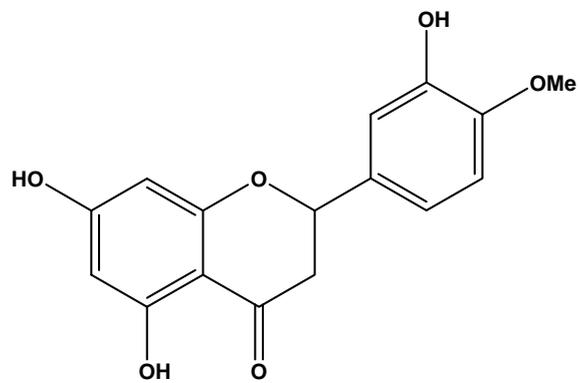
	R ₁	R ₂
L1	OMe	OH
L2	OH	OH
L3	H	OH



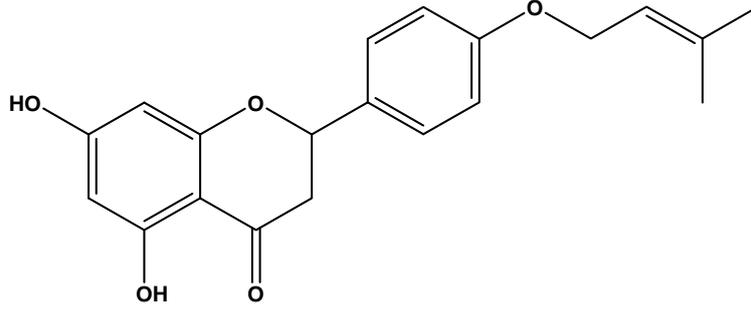
	R ₁	R ₂
M1	H	OH
M2	OMe	OH
M3	OH	OMe
M4	H	OMe
M5	OH	OH



المركب N1



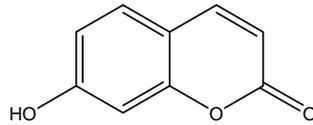
المركب O1



المركب O2

2.7. الكومارينات:

تعتبر العائلة الخيمية من أهم العائلات الغنية بالكومارينات وعلى وجه الخصوص الأجناس الأكثر وفرة و الأكثر تنوع من حيث إحتوائها على *Smyrneae Peucedaneae, Amineae* الكومارينات [34] *Elaeoselinum* الذي يحتوي على نسبة منخفضة من الكومارينات. و يعتبر المركب الكوماريني *Ombelliférone* من المركبات الأكثر شيوعا في هاته العائلة حيث تم عزله من عدة اجناس تنتمي للعائلة الخيمية [5].



Ombelliférone

كما يعتبر النوع *Cachrys sicula* L. الأكثر غنى من حيث إحتوائه على الكومارينات [35]. بحيث تم عزل مجموعة من الكومارينات من هذا النوع وهي : (-)-prantschimagine, (-)-sprengélianine, (+)-marmesine, *saxaline uloptérol, isoimpérorine, impérorine, bergaptène, xanthotoxine, l'isopimpinelline*.

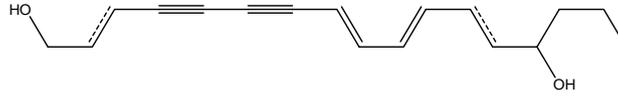
3.7. المركبات الأستيلينية:

الأستيلينات عبارة عن هيدروكربونات، تتميز بوجود رابطة ثلاثية بين ذرتي الخيمية غنية بالمركبات الأستيلينية [36].

في العائلة الخيمية الأستييلينات الأكثر شيوعا هي تلك التي تحتوي على 13 ذرة كربون وهي
 عموما الأكثر سمية، على سبيل المثال: Cicutoxine الذي يتواجد *Cicuta virosa* و أيضا

[37] *Oenanthe crocata*

Oenanthotoxine



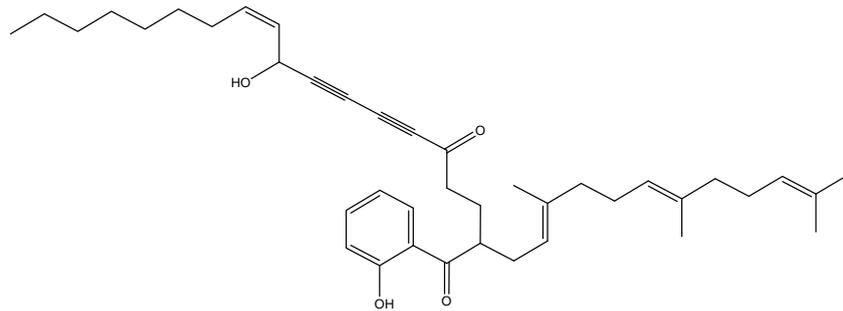
Cicutoxine



Oenanthotoxin

[38] *Ferula communis*

Férulinolone



Férulinolone

4.7. المركبات التربينية:

التربينات المجموعة العظمى من منتجات المملكة النباتية، وهي عبارة عن فحوم هيدروجينية غير
 مشبعة، تتميز بترتيب هيكلها الكربوني فهي مشتقات تتألف من سلاسل كربونية و حدثها الأساسية هي:
 الإيزوبرين.



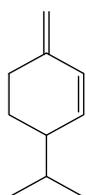
isoprène

التربينات إلى:

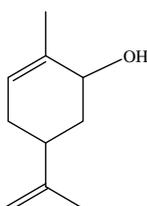
- تربينات الأحادية (monoterpènes): وتحتوي على وحدتين من الإيزوبرين، و تتواجد التربينات الأحادية في الغالب في الزيوت الأساسية للعائلة الخيمية [39] وقد تم عزل العديد من التربينات من العائلة

الخيمية، نذكر منها β -phellandrène *Phellandrium aquaticum* carvéol

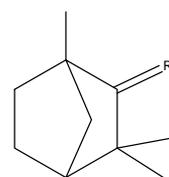
Carum carvi المركبين fenchol fenchone *Foeniculum vulgare*.



s-Fellandrène



Carvéol

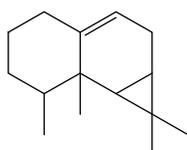


R=H, OH Fenchol
R=O Fenchone

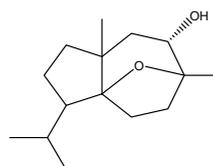
- السيسكويتربينية: (Sesquiterpènes): و تتكون من ثلاث وحدات من الإيزوبرين، وهي كالتربينات الأحادية تتواجد كذلك في الزيوت الأساسية للعائلة الخيمية [39] وهذا في غالب الأحيان

Ferula communis α -ferulène *Daucus carota* daucol

Apium graveolens β -sélénène



α -Féruène



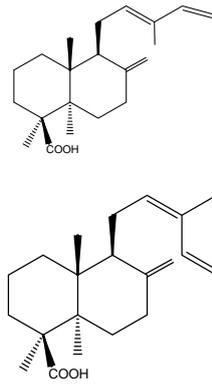
Daucol

- التربينات الثنائية (Diterpènes): وهي التي تتكون من أربع وحدات من الإيزوبرين، وفي العائلة الخيمية هناك عدد قليل من الدراسات التي أظهرت وجود هذا النوع من المركبات في العائلة الخيمية.

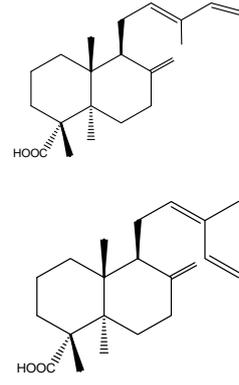
متخيلة

Hermas villosa

(isomères) حمضية للتربينات الثنائية [40]، للهيكل labdane (trans cis):

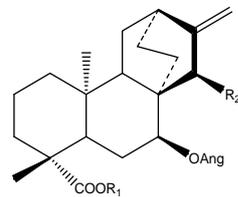


acide gummiférolique

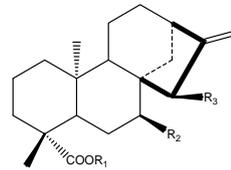


Elaeoselinum gummiferum

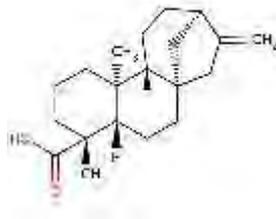
[41][42].Acide isomargotianoïque ent-Kaur-16-en-19-oïque margotianine



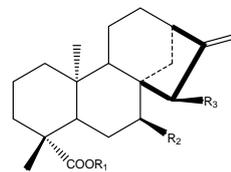
$R_1 = H, R_2 = H$
acide gummiférolique



$R_1 = Me, R_2 = OAc$
margotianine



ent-Kaur-16-en-19-oïque



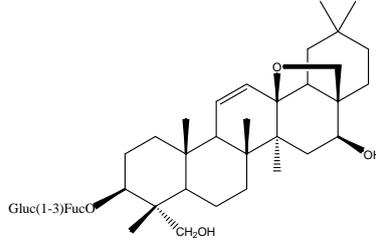
$R_1 = Me, R_2 = OAng, R_3 = Oac$
acide isomargotianoïque

• التربينات الثلاثية (Triterpènes): وهي التي تتكون من ست وحدات من الإيزوبرين،

الخليمة غنية بهذ النوع من المركبات وخاصة الجليكوزية منها و التي تكون فعالة بيولوجيا. نذكر منها

[43] *Bupleurum falcatum*

saikosaponine



Saikosaponine A

5.7. المركبات السيسكويتربينية اللاكتونية:

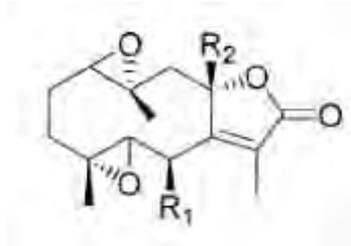
العائلة الخيمية من العائلات الغنية بالمركبات اللاكتونية [4] و التي تنقسم إلى عدة أنواع منها كرانوليد و دسومانوليد و الإيرموفيلانويد و الإيليمانوليد و الغوايانوليد و البسودوغوايانوليد.

ما يلي بعض الأمثلة عن المركبات السيسكويتربينية اللاكتونية

الخيمية:

جرماكرانوليد (Germacranolide) Ñ:

تم فصل هذا *Smyrniun olusartrum* [44].

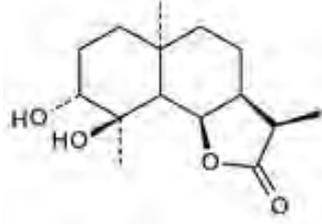


$R_1 = H$, $R_2 = H$

1 β ,10 α , 4 α ,5 β -diepoxyglechoman-8 α ,12-olide

ودسومانوليد (Eudesmanolide) Ñ:

تم فصل هذا المركب من النوع النباتي [45] *Ferula sinaica*.



3α, 4β -dihydroxy-5βH, 11αH,12-olide

الإيرموفيلانوليد (Ermophilanolide): N

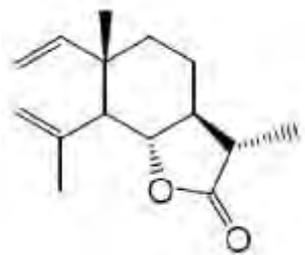
تم فصل هذا المركب من النوع النباتي [46] *Smyrniium olusatrum*.



Istanbulin A

الإيليمانوليد (Elémanolide): N

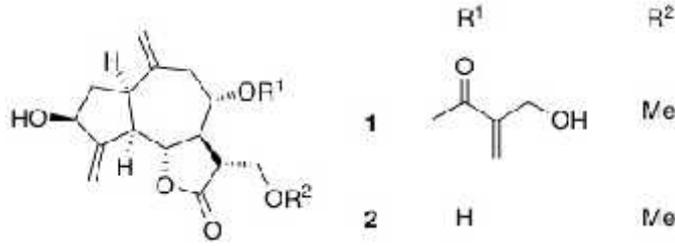
تم فصل هذا المركب من النوع النباتي [47] *Thapsia gymnesica*.



Saussurea lactone

الغوايانوليد (Guaianolide): N

تم فصل هذا المركب من النوع النباتي [48] *Ferula olga*.

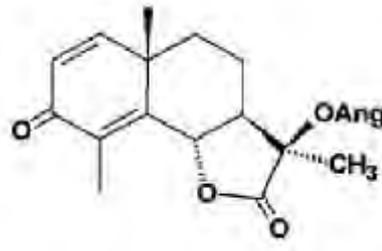


1) 8 α -O-2-hydroxymethyl-2-propenoyl-3 β -hydroxy-13-methoxy-4(15),10(14)-guaiadien-12,6-olide

2) 3 β ,8 α -dihydroxy-13-methoxy-4(15),10(14)-guaiadien-12,6-olide

البسودوغوايانوليد (Pseudoguaianolide): N

تم فصل هذا المركب من النوع النباتي [49] *Melanoselinum decipiens*.



Decipienin A

6.7. الزيوت العطرية (الأساسية):

تعرف العائلة الخيمية بإحتوائها على الزيوت العطرية، التي تتميز بروائح مميزة، و تتواجد في الفواكه الأزهار و الأوراق كذلك السيقان و حتى القشور. و تستعمل الزيوت العطرية (الأساسية) التجميل كما تستعمل كمواد لتحنيط وغيرها من الإستعمالات ومنها زيت الليمون، و زيت خشب الأرز و غيرها.

24 نوع من العائلة الخيمية، لمعرفة تركيبة [50] WILLIAMS, C.A., et al بها

الزيوت الأساسية وهذا عن طريق كروماتوغرافيا الغازية.

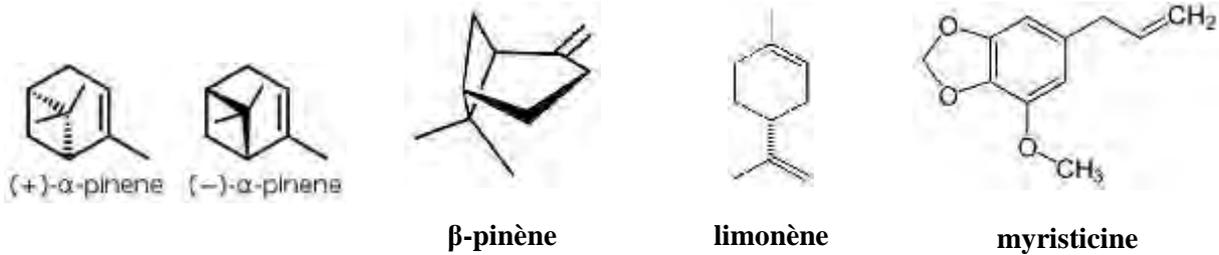
والنتائج المتحصل عليها كانت مفيدة بشكل خاص في الفصل بين أجناس العائلة الخيمية، وكان الجنس *Daucus* هو الأكثر غنى من بين الأصناف (الأجناس) من حيث إحتوائه على الزيوت الأساسية، ويتميز بإحتوائه على المركبين *carotol* *Acétate de géranyle* بين أساسيين.

و أظهرت الدراسة لسبعة أنواع من الجنس *Daucus* الاختلاف الكمي و النوعي في محتويات الزيوت الأساسية المكونة لكل . *Carotol* ولكن بنسب قليلة وهذا في الجنسين

Turgenia Torilis.

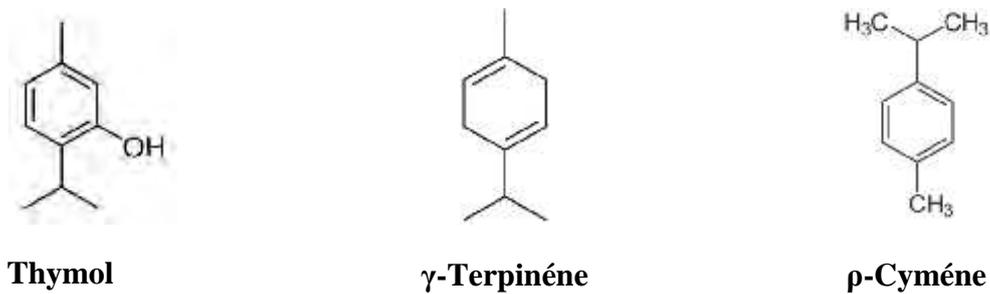
الجنسين *Daucus Pseudorlaya* والذين يعتبران متشابهان من ناحية الشكل و المكونات الكيميائية

فهما يحتويان على أربعة مركبات مشتركة وهي : *pinène* - *pinène* - *limonène* *myristicine* [51].



أن بعض الزيوت التي تم عزلها من العائلة الخيمية و التي لها فعالية بيولوجيا: *Thymol*، -

Terpinéne، *Cyméne* - و كلها معزولة من النوع *Ammoides verticullata* [6].



الدراسة البيبلوغرافية للجنس *Daucus* (Apiaceae)

1. الجنس *Daucus* L.

Daucus هو جنس (Genre) من العائلة الخيمية (Apiaceae)، [52] Apioïdae. و هو

يـ 200 (espèce) [1]. *Daucus*

إفريقيا و غرب آسيا و أمريكا الشمالية و أستراليا [54] [53].

وينمو في الجزائر 11 *Daucus* [55] ، منها نوع واحد نادر *D. reboudii* وهذه الأنواع هي:

D. gracilis *D. Carota* *D. crinitus* *D. setifolius* *D. Durieua* *D. Reboudii* *D. virgatus*

.D. muricatus *D. aureus* *D. biseriatus* *D. sahariensis*

ويعتبر *Daucus Carota* يتواجد 8

النوع وهي: *ssp. Hispanicus* ، *ssp. Parviflorus* *ssp. Dentatus* *ssp. Carota* *ssp. Sativus* *ssp.*

ssp. Mauritanieus *ssp. Maximus* *Maritimus* .

Daucus على نطاق واسع لحتوائه على المركبات الفلافونيدية [56].

Daucus carota الذي يعتبر غني بالفيت يـ [57].

2. المكونات الكيميائية للجنس *Daucus*:

الدراسات التي أجريت على الجنس *Daucus* أظهرت

تربينات أحادية [58] و سيسكويتربينات [59] [60] Chromones و فلافونيدات [61]

يرتكز عليها عملنا و كومارينات [62] [63] Anthocyanidines [64] Polyacétylènes

الزيوت الأساسية [65].

3. مركبات الأيض الثانوي المفصولة من بعض أنواع الجنس *Daucus*:

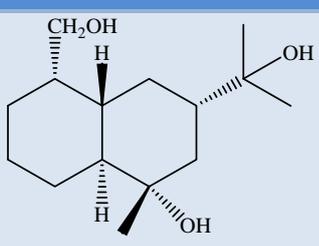
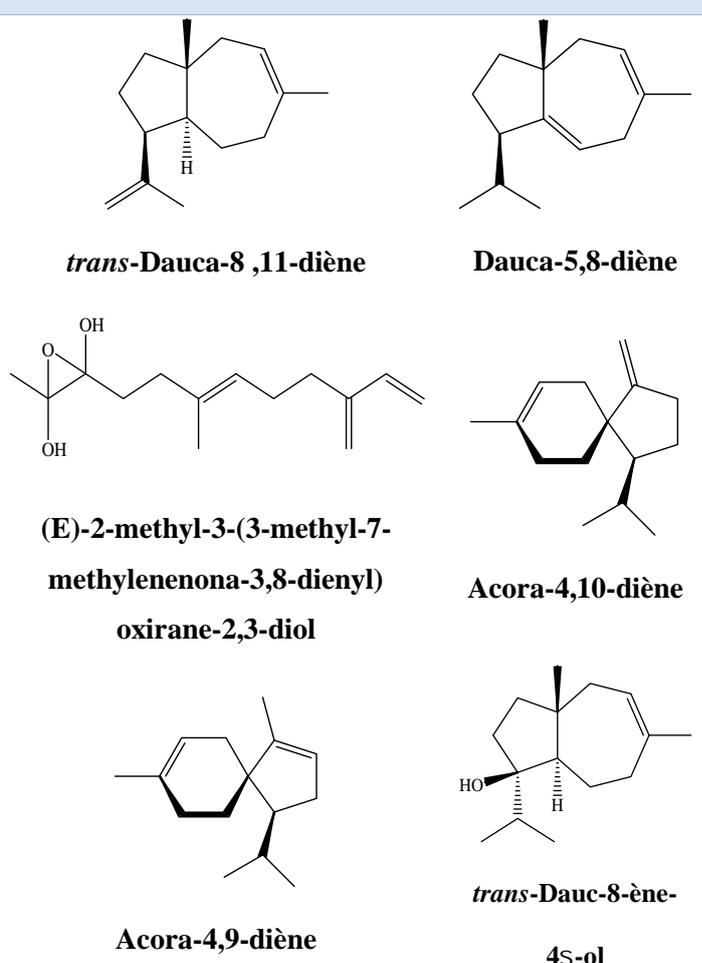
1.3. المركبات المعزولة من النوع (*Daucus carota* L.):

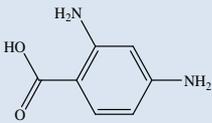
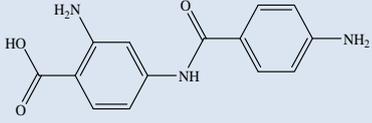
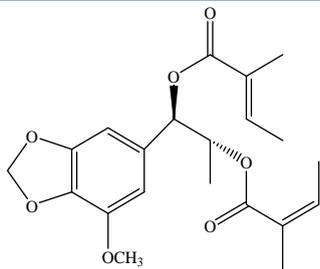
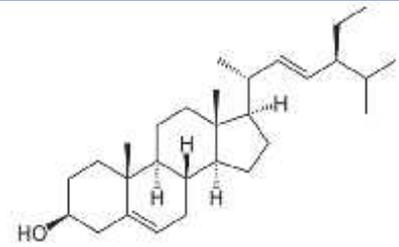
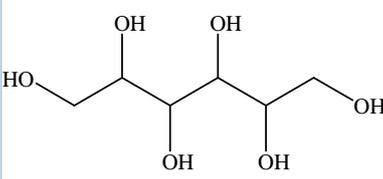
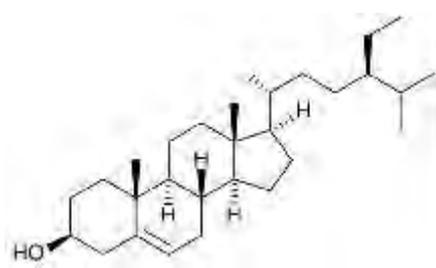
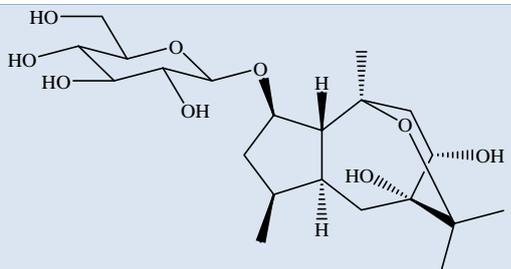
و يعد هذا النوع *Daucus carota* L. من أشهر الأنواع

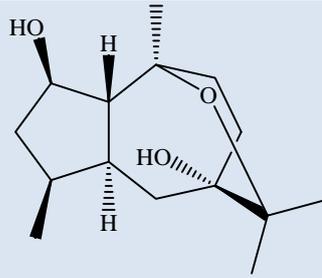
ة فيتوكيميائية كثيرة و هذا

: الواسع في أنحاء العالم وإختلاف خصائصه

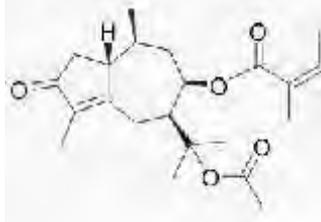
15: يمثل بنية المركبات المعزولة من النوع *Daucus carota* L. عدا الفلافونيدات.

المراجع	بنية المركب المعزولة	النوع النباتي
[66]	 <p>dauucarotol</p>	<i>Daucus carota</i> L.
[67]	 <p><i>trans</i>-Dauca-8,11-diene Dauca-5,8-diene</p> <p>(<i>E</i>)-2-methyl-3-(3-methyl-7-methylenenona-3,8-dienyl)oxirane-2,3-diol Acora-4,10-diene</p> <p>Acora-4,9-diene <i>trans</i>-Dauc-8-ene-4s-ol</p>	زيت بذور النوع <i>Daucus carota</i> L.

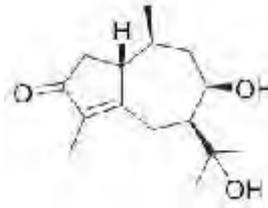
[68]	 <p style="text-align: center;">Acide 2,4-diaminobenzoïque</p>  <p style="text-align: center;">Acide 4-(p-aminobenzoylamino)-2-aminobenzoïque (Carotamine)</p>	<p><i>Daucus carota</i> L. <i>var. Boiss</i></p>
[69]	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>Laserine</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Stigmastérol</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p>D,L-iditol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>sitostérol</p> </div> </div>	<p>أزهار الجزر البري <i>Daucus carota</i> L.</p>
[70]	 <p>Daucuside</p>	<p>الثمار <i>Daucus carota</i> L.</p>



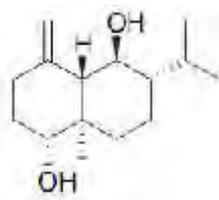
Daucusol



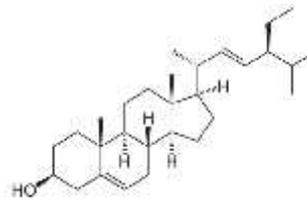
Toriline



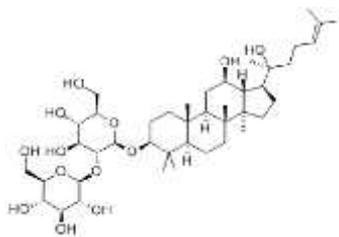
Torilolone



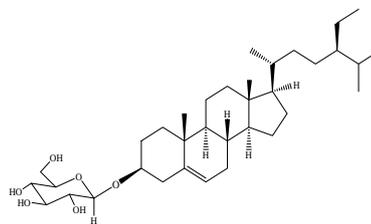
(+) volénéol



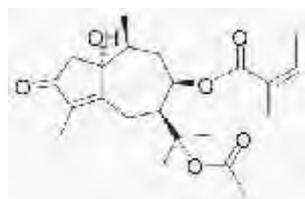
stigmasterol



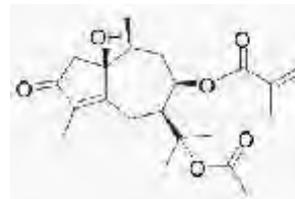
Ginsenoside Rg3



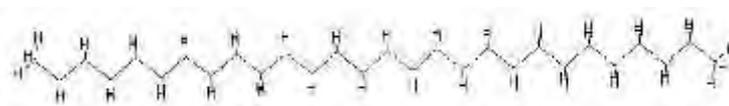
daucostérol



1r-hydroxytoriline



1s-hydroxytoriline



octacosane

[71]

الثمار

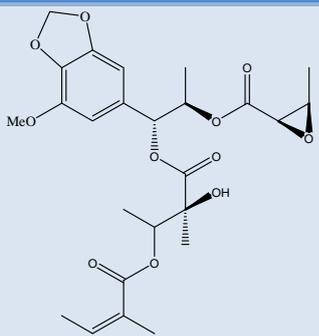
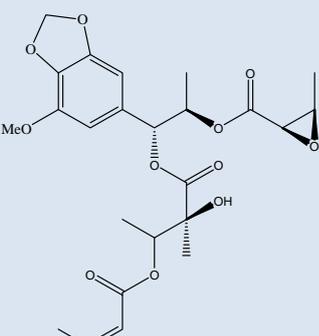
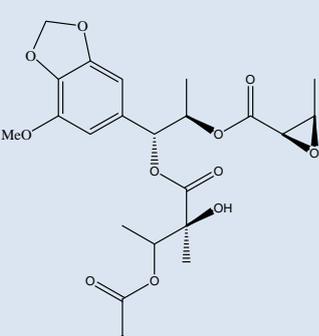
Daucus carota L.

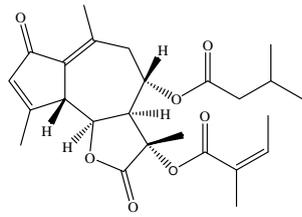
2.3. المركبات المعزولة من النوع (*Daucus glaber* Forssk.):

يعتبر هذا النوع من الجنس *Daucus* مهم أيضا وهذا لإحتوائه على عدد معتبر من المركبات المعزولة

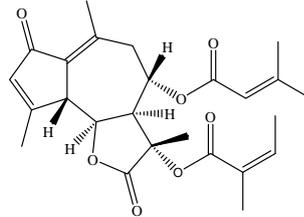
وفي ما يلي جدول لمختلف المركبات المعزولة من النوع *Daucus glaber* Forssk. :

16: يمثل بنية المركبات المعزولة من النوع *Daucus glaber* Forssk. عدا الفلافونيدات.

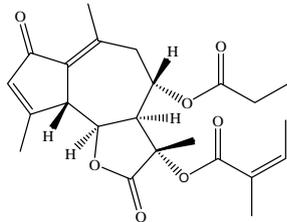
المراجع	بنية المركب المعزولة	النوع النباتي
	 <p>Glabérine A</p>	
[72]	 <p>Glabérine B</p>	الأوراق و السيقان <i>Daucus glaber</i> Forssk.
	 <p>Glabérine C</p>	



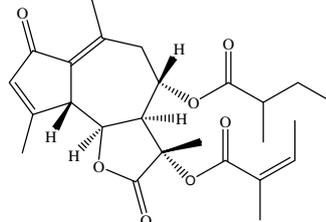
Daucogaianolactone A



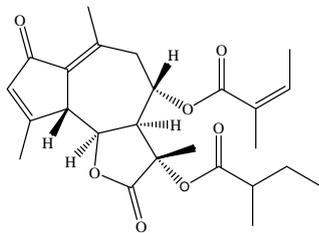
Daucogaianolactone B



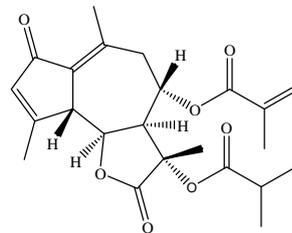
Daucogaianolactone C



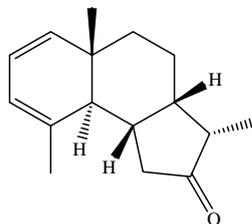
Daucogaianolactone D



Daucogaianolactone E



Daucogaianolactone F



Daucoedesmanolactone A

[73]

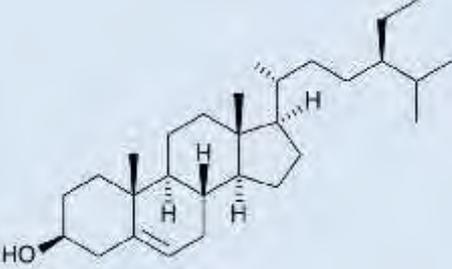
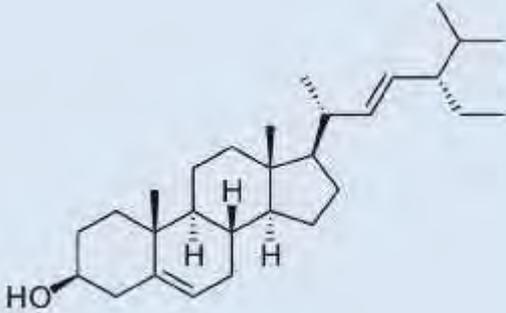
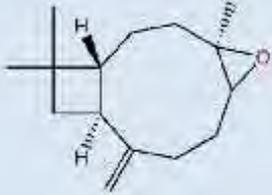
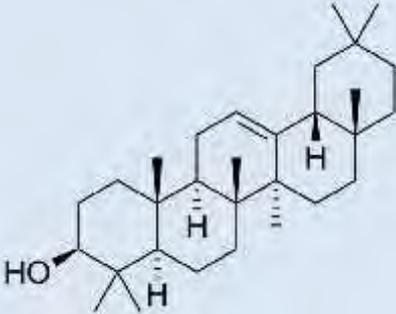
الأوراق و السيقان

Daucus glaber

Forssk.

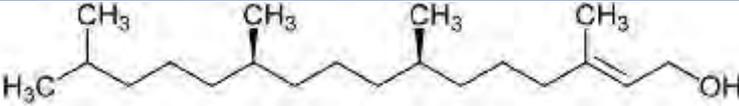
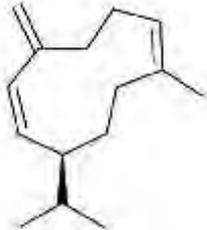
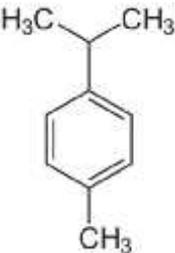
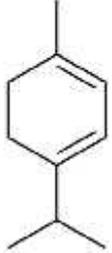
3.3. المركبات المعزولة من النوع (*Daucus littoralis* Smith.):

17: يمثل بنية المركبات المعزولة من النوع *Daucus littoralis* Smith. عدا الفلافونيدات.

المراجع	بنية المركب المعزولة	النوع النباتي
[74]	 <p>β-sitosterol</p>	
	 <p>Stigmasterol</p>	الثمار و الجذور <i>Daucus littoralis</i> Smith.
	 <p>Caryophyllene oxide</p>	
	 <p>β-amyrin</p>	

4.3. المركبات المعزولة من النوع (*Daucus crinitus* Desf.):

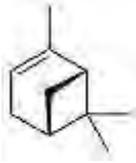
18: يمثل بنية المركبات المعزولة من النوع *Daucus crinitus* Desf. عدا الفلافونيدات.

المراجع	بنية المركب المعزولة	النوع النباتي
[75]		
	<p style="text-align: center;">Phytol</p>	
		
	<p style="text-align: center;">Germacrene D</p>	
		<p style="text-align: center;">الثمار و الجذور <i>Daucus crinitus</i> Desf.</p>
<p style="text-align: center;">p-Cymene</p>		
		
<p style="text-align: center;">γ-terpinene</p>		
		
<p style="text-align: center;">α-Terpinolene</p>		

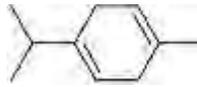
5.3. المركبات المتعرف عليها من النوع (*Daucus reboudii* Coss.):

الزيت الأساسي للنوع *Daucus reboudii* Coss. أظهر إحتواء هذا الأخير على نسبة 74.7 %

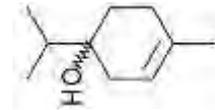
من تربينات أحادية هيدروكاربونية و 15.3 % من تربينات أحادية أكسجينية و 1.4 % سيسكويتربينات هيدروكاربونية و 2.5 % سيسكويتربينات أكسجينية نذكر منها *Pinène* - *Myrcène* - *Terpinène* - *Terpinèn-4-ol* - *Caryophyllène* - *Humulène* غيرها [96].



-Pinène



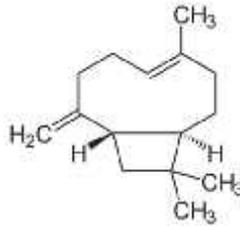
-Terpinène



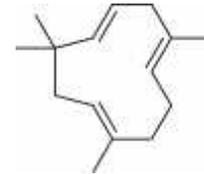
Terpinèn-4-ol



-Myrcène



-Caryophyllène



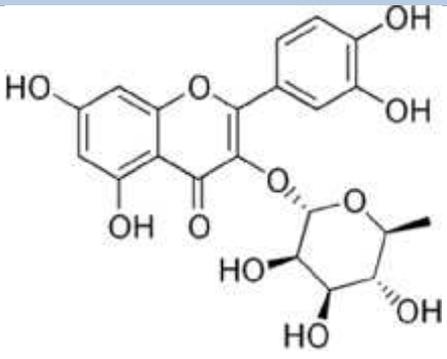
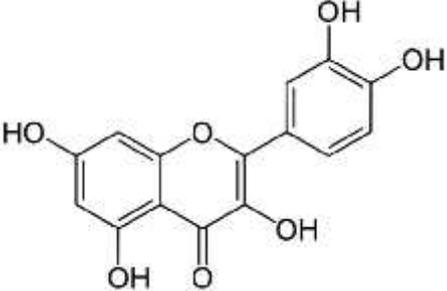
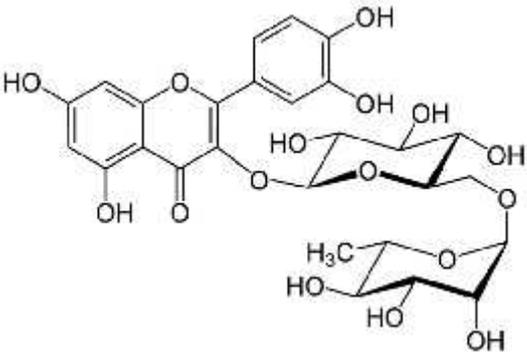
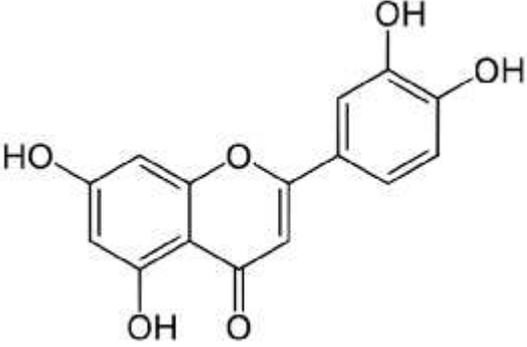
-Humulène

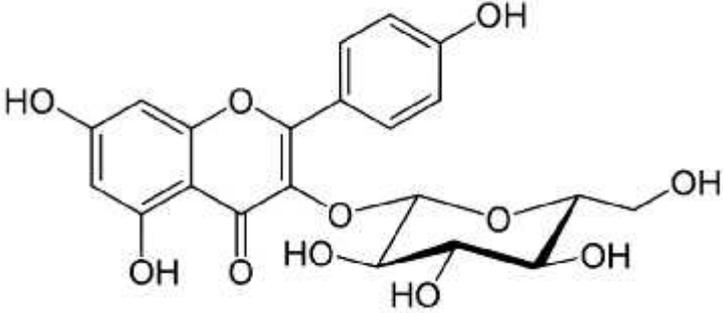
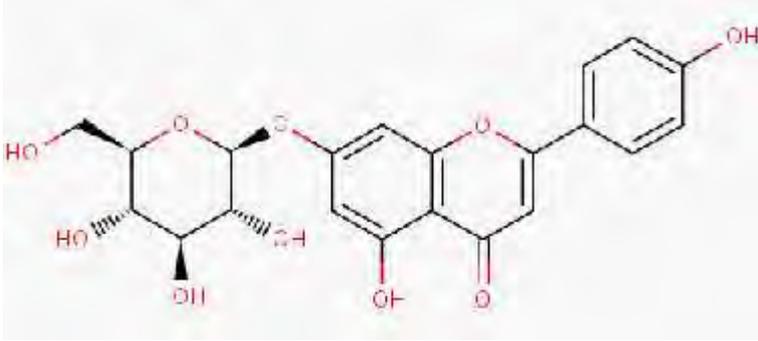
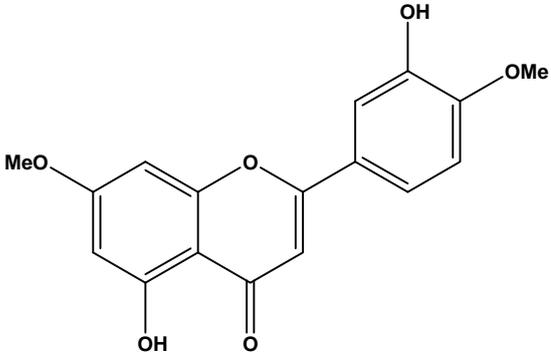
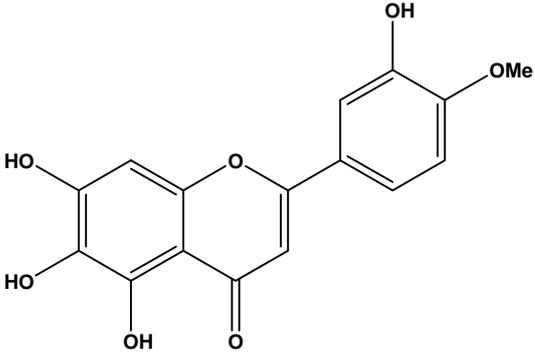
5.3. المركبات الفلافونيدية المعزولة من الجنس (*Daucus*):

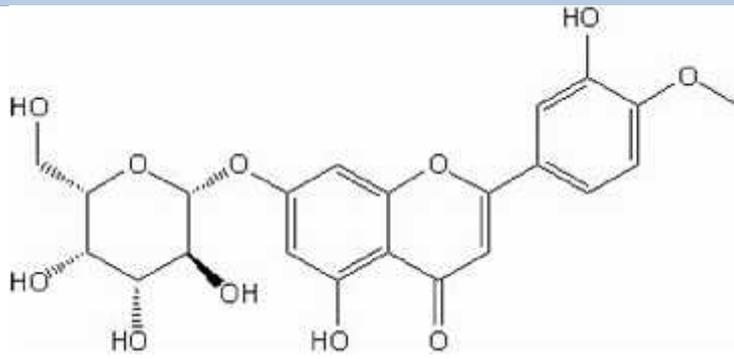
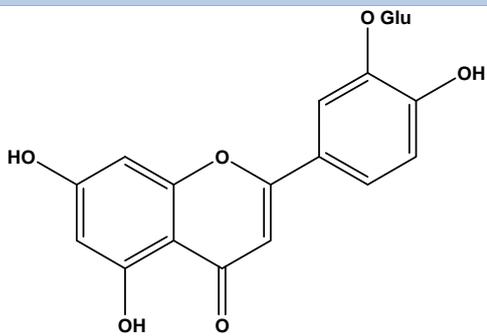
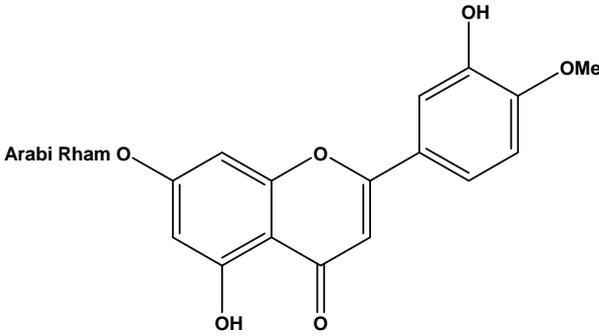
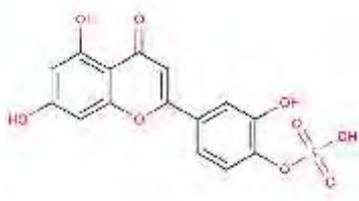
Daucus

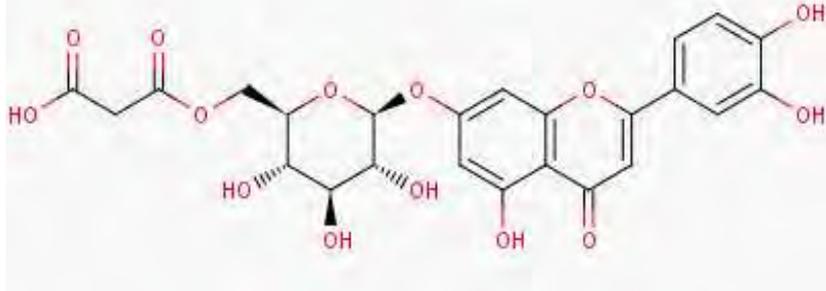
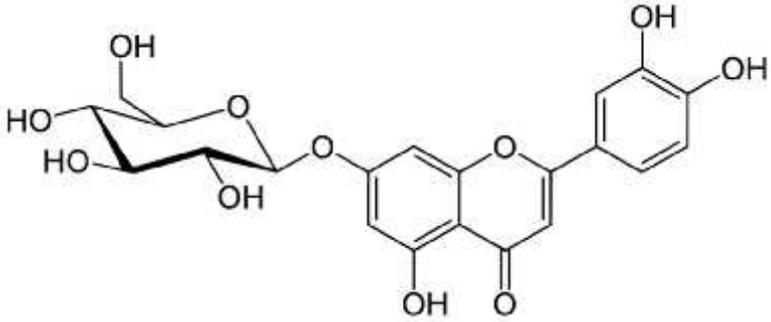
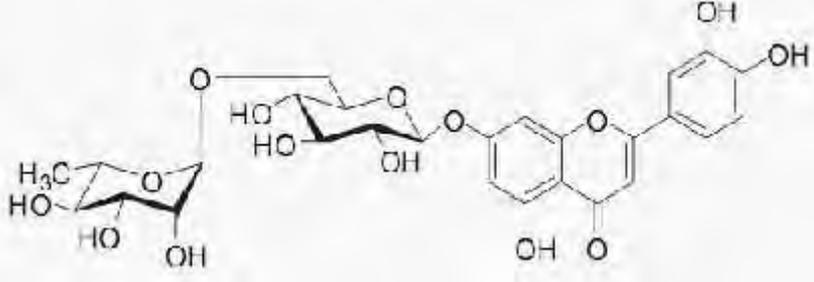
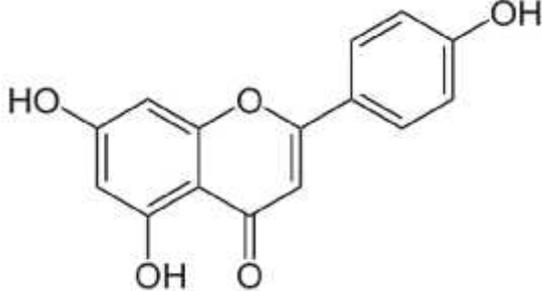
19: يمثل بنية المركبات الفلافونيدية

المراجع	بنية المركب المعزولة	النوع النباتي
	Quercetin 3-O-glucoside	
[74]		<i>D. littoralis</i>
[77]		<i>D. glaber</i>
[83]		<i>D. carota</i>

Quercetin 3-O-galactoside		
[74]	 <p>The structure shows a quercetin aglycone core with a galactose molecule attached to the 3-OH position via an ether linkage. The galactose is in its cyclic pyranose form with specific stereochemistry at the anomeric carbon.</p>	<i>D. littoralis</i>
Quercetin		
[83][84] [85]	 <p>The structure shows the aglycone form of quercetin, consisting of a flavan-3-ol core with hydroxyl groups at positions 2, 3, 5, 7, and 8.</p>	<i>D. carota</i> <i>D. crinitus</i>
Quercetin 3-rutinoside (Rutin)		
[84]	 <p>The structure shows a quercetin aglycone core with a rutinoside molecule attached to the 3-OH position. The rutinoside is composed of a glucose molecule and a galactose molecule linked together at their anomeric carbons.</p>	<i>D. carota</i>
Luteolin		
[74] [76] [81]	 <p>The structure shows the aglycone form of luteolin, which is a flavone with hydroxyl groups at positions 5, 7, and 8.</p>	<i>D. littoralis</i> <i>D. syrticus</i> <i>D. carota</i>

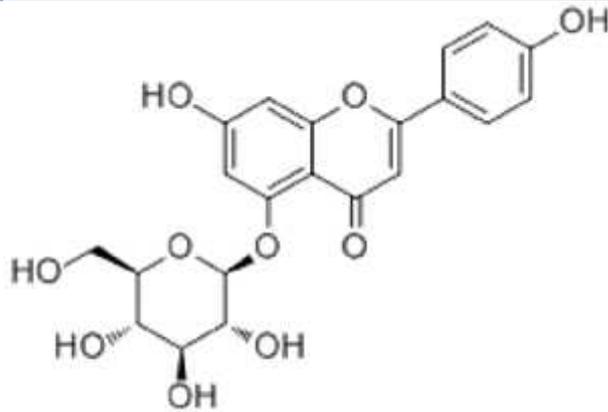
Kaempferol-3- O- glucoside		
[77]	 <p>The structure shows a kaempferol core (a flavone with hydroxyl groups at positions 5, 7, and 8) linked at the 3-position to a glucose molecule in its chair conformation. The glucose has hydroxyl groups at positions 2, 3, and 6.</p>	<i>D. glaber</i>
Apigenin-7-O-glucoside		
[77] [83]	 <p>The structure shows an apigenin core (a flavone with hydroxyl groups at positions 5 and 7) linked at the 7-position to a glucose molecule. The glucose is shown in a chair conformation with hydroxyl groups at positions 2, 3, and 6. The glycosidic bond is highlighted in red.</p>	<i>D. glaber</i> <i>D. carota</i>
7,4'- dimethoxy Luteolin		
[76]	 <p>The structure shows a luteolin core (a flavone with hydroxyl groups at positions 5 and 7) with a methoxy group (MeO) at position 7 and a 4'-methoxyphenyl group at position 4'. The 4'-phenyl ring has a hydroxyl group (OH) at the 3' position and a methoxy group (OMe) at the 4' position.</p>	<i>D. syrticus</i>
6-hydroxy 4'-methoxy Apigenin		
[76]	 <p>The structure shows an apigenin core (a flavone with hydroxyl groups at positions 5 and 7) with a hydroxyl group (OH) at position 6 and a 4'-methoxyphenyl group at position 4'. The 4'-phenyl ring has a hydroxyl group (OH) at the 3' position and a methoxy group (OMe) at the 4' position.</p>	<i>D. syrticus</i>

Diosmetin-7-O-glucoide		
[76]	 <p>The structure shows a flavone core (diosmetin) with a glucose molecule attached to the 7-position of the A-ring. The glucose is in its cyclic pyranose form, with hydroxyl groups at the 2, 3, and 6 positions and a hydroxymethyl group at the 4 position. The B-ring has a methoxy group at the 3-position and a hydroxyl group at the 4-position.</p>	<i>D. syrticus</i>
Luteolin 3'- O-glucoside		
[76]	 <p>The structure shows a flavone core (luteolin) with a glucose molecule attached to the 3'-position of the B-ring. The glucose is represented as 'O Glu'. The A-ring has hydroxyl groups at the 5 and 7 positions. The B-ring has a hydroxyl group at the 4'-position.</p>	<i>D. syrticus</i>
4'-methoxy Luteolin 7-O-rhamno-arabinoside		
[76]	 <p>The structure shows a flavone core (luteolin) with a rhamnose and an arabinose sugar attached to the 7-position of the A-ring. The B-ring has a methoxy group (OMe) at the 3'-position and a hydroxyl group (OH) at the 4'-position. The A-ring has a hydroxyl group (OH) at the 5-position.</p>	<i>D. syrticus</i>
Luteolin-4'-sulphate		
[82]	 <p>The structure shows a flavone core (luteolin) with a sulfate group attached to the 4'-position of the B-ring. The A-ring has hydroxyl groups at the 5 and 7 positions. The B-ring has a hydroxyl group at the 3'-position.</p>	<i>D. carota</i>

Luteolin-7-O-(6''-O-malonyl)-β-D-glucopyranoside		
[78]		<i>D. carota</i>
Luteolin-7-O-glucoside		
[79] [83]		<i>D. carota</i>
Skolimoside		
[80]		<i>D. carota</i>
Apigenin		
[81]		<i>D. carota</i>

Apigenin-5-O-glucoside

[83]

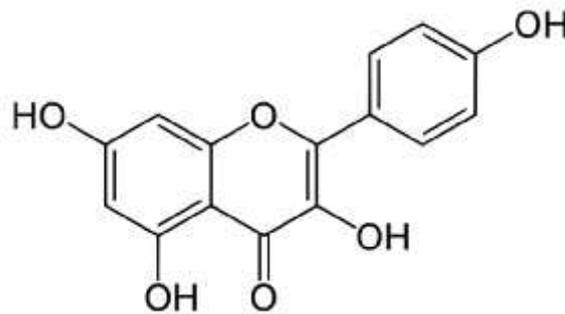


D. carota

Kaempferol

[83]

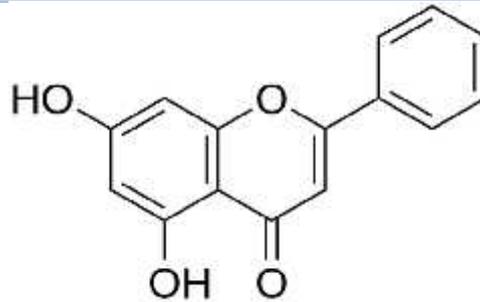
[84]



D. carota

Chrysin

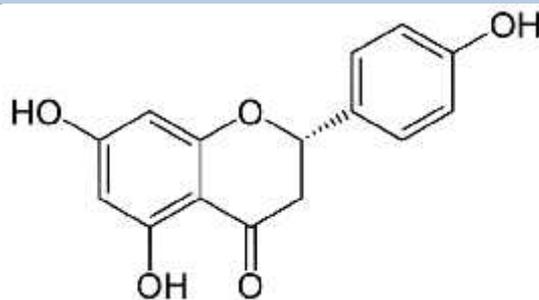
[83]



D. carota

Naringenin

[84]



D. carota

6.3. الفوائد العلاجية للجنس (*Daucus*):

من زمن طويل *Daucus* *Daucus carota* ها
علاجية، حيث كان يستعمل هذا النوع كمدر للبول و طارد للديدان و منظم في حالة الاضطرابات الجهاز
الهضمي، كما أن الزيت الأساسي للثمار هذا النوع يعتبر منظم للضغط الدموي (hypotensive)
واد الغذائية [86] [87].

Daucus carota

كعصير و كمهدئ و تعتبر محسن للرؤيا و تستعمل أيضا لعلاج الإكزيما [87].
و من خصائص الزيت الأساسي للجزر أنه مضاد للتجاعيد، و يؤخر سن اليأس، يحسن في أداء الكبد و
الكليتين، يعتبر منظم أيضا لوظائف الأمعاء و مزيل لسموم و يقلل من الكوليسترول، كما يستعمل لعلاج
مرض السكري و بعض الأمراض الجلدية [88].

الدراسة البيبلوغرافية للجنس *Reutera* (Apiaceae)

1. الجنس *Reutera*:

Reutera هو جنس (Genre) من العائلة الخيمية (Apiaceae) [89]. وينتمي (Apiales) وهو

[93]. في جزيرة بانتليريا التابعة لسردينيا في إيطاليا من الشرق ويمتد تواجده

[90][91] يتواجد أيضا في الجنوب الغربي من أروبا في كورسيكا

[92].

وينمو في الـ *Reutera* وهو النوع *Reutera lutea* [93].

كما أن هذا النوع يـ *Pimpinella lutea* Desf. *R. Fontanesi* Boiss. [93].

يـ 16 وهذه الأنواع هي [94]:

20: يمثل الأنواع النباتية التي تنتمي لـ *Reutera*.

<i>Reutera</i>			
<i>Reutera puberula</i> Loscos	13	<i>Reutera albiflora</i> Costa	1
<i>Reutera rigidula</i> Boiss.	14	<i>Reutera aurea</i> Boiss.	2
<i>Reutera tenuis</i> Boiss.	15	<i>Reutera bobrovii</i> Woronow ex Schischk.	3
<i>Reutera tragiodes</i> Boiss.	16	<i>Reutera catalaunica</i> Costa ex Nyman	4
		<i>Reutera dichotoma</i> Boiss.	5
		<i>Reutera flabellifolia</i> Boiss.	6
		<i>Reutera fontanesii</i> Boiss.	7
		<i>Reutera gracilis</i> Boiss.	8
		<i>Reutera lutea</i> (Desf.) Maire	9
		<i>Reutera papillaris</i> Boiss.	10
		<i>Reutera pastinacifolia</i> Boiss.	11
		<i>Reutera procumbens</i> Boiss.	12

2. المكونات الكيميائية للجنس *Reutera*:

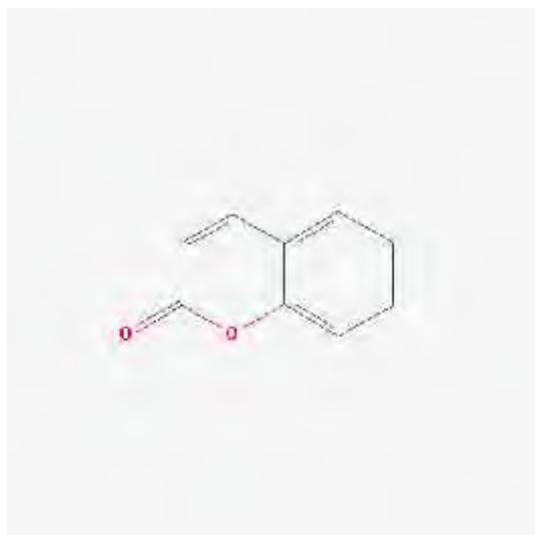
عند إجراء بحث ببليوغرافي عن الدراسات التي أجريت على الجنس *Reutera*

قد تمت دراسته و هو النوع *Reutera aurea* Boiss. الذي ينمو في أرمينيا (Armenia) قد بينت هذه

ان هذا النوع غني بالكومارينات حيث وجد أن الجذور تحتوي 10 كومارينات 5 بها من النوع

كومارينات لكتونية (coumarin lactones) تحتوي الفاكهة و السيقان على 5 أنواع من الكومارينات

منها لكتونية [95] نها النوع 2H-1-Benzopyran-2-one.



2H-1-Benzopyran-2-one

المراجع

- [1]. Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome 2. *Édition Centre National de la Recherche Scientifique, Paris*.
- [2]. Spichier, R.E., Salvolainen, V.V., Figeat, M., Jeanmonod, D. (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs Troisième édition revue et corrigée. 342.
- [3]. Dewick, P.M. (2001). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 2^{ed} Edition. *New York: John Wiley & Sons*.
- [4]. Holub, M., Budesinsky, M. (1986). Sesquiterpene lactones of the umbelliferae. *Phytochemistry*. 25, 2015-2026.
- [5]. El Hazimi, H. (2002). Natural Products 3rd Ed. *Alkheraiji Library, Riyadh, Saudi Arabia*. 166-165.
- [6]. Laouer, H., Zerroug, M.M., Sahli, F., Chaker, A.N., Valentini, G., Ferretti, G., Grande, M., Anaya, J. (2003). Composition and antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* Brot. Breistr. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*. 15, 135-138.
- [7]. Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, P. (1994). Sesquiterpene lactones and other constituents of *Seseli vayredanum*. *Phytochemistry*. 37, 1351-1358.
- [8]. Ahmed, A.A., Abdel-Razek, M.H., Nassar, M.I., Izumi, S., Ohta, S., Hirata, T. (2001). An eudesmanolide and a carotane from *Ferula sinaica*. *Phytochemistry*. 57, 513-515.
- [9]. Chokra, I.S. (1994). Flowering plants. *Printing House of the Arab Thought*.
- [10]. Stephen, R.D., Deborah, S.K., Krzysztof, S. (2000). A Phylogeny of Apiaceae tribe Scandiceae evidence from nuclear ribosomal dnainternal transcribed spacer sequences. *American Journal of Botany*. 87, 76-95.
- [11]. Heywood, V.H., Moore, D.M., Richardson, I.B.K., Stearn, W.T. (1978). Flowering plants of the world. *London : Oxford University Press*. 218-219.
- [12]. Pimenov, M.G., Leonov, M.V. (1993). The genera of the Umbelliferae Nomenclature. *Royal Botanic Gardens Kew, U.K. & Botanical Garden of Moscow University, Russia*.

- [13]. Reduron, J. P., Charpin, A., Pimenov, M. (1997). Contribution à la nomenclature générique des Apiaceae (Ombellifères). *Le Journal de Botanique*. 03, 91-104.
- [14]. Pimenov, M.G., Kljuykov, E.V. (1987). Neoconopodium a new genus of the Umbelliferae from the Himalaya. *Feddes Repetorium*. 98, 373-378.
- [15]. Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. *Columbia University press, New York*.
- [16]. Spichiger, R.E., Savolainen, V.V., Figeat, M., Jeanmonod, D. (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs, 3ème éd. *Presses polytechnique et universitaires romandes, Lausanne*.
- [17]. Rahman, W., Ilyas, M., Khan, A.W. (1963). Flower pigments: Flavonoids from Daucus Carota, Linn. D. Vulgaris. *Naturwissenschaften*. 50, 477.
- [18]. Crowden, R.K., Harborne, J.B., Heywood, V.H. (1969). Chemosystematics of the Umbelliferae A general survey. *Phytochemistry*. 08, 1963-1984.
- [19]. Harborne, J.B., Saleh, N.A.M. (1971). Flavonol glycoside variation in fennel, *Foeniculum vulgare*. *Phytochemistry*. 10, 399-400.
- [20]. Ohta, T., Miyazaki, T. (1959). Foenicularin, a Quercetin-3-O-Arabinoside from the Leaves of *F. vulgare*. *J. Pharm. Soc. Japan*. 76, 323-324.
- [21]. Minaeva, V.G., Volkhonskaya, T.A. (1964). Flavonoid of *Bupleurum multinerve*. *dokl. Akad. Nauk. Sssr. Journal*. 154, 956-959.
- [22]. Maksyutina, N.P., Litvinenko, V.I. (1966). Chemical investigation of pasternoside. *chem abstr journal*. 65, 788.
- [23]. Matsushita, A., Iseda, S. (1965). Flavonoid Constituents of the Flowers of *Oenanthe stolonifera*. *Journal of the agricultural chemical society of Japan*. 39, 317-318.
- [24]. Gerichten, E.V. (1876). About Apiole. *Ber Der Deutsch chem Ges*. 9, 1477-1479.
- [25]. Nordstrom, N., Swain, A., Hamblin, A.J. (1953). The flavone glycosides of parsley. *Chem. Ind. (London)*. 85-86.
- [26]. Harborne J.B. (1967). Comparative biochemistry of flavonoids. V. Luteolin 5-glucoside and its occurrence in the Umbelliferae. *Phytochemistry*. 6, 1569-1573.

- [27]. Glennie, W., Harborne, J.B. (1971). Flavone and flavonol 5-glucosides. *Phytochemistry*. 10, 1325-1329.
- [28]. Farooq, M.O., Gupta, S.R., Kiamuddin, M., Rahman, W., Seshadri, T.R. (1953). Chemical examination of celery seeds. *J. Sci. Ind. Res.* 12, 400.
- [29]. Plouvier, V. (1969). Glycosides and Polyalcohols of Some Umbelliferae. *C.R.Acad.Sci.Paris*. 268, 86-88.
- [30]. Harborne, J.B., King, L. (1976). Flavonoid sulphates in the Umbelliferae. *biochem.Syst.Ecol.* 4, 111-115.
- [31]. Bencheraiet, R., Kherrab, H., Kabouche, A., Kabouche, Z., Jay, M. (2011). Flavonols and Antioxidant Activity of Ammi visnaga L. (Apiaceae). *Natural Products*. 5, 52-55.
- [32]. Louaar, S., Akkal, S., Bayet, C., Laouer, H., Guilet, D. (2008). Flavonoids of Aerial Parts of an Endemic Species of the Apiaceae of Algeria, Ammoides atlantica. *Chemistry of Natural Compounds*. 44, 516-517.
- [33]. Fathy, M.S., Afaf, H.S., Amal, E.K., Shahera, M.E. (2002). An Acylated Kaempferol Glycoside from Flowers of Foeniculumvulgare and F. Dulce. *Molecules*. 7, 245-251.
- [34]. Murray, R.D. (1978). Naturally Occurring Plant Coumarins. *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe*. 35, 199.
- [35]. Rodriguez, B., Pinar, M. (1979). Aus Wurzeln und Kraut Atisan- und Kaurande-rivate. *An. Quim.* 75, 936.
- [36]. Christensen, L.P., Brandt, K. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 683-693.
- [37]. Anet, E.F.L.J., Lythgoe, B., Silk, M.H., Trippett, S. (1953). Oenanthotoxin and cicutoxin. Isolation and structures. *J. Chem. Soc.* 62, 309-322.
- [38]. Pascual, T.J., Villaseo, M.A., Hernandez, J.M., Moran, J.R., Grande, M. (1986). Complex Acetylenes from the Roots of Ferula communis. *Planta med.* 52, 458-462.
- [39]. Mariaca, R.G., Berger, T.H.F., Gauch, R., Imhof, M.I. (1997). Occurrence of volatile mono- and sesquiterpenoids in highland and lowland plant species as possible precursors for flavour compounds in milk and dairy products. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4423-4434.

- [40]. Bohlmann, F., Zdero, C. (1974). Ozidsaure war bereits aus der leguminose *Daniella ogea* bekannt. *Chem. Ber.* 107, 1416.
- [41]. Pascual, T.J., Grande, C., Moran, J.R., Grande, M. (1984). A revised structure for diterpenoid magyuardiendiol. *Chem. Lett.* 13, 247-250.
- [42]. Rodriguez, B., Pinar, M. (1974). Margotianin, a new diterpenoid from *Margotia gummifera*. *Phytochemistry*. 18, 891-893.
- [43]. Hsu, M.J., Cheng J.S., Huang H.C. (2000). Effect of saikosaponin, a triterpene saponin, on apoptosis in lymphocytes. *Br. J. Pharmacol.* 131, 1285-1293.
- [44]. El-Gamal, A.A. (2001). Sesquiterpene lactones from *Smyrniololus*. *Phytochemistry*. 57, 1197-1200.
- [45]. Ahmed, A. A., Abdel-Razek, M.H., Nassar, M.I., Izumi, S., Ohta, S., Hirata, T. (2001). An eudesmanolide and a carotene from *Ferula sinaica*. *Phytochemistry*. 57, 513-515.
- [46]. Bud šinskýa, M., Holuba, M., Šamana, D., Smítalováa, Z., Ulubelenb, A., Öksüz, S. (1984). Structure of istanbulin A and istanbulin B - two sesquiterpenic lactones from *Smyrniololus*. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 49, 1311-1317.
- [47]. Drew, D.P., Krichau, N., Reichwald, K., Simonsen, H.T. (2009). Guaianolides in Apiaceae: perspectives on pharmacology and biosynthesis. *Phytochemistry Rev.* 8, 581-599.
- [48]. Ha, T.J., Park, K.H., Jang, D.S., Lee, J.R., Park, K.M., Yang, M.S. (2003). New Sesquiterpene Lactones from *Hemistepelia lyrata* Bunge. *International Journal for Reviews and Communications in Heterocyclic Chemistry*. 60, 623-629.
- [49]. Macas, F.A., Aguilar, J.M., Molinillo, J.M.G., Rodriguez-Lus, F., Collado, I.G., Massanet, G.M., Fronczek, F.R. (2000). Studies on the Stereostructure of Eudesmanolides from Umbelliferae: Total Synthesis of (+)-Decipienin A. *Tetrahedron*. 56, 3409-3414.
- [50]. Williams, C.A., Harborne, J.B. (1972). Essential oils in the spiny-fruited umbelliferae. *Phytochemistry*. 11, 1981-1987.
- [51]. Staniszevska, M., Kula, J. (2001). Composition of the Essential Oil from Wild Carrot Umbels (*Daucus carota* L. ssp. *carota*) Growing in Poland. *Journal of Essential Oil Research*. 13, 439-441.

- [52]. Cronquist, A. (1988). *The Evolution and Classification of Flowering Plants*, 2nd edition. *New York Botanical Garden: New York*.
- [53]. Sáenz-Lain, C. (1981). Research on *Daucus* L. (Umbelliferae). *Anales Jard Bot Madrid*, 37, 480-533.
- [54]. Flamini, G., Cioni, P.L., Maccioni, S., Baldini, R. (2007). Composition of the essential oil of *Daucus gingidium* L. ssp. *Gingidium*. *Food Chem.* 103, 1237-1240.
- [55]. Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; *Editions du Centre National de la Recherche Scientifique : Paris*. 659.
- [56]. Ram, A.S., Devi, H.M. (1983). Chemotaxonomic study of the Umbelliferae flavonoid aglycones of Apioideae. *Indian. J. Bot.* 6, 21-24.
- [57]. Pinheiro, H.M., Stringheta, P.C., Cardoso, S.C., Cordeiro, R.M. (1998). Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota* L.) prepared by food service. *Food Chem.* 61, 145-151.
- [58]. Mansour, E.S., Maatooq, G.T., Khalil, A.T., Marwan, E.M., Sallam, A.A. (2004). Essential oil of *Daucus glaber* Forssk. *Z. Naturforsch.* 59, 373-378.
- [59]. Ahmed, A.A., Bishr, M.M., El-Shanawany, M.A., Attia, E.Z., Ross, S.A., Pare, P.W. (2005). Rare trisubstituted sesquiterpenes daucanes from the wild *Daucus carota*. *Phytochemistry.* 66, 1680-1684.
- [60]. Czepa, A., Hofmann, T. (2003). Structural and Sensory Characterization of Compounds Contributing to the Bitter Off-Taste of Carrots (*Daucus carota* L.) and Carrot Puree. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3865-3873.
- [61]. Gebhardt, Y., Witte, S., Forkmann, G., Lukacin, R., Matern, U., Martens, S. (2005). Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae. *Phytochemistry.* 66, 1273-1284.
- [62]. Ivie, G.W., Beier, R.C., Holt, D.L. (1982). Analysis of the garden carrot (*Daucus carota* L.) for linear furocoumarins (psoralens) at the sub parts per million level. *J. Agric. Food Chem.* 30, 413-416.
- [63]. Kurilich, A. C., Clevidence, B. A., Britz, S. J., Simon, P. W., Novotny, J. A. (2005). Plasma and urine responses are lower for acylated vs nonacylated anthocyanins from raw and

cooked purple carrots. *J. Agric. Food Chem.* 53, 6537-6542.

