الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة منتوري قسنطينة

كلية العلوم الدقيقة **قسم الكيمياء**

رقم الترتيب ....

رقم التسلسل ....

مذكرة

مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم

تخصص تحاليل فيزيوكيميائية و كيمياء عضوية

شعبة كيمياء النبات

تحت عنوان

فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي لنبات
" *Centaurium Erythraea* (Gentianacaea)"

!!

تقديم : بودرمين سهام **تحت إشراف الأستاذ : د . الشريف بهلول**

لجنة المناقشة:

د. فضيلة بن عياش	أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة	رئيسة
¾!! !!! ƒ! ! !Œ!	أستاذ محاضر بجامعة منتوري قسنطينة	مشرفا
د. سمير بن عياش	أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا
د. محمد بوهروم	أستاذ محاضر بجامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا
د. علي بنتامن	أستاذ محاضر بجامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا

ديسمبر 2010

الإهداء

♦أهدي ثمرة جهدي إلى أغلى ما أملك والدي الكريمين.

- ♦ إلى إخوتي الأعزاء.
- ♦ إلى كل أفراد العائلة.

التشكرات

أتوجه بالشكر الخاص إلى الأستاذة الغالية فضيلة بن عياش على كل النصائح و المعلومات القيمة ، و التي لم تبخل بها علي و لو على حساب وقتها الثمين كما أشكرها على قبولها رئاسة لجنة المناقش.

أتقدم بالشكر الجزيل وكل العرفان للأستاذ سمير بن عياش لاستقباله لنا في مخبره " تثمين الثروات الطبيعية ذات الأصل النباتي و اصطناع الجزيئات الفعالة بيولوجيا **VAREN** و توفيره لمختلف الوسائل و التجهيزات لإنجاز هذا العمل و كذا على اهتمامه بإنجاز هذا البحث إضافة إلى قبوله المشاركة في لجنة المناقشة

أتقدم بجزيل الشكر والامتنان للأستاذ المشرف الشريف بهلول على نصائحه و تدعيمه لي خلال مراحل إنجاز هذا العمل.

كما أشكر الأستاذ بوهروم محمد الذي كان دائما الدافع المعنوي لي و بن ثامن علي لقبولهما المشاركة في لجنة المناقشة.

كما أشكر كل أفراد مخبر VAREN فالبداية الشكر الخالص للأساتذة : بلوم زهية، بغيجة نور الدين ، و كل أفراد دفعتي عبد الرحمان،عمر، رضوان، حنان، محمد، سميرة، لبيب، مجدة، فريد، فيروز، سيف، لويزة.اسماء,

كما اشكر كل من السيد يحياوي أحمد عبد الرحيم ونوال

و الشكر إلى كل من ساعدني من قريب أو بعيد في إنجاز هذا البحث . و أجدد شكري إلى الله ربي و الحمد لله ربي العالمين.

الفهرس

المقدمة.....1

الفصل الأول : بعض منتجات الأيض الثانوي الموجودة في العائلة Gentianacea

I-1-الإريدويدات les iridoïdes.....4
I-1-1 شكل الإريدويدات.....4
I-1-2 تصنيفها.....6
I-1-2-1الإيريدويدات البسيطة.....6
I-1-2-2الإيريدويدات السكرية.....8
I-1-2-3Séco-iridoïdes.....8
I-1-2-4Bis-iridoïde.....9
I-1-3 فعاليتها البيولوجية.....9
I-1-4 الإصطناع الحيوي للإريدويدات.....10
I-2-الكسنتونات.....12
I-2-1 تعريفها.....12
I-2-2 الإصطناع الحيوي.....12
I-2-3 بعض أشكال الكسنتونات.....17
I-2-4 الفعالية البيولوجية.....18
I-3 الفلافونويدات.....20
I-3-1 تعريفها.....20
I-3-2 الاصطناع الحيوي للفلافونيدات.....21
I-3-3 أقسام الفلافونويدات.....24
I-3-4 توزيعها في المملكة النباتية.....28
I-3-5 الخواص والفعالية البيولوجية للفلافونويدات.....30
I-3-6 الدراسة الكيميائية للفلافونويدات.....31
-6-1- الاستخلاص.....31

-6 -2- الفصل والتنقية.....31
-6-3- التعيين البنيوي للفلافونيدات.....32
-6-3-1- ثابت الانحباس.....32
-6-3-2-اللون الاستشعاعي.....32
-6-3-2-مطيافيةالاشعة فوق البنفسجية (UV).....33
-6-3-2-1- طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي.....33
-6-3-2-2- طيف الامتصاص في وجود الكواشف.....34
-6-3-2-3- الإماهة الحمضية.....38
-6-3-2-4- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي.....38

الفصل الثاني الدراسة الفيتوكيميائية لعائلة Gentianacea ونبتة *Centaurium.erythreae*.

II- عائلة Gentianaceae..... 43
II-1- مقدمة.....43
II-2-التصنيف الكلاسيكي للعائلة.....44
II-3-الوصف النباتي.....44
II-4-عائلة Gentianaceae من الناحية الفرموكولوجية و الفيتو كيميائية.....45
II-4-1 الناحية الفرموكولجية.....45
II-4-2 الناحية الفيتو كيميائية.....46
2-1- الاريدويدات.....46
2-2-الكسنتونات.....47
2-3 المنجوفيرين.....48
2-4 الفلافونويدات.....49
II-5 نبات *Centaurium erythreae*.....49
II-5-1 الجنس *Centaurium*.....49
II-5-2 التسمية.....49
II-5-3 التوزيع الجغرافي.....50
II-5-4 الوصف المورفولوجي للنبتة.....50
II-5-5استعمالات نبتة *Centaurium erythreae* 51

5-1- في الطب التقليدي.....51
5-2-في الطب الحديث.....51
II-5-6 الفعالية البيولوجية لنبتة *Centaurium erythreae*.....52
II-5-7 *Centaurium erythreae* من الناحية الفيتو كيميائية.....52
-7-1- الالكلويدات.....52
-7-2- التربينات الثلاثية.....53
-7-3- الأحماض الفينولية.....54
-7-4- الاريدويدات.....55
-7-5- الكسنتونات 56
-7-7- الفلافونويدات.....58
II-8- بعض الفلافونويدات المفصولة من نفس الجنس 58

الفصل الثالث الدراسة الكيمائية لنبتة *Centaurium erythrea* ومناقشة النتائج

III-1- الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة "*Centaurium Erythreae*".....61
III-1-1 الاستخلاص.....61
III-1-2 طريقة الفصل والتنقية.....64
III-1-2- فصل و تنقية الكسور.....67
III-2- النتائج و المناقشة.....72
III-2-1 التعيين البنيوي للمركب MP04 72
III-2-2 التعيين البنيوي للمركب MP06.....79
III-3- التعيين البنيوي للمركب MP13.....86
الخاتمة.....97
المراجع

المقدمة

المقدمة

نبذة عن تاريخ علم النبات

كان الأقدمون في الأزمنة الغابرة يجمعون النباتات البرية، ويصنفونها، ويدرسون خصائصها لغرض المنفعة فحسب، أما الدراسة العلمية البحتة فلم تكن تخطر بالبال في تلك الحقبة، وكانت المنفعة الطبية أهم الأغراض التي يستعملون فيها النباتات. وفي بلاد الإغريق القديمة تألفت جماعة تضم أطباء وزراعيين، وكان غرضها جمع الأجزاء النباتية المختلفة من أوراق وجذور وغيرها بقصد استعمالها في علاج بعض الأمراض.

ولم يبدأ الاهتمام بدراسة النبات كعلم إلا في عهد أرسطو (حوالي سنة 380 ق. م.)، ثم جاء الإسكندر الأكبر (عام 356 ق. م.) فشجع الدراسات النباتية، وخاصة ما أتصل منها بالنباتات الطبية. أما أول سجل مدون معروف في دراسة النباتات وتقسيمها فهو ذلك الذي وضعه ثيوفراستوس (العالم الإغريقي الذي عاش في الفترة من سنة 370 – 285 ق. م. وهو أحد تلاميذ أرسطو) باسم "التاريخ الطبيعي للنباتات". جاء العالم الإنجليزي ديوسكوريدس (سنة 37 ميلادية) فألف موسوعته المعروفة "المادة الطبية" وضمنها وصفاً دقيقاً لبضع مئات من النباتات الطبية. وفي القرن السادس عشر دب النشاط في دراسة علم النبات من جديد، وأستمر حتى وقتنا الحاضر. وفي مستهل القرن الثامن عشر ظهر العالم السويدي (لينيس –Linnaeus)الذي عاش في الفترة من 1707 – 1778 ميلادياً، والذي يعتبر من أبرز علماء العصر الحديث، حيث أهتم لينيس كثيراً بوصف أجزاء النبات (ساقه، وجذره، وأوراقه، وأزهاره، وثماره، وبذوره) وميز الاختلافات العديدة في شكل هذه الأعضاء في النباتات المختلفة، ثم قسم النباتات ورتبها علي هذا الأساس وأعطي لكل نبات أسماً مختصراً بسيطاً [1].