[64]. Christensen, L.P., Kreutzmann, S. (2007). Determination of polyacetylenes in carrot roots (*Daucus carota* L.) by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection. *J. Sep. Sci.* 30, 483-490.

[65]. Imamu, X., Yili, A., Aisa, H. A., Maksimov, V. V., Veshkurova, O. N., Salikhov, S. I. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Daucus carota sativa* seeds. *Chem. Nat. Compd.* 43, 495-496.

[66]. Fu, H.W., Zhang, L., Yi, T., Tian, J.K. (2009). A New Sesquiterpene from the Fruits of *Daucus carota* L. *Molecules.* 14, 2862-2867.

[67]. Mazzoni, V., Tomi, F., Casanova, J. (1999). A daucane-type sesquiterpene from *Daucus carota* seed oil. *Flavour Fragr. J.* 14, 268-272.

[68]. Eldahshan, O.A., Ayoub, N.A., Singab, A.B., El-Azizi, M.M. (2002). Carotamine, a Unique Aromatic Amide from *Daucus carota* L. var. Bois (Apiaceae). *Molecules.* 7, 501-506.

[69]. Akgul, Y., Aktas, L.Y., Anil, H. (2009). Compounds from flowers of *Daucus carota* L. ssp. *carota* and their antioxidant activity. *Chem. Nat. Compd.* 45, 889-892.

[70]. Fu, H.W., Zhang, L., Yi, T., Feng, Y.L., Tian, J.K. (2010). Two new guaiane-type sesquiterpenoids from the fruits of *Daucus carota* L. *Fitoterapia.* 81, 443-446.

[71]. Fu, H.W., Zhang, L., Yi, T., Feng, Y.L., Tian, J.K. (2010). Guaiane type sesquiterpenes and other constituents from *Daucus carota* L. *Biochem. Syst. Ecol.* 38, 309-312.

[72]. Sallam, A.A., Hitotsuyanagi, Y., Mansour, S.S., Ahmed, A.F., Gedara, S., Fukaya, H., Takeya, K. (2009). Phenylpropanoid triesters from *Daucus glaber*. *Phytochem. Lett.* 2, 188-191.

[73]. Sallam, A.A., Hitotsuyanagi, Y., Mansour, S.S., Ahmed, A.F., Gedara, S., Fukaya, H., Takeya, K. (2010). Sesquiterpene Lactones from *Daucus glaber*. *Helv. Chim. Acta.* 93, 48-55.

[74]. Yousefbeyk, F., Gohari, A.R., Hashemighahderijani, Z., Ostad, S.N., Sourmaghi, M.H.S., Amini, M., Golfakhrabadi, F., Jamalifar, H., Gholamreza, A. (2014). Bioactive Terpenoids and Flavonoids from *Daucus littoralis* Smith subsp. *hyrcanicus* Rech.f, an Endemic Species of Iran. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences.* 22, 12.

- [75]. Dib, M.A., Bendahou, M., Bendiabdellah, A., Djabou, N., Allali, H., Tabti, B., Paolinic, J., Costac, J. (2010). Partial chemical composition and antimicrobial activity of *Daucus crinitus* Desf. extracts. *GRASAS Y ACEITES*. 61, 271-278.
- [76]. Khaled, A.A., Ali, M.E., Hamid, M.Y., Fatima, M.A., Wael. M.E. (2013). The Flavonoids and Antimicrobial Activity of *Daucus syrticus* Growing in libya. *World Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3, 114-125.
- [77]. Amal, A.S., Yukio, H., El-Sayeds, M., Atallah, F.A., Sahar, G., Haruhiko, F., Koichi, T. (2009). phenylpropanoid triester from *Daucus glaber* Forssk. *phytochem. Letters*. 2, 188-191.
- [78]. Hong, W.F., Lin, Z., Tao. Y., Yu, L.F., Jing, K.T. (2010). Two new Guaiane - Type sesquiterpenes Glycosids from the fruits of *Daucus carota* L. *Chem.Pharm.* 58, 125-128.
- [79]. Hong, W.F., Lin, Z., Tao. Y., Yu, L.F., Jing, K.T. (2010). Guaiane type sesquiterpenes and other constituents from *D. carota* L. *Biochem. Syst. and Ecol.* 38, 309-312.
- [80]. Garrod, B., Lewis, B.G., Coxon, D.T. (1981). The accumulation of inhibitory compounds in the induced resistance response of carrot root to *Botrytis cinerea*. *physiol. Plant pathol.* 18, 7-15.
- [81]. Meliani, N., Dib, M.A., Allali, H., Tabti, B. (2013). Comparative analysis of essential oil components of two *Daucus* species from Algeria and their antimicrobial activity. *Int. Res. J. Biol. Sci.* 2, 22-29.
- [82]. Diccarlo, G; Mascolo, N; Izzo, AA and Capasso, F "flavonoids old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs" *Life Sci.*, 1999; 65(4): 337-53.
- [83]. El-Moghazi, A.M., Ross, S.A., Halim, A.F., Abou-Rayya, A. (1980). Flavonoids of *Daucus carota*. *Planta Medica*. 40, 382-383.
- [84]. Poulin, M.J., Bel-Rhlid, R., Piché, Y., Chênevert, R. (1993). Flavonoids released by carrot (*Daucus carota*) seedlings stimulate hyphal development of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of optimal CO₂ enrichment. *J Chem Ecol.* 19, 2317-2327.
- [85]. Bendiabdellah, A., Dib, M.A., Meliani, N., Djabou, N., Allali, H., Tabti, B. (2012). Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of solvent extracts from *Daucus crinitus* Desf., from Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2, 92-95.

- [86]. Saad, H.E.A., El-Sharkawy, S.H., Halim, A.F. (1995). Essential oils of *Daucus carota* ssp. *Maximus*. *Pharm. Acta Helv.* 70, 79-84.
- [87]. Bennouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., Ziyat, A. (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetics and metabolism.* 10, 33-50.
- [88]. Telfon, T. (2004). ABC des huiles essentielles, édition Grancher, *Collection France Loisirs*.
- [89]. Tutin & al., 1964-1980. *Flora Europaea*, (5 vol).
- [90]. Le Floch, E. & L. Boulos. (2008). Flore de Tunisie: catalogue synonymique commenté. (L Tunis).
- [91]. Quézel, P. & Santa, S. 1962–1963. Nouvelle flore de l'Algérie. (F Alger) (= *Reutera lutea* (Desf.) Maire).
- [92]. Pignatti, S. (1982). *Flora d'Italia*. (F Ital).
- [93]. Quézel P. & SANTA S., 1963 - Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales - Tome 2. 658.
- [94]. Watson, M. (2013). Umbellifers: World Umbellifer Database (version Nov 2011). In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2013 Annual Checklist (Roskov, Y., Kunze, T., Paglinawan, L., Orrell, T., Nicolson, D., Culham, A., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoin, T., Baillargeon, G., Hernandez, F., De Wever, A., eds). *Species 2000: Reading, UK*.
- [95]. Muradyan. A.A. (1971). Types of Armenian umbellate flora as producers of coumarin compounds. *Trudy Botanicheskogo Instituta, Akademiya Nauk Armyanskoi SSR.* 136-144.
- [96]. Djarri, L., Medjroubi, K., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E., Vérité, P. (2006). Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss. *Flavour and Fragrance Journal.* 21, 647-649.

الفصل الثالث
الدراسة الكيميائية للنباتتين

Reutera lutea Desf. (Apiaceae)

Daucus aureus Desf. (Apiaceae)

الدراسة الكيميائية لنوع

Reutera lutea Desf.

1. المادة النباتية:

الأجزاء الهوائية للنبية *Reutera lutea* في فترة الإزهار من شهر ماي 2008 وهذا من حضيرة ورايا الوطنية بالقرب من ييمّ ورايا على ارتفاع 600 ري. حيث تم التعرف عليها «نصيرة بولعشب» وتم إبداع عينة منها في قسم البيولوجيا وعلم البيئة النباتية بجامعة سطيف.

جفيف النبتة جيد لتهوئة، وبعد عملية الطحن تحصلنا على حوالي 1

المادة النباتية جاهزة للدراسة.

كما نشير ختیار هذا :

- نه نوع نادر وغير مدروس.
- و لأنه ينتمي للعائلة الخيمية و المعروفة بتنوع المركباتها وفعاليتها البيولوجية.

2. التصنيف النظامي للنبية [1]:

Embranchement	Spermaphytes	الفرع
Sous embranchement	Angiospermes	تحت الفرع
Classe	Dicotylédones	الصف
Ordre	Apiales	الرتبة
Famille	Apiaceae	العائلة
Genre	<i>Reutera</i>	الجنس
Espèce	<i>Reutera lutea</i>	النوع
Nom botanique	<i>Reutera lutea</i> (Desf.)	الإسم النباتي

3. الأسماء المرادفة (Synonymes) [2]:

Reutera lutea (Desf.) = *Pimpinella lutea* Desf. = *Reutera Fontanesi* Boiss.

.Pimpinelle jaune Boucage jaune :

4. وصف النوع *Reutera lutea*:

هي نبتة معمرة تميز كبير جذع سميك سيقانها كثيرة التشعب (التفرع)، عارية من الشعيرات، ويصل ارتفاعها 1 2 كثيرة و كلها سفلية (قاعدية) يصل طولها 15 30 هذه ريشية 5 13 بيضاوية وتدية الساقية وتظهر 3 5 سيقان شعاعية دقيقة. الزهرية . الأزهار فهي بيضاوية طولها 5 [2].



الشكل 37: صورة فوتوغرافية للنبتة *Reutera lutea*.



الشكل 38: صورة فوتوغرافية للنبتة *Reutera lutea*.

5. التوزيع الجغرافي للنوع *Reutera lutea*:

- في إفريقيا: تنمو هذه النبتة في شمال إفريقيا (الجزائر و تونس) [3] [4].
 - في أوروبا: الجنوب الشرقي من أوروبا في سيشيليا (جزيرة بانتيليريا) إيطاليا وتتواجد أيضا في الجنوب الغ
- في كورسيكا في فرنسا [5].



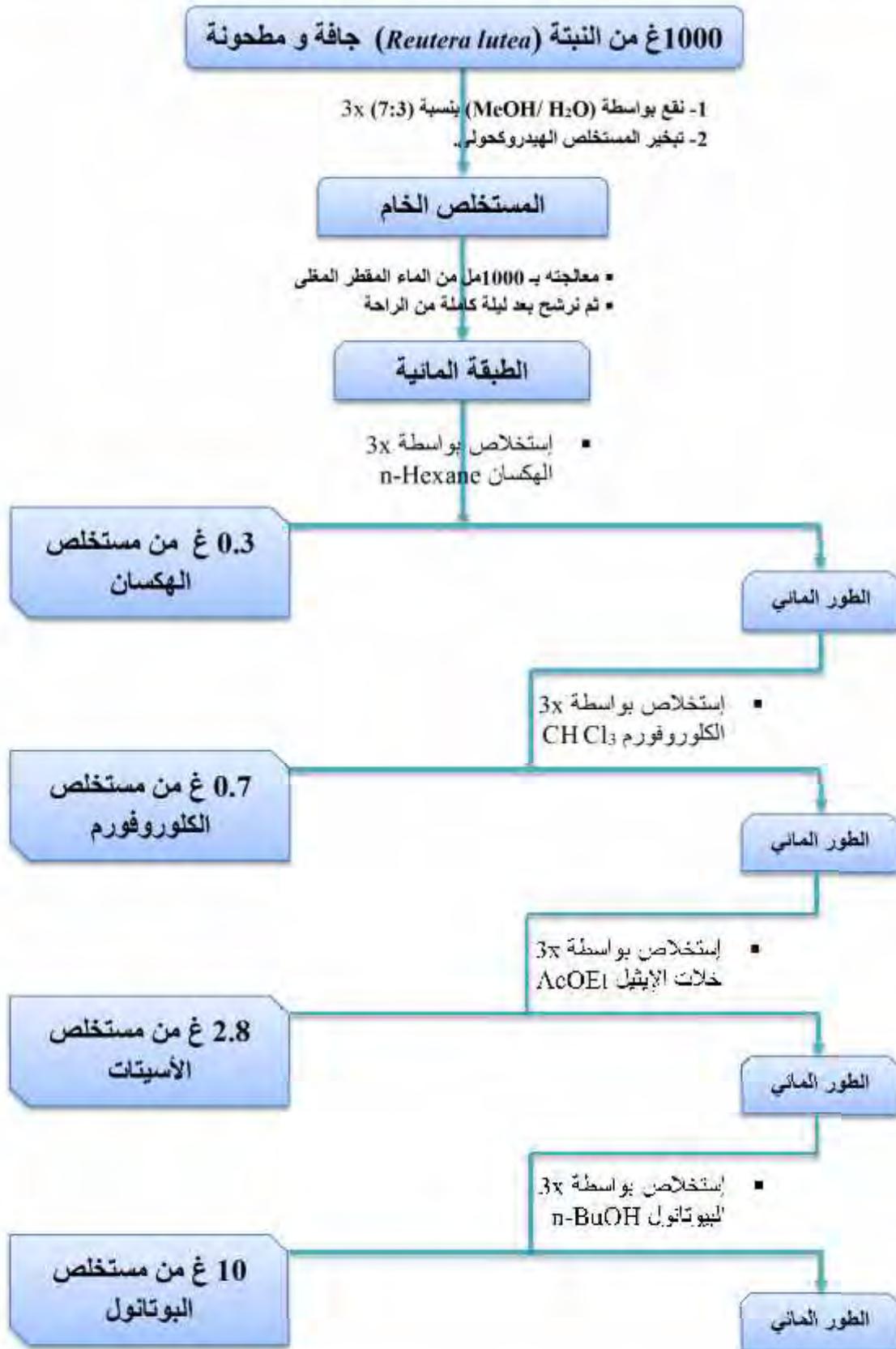
الشكل 39: التوزيع الجغرافي للنبتة *Reutera lutea*.

6. الإستخلاص للنوع *Reutera lutea*:

وتجفيف الأجزاء الهوائية للنبتة

التالية:

تقطيع	الهوائية	(أزهار و سيقان و أوراق) و التي كان وزنها مقدر بـ 1000
أجزاء صغيرة جداً	نقعها	خليط هيدروكحولي (ميثانول-) (3/7)
24	كمية	العملية 3 متتالية
تجديد المذيب	24	(بإضافته ترشيحها) ليستقبل الهيدروكحولي
عملية ترشيح، عندها	هذا الأخير	
(35 °) أين	(المستخلص الميثانولي)	هذا الأخير 1000
عند درجة الغليان	ليلة	بعدها هذا لتخلص
من الأتربة و بعض المركبات الليبوفيلية (كلوروفيل، دهون نباتية، ...إلخ) أين		
المائية حيث أجرينا عليها عملية	-	مذيبات القطبية وهي:
- 340	الهكسان 3	التبخير 0.3 الهكسان.
- 340	3	التبخير 0.7
- 340	أسيتات الإثيل 3	التبخير 2.8 الأسيتات.
- 340	3	التبخير 10
هذه العملية	:	



الشكل (40): مخطط عام لاستخلاص الغلافونيدات

7. الفحص كروماتوغرافي للمستخلصات:

قبل الشروع في عملية الفصل و الهدف هذا هو تقريبا
الفلافونيدية لأنها تتميز بقطبية عالية بإجراء فحوصات تحليلية على كل من
أسيتات الإيثيل و هذا كروماتوغرافيا الرقيقة (CCM) من متعدد الأميد DC₆ ثنائية
المذيبات التالية:

(Toluène/ MeOH/ méthyléthylcétone)	(4/3/3)	D ₁
(H ₂ O/ MeOH/ méthyléthylcétone/ Acétylacétone)	(13/3/3/1)	D ₂

عملية التجفيف الهواء، الخريطة الفلافونيدية

للأشعة فوق بنفسجية UV لتتحصل على الشكلين 41 42 :



الشكل 41: كروماتوغرام ثنائي البعد للمستخلص البوتانولي

للنبذة *Reutera lutea*



الشكل 42: كروماتوغرام ثنائي البعد للمستخلص الأسيات

للنبتة *Reutera lutea*

ماتوغرام في الشكلين 41 42 ل الألوان التي ظهرت
 UV تبين المستخلصين يحتويان بها الفلافونيدية هذا تبين
 انه بسيطة بين المستخلصين ي . تبين
 الفلافونيدية فيما بينها يقودنا لعملية

8. الفصل و التنقية:

• دراسة المستخلص البيوتانولي للنوع *Reutera lutea* :

نظرا إلى ما بينه كروماتوغرام الشكل 41 أظهر

كروماتوغرافيا (CC) 10

Reutera lutea، حيث لهذا الأמיד (SC₆) لقدرته

الفلافونيدية، و قد تم تحضير المستخلص البيوتانولي بإذابته في القليل من الميثانول مع إ كمية من

الأميد (SC₆) و بعد تركيز العينة حتى الجفاف

ين لمدة ليلة كاملة.

عملية التمليص التولوين تشبيعه تدرجيا بالميثانول إلى غاية الوصول إلى 100 % من الميثانول، يتم (UV)

حيث أين نهاية العملية 208 بعد مقارنتها تم

لكسور المتشابهة بإستعمال الأنظمة:

- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة : (MeOH : CH₂Cl₂) (1 : 9) (0.5 : 9.5) (2 : 8) :

- CP كروماتوغرافيا الورق (whatman N°3) ين: 15 %

BAW (4:1:5).

لنتحصل في النهاية على 22 تم تدوين هذه الكسور 21:

21: الكسور المجمعة المتحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي.

الملاحظة	MeOH %	Tol %	رقم الكسور	الكسر
خلانط	% 2 - 0	% 98 - 100	6 - 1	F1
	% 5 - 2	% 95 - 98	15 - 7	F2
	% 10 - 5	% 90 - 95	22 - 16	F3
	% 10	% 90	29 - 23	F4
	% 15 - 10	% 85 - 90	42 - 30	F5
خلانط	% 15	% 85	48 - 43	F6
	% 20 - 15	% 80 - 85	60 - 49	F7
	% 20	% 80	74 - 61	F8
خليط يحتوي على مركبين أساسيين	% 25 - 20	% 75 - 80	87 - 75	F9
خلانط	% 25	% 75	95 - 88	F10
	% 30 - 25	% 70 - 75	104 - 96	F11
	% 30	% 70	112 - 105	F12
خليط يحتوي على مركبين أساسيين	% 30	% 70	119 - 113	F13
راسب أصفر	% 35 - 30	% 65 - 70	131 - 120	F14

خليط	% 40 - 35	% 60 - 65	145 - 132	F15
خليط يحتوي على مركب ظاهر	% 45 - 40	% 55 - 60	158 - 146	F16
خليط معقد لم يعالج	% 50 - 45	% 50 - 55	166 - 159	F17
راسب أصفر	% 60 - 50	% 40 - 50	179 - 167	F18
خلائط معقدة لم تعالج	% 70 - 60	% 30 - 40	186 - 180	F19
	% 80 - 70	% 20 - 30	192 - 187	F20
	% 100 - 80	% 00 - 20	198 - 193	F21
	% 100	% 00	208 - 199	F22

■ معالجة الكسور المتحصل عليها:

■ معالجة الكسر F9:

F9 هو عبارة عن خليط عدة مركبات بحيث يحتوي على مركبين أساسيين ظاهرين وهذا حين الفحص التحليلي للكسر عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM السيليكاجل كدعامة (8 : 2) (CH₂Cl₂ : MeOH).

و من ثم تم تحضير العينة للفصل عن طريق كروماتوغرافيا العمود CC السيليكاجل كدعامة ثابتة (8 : 2) (CH₂Cl₂ : MeOH) كملص من بداية العمود إلى آخره، لنتحصل على مركبين بحيث تم تمريرهما على عمود من السيفاداكس (Sephadex LH20) بإستعمال الميثانول كملص، لنتحصل عليهما في صفتها النقية وهما (H511) و (H512).

■ معالجة الكسر F13:

F13 هو عبارة عن خليط من حوالي خمسة مركبات بحيث يحتوي على مركبين أساسيين ظاهرين وهذا حين التحليلي للكسر عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM السيليكاجل (8 : 1 : 1) (AcOEt : MeOH : Eau).

و من ثم تم تحضير العينة للفصل عن طريق كروماتوغرافيا العمود CC السيليكاجل كدعامة ثابتة

48 (1:1:8) (AcOEt : MeOH : Eau) كملص من بداية العمود إلى آخره،

:22

كسر تم تجميعها في 7

عليها

:22

آثار لمركبات غير فلافونيدية.	7 - 1	F13-1
آثار لمركبات غير فلافونيدية تختلف عن الأولى.	9 - 7	F13-2
راسب أصفر لمركب فلافونيدي (H509).	13 - 10	F13-3
بقايا المركب الفلافونيدي الأول مع مركبات غير فلافونيدية.	18 - 14	F13-4
مركب فلافونيدي مختلف عن الأول مع بعض الشوائب.	28 - 19	F13-5
بقايا من نفس المركب الثاني	39 - 29	F13-6
مركب فلافونيدي آخر مع مركبات غير فلافونيدية.	48 - 40	F13-7

- F13-3 الذي يحتوي على راسب أصفر من الشوائب وهذا بدفعات من الميثانول

لنتحصل عليه في صفته النقية باسم (H509).

- F13-5 تم معالجته عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

يليك (1:1:8) (AcOEt : MeOH : Eau) قد تم تمرير المملص

عليها 3 مرات، لنتحصل في النهاية على المركبين الفلافونيين بحيث تم تمريرهما على عمود من

السيفاداكس (Sephadex LH20) بإستعمال الميثانول كملص، لنتحصل عليهما في صفتي النقية

(H510).

وهما (H509)

- F13-7 تم معالجته عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

(1:1:8) (AcOEt : MeOH : Eau)

يليك

على مركب فلافونيدي مختلف عن الأولين متداخل مع مركب آخر لم نتمكن من فصله لقلّة الكمية.

▪ معالجة الكسر F14:

تحصلنا فيه على راسب أصفر ه من الشوائب وهذا بدفعات متتالية من الميثانول لنحصل عليه في صفته النقية باسم (H510) وهو نفس المركب المفصول من الكسر F13.

▪ معالجة الكسر F16:

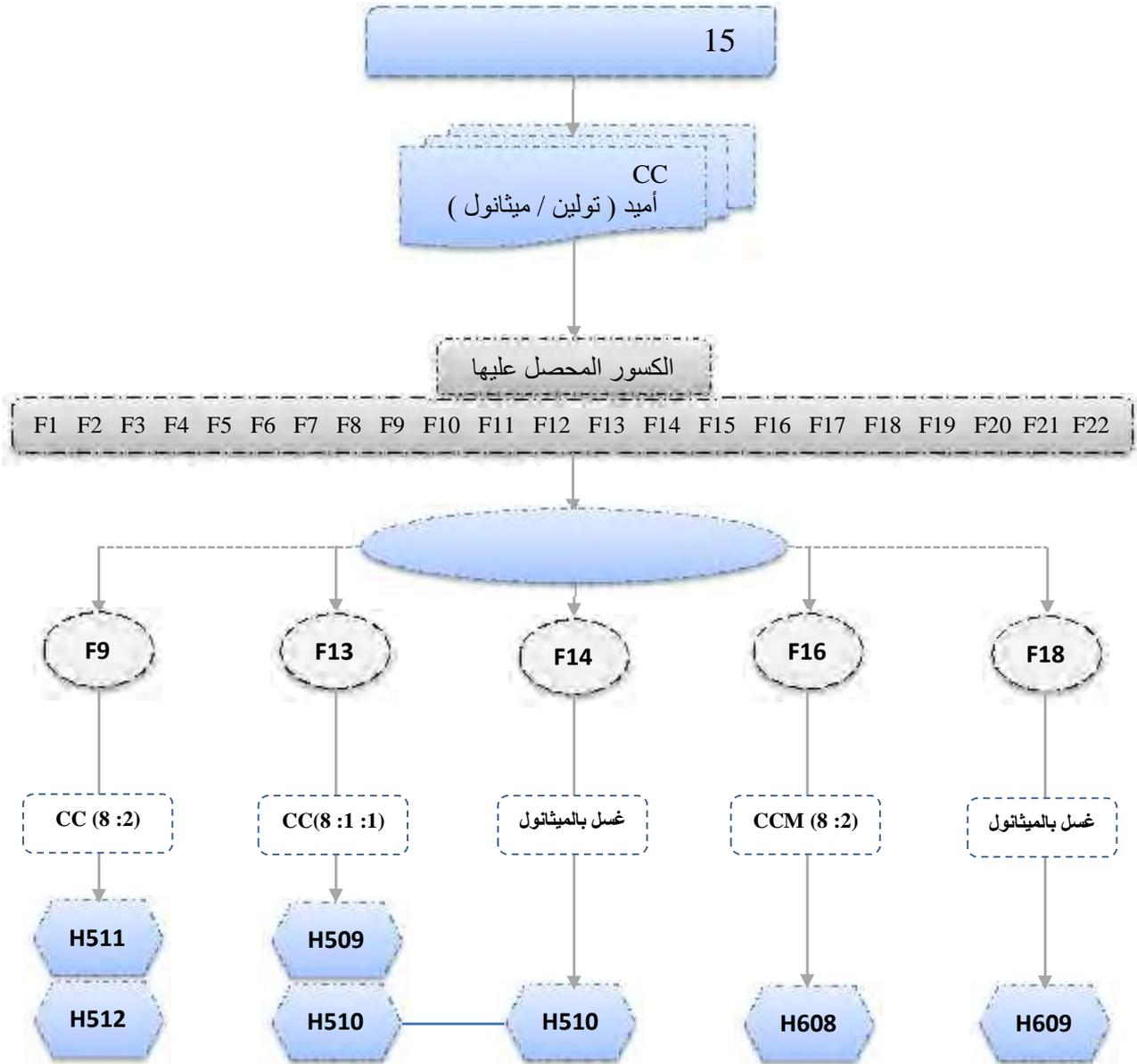
تم معالجته عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية CCM السيليكاجل كدعامة (8 : 2) (CH₂Cl₂ : MeOH)، لنحصل في الأخير و بعد التنقية دائما بإستعمال السيفاداكس (Sephadex LH20) (H608) في صفته النقية.

▪ معالجة الكسر F18:

تحصلنا فيه على راسب أصفر تم غسله من الشوائب وهذا بدفعات متتالية من الميثانول لنحصل عليه في صفته النقية باسم (H609).

و في ما يلي مخطط يلخص المركبات المفصولة من المستخلص البوتانولي للنبتة *Reutera lutea*

43 يوضح ذلك:



الشكل 43: مخطط يوضح خطوات الفصل للمستخلص البوتانولي

للنبته *Reutera lutea*.

• دراسة المستخلص الأسيئات للنوع *Reutera lutea* :

نظرا إلى ما بينه كروماتوغرام الشكل 42 أظهر

الأسيئاتي كروماتوغرافيا (CC) 2.8 الأسيئاتي للنبته

Reutera lutea، حيث لهذا السيلكاجال لقدرته

الفلافونيدية، و قد تم تحضير المستخلص الأسيئاتي بإذابته في القليل من الميثانول مع إضافة كمية من

السيلاكال، و بعد تركيز العينة حتى الجفاف توضع على شكل مسحوق داخل العمود الكروماتوغرافي.

عملية التليص CH_2Cl_2 تشبيعه تدرجيا $AcOEt$ إلى غاية الوصول إلى

100 % $AcOEt$ ثم نكمل العملية بـ $AcOEt$ و يتم تشبيعه تدرجيا بـ $MeOH$

100 % $MeOH$ يتم عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية

CCM السيليكاجل كدعامة ثابتة و في النظام (8:2) (9:1) (9.5:0.5) ($CH_2Cl_2 : AcOEt$)

(8 : 2) (9 : 1) ($CH_2Cl_2 : MeOH$) أين نهاية العملية 176 كسر بعد مقارنتها تم

كسور المتشابهة لنتحصل في النهاية على 32 كسر تم تدوين هذه الكسور 23:

23: الكسور المجمعة المتحصل عليها من

الملاحظة	MeOH %	AcOEt %	CH_2Cl_2 %	رقم الكسور	الكسر
خلاط معقدة لم تعالج	% 00	% 10 - 0	% 90 - 100	8 - 1	F1
	% 00	% 10	% 90	11 - 9	F2
	% 00	% 10	% 90	13 - 12	F3
	% 00	% 20 - 10	% 80 - 90	17 - 14	F4
	% 00	% 30 - 20	% 70 - 80	21 - 18	F5
خلاط معقدة لم تعالج	% 00	% 30	% 70	26 - 22	F6
	% 00	% 50 - 30	% 50 - 70	28 - 27	F7
	% 00	% 50	% 70	32 - 29	F8
	% 00	% 50	% 50	37 - 33	F9
خلاط	% 00	% 50	% 50	39 - 38	F10
	% 00	% 50	% 50	42 - 40	F11
	% 00	% 60	% 40	46 - 43	F12
خليط يحتوي على مركبين	% 00	% 70 - 60	% 30 - 40	51 - 47	F13
خليط يحتوي على مركبين	% 00	% 70	% 30	55 - 52	F14
خليط يحتوي على مركب ظاهر	% 00	% 70	% 30	58 - 56	F15
خليط يحتوي على مركب ظاهر	% 00	% 80 - 70	% 20 - 30	63 - 59	F16
خليط معقد	% 00	% 80	% 20	70 - 64	F17
	% 00	% 80	% 10	73 - 71	F18

خليط يحتوي على مركبين ظاهرين	% 00	% 90	% 10	77 - 74	F19
	% 00	% 90	% 10	81 - 78	F20
	% 00	% 100	% 00	92 - 82	F21
	% 00	% 100	% 00	94 - 93	F22
خليط يحتوي على مركب ظاهر	% 10 - 00	% 90 - 100	% 00	101 - 95	F23
	% 10	% 90	% 00	103 - 102	F24
راسب أصفر مع كثير من الشوائب	% 10	% 90	% 00	110 - 104	F25
راسب أصفر مع بعض الشوائب	% 20 - 10	% 80 - 90	% 00	123 - 111	F26
راسب أصفر	% 20	% 80	% 00	131 - 124	F27
خليط	% 30 - 20	% 70 - 80	% 00	140 - 132	F28
خلانط معقدة لم تعالج	% 30	% 70	% 00	146 - 141	F29
	% 50 - 30	% 50 - 70	% 00	160 - 147	F30
	% 70 - 50	% 30 - 50	% 00	170 - 161	F31
	% 100	% 00	% 00	176 - 171	F32

■ معالجة الكسور المتحصل عليها:

■ معالجة الكسر F25+F26:

تحصلنا فيه على راسب أصفر تم غسله من الشوائب وهذا بدفعات متتالية من الميثانول لنحصل على في صفته النقية باسم (H607).

■ معالجة الكسر F23+F24:

بين F23 F24 لأنهما متشابهان لحد كبير وهما يحتويان على خليط

بحيث يحتوي على مركبين أساسيين ظاهرين وهذا حين الفحص التحليلي للكسر عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM السيليكاجل كدعامة ثابتة و في النظام (9 : 1) (CH₂Cl₂ : MeOH).

و من ثم تم تحضير العينة للفصل عن طريق كروماتوغرافيا العمود CC السيليكاجل كدعامة ثابتة

(CH₂Cl₂ : MeOH) بداية CH₂Cl₂ تشبيعه تدرجيا بـ MeOH

20% MeOH أين إنتهى نزول المركبات و في الأخير تحصلنا على مركب مع بعض الشوائب

تعذر فصله لقلّة الكمية. و بتقنية CPG-MS على مكتبة من الشواهد

الرئيسي في هذه العينة و أطلق عليه الإسم: (H613).

▪ معالجة الكسر F13+F14:

تم معالجة هذين الكسرين F23 F24 معا وهما يحتويان خليط يظهر فيهما مركبين أساسيين وهذا حين الفحص التحليلي للكسر عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM السيليكاجل كدعامة ثابتة و في النظام (0.5 : 9.5) (CH₂Cl₂ : MeOH).

للفصل عن طريق كروماتوغرافيا العمود CC السيليكاجل كدعامة ثابتة و في النظام

(CH₂Cl₂ : MeOH) بداية CH₂Cl₂ تشبيعه تدرجيا بـ MeOH 20%

MeOH أين إنتهى نزول المركبات في النهاية عملية الفصل تم الحصول على مركبات غير نقية

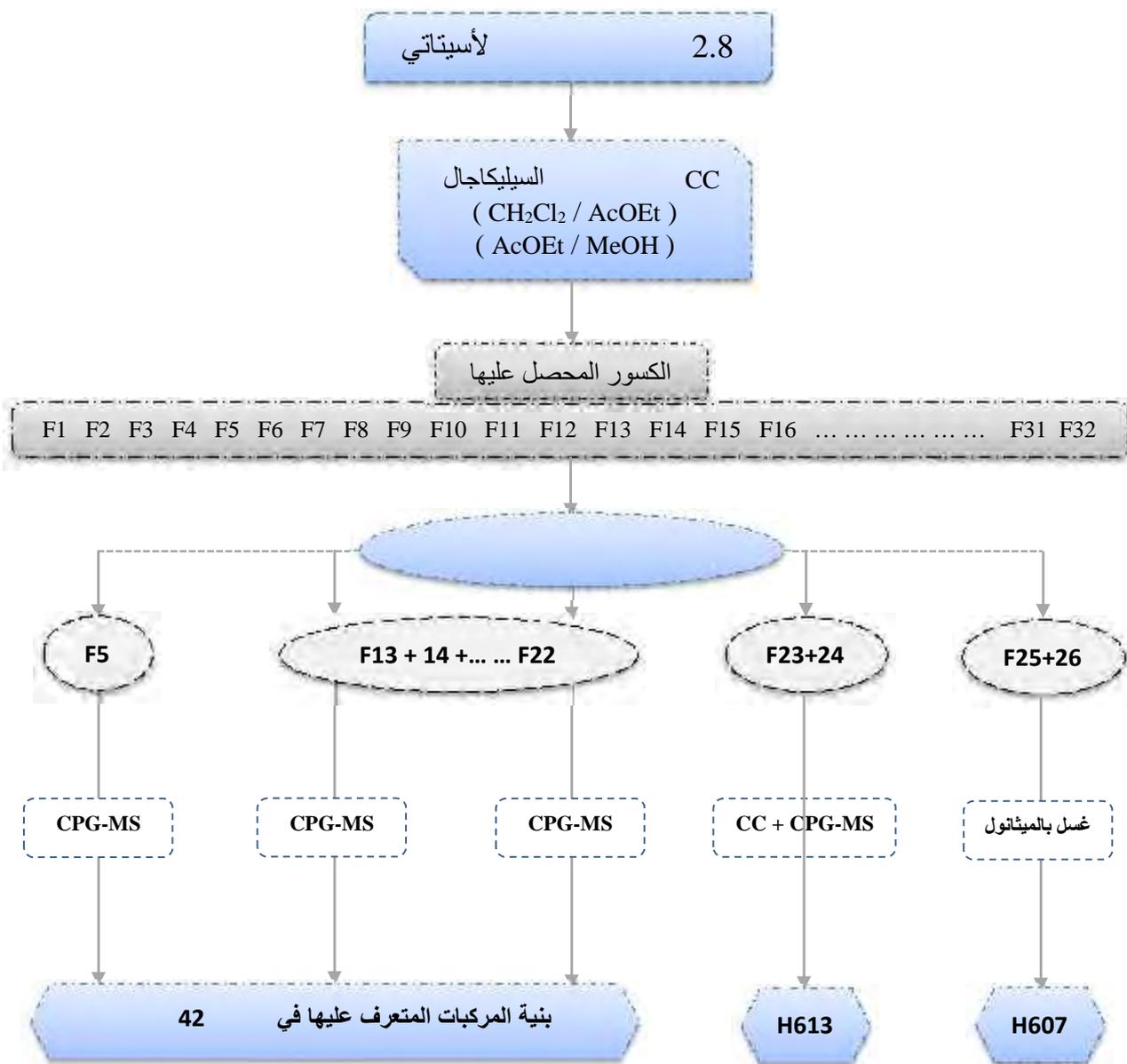
اضطرنا إلى اللجوء إلى تقنيـة CPG-MS على بنية المركبات الموجودة فيها.

▪ معالجة الكسور F5 و F13+F14 و F15+F16 و F17+F18 و F21+F22 و F23+F24:

نظرا لقلّة كمية المركبات الموجودة في هذه العينات و نظرا لتداخلها تم اللجوء إلى تقنية CPG-MS المزودة بمكتبة من الشواهد للتعرف على بنية المركبات الموجودة بها.

و في ما يلي مخطط يلخص المركبات المفصولة من المستخلص الأسييتاتي *Reutera lutea*

44 يوضح ذلك:



الشكل 44: مخطط يوضح خطوات الفصل للمستخلص الأسييتاتي

للنبته *Reutera lutea*.

الدراسة الكيميائية لنوع *Daucus aureus* Desf.

1. المادة النباتية:

تم جمع الأجزاء الهوائية للنبية *Daucus aureus* في فترة الإزهار من شهر ماي 2011 وهذا من منطقة

اعة التابعة لولاية سطيف في الهضاب العليا الجزائري. حيث تم التعرف عليها من

«حسين لعور» قسم البيولوجيا وعلم البيئة النباتية بجامعة سطيف.

جفيف النبتة جيد لتهوية، وبعد عملية الطحن تحصلنا على حوالي 600

النباتية جاهزة للدراسة.

كما نشير أن سبب اختيارنا لهذا النوع النباتي هو:

عند إجراء بحث ببيولوجرافي للنوع *Daucus aureus* هذا النوع لم يدرس من قبل

دراسة الفعالية المضادة للأكسدة إيجابيد [17] اختيارنا لهذا النوع:

• لأنه نوع غير مدروس من الناحية الكيميائية.

• ولأنه ينتمي للعائلة الخيمية المركباتها.

2. التصنيف النظامي للنبتة [6]:

Embranchement	Spermaphytes	الفرع
Sous embranchement	Angiospermes	تحت الفرع
Classe	Dicotylédones	الصف
Ordre	Apiales	الرتبة
Famille	Apiaceae	العائلة
Sous famille	Apioideae	تحت العائلة
Genre	<i>Daucus</i>	الجنس
Espèce	<i>Daucus aureus</i>	النوع
Nom botanique	<i>Daucus aureus</i> Desf.	الإسم النباتي

3. الأسماء المرادفة (Synonymes) [7] [8] [9]:

Daucus aureus Desf = *Peltactila aurea* (Desf.) Raf = *Platyspermum aureum* (Desf.) Pomel

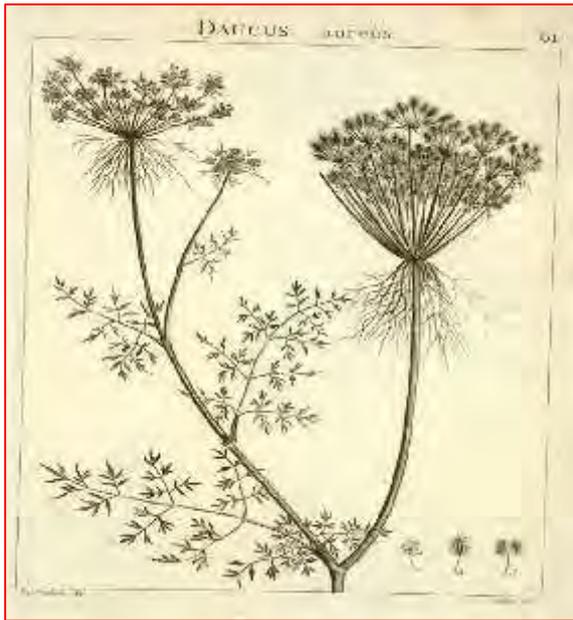
يطلق عليها Carote dorée Carota giallastra في إيطاليا و Gelbfrüchtige Möhre ألمانيا.

4. وصف النوع *Daucus aureus* [10]:

Daucus aureus [7] *Carotte dorée* وهي نباتة لها يصل 1 القاسية () عمودية تكسوها شعيرات دقيقة. تتميز مثلثة صغيرة ورقيقة . الزهرة الخيمية سويقات شعاعية كثيرة وقطرها يصل 10 . (المحيطة بالزهرة الخيمية) ريشية وطويلة طولها يتعدى الزهرة الخيمية. للأزهار وطولها . الأزهار بيضاء بيضاوية . قمتها إبرية مخروطية، هذه يساوي تقريبا .

5. بعض خصائص النبتة:

شكل الحياة: سنوية.
: أفريقيا، آسيا، أوروبا.
الأزهار: أبريل، ماي.
التلقيح: ذاتي لأن زهورها وحيدة الجنس (خنثى).
لون البتلات: أبيض.
ترتيب الأوراق: ورقة واحدة لكل عقدة.
: :
: الفواكه



الشكل 45: شكل توضيحي للنبتة *Daucus aureus*



الشكل 46: صور فوتوغرافية للنباتة *Daucus aureus*

6. التوزيع الجغرافي للنوع *Daucus aureus*:

- في إفريقيا: إفريقيا و تونس و مصر و ليبيا و [10] [11] [12].
- في آسيا: الأسيوية [13] لبنان و سوريا و فلسطين و صحراء سيناء [14].
- في أوروبا: في الجنوب الشرقي من أوروبا في إسبانيا و خصوصا جزر الكناري كما تنمو في الجنوب الشرقي في سيسيليا بإيطاليا [15] [16].



الشكل 47: التوزيع الجغرافي للنبتة *Daucus aureus*

7. الإستخلاص للنوع *Daucus aureus*:

بعد جمع وتجفيف الأجزاء الهوائية للنبتة التالية:

الهوائية (هار و سيقان و أوراق) و التي بلغ وزنها مقدر بـ 600 وهذا

نقعها خليط هيدروكحولي (ميثانول-) (3/7) 48

كمية العملية 4 متتالية تجديد المذيب

مرة و هذا بإضافته ترشيحها، ليستقبل الهيدروكحولي

عملية ترشيح، عندها هذا الأخير (35 °) أين

(المستخلص الميثانولي) هذا الأخير 600

°100 ليلة بعدها وهذا لتخلص

من الأتربة و بعض المركبات الليوفيلية (كلوروفيل، دهون نباتية، ... إلخ)، أين

المائية حيث أجرينا عليها عملية - مذيبات القطبية وهي:

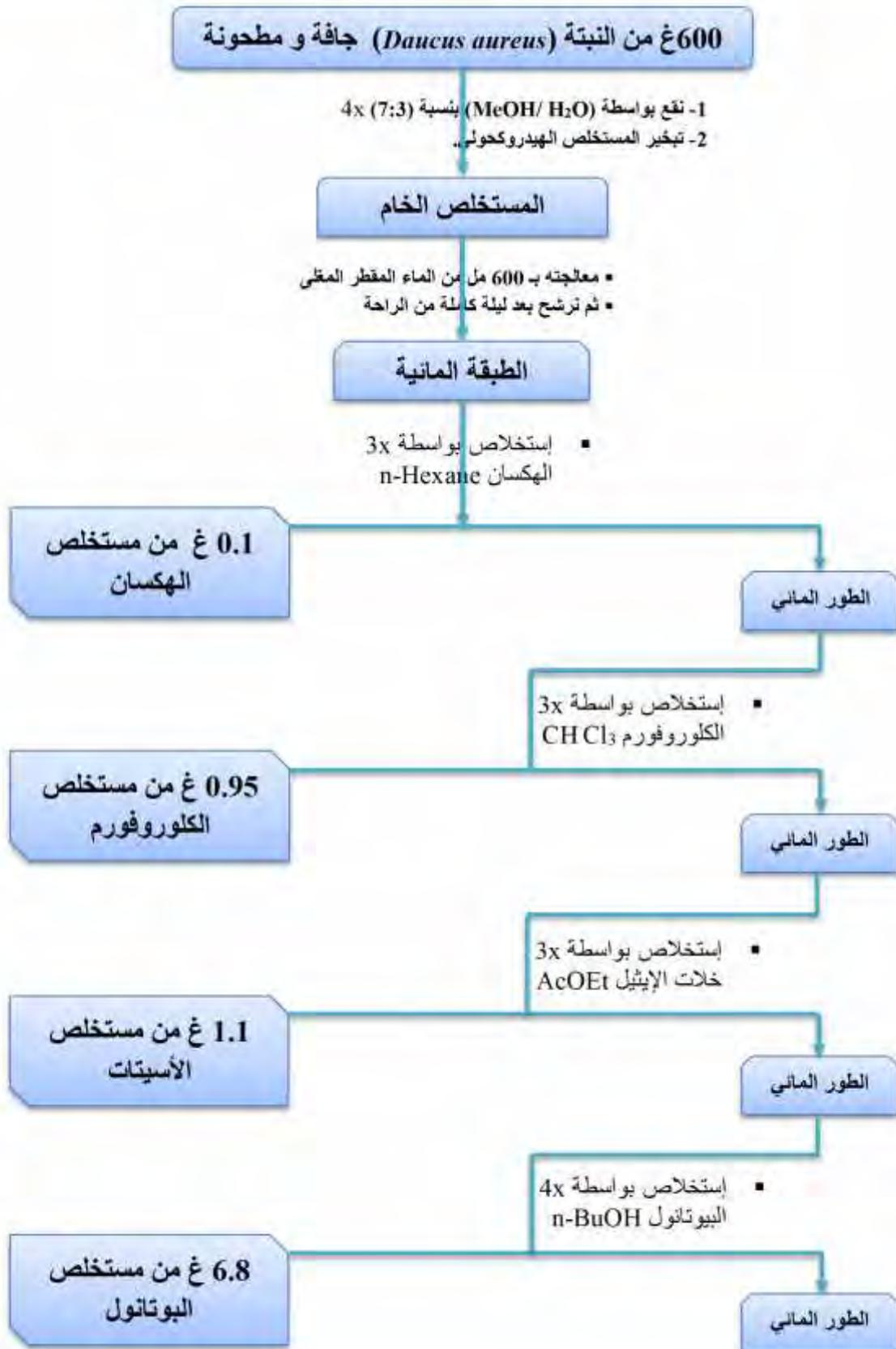
- 200 مل من الهكسان 3 التبخير 0.1 الهكسان.

- 200 3 التبخير 0.95

- 200 أسيتات الإثيل 3 التبخير 1.1 الأسيتات.

- 200 4 التبخير 6.8 .

هذه العملية :



الشكل 48: مخطط عام لاستخلاص الفلافونيدات

8. الفصل كروماتوغرافي للمستخلصات:

قبل الشروع في عملية الفصل و
فحوصات تحليلية على كل من
الرقيقة (CCM) من متعدد الأמיד DC₆ ثنائية
الفلافونيدية أسيتات و هذا كروماتوغرافيا
التالية:

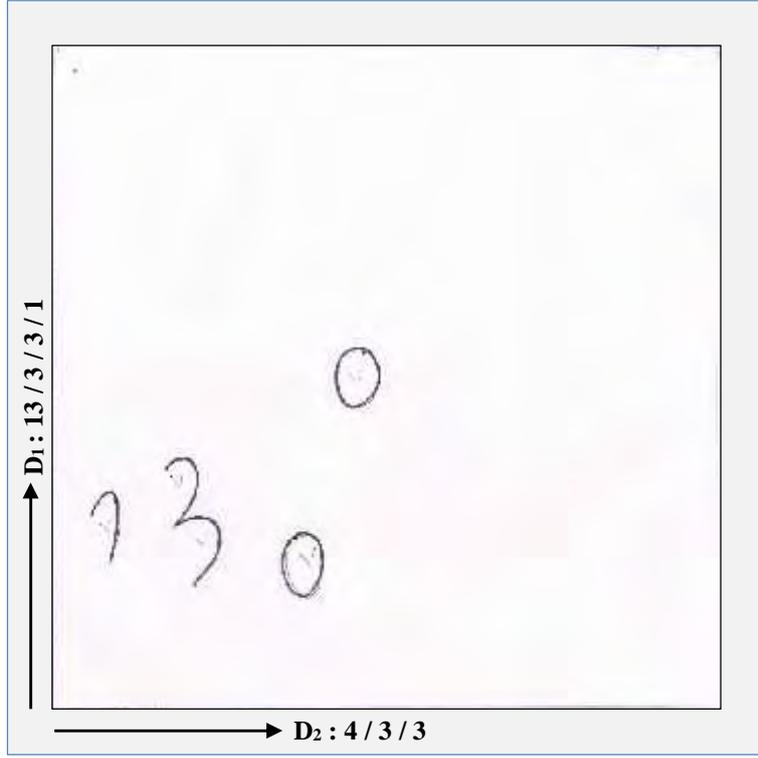
(Toluène/ MeOH/ méthyléthylcétone)	(4/3/3)	D ₁
(H ₂ O/ MeOH/ méthyléthylcétone/ Acétylacétone)	(13/3/3/1)	D ₂

التجفيف، الخريطة الفلافونيدية بمصباح للأشعة فوق بنفسجية UV
لنتحصل على الشكلين 49 : 50



الشكل 49: كروماتوغرام ثنائي البعد للمستخلص البوتانولي

للنبته *Daucus aureus*



الشكل 50: كروماتوغرام ثنائي البعد للمستخلص الأسيات
للنبته *Daucus aureus*

ما يتبين من ماتوغرام في الشكلين 49 50 ل الألوان الظاهرة UV تبين المستخلصين يتشابهان إلى درجة كبيرة كما لوحظ إحتوائهما على الفلافونيدية و هذا من خلال الألوان الظاهرة (أصفر، بنفسجي) عملية قمنا بمزج المستخلصين و دراستهما معا و هذا بإ CC من متعدد الأميد (SC₆) .

9. الفصل و التنقية:

• دراسة المستخلص البيوتانولي و الأسياتى للنبته *Daucus aureus*:

بين 49 50 ونظرا للتشابه الكبير بين المستخلصين قررنا مزجهما ودراستهما معا وهذا بإستعمال كروماتوغرافيا (CC) مجموع المستخلصين الذي 7.9 ، حيث لهذا الأמיד (SC₆) لقدرته

الفلافونيدية، و قد تم تحضير المستخلص بإذابته في القليل من الميثانول مع إضافة كمية من متعدد الأميد

(SC₆)، و بعد تركيز العينة حتى الجفاف توضع على شكل مسحوق داخل العمود الكروماتوغرافي الذي ترك في التولوين لمدة ليلة كاملة.

عملية التمليص التولوين تشبيعه تدرجيا بالميثانول إلى غاية الوصول إلى 100 % من الميثانول، يتم (UV)

حيث أين نهاية العملية 138 كسر بعد مقارنتها تم جمع الكسور المتشابهة بإستعمال الأنظمة التالية:

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM (5 : 5) (2 : 8) (0.5 : 9.5) (1 : 9) (MeOH : CH₂Cl₂).

لنتحصل في النهاية على 20 كسر تم تدوين هذه الكسور :24

للمسخلصين البيوتانولي و أسيتاتي. :24

الملاحظة	MeOH %	Tol %	رقم الكسور	الكسر
لا شيء معتبر	0 - 2 %	100 - 98 %	1 - 7	F1
خلائط لمركبات غير فلافونيدية	5 - 8 %	95 - 92 %	7 - 16	F2
خلائط	8 - 10 %	92 - 90 %	17 - 22	F3
	10 - 12 %	90 - 88 %	23 - 28	F4
خليط يحتوي على مركب ظاهر	12 %	88 %	29 - 34	F5
خلائط	12 - 18 %	88 - 82 %	35 - 43	F6
	18 %	82 %	44 - 45	F7
ظهور بلورات متسخة	18 - 20 %	82 - 80 %	46 - 55	F8
بداية ظهور راسب مع مزيج من المركبات	20 - 22 %	80 - 78 %	56 - 63	F9
راسب أصفر من مركبين	22 %	78 %	64 - 69	F10
راسب أصفر من مركبين	22 - 25 %	78 - 75 %	70 - 77	F11
راسب متسخ	25 %	75 %	78 - 80	F12
راسب أصفر لمركب واحد	25 - 28 %	75 - 72 %	81 - 88	F13
خليط	28 - 30 %	72 - 70 %	89 - 93	F14
خليط	30 - 35 %	70 - 65 %	94 - 103	F15
خليط يحتوي على مركب ظاهر	35 - 40 %	65 - 60 %	104 - 112	F16
خليط معقد لم يعالج	40 - 50 %	60 - 50 %	113 - 121	F17

خليط معقد لم يعالج	% 60 - 50	% 40 - 50	130 - 122	F18
خلائط معقدة لم تعالج	% 60	% 40	136 - 131	F19
	% 100	% 00	138 - 137	F20

■ معالجة الكسور المتحصل عليها:

■ معالجة الكسر F8:

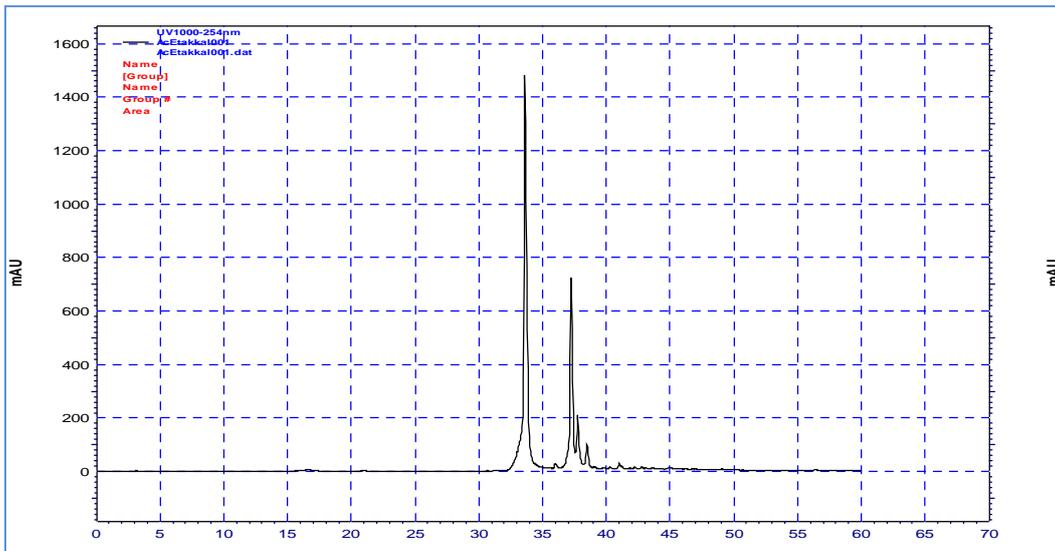
F8 يحتوي على بلورات متسخة تم تنقيتها هاته الشوائب وهذا بدفعات متتالية من الميثانول و بشكل سريع لنتحصل عليها في صفتها النقية باسم (H611).

■ معالجة الكسرين F10 و F11:

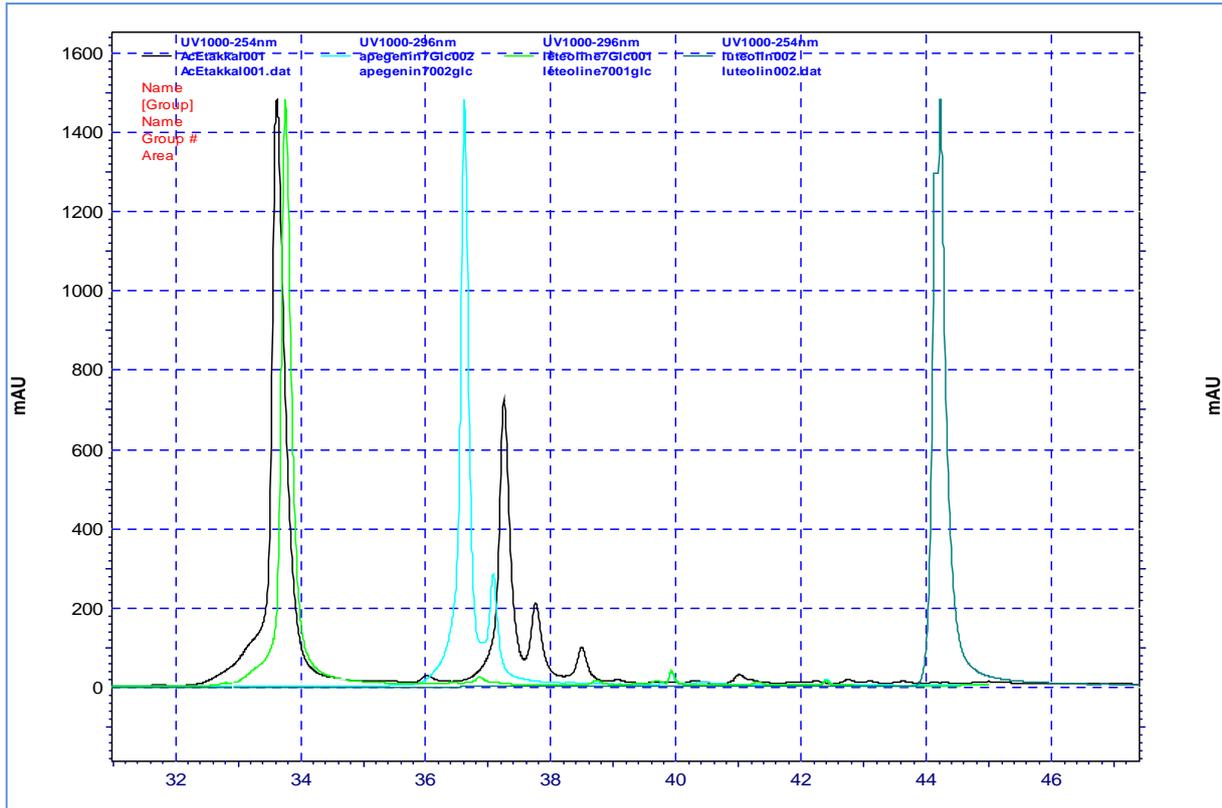
الكسرين F10 و F11 وهما يحتويان على راسب أصفر و لتشابههما الكبير و للحصول على الكمية المناسبة للفصل تم جمعهما لأنه و بعد إجراء الفحص التحليلي للكسر عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM السيليكاجل كدعامة ثابتة و في النظام (8 : 2) (CH₂Cl₂ : MeOH) تبين إحتواء العينة على مركبان أساسيين على شكل راسب أصفر.

قمنا أيضا بفحص عن طريق كروماتوغرافيا (HPLC) في وجود شواهد

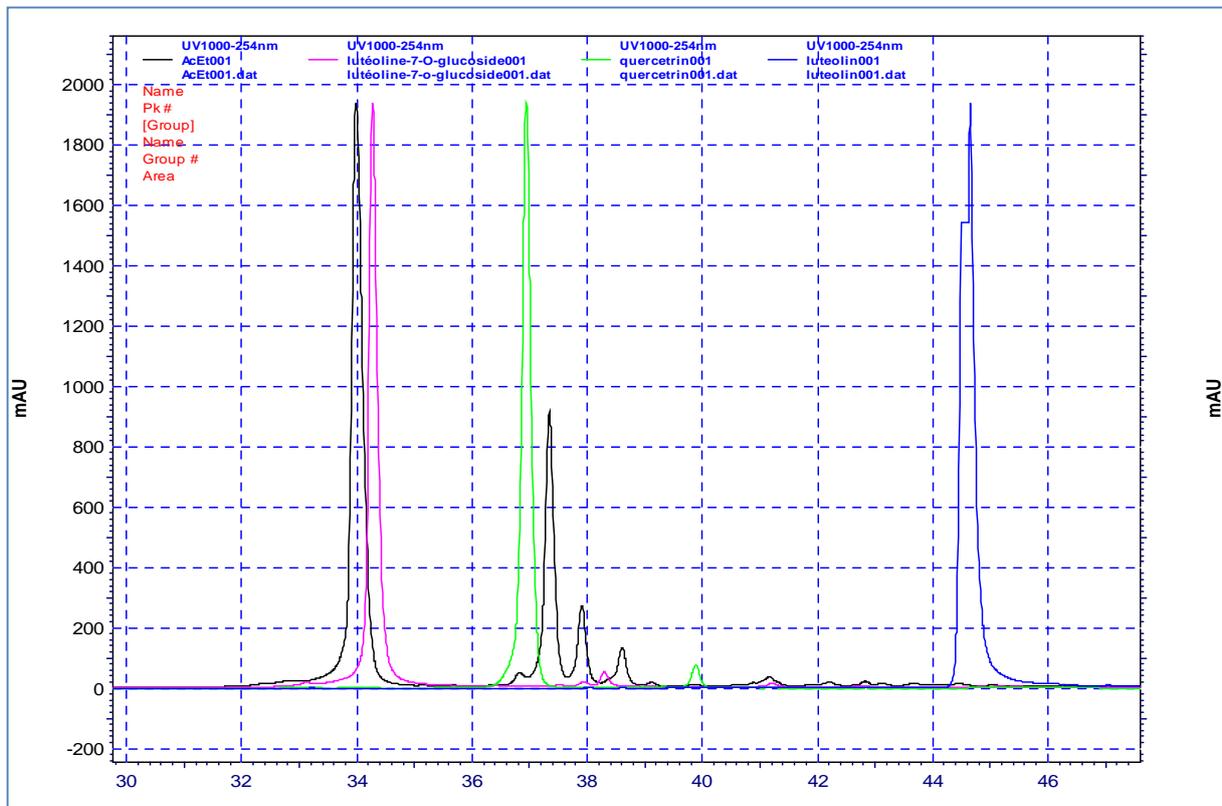
51 52 53: (H₂O / Acétonitrile)



الشكل 51: كروماتوغرام HPLC للكسرين F10 و F11.



الشكل 52: كروماتوغرام HPLC للكسرين F10 و F11 في وجود شواهد



الشكل 53: كروماتوغرام HPLC للكسرين F10 و F11 في وجود شواهد أخرى

25: الشروط المستعملة في عملية التحليل ب تقنية HPLC:

الوقت (min)	% CH ₃ CN	% H ₂ O	سرعة التدفق (ml/min)	طول موجة الكاشف (nm)
00	4	96	1	254
20	12	88	1	254
30	20	80	1	254
60	50	50	1	254

- الشواهد التي تم استعمالها هي: *Luteolin-7-O-glucoside* - *Apigenin-7-O-*

Luteolin Glucoside.

- الشواهد التي تم استعمالها في الشكل 53 هي: *Luteolin quercetrin Luteolin-7-O-glucoside*.

51 تبين إحتواء العينة على مركبين أساسيين و بالمقارنة مع الشواهد

كما يوضح 52 للعينة و لشواهد يقع الشك في أن

المركبات التي تحتويها العينة هما *Luteolin-7-O-glucoside* *Apigenin-7-O-Glucoside*

و لفصل هذين المركبين عن بعضهما و لتأكد من بنيتها تم تحضير العينة للفصل عن طريق

كروماتوغرافيا العمود CC السيليكا جل كدعامة ثابتة و في النظام (8 : 2) (CH₂Cl₂ : MeOH)

كاملص من بداية العمود إلى آخره، لنتحصل على مركبين بحيث تم تمريرهما على عمود من السيفاداكس

(Sephadex LH20) بإستعمال الميثانول كملص، لنتحصل عليهما في صفتها النقية وهما (H610)

(H612).

▪ معالجة الكسر F13:

في هذا الكسر م غسله من الشوائب و هذا بدفعات متتالية من الميثانول لنحصل

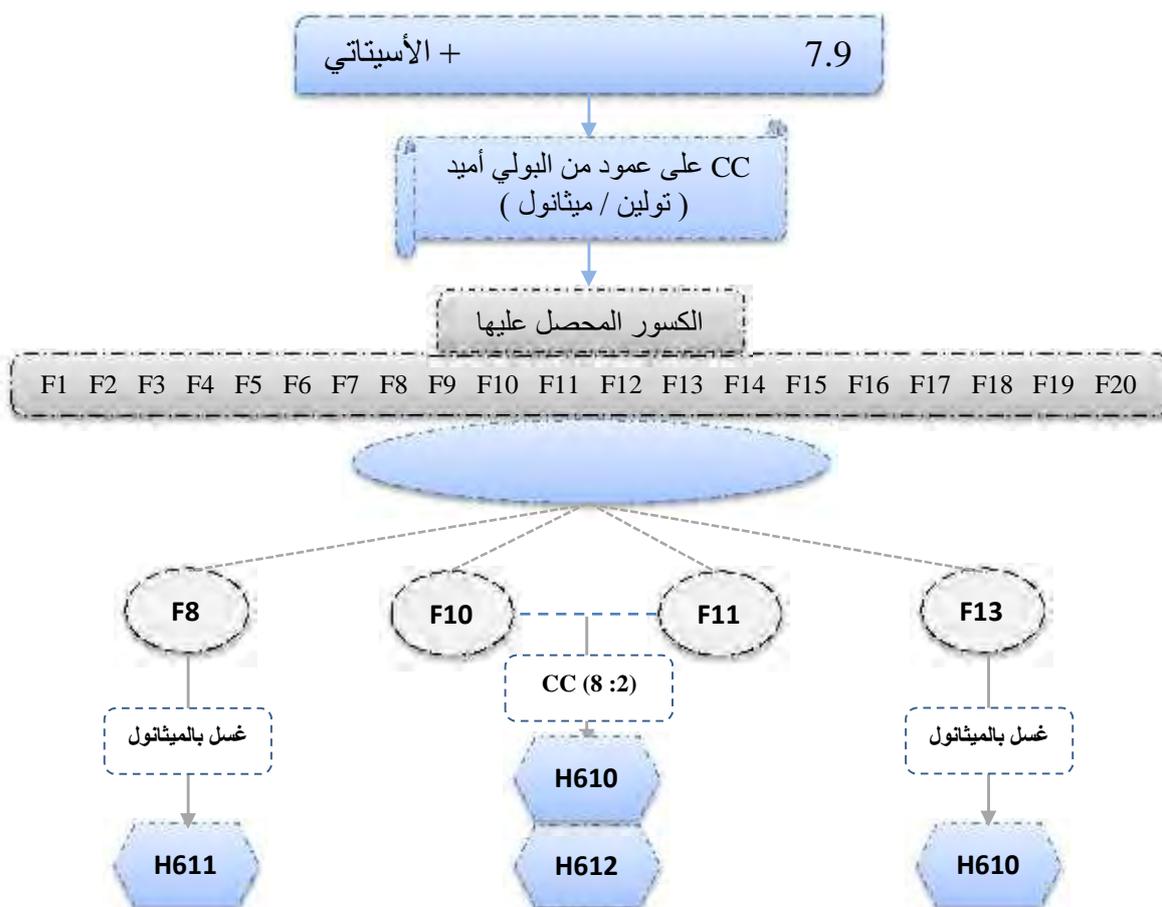
عليه في صفته النقية باسم (H610) وهو نفس المركب المفصول من بين F10 F11.

■ معالجة الكسر F15:

F15 هو خليط يحتوي على مركب ظاهر وهذا حين التحليلي طريق كروماتوغرافيا الرقيقة CCM السيليكاجل و هذا (8 : 1 : 1) (AcOEt : MeOH : Eau).

و من ثم تم تحضير العينة للفصل عن طريق كروماتوغرافيا العمود CC السيليكاجل كدعامة مزيج من مركبين تعذر فصلهما لقلّة الكمية.

و في ما يلي مخطط يلخص المركبات المفصولة من المستخلص البوتانولي للنبته *Daucus aureus* 54 يوضح ذلك:



الشكل 54: مخطط يوضح خطوات الفصل للمستخلص البوتانولي

للنبته *Daucus aureus*

عند انتهائنا من عملية الفصل لكل من النباتين المدروستين (*Reutera lutea*) (*Daucus aureus*)

الكروماتوغرافيا (CCM, CC, HPLC, CPG-MS ...)