ويجب الإشارة هنا إلي الإضافات القيمة التي أضافها العلماء العرب القدامى إلي الدراسات النباتية. ومن أشهر العلماء العرب جابر بن حيان (700 – 765 م)، وقد كان اهتمامه بالتركيب الكيميائي للنباتات أكثر منه بالدراسات النباتية البحتة، ثم أبو بكر الرازي

(865 – 925 م)، ثم أبن سينا (980 – 1037 م)، وقد اهتم بالنباتات الطبية ومنافعها. ومن مشاهير علماء العرب أيضاً عبد اللطيف البغدادي، وأبن البيطار (1197 – 1248 م)، ثم الرحالة العالمي أبن بطوطة (1304 – 1369 م). ومن الجدير بالذكر أن هؤلاء العلماء قد اهتموا كثيراً بالناحية الطبية والاستغلالية أكثر من الناحية العلمية البحتة[1].

لا بديل عن الأعشاب

بعد أن كانت الأعشاب الطبية هي المصدر الرئيسي في معظم العقاقير التي كانت تستعمل قديما , إلا أن الاكتشافات المذهلة في عالم الصيدلة و صناعة الأدوية جعلت الإنسان يعدل عنها خاصة عند اكتشاف العناصر الفعالة و التى تنتج بواسطة الكائنات الحية ألا و هي النباتات مثل :القلويدات , الإيثروزيدات و اللاكتونات.

اعتقد الكثيرون أن هذه الأدوية المصنعة سوف تحل محل النباتات الطبية المستعملة في الطب والطب الشعبي ، وكان من المتوقع أن يتراجع المرض أمام هذه الثورة الكاسحة في علم العقاقير ، لكن الذي حدث هو العكس تماما ، فقد عرف الإنسان الحديث أمراضا لم تكن معروفة أو منتشرة من قبل ، بل دخل عصر الأمراض المزمنة ، ويرجع ذلك إلى التقدم الرهيب في علم الكيمياء العضوية التي أدخلت مواد كيميائية في جميع مجلات الحياة ، ولوثت بيئة الإنسان ، وبالتالي أثرت عل صحته وقوته ، ومناعته في مقاومة الأمراض ، كذلك فان الأدوية المصنعة ما زال الكثير منها يفتقر إلى معلومات أوفى ، ومازال البحث العلمي يحمل لنا الكثير من الآثار الجانبية الضارة لبعض الأدوية المصنعة ، إما بسبب زيادة المعرفة عنها وإما لأنها مواد كيميائية مركزة ، تم تحضيرها في المعمل تحت ظروف تفاعلات كيميائية ، بينما أبت حكمة الخالق عز وجل إلا أن يجعل هذه 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 وباطنه" سورة الحج /65[2] .

يرجع تاريخ استخلاص المواد الفعالة من النبات إلى أوائل القرن التاسع عشر حيث أحرزت العلوم الكيميائية تقدما كبيرا و خاصة كيمياء المادة الحية.

فقد توصل العالم الكيميائي '' Dersone'' في سنة 1804م الى عزل مادة المورفين من الأفيون المستخرج من الخشخاش ، و استخلص الكيميائيان الفرنسيان ''Pelletier'' و'' Caventou '' عام 1820 م الكثيرمن القلويدات مثل الكينين من قلف الكينا فأنقذ الملايين من مرض الملاريا [3].

إن إجراء أبحاث حول مكونات النبات التي يتم عزلها أمر مهم جدا لان ذلك اظهر كثيرا من الأدوية النافعة، لذلك و في هذا الإطار تركز اهتمامنا في هذا البحث على دراسة فيتو كيميائية لنبتة *Centaurium.Erythreae* و التي تنتمي إلى عائلة (Gentianacea) ومن خلال الأبحاث البيبليوغرافية و المنشورات العلمية وجدنا أن هذه العائلة تشتهر بغناها بالمركبات الطبيعية :

الاريدويدات ؛ الكسنتونات ؛ التربينات الثلاثية ؛ الالكلويدات؛ الأحماض الفينولية ؛والفلافونويدات [4]، وكذلك تميزها بعدة خصائص علاجية [5].

وقد قسمنا بحثنا هذا إلى:

- ✓ **مقدمة.**

- ✓ **الفصل الأول:**
  خصصناه لدراسة بعض منتجات الايض الثانوي الموجودة في العائلة.

- ✓ **الفصل الثاني:**
  تناولنا فيه الدراسة الفيتوكميائية لعائلة Gentianacaea و النبتة *Centaurium.Erythreaea*.

- ✓ **الفصل الثالث:**
  يتضمن الدراسة النباتية والكميائية لنبتة *Centaurium erythrea* المنجزة في المخبر و تحديد الصيغ البنيوية للمركبات المعزولة منها مع المناقشة.

- ✓ **خاتمة.**

الفصل الاول

بعض منتجات الأيض الثانوي الموجودة في العائلة Gentianacea

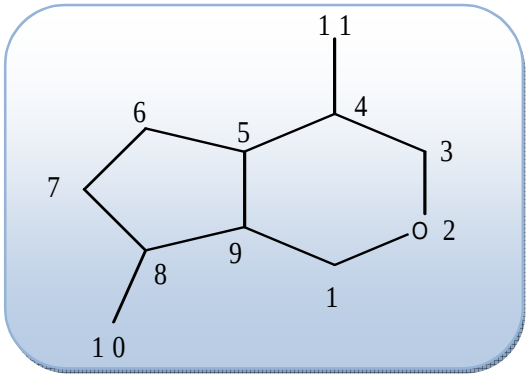
I-1-الإريدويدات les iridoïdes:

الإريدويدات هي نوع من منتجات الأيض الثانوي تتواجد بشكل واسع في النباتات الطبية و حتى الحيوانات فهي عبارة عن monoterpène إذ تدخل في اصطناع الألكلويدات ، تنتجها هذه الأخيرة للدفاع عن نفسها و تتميز بذوقها المر.

I-1-1 شكل الإريدويدات:

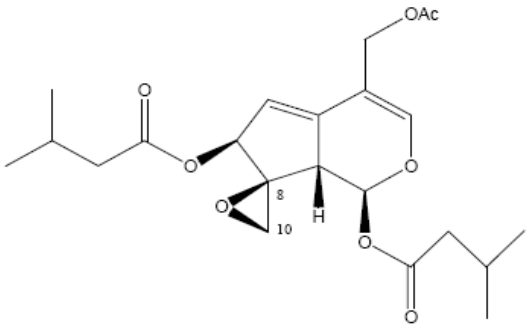
هذه المركبات تتميز بهيكل cyclopenta[c]pyranique غالبا ما يوصف بكلمة

iridane (cis-2-oxabicyclo-[4,3,0]-nonane) شكل I(1)، يتمثل أساسا على هيئة جليكوزيد

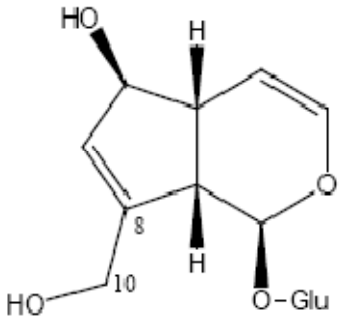


شكل I-1:الهيكل القاعدي للاريدويدات

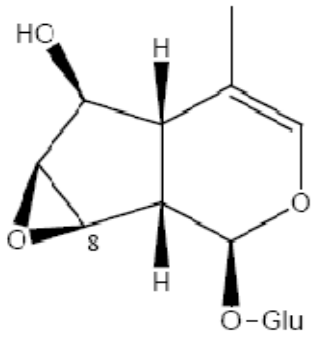
مجموعة الميثيل (C-10) بصفة عامة تكون محمولة على الكربون(C-8) ،أكثر أو أقل أكسدة: هيدروكسي ميثيل (aucuboside) (2) ، إيبوكسيد (valtrate) (3) ، نادرا كما في حالة deutzioside [6](4)



(3)



(2)

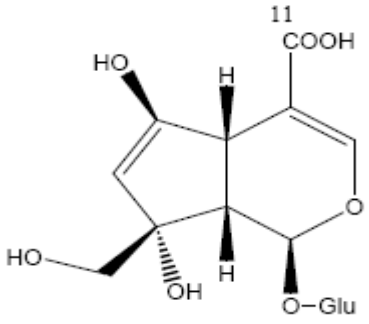


(4)

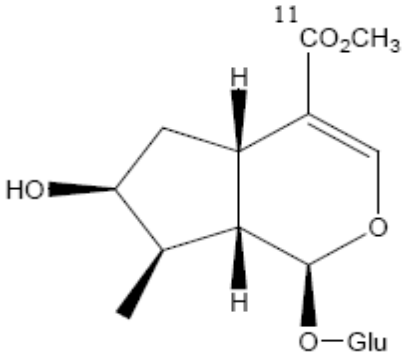
لقد أشتق إسم iridoïde منإسم النملة التي تنتمي إلى جنس *Iridomirmex* ، انطلاقا من المركب الذي تفرزه أثناء دفاعها عن نفسها.

بصفة عامة iridoïdes تتشكل من 10 ذرات كربون، الكربون C-11 عادة ما يدخل ضمن مجموعة الكاربوميتوكسيل كما في حالة loganoside (5) أو الكاربوكسيليك كما في حالة monotropéoside (6) ، في بعض الحالات يكون الكربون C-11 غائبا كما في حالة Catalpol (7) [6] .