إجراء عملية تنقية لـ (Sephadex LH20) لنمر بعدها إلى

التعيين البنيوي للمركبات المفصلة و هذا بإعتمادنا على كل من طيية

البنفسجية (UV) طيية الكتلة (MS) طيية الرنين المغناطيسي

المغناطيسي ثنائية البعد NOSY RMN-¹H , RMN-¹³C, dept 135 طيية الرنين

.HMBC HMQC

المركبات التي أخضعت للفحص و تم التعرف على بنيتها هي:

H509, H510, H607, H608, H609, H610, H611, H612, H613.

المراجع

- [1]. Tutin, T.G & al. (1964-1980). *Flora Europaea*, (vol.5). *Cambridge University Press, Cambridge*.
- [2]. Quézel, P., Santa, S. 1963 - Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales - Tome 2. 658.
- [3]. Le Floch, E., L, Boulos. (2008). *Flore de Tunisie: catalogue synonymique commenté. (L Tunis)*.
- [4]. Quézel, P., S, Santa. 1962–1963. Nouvelle flore de l'Algérie. (F Alger) (= *Reuteria lutea* (Desf.) Maire).
- [5]. Pignatti, S. (1982). *Flora d'Italia. (F Ital)*.
- [6]. Al-Safadi, B. (2008). Characterization and distribution of *Daucus* species in Syria. *Biologia (Bratislava)*. 63, 177-182.
- [7]. Fournier, 1934-1940. *Quatre Flores de France*.
- [8]. Tutin, T.G & al. (1968). *Flora Europaea*, (vol.2). *Cambridge University Press, Cambridge*. 373.
- [9]. Guinochet & Vilmorin, 1973-1984. *Flore de France*, éd. C.N.R.S., (5 vol.).
- [10]. Quézel, P. & S. Santa. 1962–1963. Nouvelle flore de l'Algérie Tome 2, 663.
- [11]. Ali, S.I. & S. M. H. Jafri, eds. 1976–. *Flora of Libya*.
- [12]. Jahandiez, E. & Maire, R. 1931–1941. *Catalogue des plantes du Maroc*.
- [13]. Mouterde, P. 1966–. *Nouvelle flore du Liban et de la Syrie*.
- [14]. Zohary, M. & N. Feinbrun-Dothan. 1966–. *Flora palaestina*.
- [15]. Tutin, T. G. et al., eds. 1964–1980. *Flora europaea*.
- [16]. Meikle, R. D. 1977–1985. *Flora of Cyprus*.
- [17]. Djabou, N., Meliani, N., Dib, M.E., Bendiabdellah, A., Allali, H., Tabti, B. (2013). Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of solvent extracts from *Daucus aureus* Desf., from Algeria. *International Journal of Traditional and Herbal Medicine*. 1, 41-44.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

التحليل البنيوي للمركب

H509

التحليل البنيوي للمركب H509:

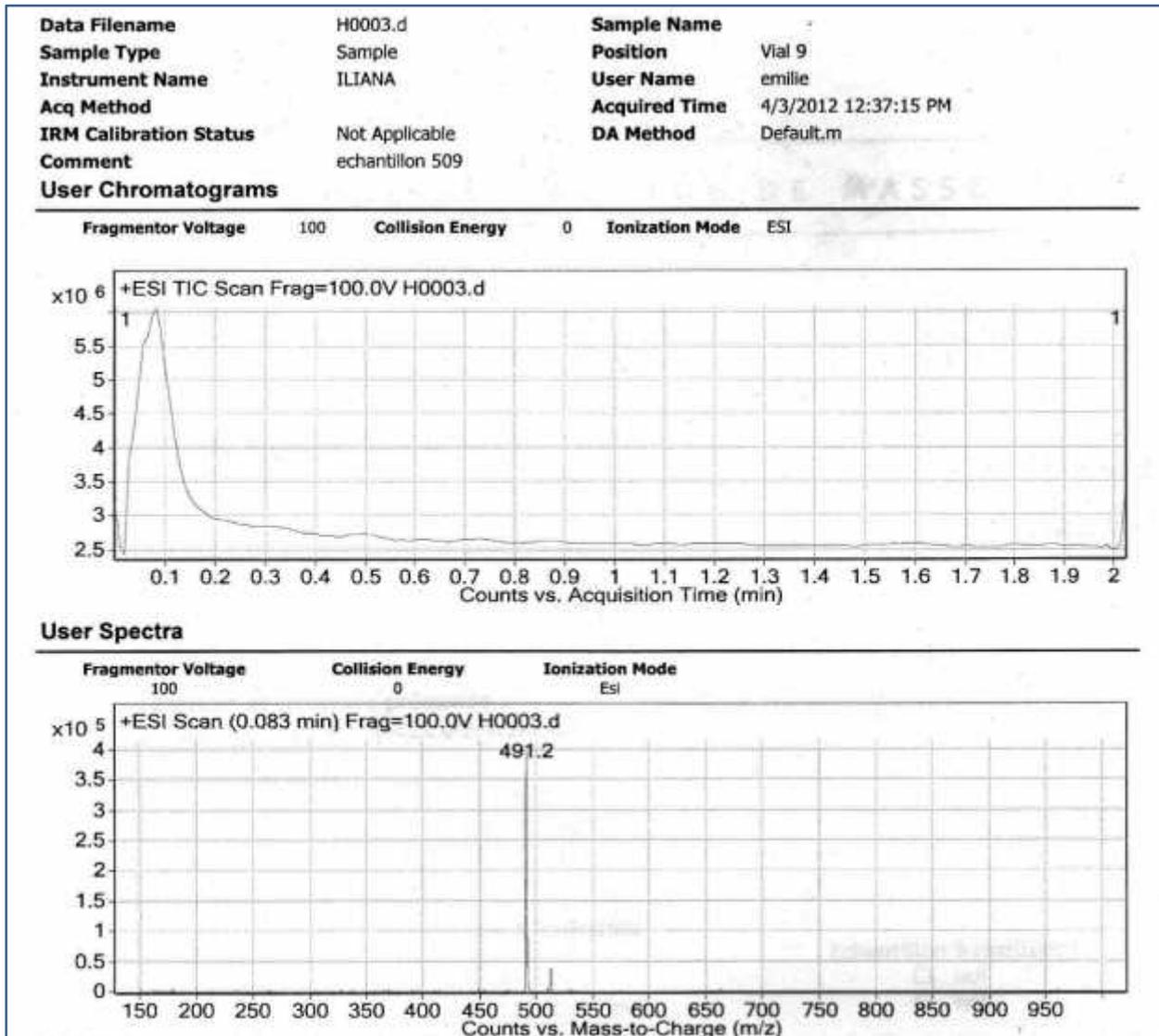
اللون الإستشعاعي:

الإستشعاع تحت الأشعة (UV) : بنفسجي.

❖ المعطيات الطيفية:

1- مطيافية الكتلة بتقنية الإلكترولسبراى (Electrospray):

تم التعرف على الصيغة المجملة للمركب H509 و التي هي $C_{23}H_{22}O_{12}$ وهذا بتقنية Electrospray بحيث أظهر طيف الكتلة وجود قمة الأيون الجزيئي $[M+H]^+$ و المقدره بـ $(m/z 491 [M+H]^+)$ وهذا ما يبينه الطيف التالي الشكل 55:



الشكل 55: كروماتوغرام المركب H509 بتقنية Electrospray

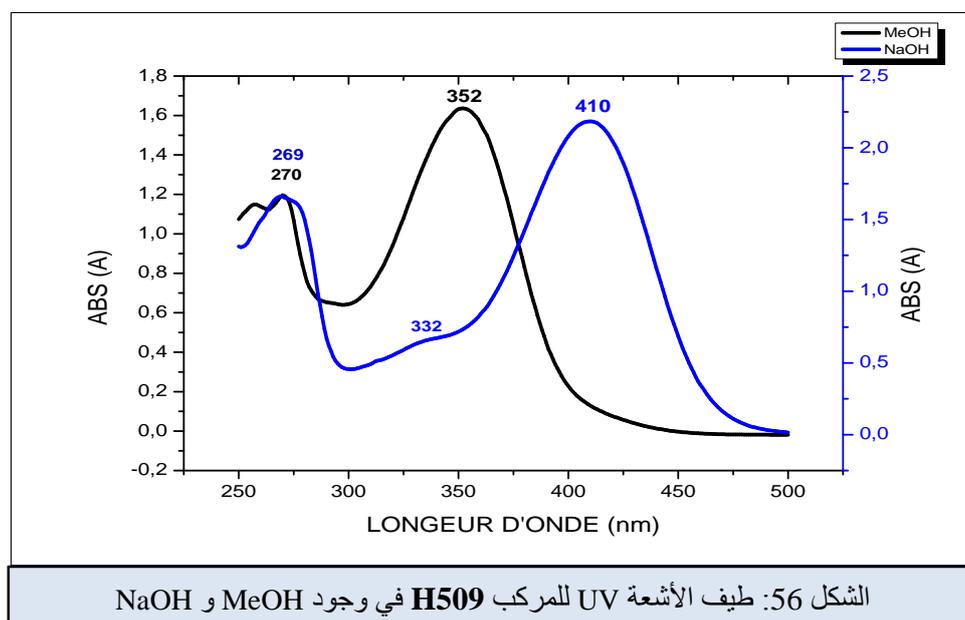
2- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

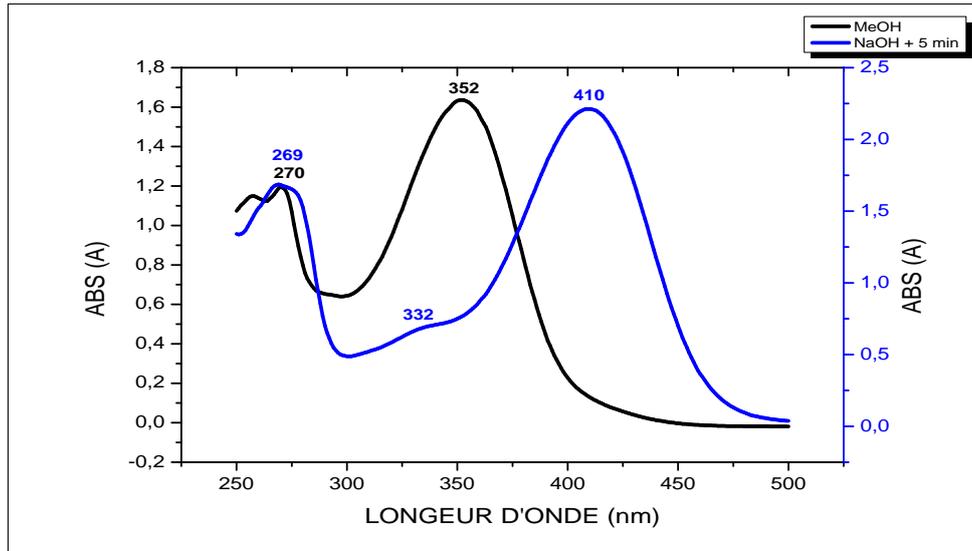
الجدول 26: قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H509

الكواشف	العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	عصابات أخرى (نم)
MeOH	352	270	/
NaOH	410	269	332
NaOH + 5 min	410	269	332
AlCl ₃	425	275	/
AlCl ₃ + HCl	383	278	354
NaOAc	372	272	397
NaOAc + H ₃ BO ₃	379	264	/

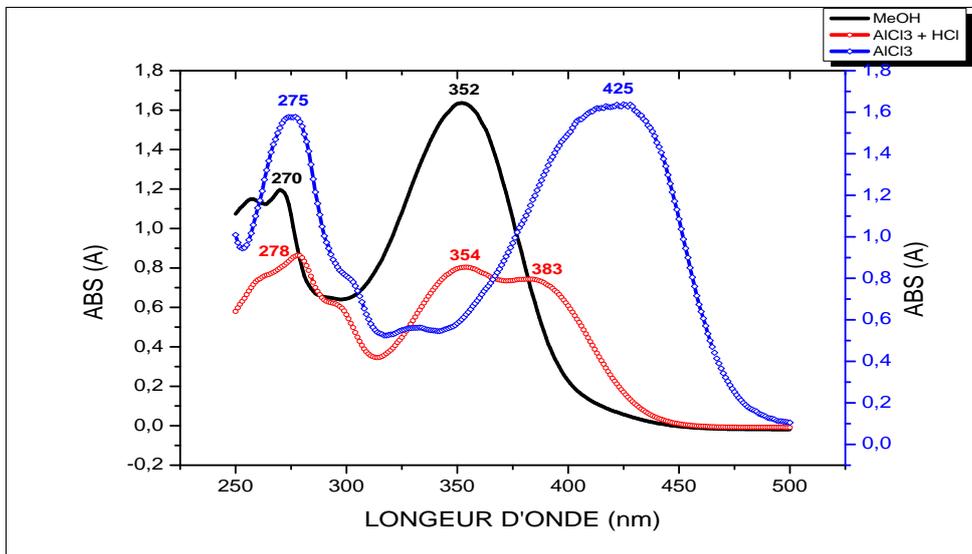
طيف NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر

و في ما يلي أطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H509:

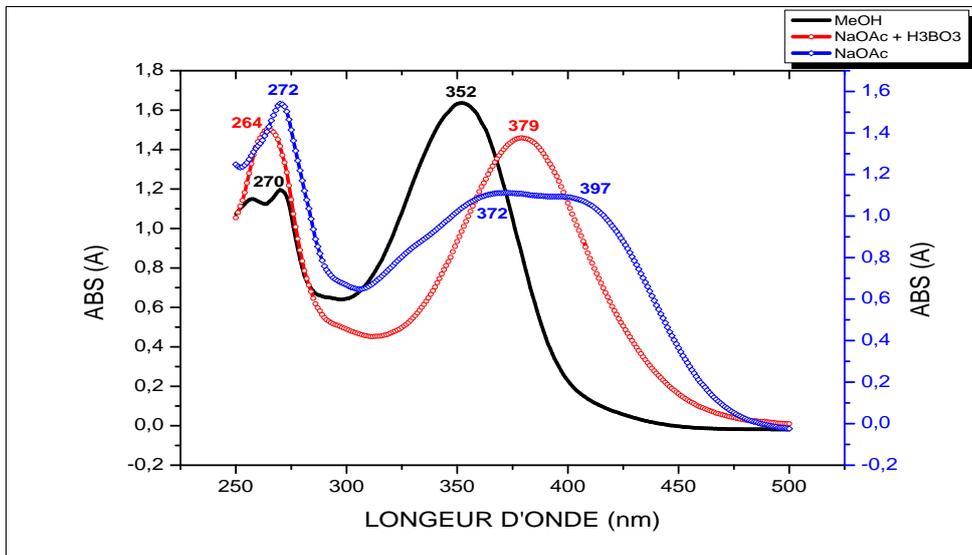




الشكل 57: طيف الأشعة UV للمركب H509 في وجود MeOH و NaOH+5min



الشكل 58: طيف الأشعة UV للمركب H509 في وجود MeOH و AlCl₃ و AlCl₃+HCl



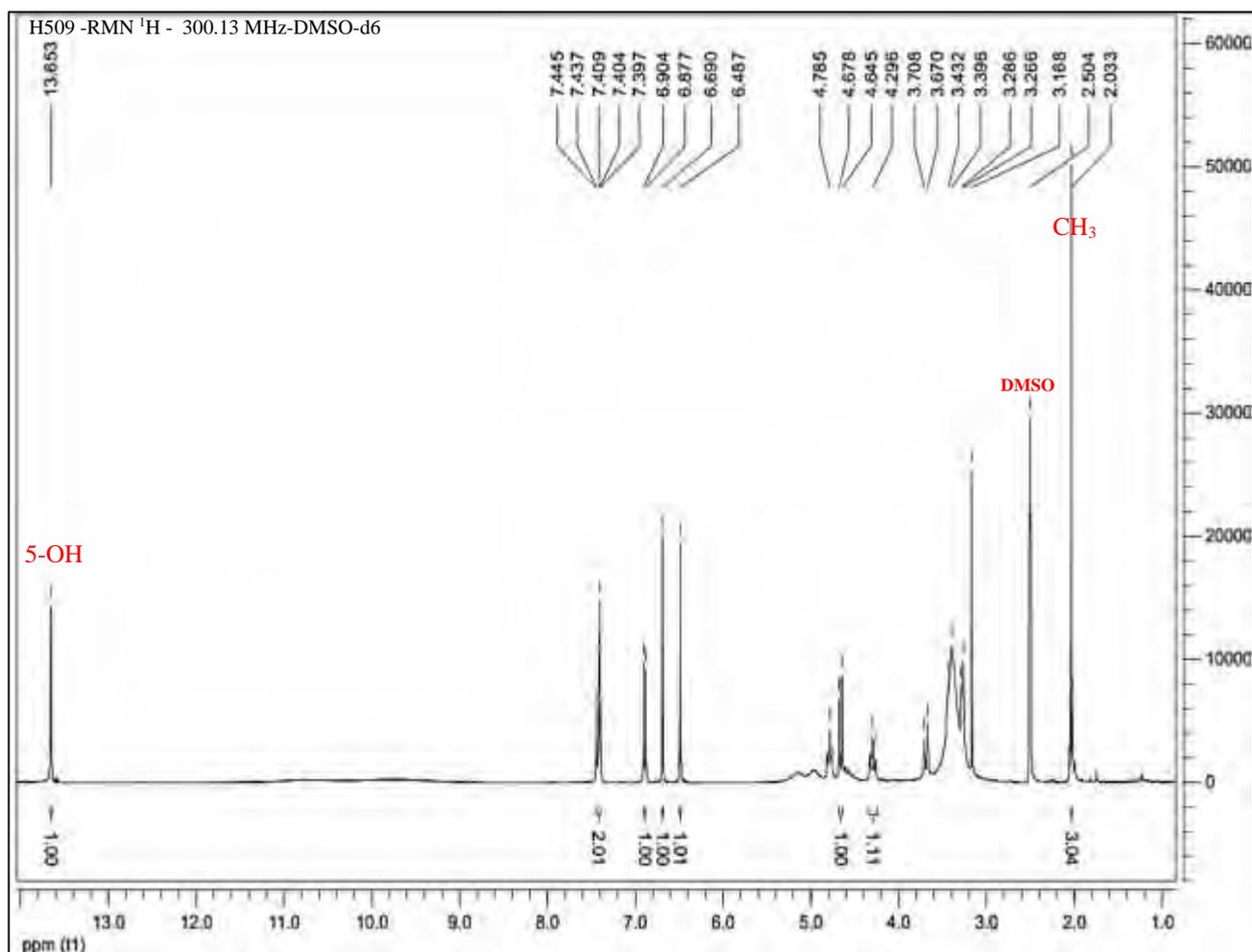
الشكل 59: طيف الأشعة UV للمركب H509 في وجود MeOH و NaOAc و NaOAc+H₃BO₃

3- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون:

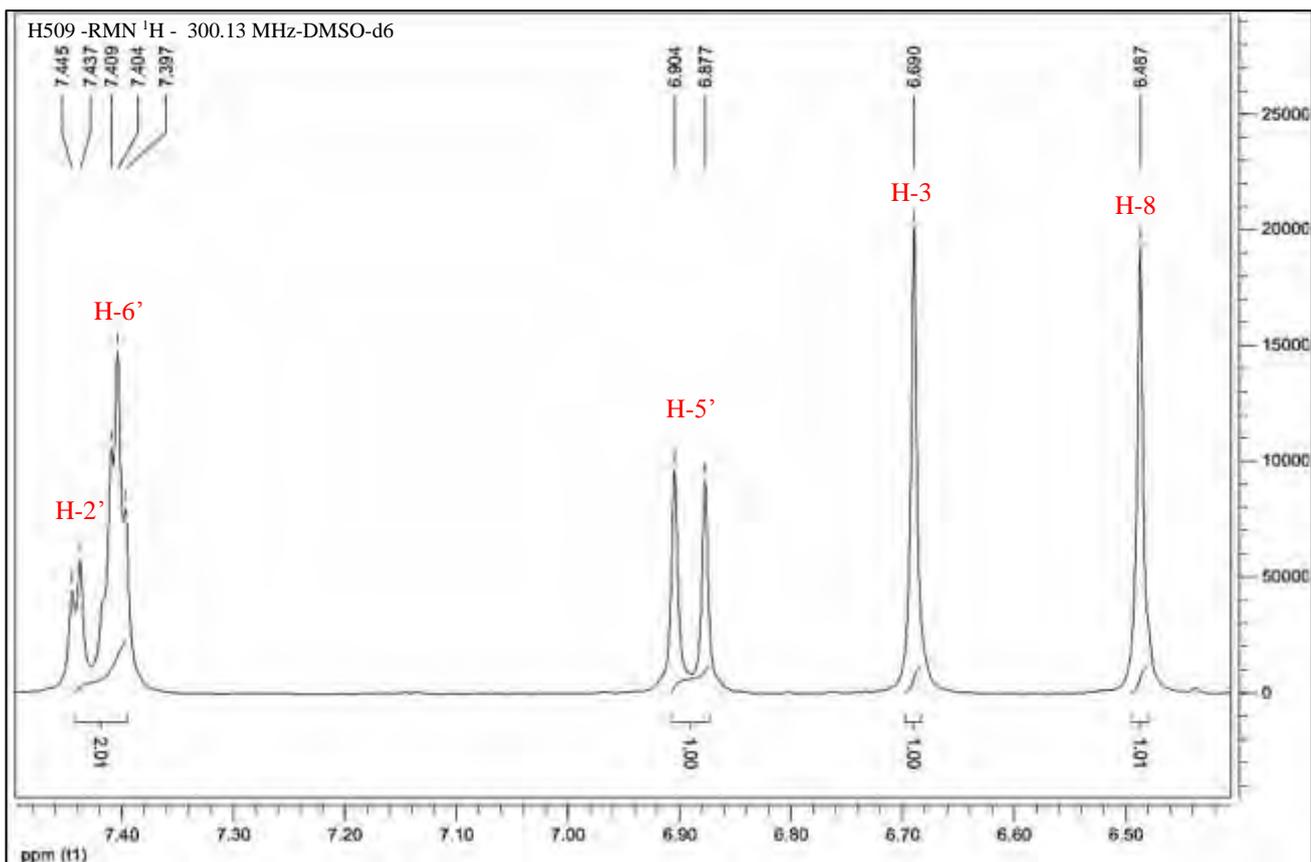
الجدول 27: قيم (RMN ¹H 300 MHz) و (RMN ¹³C 100 MHz) للمركب H509 في (DMSO-d6)

No.	δH (J Hz)	δC	DEPT	No.	δH (J Hz)	δC	DEPT
2		163.6	C	4'		149.7	C
3	6.69 s	102.7	CH	5'	6.89 d (8.2)	116.0	CH
4		181.8	C	6'	7.40 m	113.2	CH
5	13.65 (5-OH)	160.9	C	1''	4.66 d (9.8)	72.9	CH
6		108.1	C	2''	4.29 m	68.4	CH
7		163.3	C	3''		80.3	CH
8	6.49 s	93.3	CH	4''		67.7	CH
9		156.3	C	5''		81.4	CH
10		103.3	C	6''	3.69 d (11.3)	61.1	CH ₂
1'		121.3	C	COO		169.9	C
2'	7.44 d (2.2)	118.9	CH	CH ₃	2.03 s	21.25	CH ₃
3'		145.7	C				

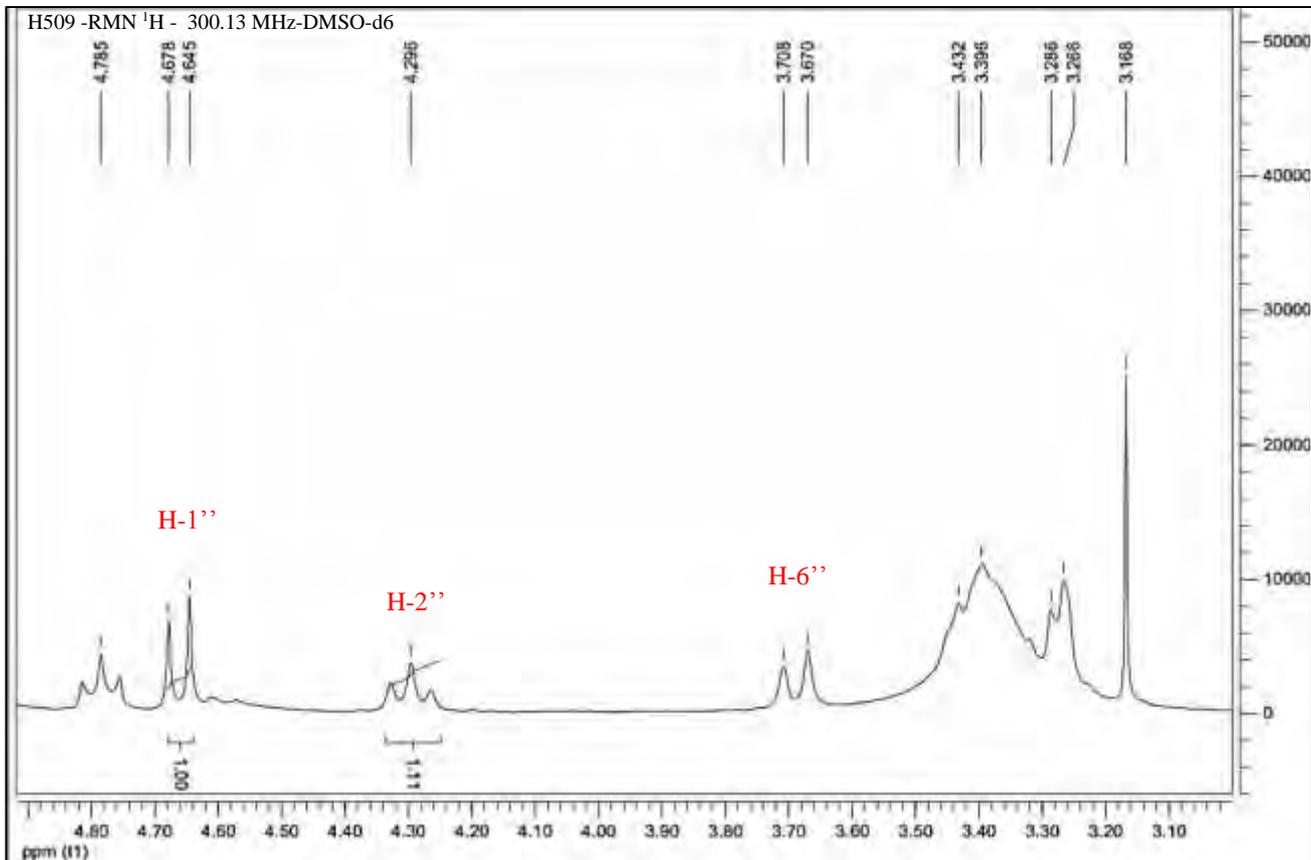
وفي ما يلي أطيف RMN-H¹ و RMN-C¹³ للمركب H509 المسجل في (DMSO-d6):



الشكل 60: مطيافية RMN-¹H للمركب H509 المسجل في (DMSO-d6)

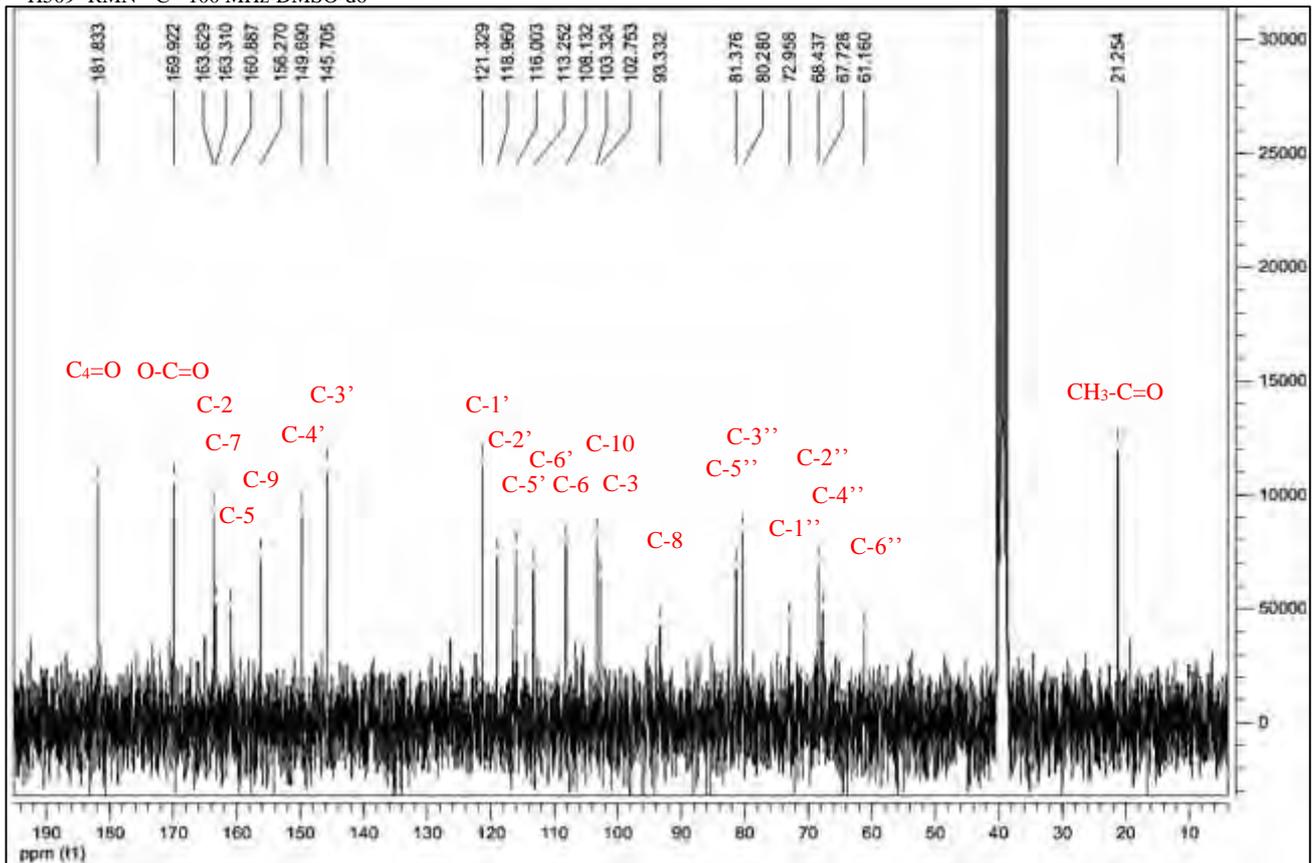


الشكل 61: مطيافية RMN-¹H للمركب H509 تكبير في المجال [6.4ppm-7.5ppm]

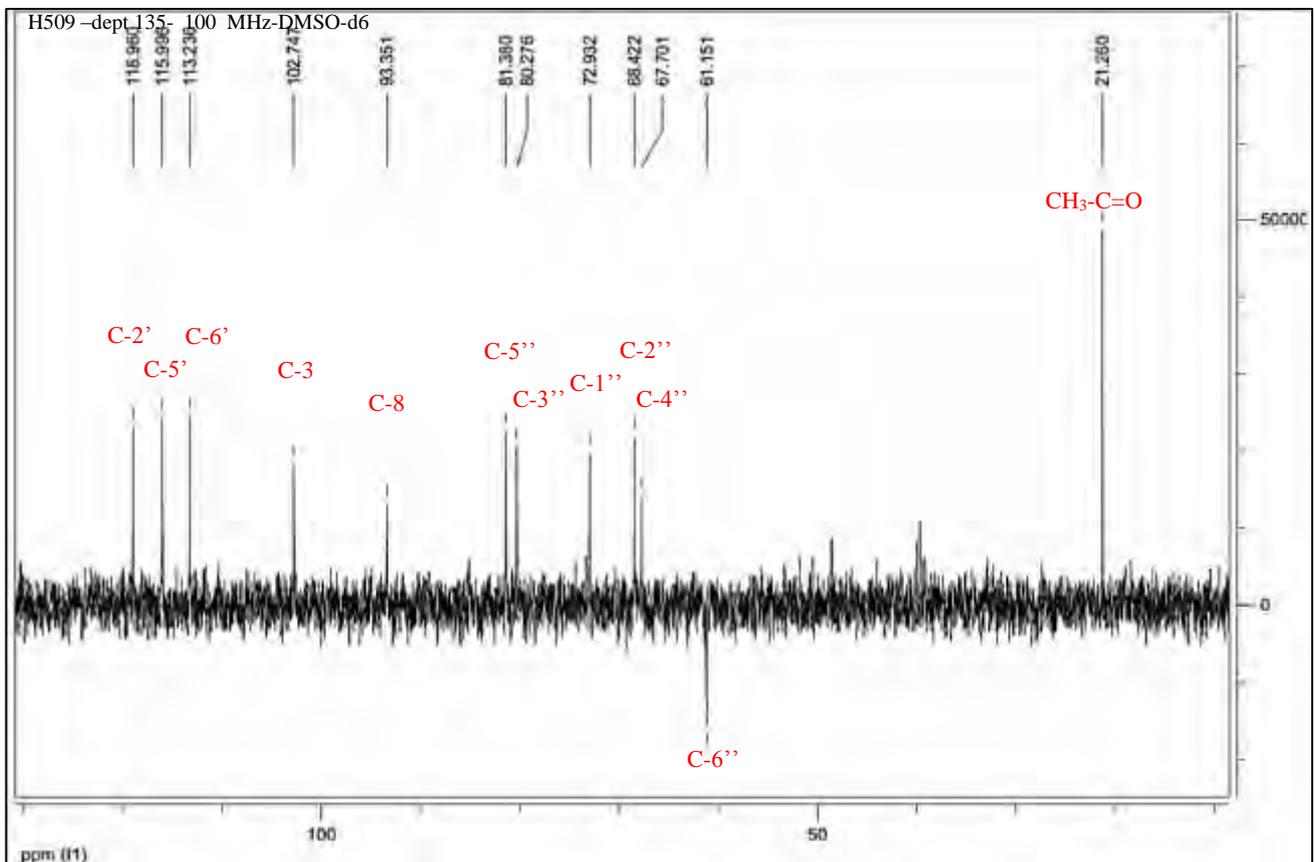


الشكل 62: مطيافية RMN-¹H للمركب H509 تكبير في المجال [3.0ppm-4.9ppm]

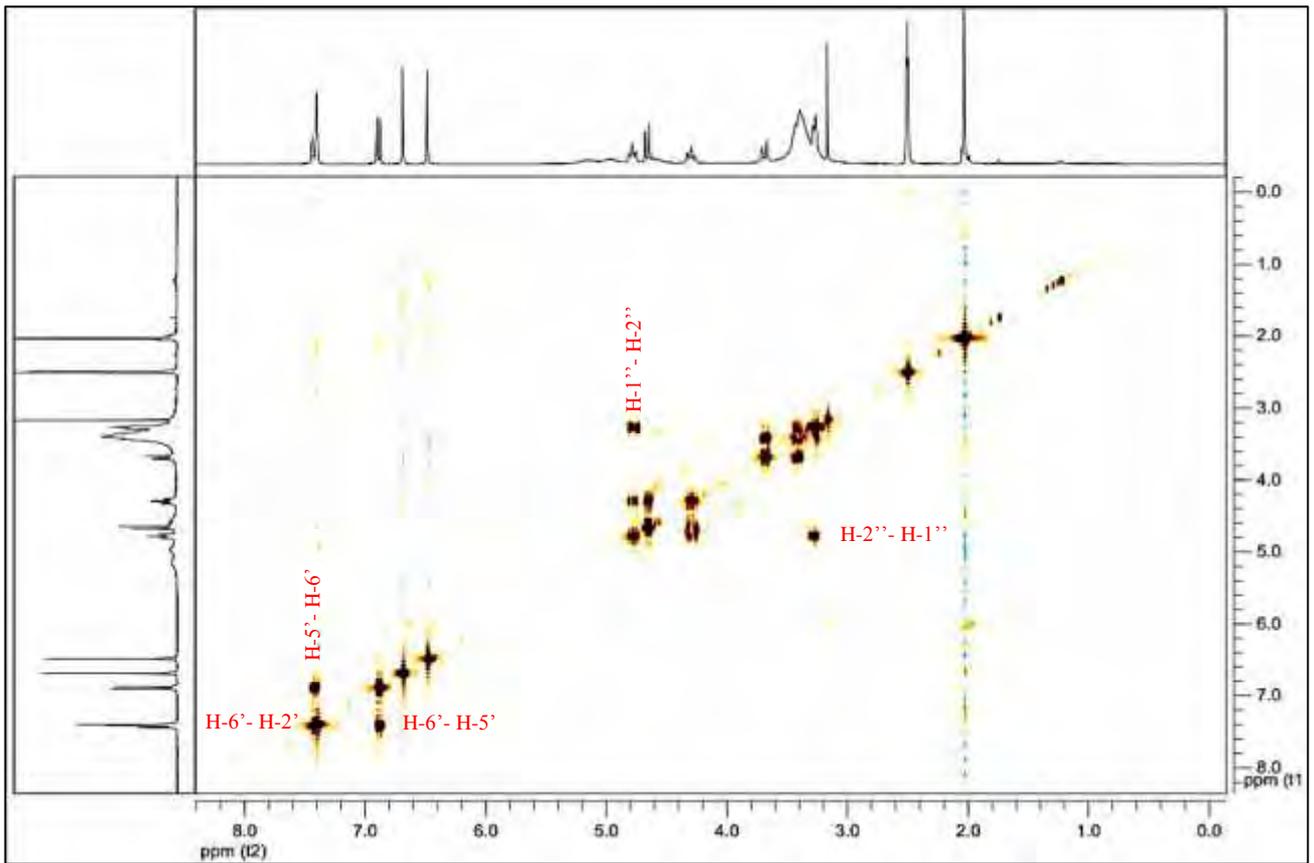
H509 -RMN ¹³C - 100 MHz-DMSO-d6



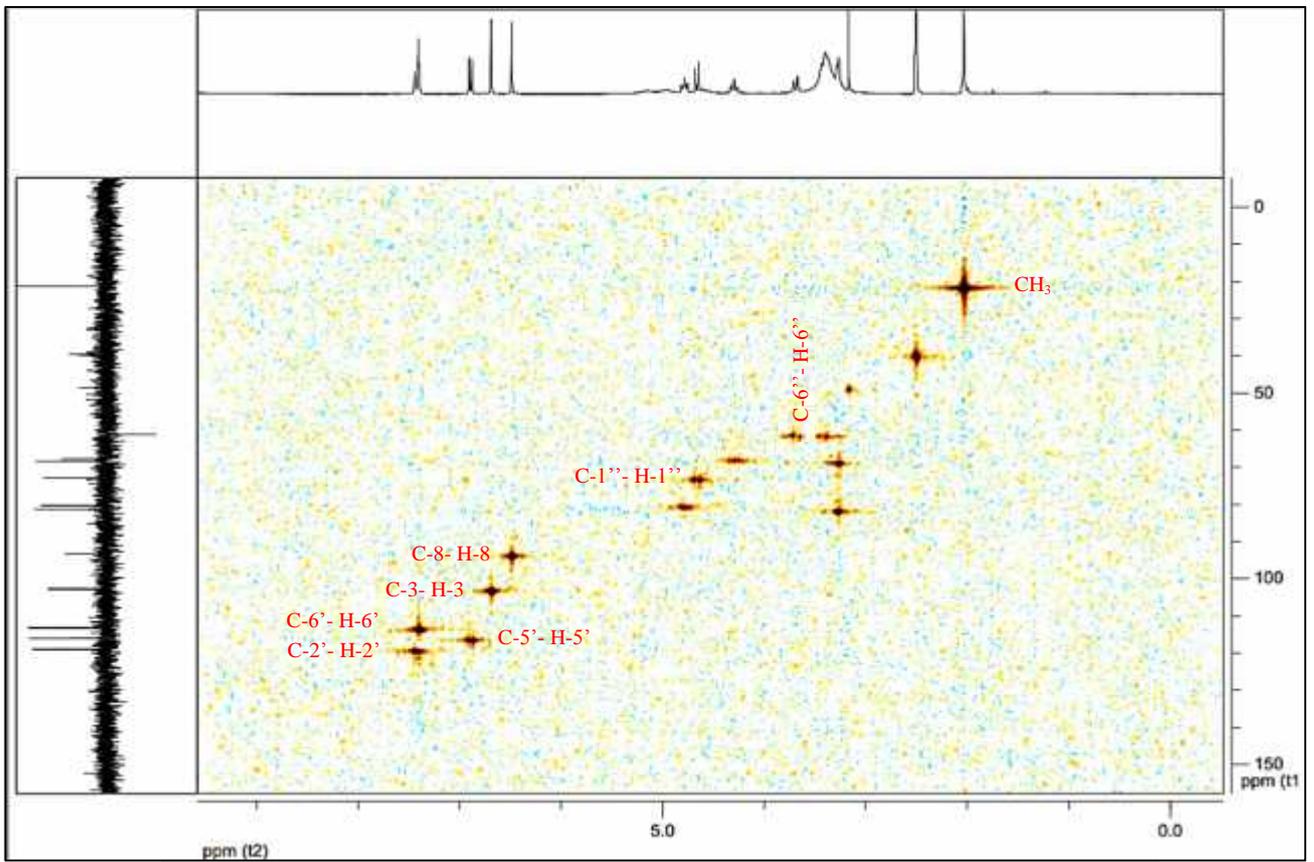
الشكل 63: مطيافية ¹³C-RMN للمركب H509 المسجل في (DMSO-d6)



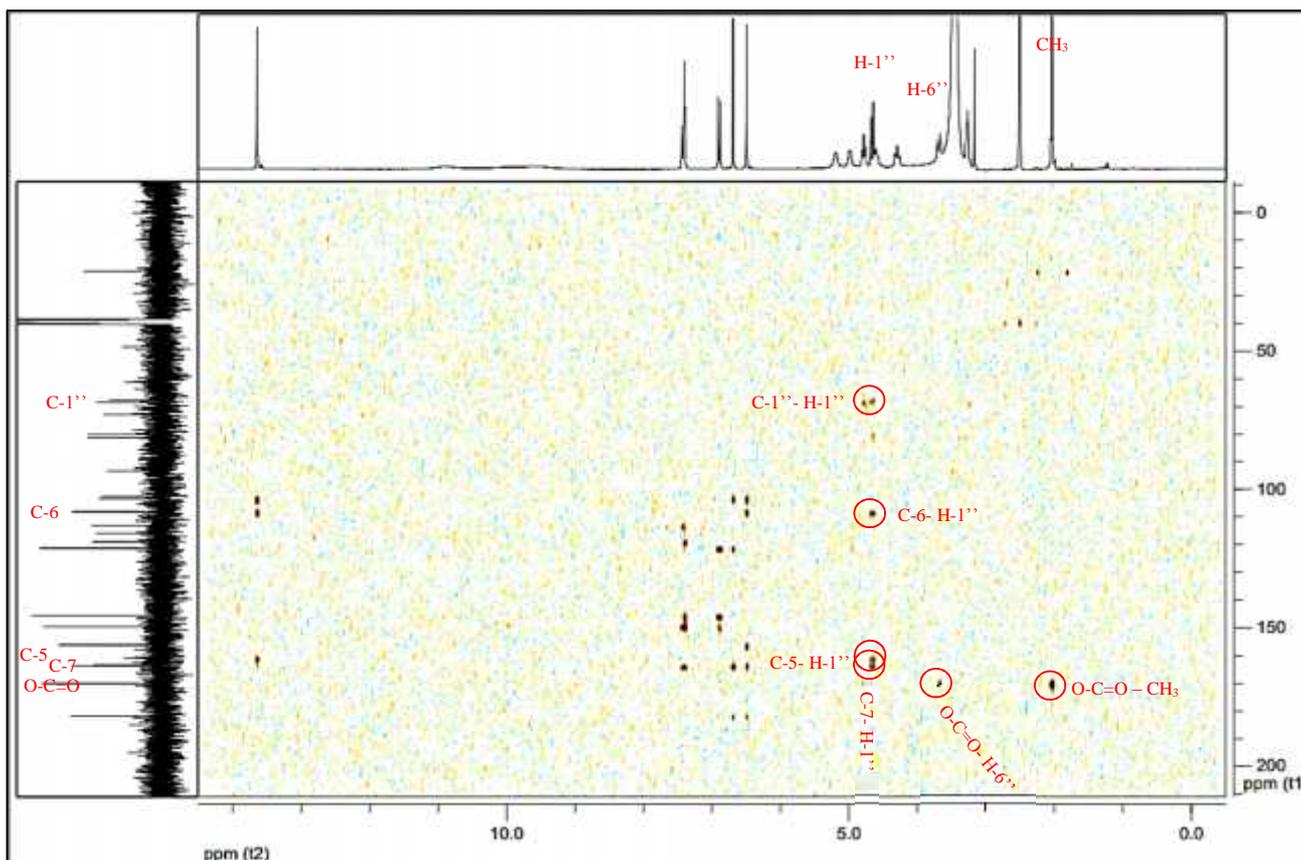
الشكل 64: مطيافية 135-dept للمركب H509 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 65: مطيافية Cosy للمركب H509 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 66: مطيافية HMQC للمركب H509 المسجل في (DMSO-d6)

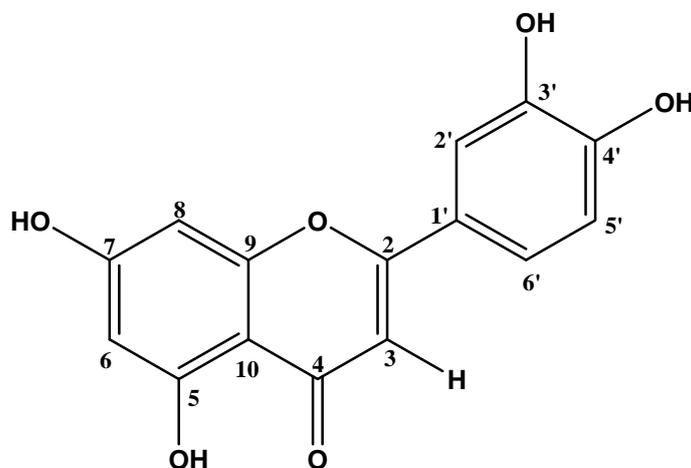


الشكل 67: مطيافية HMBC للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6)

التعليق: <

- < اللون الإستشعاعي للمركب (بنفسجي) و قيمة العصابة I في طيف MeOH المقدره بـ 352 نم يدل على أن المركب فلافون أي وجود H في الموضع 3.
- إزاحة باثوكرمومية للعصابة I مقدره بـ 58 نم عند مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول دون تناقص في الشدة، تدل على وجود 4'-OH .
- ظهور قمة جديدة مقدره بـ 332 نم مع نفس الكاشف NaOH تدل على وجود 7-OH . و يتأكد ذلك بالإزاحة المقدره بـ 2 نم للعصابة II عند مقارنة طيف NaOAc مع الميثانول.
- الإزاحة الباثوكرمومية للعصابة I و المقدره بـ 27 نم و هذا عند مقارنة طيف NaOAc + H₃BO₃ مع الميثانول تدل على وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3'-OH,4'-OH) .
- الإزاحة الهبسوكرمومية للعصابة I دائما و المقدره بـ 42 نم عند مقارنة طيف AlCl₃ مع طيف AlCl₃ + HCl تؤكد وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .
- و نستدل على وجود 5-OH من مقارنة طيف AlCl₃ + HCl بطيف الميثانول حيث نلاحظ إزاحة باثوكرمومية قدرها 31 نم.

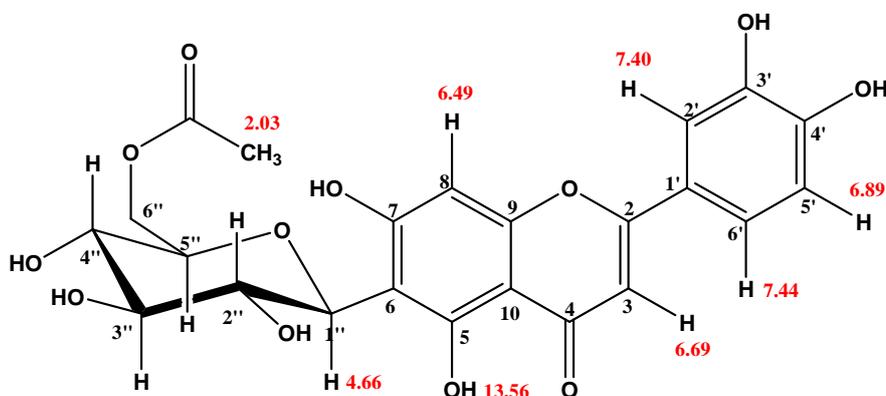
من هذه المعطيات (UV) نحصل على الصيغة الابتدائية التالية:



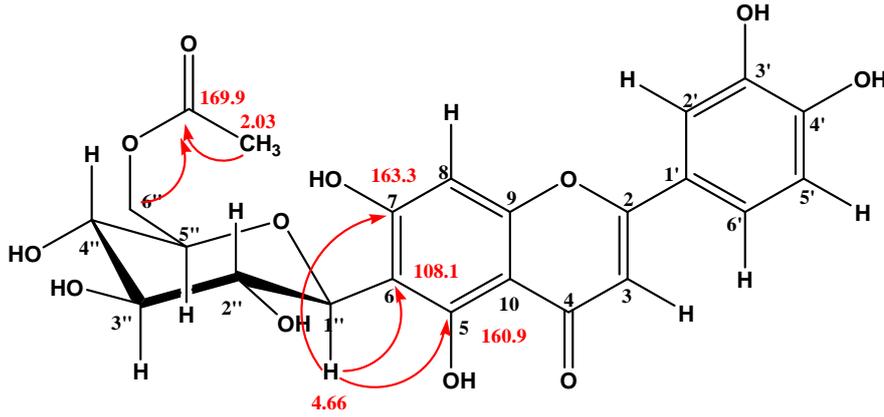
الشكل 68: الصيغة الأولية للمركب H509

النتائج في طيف البروتون تكون كالآتي:

- إشارة ثنائية ($J=2.2$ Hz) عند 7.44 ppm وهي مميزة للبروتون H-2'
- إشارة ثنائية ($J=8.2$ Hz) عند 6.89 ppm وهي مميزة للبروتون H-5'
- إشارة ثنائي ثنائي ($J=8.2, 2.2$ Hz) عند 7.40 ppm وهي مميزة للبروتون H-6'
- إشارة أحادية 6.49 ppm وهي مميزة للبروتون H-8
- إشارة أحادية 6.69 ppm وهي مميزة للبروتون H-3
- إشارة ثنائية ($J=9.8$ Hz) عند 4.66 ppm وهي مميزة للبروتون الأنوميري للغلوكوز H-1''
- إشارة أحادية 2.03 ppm وهي مميزة للبروتونات مجموعة الميثيل مرتبطة مع مجموعة كربونيل.
- إشارة أحادية 13.56 ppm وهي مميزة لهيدروكسيل الموضع 5-OH



الشكل 69: تعيين الإزاحات الكيميائية للبروتون للمركب H509



الشكل 70: تعيين التعلقات المستنتجة من طيف HMBC للمركب H509

◀ من طيف HMBC نستخلص ما يلي:

- هناك تعلق بين البروتون الأنوميري للجلوكوز (H-1'', $\delta = 4.66$ ppm) مع كربون الموضع C-6 (C-6, $\delta = 108.1$ ppm).
- هناك تعلق بين البروتون الأنوميري للجلوكوز (H-1'', $\delta = 4.66$ ppm) مع كربون الموضع C-7 (C-7, $\delta = 163.3$ ppm).
- هناك تعلق بين البروتون الأنوميري للجلوكوز (H-1'', $\delta = 4.66$ ppm) مع كربون الموضع C-5 (C-5, $\delta = 160.9$ ppm).
- ومنه نستخلص أن السكر مرتبط في الموضع 6 إرتباط من النوع (C-C).

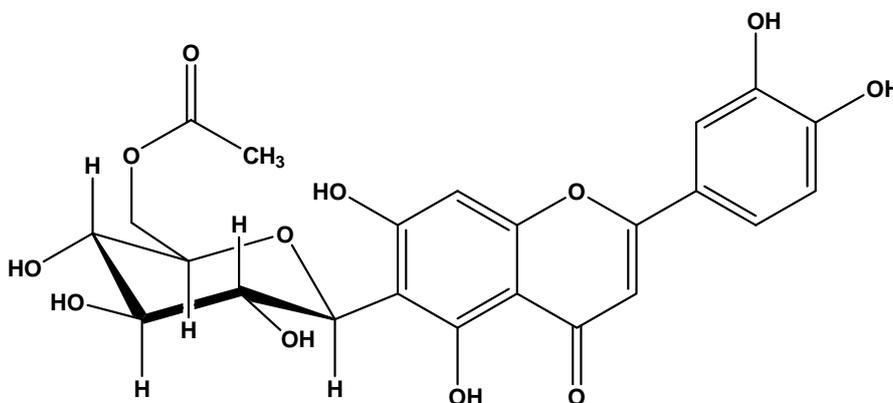
◀ من طيف HMBC نستخلص أيضا:

- وجود تعلق بين البروتونات المثل (CH₃, $\delta = 2.03$ ppm) مع كربون وظيفة الكربونيل للأسيئات (O-C=O, $\delta = 169.9$ ppm).
- وجود تعلق بين البروتونين الموضع 6'' (H-6'', $\delta = 3.69$ ppm) مع كربون وظيفة الكربونيل للأسيئات (O-C=O, $\delta = 169.9$ ppm).
- ومنه نستخلص أن وظيفة الأسيئات مرتبطة في الموضع 6'' للسكر.

◀ الاستنتاج:

- انطلاقا من القيمة (m/z 490) والصيغة العامة للمركب C₂₃H₂₂O₁₂ المستوحات من مطيافية الكتلة.
- وإستنادا الى اللون الإستشعاعي (بنفسجي) و قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.
- وبالإضافة إلى قيم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون التي جاءت مؤكدة لكل النتائج السابقة كما هو موضح في الجدول 27.

- ومن خلال معطيات طيف HMBC يتأكد أن السكر مرتبط بالموضع 6 للأجليكون.
- ومن خلال معطيات طيف HMBC يتأكد أن الوظيفة CH₃-COO متموضعة في الموضع 6''.
- وجاءت الأطياف Dept135, Cosy, HMQC, HMBC مؤكدة لبنية المركب.
- تم الاستخلاص و تأكيد أن المركب H509 هو: Isoorientin 6''-O-acetate.
- تم مطابقة النتائج مع المراجع [4-1].



Isoorientin 6''-O-acetate

(5,7,3',4'-tetrahydroflavone 6-C- (6''-O-acetylglucoside))

الشكل 70: الصيغة النهائية للمركب H509

-
- [1]. Peng, J., Fan, G., Hong, Z., Chai, Y., Wu, Y. (2005). Preparative separation of isovitexin and isoorientin from *Patrinia villosa* Juss by high-speed counter-current chromatograph. *Journal of Chromatography A*. 1074, 111–115.
- [2]. Yan, Q.W., Shuo, L., Ya, L., Yu, L. (2003). A New Acylated Flavonoid from *Anaphalis aureo-punctata*. *Chinese Chemical Letters*. 14, 66-67.
- [3]. Juan, L., Yongri, J., Guiying, L., Na, Z., Mingyu, G., Aimin, Y., Xuwen, L. (2010). Flavonoids From the Leaves of *Actinidia Kolomikta*. *Chemistry of Natural Compounds*. 46, 205-208.
- [4]. Ibraheim, Z.Z. (1994). Further constituents of *Crotalaria thebaica* (Del) DC. Growing in Egypt. *Bull. Fac Sci Assiut University*. 49.

التحليل البنيوي للمركب

H510

التحليل البنيوي للمركب H510:

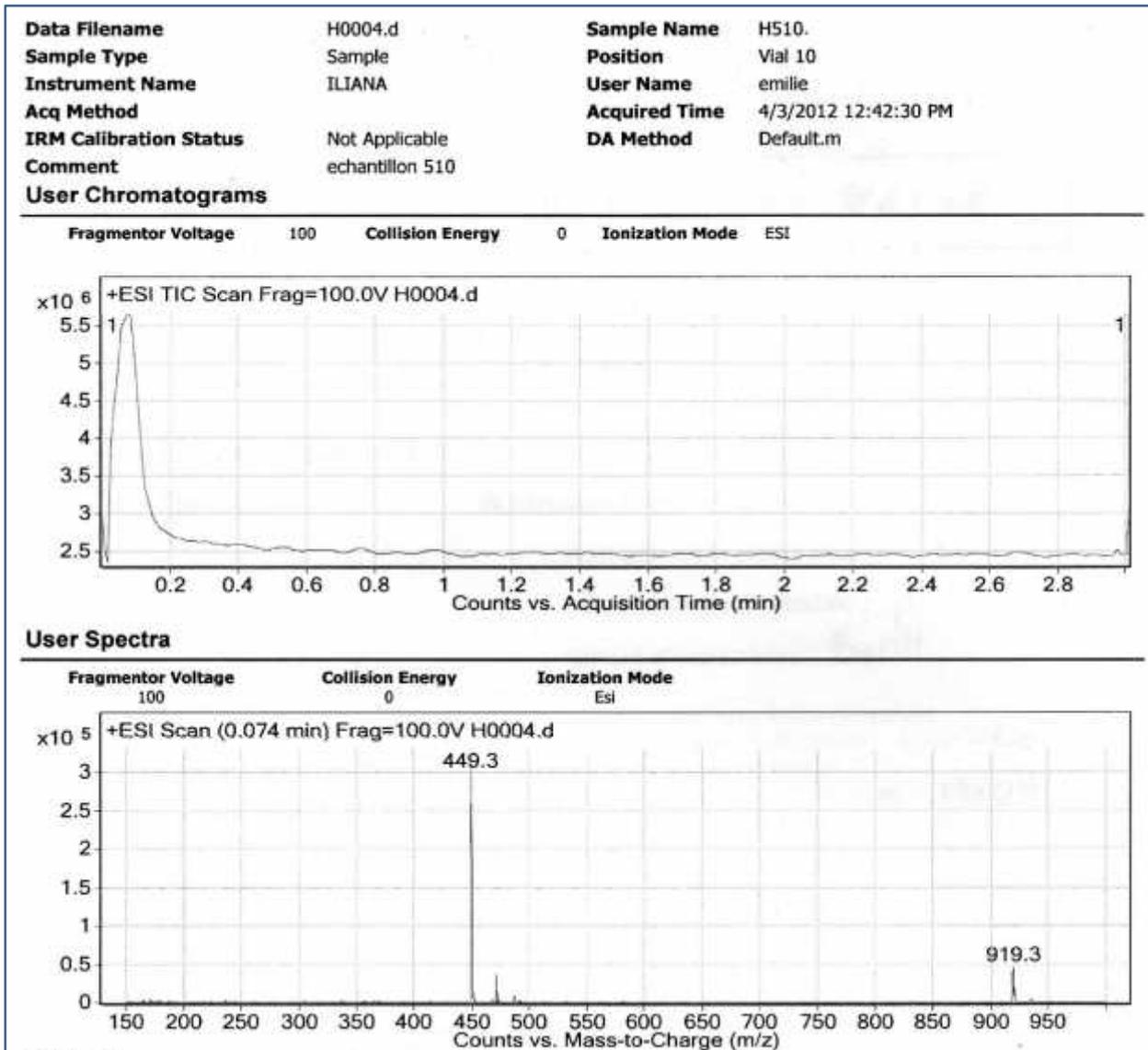
اللون الإستشعاعي:

الإستشعاع تحت الأشعة (UV): بنفسجي.

❖ المعطيات الطيفية:

1- مطيافية الكتلة بتقنية الإلكترولسبراي (Electrospray):

تم التعرف على الصيغة المجملة للمركب H510 و التي هي $C_{21}H_{20}O_{11}$ وهذا بتقنية Electrospray بحيث أظهر طيف الكتلة وجود قمة الأيون الجزيئي $[M+H]^+$ و المقدره بـ $(m/z 449 [M+H]^+)$ وهذا ما يبينه الطيف التالي الشكل 71:



الشكل 71: كروماتوغرام المركب H510 بتقنية Electrospray.

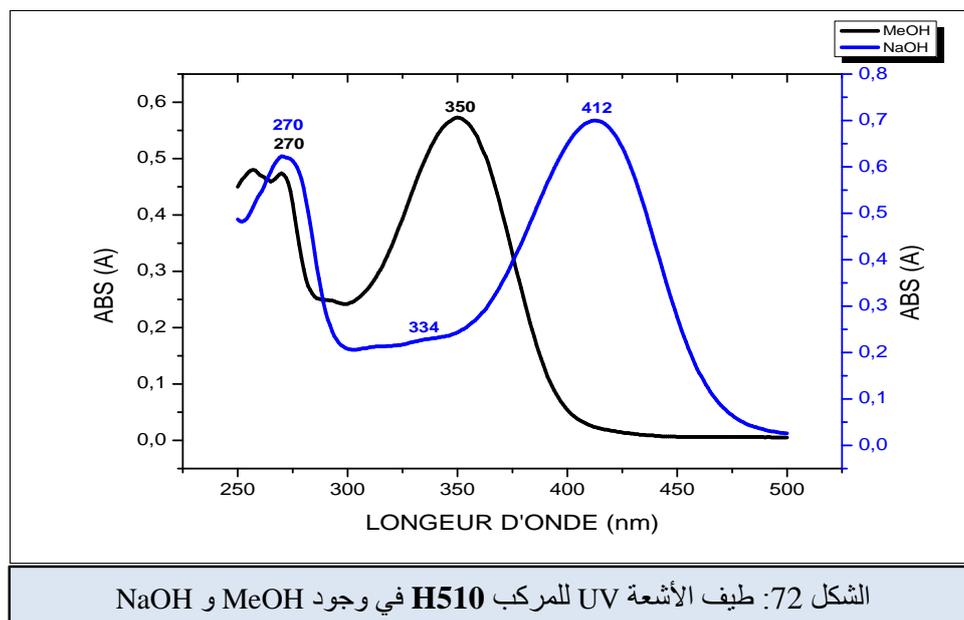
2- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

الجدول 28: قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H510

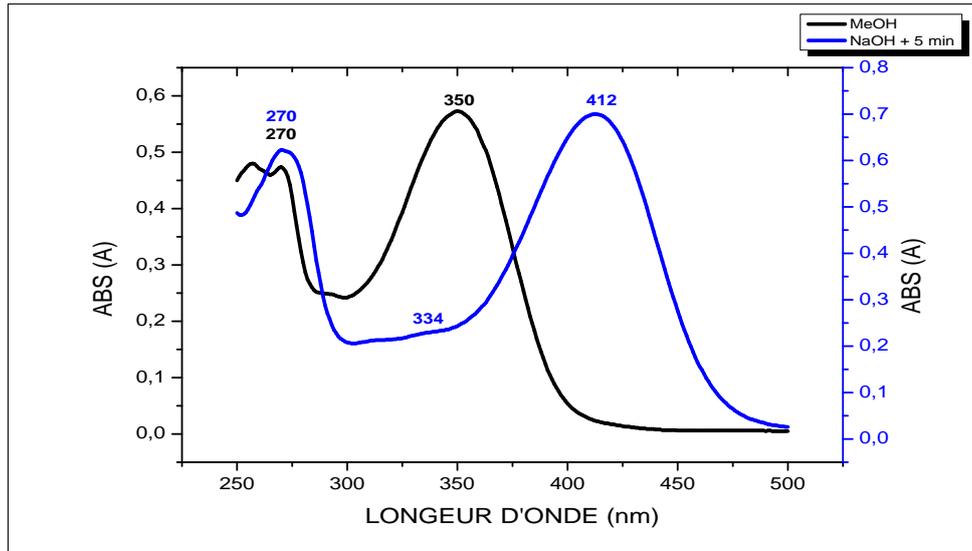
الكواشف	العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	عصابات أخرى (نم)
MeOH	350	270	/
NaOH	412	270	334
NaOH + 5 min	412	270	334
AlCl ₃	417	275	/
AlCl ₃ + HCl	382	278	355
NaOAc	367	272	397
NaOAc + H ₃ BO ₃	377	264	/

طيف NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر

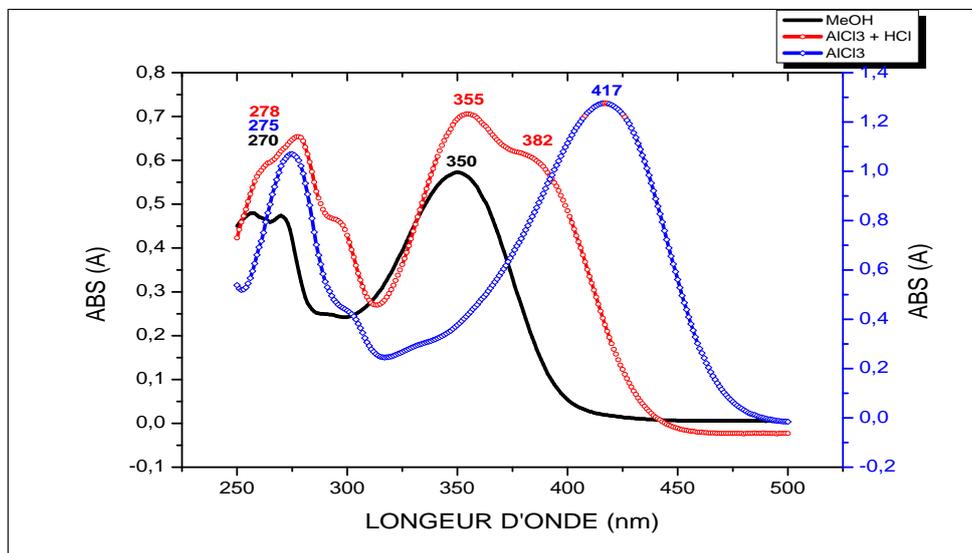
و في ما يلي أطيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H510:



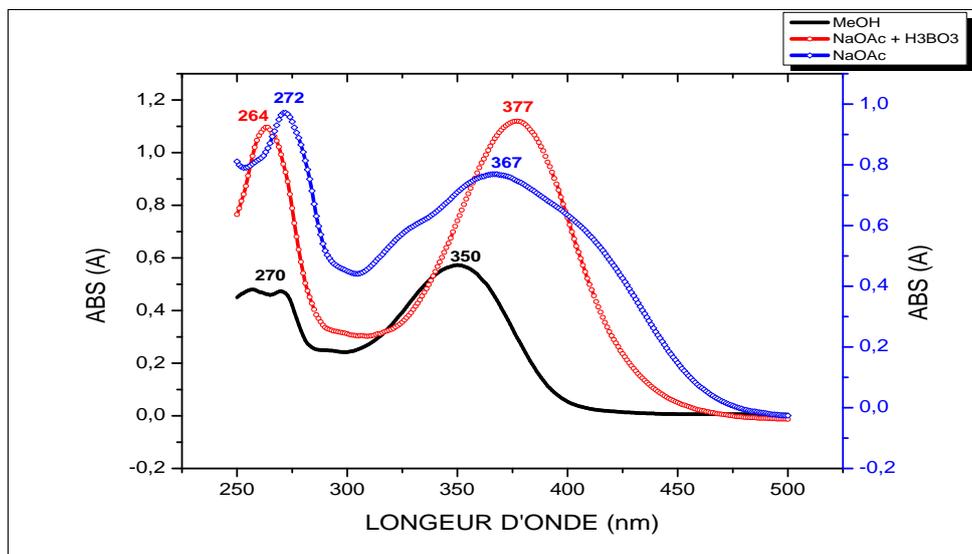
الشكل 72: طيف الأشعة UV للمركب H510 في وجود MeOH و NaOH



الشكل 73: طيف الأشعة UV للمركب H510 في وجود MeOH و NaOH+5min



الشكل 74: طيف الأشعة UV للمركب H510 في وجود MeOH و AlCl3 و AlCl3+HCl



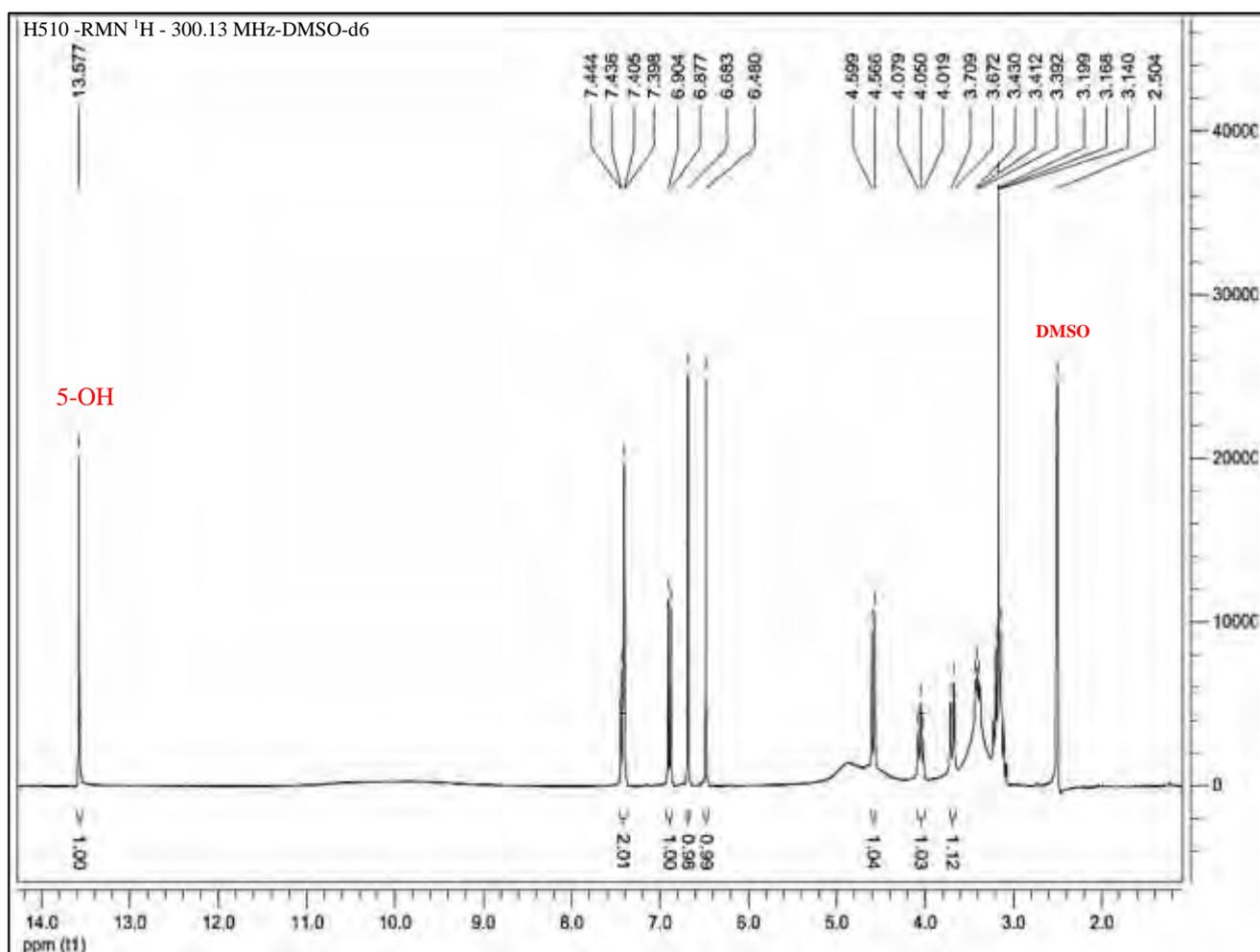
الشكل 75: طيف الأشعة UV للمركب H510 في وجود MeOH و NaOAc و NaOAc+H3BO3

3- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون:

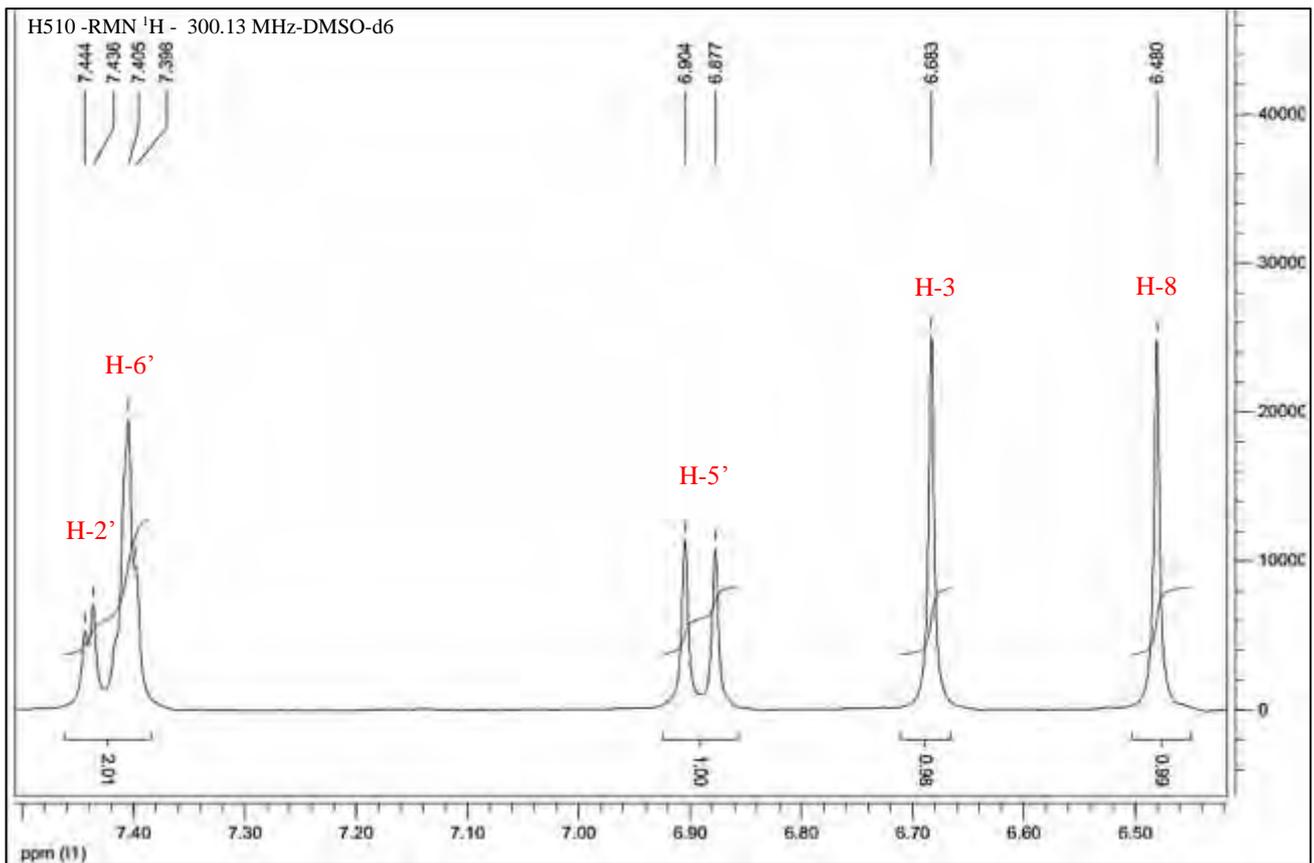
الجدول 29: قيم (RMN ¹H 300 MHz) و (RMN ¹³C 100 MHz) للمركب H510 في (DMSO-d6)

No.	δH (J Hz)	δC	DEPT	No.	δH (J Hz)	δC	DEPT
2		163.6	C	3'		145.7	C
3	6.68 s	102.7	CH	4'		149.7	C
4		181.8	C	5'	6.89 d (8.2)	116.0	CH
5	13.57 (5-OH)	160.6	C	6'	7.40 m	113.2	CH
6		108.8	C	1''	4.58 d (9.8)	73.0	CH
7		163.3	C	2''	4.00 m	70.6	CH
8	6.48 s	93.4	CH	3''		78.9	CH
9		156.1	C	4''		70.1	CH
10		103.3	C	5''		81.6	CH
1'		121.3	C	6''	3.69 d (11.3)	61.4	CH ₂
2'	7.44 d (2.2)	118.9	CH				

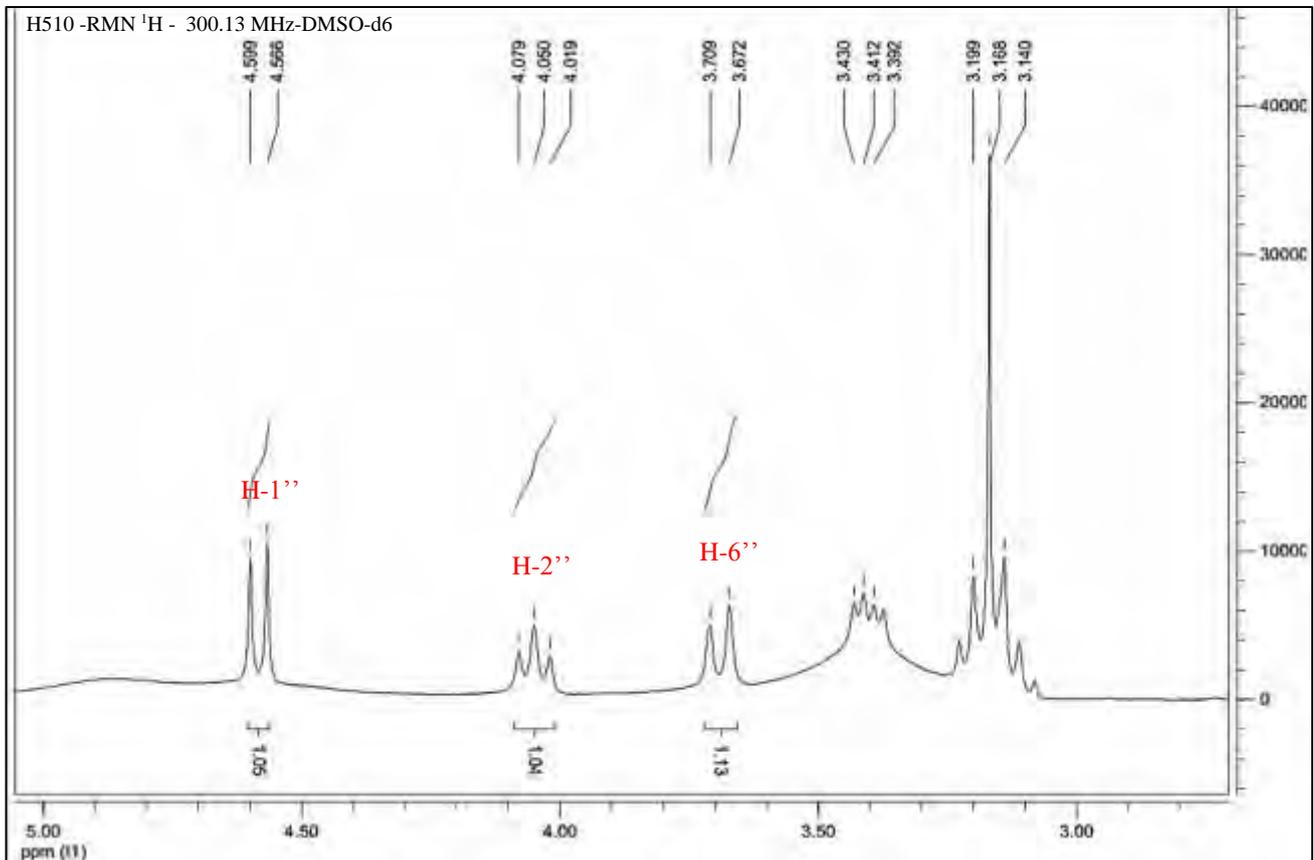
وفي ما يلي أطياف ¹H-RMN و ¹³C-RMN للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6):



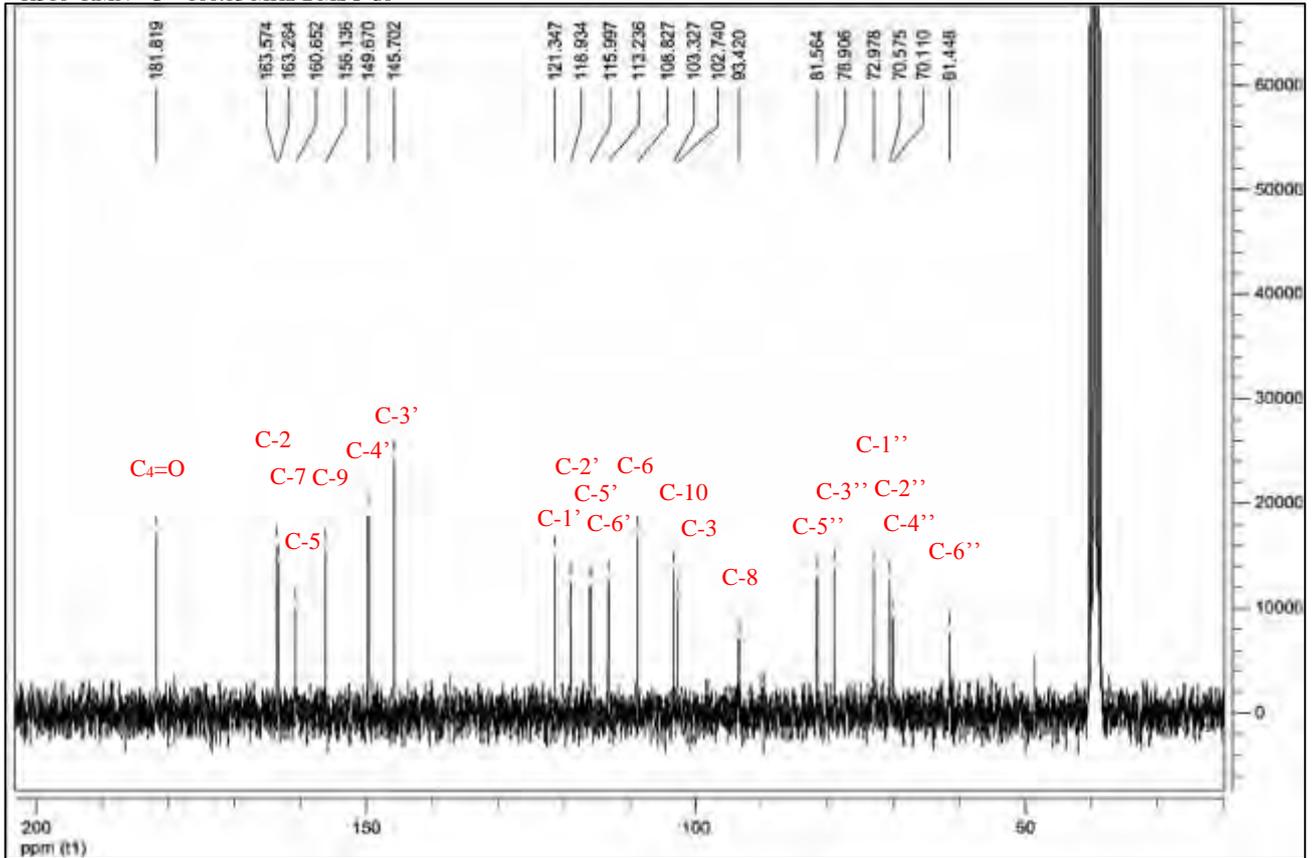
الشكل 76: مطيافية ¹H-RMN للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6)



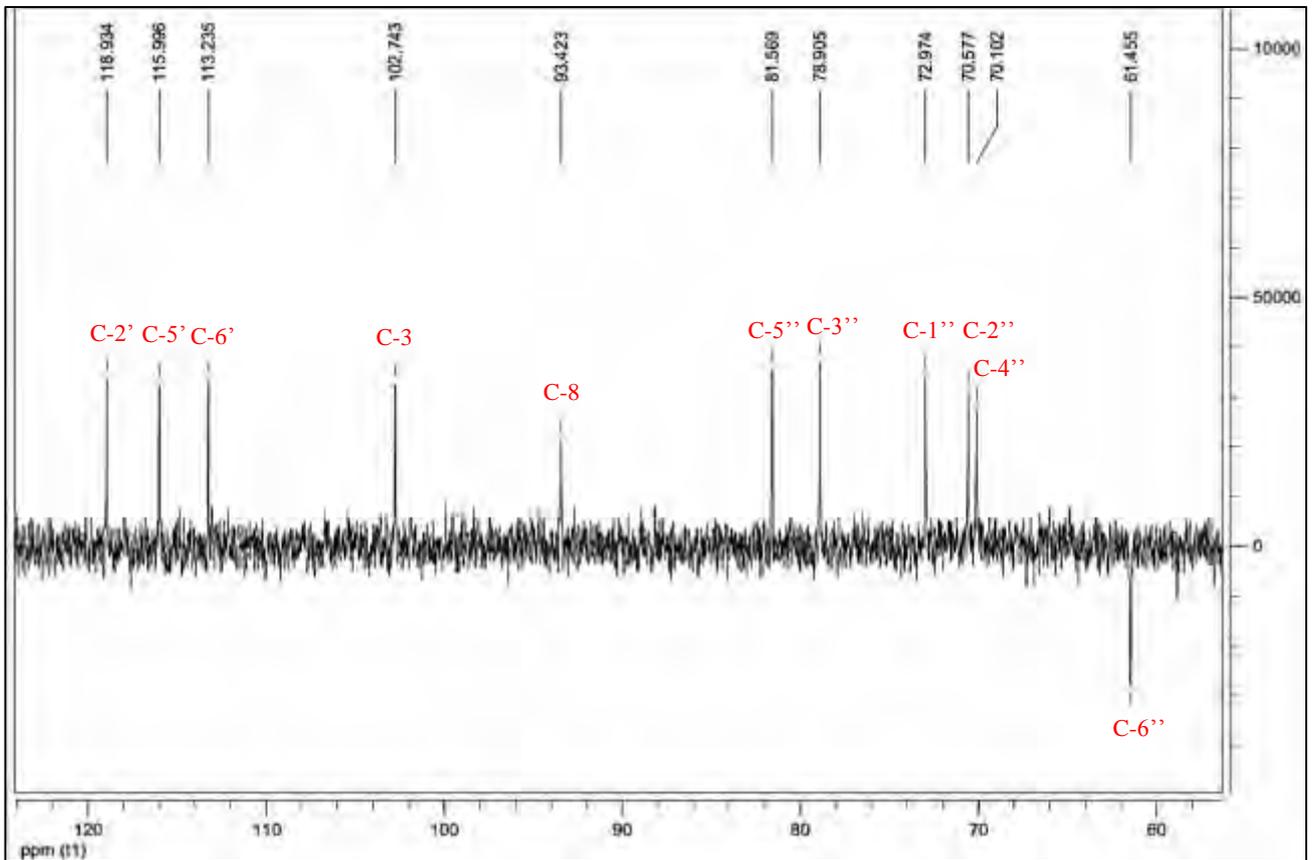
الشكل 77: مطيافية RMN-¹H للمركب H510 تكبير في المجال [6.4ppm-7.5ppm]



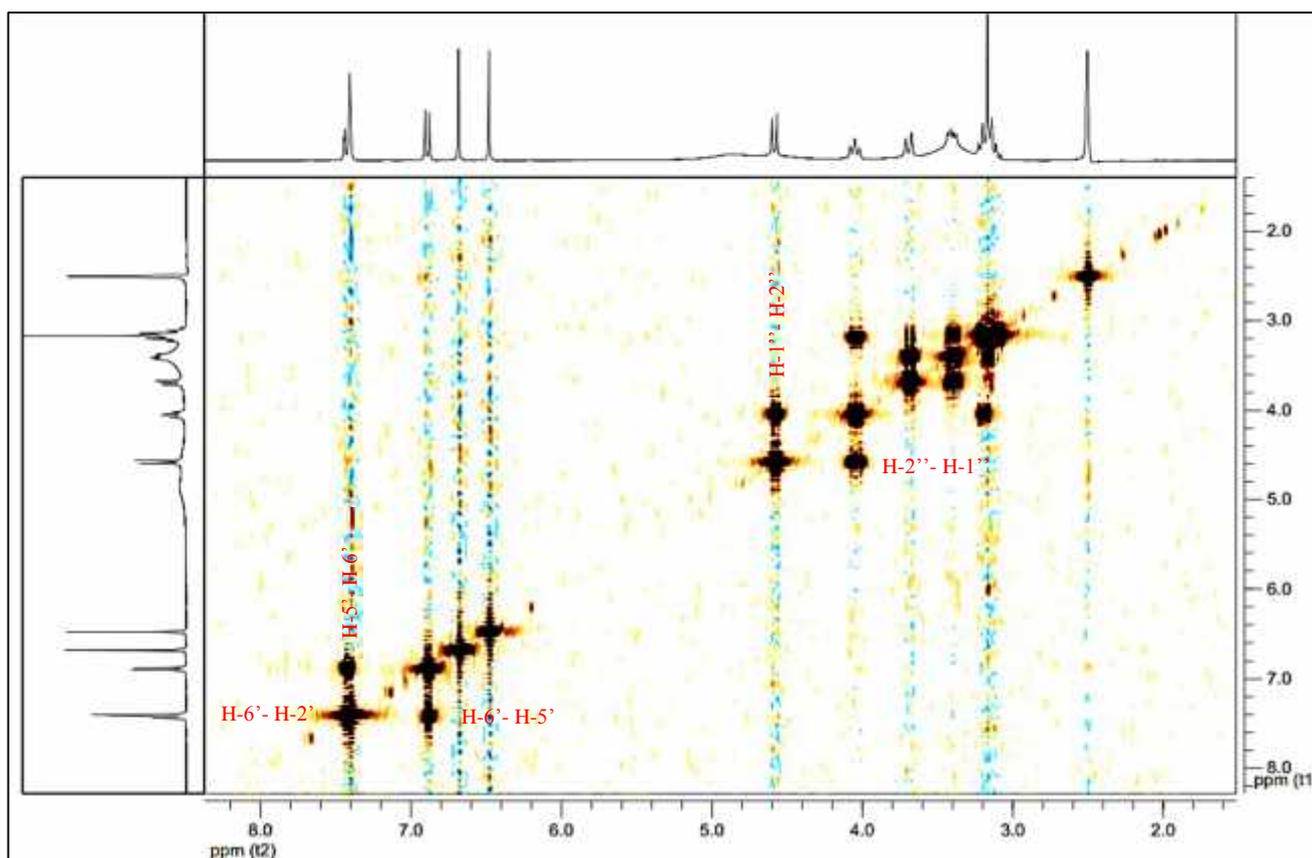
الشكل 78: مطيافية RMN-¹H للمركب H510 تكبير في المجال [2.7ppm-5.0ppm]



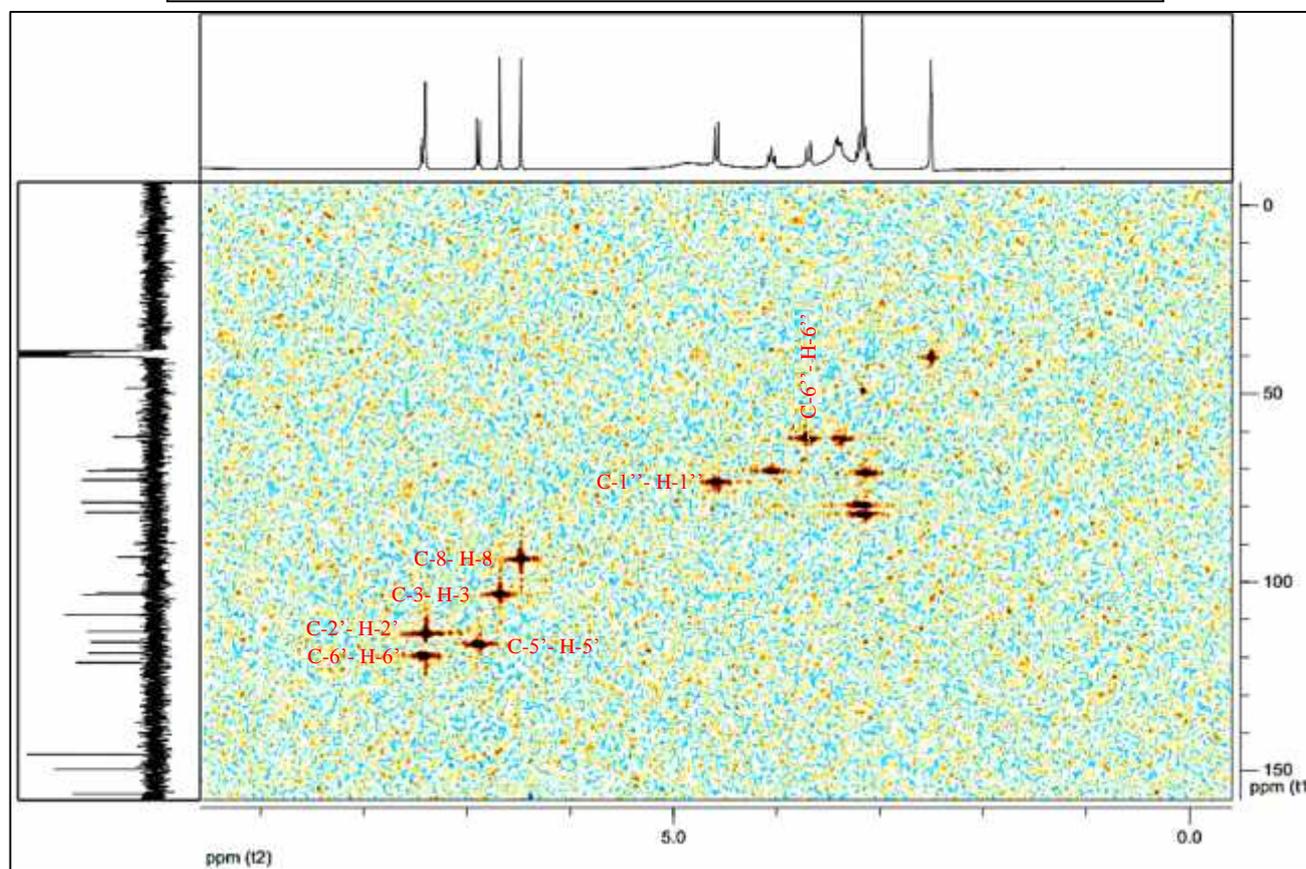
الشكل 79: مطيافية ¹³C-RMN للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6)



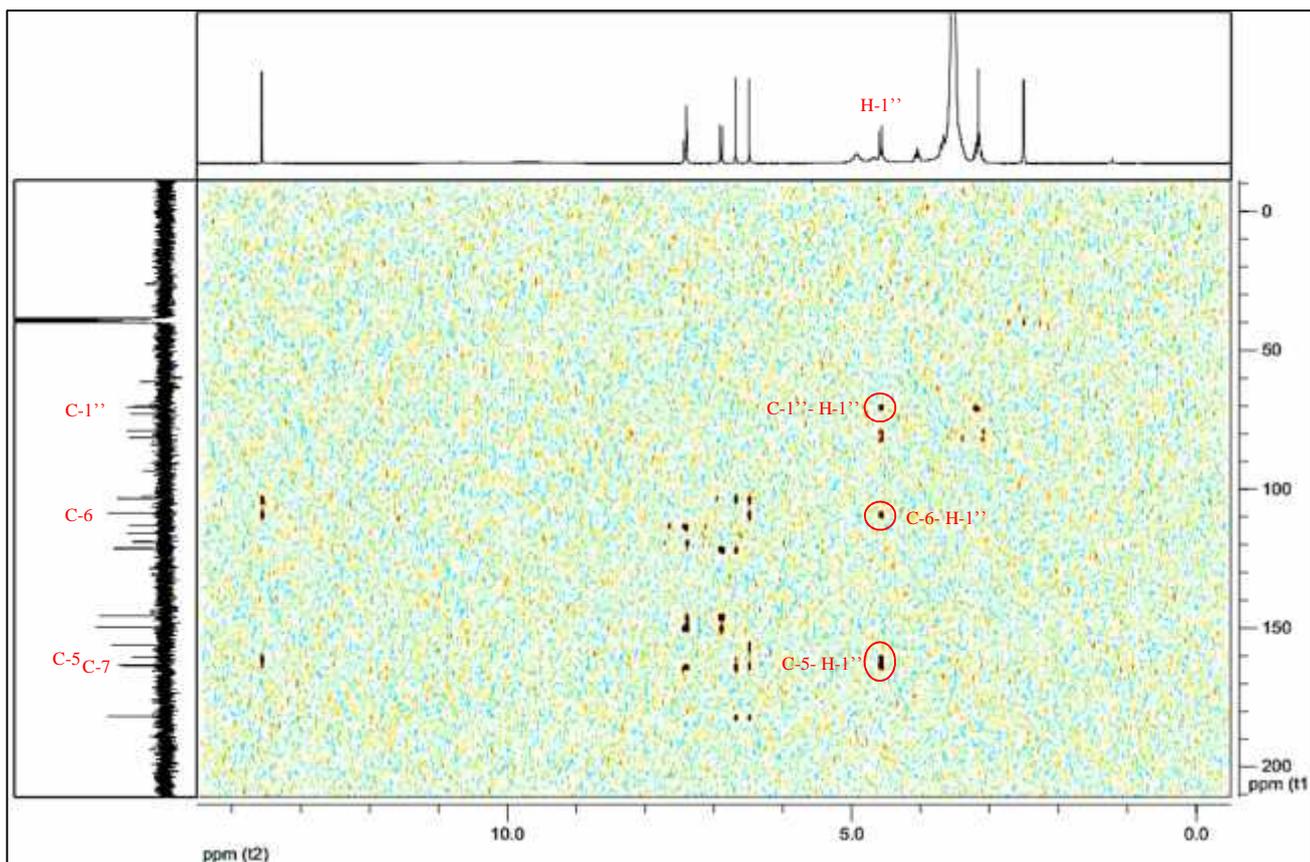
الشكل 80: مطيافية dept 135 للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 81: مطيافية Cosy للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 82: مطيافية HMQC للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6)

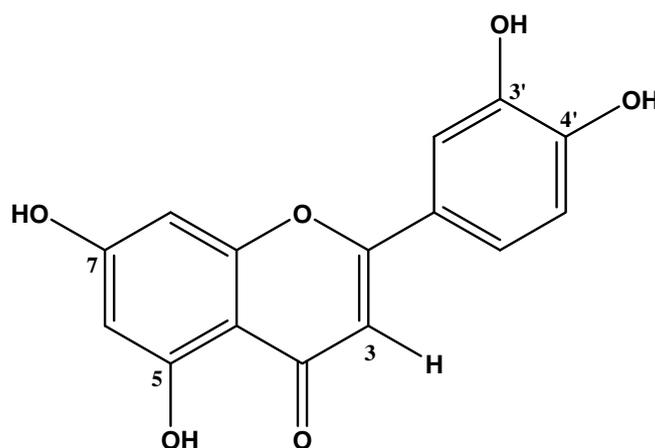


الشكل 83: مطيافية HMBC للمركب H510 المسجل في (DMSO-d6)

التعليق: ↩

- اللون الإستشعاعي للمركب (بنفسجي) و قيمة العصابة I في طيف MeOH المقدر بـ 350 نم يدل على أن المركب فلافون أي وجود H في الموضع 3.
- إزاحة باثوكرمومية للعصابة I مقدر بـ 62 نم عند مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول دون تناقص في الشدة، تدل على وجود 4'-OH .
- ظهور قمة جديدة مقدر بـ 334 نم مع نفس الكاشف NaOH تدل على وجود 7-OH. و يتأكد ذلك بالإزاحة المقدر بـ 2 نم للعصابة II عند مقارنة طيف NaOAc مع الميثانول.
- الإزاحة الباثوكرمومية للعصابة I و المقدر بـ 17 نم و هذا عند مقارنة طيف NaOAc + H₃BO₃ مع الميثانول تدل على وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3'-OH,4'-OH) .
- الإزاحة الهيسوكروومية للعصابة I دائما و المقدر بـ 35 نم عند مقارنة طيف AlCl₃ مع طيف AlCl₃ + HCl تؤكد وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .
- و نستدل على وجود 5-OH من مقارنة طيف AlCl₃ + HCl بطيف الميثانول حيث نلاحظ إزاحة باثوكرمومية قدرها 32 نم.

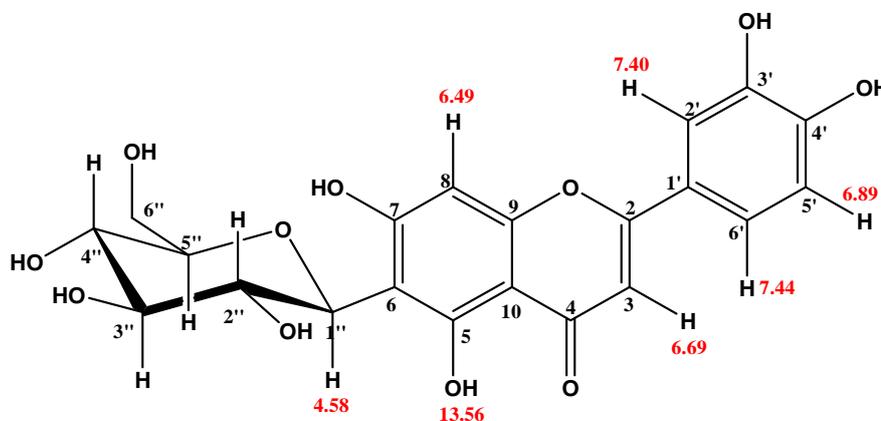
من هذه المعطيات (UV) نحصل على الصيغة الابتدائية التالية:



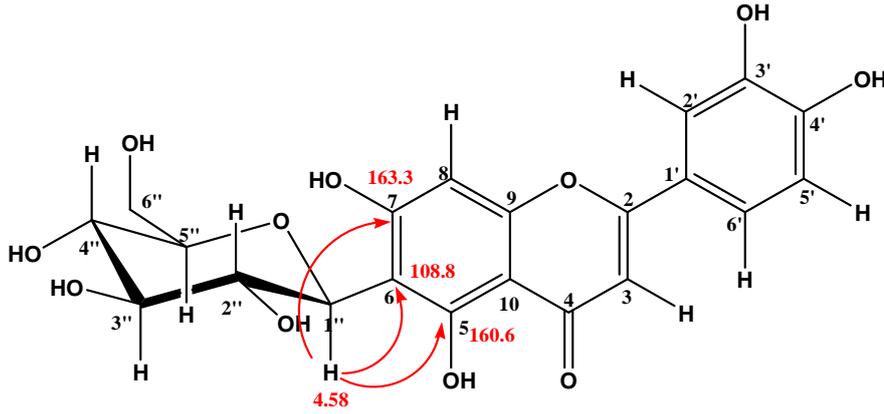
الشكل 84: الصيغة الأولية للمركب H510

النتائج في طيف البروتون تكون كالآتي:

- إشارة ثنائية ($J=2.2$ Hz) عند 7.44 ppm وهي مميزة للبروتون H-2'
- إشارة ثنائية ($J=8.2$ Hz) عند 6.89 ppm وهي مميزة للبروتون H-5'
- إشارة متعددة عند 7.40 ppm وهي مميزة للبروتون H-6'
- إشارة أحادية 6.49 ppm وهي مميزة للبروتون H-8
- إشارة أحادية 6.69 ppm وهي مميزة للبروتون H-3
- إشارة ثنائية ($J=9.8$ Hz) عند 4.58 ppm وهي مميزة للبروتون الأنوميري للجلوكوز H-1''
- إشارة أحادية 13.56 ppm وهي مميزة لهيدروكسيل الموضع 5-OH



الشكل 85: تعيين الإزاحات الكيميائية للبروتون للمركب H510



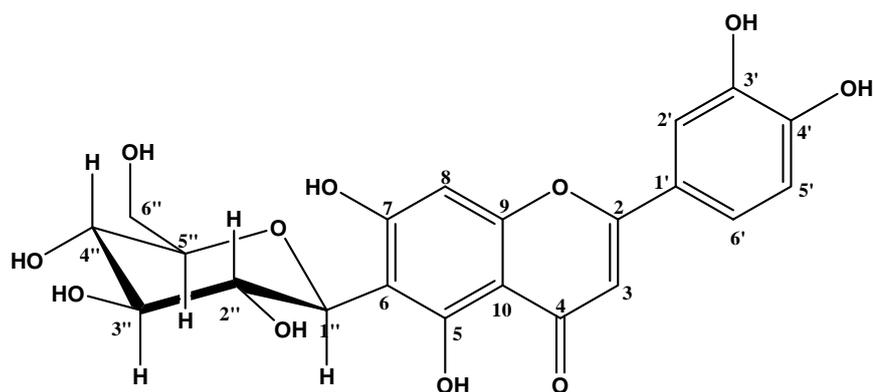
الشكل 86: تعيين التعلقات المستنتجة من طيف HMBC للمركب H510

من طيف HMBC نستخلص ما يلي:

- هناك تعالق بين البروتون الأنوميري للجلوكوز (H-1'', $\delta = 4.66$ ppm) مع كربون الموضع C-6 ($\delta = 108.8$ ppm).
- هناك تعالق بين البروتون الأنوميري للجلوكوز (H-1'', $\delta = 4.66$ ppm) مع كربون الموضع C-7 ($\delta = 163.3$ ppm).
- هناك تعالق بين البروتون الأنوميري للجلوكوز (H-1'', $\delta = 4.66$ ppm) مع كربون الموضع C-5 ($\delta = 160.6$ ppm).
- ومنه نستخلص أن السكر مرتبط في الموضع 6 إرتباط من النوع (C-C).

الاستنتاج:

- انطلاقاً من القيمة (m/z 448) و الصيغة العامة للمركب $C_{21}H_{20}O_{11}$ المستوحات من مطيافية الكتلة.
- و إستناداً الى اللون الإستشعاعي (بنفسجي) و قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.
- و بالإضافة إلى قيم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون التي جاءت مؤكدة لكل النتائج السابقة كما هو موضح في جدول 29.
- ومن خلال معطيات طيف HMBC يتأكد أن السكر مرتبط بالموضع 6 للأجليكون.
- وجاءت الأطياف HMBC, HMQC, Cosy, Dept135 مؤكدة لبنية المركب.
- تم الاستخلاص و تأكيد أن المركب H510 هو: (Isoorientin) أو (Luteolin-6-C-glucoside).
- تم مطابقة النتائج مع المراجع [2-1].



Isoorientin (Luteolin-6-C-glucoside)

الشكل 86: الصيغة النهائية للمركب H510

[1]. Kumazawa, T., Minatogawa, T., Matsuba, S., Sato, S., Onodora, J.I. (2000). An effective synthesis of isoorientin: the regioselective synthesis of a 6-C-glucosylflavone. *Carbohydrate Research*. 329, 507–513.

[2]. Peng, J., Fan, G., Hong, Z., Chai, Y., Wu, Y. (2005). Preparative separation of isovitexin and isoorientin from *Patrinia villosa* Juss by high-speed counter-current chromatograph. *Journal of Chromatography A*. 1074, 111–115.

التحليل البنيوي للمركب

H607

التحليل البنيوي للمركب H607:

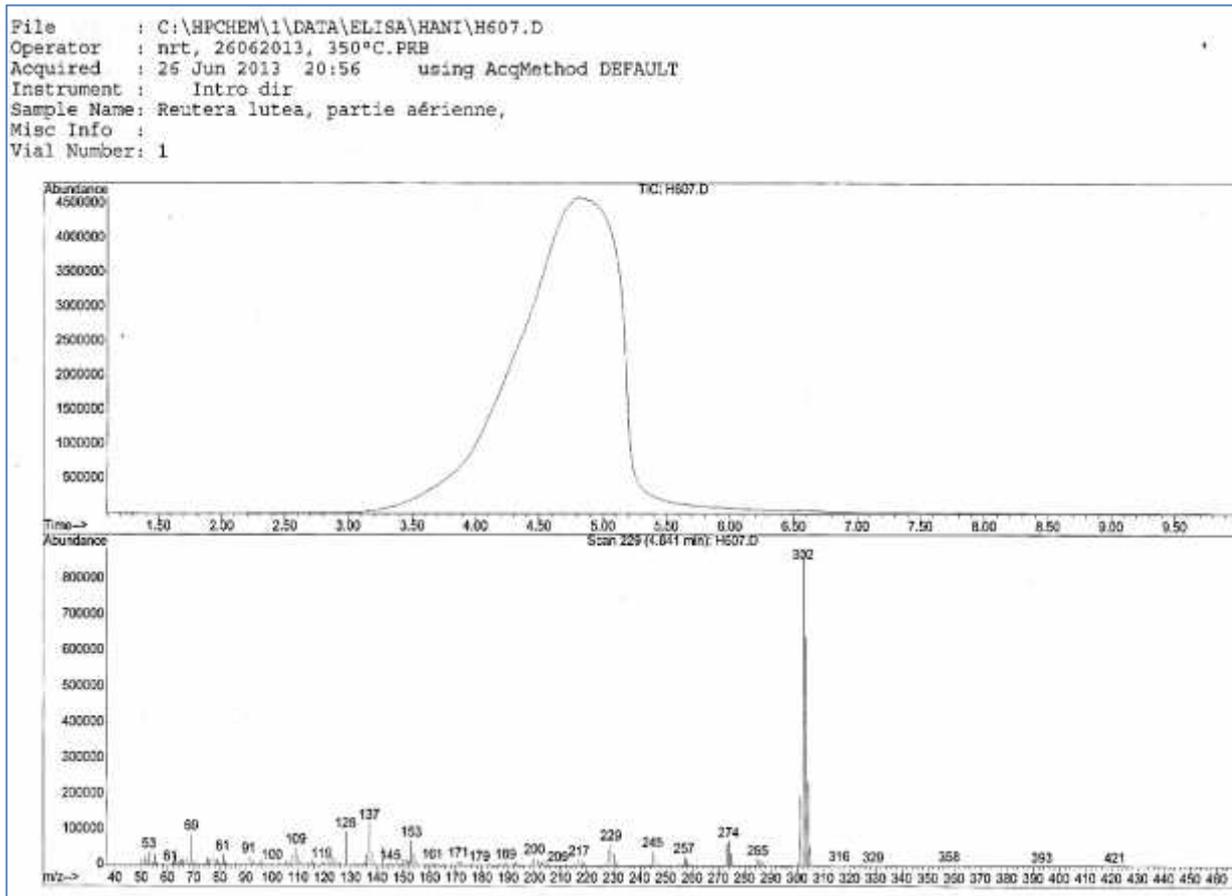
اللون الإستشعاعي:

الإستشعاع تحت الأشعة (UV) : أصفر.

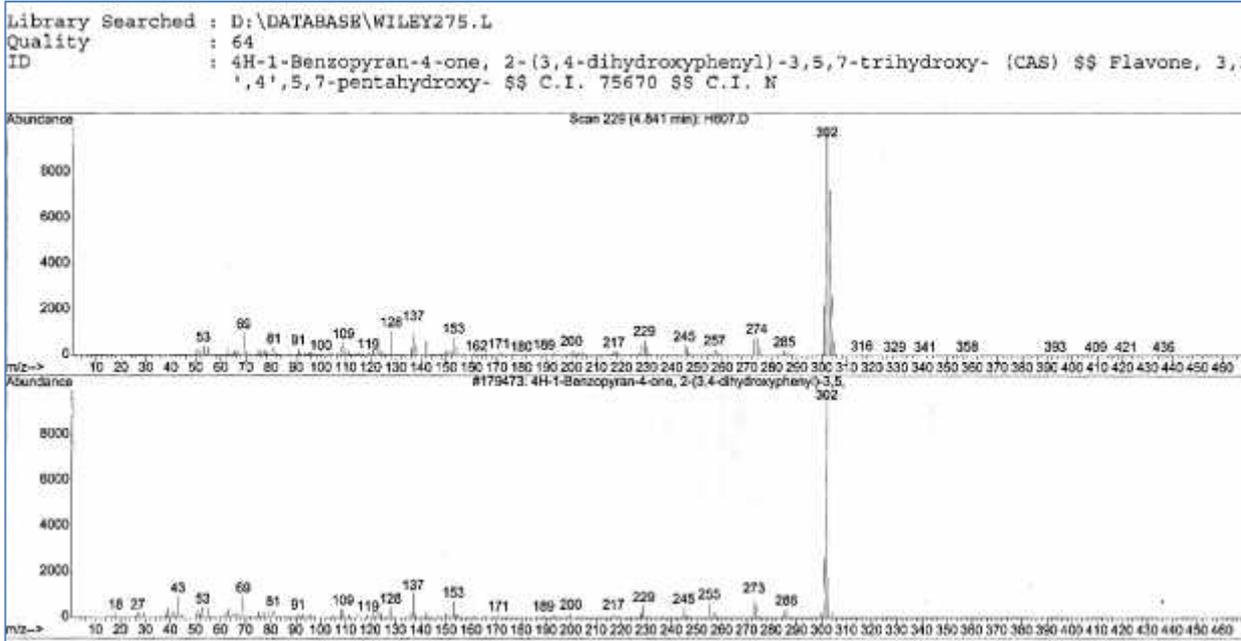
❖ المعطيات الطيفية:

1- فحص المركب H607 عن CPG-MS:

تم التعرف على الصيغة المجملة للمركب H607 و التي هي $C_{15}H_{10}O_7$ وهذا بتقنية CPG-MS بحيث أظهر طيف الكتلة وجود قمة الأيون الجزيئي M^+ وهي القمة الأساسية و المقدره بـ (302 m/z) وهذا ما يبينه الطيف التالي الأشكال 87 و 88 و 89:



الشكل 87: كروماتوغرام المركب H607 عن طريق CPG-MS مع مطيافية الكتلة



الشكل 88: مطيافية الكتلة للمركب H607 مع الشاهد

4H-1-Benzopyran-4-one, 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy (CAS) \$\$ Flavone, 3,4',5,7-pentahydroxy- \$\$ C.I. 75670 \$\$ C.I. Natural Yellow 10 \$\$ Cyanidinol 1522 \$\$ Melitin \$\$ Quercetin \$\$ Quercetin \$\$ Quercetin \$\$ Quercetin \$\$ Quercetin \$\$ Sophoricoside \$\$ Xanthone

Match Quality : 64
Entry Number : 175473
CAS Number : 1001-734-9
Molecular Weight : 302.04
Molecular Formula: C15H10O7
Retention Index : 3
Company ID : 170408
Melting Point :
Boiling Point :
MSD Information :
QL-898, Source-01: 315 C 0

الشكل 89: المركب المتحصل عليه من خلال مطيافية الكتلة للمركب H607

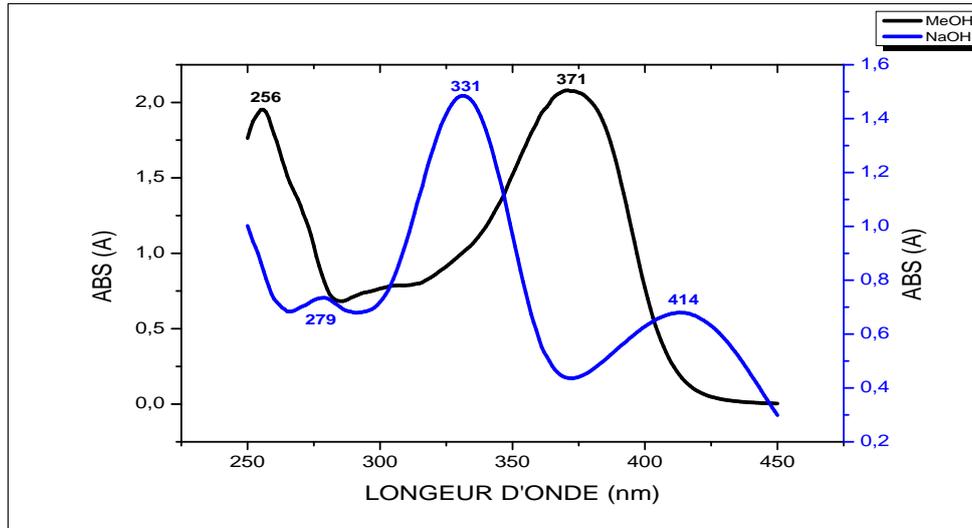
2- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

الجدول 30: قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H607

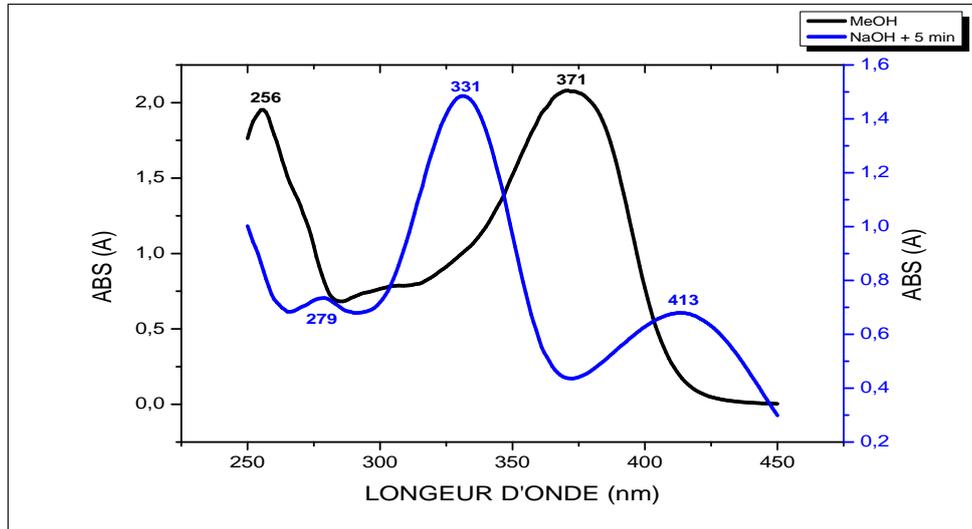
الكواشف	العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	عصابات أخرى (نم)
MeOH	371	256	/
NaOH	414	279	331
NaOH + 5 min	413	279	331
AlCl ₃	445	270	336
AlCl ₃ + HCl	429	264	360
NaOAc	375	255	/
NaOAc + H ₃ BO ₃	387	260	/

طيف NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر

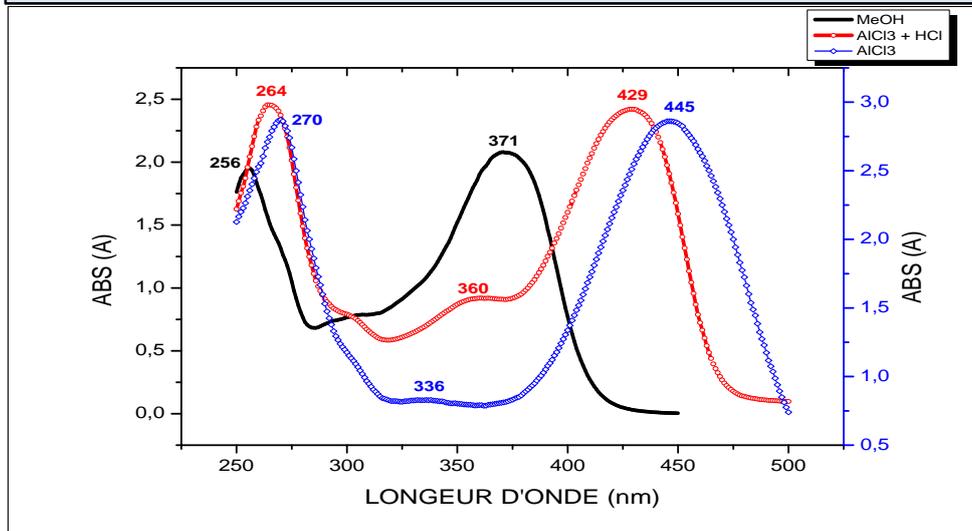
و في ما يلي أطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H607:



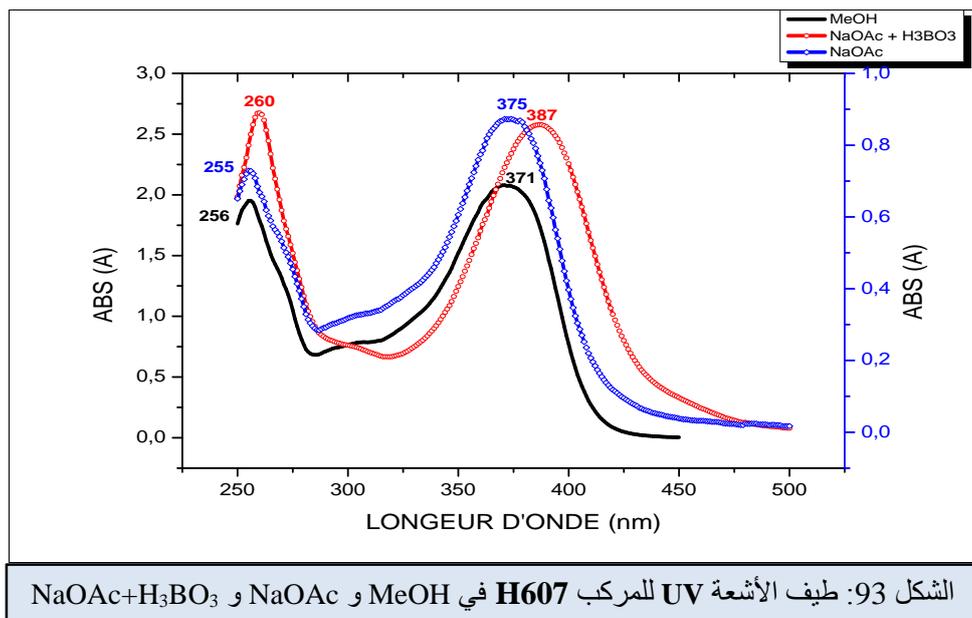
الشكل 90: طيف الأشعة UV للمركب H607 في وجود MeOH و NaOH



الشكل 91: طيف الأشعة UV للمركب H607 في وجود MeOH و NaOH+5min



الشكل 92: طيف الأشعة UV للمركب H607 في وجود MeOH و AlCl₃ و AlCl₃+HCl

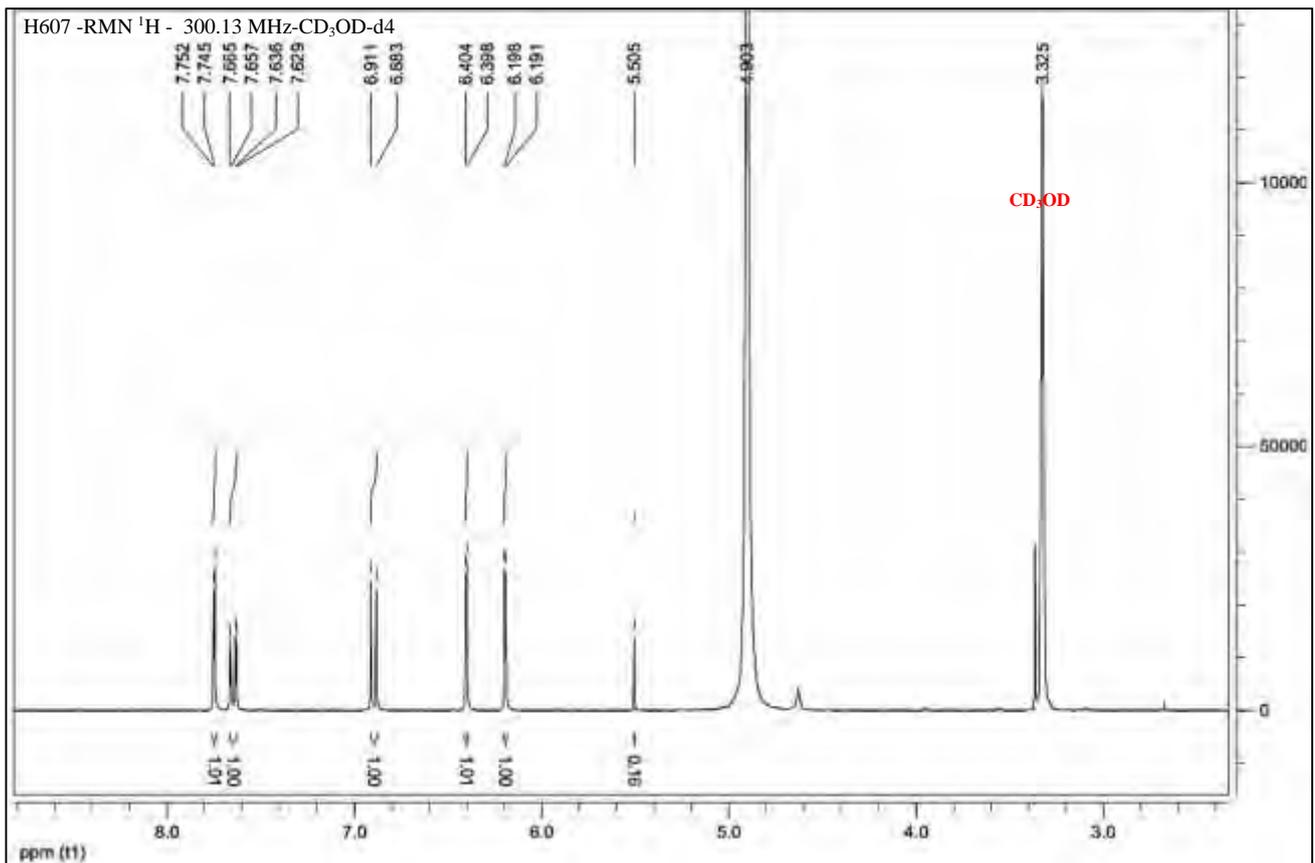


3- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون:

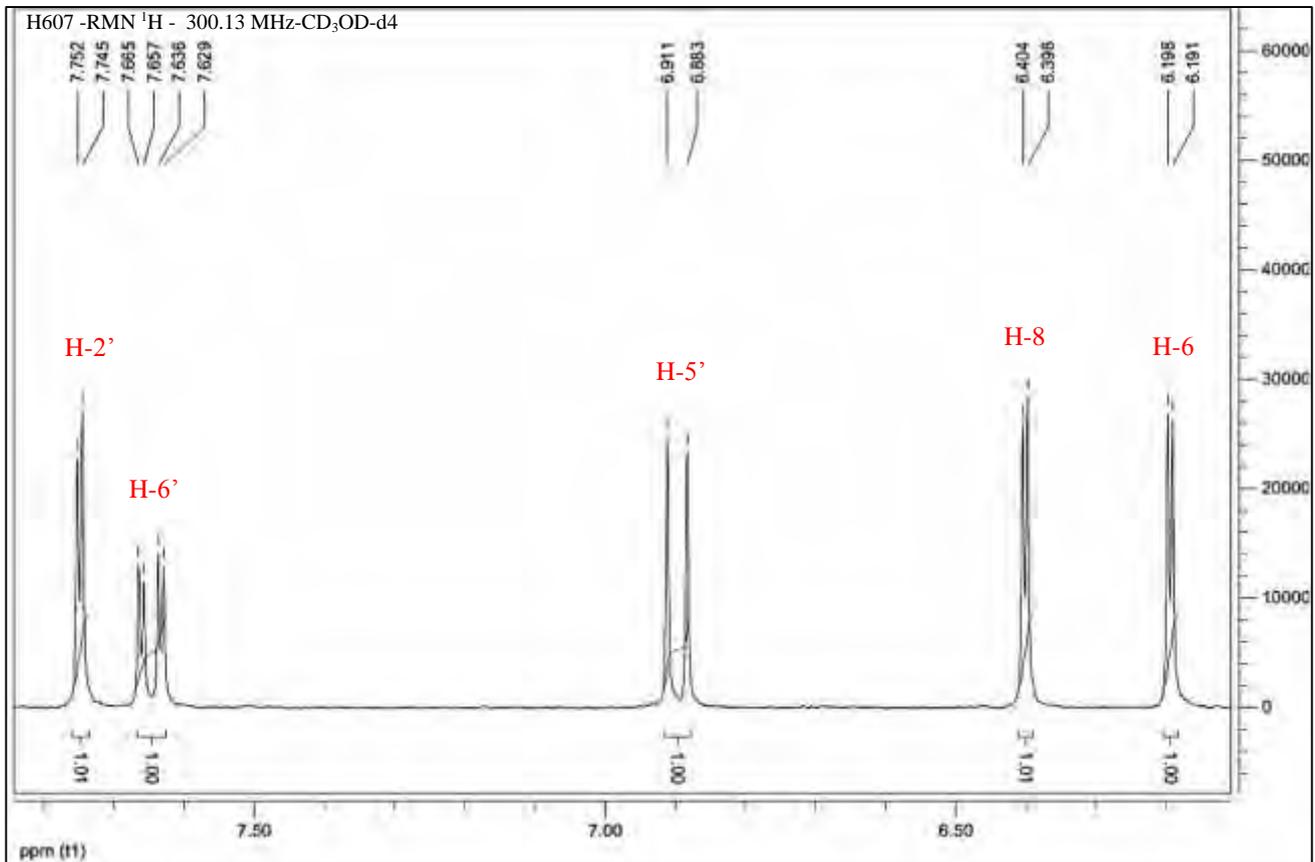
الجدول 31: قيم (RMN ¹H 300 MHz) للمركب H607 في (DMSO-d₆)

No.	δH (J Hz)	DEPT	No.	δH (J Hz)	DEPT
2		C	10		C
3		C	1'		C
4		C	2'	7.74 d (2.2)	CH
5		C	3'		C
6	6.19 d (2.1)	CH	4'		C
7		C	5'	6.89 d (8.5)	CH
8	6.40 d (2.1)	CH	6'	7.64 dd (8.5,2.2)	CH
9		C			

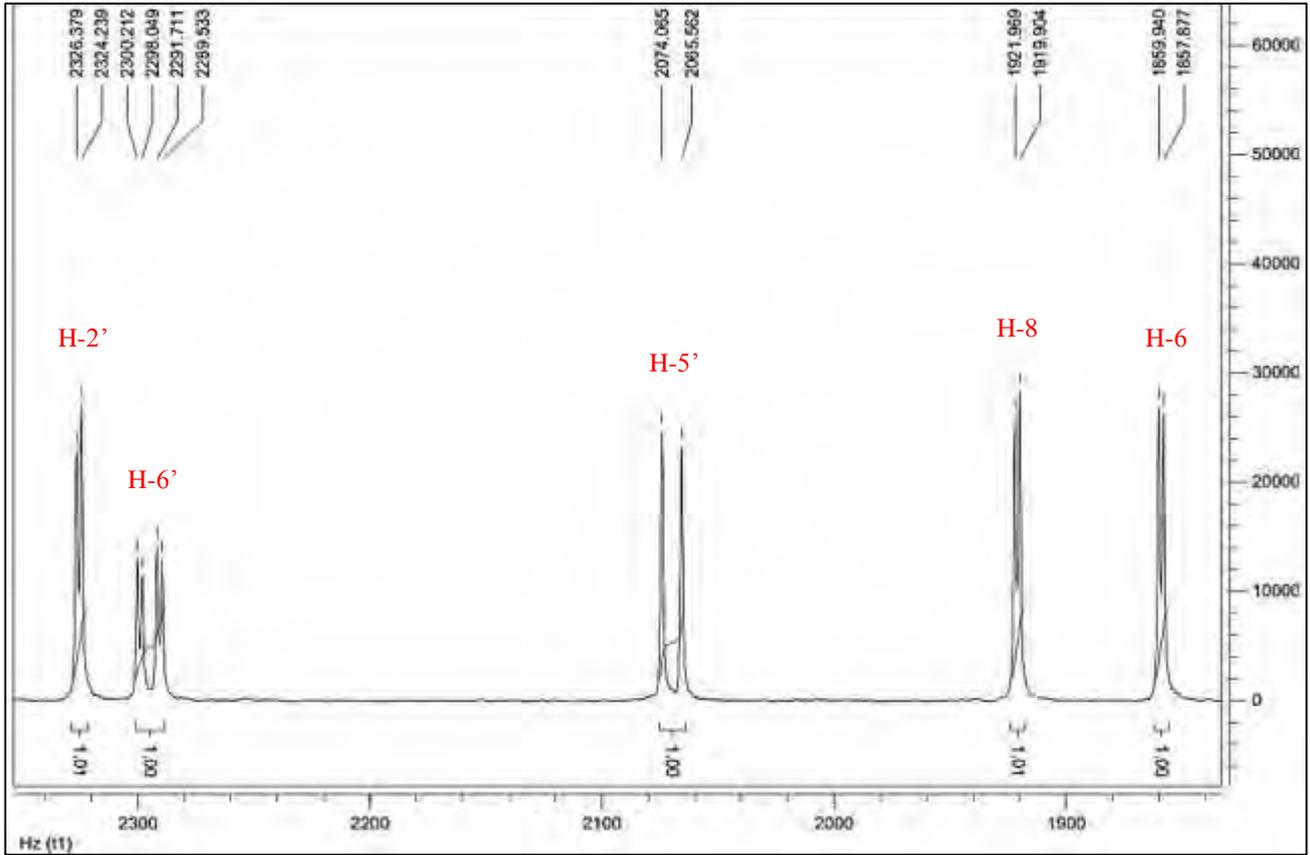
في ما يلي أطياف RMN-H¹ للمركب H607 المسجل في (CD₃OD-d₄):



الشكل 94: مطيافية ¹H RMN للمركب H607 المسجل في (CD₃OD-d4)



الشكل 95: مطيافية ¹H RMN للمركب H607 تكبير في المجال [6.1ppm-7.8ppm]

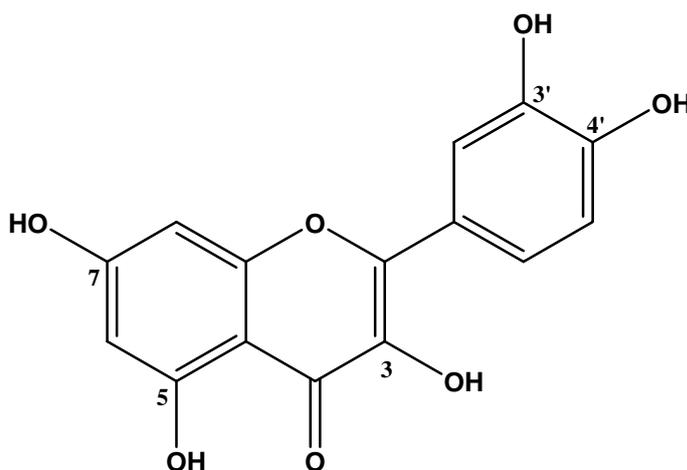


الشكل 96: مطيافية ^1H -RMN للمركب H607 تكبير في المجال [1850Hz-2350Hz]

التعليق:

- ◀ اللون الإستشعاعي للمركب (أصفر) و قيمة العصابة I في طيف MeOH المقدره بـ 371 نم يدل على أن المركب فلافونول أي وجود OH في الموضع 3.
- إزاحة باثوكرمومية للعصابة I مقدره بـ 43 نم عند مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول دون تناقص في الشدة، تدل على وجود 4'-OH .
- ظهور قمة جديدة مقدره بـ 331 نم مع نفس الكاشف NaOH تدل على وجود 7-OH. و يتأكد ذلك بالإزاحة المقدره بـ 4 نم للعصابة II عند مقارنة طيف NaOAc مع الميثانول.
- الإزاحة الباثوكرمومية للعصابة I و المقدره بـ 16 نم و هذا عند مقارنة طيف $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$ مع الميثانول تدل على وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3'-OH,4'-OH) .
- الإزاحة الهيسوكرمومية للعصابة I دائما و المقدره بـ 16 نم عند مقارنة طيف AlCl_3 مع طيف $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ تؤكد وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .
- و نستدل على وجود 5-OH من مقارنة طيف $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ بطيف الميثانول حيث نلاحظ إزاحة باثوكرمومية قدرها 58 نم. وكذلك تأكد وجود 3-OH .