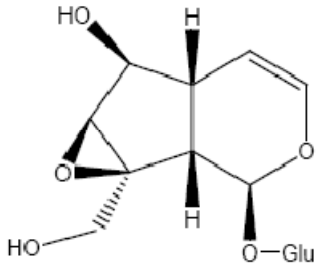
.



(6)



(5)



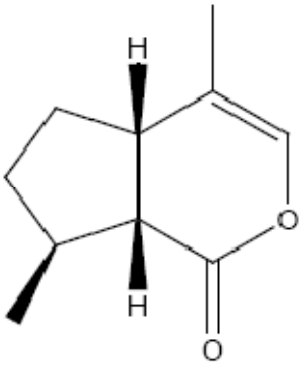
(7)

I-1-2 تصنيفها :

توجد أربع مجموعات أساسية للإريدويدات,إريدويدات بسيطة ليست إيتيروزيدية ، تختصر فقط على جزء ال génine أو aglycone ، إريدويدات جليكوزية و الأكثر وفرة الséco-iridoïdes و bis-irioïdes [7] .

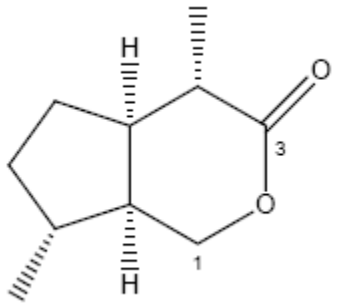
I-1-2-1الإيريدويدات البسيطة:

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

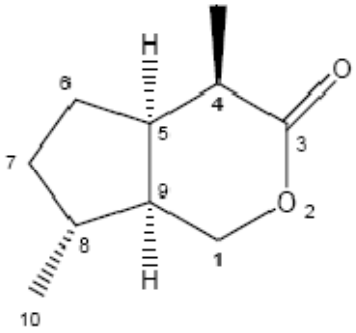


(8)

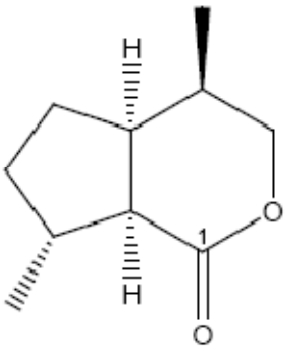
تنقسم الإريدوويدات اللاكتونية إلى مجموعتين من نوع I و II حسب التماكب الفراغي للاكتون بالنسبة إلى النواة السيكلوبنتانية [9] .في حالة المجموعة I تمثل ب iridomyrmécine (9) و isoiridomyrmecine (10) المعزولين من *Iridomyrmex humilis* Mayr و *Iridomyrmex nitidus* Mayr على التوالي [11,10] ، حيث تتموضع المجموعة الكربونية اللاكتونية على الكربون C-3 . أما المجموعة II كما في حالة المركبين dihydronepetalactone (11) و isodihydronepetalactone (12) هته الأخيرة تكون في موضع الكربون C-1 [9] .



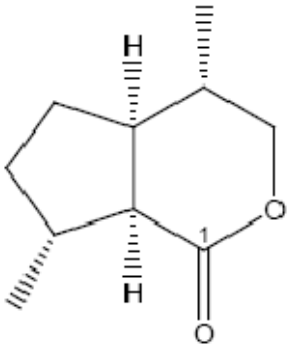
(9)



(10)



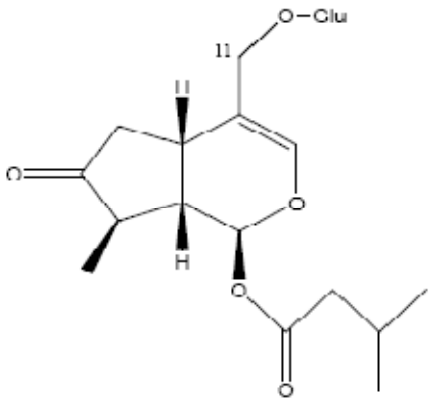
(11)



(12)

I-1-2-2الإيريدويدات السكرية :

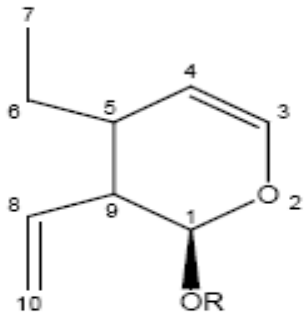
أغلبية سكرياتها الجليكوز، حيث تتشكل الرابطة الإتيروزيدية بين الهيدروكسيل المحمول على الكربون الأنوميري للجليكوز و هيدروكسيل الكربون C-1 للجينين ، كما في حالة loganoside (5) ، حيث يشكل هذا الأخير النواة الأساسية لأغلبية الإريدويدات، بينما ناذرا ما تتشكل هذه الرابطة مع هيدروكسيل الكربون C-11 كما في حالة ébuloside (13)[6].