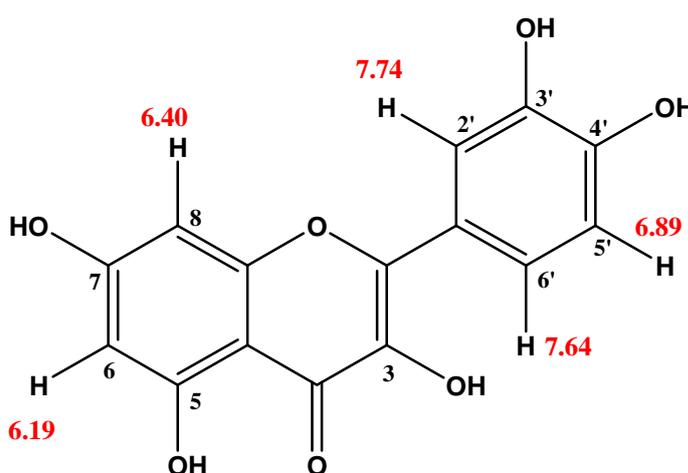
من هذه المعطيات نحصل على الصيغة الابتدائية التالية:



الشكل 97: الصيغة الأولية للمركب H607

النتائج في طيف البروتون تكون كالآتي:

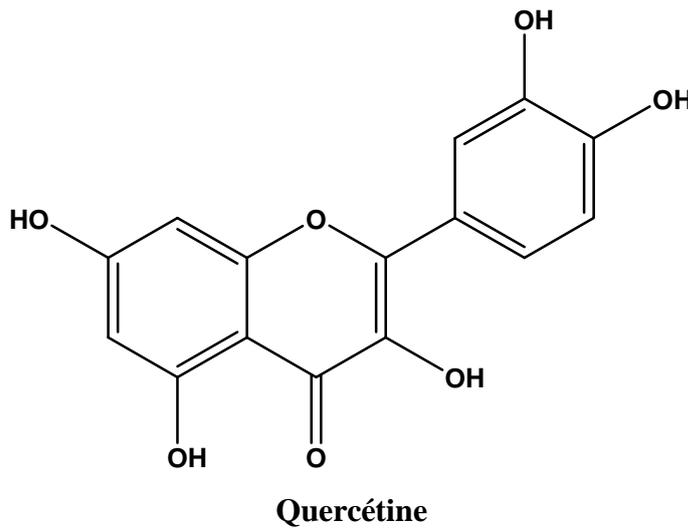
- إشارة ثنائية عند 7.74 ppm ($J=2.2$ Hz) وهي مميزة للبروتونين H-2'
- إشارة ثنائي ثنائي عند 7.64 ppm ($J=8.5, 2.2$ Hz) وهي مميزة للبروتون H-6'
- إشارة ثنائية عند 6.89 ppm ($J=8.5$ Hz) وهي مميزة للبروتون H-5'
- إشارة ثنائية عند 6.40 ppm ($J=2.1$ Hz) وهي مميزة للبروتون H-8
- إشارة ثنائية عند 6.19 ppm ($J=2.1$ Hz) وهي مميزة للبروتون H-6



الشكل 98: تعيين الإزاحات الكيميائية للبروتون للمركب H607

الاستنتاج: <

- انطلاقاً من القيمة (m/z 302) و الصيغة العامة للمركب $C_{15}H_{10}O_7$ المستوحات من مطيافية الكتلة.
- وكذلك الصيغة المعطاة من CPG-MS المستوحاة من مقارنة العينة مع الشواهد و التي بينت أن المركب المعزول هو Quercétine.
- و إستناداً الى اللون الإستشعاعي (أصفر) و قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.
- و بالإضافة إلى كل قيم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون التي جاءت مؤكدة لكل النتائج السابقة كما هو موضح في جدول 31 للمعطيات و الشكلين 94 و 95.
- تم الاستخلاص و تأكيد أن المركب H607 هو: (3',4',3,5,7-pentahydroxyflavone) المعروف بالإسم: Quercétine.
- و قد تم مطابقة النتائج مع المرجع [1].



الشكل 99: الصيغة النهائية للمركب H607

[1]. Mouffok, S., Haba, H., Lavaud, C., Lavaud, C., Benkhaled, M. (2012). Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. & Trab. *Rec. Nat. Prod.* 6, 292-295.

التحليل البنيوي للمركب

H608

التحليل البنوي للمركب H608:

اللون الإستشعاعي:

الإستشعاع تحت الأشعة (UV) : بنفسجي.

❖ المعطيات الطيفية:

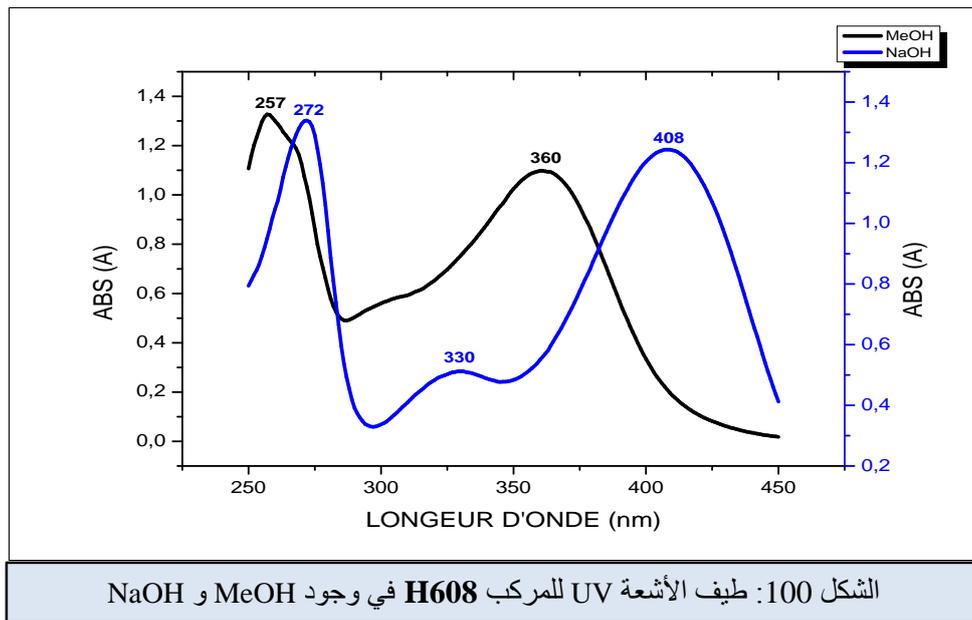
1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

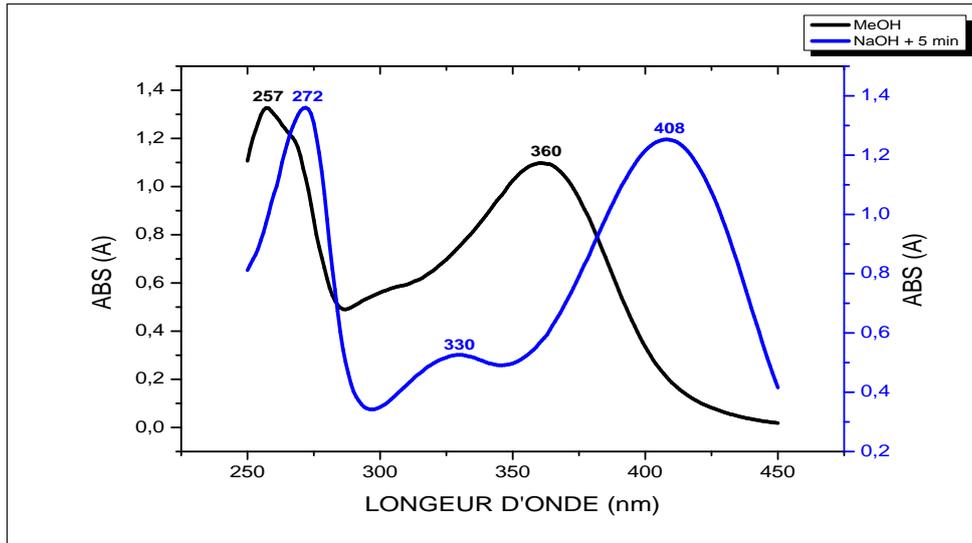
الجدول 32 : قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H608

الكواشف	العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	عصابات أخرى (نم)
MeOH	360	257	/
NaOH	408	272	330
NaOH + 5 min	408	272	330
AlCl ₃	422	268	/
AlCl ₃ + HCl	400	268	361
NaOAc	375	274	326
NaOAc + H ₃ BO ₃	379	262	/

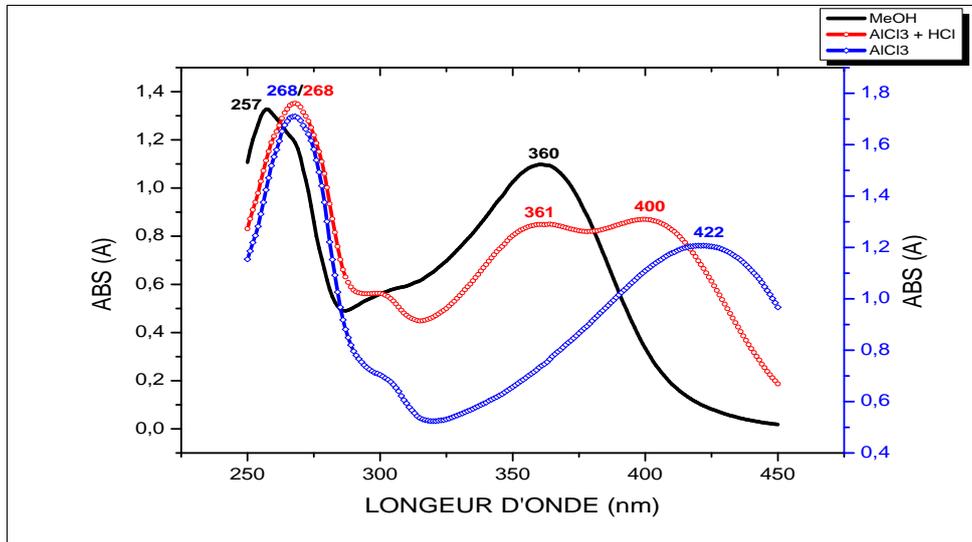
طيف NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر

و في ما يلي أطيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H608:

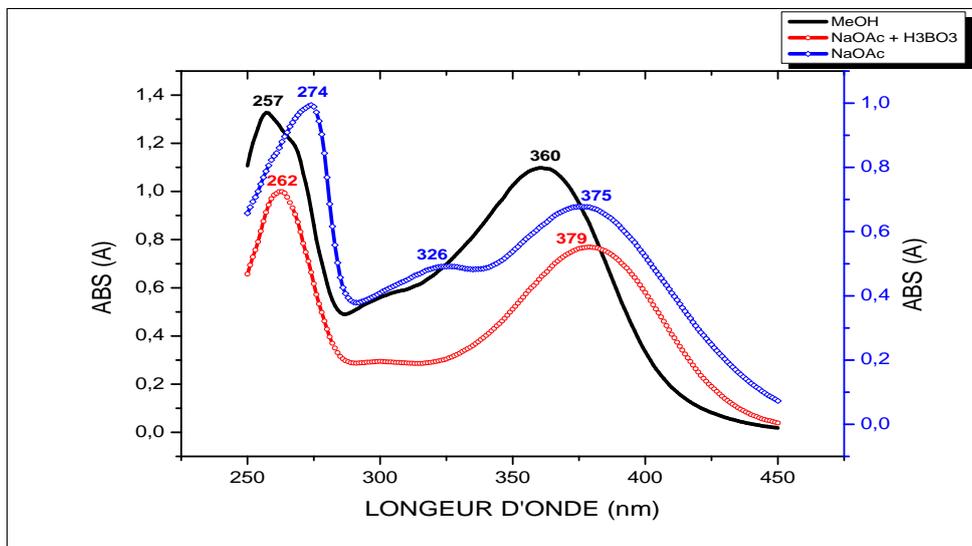




الشكل 101: طيف الأشعة UV للمركب H608 في وجود MeOH و NaOH+5min



الشكل 102: طيف الأشعة UV للمركب H608 في وجود MeOH و AlCl₃ و AlCl₃+HCl



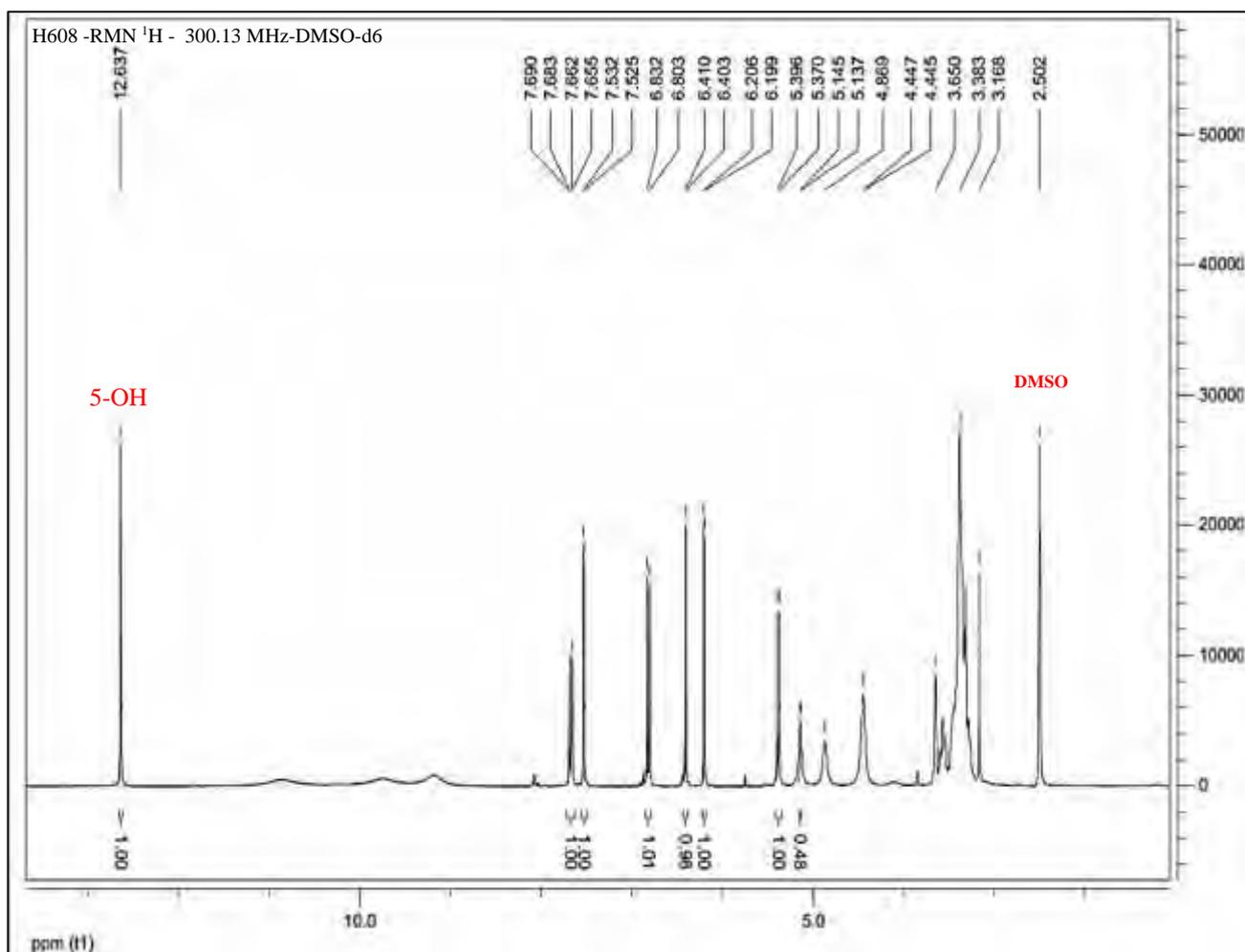
الشكل 103: طيف الأشعة UV للمركب H608 في وجود MeOH و NaOAc و NaOAc+H₃BO₃

3- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون:

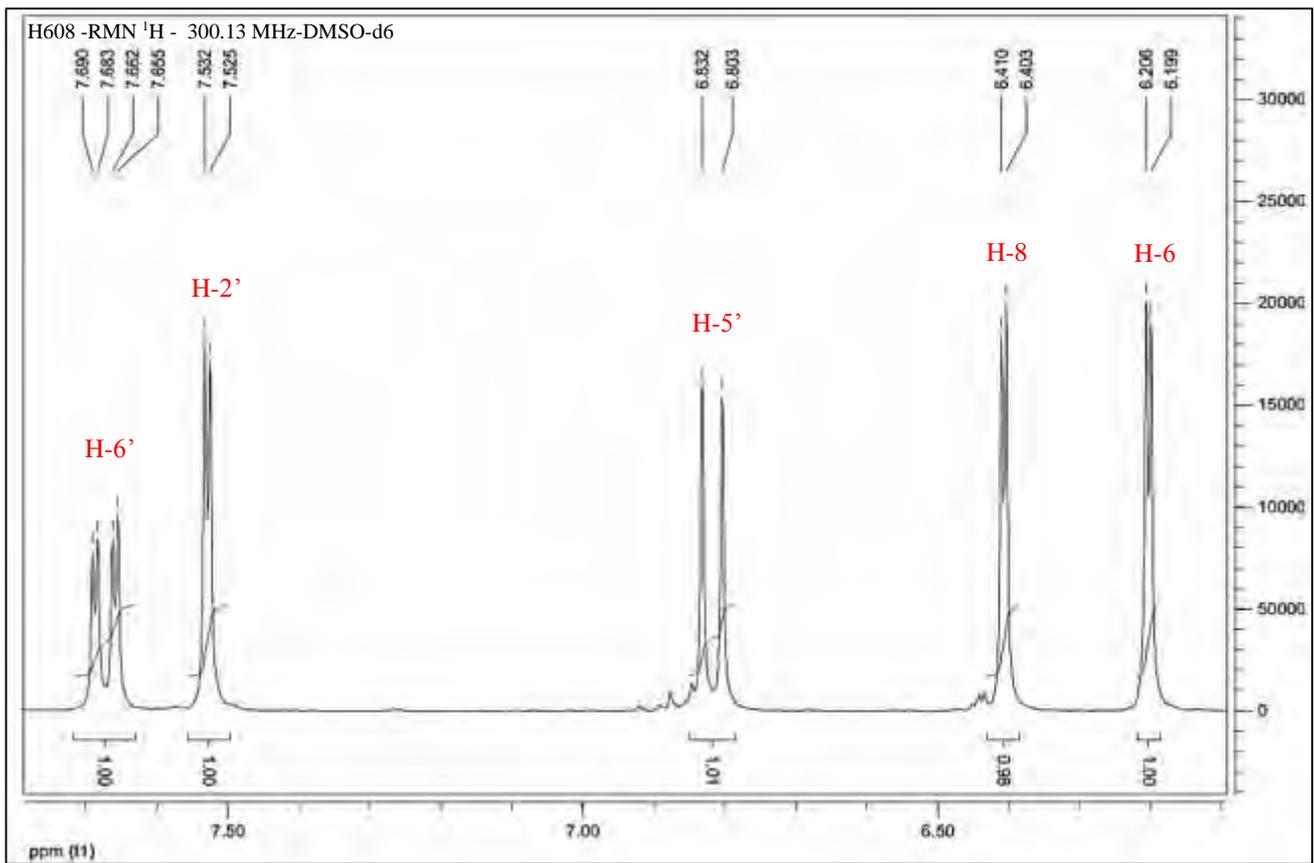
الجدول 33 : قيم (RMN ¹H 300 MHz) للمركب H608 في (DMSO-d6)

No.	δ H (J Hz)	δ C	DEPT	No.	δ H (J Hz)	δ C	DEPT
2		156.3	C	3'		144.7	C
3		133.4	CH	4'		148.4	C
4		177.4	C	5'	6.82 d (8.5)	115.1	CH
5	12.63 (5-OH)	161.1	C	6'	7.67 dd (8.5,2.2)	121.9	CH
6	6.20 d (2.0)	98.6	C	1''	5.38 d (7.6)	101.7	CH
7		164.1	C	2''		71.1	CH
8	6.41 d (2.0)	93.5	CH	3''		73.1	CH
9		156.2	C	4''		67.9	CH
10		103.8	C	5''		75.7	CH
1'		121.0	C	6''		60.1	CH ₂
2'	7.53 d (2.2)	115.9	CH				

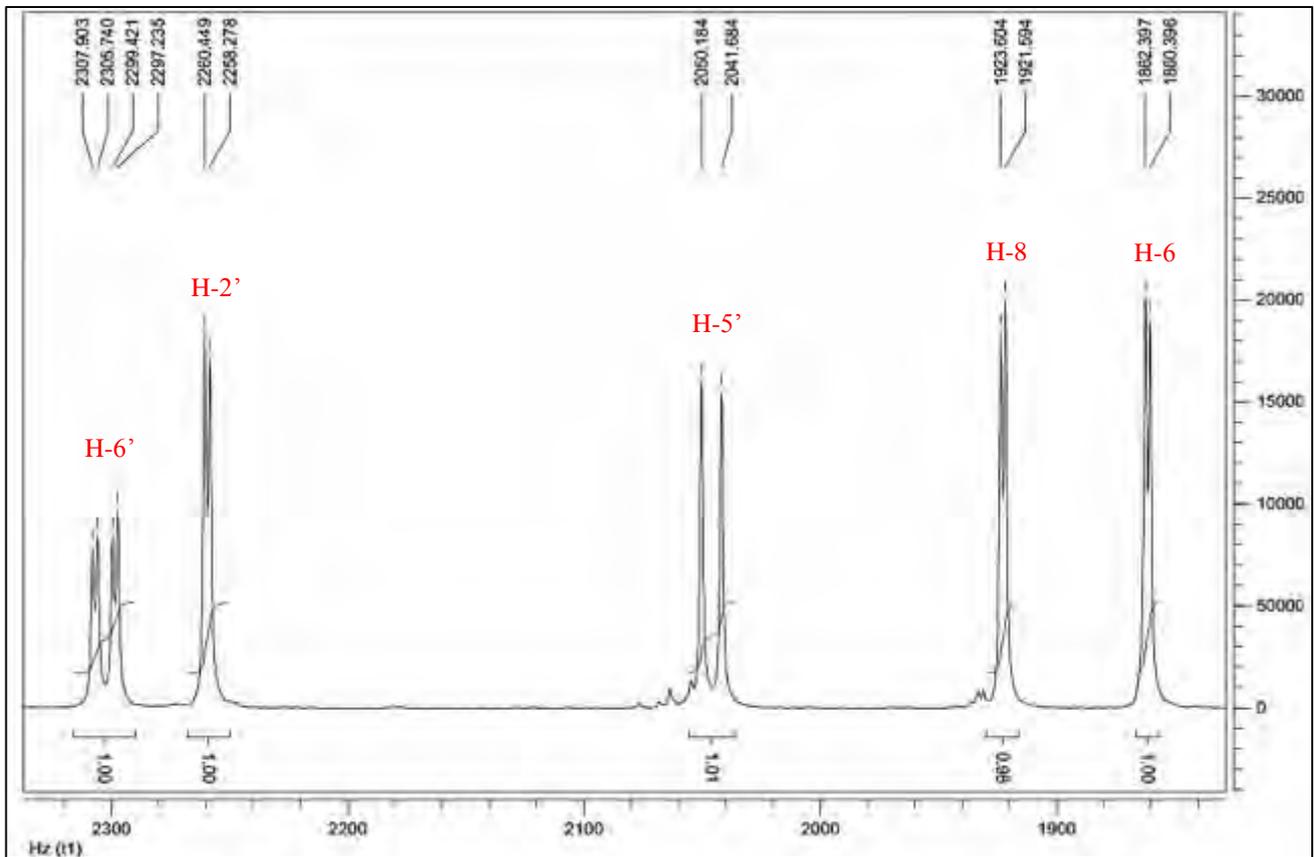
وفي ما يلي أطياف ¹H-RMN و ¹³C-RMN للمركب H608 المسجل في (DMSO-d6):



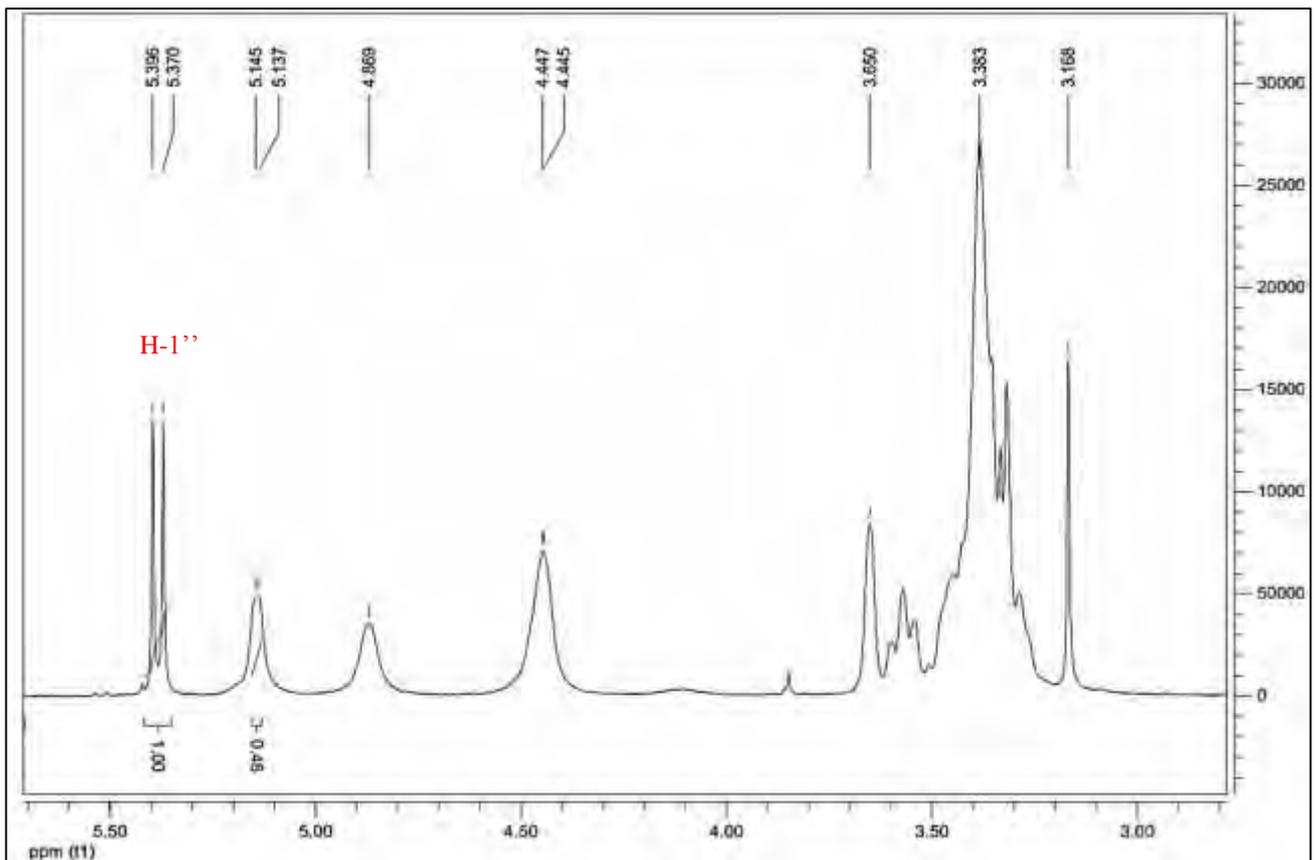
الشكل 104: مطيافية ¹H-RMN للمركب H608 المسجل في (DMSO-d6)



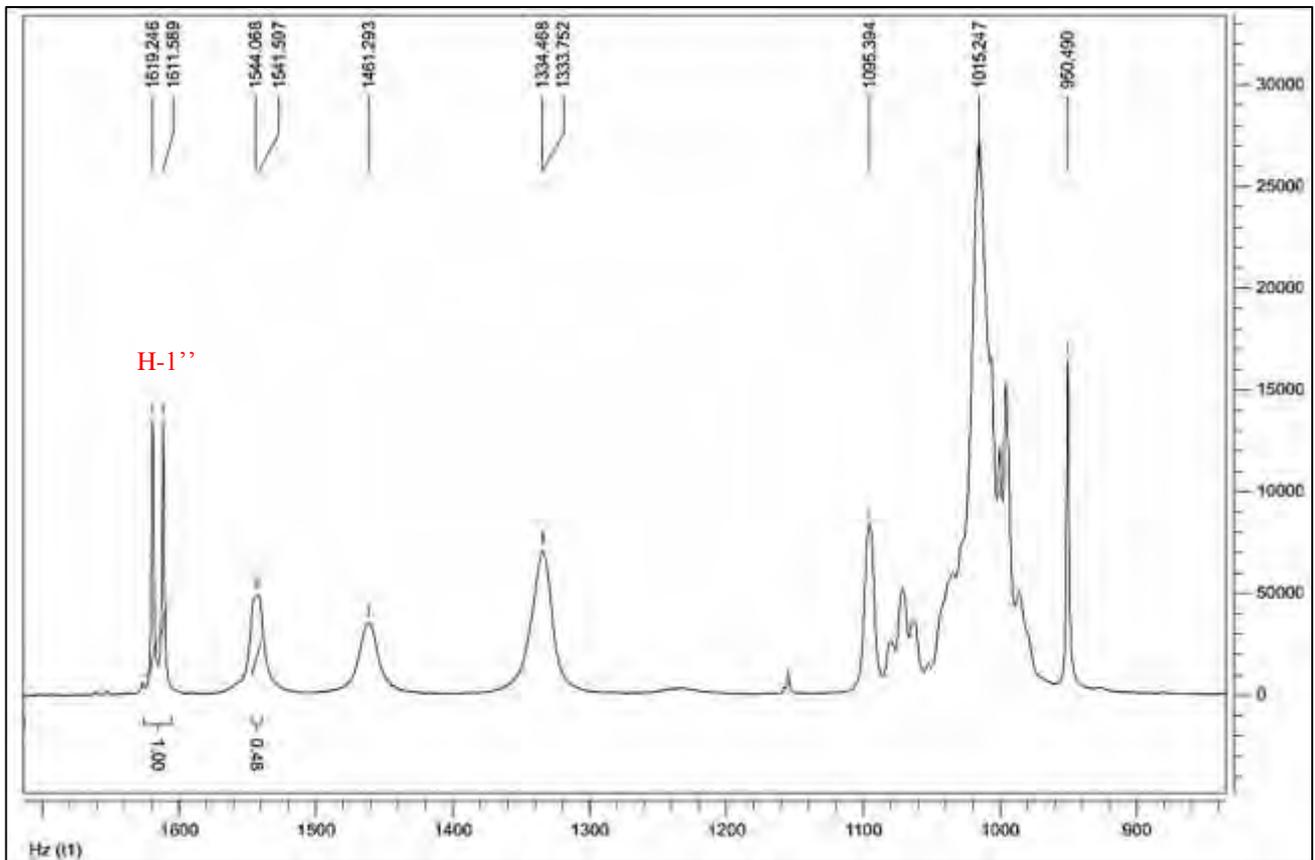
الشكل 105: مطيافية RMN-¹H للمركب H608 تكبير في المجال [6.1ppm-7.8ppm]



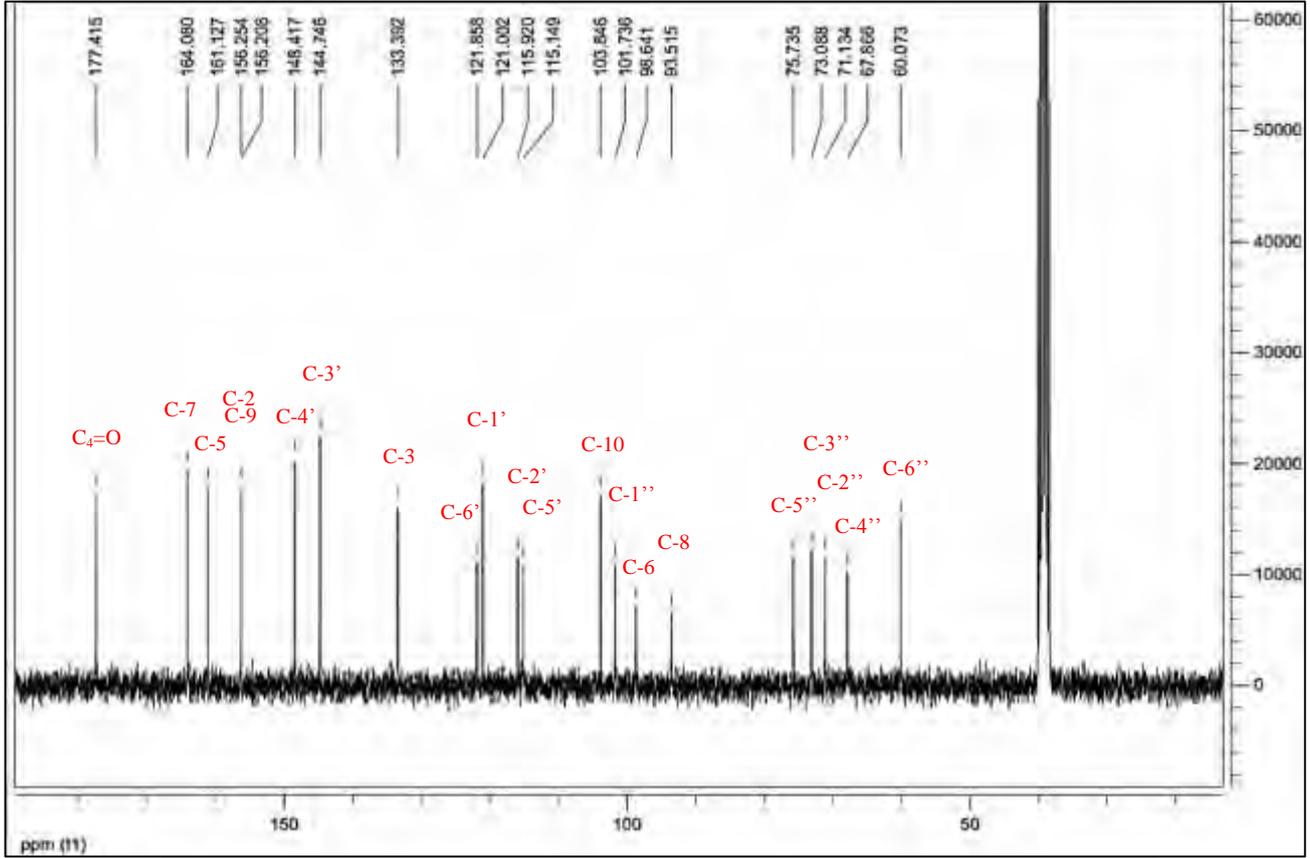
الشكل 106: مطيافية RMN-¹H للمركب H608 تكبير في المجال [1840Hz-2340Hz]



الشكل 107: مطيافية ^1H -RMN للمركب **H608** تكبير في المجال [2.8ppm-5.4ppm]



الشكل 108: مطيافية ^1H -RMN للمركب **H608** تكبير في المجال [840Hz-1700Hz]



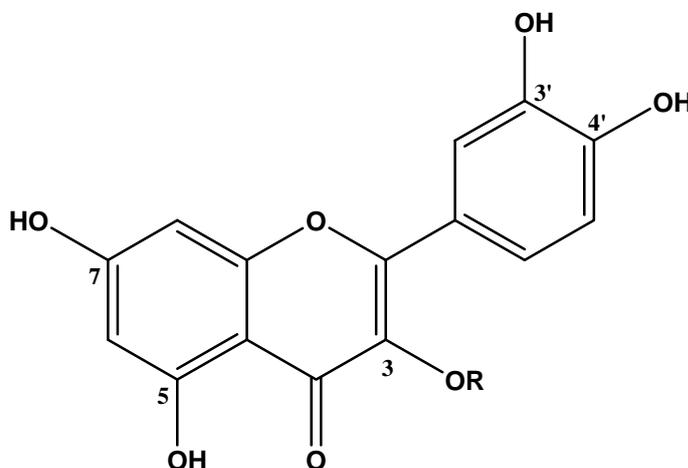
الشكل 109: مطيافية ¹³C-RMN للمركب H608 المسجل في (DMSO-d6)

التعليق: <

- اللون الإستشعاعي للمركب (بنفسجي) و قيمة العصابة I في طيف MeOH المقدره بـ 360 نم يدل على أن المركب فلافونول أي وجود OR في الموضع 3.
- إزاحة باثوكرومية للعصابة I مقدره بـ 48 نم عند مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول دون تناقص في الشدة، تدل على وجود 4'-OH .
- ظهور قمة جديدة مقدره بـ 330 نم مع نفس الكاشف NaOH تدل على وجود 7-OH. و يتأكد ذلك بالإزاحة المقدره بـ 17 نم للعصابة II عند مقارنة طيف NaOAc مع الميثانول.
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة I و المقدره بـ 19 نم و هذا عند مقارنة طيف NaOAc + H₃BO₃ مع الميثانول تدل على وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3'-OH,4'-OH) .
- الإزاحة الهبسوكرومية للعصابة I دائماً و المقدره بـ 22 نم عند مقارنة طيف AlCl₃ مع طيف AlCl₃ + HCl تؤكد وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .

و نستدل على وجود 5-OH من مقارنة طيف $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ بطيف الميثانول حيث نلاحظ إزاحة باثوكرومية قدرها 40 نم.

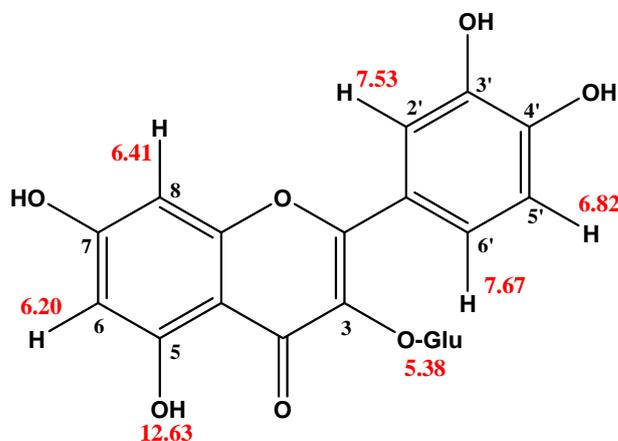
من هذه المعطيات نحصل على الصيغة الابتدائية التالية:



الشكل 110: الصيغة الأولية للمركب H608

النتائج في طيف البروتون تكون كالآتي:

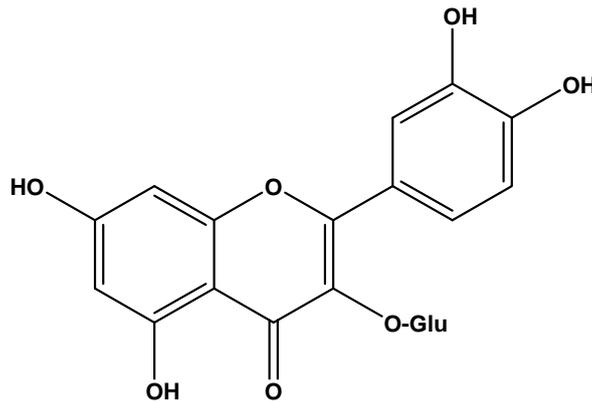
- إشارة ثنائي ثنائي عند 7.67 ppm ($J=8.5, 2.2 \text{ Hz}$) وهي مميزة للبروتونين H-6'.
- إشارة ثنائية عند 7.53 ppm ($J=2.2 \text{ Hz}$) وهي مميزة للبروتون H-2'.
- إشارة ثنائية عند 6.82 ppm ($J=8.5 \text{ Hz}$) وهي مميزة للبروتون H-5'.
- إشارة ثنائية عند 6.41 ppm ($J=2.0 \text{ Hz}$) وهي مميزة للبروتون H-8'.
- إشارة ثنائية عند 6.20 ppm ($J=2.0 \text{ Hz}$) وهي مميزة للبروتون H-6.
- إشارة ثنائية عند 5.38 ppm ($J=7.6 \text{ Hz}$) وهي مميزة للبروتون الأنوميري للغلوكوز H-1''.
- إشارة أحادية عند 12.63 ppm وهي مميزة لمجموعة الهيدروكسيل الموضع 5 (5-OH).



الشكل 111: تعيين الإزاحات الكيميائية للبروتون للمركب H608

■ الاستنتاج:

- و استنادا الى اللون الإستشعاعي (بنفسجي) و قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.
- طيف الكربون يبين وجود 21 ذرة كربون أي 15 ذرة للأجليكون و 6 ذرات مميزة للسكر.
- ظهور الإشارة الأحادية لهيدروكسيل في طيف البروتون الموضع 5-OH.
- وغياب الإشارة الأحادية المميزة لبروتون الموضع 3، يؤكد إرتباط السكر الغلوكوز مع الأجليكون في الموضع 3.
- و بالإضافة إلى كل قيم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون التي جاءت مؤكدة لكل النتائج السابقة كما هو موضح في جدول 33 للمعطيات و الشكلين 104 و 109.
- تم الاستخلاص و تأكيد أن المركب H608 هو: **Quercetin 3-O-glucoside**.
- تم مطابقة النتائج مع المرجع [1].



Quercetin 3-O-glucoside

الشكل 112: الصيغة النهائية للمركب H608

[1]. Jae, H.K., Bong, G.K., Jeong, H.K., Hojung, K., Chae, E.L., Jun, L., Chan, L., Yoongho, L., Joong-Hoon, A. (2008). Four glucosyltransferases from rice: cDNA cloning, expression, and characterization. *Journal of Plant Physiology*. 165, 435-444.

التحليل البنيوي للمركب

H609

التحليل البنوي للمركب H609:

اللون الإستشعاعي:

الإستشعاع تحت الأشعة (UV) : بنفسجي.

❖ المعطيات الطيفية:

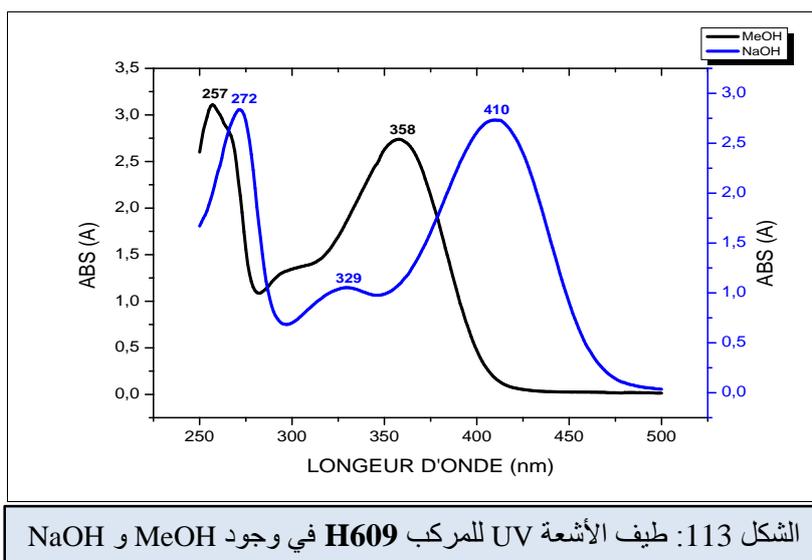
1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

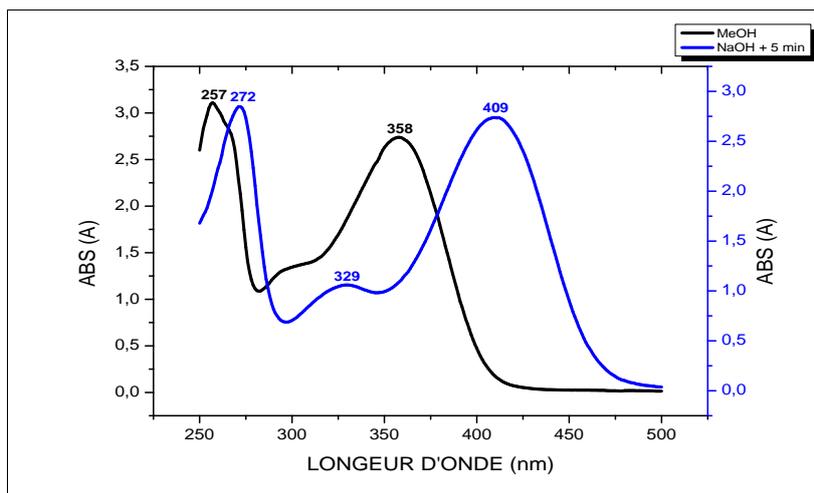
الجدول 34 : قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H609

الكواشف	العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	عصابات أخرى (نم)
MeOH	358	257	/
NaOH	410	272	329
NaOH + 5 min	409	272	329
AlCl ₃	394	264	/
AlCl ₃ + HCl	360	266	/
NaOAc	378	273	326
NaOAc + H ₃ BO ₃	379	262	299

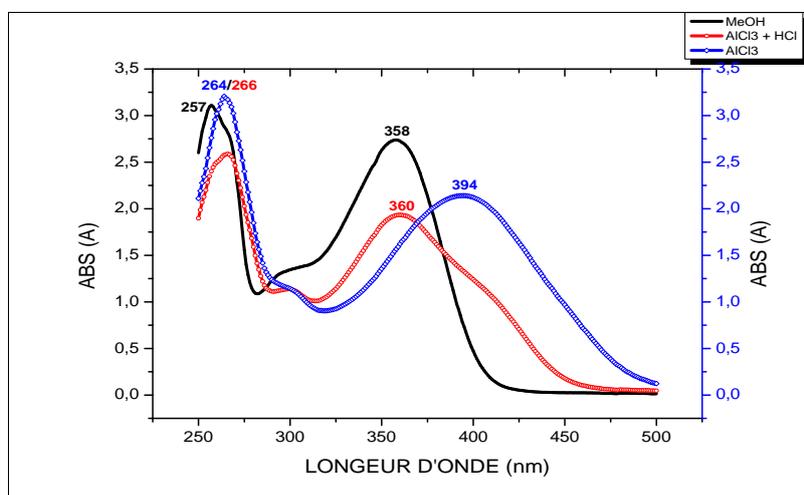
طيف NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر

و في ما يلي أطيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H609:

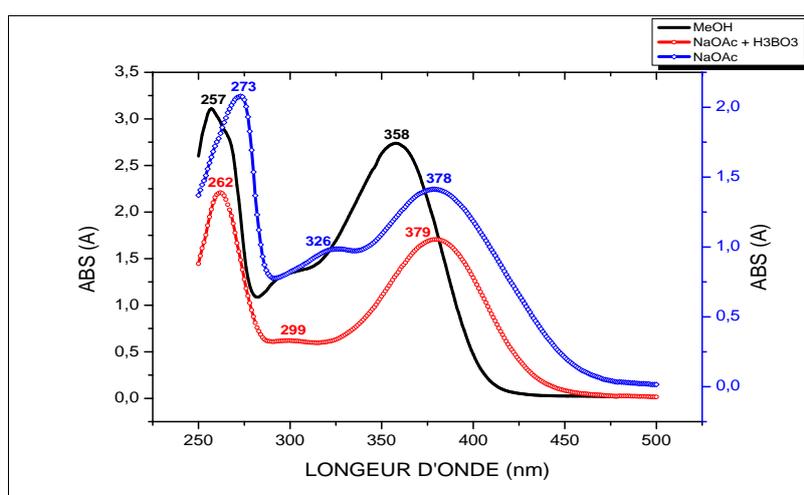




الشكل 114: طيف الأشعة UV للمركب H609 في وجود MeOH و NaOH+5min



الشكل 115: طيف الأشعة UV للمركب H609 في وجود MeOH و AlCl3 و AlCl3+HCl



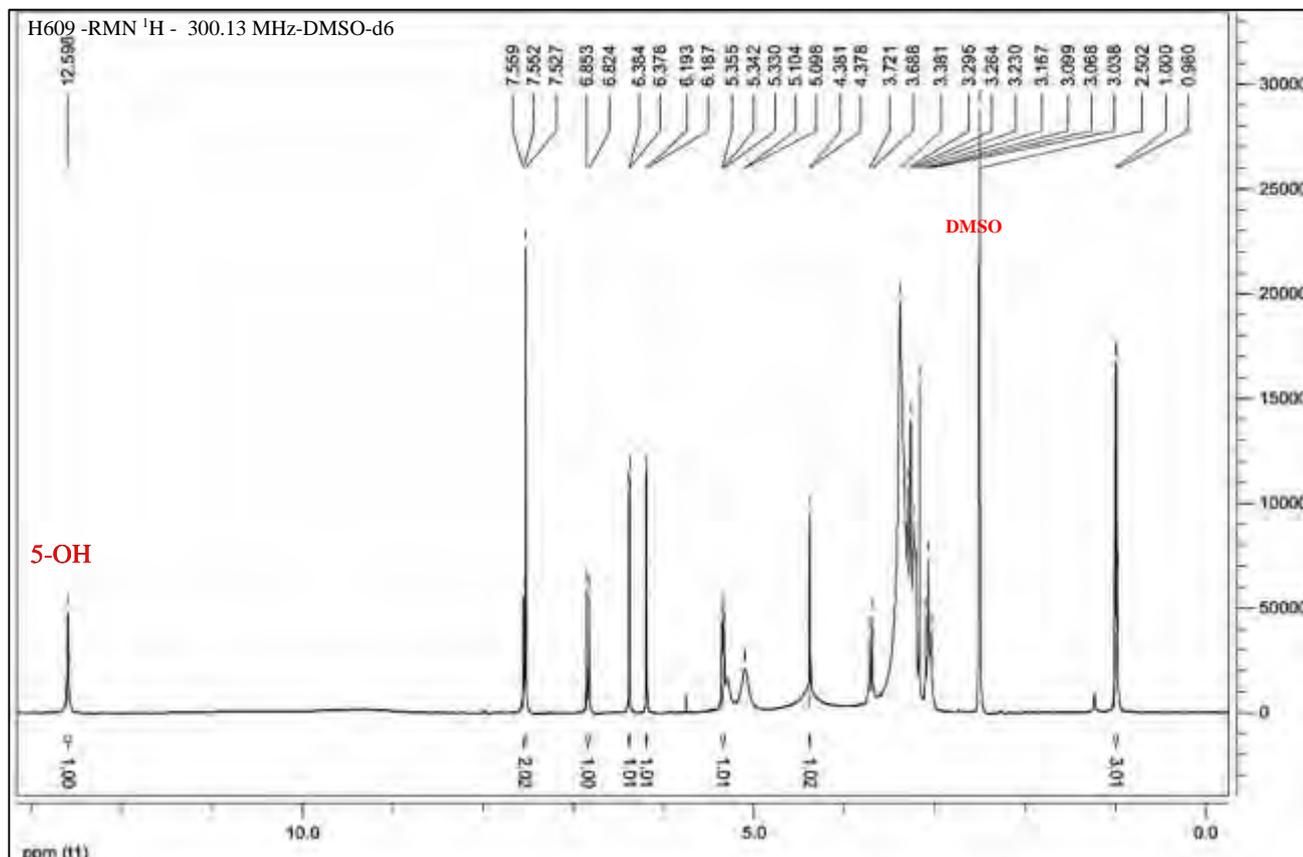
الشكل 116: طيف الأشعة UV للمركب H609 في وجود MeOH و NaOAc و NaOAc+H3BO3

2- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون:

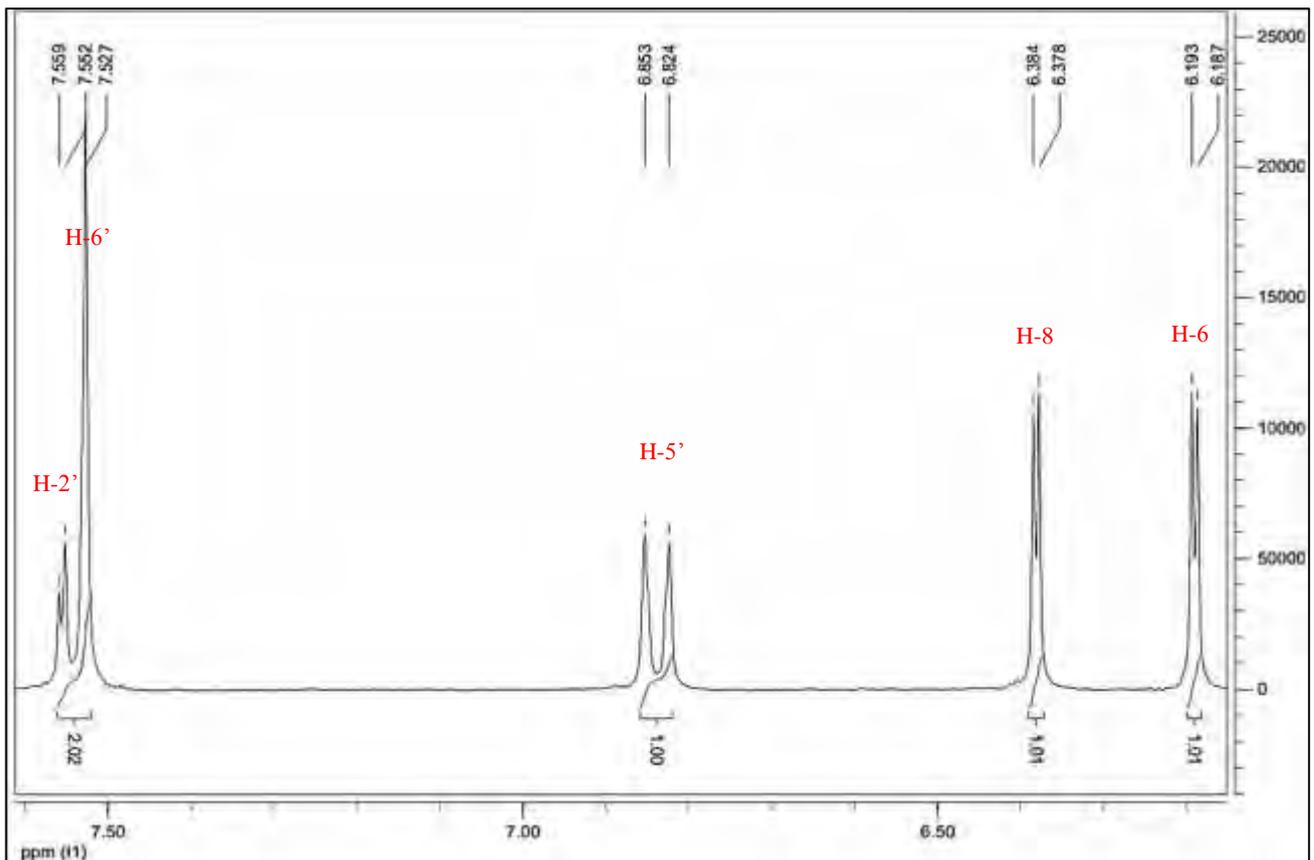
الجدول 35 : قيم (RMN ¹H 300 MHz) للمركب H609 في (DMSO-d6)

No.	δH (J Hz)	δC	DEPT	No.	δH (J Hz)	δC	DEPT
2		157.5	C	1''	5.34 d (7.4)	102.1	CH
3		134.2	C	2''		75.0	CH
4		178.3	C	3''		77.3	CH
5	12.59 (5-OH)	162.1	C	4''		71.5	CH
6	6.19 d (2.0)	99.6	C	5''		76.8	CH
7		165.0	C	6''		67.9	CH ₂
8	6.38 d (2.0)	94.5	CH	1'''	4.38 d (0.9)	101.7	CH
9		157.4	C	2'''		71.3	CH
10		104.9	C	3'''		70.9	CH
1'		122.1	C	4'''		72.8	CH
2'	7.55 d (2.0)	117.2	CH	5'''		69.2	CH
3'		145.7	C	6'''	0.99 d (6.1)	18.7	CH ₃
4'		149.3	C				
5'	6.83 d (8.8)	116.1	CH				
6'	7.52 m	122.5	CH				

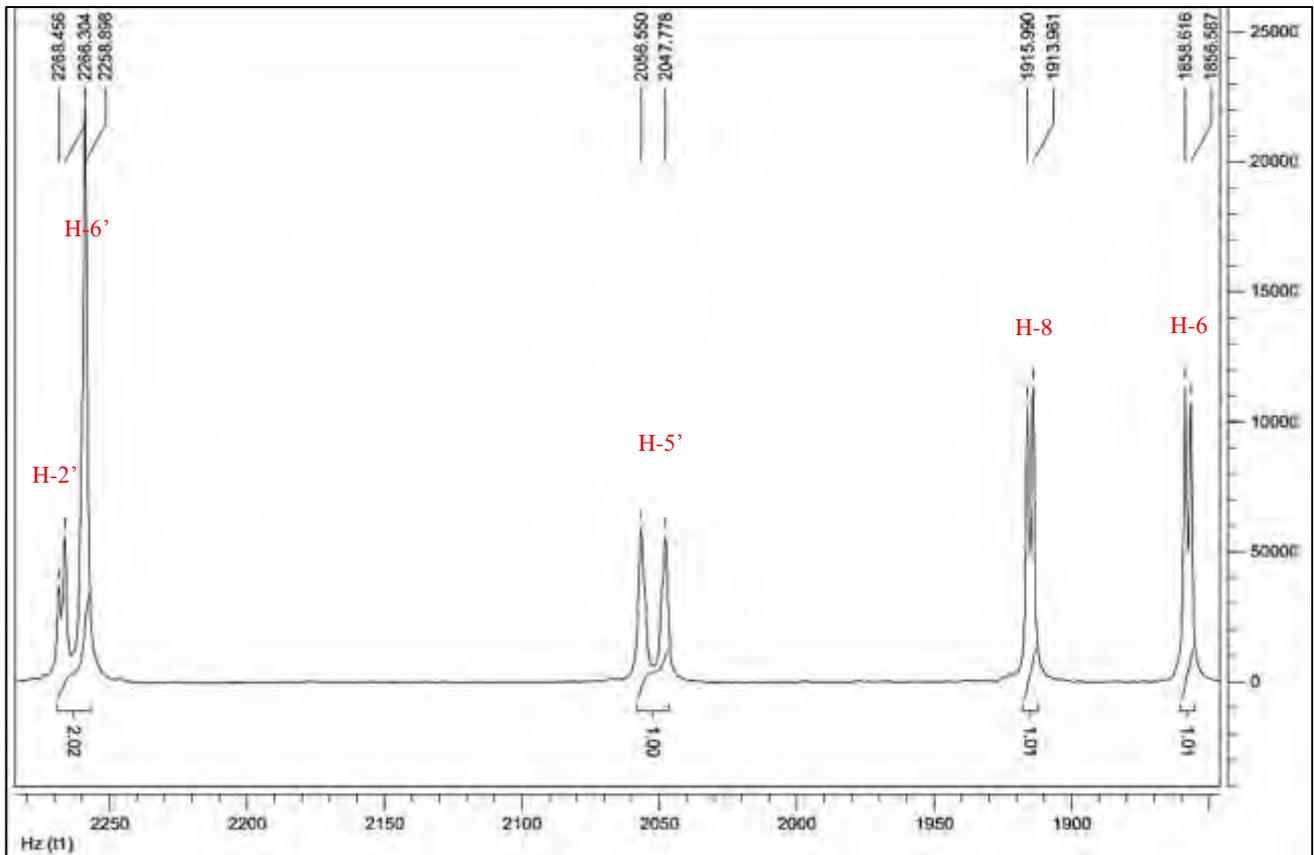
وفي ما يلي أطيف RMN-H¹ و RMN-C¹³ للمركب H609 المسجل في (DMSO-d6):



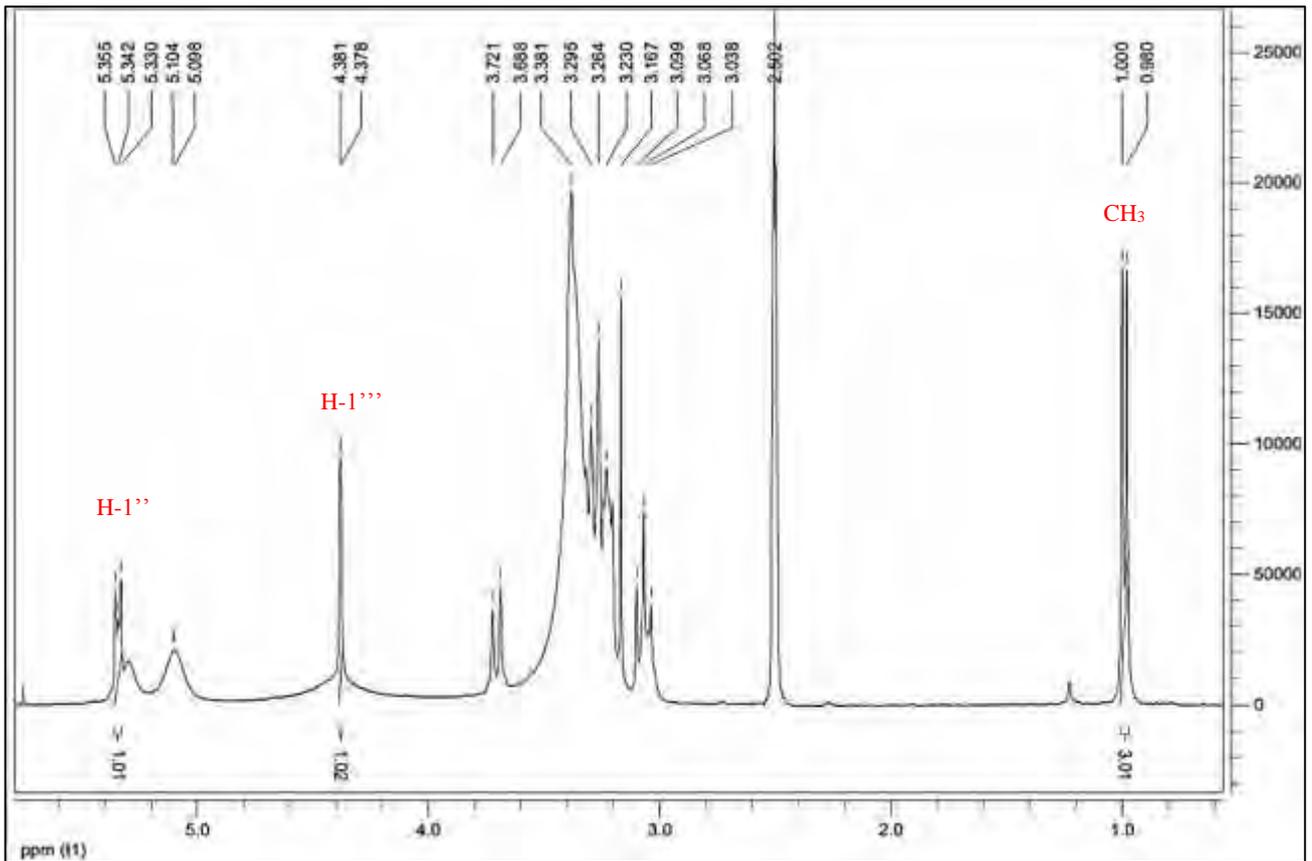
الشكل 117: مطيافية RMN-¹H للمركب H609 المسجل في (DMSO-d6)



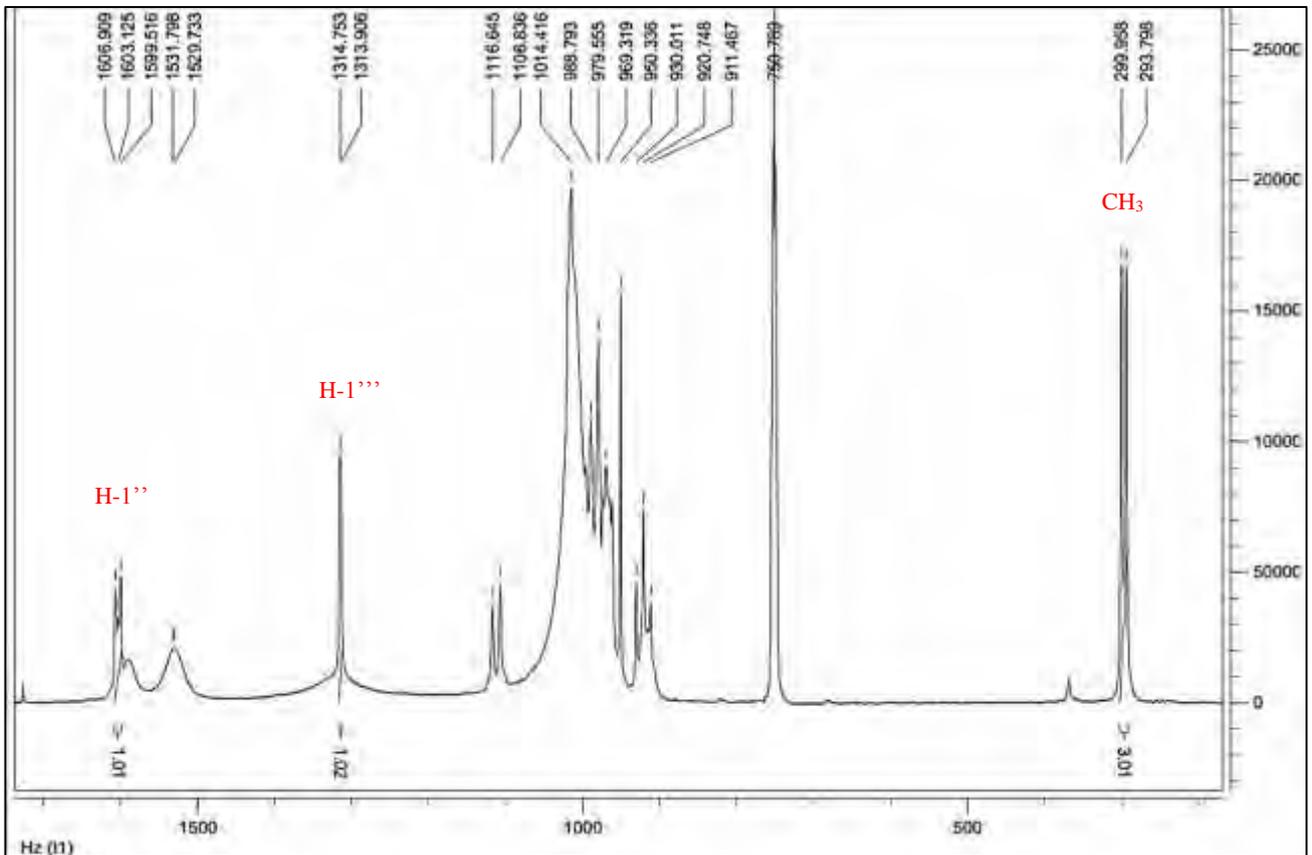
الشكل 118 : مطيافية ^1H RMN للمركب H609 تكبير في المجال [6.1ppm-7.6ppm]



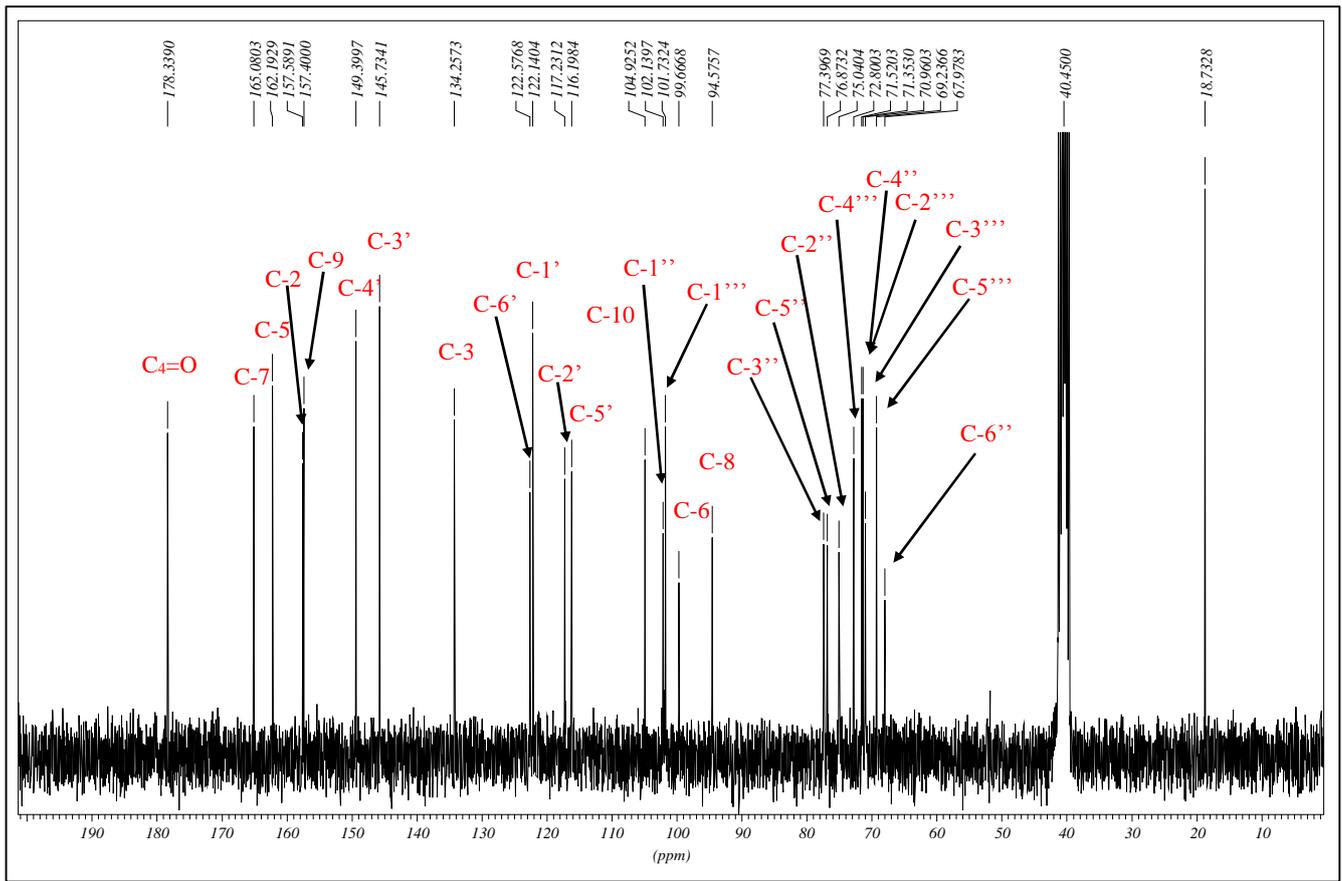
الشكل 119 : مطيافية ^1H RMN للمركب H609 تكبير في المجال [1850Hz-2280Hz]



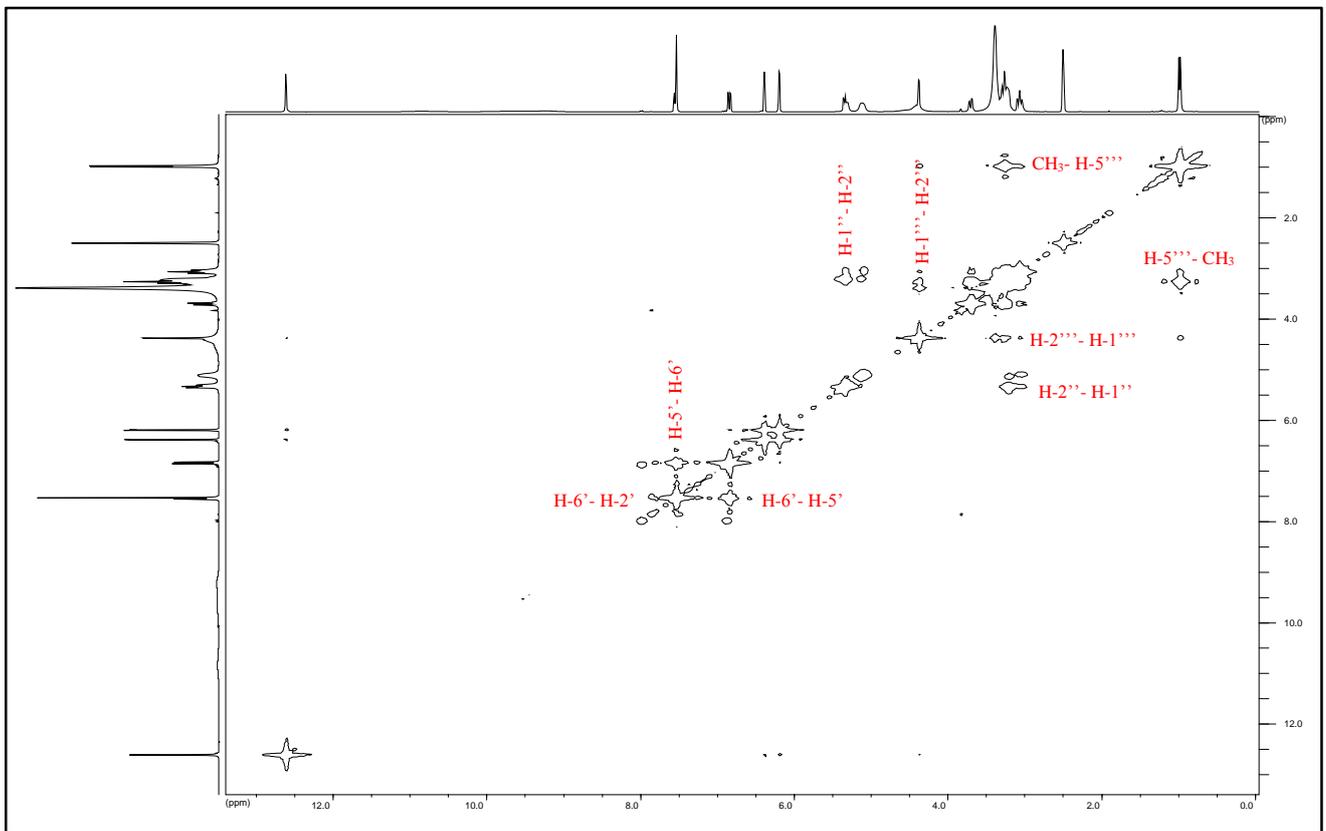
الشكل 120: مطيافية ^1H RMN للمركب H609 تكبير في المجال [0.8ppm-5.8ppm]



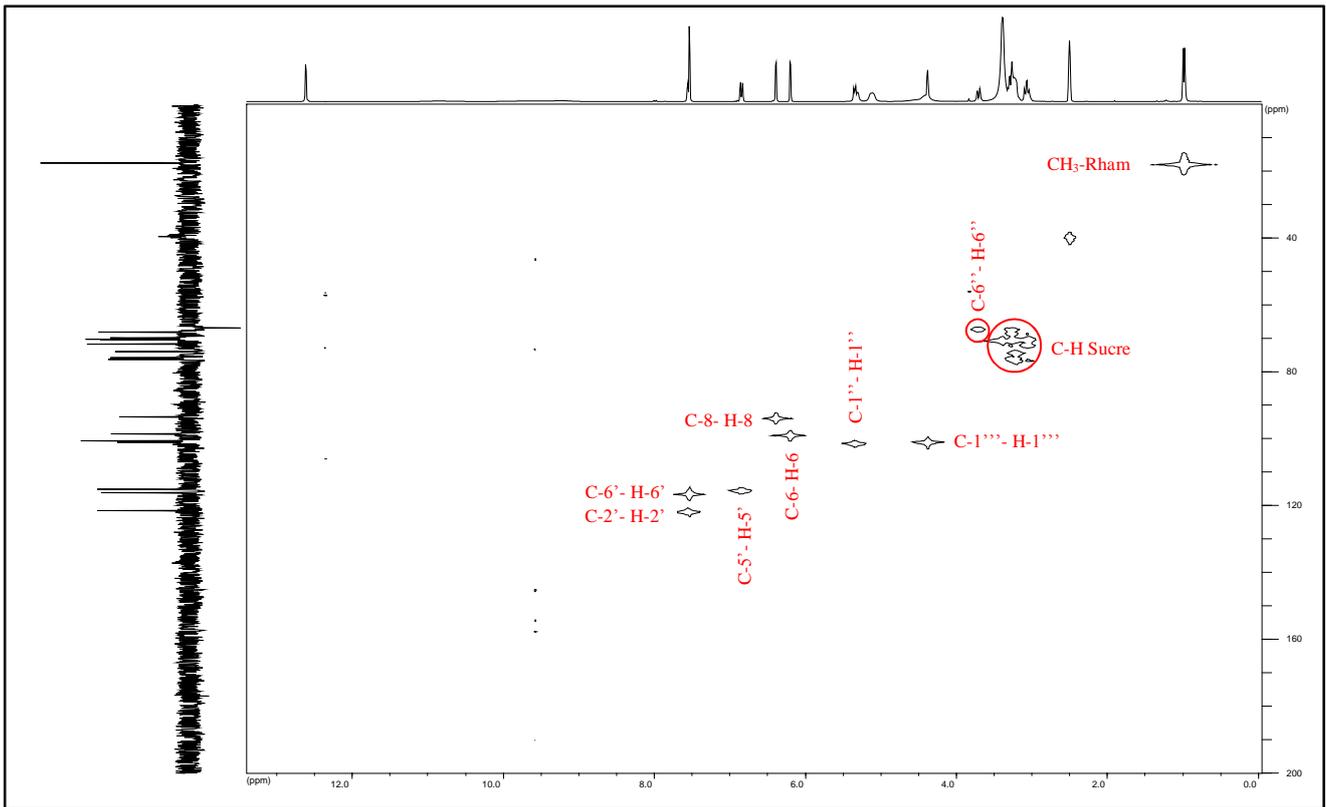
الشكل 121: مطيافية ^1H RMN للمركب H609 تكبير في المجال [200Hz-1700Hz]



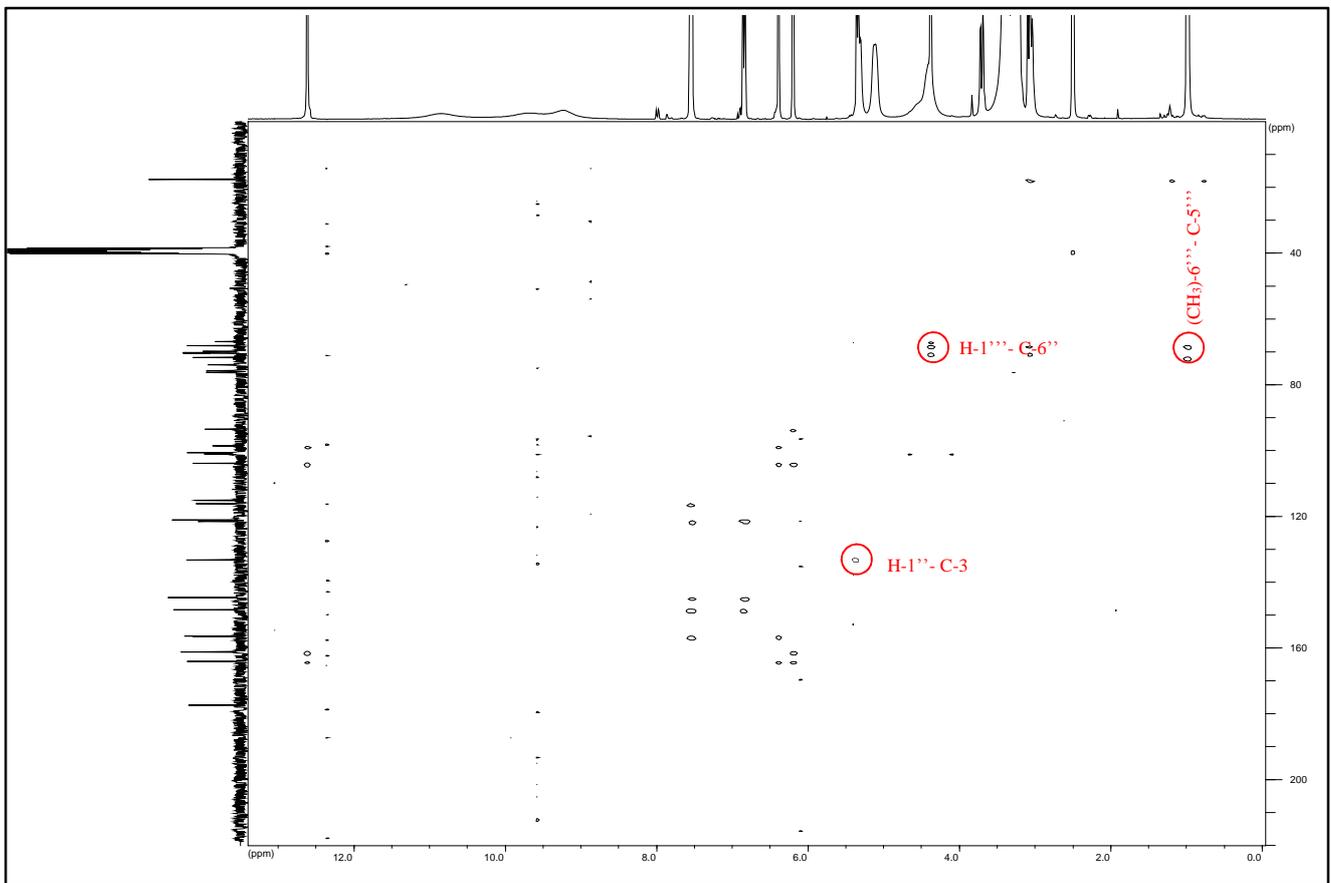
الشكل 122: مطيافية ^{13}C RMN للمركب H609 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 123: مطيافية Cosy للمركب H609 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 124: مطيافية HMQC للمركب H609 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 125: مطيافية HMBC للمركب H609 المسجل في (DMSO-d6)

3- الحملة الحمضية:



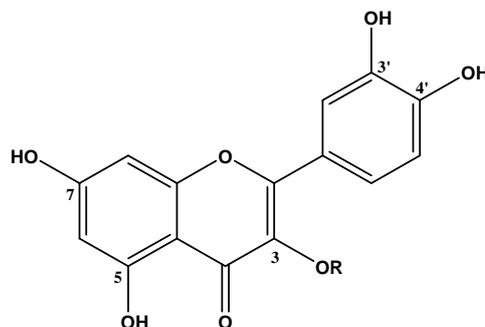
الشكل 126: الحملة الحمضية للمركب H609

أظهرت الحملة الحمضية للمركب H609 بالمقارنة مع الشواهد احتوائه على سكرين الجلوكوز والرامنوز.

التعليق: <

- اللون الإستشعاعي للمركب (بنفسجي) و قيمة العصابة I في طيف MeOH المقدر بـ 358 نم يدل على أن المركب فلافونول أي وجود OR في الموضع 3.
- إزاحة باثوكرومية للعصابة I مقدر بـ 52 نم عند مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول دون تناقص في الشدة، تدل على وجود 4'-OH .
- ظهور قمة جديدة مقدر بـ 329 نم مع نفس الكاشف NaOH تدل على وجود 7-OH. و يتأكد ذلك بالإزاحة المقدر بـ 16 نم للعصابة II عند مقارنة طيف NaOAc مع الميثانول.
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة I و المقدر بـ 21 نم و هذا عند مقارنة طيف NaOAc + H₃BO₃ مع الميثانول تدل على وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3'-OH,4'-OH) .

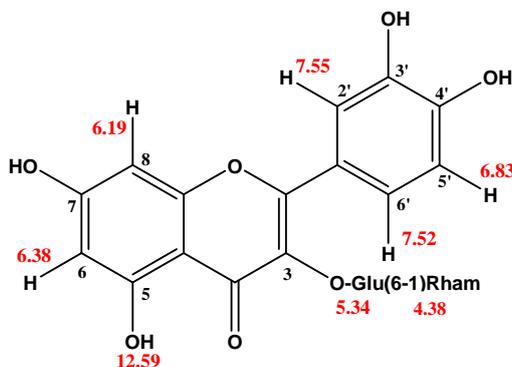
- الإزاحة الهيسوكرومية للعصابة I دائما و المقدره بـ 34 نم عند مقارنة طيف $AlCl_3$ مع طيف $AlCl_3 + HCl$ تؤكد وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .
- و نستدل على إمكانية وجود 5-OH من مقارنة طيف $AlCl_3 + HCl$ بطيف الميثانول حيث نلاحظ إزاحة باثوكرومية ضعيفة قدرها 2 نم.
- من هذه المعطيات (UV) نحصل على الصيغة الابتدائية التالية:



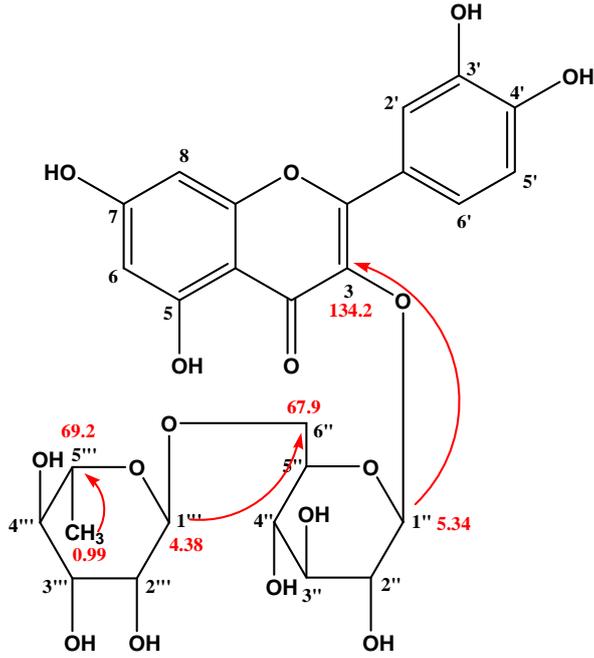
الشكل 127: الصيغة الأولية للمركب H609

- النتائج في طيف البروتون تكون كالآتي:

- إشارة ثنائية ($J=2.0$ Hz) عند 7.55 ppm وهي مميزة للبروتون H-2'
- إشارة متعددة عند 7.52 ppm وهي مميزة للبروتون H-6'
- إشارة ثنائية ($J=8.8$ Hz) عند 6.83 ppm وهي مميزة للبروتون H-5'
- إشارة ثنائية ($J=2.0$ Hz) عند 6.38 ppm وهي مميزة للبروتون H-8
- إشارة ثنائية ($J=2.0$ Hz) عند 6.19 ppm وهي مميزة للبروتون H-6
- إشارة ثنائية ($J=7.4$ Hz) عند 5.34 ppm وهي مميزة للبروتون الأنوميري للغلوكوز H-1''
- إشارة ثنائية ($J=0.9$ Hz) عند 4.38 ppm وهي مميزة للبروتون الأنوميري للرامنوز H-1'''
- إشارة ثنائية ($J=6.1$ Hz) عند 0.99 ppm وهي مميزة للمثيل الرامنوز في الموضع 6'''
- إشارة أحادية 12.59 ppm وهي مميزة لهيدروكسيل الموضع 5-OH.



الشكل 128: تعيين الإزاحات الكيميائية للبروتون للمركب H609



الشكل 129: تعيين التعلقات المستنتجة من طيف HMBC للمركب H609

من طيف HMBC نستخلص ما يلي:

- هناك تعلق بين البروتون الأنوميري للجلوكوز (H-1'', $\delta = 5.34$ ppm) مع كربون الموضع C-3 (C-3, $\delta = 134.2$ ppm).
- هناك تعلق بين البروتون الأنوميري للرامنوز (H-1''', $\delta = 4.38$ ppm) مع كربون الموضع C-6'' للجلوكوز (C-6'', $\delta = 67.9$ ppm).
- هناك تعلق بين البروتونات المثل للرامنوز (CH₃, $\delta = 0.99$ ppm) مع كربون الموضع C-5''' (C-5''', $\delta = 69.2$ ppm).
- ومنه نستخلص أن سكر الجلوكوز مرتبط بالأجليكون في الموضع 3 و سكر الرامنوز مرتبط بسكر الجلوكوز في الموضع 6''.

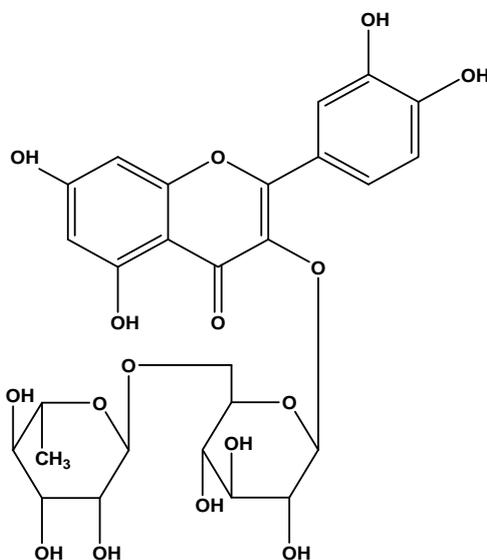
الاستنتاج:

- بالإستناد الى اللون الإستشعاعي (بنفسجي) و قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).
- من طيف الكربون يتبين وجود 27 ذرة كربون أي 15 ذرة للأجليكون و 12 ذرة مميزة للإتباط الهيكل الفلافونيدي بسكرين.
- و بالإضافة إلى قيم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون التي جاءت مؤكدة لكل النتائج كما هو موضح في جدول 35 للمعطيات و الأشكال 117 إلى 122.

- ومن خلال معطيات طيف HMBC يتأكد أن سكر الرامنوز مرتبط بسكر الجلوكوز في الموضع (6''- 1''') الذي يرتبط بدوره مع الأجليكون في الموضع 3.
- وجاءت الأطياف Cosy، HMQC، HMBC مؤكدة لبنية المركب.
- الحلمهة تؤكد وجود سكرين الجلوكوز والرامنوز.
- من كل هذه المعطيات تم الاستخلاص و تأكيد أن المركب H609 هو:

Quercetin-3-O-rhamnoglucoside (Rutin)

- تم مطابقة النتائج مع المرجع [1] و [2] و [3].



Quercetin-3-O-rhamnoglucoside (Rutin)

الشكل 130: الصيغة النهائية للمركب H609

-
- [1]. Yaqing, W., Bohang, S., Jian, H., Huiyuan, G., Lijun, W. (2007). A new flavonoid glycoside from the seeds of *Fagopyrum tataricum*. *Asian Journal of Traditional Medicines*. 2, 202-205.
- [2]. Jun, X.L., Duo, L.D., Yan, P.S. (2008). Diversity of Chemical Constituents from *Saxifraga montana* H. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 55, 863-870.
- [3]. Biruk, S., Kaleab, A., Raghavendra, Y., (2012). Radical scavenging activities of the leaf extracts and a flavonoid glycoside isolated from *Cineraria abyssinica* Sch. Bip. Exa. Rich. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2, 44-49.

التحليل البنيوي للمركب

H610

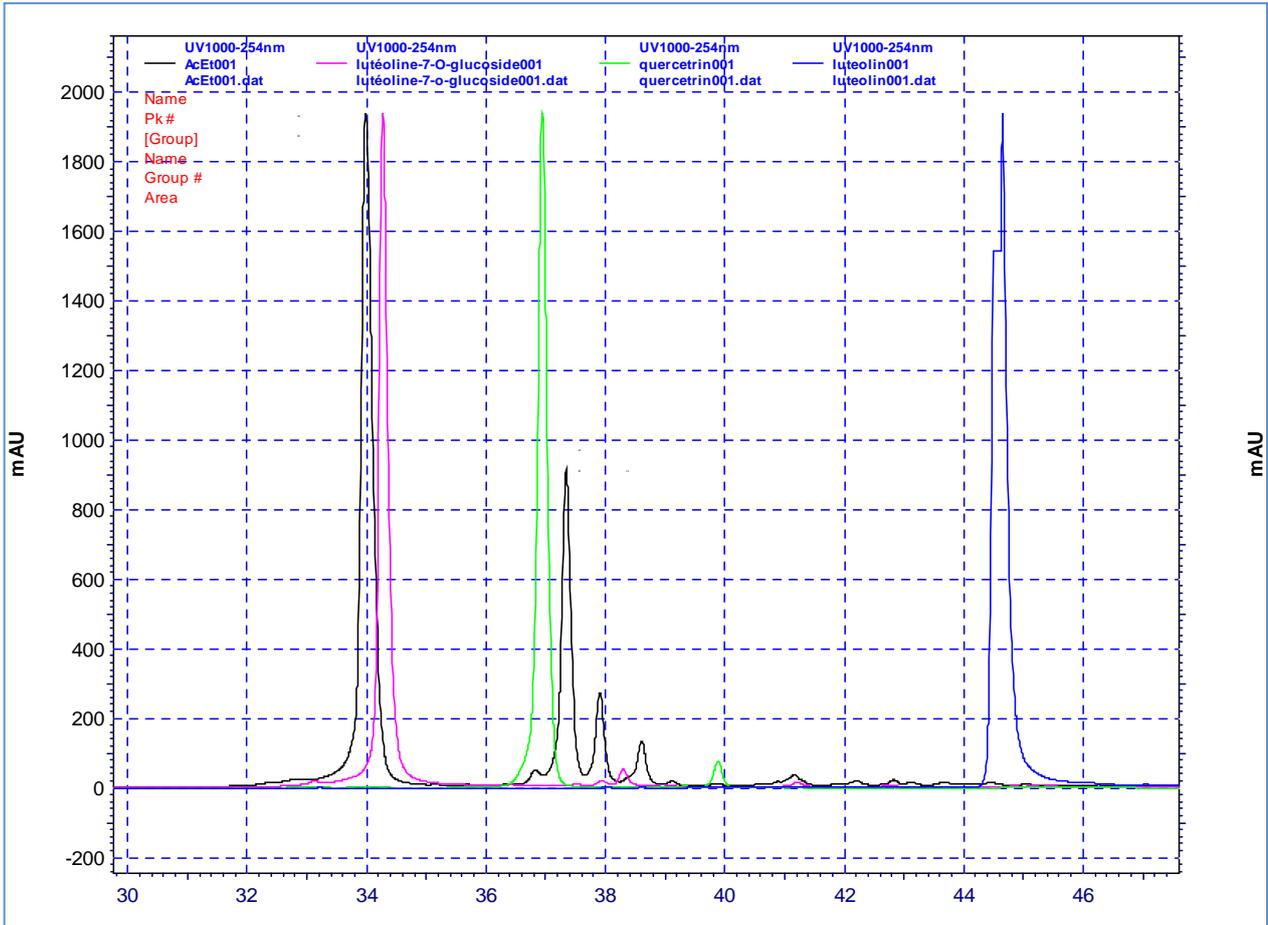
التحليل البنيوي للمركب H610:

اللون الإستشعاعي:

الإستشعاع تحت الأشعة (UV) : بنفسجي.

❖ المعطيات الطيفية:

1. كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC):



الشكل 130: كروماتوغرام HPLC للمركب H610 في وجود الشواهد

الجدول 36: الشروط المستعملة في عملية التحليل بقنية HPLC:

الوقت (min)	% CH ₃ CN	% H ₂ O	سرعة التدفق (ml/min)	طول موجة الكاشف (nm)
00	4	96	1	254
20	12	88	1	254
30	20	80	1	254
60	50	50	1	254

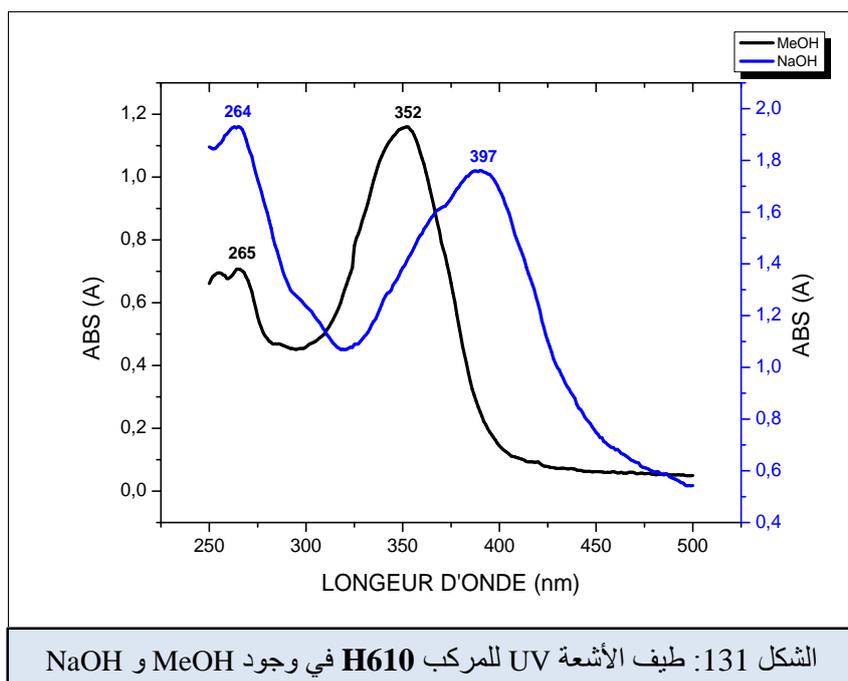
2. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

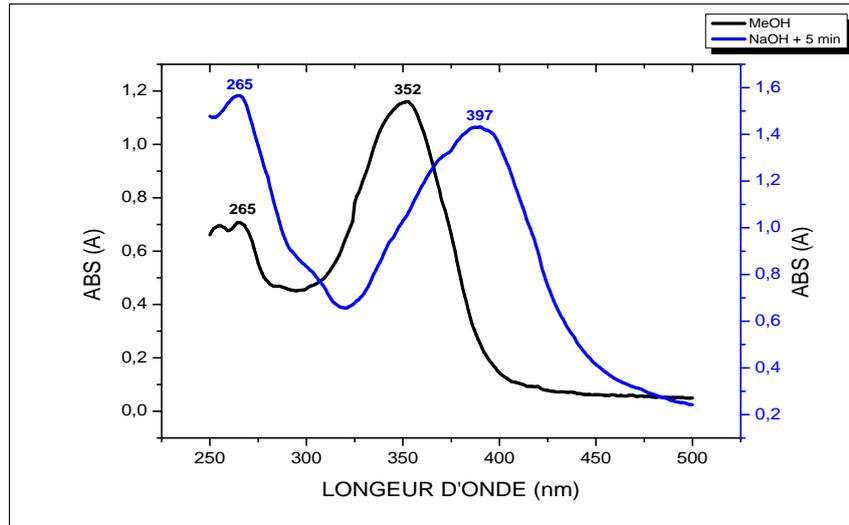
الجدول 37 : قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H610

الكواشف	العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	عصابات أخرى (نم)
MeOH	352	265	/
NaOH	397	264	/
NaOH + 5 min	397	265	/
AlCl ₃	421	272	/
AlCl ₃ + HCl	388	272	359
NaOAc	402	259	358
NaOAc + H ₃ BO ₃	372	259	/

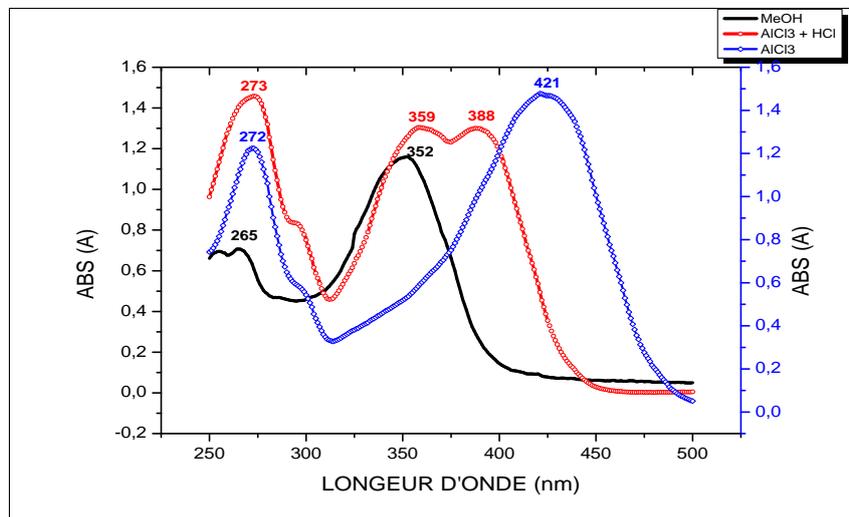
طيف NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر

و في ما يلي أطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H610:

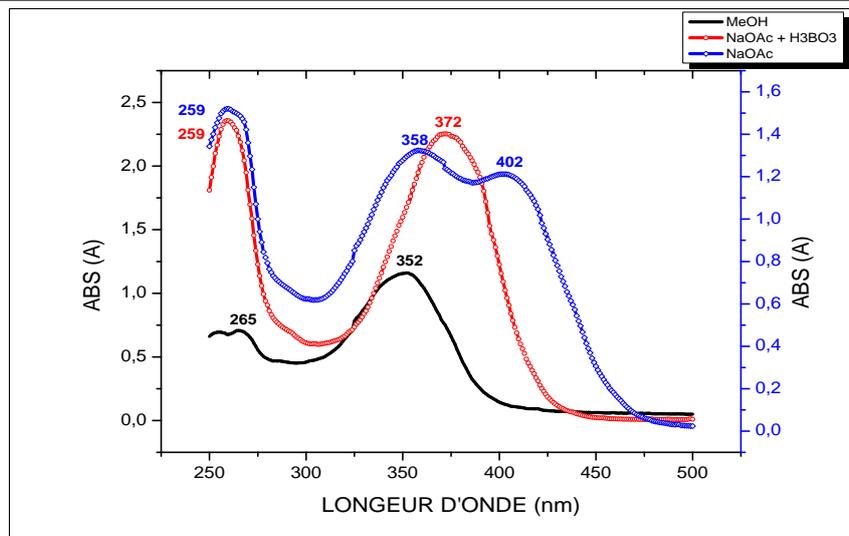




الشكل 132: طيف الأشعة UV للمركب H610 في وجود MeOH و NaOH+5min



الشكل 133: طيف الأشعة UV للمركب H610 في وجود MeOH و AlCl₃ و AlCl₃+HCl



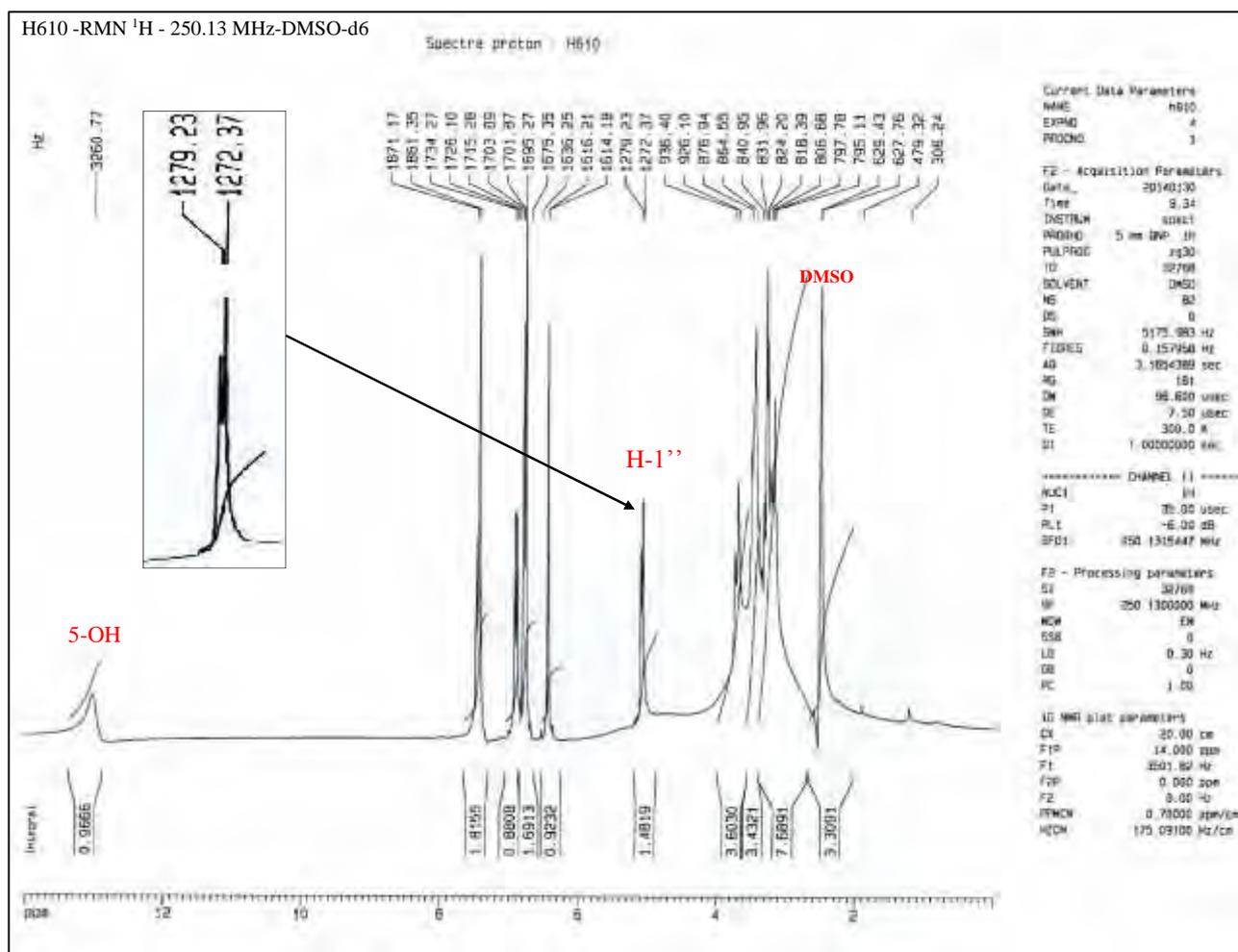
الشكل 134: طيف الأشعة UV للمركب H610 في وجود MeOH و NaOAc و NaOAc+H₃BO₃

3- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون:

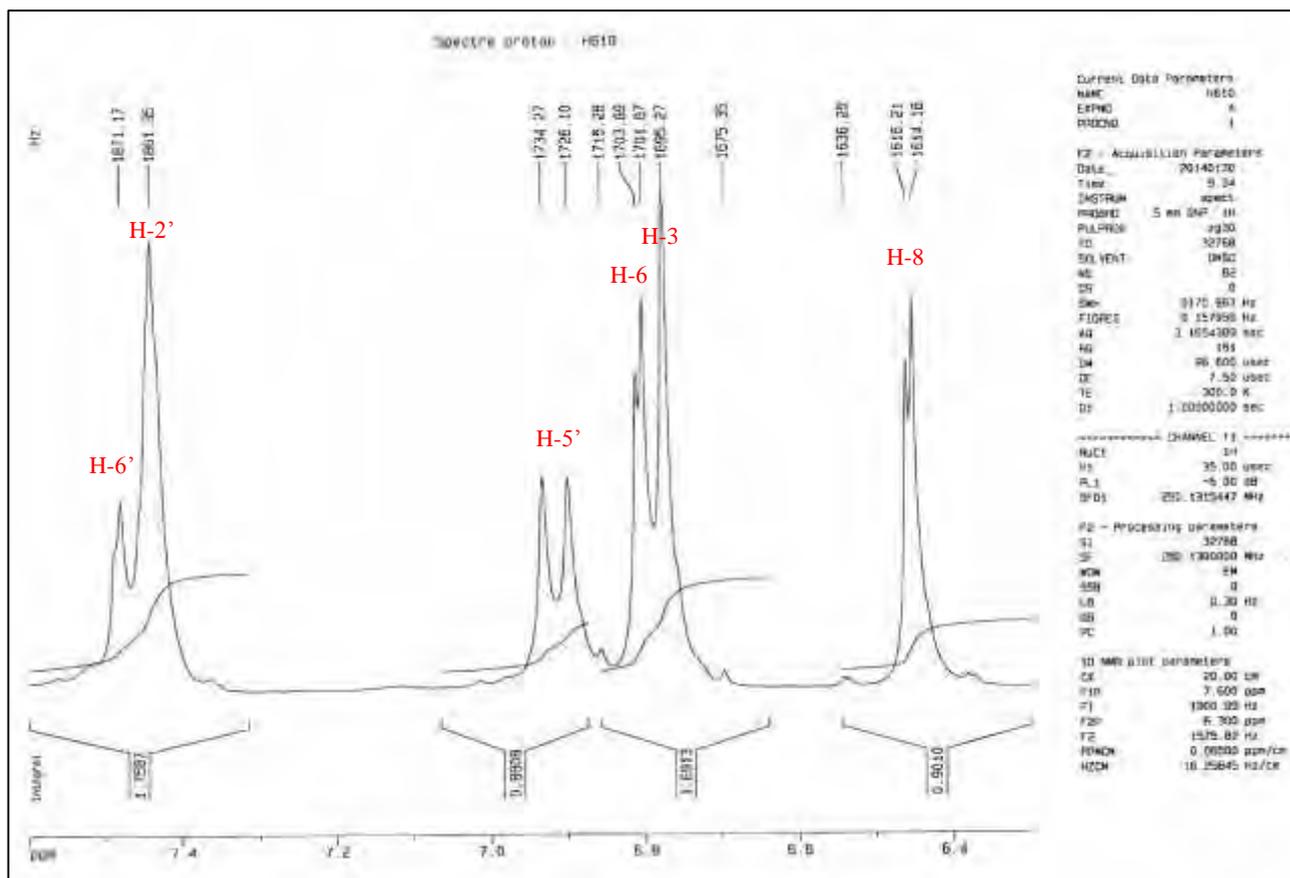
الجدول 38 : قيم (RMN ¹H 250.13 MHz) (RMN ¹³C 100 MHz) للمركب H610 في (DMSO-d6)

No.	δH (J Hz)	δC	DEPT	No.	δH (J Hz)	δC	DEPT
2		164.4	C	3'		145.8	C
3	6.78 s	103.1	CH	4'		150.0	C
4		181.9	C	5'	6.92 d (8.2)	116.0	CH
5	13.03 (5-OH)	161.1	C	6'	7.48 m	119.2	CH
6	6.80 d (2.0)	99.5	C	1''	5.10 d (6.9)	94.7	CH
7		162.9	C	2''		76.4	CH
8	6.45 d (2.0)	99.9	CH	3''		77.1	CH
9		156.9	C	4''		69.5	CH
10		105.3	C	5''		73.1	CH
1'		121.3	C	6''		60.6	CH ₂
2'	7.44 d (1.8)	113.5	CH				

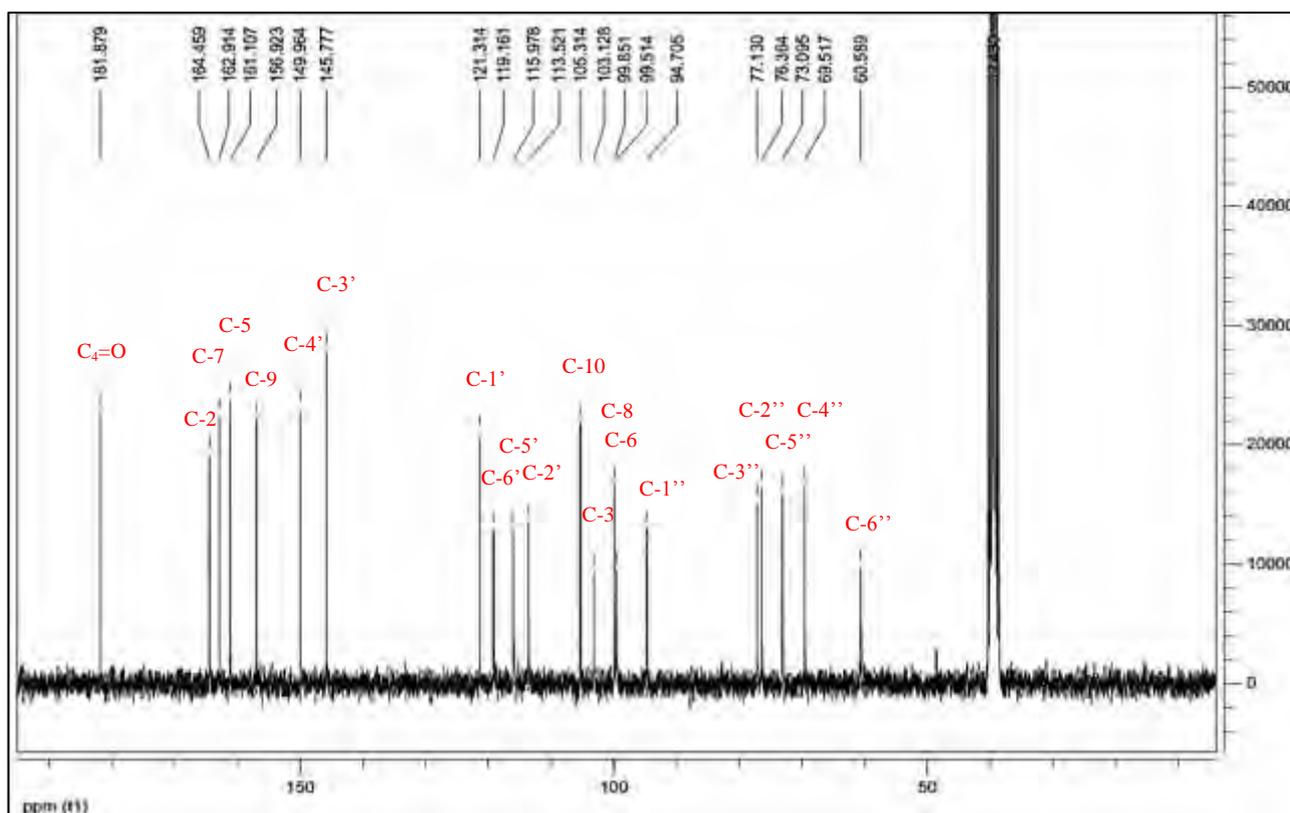
وفي ما يلي أطياف ¹H-RMN و ¹³C-RMN للمركب H610 المسجل في (DMSO-d6):



الشكل 135: مطيافية ¹H-RMN للمركب H610 المسجل في (DMSO-d6)



الشكل 136: مطيافية ^1H RMN للمركب H610 تكبير في المجال [6.5ppm-7.6ppm]

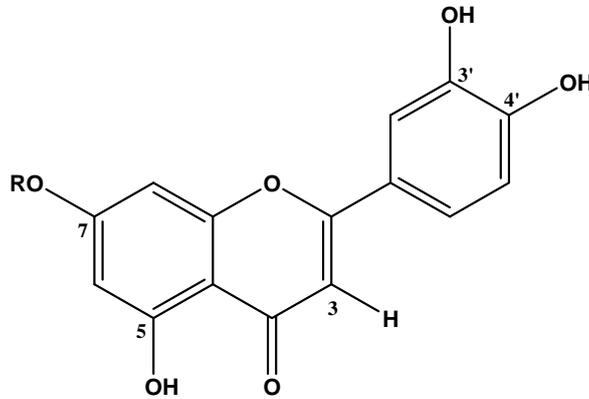


الشكل 137: مطيافية ^{13}C RMN للمركب H610 المسجل في (DMSO-d6)

التعليق: ◀

- اللون الإستشعاعي للمركب (بنفسجي) و قيمة العصابة I في طيف MeOH المقدره بـ 352 نم يدل على أن المركب فلافون أي وجود H في الموضع 3.
- إزاحة باثوكرمومية للعصابة I مقدره بـ 45 نم عند مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول دون تناقص في الشدة، تدل على وجود 4'-OH .
- عدم ظهور قمة جديدة مع نفس الكاشف NaOH تدل على غياب 7-OH. و يتأكد ذلك بالإزاحة الهيسوكرومومية المقدره بـ 6 نم للعصابة II عند مقارنة طيف NaOAc مع الميثانول.
- الإزاحة الباثوكرمومية للعصابة I و المقدره بـ 20 نم و هذا عند مقارنة طيف NaOAc + H₃BO₃ مع الميثانول تدل على وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3'-OH,4'-OH) .
- الإزاحة الهيسوكرومومية للعصابة I دائما و المقدره بـ 33 نم عند مقارنة طيف AlCl₃ مع طيف AlCl₃ + HCl تؤكد وجود نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .
- و نستدل على إمكانية وجود 5-OH من مقارنة طيف AlCl₃ + HCl بطيف الميثانول حيث نلاحظ إزاحة باثوكرمومية قدرها 36 نم.

من هذه المعطيات نحصل على الصيغة الابتدائية التالية:

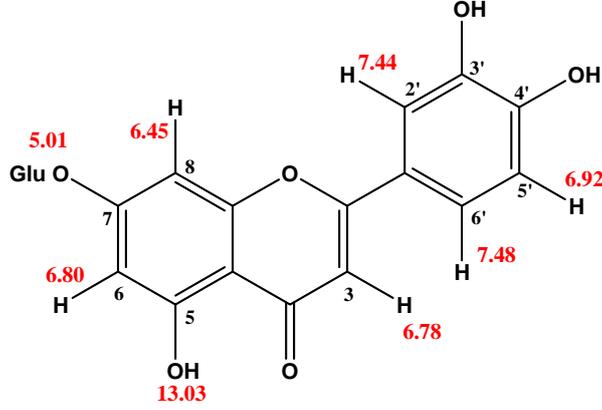


الشكل 138: الصيغة الأولية للمركب H610

- النتائج في طيف البروتون تكون كالآتي:

- إشارة متعددة عند 7.48 ppm وهي مميزة للبروتونين H-6.
- إشارة ثنائية (J=1.8 Hz) عند 7.44 ppm وهي مميزة للبروتون H-2.
- إشارة ثنائية (J=8.2 Hz) عند 6.92 ppm وهي مميزة للبروتون H-5.
- إشارة ثنائية (J=2.0 Hz) عند 6.80 ppm وهي مميزة للبروتون H-6.

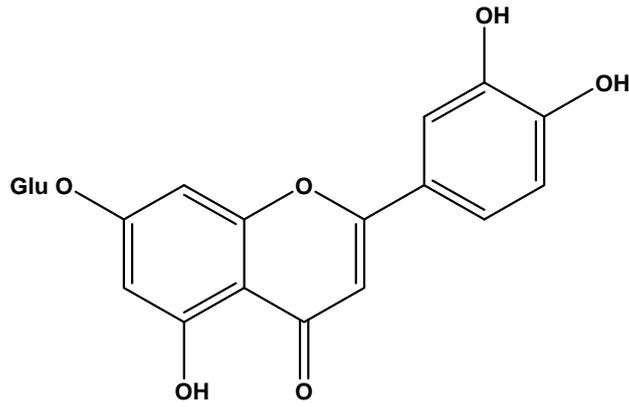
- إشارة ثنائية ($J=2.0$ Hz) عند 6.45 ppm وهي مميزة للبروتون H-8.
- إشارة أحادية 6.78 ppm وهي مميزة للبروتون الموضع 3 (H-3).
- إشارة ثنائية ($J=6.9$ Hz) عند 5.10 ppm وهي مميزة للبروتون الأنوميري "H-1".
- إشارة أحادية 13.03 ppm وهي مميزة لمجموعة الهيدروكسيل الموضع 5 (5-OH).



الشكل 139: تعيين الإزاحات الكيميائية للبروتون للمركب H610

■ الاستنتاج:

- إستنادا إلى كروماتوغرام HPLC للمركب H610 و بالمقارنة مع الشواهد يقع الشك في أن المركب هو Luteolin-7-O-glucoside وهذا لأن ثابت الإنحباس (tr) للمركب والمقدر بـ (34 min) يقع تقريبا مع الشاهد.
- و إستنادا إلى اللون الإستشعاعي (بنفسجي) و قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).
- من طيف الكربون يتبين وجود 21 ذرة كربون أي 15 ذرة للأجليكون و 6 ذرات للسكر المرتبط به.
- كما بين طيف البروتون وجود H-3 و H-8 و H-6 و يبين أيضا وجود إشارة مميزة لـ 5-OH مما يؤكد أن السكر مرتبط في الموضع 7 للأجليكون.
- و بالإضافة إلى كل قيم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون التي جاءت مؤكدة لكل النتائج السابقة كما هو موضح في جدول 38 للمعطيات و الأشكال 135 و 136 و 137.
- تم الاستخلاص و تأكيد أن المركب H610 هو: Luteolin-7-O-glucoside
- كما تم مطابقة النتائج مع المرجع [1].



Luteolin-7-O-glucoside

الشكل 140: الصيغة النهائية للمركب H610

[1]. Goharia, A.R., Ebrahimib, H., Saeidniaa, S., Foruzanib, M., Ebrahimic, P., Ajanid, Y. (2009). Flavones and Flavone Glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 10, 247-251.

التحليل البنيوي للمركب

H612

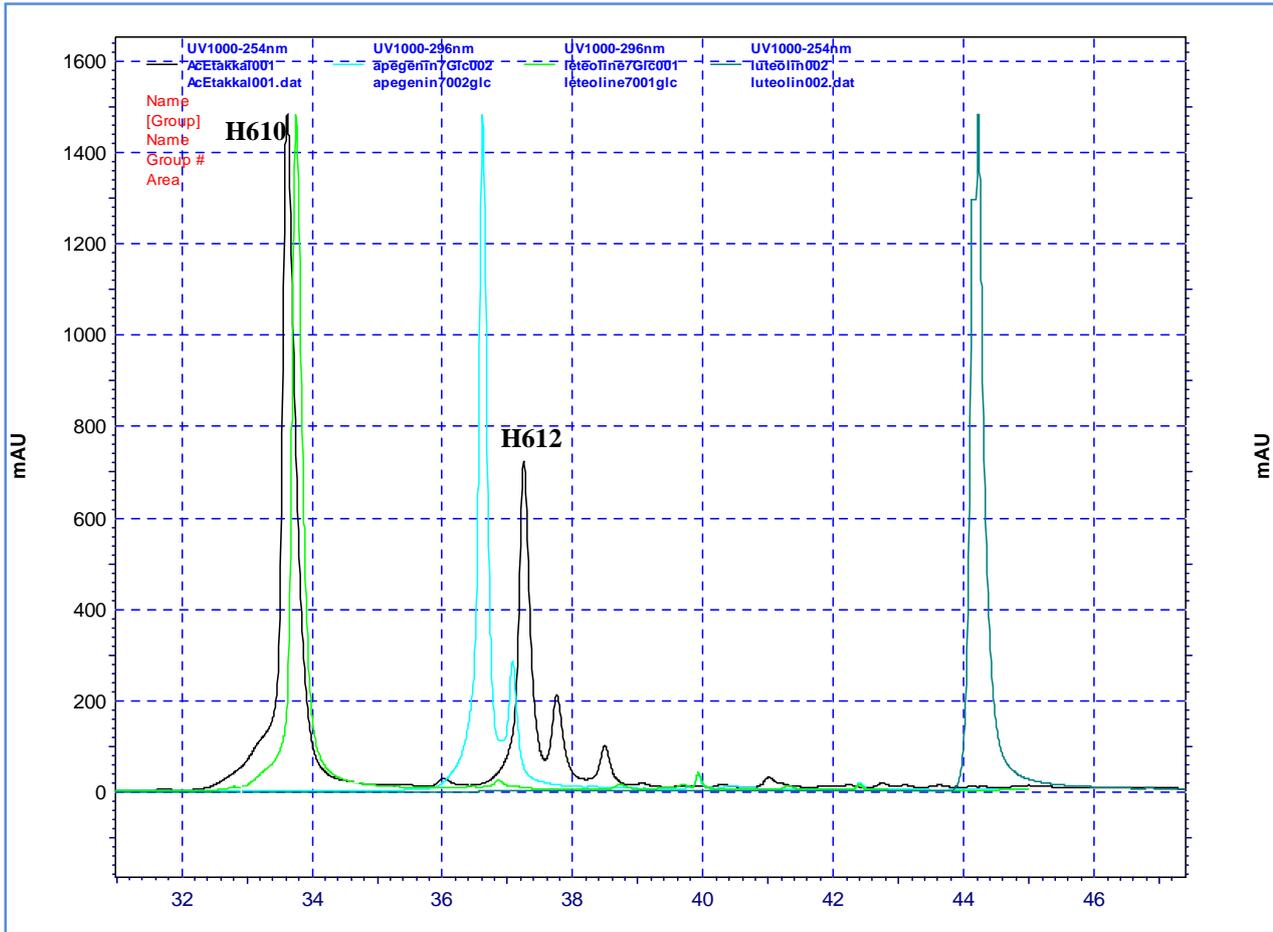
التحليل البنيوي للمركب H612:

اللون الإستشعاعي:

الإستشعاع تحت الأشعة (UV) : بنفسجي.

❖ المعطيات الطيفية:

1. كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC):



الشكل 141: كروماتوغرام HPLC للمركب H612 في وجود الشواهد

الجدول 39: الشروط المستعملة في عملية التحليل بقنية HPLC:

الوقت (min)	% CH ₃ CN	% H ₂ O	سرعة التدفق (ml/min)	طول موجة الكاشف (nm)
00	4	96	1	254
20	12	88	1	254
30	20	80	1	254
60	50	50	1	254

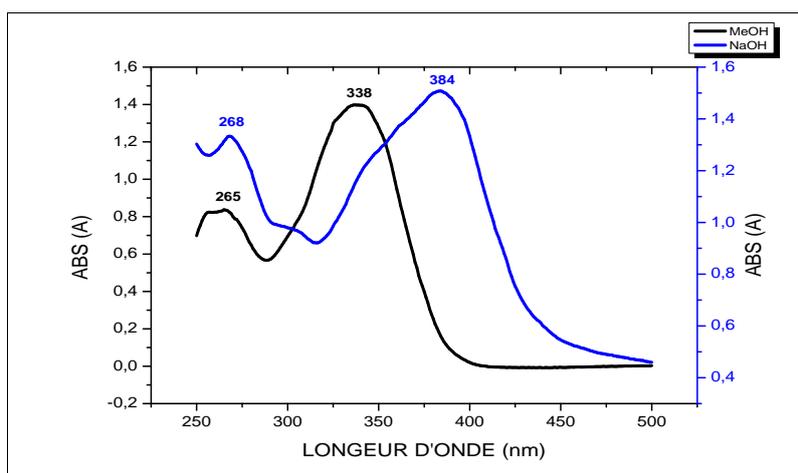
2. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

الجدول 40 : قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H612

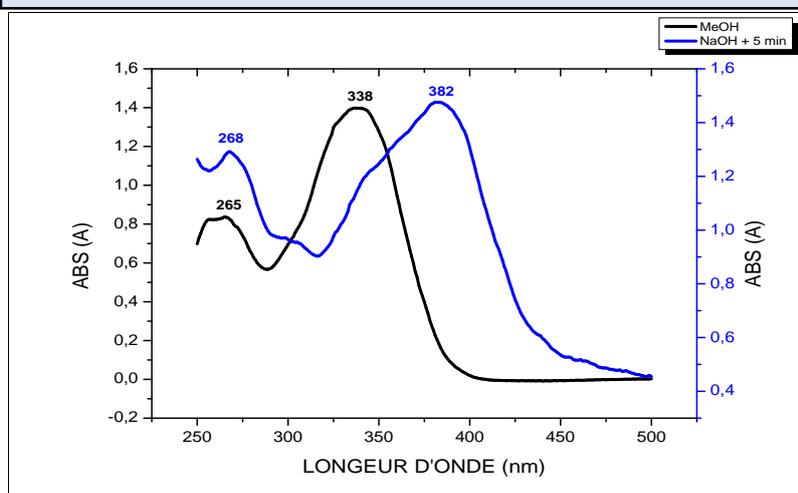
الكواشف	العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	عصابات أخرى (نم)
MeOH	338	265	/
NaOH	384	268	/
NaOH + 5 min	382	268	/
AlCl ₃	352	276	392
AlCl ₃ + HCl	345	276	385
NaOAc	392	267	354
NaOAc + H ₃ BO ₃	347	267	/

طيف NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر

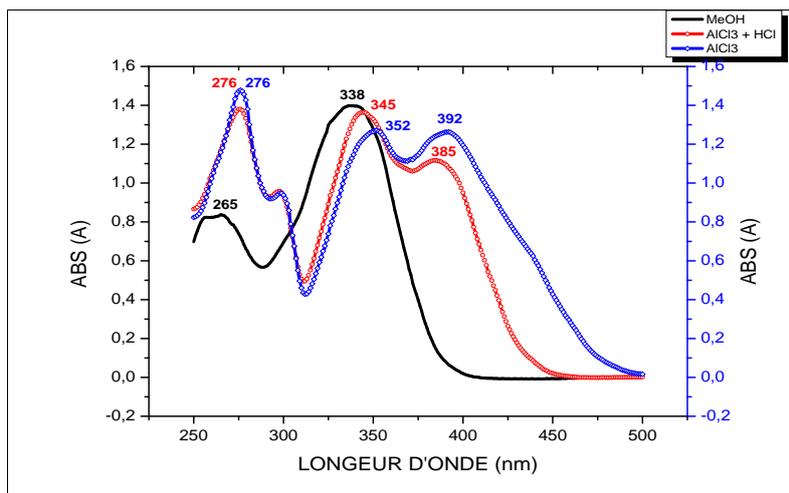
و في ما يلي أطيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب H612:



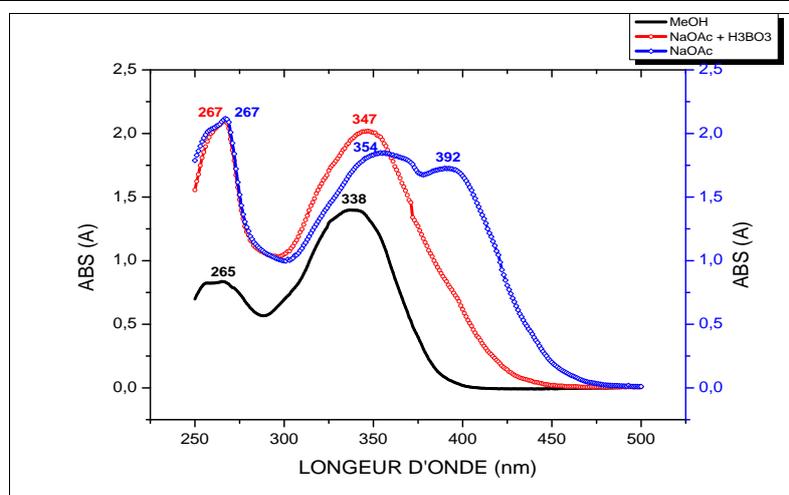
الشكل 142: طيف الأشعة UV للمركب H612 في وجود MeOH و NaOH



الشكل 143: طيف الأشعة UV للمركب H612 في وجود MeOH و NaOH+5min



الشكل 144: طيف الأشعة UV للمركب H612 في وجود MeOH و AlCl₃ و AlCl₃+HCl



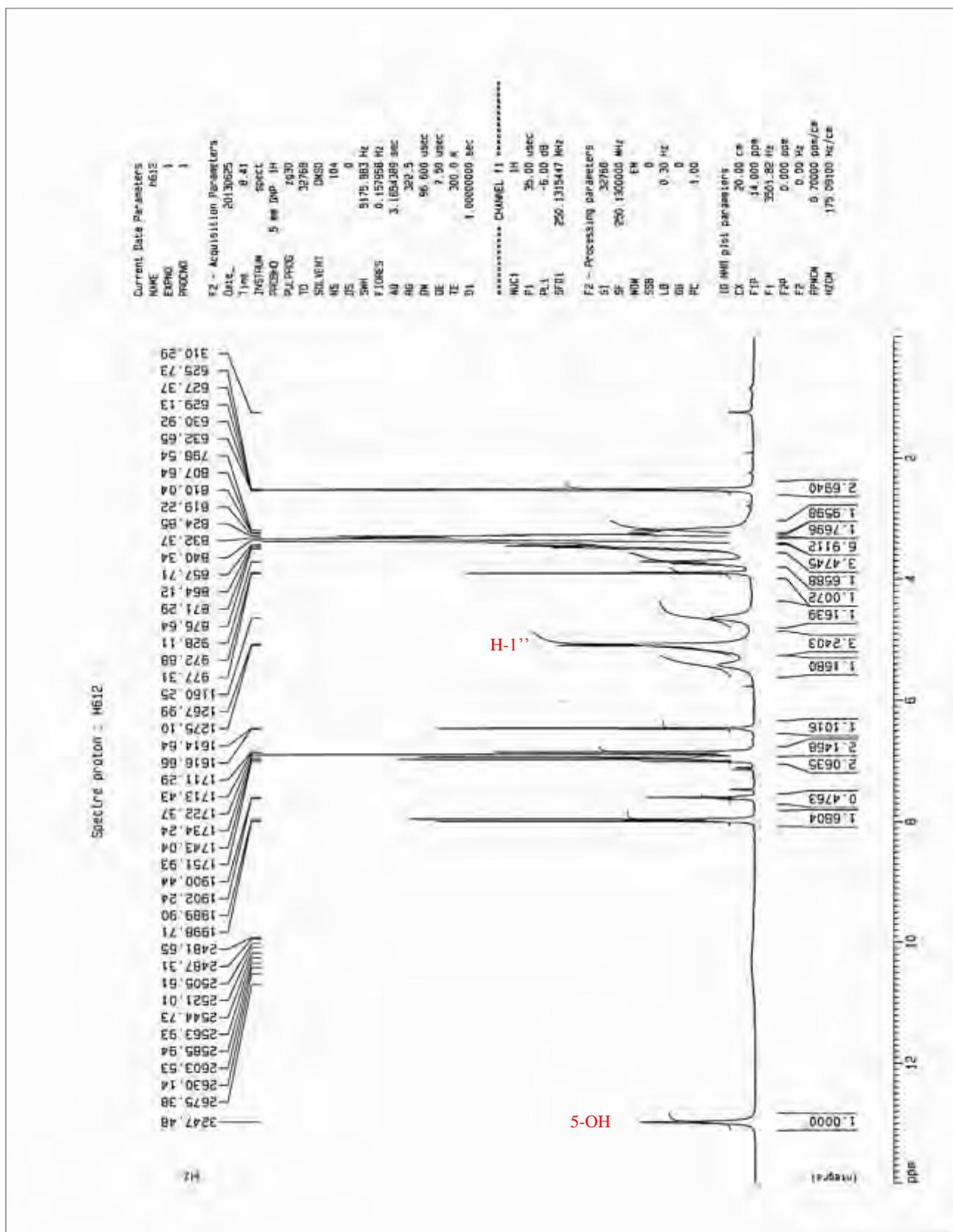
الشكل 145: طيف الأشعة UV للمركب H612 في وجود MeOH و NaOAc و NaOAc+H₃BO₃

3. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الكربون:

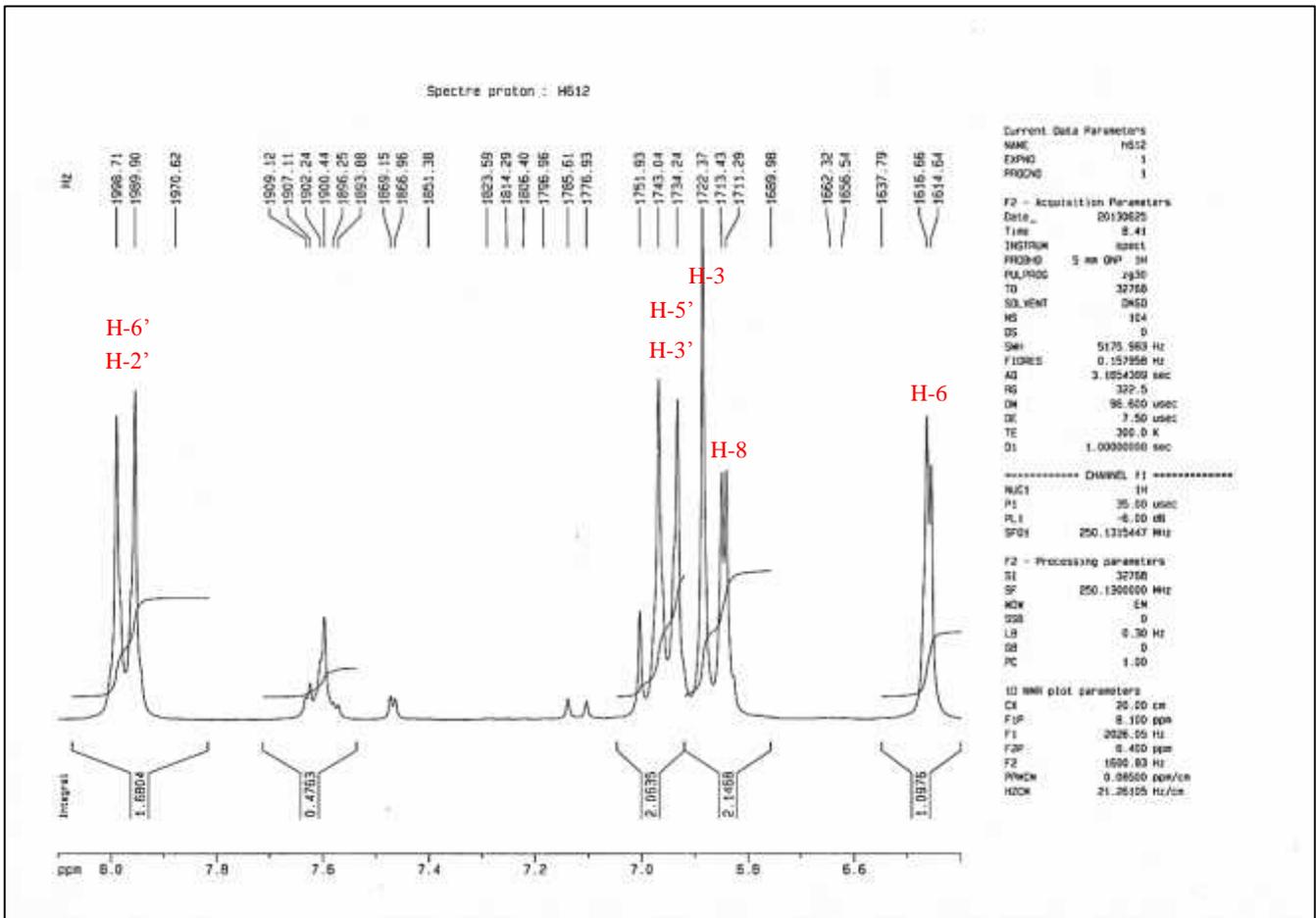
الجدول 41: قيم (RMN ¹H 300 MHz) للمركب H612 في (DMSO-d₆)