(13)

I-1-2-3Séco-iridoïdes

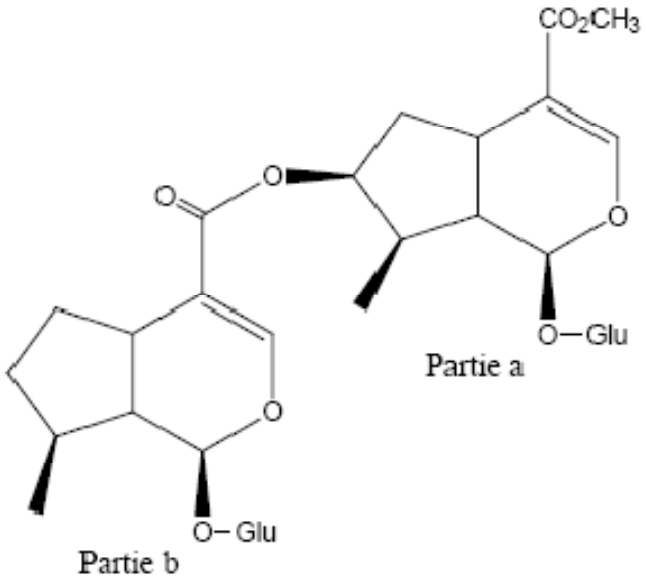
وهي تتشكل نتيجة لقطع الرابطة بين C-7 وC-8 للنواة السيكلوبنتانية كما في الشكل(14) [12].



(14)

Bis-iridoïde 4-2-1-I

كما في حالة picconioside I والذى يتشكل من جزئين a وb شكل (15)[13].



(15)

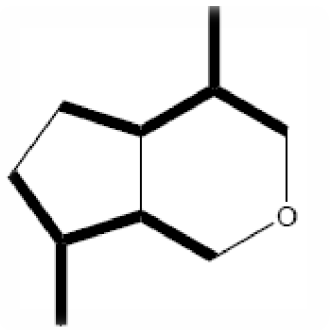
3-1-I فعاليتها البيولوجية:

إن إستعمال النباتات في الطب الشعبي يشكل النواة الأساسية بما نسميه حاليا الطب البديل.إن الإكتشافات الفيتوكيميائية المحققة على النباتات المستعملة في الطب الشعبي ،أفضت إلى إكتشاف العديد من المركبات الفعالة والمستعملة كدواء، توجدالإريدوويدات في العديد من العائلات النباتية ، حيث تغطي جانبا كبيرا من ناحية فعاليتها البيولوجية [14] .

فنبتة *Harpagophytum procumbens* التي تنمو في جنوب إفريقيا,ناميبيا,مدغشقر والتي تستعمل في الطب الشعبي لمعالجة إلتهاب المفاصل الضموري و الروماتيزم,عسرالهضم ، ألم الظهر . هذه النبتة تحتوي على نسبة تقدر ب 0.5-3 بالمئة من الإريدوويات الجليكوزية [15]. بالإضافة إلى ذلك تتميز بعدة خصائص علاجية منها : مضادة لتسمم الكبد,cholérétique , مخفضة للسكر, hypolipidémique ،antispasmodique ، مضادة للسرطان ، مضادة للفيروسات [16].