No.	δH (J Hz)	δC	DEPT	No.	δH (J Hz)	δC	DEPT
2		164.3	C	3'	6.95 d (8.8)	116.0	C
3	6.88 s	103.0	CH	4'		162.9	C
4		182.0	C	5'	6.95 d (8.8)	116.0	CH
5	12.98 (5-OH)	156.9	C	6'	7.97 d (8.8)	128.1	CH
6	6.46 d (2.0)	99.4	C	1''	5.08 d (7.2)	99.9	CH
7		161.4	C	2''		71.3	CH
8	6.84 d (2.1)	94.6	CH	3''		76.4	CH
9		161.1	C	4''		69.7	CH
10		105.3	C	5''		77.2	CH
1'		121.0	C	6''		63.9	CH ₂
2'	7.97 d (8.8)	128.1	CH				

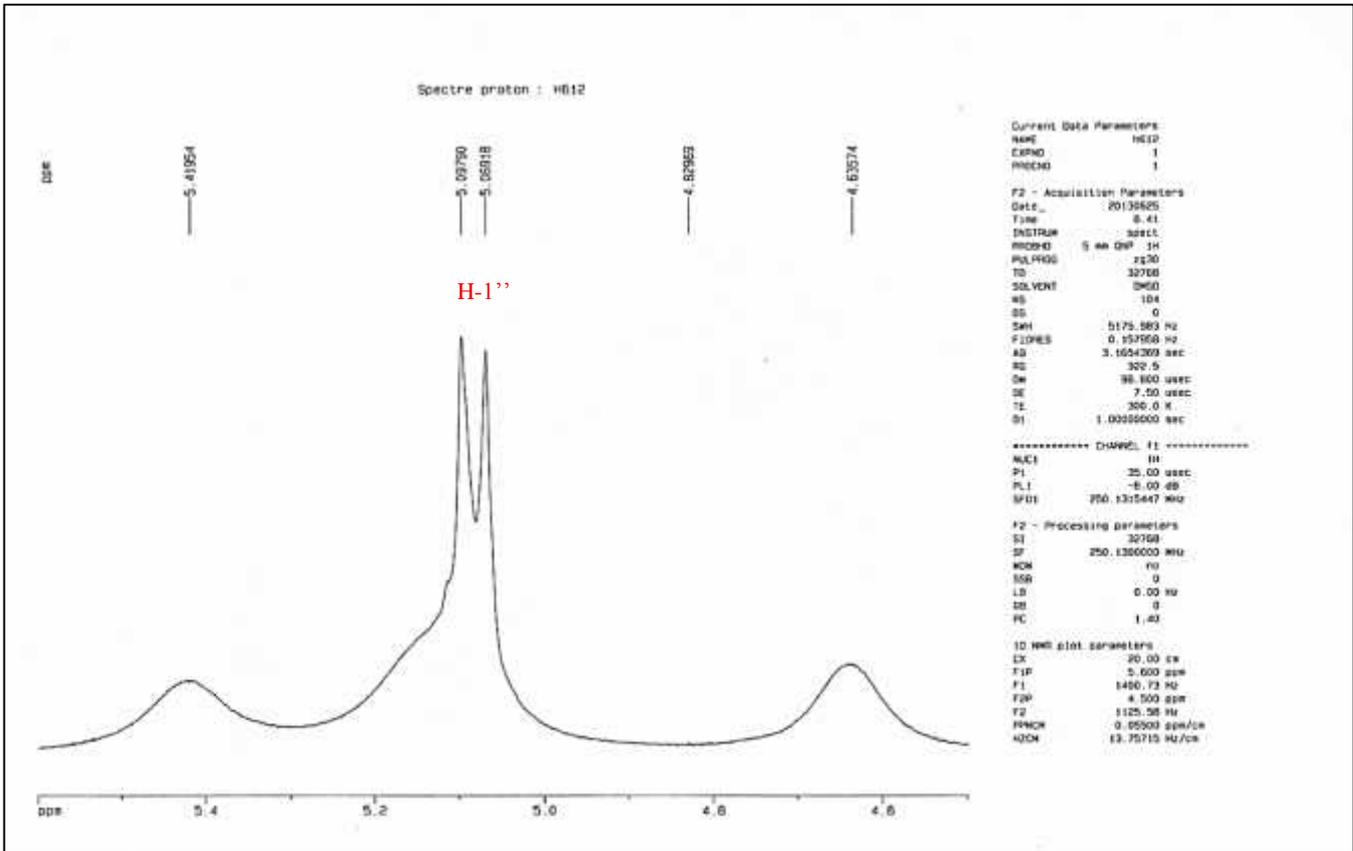
وفي ما يلي أطياف ^1H RMN و ^{13}C RMN للمركب H612 المسجل في (DMSO-d₆):



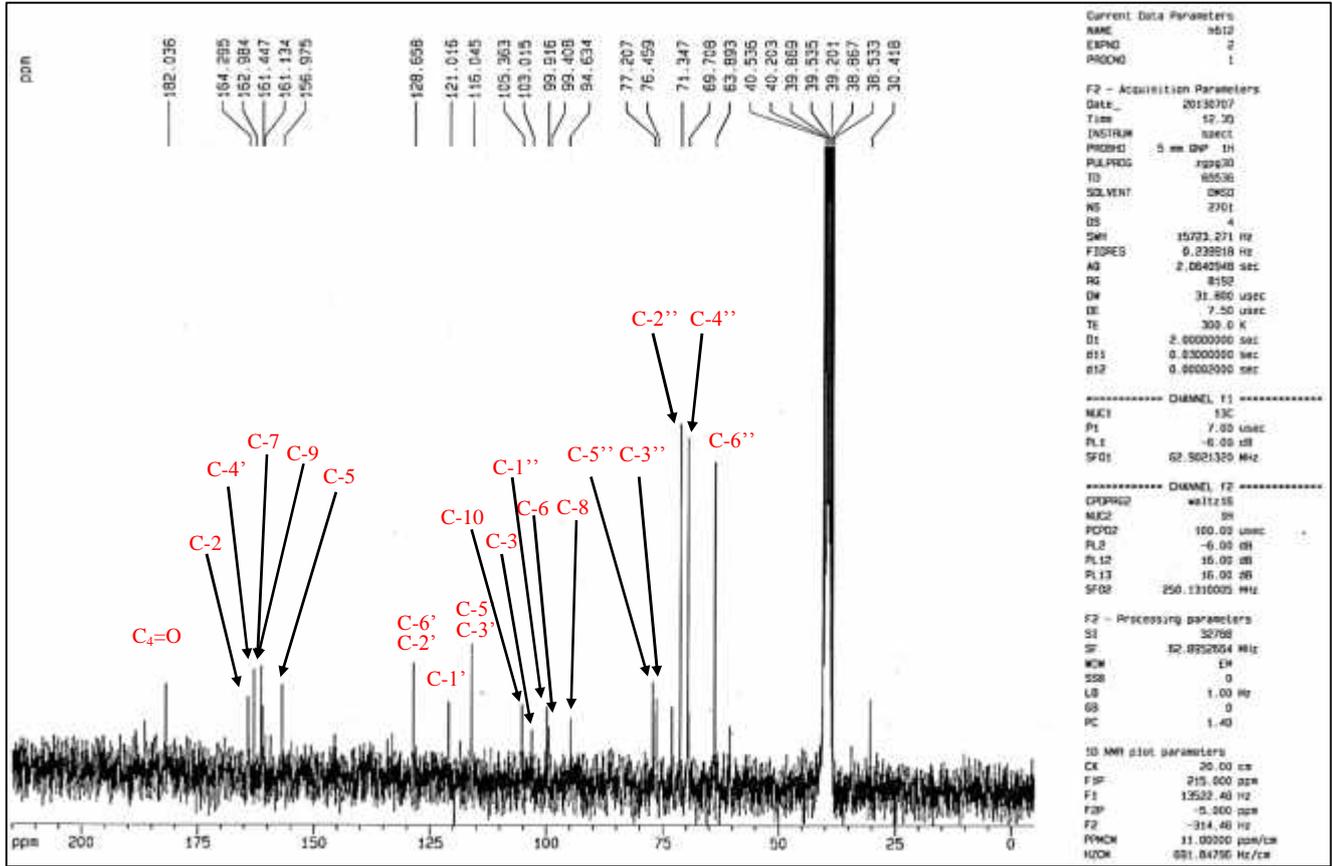
الشكل 146: مطيافية ^1H RMN للمركب H612 المسجل في (DMSO-d₆)



الشكل 147: مطيافية ^1H -RMN للمركب H612 تكبير في المجال [6.4ppm-8.1ppm]



الشكل 148: مطيافية ^1H -RMN للمركب H612 تكبير في المجال [4.5ppm-5.6ppm]

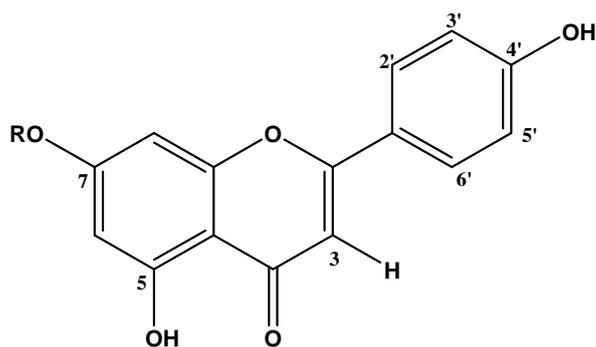


الشكل 149: مطيافية ^{13}C RMN للمركب H612 المسجل في (DMSO-d6)

التعليق: <

- اللون الإستشعاعي للمركب (بنفسجي) و قيمة العصابة I في طيف MeOH المقدره بـ 338 نم يدل على أن المركب فلافون أي وجود H في الموضع 3.
- إزاحة باثوكرومية للعصابة I مقدره بـ 46 نم عند مقارنة طيف NaOH بطيف الميثانول دون تناقص في الشدة، تدل على وجود 4'-OH .
- عدم ظهور قمة جديدة مع نفس الكاشف NaOH تدل على غياب 7-OH.
- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة I و المقدره بـ 9 نم و هذا عند مقارنة طيف $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$ مع الميثانول تدل على غياب نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3'-OH,4'-OH) .
- الإزاحة الهبسوكرومية للعصابة I دائماً و المقدره بـ 7 نم عند مقارنة طيف AlCl_3 مع طيف $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ تؤكد غياب نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B .
- و نستدل على إمكانية وجود 5-OH من مقارنة طيف $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ بطيف الميثانول حيث نلاحظ إزاحة باثوكرومية الضعيفة قدرها 9 نم.

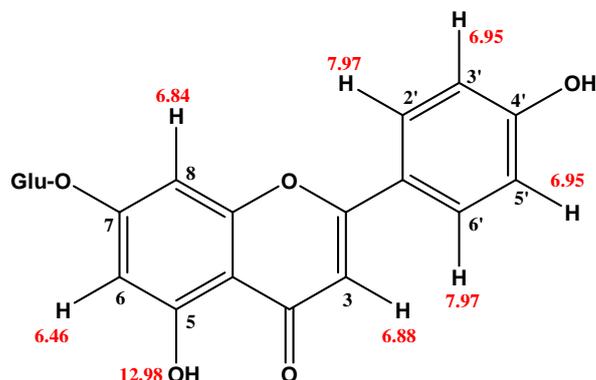
من هذه المعطيات نحصل على الصيغة الابتدائية التالية:



الشكل 150: الصيغة الأولية للمركب H612

■ النتائج في طيف البروتون تكون كالآتي:

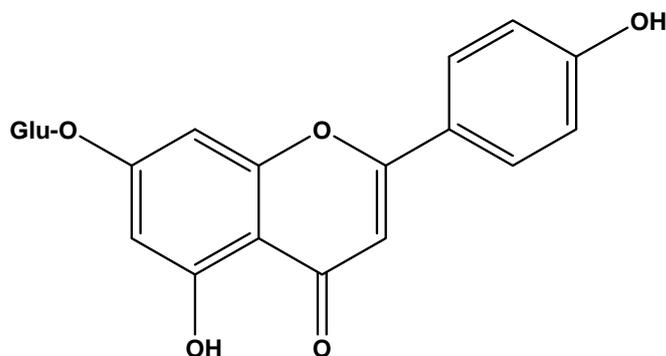
- إشارة ثنائية ($J=8.8$ Hz) بإزاحة كيميائية مقدرة بـ 7.97 ppm وهي مميزة للبروتونين H_2' - H_6' .
- إشارة ثنائية ($J=8.8$ Hz) بإزاحة كيميائية مقدرة بـ 6.95 ppm وهي مميزة للبروتونين H_3' - H_5' .
- إشارة ثنائية ($J=2.1$ Hz) بإزاحة كيميائية مقدرة بـ 6.84 ppm وهي مميزة للبروتون H_8 .
- إشارة ثنائية ($J=2.0$ Hz) بإزاحة كيميائية مقدرة بـ 6.46 ppm وهي مميزة للبروتون H_6 .
- إشارة أحادية بإزاحة كيميائية مقدرة بـ 6.88 ppm وهي مميزة للبروتون H_3 .
- إشارة ثنائية ($J=7.2$ Hz) بإزاحة كيميائية مقدرة بـ 5.08 ppm وهي مميزة للبروتون الأنوميري لسكر للجلوكوز H_1'' .
- إشارة أحادية بإزاحة كيميائية مقدرة بـ 12.98 ppm وهي مميزة لمجموعة هيدروكسيل 5-OH.
- إشارة متعددة بين 3.10 ppm و 3.81 ppm وهي مميزة للبروتونات الغليكوزيدية.



الشكل 151: تعيين الإزاحات الكيميائية للبروتون للمركب H612

■ الاستنتاج:

- إستنادا إلى كروماتوغرام HPLC للمركب H612 و بالمقارنة مع الشواهد يقع الشك في أن المركب هو Apigenin-7-O-Glucoside وهذا لأن ثابت الإنحباس (tr) للمركب والمقدر بـ (36.6 min) تقع تقريبا مع الشاهد.
- و إستنادا الى اللون الإستشعاعي (بنفسجي) و قيم مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.
- من طيف الكربون يتبين وجود 21 ذرة كربون أي 15 ذرة للأجليكون و 6 ذرات للسكر المرتبط به.
- ظهور الإشارة الأحادية لهيدروكسيل في طيف البروتون الموضع 5-OH.
- كما بين طيف البروتون وجود H-3 و H-8 و H-6 و بين أيضا وجود إشارة مميزة لـ 5-OH مما يؤكد أن السكر مرتبط في الموضع 7 للأجليكون.
- و بالإضافة إلى قيم مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون التي جاءت مؤكدة لكل النتائج السابقة كما هو موضح في جدول 41 للمعطيات و الأشكال من 146 إلى 149.
- تم الاستخلاص و تأكيد أن المركب H612 هو: Apigenin-7-O-Glucoside.
- تم مطابقة النتائج مع المرجع [1].



Apigenin-7-O-Glucoside

الشكل 152: الصيغة النهائية للمركب H612

[1]. Goharia, A.R., Ebrahimib, H., Saeidniaa, S., Foruzanib, M., Ebrahimic, P., Ajanid, Y. (2009). Flavones and Flavone Glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 10, 247-251.

بنية المركب

H613

مع بنية المركبات التي تم التعرف

عليها عن طريق

CPG-MS

طور الأستياتي للنبتة *Reutera lutea*

42 بين مطيافية الكتلة لـ 14

التعرف عليها عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الغازية المتزاوجة مع مطيافية الكتلة CPG-MS من الشواهد.

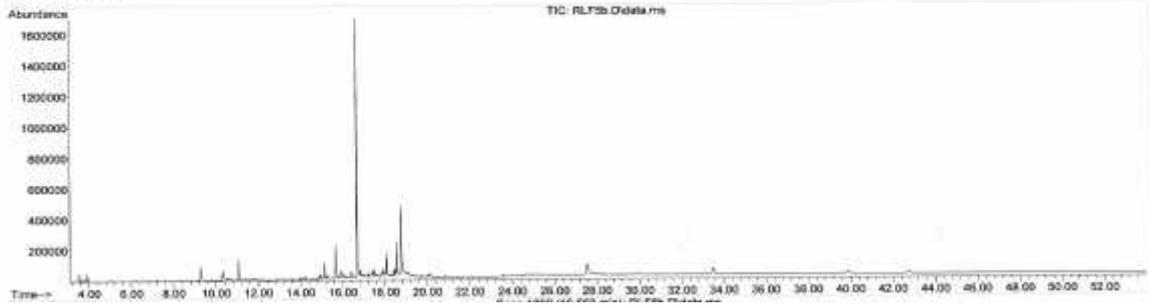
تعرف عنها عن طريق CPG-MS:

42: كروماتوغرام ومطيافية الكتلة لا

N	Fraction	Tr. min	Masse	identification	Formule
	العينة				الصيغة

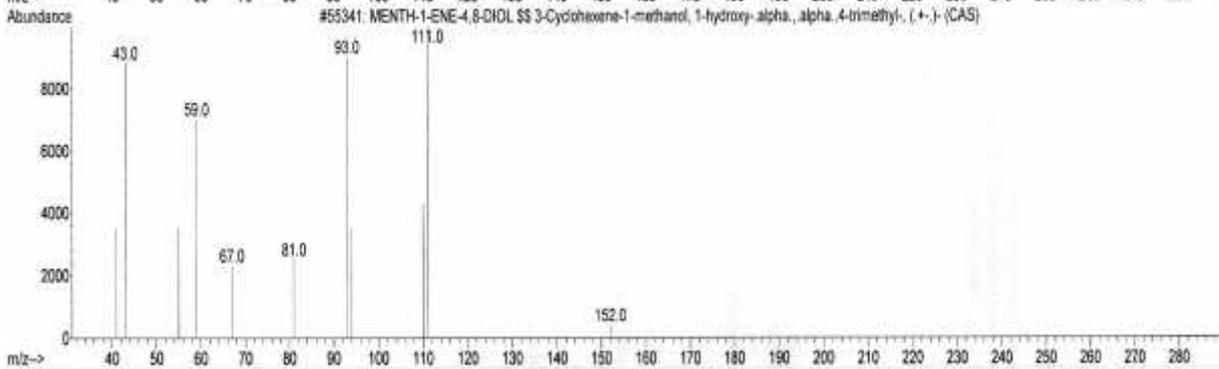
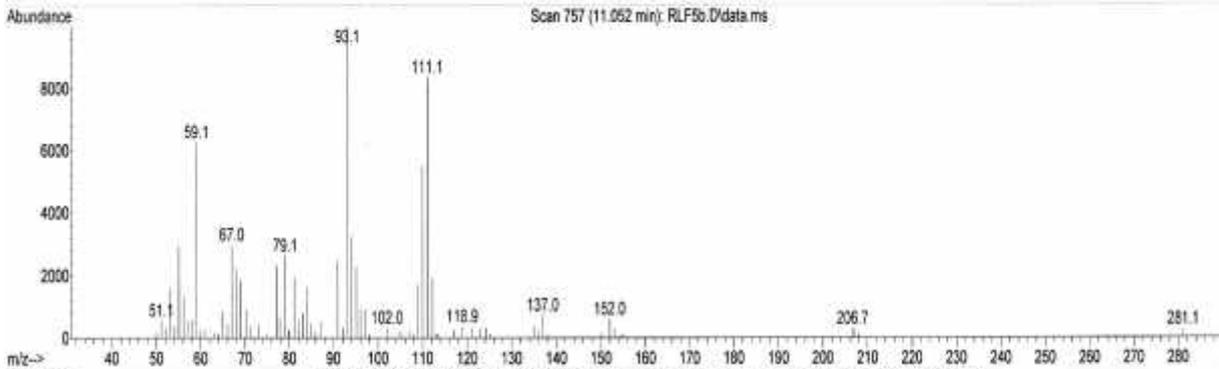
كروماتوغرام العينة F5

File : C:\msdchen\1\data\reutera\RLF5b.D
 Operator :
 Acquired : 26 Mar 2012 10:25 using AcqMethod GENESL02.M
 Instrument : 7890 5975
 Sample Name : RLF5 dans MeOH
 Misc Info : Reutera lutea, generic3, 10 ml/, 26032012
 Vial Number : 11



1	F5	11.052	170.13	Menth-1-ene-4,8-diol	C ₁₀ H ₁₈ O ₂
---	----	--------	--------	----------------------	--

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
 Quality : 53
 ID : MENTH-1-ENE-4,8-DIOL \$\$ 3-Cyclohexene-1-methanol, 1-hydroxy-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, (+-)- (CAS)

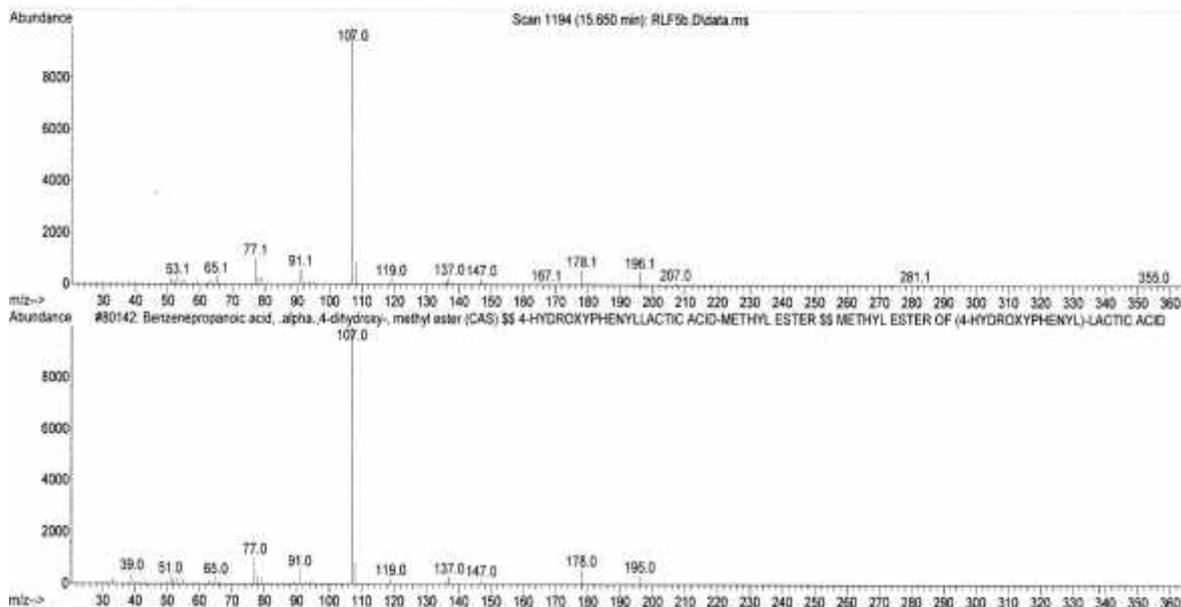


مطيافية الكتلة للعينة F5 مع الشاهد (11.052 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F5

2	F5	15.650	196.07	Benzenepropanoic acid, .alpha., 4-dihydroxy-, methyl ester	C ₁₀ H ₁₂ O ₄
---	----	--------	--------	--	--

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 97
ID : Benzenepropanoic acid, .alpha., 4-dihydroxy-, methyl ester (CAS) §§ 4-HYDROXYPHENYLACTIC ACID-METHYL ESTER §§ METHYL ESTER OF (4-HYDROXYPHENYL)-LACTIC ACID

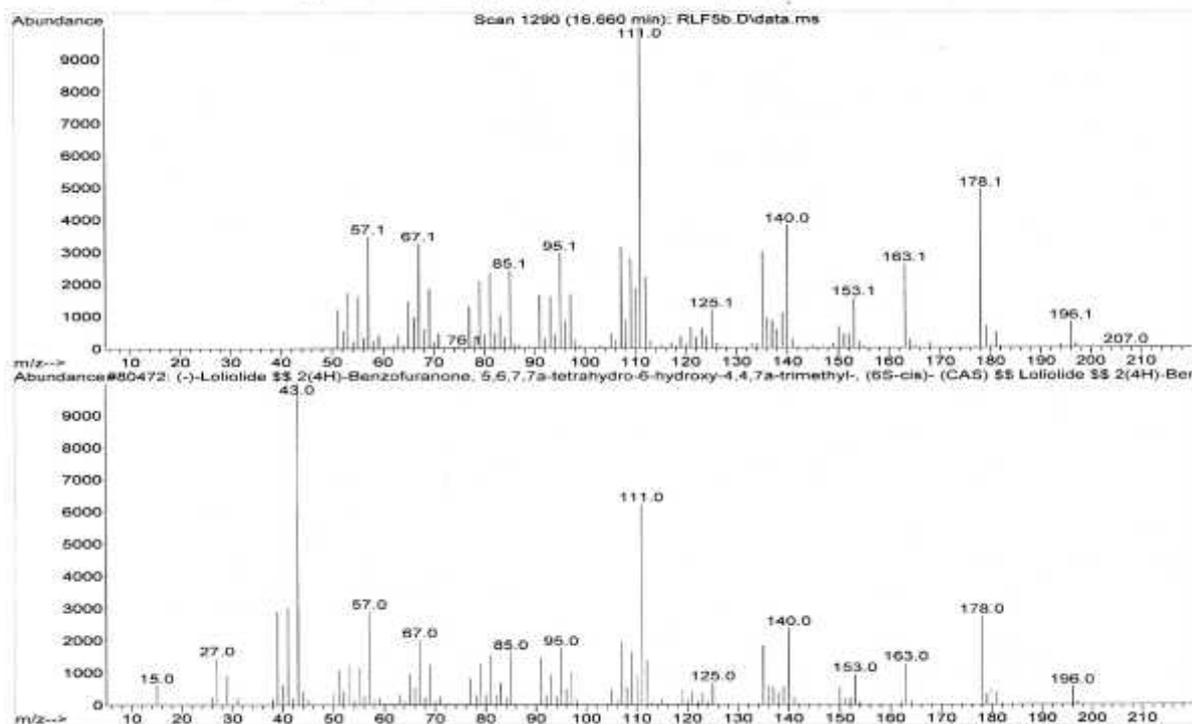


مع الشاهد (15.650 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F5

3	F5	16.660	196.11	Loliolide	C ₁₁ H ₁₆ O ₃
---	----	--------	--------	-----------	--

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 98
ID : (-)-Loliolide §§ 2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-6-hydroxy-4,4,7a-trimethyl-, (6S-cis)- (CAS) §§ Loliolide §§ 2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-6.beta.-hydroxy-4,4,7a.beta.-trimethyl- - §§ Loliolid §§ Digiprolactone §§ (-)LOLIOLIDE §§ Calend



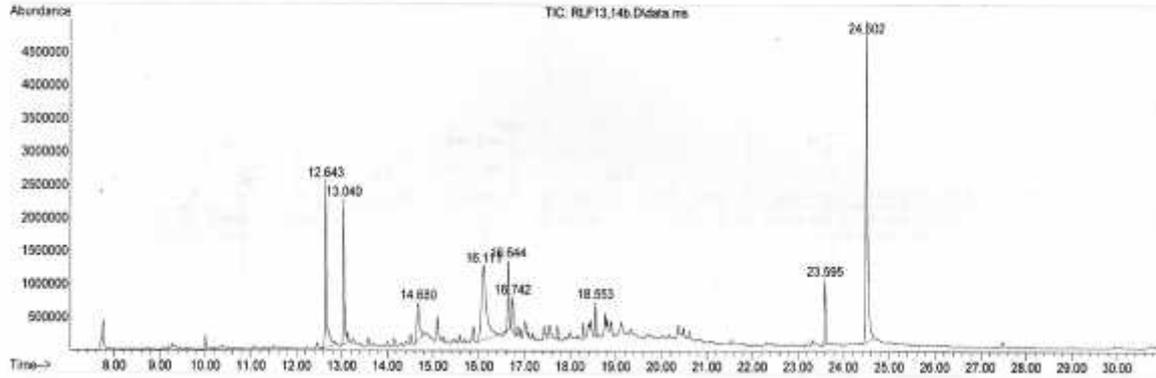
مع الشاهد (16.660 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F5

كروماتوغرام العينة F13-F14

File : C:\msdchem\1\data\reutera\RLF13,14b.D
 Operator :
 Acquired : 26 Mar 2012 16:27 using AcqMethod GENERLO2.M
 Instrument : 7890 5975
 Sample Name: RLF13,14 dans MeOH
 Misc Info : Reutera lutea, generio2, 10 ml/°, 26032012
 Vial Number: 14

F13+14

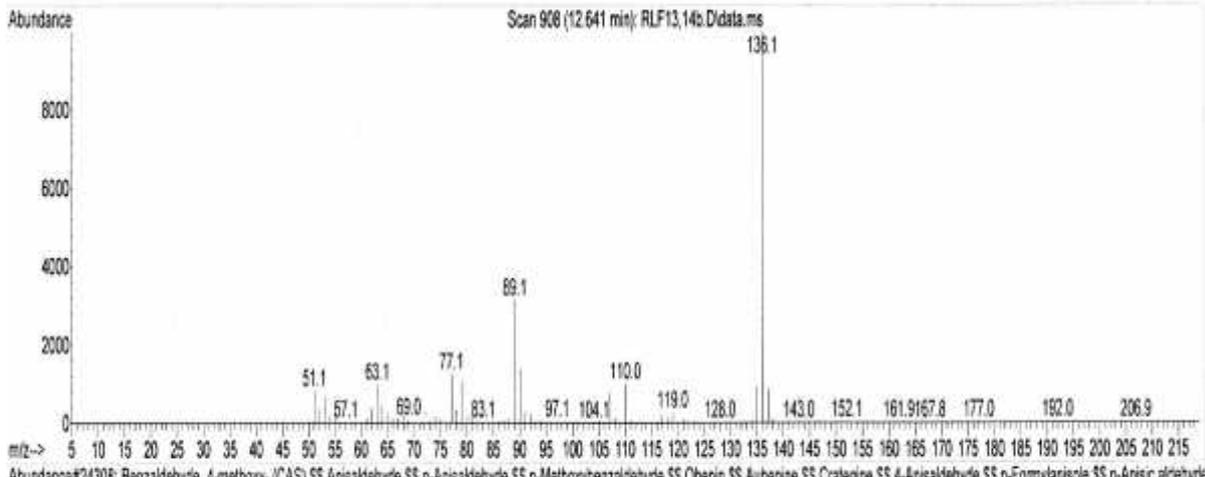


4	F13-F14	12.641	136.05	Anisaldehyde	<chem>C8H8O2</chem>
----------	----------------	---------------	---------------	--------------	---------------------

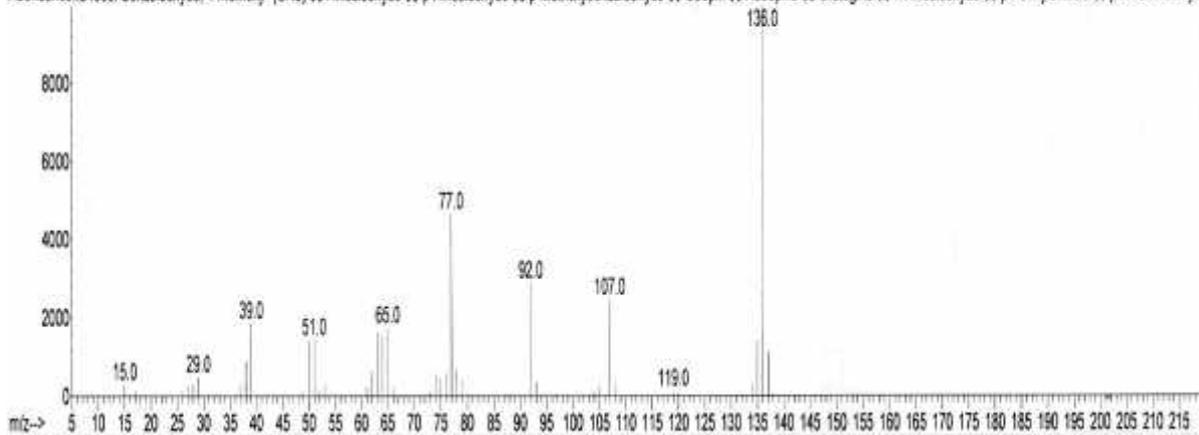
Library Searched : C:\Database\WILEY275.L

Quality : 58

ID : Benzaldehyde, 4-methoxy- (CAS) \$\$ Anisaldehyde \$\$ p-Anisaldehyde \$\$ p-Methoxybenzaldehyde \$\$ Obepin \$\$ Aubepine \$\$ Cratagine \$\$ 4-Anisaldehyde \$\$ p-Formylanisole \$\$ p-Anisic aldehyde \$\$ 4-Methoxybenzaldehyde \$\$ Anisic aldehyde \$\$ AR-METHOXYBENZALDEHYDE



Abundance#24308: Benzaldehyde, 4-methoxy- (CAS) \$\$ Anisaldehyde \$\$ p-Anisaldehyde \$\$ p-Methoxybenzaldehyde \$\$ Obepin \$\$ Aubepine \$\$ Cratagine \$\$ 4-Anisaldehyde \$\$ p-Formylanisole \$\$ p-Anisic aldehyde



مطابقة الكتلة للعينة (12.641 mn) مع الشاهد

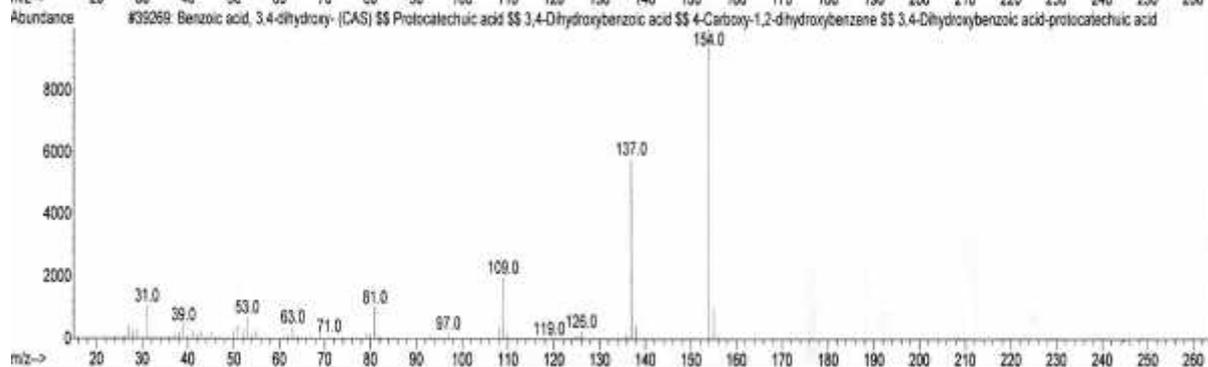
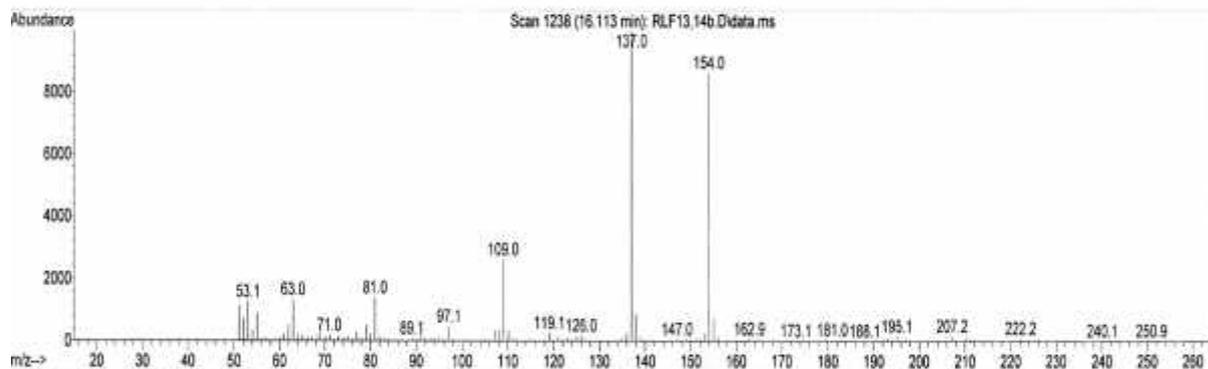
F13-F14 مطيافية الكتلة للعينة

5	F13-F14	16.113	154.03	3,4-dihydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₄
---	---------	--------	--------	---------------------------	--

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L

Quality : 68

ID : Benzoic acid, 3,4-dihydroxy- (CAS) \$\$ Protocatechuic acid \$\$ 3,4-Dihydroxybenzoic acid \$\$ 4-Carboxy-1,2-dihydroxybenzene \$\$ 3,4-Dihydroxybenzoic acid-protocatechuic acid



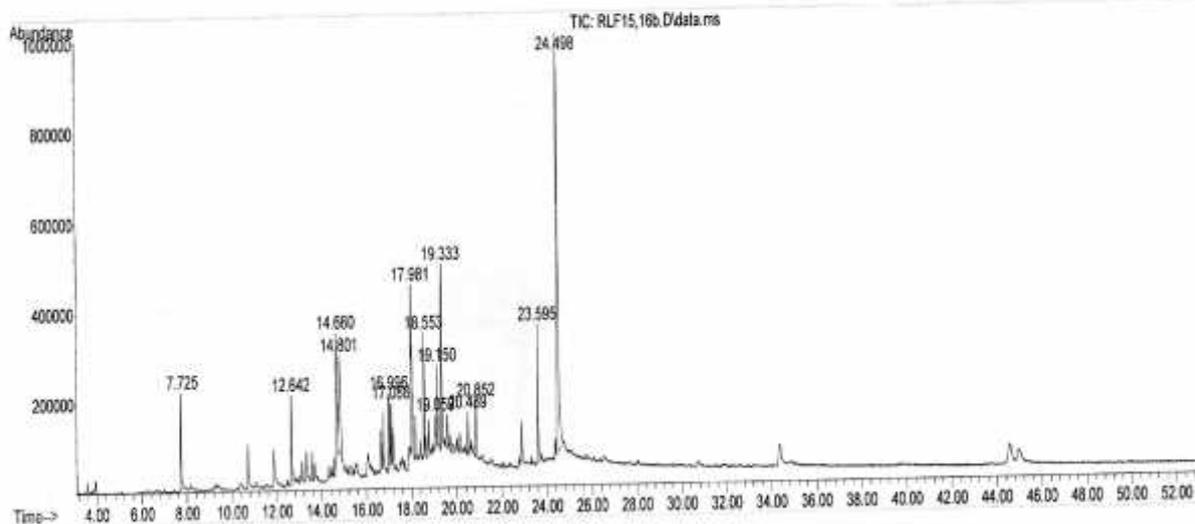
مطيافية الكتلة مع الشاهد (16.113 mn)

F13-F14 مطيافية الكتلة للعينة

كروماتوغرام العينة F15-F16

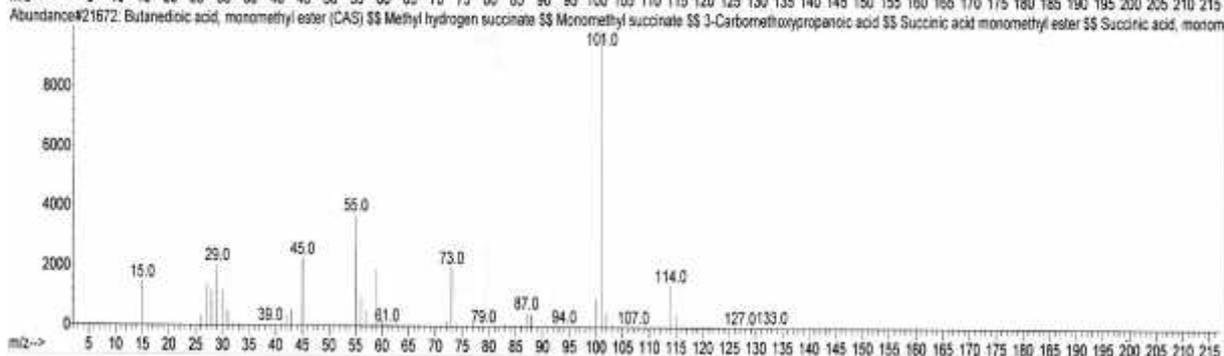
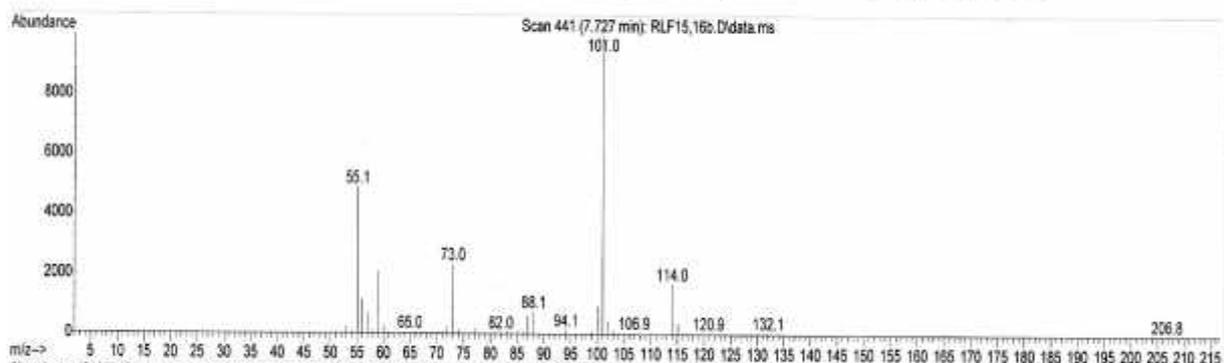
File : C:\msdchem\1\data\reutera\RLF15,16b.D
 Operator :
 Acquired : 26 Mar 2012 18:28 using AcqMethod GENERLO2.M
 Instrument : 7890 5975
 Sample Name : RLF15,16 dans MeOH
 Misc Info : Reutera lutea, generlo2, 10 ml/°, 26032012
 Vial Number: 15

F15+16



6	F15-16	7.727	132.04	Monomethyl succinate	C₅H₈O₄
----------	---------------	--------------	---------------	-----------------------------	--

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 91
ID : Butanedioic acid, monomethyl ester (CAS) \$\$ Methyl hydrogen succinate \$\$ Monomethyl succinate \$\$ 3-Carbomethoxypropanoic acid \$\$ Succinic acid monomethyl ester \$\$ Succinic acid, monomethyl ester

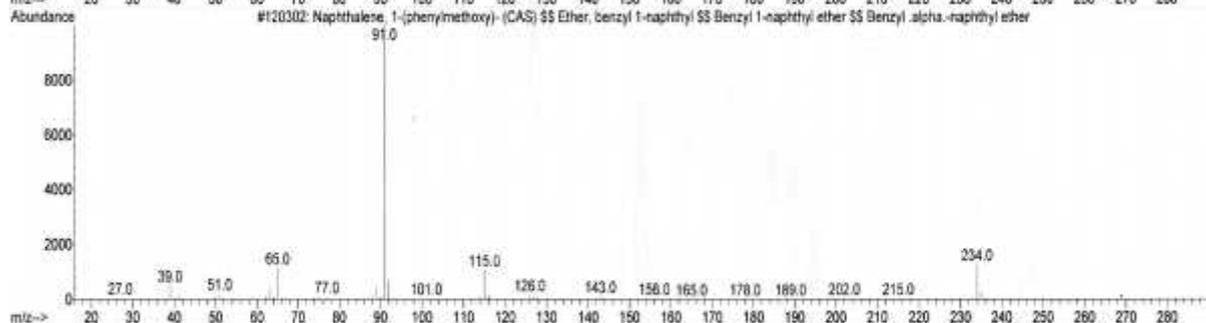
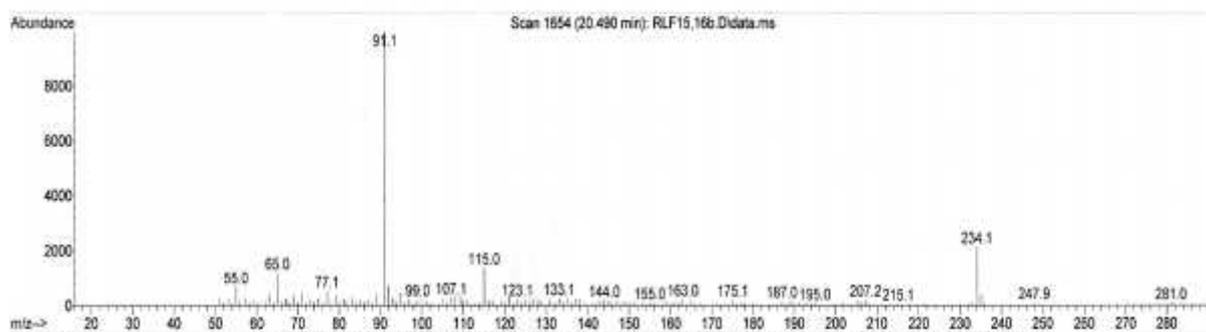


مع الشاهد (7.727 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F15-F16

7	F15-16	20.490	234.10	Benzyl 1-naphthyl ether	C₁₇H₁₄O
----------	---------------	---------------	---------------	--------------------------------	--------------------------------------

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 81
ID : Naphthalene, 1-(phenylmethoxy)- (CAS) \$\$ Ether, benzyl 1-naphthyl \$\$ Benzyl 1-naphthyl ether \$\$ Benzyl .alpha.-naphthyl ether

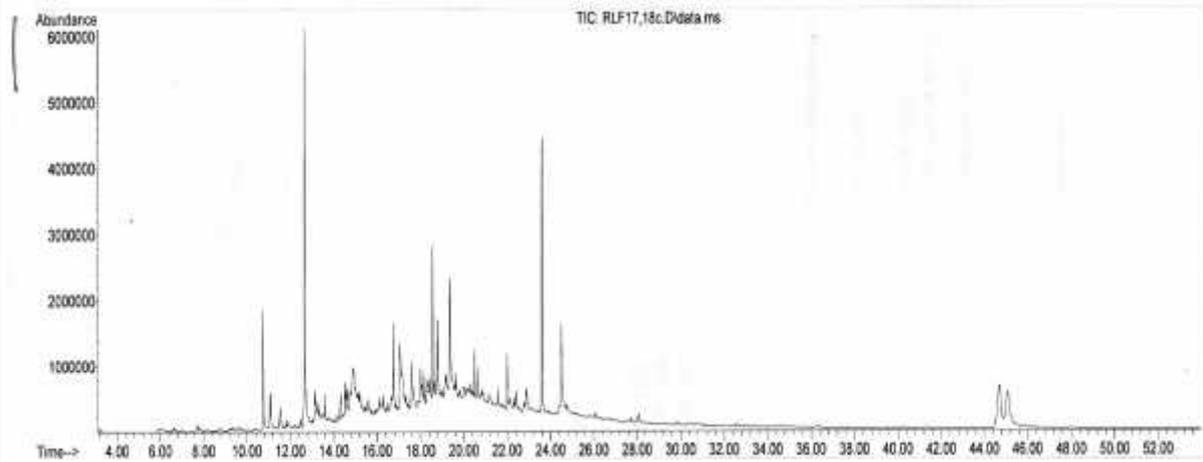


مع الشاهد (20.490 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F15-F16

العينة F17-F18

File : C:\msdchem\1\data\reutera\130412\RLF17,18c.D
 Operator :
 Acquired : 13 Apr 2012 5:37 using AcqMethod GENERLO2.M
 Instrument : 7890 5975
 Sample Name: RLF17,18 dans MeOH
 Misc Info : Reutera lutea, generlo2, 10 ml/1, 26032012
 Vial Number: 131

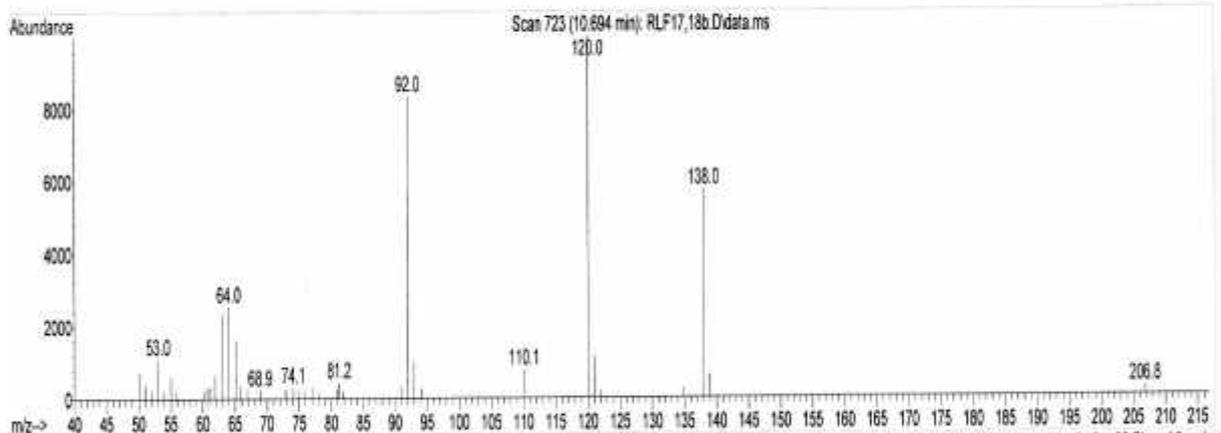


8	F17-18	10.694	138.03	Salicylic acid	$C_7H_6O_3$
----------	---------------	---------------	---------------	----------------	-------------

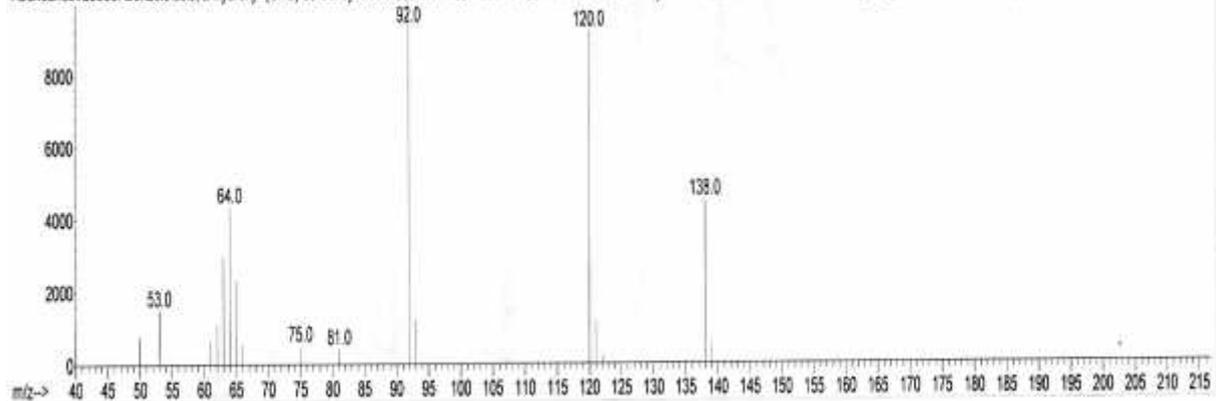
Library Searched : C:\Database\WILEY275.L

Quality : 97

ID : Benzoic acid, 2-hydroxy- (CAS) \$\$ Salicylic acid \$\$ Saloniil \$\$ Rutranex \$\$ Retarder W \$\$ Salicylic acid \$
 \$ Psoriacid-S-Stift \$\$ o-Hydroxybenzoic acid \$\$ Salicylic acid collodion \$\$ Phenol-2-carboxylic acid \$\$ 2-Hydroxybenzenecarb



Abundance#25956: Benzoic acid, 2-hydroxy- (CAS) \$\$ Salicylic acid \$\$ Saloniil \$\$ Rutranex \$\$ Retarder W \$\$ Salicylic acid \$\$ Psoriacid-S-Stift \$\$ o-Hydroxybenzoic acid \$\$ Salicylic acid collodion \$\$ Phenol-2-carb

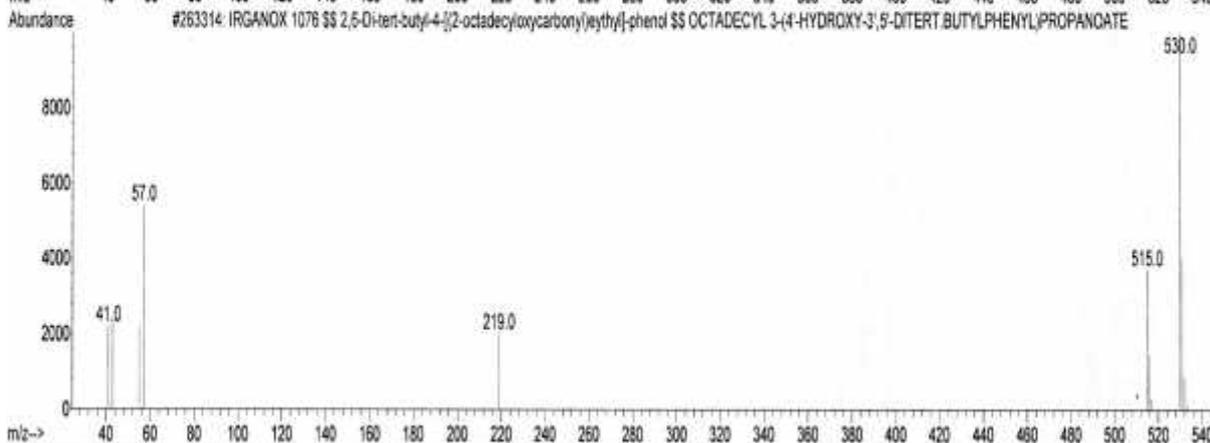
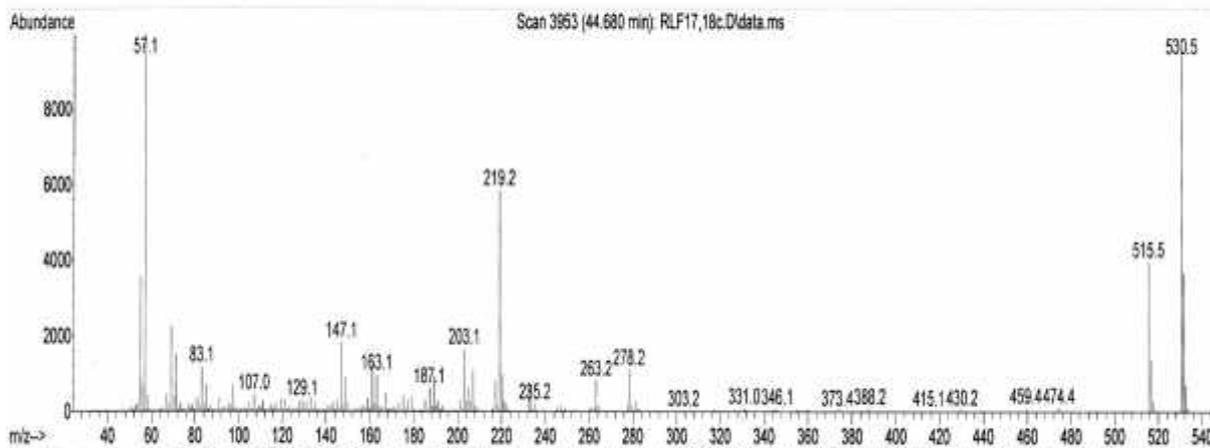


مع الشاهد (10.694 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F17-F18

9	F17-18	44.680	530.47	Irganox 1076	C ₃₅ H ₆₂ O ₃
---	--------	--------	--------	--------------	--

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 83
ID : IRGANOX 1076 \$\$ 2,6-Di-tert-butyl-4-[(2-octadecyloxy carbonyl)ethyl]-phenol \$\$ OCTADECYL 3-(4'-HYDROXY-3',5'-DITERT.BUTYLPHENYL)PROPANOATE

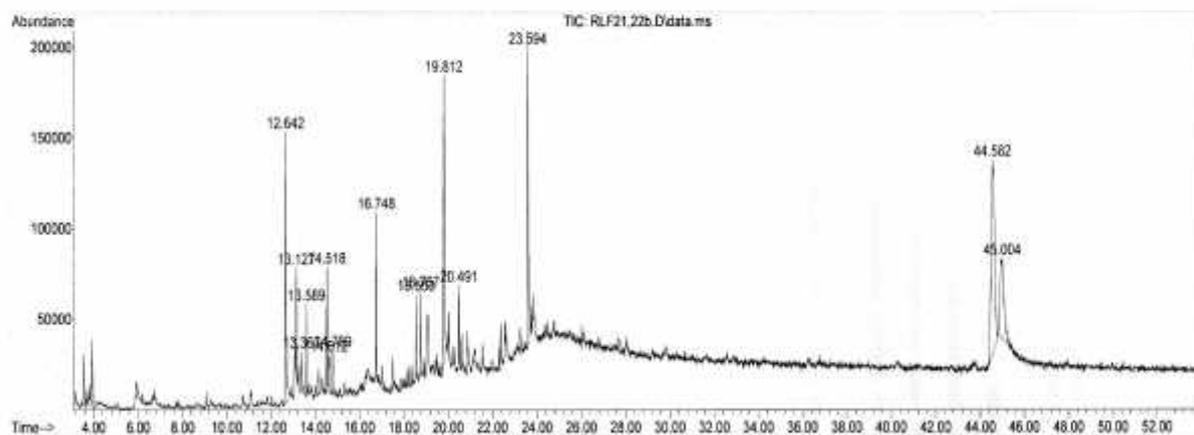


مع الشاهد (44.680 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F17-F18

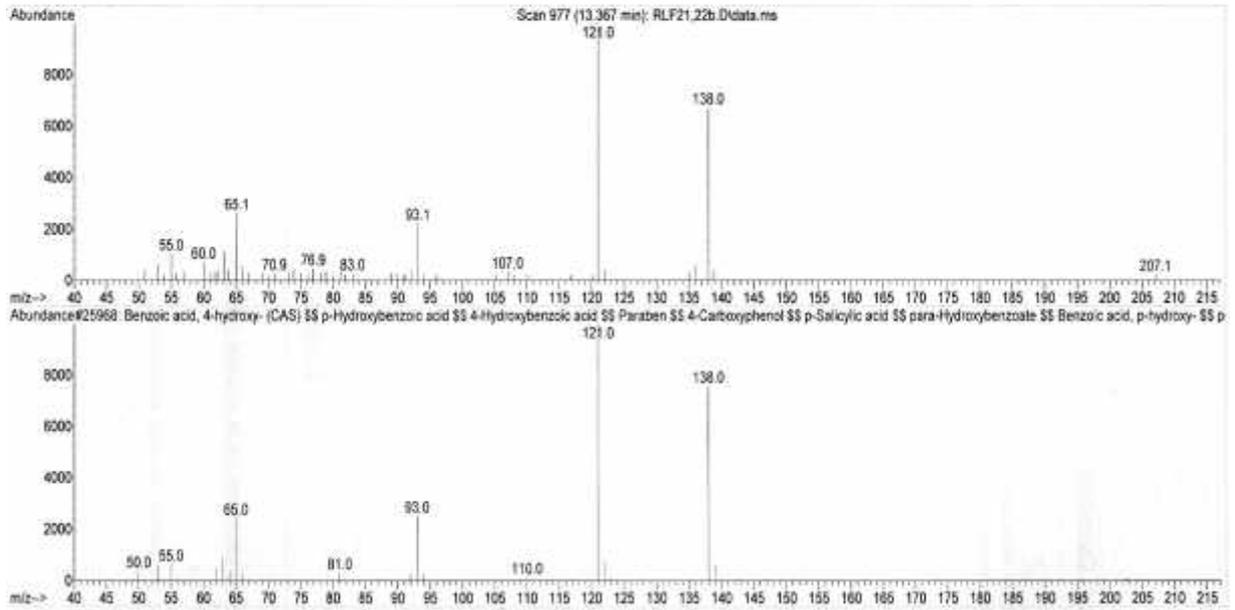
العينة F21-F22

File : C:\msdchem\1\data\reutera\RLF21,22b.D
Operator :
Acquired : 27 Mar 2012 00:30 using AcqMethod GENERLO2.M
Instrument : 7890 5975
Sample Name: RLF21,22 dans MeOH
Misc Info : Reutera lutea, generlo2, 10 ml/', 26032012
Vial Number: 18



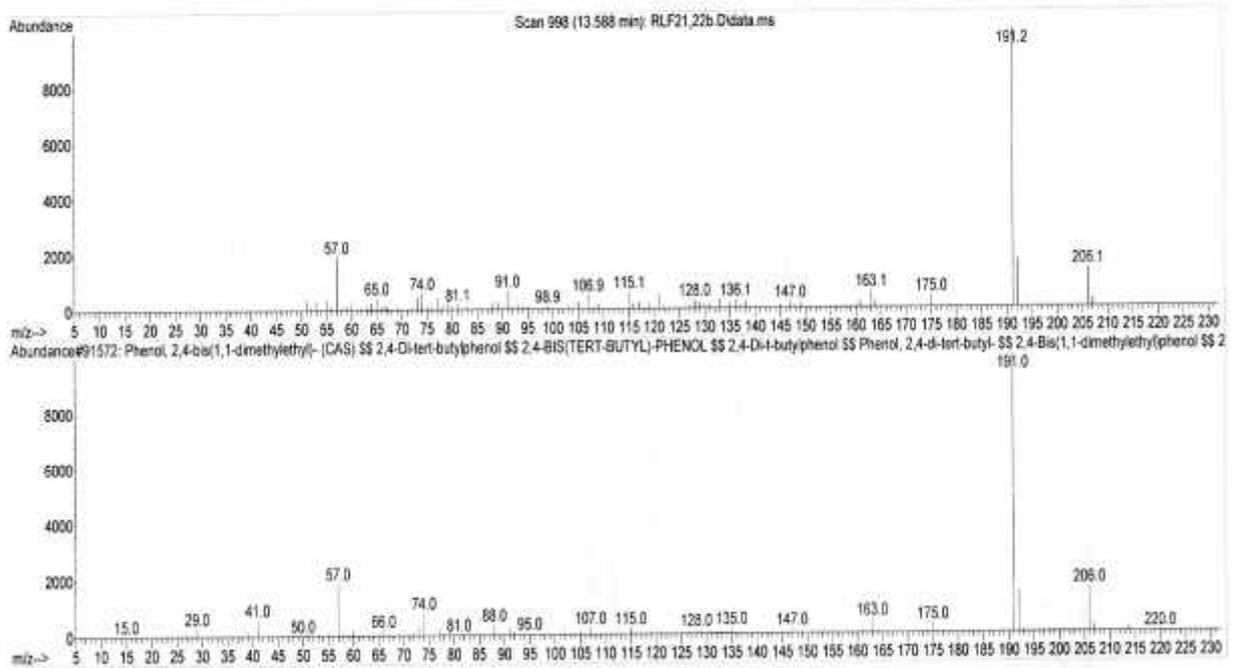
10	F21-22	13.367	138.03	4-hydroxybenzoic acid	C₇H₆O₃
-----------	---------------	---------------	---------------	------------------------------	--

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 93
ID : Benzoic acid, 4-hydroxy- (CAS) \$\$ p-Hydroxybenzoic acid \$\$ 4-Hydroxybenzoic acid \$\$ Paraben \$\$ 4-Carboxyphenol \$\$ p-Salicylic acid \$\$ para-Hydroxybenzoate \$\$ Benzoic acid, p-hydroxy- \$\$ p-Hydroxybenzoate \$\$ para-Hydroxybenzoic acid \$\$ Hydroxybenzoic acid,



مع الشاهد (13.367 mn)		مطابقة الكتلة للعينة F21-F22			
11	F21-22	13.588	206.17	2,4-di-tert-butylphenol	C₁₄H₂₂O

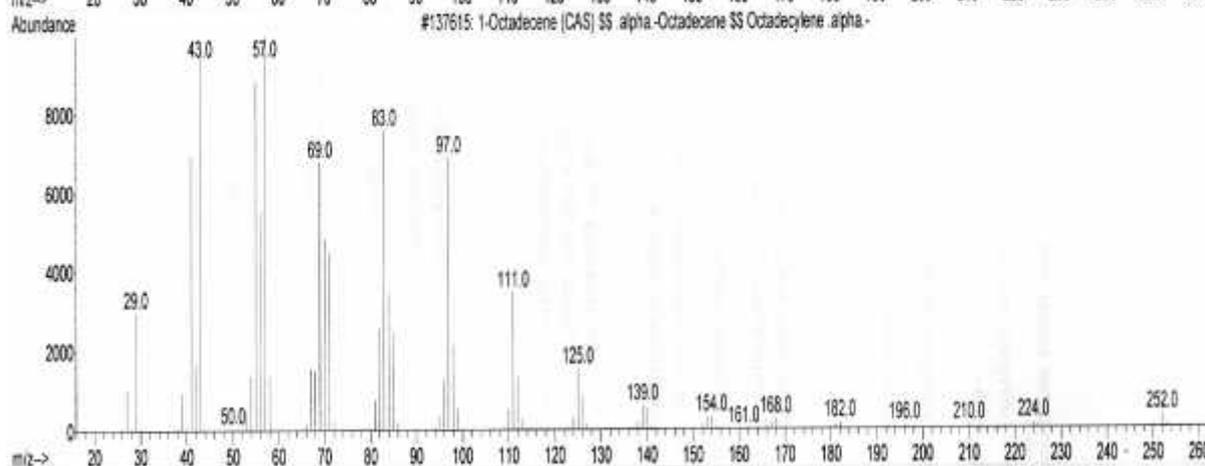
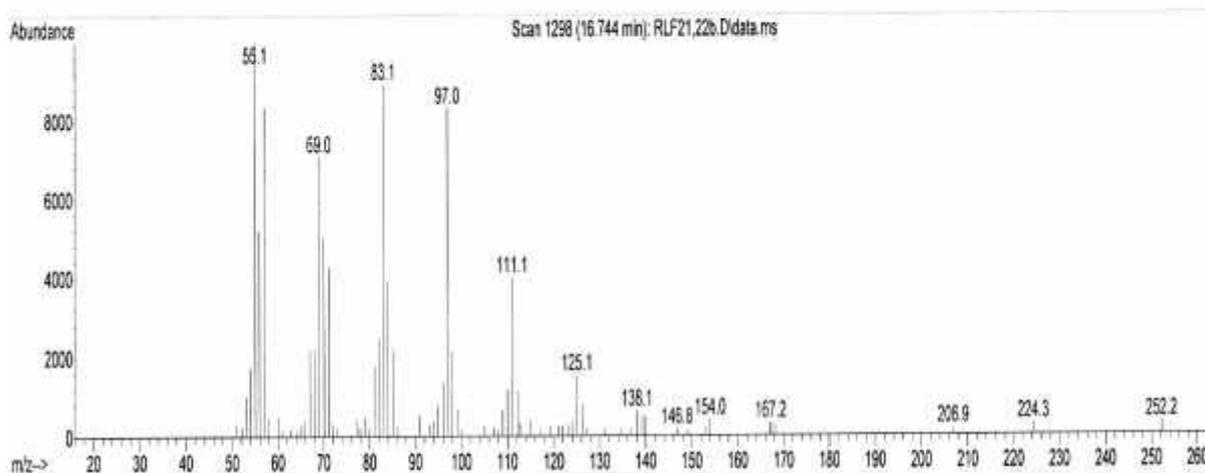
Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 94
ID : Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS) \$\$ 2,4-Di-tert-butylphenol \$\$ 2,4-BIS(TERT-BUTYL)-PHENOL \$\$ 2,4-Di-t-butylphenol \$\$ Phenol, 2,4-di-tert-butyl- \$\$ 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol \$\$ 2,4-Di-tert-butylphenol \$\$ 4-(1,5-Dimethylhex-4-enyl)cyclohex-



مع الشاهد (13.588 mn)		مطابقة الكتلة للعينة F21-F22			
-----------------------	--	------------------------------	--	--	--

12	F21-22	16.744	252.28	1-Octadecene	C₁₈H₃₆
-----------	---------------	---------------	---------------	---------------------	-------------------------------------

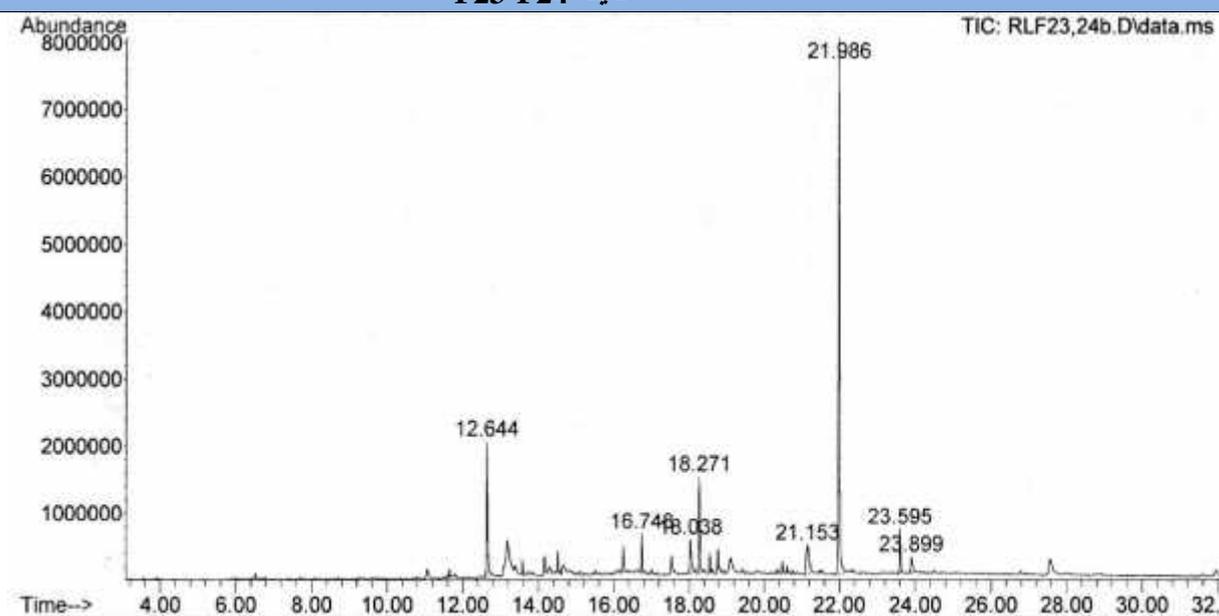
Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
Quality : 99
ID : 1-Octadecene (CAS) \$\$.alpha.-Octadecene \$\$ Octadecylene .alpha.-



مع الشاهد (16.744 mn)

مطيافية الكتلة للعينة F21-F22

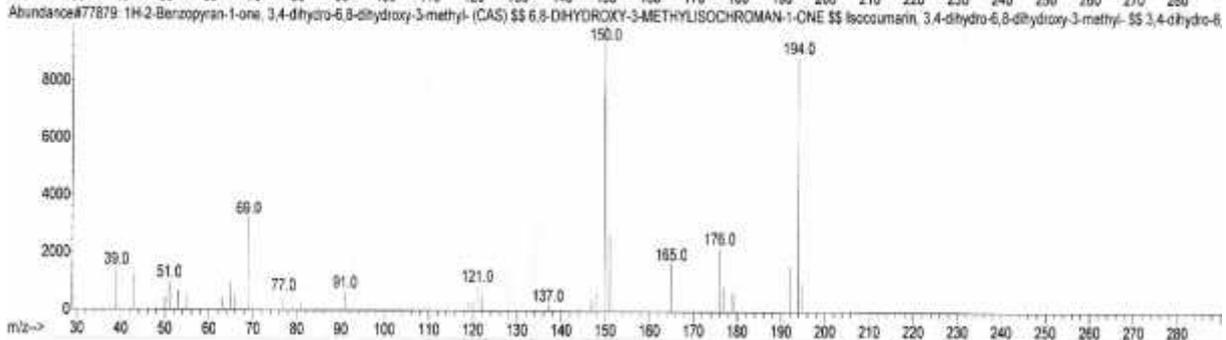
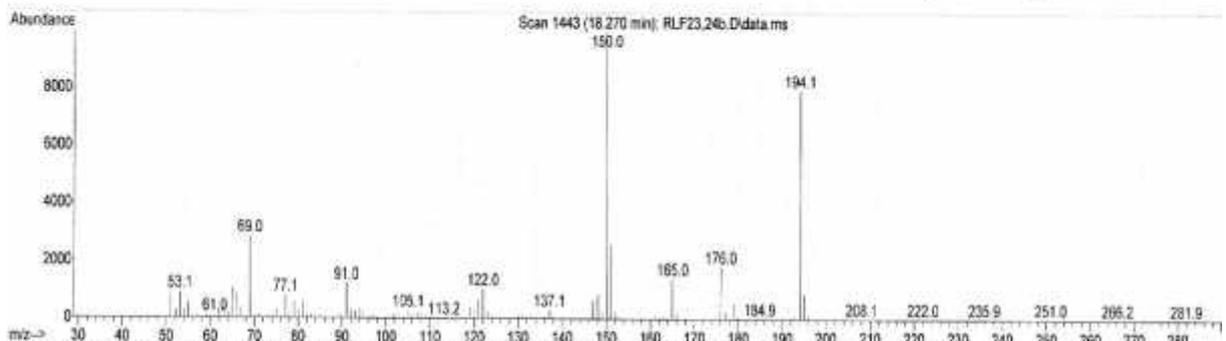
العينة F23-F24



13	F23-24	18.270	194.06	Isocoumarin, 3,4-dihydro-6,8-	C₁₀H₁₀O₄
-----------	---------------	---------------	---------------	--------------------------------------	--

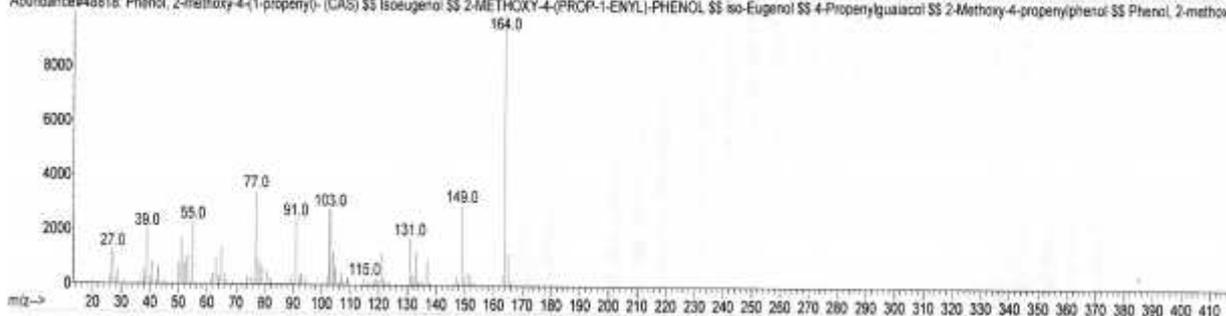
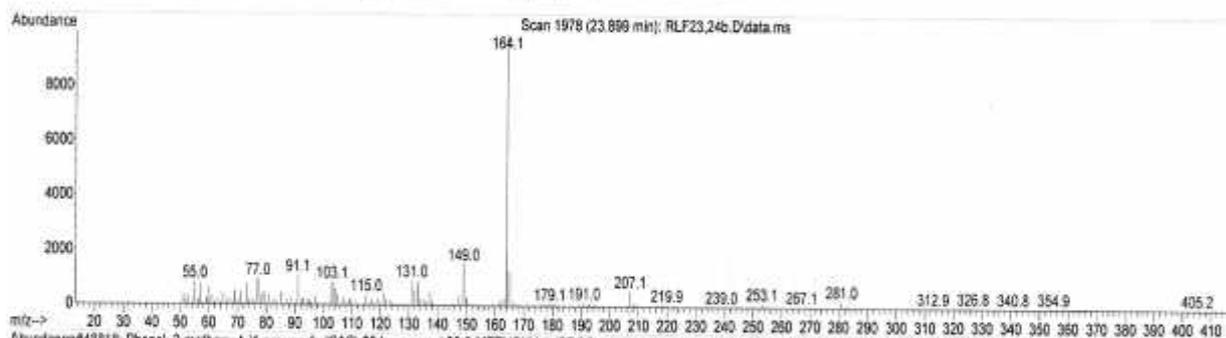
dihydroxy-3-methyl

Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
 Quality : 95
 ID : 1H-2-Benzopyran-1-one, 3,4-dihydro-6,8-dihydroxy-3-methyl- (CAS) \$\$ 6,8-DIHYDROXY-3-METHYLISOCROMAN-1-ONE
 \$\$ Isocoumarin, 3,4-dihydro-6,8-dihydroxy-3-methyl- \$\$ 3,4-dihydro-6,8-dihydro-3-methylisocoumarin



مع الشاهد (18.270 mn)		H613		مطابقة الكتلة للعينة F23-F24	
14	F23-24	23.899	164.08	isoeugenol	C₁₀H₁₂O₄

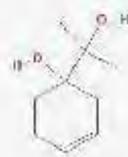
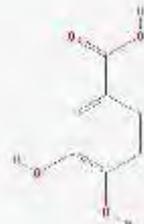
Library Searched : C:\Database\WILEY275.L
 Quality : 90
 ID : Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)- (CAS) \$\$ Isoeugenol \$\$ 2-METHOXY-4-(PROP-1-ENYL)-PHENOL \$\$ iso-Eugenol \$
 \$ 4-Propenylguaiacol \$\$ 2-Methoxy-4-propenylphenol \$\$ Phenol, 2-methoxy-4-propenyl- \$\$ 2-Methoxy-4-(1-prop
 enyl)phenol \$\$ 4-Hydroxy-3-methoxypropenylb

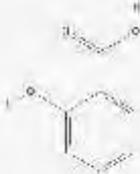


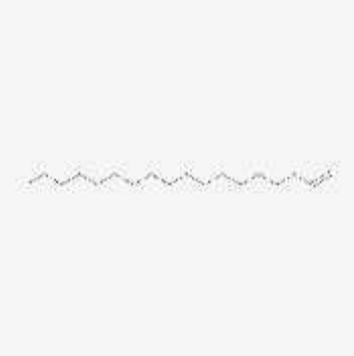
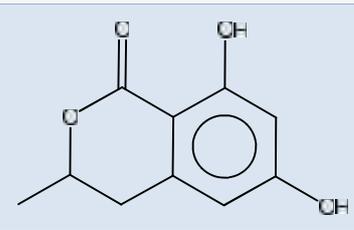
مع الشاهد (23.899 mn)		مطابقة الكتلة للعينة F23-F24			
-----------------------	--	------------------------------	--	--	--

بنية المركبات المتعرف عليها:

43: بنية المركبات المتعرف عنها عن طريق CPG-MS:

بنية المركب	
<p>Menth-1-ene-4,8-diol</p> <p>1-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methylcyclohex-3-en-1-ol</p>	 <p style="text-align: right;">1</p>
<p>Benzenepropanoic acid, .alpha., 4-dihydroxy-, methyl ester</p> <p>methyl 2-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate</p>	 <p style="text-align: right;">2</p>
<p>Loliolide</p> <p>6-hydroxy-4,4,7a-trimethyl-6,7-dihydro-5H-1-benzofuran-2-one</p>	 <p style="text-align: right;">3</p>
<p>Anisaldehyde</p> <p>4-methoxybenzaldehyde</p>	 <p style="text-align: right;">4</p>
<p>3,4-dihydroxybenzoic acid</p> <p>Protocatehuic acid</p>	 <p style="text-align: right;">5</p>

<p>Monomethyl succinate</p> <p>4-methoxy-4-oxobutanoic acid</p>				<p>6</p>
<p>Benzyl 1-naphthyl ether</p> <p>1-phenylmethoxynaphthalene</p>				<p>7</p>
<p>Salicylic acid</p> <p>2-hydroxybenzoic acid</p>				<p>8</p>
<p>Irganox 1076</p> <p>octadecyl 3-(3,5-ditert-butyl-4-hydroxyphenyl)propanoate</p>				<p>9</p>
<p>4-hydroxybenzoic acid</p> <p>p-Hydroxybenzoic acid</p>				<p>10</p>

<p>2,4-di-tert-butylphenol</p> <p>1-Hydroxy-2,4-di-tert-butylbenzene</p>		<p>11</p>
<p>1-Octadecene</p> <p>Octadec-1-ene</p>		<p>12</p>
<p>H613</p> <p>6-Hydroxymellein</p> <p>Isocoumarine, 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methyl</p>		<p>13</p>
<p>Isoeugenol</p> <p>2-Methoxy-4-propenylphenol</p>		<p>14</p>

كل هاته المركبات تم التعرف عليها عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الغازية المتزاوجة مع مطيافية الكتلة CPG-MS ومن بين المركبات المتعرف عليها نجد المركب **H613** والذي ظهر في الكروماتوغرام الكسر

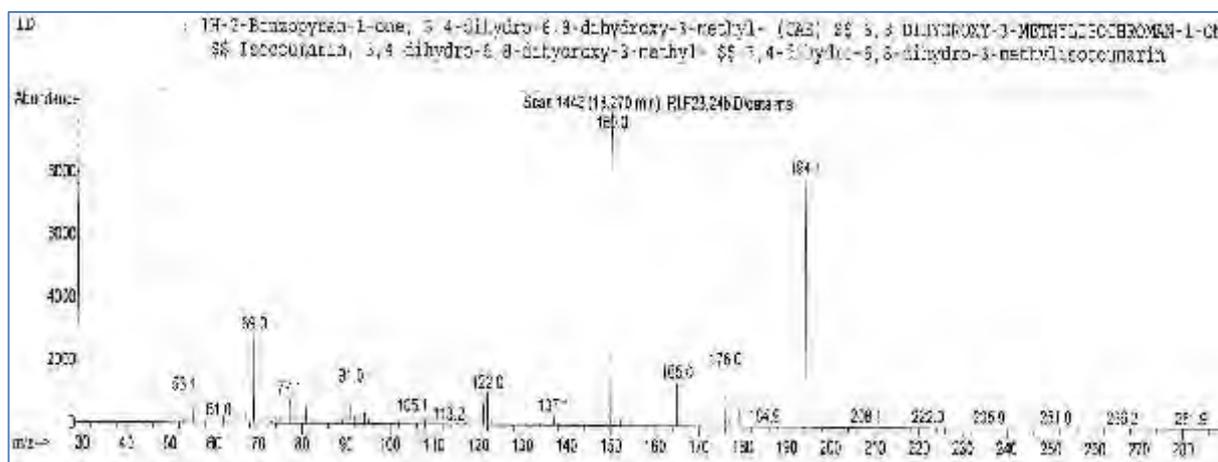
(18.270) وهو المركب و الذي يعد الأكثر أهمية من بين المركبات

F23-24

التعرف عليها وهو (Isocoumarine, 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methyl).

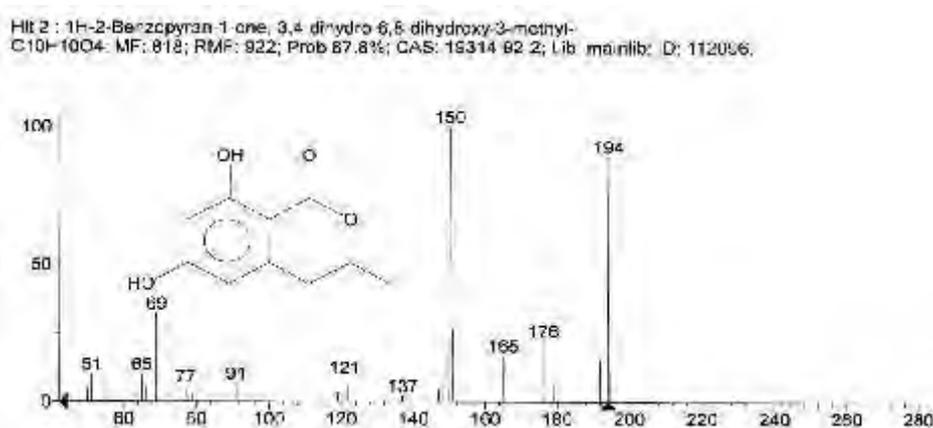
معينة طيف الكتلة H613

عند معاينة طيف الكتلة لهذا المركب (H613) نجد المعطيات التالية:



153: طيف الكتلة للمركب H613

- الصيغة العامة للمركب هي (C₁₀H₁₀O₄).
- قمة الأيون الجزيئي (m/z 194) و تمثل هذه القمة (M⁺, 194, 90.3%).
- (m/z 150) و هي القمة الأكبر (base peak) (M-44. 99.9%) CO₂.
- تكسيرة عند (m/z 121) وهي بفقدان CO₂ HCO (M-44-29).
- تكسيرة أخرى عند (m/z 176) H₂O (M-18).
- تكسيرة أخرى عند (m/z 165) HCO (M-29).
- تكسيرة عند (m/z 137) CO HCO (M-29-28).
- و قد تم مقارنة الطيف مع الشاهد في المكتبة الجهاز CPG-MS 154

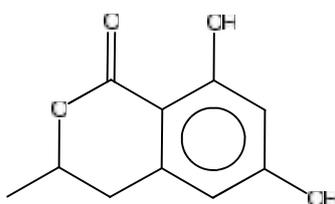


154: طيف الكتلة في مكتبة الجهاز

تطابق طيف الكتلة للمركب H613 مع الشاهد إلى حد كبير والمركب المتعرف عليه هو:

(6-Hydroxymellein) Isocoumarine, 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methyl

[1]



6-Hydroxymellein

[1]. Shimada, A., Kusano, M., Takeuchi, S., Fujioka, S., Inokuchi, T., Kimura, Y. (2002). Aspterric Acid and 6-Hydroxymellein, Inhibitors of Pollen Development in *Arabidopsis thaliana*, Produced by *Aspergillus terreus*. *Z. Naturforsch.* 57, 459-464.

الفصل الخامس

الفعالية البيولوجية للنوع

Daucus aureus

Anti AGEs

دراسة الفعالية البيولوجية Anti AGEs

Daucus aureus Dsef.

الفعالية البيولوجية Anti AGEs : مثبطات النواتج النهائية للجلكزة المتقدمة

Anti AGEs: (AGEIB) (Advanced glycation end-products inhibitors and breakers)

1. :

يعد داء السكري من الأمراض الواسعة الانتشار وتبدأ أعراضه بمصاحبة مضاعفات خطيرة التهاب الأعصاب واعتلال الشبكية ، حيث يعتبر الاعتلال وهو يتسبب في الوفاة. كما يعد أيضا سبب في الفشل الكلوي المزمن الذي يتطلب غسلا كلويا. تساهم ميكانيكيات عديدة في حدوث الاعتلال الكلوي ومن بينها تراكم وتنشيط إنزيم بروتين كيناز سي (Protéine kinase C) وغيرها.

و يعتبر الأماينوجوا دين (*Aminoguanidine*) واحدا من بين المثبطات الذي تم دراسته والذي يـ الإرتباط بالسكريات و بالتالي منعها من الإرتباط بالمجموعات (*Lysine*) من البروتينات [1]، كما يعتبر الأماينوجوا دين للإلتهابات أيضا [2] [3].

وهناك عدد من الدراسات أجريت على جردان تعاني من مرض السكري بحيث أدى إعطاء الأماينوجوا دين إلى البعض منها دون الأخرى إلى الزيادة في معدلات البقاء على قيد الحياة للتي أعطيت الأماينوجوا دين. ويؤدي هذا الأخير إلى خفض ارتفاع الكرياتينين في مصل الدم وتقليل كمية البول وكمية الزلال كمية البروتين البولي بصورة ملحوظة. كما عدل الأماينوجوا دين من التغيرات الغير الطبيعية في مستوى الدهون، وإستطاع أيضا تحسين التغيرات النسيجية والزيادة في الصبغة المناعية لنواتج الجلـك [4].

النواتج النهائية للجلكزة المتقدمة (AGEs) مساعدة في الكثير من الأمراض، مرض والأمراض العصبية. كما أنها مسؤولة عن بعض التعديلات في الأنسجة و من بين أهم هذه النواتج نذكر منها *Vesperlysine Argpyrimidine Pentosidine* وغيرها.

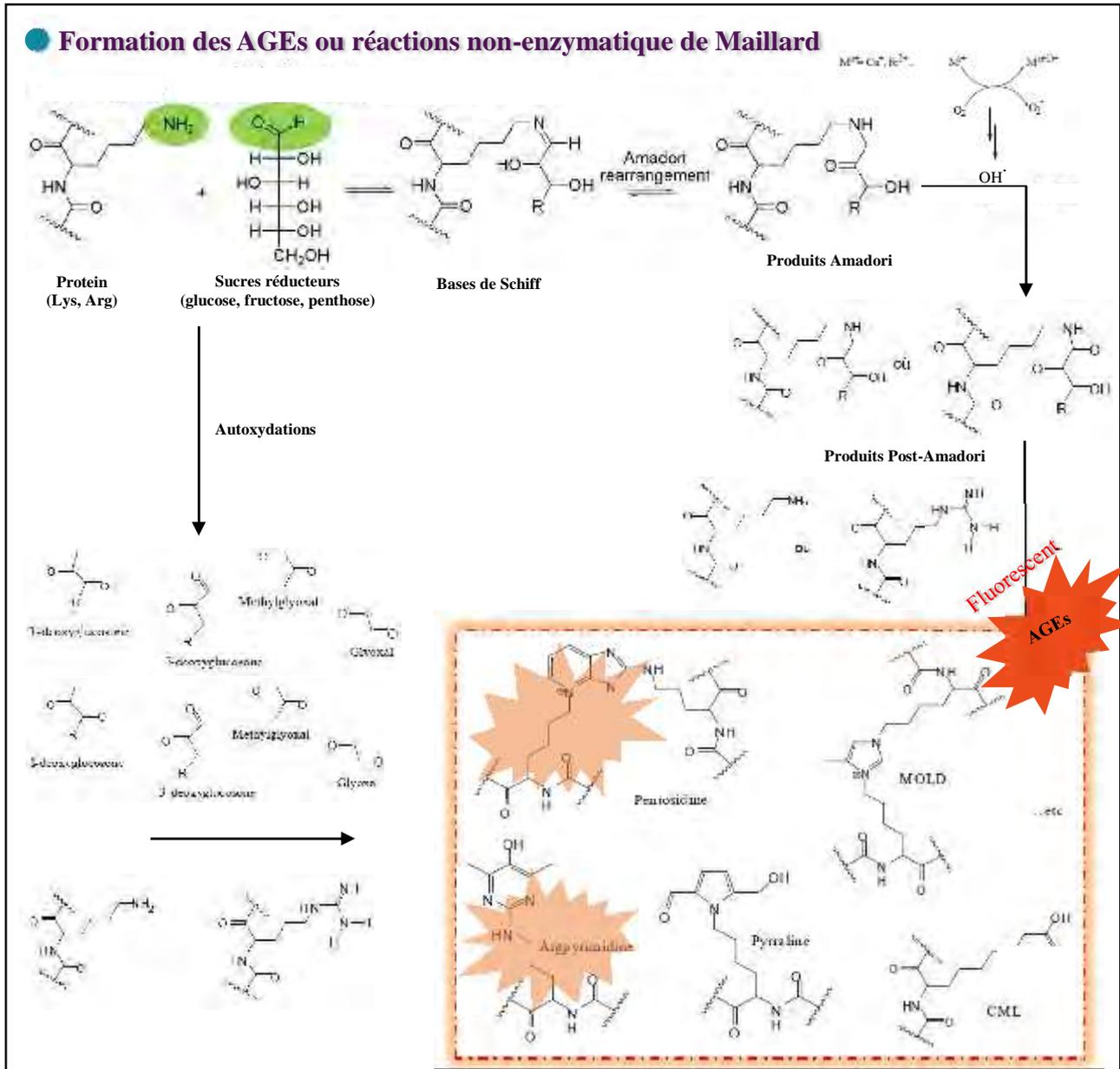
بينت	السريرية	المرضى بالسكري أيضا قدرة الأماينوجواندين	التعديل
البروتينات الدهنية	(LDL)	تشكيل لويحات	الشرابين
أنه مكن من التقليل إلى حد كبير في	نسبة البروتينات الموجودة		بجة

[5].

2. التفاعلات اللاإنزيمية لـ Maillard:

يكون مصدر تشكل (AGEs) نواتج النهائية للجلكزة (إضافة السكر) التفاعلات اللاإنزيمية لـ Maillard (01). تتدخل هذه النواتج (AGEs) في إحداث العديد من الإصابات المرضية كداء السكري و الأمراض العصبية، يمكنها النسيجية العضوية لهذه (AGEIB) لتشكلها ممكن ان نجدها في أدوية غذائية تجميلية.

01 يوضح كيفية تشكل نواتج النهائية للجلكزة المتقدمة (AGEs) عن طريق تفاعلات غير إنزيمية لـ Maillard.

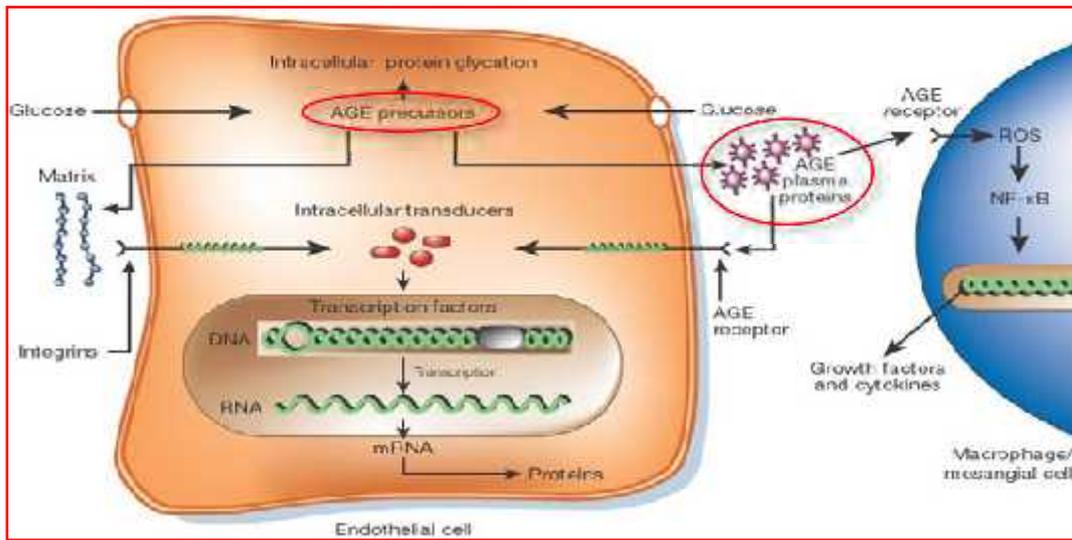


01: (AGEs) طريق غير إنزيمية Maillard.

01 يمثل مخطط مبسط لكيفية إرتباط مجموعات الأمينات و الأحماض الأمينية م (Lysine) (Arginine) مع وظيفة الكربونيل لسكريات لتشكل قواعد شيف (Bases de Schiff) و إعادة الترتيب لهذه الأخيرة تعطي مركبات أمادوري (Produits Amadori). يلي هذه المرحلة التي تعتبر تفاعلاتها عكسية الغير عكوسة (Oxydations) (déshydratations) (Cyclisations) مما يؤدي إلى تشكل المنتجات النهائية للجلكرة (AGEs) و التي لها تأثيرات .

3. (AGEs) و مساهمتها في الإختلال الوظيفي:

ارتفاع نسبة السكر في الدم وبخاصة إذا امتد هذا الارتفاع لفترات طويلة، فإن السكريات تتفاعل مع البروتينات لتشكل المنتجات النهائية للجلكرة عليها إسم (AGEs). وهذا ما يؤدي إلى الإختلال الوظيفي الباطني كما تشارك في حدوث مضاعفات على مستوى الأوعية الدموية عند مريض السكري و 02 يوضح ذلك [6].



02 : النهائية مساهمتها الوظيفي .

4. الطريقة المتبعة:

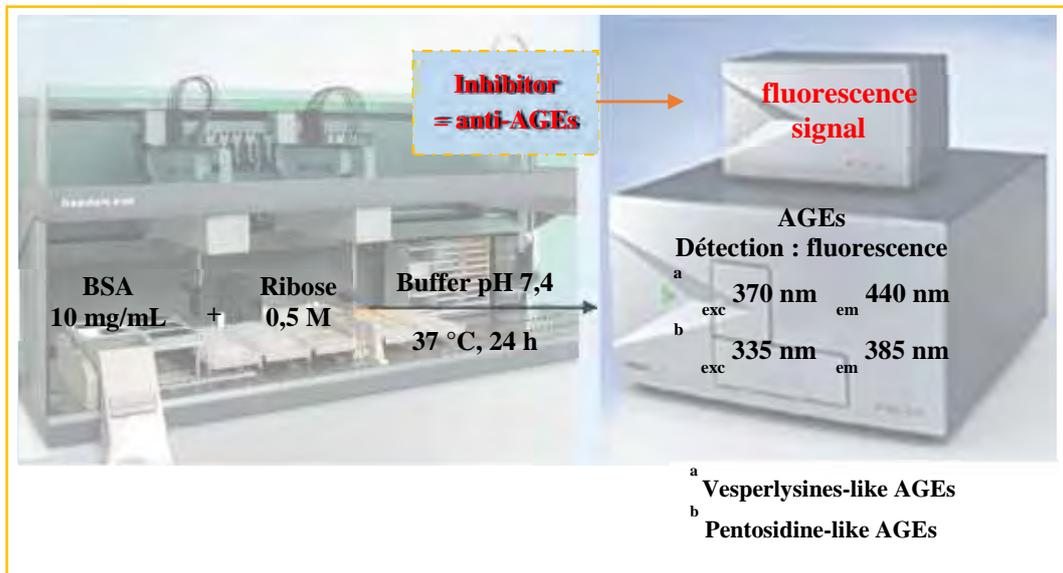
بعد إجراء عملية *Daucus aureus* أجري هذا الهيكسان و الكلوروفورمي و الأسياتني و البيوتانولي حتى المستخلص الميثانولي.

1.4 التجريبي:

الطريقة المتبعة تقييم التثبيطي () قيد الدراسة لها على التثبيطي او التدمير المنتجات النهائية للجلكرة (AGEIB) طريقة Vinson [7]

حيث (AGEs) يتم التقدير (Albumine) السكريات مطيافية (Spectrofluorimétrie) تشكلها .
 Derbré [8] طريقة (AGEIB) بصفيحة 96 (Puits) التقييمي بحيث تستطيع
 تحديد الملائمة للإجراء هذا النوع من كميّة (AGEs)
 وتعتمد هذه الطريقة على وجود:

- (AGEs) طريق (Spectrofluorimétrie): بحيث نستعمل نوعين من AGEs وهما
 Vesperlysine Pentosidine بحيث الأول يظهر عند 370 (exc)
 440 (em) يظهر عند 335 (exc)
 385 (em)
- طبيعة وتركيز البروتين: (Albumine) (BSA) 10 / .
- : الريبوز 0.5 (M) / .
- الفيزيولوجية: 37 ° 50 (mM) (pH= 7.4).
- : 24 .



03: التجريبي Anti-AGEs.

2.4. الطريقة التجريبي :

تم تطوير اختبار لمعاينة Mallaird-fluorescence بغرض تقييم المركبات الكيميائية التي لها قد تثبيطية (AGEs). (BSA 10 /) الريبوز (D-ribose) بتركيز 0.5

أو المستخلص قيد الفحص بتركيز (3.10^{-3} / 3.10^{-6}) (M) /
 بالصفيحة ذات الـ 96 (/ 1 10^{-6})
 (pH= 7.4) (mM) 50 (/ ° 37) 24 / °

يتم قياس (AGEs) (spectrofluorimètre Infinité M200) وهذا عند
 440 : (λ_{em}) 370 : (λ_{exc})
 385 : (λ_{em}) 335 : (λ_{exc}) Vesperlysin
 .Pentosidine

ظاهرة النقع لا بد أن يكون الإستشعاع الناتج عن الحضان في كل عملية قياس تحت
 BSA (10 /) و تركيز المستخلص (10^{-6} / 1) تكرر العملية
 قيم تركيز 50 % تثبيط (IC_{50}) ومقارنتها
 aminoguanidine (2) 3 (M).

$$Inhibition\ Percent = \frac{Fluorescence\ Intensity\ FI\ Control - FI_{Test}}{FI\ Control} \times 100$$

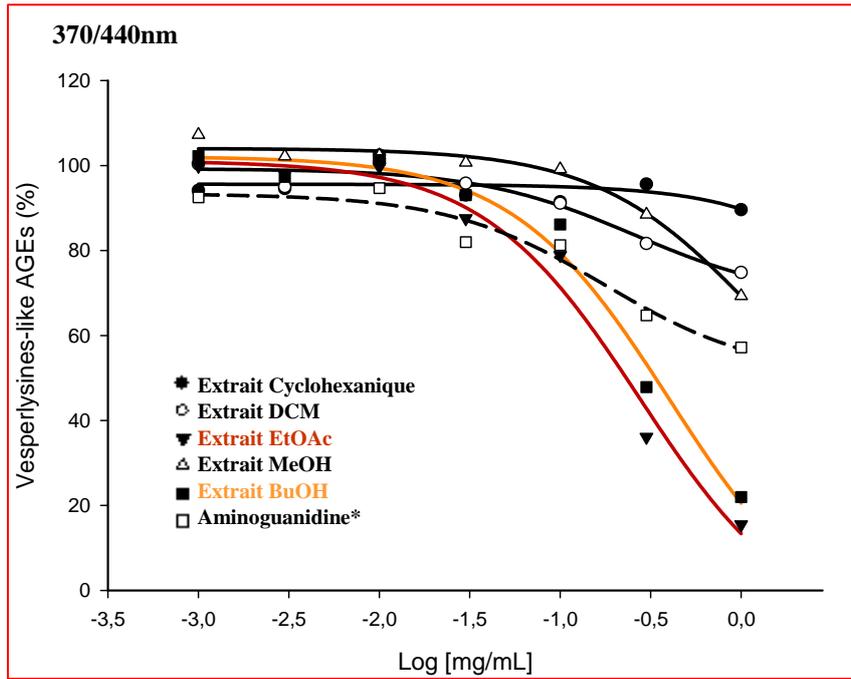
بحيث نقول أن هناك تثبيط (AGEs) إذا كانت القيم تركيز المركب لـ 50 % تثبيط (IC_{50})
 المتحصل عليها أقل من قيم تركيز لـ 50 % تثبيط (IC_{50}) لشاهد، بينما إذا كانت القيم تركيز المركب لـ
 50 % تثبيط (IC_{50}) أكبر من قيم (IC_{50}) لشاهد يعني في هذه الحالة عدم حدوث تثبيط لـ تشكل الـ (AGEs).

5. نتائج فحص الفعالية (AGEIB):

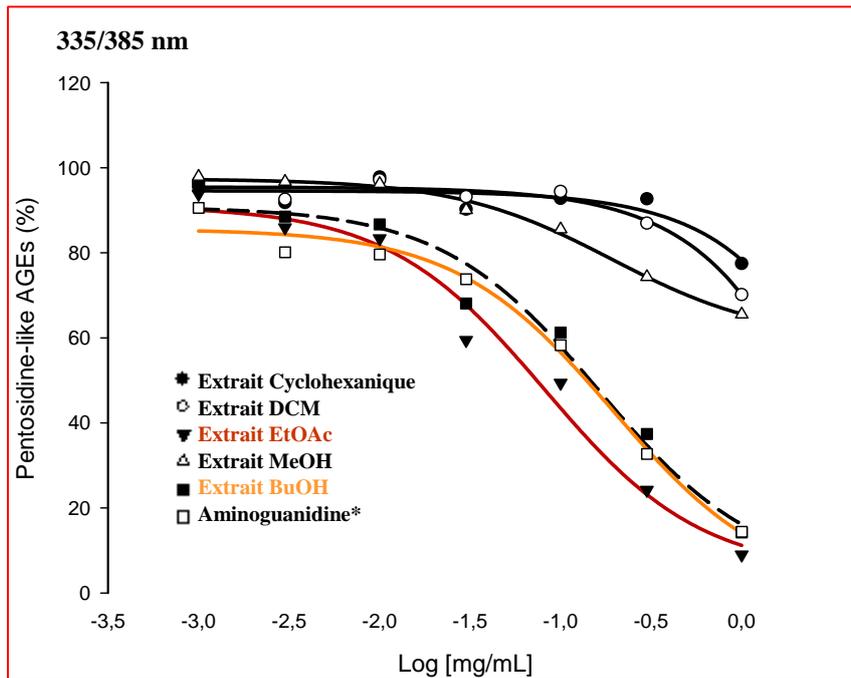
: Vesperlysin Pentosidine

01: الفعالية Anti AGEs

Daucus aureus extracts	Concentration inhibiting 50% of Pentosidine -like AGEs Formation (IC_{50} , mg/mL) 335/385nm	Concentration inhibiting 50% of vesperlysin -like AGEs Formation (IC_{50} , mg/mL) 370/440nm
<i>Aminoguanidine*</i>	Pentosidine :0,19 mg/mL (1,7 mM)	370/440nm : > 1 mg/mL (> 10 mM)
Extrait Cyclohexanique	Pentosidine : > 1 mg/mL	370/440nm : > 1 mg/mL
Extrait DCM	Pentosidine : > 1 mg/mL	370/440nm : > 1 mg/mL
Extrait EtOAc	Pentosidine : 0,08 mg/mL	370/440nm : 0,28 mg/mL
Extrait MeOH	Pentosidine : > 1 mg/mL	370/440nm : > 1 mg/mL
Extrait BuOH	Pentosidine : 0,17 mg/mL	370/440nm : 0,40 mg/mL



04: فعالية مستخلصات النبتة *Daucus aureus* Vesperlysine



05: فعالية مستخلصات النبتة *Daucus aureus* Pentosidine

6. تحليل نتائج فحص الفعالية (AGEIB):

أظهرت نتائج الفحص للفعالية البيولوجية (Anti-AGEs) أو تثبيط النهائية

(AGEIB) *Daucus aureus* و هذا مع المركبين Vesperlysine Pentosidine

يعتبران من نواتج النهائية للغلوكزة المتقدمة (AGEs) أنه:

٤٨ فعالية المستخلصات Vesperlysine:

من خلال المنحنيات الممثلة لمستخلصات النبتة *Daucus aureus* و هذا في الكروماتوغرام الشكل 04 يتضح ان شدة الإشعاع (Vesperlysine-lake AGEs %) في منحنيي المستخلصين البيوتانولي و الأسيتاتي تتناقص مع الزيادة في التركيز و هذا بمستويات أقل من المركب الشاهد (*Aminoguanidine*) وهذا يفسر وجود فعل تثبيطي جيد لتشكل Vesperlysine-lake AGEs وهذا ما تأكده قيم (IC₅₀) للمستخلصين البيوتانولي و الأسيتاتي في الجدول 01 للنتائج بالقيمة 0.40 / 0.28 مغ/مل على التوالي وهي قيم أقل من قيمة (IC₅₀) للمركب الشاهد (*Aminoguanidine*) 1 / .

و أما بالنسبة لمنحنيات بقية المستخلصات (الهكساني، الكلوروفورمي، الميثانولي) فنلاحظ أن نسبة (Vesperlysine-lake AGEs %) عالية مع الرغم من زيادة تركيز المستخلصات وهذا مقارنة مع مستويات المركب الشاهد (*Aminoguanidine*) و هذا من خلال كروماتوغرام الشكل 04، كما يتبين أيضا من خلال الجدول أن قيم (IC₅₀) لهذه المستخلصات أكبر من 1 مغ/مل وهي قيم كبيرة مقارنة مع قيمة المركب الشاهد 1 مغ/مل. ما يفسر غياب الفعل التثبيطي لهذه المستخلصات.

٤٩ فعالية المستخلصات مع Pentosidine:

منحنيات *Daucus aureus* و هذا في 05
يتضح ان شدة الإشعاع (Pentosidine-lake AGEs %) نحنيي المستخلصين البيوتانولي و الأسيتاتي لزيادة في التركيز و هذا بمستويات أقل من المركب الشاهد (*Aminoguanidine*) وهذا يفسر وجود فعل تثبيطي جيد Pentosidine-lake AGEs وهذا ما تأكده قيم (IC₅₀) للمستخلصين البيوتانولي و الأسيتاتي 01 للنتائج بالقيمة 0.17 / 0.08 مغ/مل وهي قيم أقل من قيمة (IC₅₀) للمركب الشاهد (*Aminoguanidine*) 0.19 / .

لمنحنيات بقية المستخلصات (الهكساني، الكلوروفورمي، الميثانولي)
(Pentosidine-lake AGEs %) عالية مع الرغم من زيادة تركيز المستخلصات وهذا مقارنة مع مستويات المركب الشاهد (*Aminoguanidine*) و هذا من خلال كروماتوغرام الشكل 05، كما يتبين أيضا من خلال الجدول أن قيم (IC₅₀) لهذه المستخلصات أكبر من 1 مغ/مل وهي قيم كبيرة مقارنة مع قيمة المركب الشاهد والمقدرة بـ 0.19 مغ/مل. ما يفسر غياب الفعل التثبيطي لهذه المستخلصات.

.7 :

من خلال الكروماتوغرام الشكلين 05 06 01 للنتائج يتبين أن كل
من المستخلصين البيوتانولي و الأسيتاتي لهما فعالية بيولوجية تتمثل في تثبيط تشكل
Vesperlysine-lake AGEs حيث أبدى كل منهما فعالية تثبيطي جيد
Pentosidine-lake AGEs ضلية للمستخلص الأسيتاتي على حساب المستخلص البيوتانولي هذا مقارنة
مع المركب الشاهد (Aminoguanidine) الذي يعتبر من أفضل المثبطات لـ
النهائية
(AGEIB).

-
- [1]. Corman, B., Duriez, M., Poitevin, P., Heudes, D., Bruneval, P., Tedgui, A., Levy, B.I. (1998). Aminoguanidine prevents age-related arterial stiffening and cardiac hypertrophy. *The National Academy of Sciences*. 95, 1301-1306.
- [2]. Dobak, P., Courderot, M.C., Siegelova, J., Svacinova, H., Jancik, J., Vergely, V.C., Rochette, L. (2001). Antioxidant Properties of Aminoguanidine : A Paramagnetic Resonance Test. *Scripta Medica Facultatis Medicae Universitatis Brunensis Masarykianae*. 74, 45-50.
- [3]. Farhad, A.R., Razavi, S., Jahadi, S., Saatchi, M. (2011). Use of aminoguanidine, a selective inducible nitric oxide synthase inhibitor, to evaluate the role of nitric oxide in periapical inflammation. *Journal of oral science*. 53, 225-230.
- [4]. Friedman, E.A., Distant, D.A., Fleishhacker, J.F. (1997). Aminoguanidine prolongs survival in azotemic-induced diabetic rats. *American J of Kidney Diseases*. 30, 253-259.
- [5]. Makita, Z., Yanagisawa, K., Kuwajima, S. (1995). Advanced glycation end-products and diabetic nephropathy. *J. Diabetes Complications*. 9, 265-268.
- [6]. Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 414, 813-820.
- [7]. Vinson, J.A., Howard, T.B. (1996). Inhibition of protein glycation and advanced glycation en products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 7, 656-663.
- [8]. Derbré, S., Pelleray, A., Coulon, L., Séraphin, D., Richomme, P. (2010). Automting a 96-well microtiter plate assay for advanced glycation end-products inhibitors or inducers identification : application to the screening of a small natural compounds library. *Analytical and bioanalytical Chemistry Journal*. 398, 1747-1758.

الختام

الخاتمة

اهتمامنا في هذا البحث على الـ مادة الأيض الثانوي الغنية بمركبات ذات فعالية بيولوجية وخاصة منها الفلافونيدية التي كان تركيزنا منصبا عليها وقد خصصنا هذه الدراسة نوعين للعائلة الخيمية هما *Daucus aureus* Desf. *Reutera lutea* Desf. دراسة الفعالية البيولوجية للأخيرة.

ومن خلال الدراسة الفيتوكيميائية لكل من المستخلصين البيوتانولي والأسيتاتي لكنتي نبتتين مختلف الطرق الكروماتوغرافية من CC CCM HPLC CPG-MS وغيرها وباستعمالنا أيضا لمختلف طرق التنقية، تم عزل عدة مركبات تم التعرف على البعض منها بمختلف الطرف التحليل الطيفي من UV Electrospray $RMN-^1H$ $RMN-^{13}C$ Dept 135 كذلك مطيافية الرنين المغناطيسي ثنائية البعد من Cosy HMBC HMQC الإماهة الحمضية.

7 مركبات فلافونيدية و إيزوكومارين و 13 لم يتعرف عليها بعد، ومن المركبات التي تم التعرف عليها:

- Isoorientin 6''-O-acetate.
- Isoorientin.
- Quercetin-3-O-glucoside.
- Rutin.
- Apigenin-7-O-glucoside.
- Luteolin-7-O-glucoside.
- Quercetin.
- 6-Hydroxymellein.

Reutera lutea Desf. فكل المركبات المعزولة تم عزلها للمرة الأولى في الجنس *Reutera*.

وهي: Isoorientin 6''-O-acetate Isoorientin Quercetin-7-O-glucoside Rutin Quercetin
.6-Hydroxymellein

Daucus aureus Desf.

Anti-AGEs البيولوجية الفعالية

مستخلص الهكساني و الكلوروفورمي و الأسييتاتي وكذا البيوتانولي.

قد أعطى كل من المستخلصين الأسييتاتي و البيوتانولي فعالية جيدة لهذا النوع من الفعالية لبيولوجية.

كما ثمنت هذه الدراسة بمنشورة دولية بعنوان:

Makhloufi. E, Akkal. S, Medjroubi. K, Elomri. A, Laouer. H, Verité. P and Seguin. E. (2013). Chemical constituents of the extract Algerian *Reutera lutea* (Desf.) Maire, (Apiaceae). Pharmacognosy Communications. 41-44.

Pharmacognosy Communications
Volume 3 | Issue 2 | Apr-June 2013
www.phcogcomm.org

Research Article

Chemical constituents of the extract Algerian *Reutera lutea* (Desf.) Maire, (Apiaceae)

Makhloufi E¹, Akkal S¹, Medjroubi K¹, Elomri A², Laouer H³, Verité P² and Seguin E²

¹Laboratoire de Phytochimie et Analyses physicochimiques et Biologiques, Département de Chimie, Faculté de Sciences exactes, Université Mentouri Constantine, Route d'Ain el Bey, 25000 Constantine, Algérie
²Université de Rouen, UMR CNRS 8014, COBRA, UFR Médecine-Pharmacie, 22 Bd Gambetta, 76000 Rouen, France
³Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles Biologiques, Département de Biologie, Université Ferhat Abbas de Sétif, Algérie

ABSTRACT: Phytochemical analysis of the aerial parts of *Reutera lutea* (Apiaceae), resulted in the isolation of two flavonoid C-glucosides and isocoumarin. The structures of the compounds were established as Isoorientin (1), Isoorientin 6'-O-acetate (2) and 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methylisocoumarin (3). The structures of all compounds were elucidated by spectroscopic methods, including (1D and 2D NMR, UV, MS).

KEYWORDS: Apiaceae, *Reutera lutea*, flavonoid, C-glucosides, Isocoumarin

Research Article

Chemical constituents of the extract Algerian *Reutera lutea* (Desf.) Maire, (Apiaceae)

Makhloufi E¹, Akkal S¹, Medjroubi K¹, Elomri A², Laouer H³, Verité P² and Seguin E²

¹Laboratoire de Phytochimie et Analyses physicochimiques et Biologiques, Département de Chimie, Faculté de Sciences exactes, Université Mentouri Constantine, Route d'Ain el Bey, 25000 Constantine, Algérie

²Université de Rouen, UMR CNRS 6014, COBRA, UFR Médecine-Pharmacie, 22 Bd Gambetta, 76000 Rouen, France

³Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles Biologiques, Département de Biologie, Université Ferhat Abbas de Sétif, Algérie

ABSTRACT: Phytochemical analysis of the aerial parts of *Reutera lutea* (Apiaceae), resulted in the isolation of two flavonoid C-glucosides and isocoumarine. The structures of the compounds were established as Isoorientin (**1**), Isoorientin 6''-O-acetate (**2**) and 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methylisocoumarin (**3**). The structures of all compounds were elucidated by spectroscopic methods, including (1D and 2D NMR, UV, MS).

KEYWORDS: Apiaceae, *Reutera lutea*, flavonoid, C-glucosides, Isocoumarin

INTRODUCTION

Apiaceae Lindl. (Umbelliferae Juss.) is one of the best known families of flowering plants,^[1] many species of this family are widely used in local herbal medicine and food owing to their wide spectrum of pharmacological activities.^[2] The aim of the paper in hand is to undertake a phytochemical and biological assessment of one of the Algerian flora's medicinal plants known as *Reutera lutea* (syn. *Pimpinella lutea* Desf., *R. Fontanesii* Boiss).^[3] Diverse separation and purification methods of the methanolic extract of the *Reutera lutea* have led to the isolation of two flavonoid C-glucosides and one isocoumarin. As well as by comparison with literature data, the isocoumarine already described for the genus *Arabis*.^[4]

However, such C-glucosides are not of common occurrence within the genus *Reutera*. To our knowledge no reports on the isolation of any secondary metabolites from *R. Lutea* is available to date.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

The aerial parts of *R. lutea* were collected at the flowering stage at Gouraya National Parc (Near Yema Gouraya) (elevation 600 m) in North Algeria and authenticated by Dr Nacira Boulaacheb. A voucher specimen was deposited in the Department of biology and ecology vegetal (University of Setif, Algeria).

Extraction and isolation

Air-dried and powdered aerial parts (1kg) of *Retura lutea* were macerated in methanolic solution (70%) at room temperature. The residue was filtered, concentrated then successively extracted with n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol. The butanolic and acetate extracts were concentrated under reduced pressure. The butanolic extract was subsequently subjected to polyamide column chromatography eluting with a system of toluene-methanol, starting the elution with toluene and gradually increasing the polarity of the solvent by addition of the methanol, and finally with 100% methanol to afford 25 fractions. After evaporation, fraction 16 gave a yellow precipitate which, after being washed several times with methanol, was identified as a flavonoid (compound 1) (Figure 1). Nevertheless, fraction 15 was chromatographed through a silica gel column using an isocratic system of ethyl acetate:methanol:water (8:1:1) to give another flavonoid (compound 2) (Figure 2).

*Correspondence

Prof. Salah Akkal

Laboratory of Phytochemistry, University of Constantine 1, Algeria

Fax: +21331818885

E-mail: salah4dz@yahoo.fr

DOI: 10.5530/pc.2013.2.9

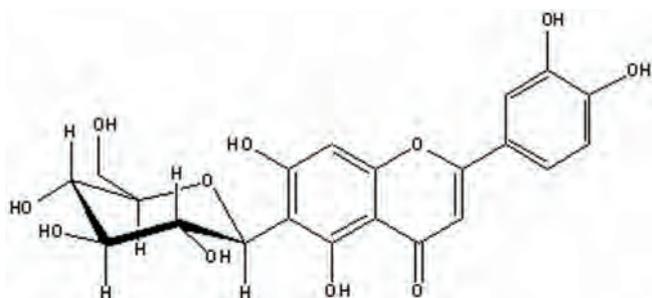


Figure 1. Compound 1 (Isoorientin).

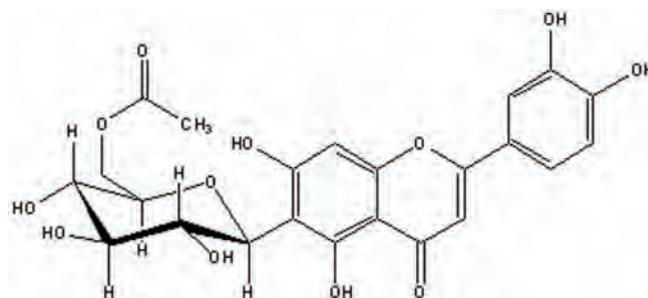


Figure 2. Compound 2 (Isoorientin 6''-O-acetate).

The ethyl-acetate extract was evaporated and chromatographed on silica gel eluting with a system of dichloromethane-ethyl acetate then with a system of ethyl acetate-methanol, starting the elution with dichloromethane and gradually increasing the polarity of the solvent by addition of the ethyl acetate, and finally with 100% ethyl acetate then elution with ethyl acetate and gradually increasing the polarity of the solvent by addition of the methanol, and finally with 100% methanol to provide 30 fractions. An isocoumarin compound (compound 3) was isolated in fraction 24 by using gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) technique (Figure 3).

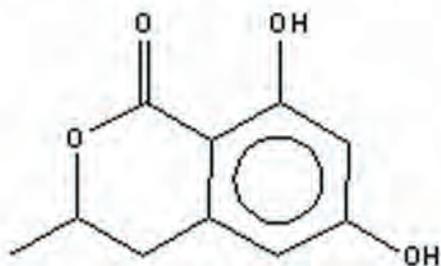


Figure 3. Compound 3 (3,4-dihydro-6,8-dihydroxy-3-methyl-isocoumarin).

The structure elucidation of the isolated compounds was performed on the basis of the spectroscopic data (1D and 2D NMR, UV, MS).

RESULTS AND DISCUSSION

Compound 1: Isoorientin (Luteolin 6-C-glucoside), (Figure 1, Table 1)

The molecular formula of compound 1 was determined as $C_{21}H_{20}O_{11}$ by electrospray mass spectrum, peak at m/z 449 $[M+H]^+$. The 1H -NMR and ^{13}C -NMR spectral data of compound 1 indicated a Isoorientin.^[5-8]

1H NMR: (300 MHz, DMSO- d_6 , δ in ppm) data: 13.57 (1H, brs, 5-OH), 7.44 (1H, dd, $J = 8.2$ Hz, 2.2 Hz, 6'-H), 7.40 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, 2'-H), 6.89 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, 5'-H), 6.68 (1H, s, 3-H), 6.48 (1H, s, 8-H), 4.58 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, 1''-H).

^{13}C NMR: (300 MHz, DMSO- d_6 , δ in ppm) data: 163.6 (C-2), 102.7 (C-3), 181.8 (C-4), 160.6 (C-5), 108.8 (C-6), 163.3 (C-7), 93.4 (C-8), 156.1 (C-9), 103.3 (C-10), 121.3 (C-1'), 113.2 (C-2'), 145.7 (C-3'), 149.7 (C-4'), 116.0

Table 1: 1H (300 MHz) and ^{13}C (100 MHz) NMR data of compound 1 (DMSO- d_6 , TMS, δ ppm)

No	δ_H (J Hz)	δ_C	DEPT	No.	δ_H (J Hz)	δ_C	DEPT
2		163.6	C	3'		145.7	C
3	6.68 s	102.7	CH	4'		149.7	C
4		181.8	C	5'	6.89 d (8.2)	116.0	CH
5	13.57 (5-OH)	160.6	C	6'	7.44 dd (8.2, 2.2)	118.9	CH
6		108.8	C	1''	4.58 d (9.8)	73.0	CH
7		163.3	C	2''		70.6	CH
8	6.48 s	93.4	CH	3''		78.9	CH
9		156.1	C	4''		70.1	CH
10		103.3	C	5''		81.6	CH
1'		121.3	C	6''		61.4	CH ₂
2'	7.40 d (2.2)	113.2	CH				

Table 2: ¹H (300 MHz) and ¹³C (100 MHz) NMR data of compound 2 (DMSO-d₆, TMS, δ ppm)

No	δ _H (J Hz)	δ _C	DEPT	No.	δ _H (J Hz)	δ _C	DEPT
2		163.6	C	4'		149.7	C
3	6.69 s	102.7	CH	5'	6.89 d (8.2)	116.0	CH
4		181.8	C	6'	7.44 dd (8.2, 2.2)	118.9	CH
5	13.65 (5-OH)	160.9	C	1''	4.66 d (9.8)	72.9	CH
6		108.1	C	2''		68.4	CH
7		163.3	C	3''		78.6	CH
8	6.49 s	93.3	CH	4''		67.7	CH
9		156.3	C	5''		81.4	CH
10		103.3	C	6''		61.1	CH ₂
1'		121.3	C	COO		169.9	C
2'	7.40 d (2.2)	113.2	CH	CH ₃	2.03 s	21.25	CH ₃
3'		145.7	C				

(C-5'), 118.9 (C-6'), 73.0 (C-1''), 70.6 (C-2''), 78.9 (C-3''), 70.1 (C-4''), 81.6 (C-5''), 61.4 (C-6'').

Comparing with the reported data, the ¹H-NMR and ¹³C-NMR data are in agreement with those of Isoorientin in the literature.^[5-8]

Compound 2: Isoorientin 6''-O-acetate (5,7,3',4'-tetrahydroflavone 6-C- (6''-O-acetylglucoside) (Figure 2, Table 2).

The molecular formula of compound 2 was determined as C₂₃H₂₂O₁₂ by electrospray mass spectrum, peak at *m/z* 491 [M+H]⁺. The ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectral data of compound 2 indicated a Isoorientin 6''-O-acetate.^[10]

¹H NMR: (300 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm) data: 13.65 (1H, brs, 5-OH), 7.44 (1H, dd, *J* = 8.2 Hz, 2.2 Hz, 6'-H), 7.40 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, 2'-H), 6.89 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, 5'-H), 6.69 (1H, s, 3-H), 6.49 (1H, s, 8-H), 4.66 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, 1''-H).

¹³C NMR: (100 MHz, DMSO-d₆, δ = ppm) data: 163.6 (C-2), 102.7 (C-3), 181.8 (C-4), 160.9 (C-5), 108.1 (C-6), 163.3 (C-7), 93.3 (C-8), 156.3 (C-9), 103.3 (C-10), 121.3 (C-1'), 113.2 (C-2''), 145.7 (C-3''), 149.7 (C-4''), 116.0 (C-5''), 118.9 (C-6''), 72.9 (C-1'''), 68.4 (C-2'''), 78.6 (C-3'''), 67.7 (C-4'''), 81.4 (C-5'''), 61.1 (C-6''').

Comparing with the reported data, the ¹H NMR and ¹³C NMR data are in agreement with those of Isoorientin and Isoorientin 6''-O-acetate in the literature.^[8-11]

Compound 3: 3,4-dihydro-6,8-dihydroxy-3-methylisocoumarin (6-hydroxymellein) Figure 3^[4]

Analytical CPG/SM of the ethyl acetate extract of *Retura lutea* indicated the presence of three major volatile compounds. The major constituent which eluted at a lower temperature was identified as 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methylisocoumarin with a retention time of 18.270 min (Figure 4). By comparison with the CPG retention times and mass spectra in the library, the compound had strikingly similar mass spectra (Figure 5). The molecular

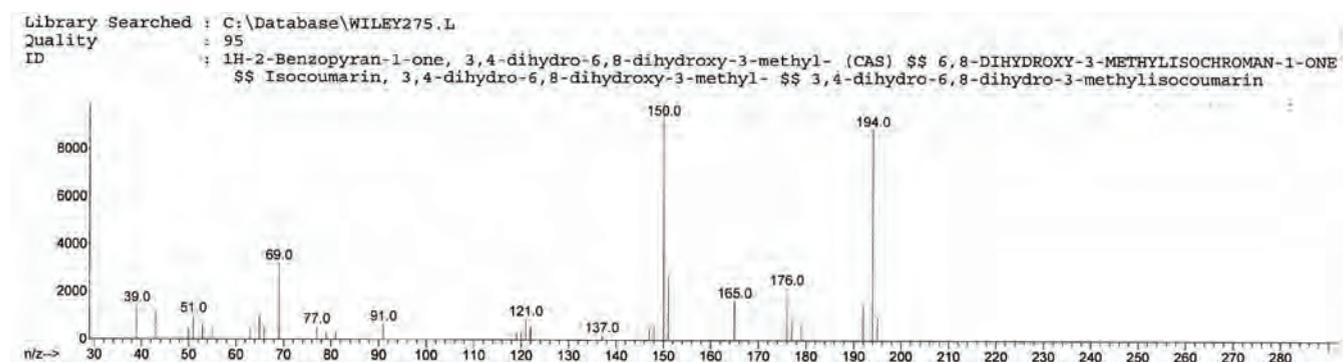


Figure 4. Mass spectrum of isocoumarin, 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methylisocoumarin.

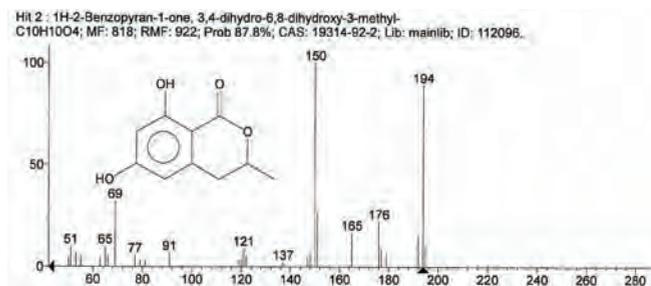


Figure 5. Mass spectrum of 3,4-dihydro-6, 8-dihydroxy-3-methylisocoumarin in the library.

formula of compound **3** was determined as $C_{10}H_{10}O_4$ by CPG/SM spectrum showing a molecular ion peak at m/z 194. The Compound (M^+ m/e 194, 90.3%) displayed an abundant ion at m/e 150 (base peak) ($M-44$, 99.9%) (loss of CO_2) and fragment ions at m/e 121 ($M-44-29$) (Loss of CO_2 and HCO) respectively. Another fragment at m/e 176 ($M-18$) (loss H_2O), and at m/e 165 ($M-29$) (loss of HCO) and at m/e 137 ($M-29-28$) (loss HCO and CO) respectively. These peaks were compared to those reported in the literature.^[4]

CONCLUSIONS

The phytochemical study of *Reutera lutea* revealed the presence of two c-glucoside flavones and isocoumarin identified for the first time in this species.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful for the partial financial support by The Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research.

REFERENCES

- Downie SR, Katz-Downie DS, Spalik K. A phylogeny of Apiaceae tribe Scandiceae: evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *American Journal of Botany*. 2000; 87:76–95.
- Christensen LP, Brandt K. Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006; 41:683–93.
- Quezel P, Santa S. *Nouvelle Flore d'Algérie* CNRS, Paris. 1963; 658.
- Shimada A, Kusano M, Takeuchi S, Fujioka S, Inokuchi T, Kimura Y. Aspteric Acid and 6-Hydroxymellein, Inhibitors of Pollen Development in *Arabidopsis thaliana*, Produced by *Aspergillus terreus*. *Z. Naturforsch.* 2002; 57c:459–64.
- Cheng G, Bai Y, Zhao Y, Tao J, Liu JY, Tu G, et al. Flavonoids from *Ziziphus jujuba* Mill var. *spinosa*. *Tetrahedron*. 2000; 56:8915–20.
- Ju Y, Sacalis JN, Still CC. Bioactive flavonoids from endophyte- infected blue grass (*Poa ampla*). *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46:3785–88.
- Kumazawa T, Minatogawa T, Matsuba S, Sato S, Onodora JI. An effective synthesis of isoorientin: the regioselective synthesis of a 6-C-glucosylflavone. *Carbohydrate Research*. 2000; 329:507–13.
- Peng J, Fan G, Hong Z, Chai Y, Wu Y. Preparative separation of isovitexin and isoorientin from *Patrinia villosa* Juss by high-speed counter-current chromatograph. *Journal of Chromatography A*. 2005; 1074:111–15.
- Yan Qi WU, Shuo LI, Ya LI, Yu LI. A New Acylated Flavonoid from *Anaphalis aureo-punctata*. *Chinese Chemical Letters*. 2003; 14:66–7.
- Juan Lu, Yongri Jin, Guiying Liu, Na Zhu, Mingyu Gui, Aimin Yu, Xuwen Li. Flavonoids From the Leaves of *Actinidia Kolomikta*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2010; 46:205–8.
- Ibraheim ZZ. Further constituents of *Crotalaria thebaica* (Del) DC. growing in Egypt. *Bull. Fac Sci Assiut University*. 1994; 23(2B):49.

دراسة فيتوكيميائية لنوعين الطبية ذات الأصل الجزائري

تنتميان للعائلة الخيمية مع دراسة فعاليتهما البيولوجية

:

هذا العمل يتلخص في دراسة فيتوكيميائية لنوعين من النبات تنتميان إلى العائلة الخيمية دراسة فعاليتها البيولوجية و يتركز عملنا على محورين أساسيين.

الأول دراسة فيتوكيميائية للنوعين *Daucus aureus* *Reutera lutea*.

و الثاني دراسة الفعالية البيولوجية Anti-AGEs *Daucus aureus*.

● بالنسبة للدراسة الفيتوكيميائية فقد تم دراسة كل من المستخلصين الأسيتاتي و البيوتانولي لكلتي لنبتتين

و هذا بإستعمال مختلف الطرق الكروماتوغرافية من HPLC CCM CC CPG-SM

من خلالها على عدة مركبات أغلبيتها فلافوندية نذكر منها Isoorientin 6"-O-acetate Isoorientin

Luteolin-7-O-glucoside Apigenine-7-O-glucoside Isocoumarine و غيرها من

المركبات الأخرى، وقد تم التعرف على بنية المركبات المفصولة بإستعمال

كوبية من ^{13}C RMN- ^{13}C HMBC HMQC electropray 1H RMN- 1H . فصل هذه المركبات

Reutera

● أما بالنسبة للفعالية البيولوجية Anti-AGEs الهوائية لـ

Daucus aureus من مستخلص الهكساني و الكلوروفورمي و الأسيتاتي وكذا البيوتانولي

المستخلصين الأسيتاتي و البيوتانولي فعالية جيدة لهذا النوع من لفعالية البيولوجية.

كلمات مفتاحية: العائلة الخيمية *Reutera Daucus*، فلافونيدات ، *Anti-AGEs*.

Etude phytochimique et biologique de deux espèce appartenant à la famille Apiaceae.

Résumé :

Le travail réalisé consiste à l'étude phytochimique et biologique de deux espèces appartenant à la famille Apiaceae.

L'investigation phytochimique menée sur les extraits acétate d'éthyle et butanolique de deux espèces (*Reutera lutea*) et (*Daucus aureus*), a conduit à la séparation de : Isoorientine, Isoorientine-6"-O-acetate, Lutéoline-7-O-glucoside, Apigénine-7-O-glucoside ainsi qu'une Isocoumarine et ... , La séparation de ces composé a été réalisée via l'utilisation de diverse méthodes chromatographiques, à l'instar de : CPG-SM, CC, CCM et HPLC., c'est avec les méthodes spectroscopiques (H^1 -RMN, C^{13} -RMN, HMQC, HMBC, ES) qu'on a pu élucider toutes les structures de ces métabolites.

Les composés identifiés n'ont jamais été isolés à partir les deux espèces étudiées.

L'étude biologique réalisée lors ce travail s'est intéressée de l'évaluation de l'activité Anti-AGEs de différents extraits provenant de l'espèce *Daucus aureus*, et en particulier les extraits : hexanique, chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique.

Ce sont uniquement les extraits acétate d'éthyle et butanolique qui ont montré une activité significative.

Mots Clés : Apiaceae, Daucus, Reutera, Flavonoïdes, Anti-AGEs.

Phytochemical and Biological Study of Two Species Belonging The Apiaceae Family.

Abstract:

The work done consist of the phytochemical and biological study of two species belonging to the family Apiaceae.

The Phytochemical investigation conducted on ethyl acetate extracts and butanol of two species (*Reutera lutea*) and (*Daucus aureus*), has led to the separation of : Isoorientin, Isoorientin-6"-O-acetate, Luteolin-7-O-glucoside, Apigenin-7-O-glucoside and a isocoumarin and ..., The separation of its compound has been achieved by the use of various chromatographic methods like : GC-MS, CC, CCM and HPLC. it is with spectroscopic methods ($^1\text{H-RMN}$, $^{13}\text{C-RMN}$, HMQC, HMBC, ES)) that could clarify all the structures of these metabolites.

compounds Identified have never been isolated from the two species studied.

The biological study in this work is interested in evaluating *Anti-AGEs* the activity of different extracts from the species *Daucus aureus*, and in particular extracts: hexane, chloroform, ethyl acetate and butanol.

It is only the butanol and ethyl acetate extracts which showed significant activity.

Keywords : *Apiaceae, Daucus, Reutera, Flavonoids, Anti-AGEs.*