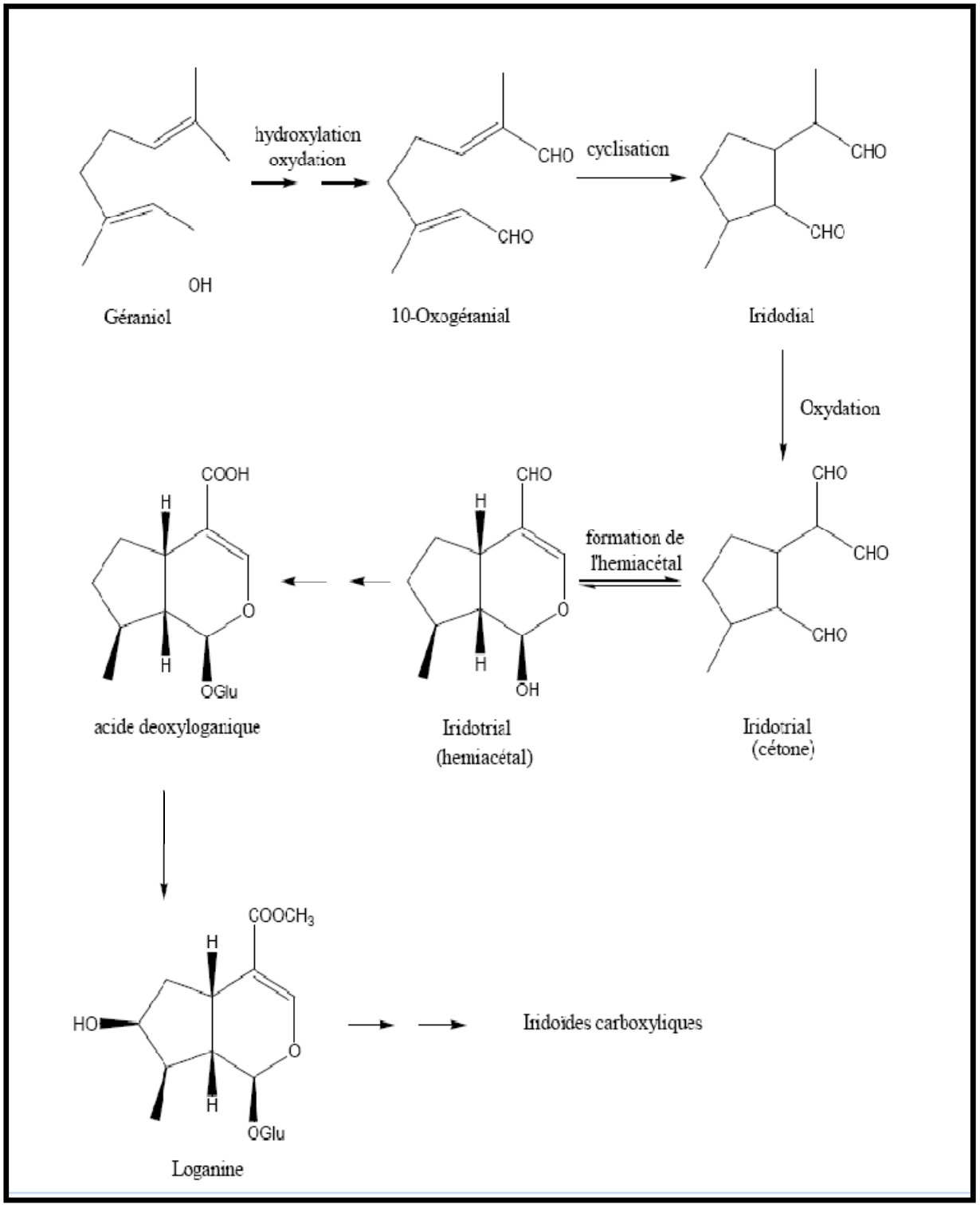
I-1-4 الإصطناع الحيوي للإريدويدات:

إن العناصر الأساسية للتيربينات هي وحدات الإيزوبرين (C_5 - isoprène) تحت شكل إيزوبنتيل بيروفوسفات (IPP) و ديميثيل أليل بيروفوسفات (DMAPP) . الإيريدويدات هي تربينات أحادية ب C_{10} مشتقة من ال géraniol [17] .الوحدات الإيزوبرينية يمكن أن يتعرف عليها بكل سهولة عند أغلبية التربينات و هيكل ال iridane يوضح في ذلك الشكل (16).



(16)

أغلبية الإيريدويدات الكربوكسيلية مشتقة من ال*8-β*-loganine (5) . إن تحول ال géraniol إلى loganine يمر بعدة مراحل والمخطط I-1 يوضح ذلك[18] .

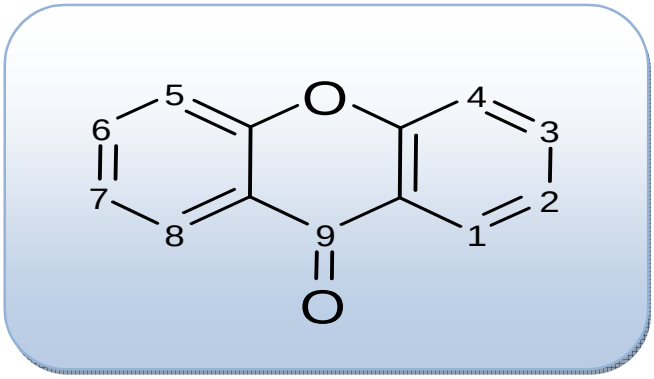


مخطط I-1 : مخطط الإصطناع الحيوي لمركب loganine

I-2-الكسنتونات:

I-2-1 تعريفها:

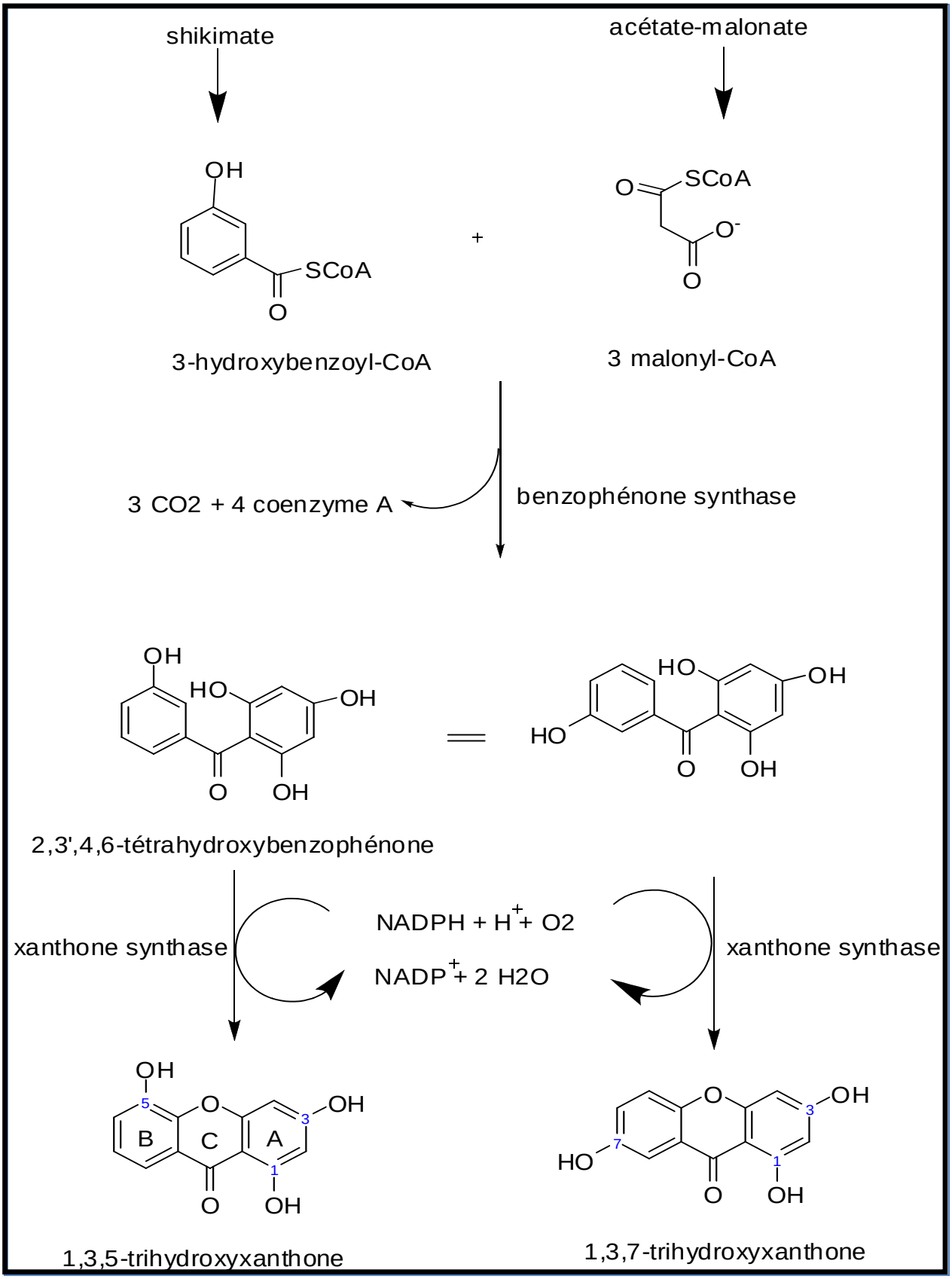
الكسنتونات عبارة عن مركبات ملونة تتواجد في النباتات السامية و بكثرة في أزهارها، أيضا في السراخس [19]،وقد تم عزلها من بعض الفطريات [20]، و بعض الطحالب [21] ، صيغتها العامة $C_{13}H_8O_2$ و عادة ما يطلق عليها **dibenzo-γ-pyrone** [22] الشكل I- 2



الشكل I-2:الهيكل القاعدي للكسنتونات

I-2-2 الإصطناع الحيوي :

يختلف اصطناعها الحيوي من نظام إلى أخر ففي خلايا النباتات السامية الكسنتونات ناتجة من تكاثف 3-hydroxybenzoyl-CoA الناتج عن طريق حمض الشكميك مع ثلاث جزيئات من malonyl-CoA الناتج عن طريق اسيتيل مالونات [23] ، هذا الاصطناع يكون مصحوبا بتشكل وسيط هو البنزوفينون (benzophénone) الذي يتحلق مكونا **dibenzo -γ-pyrone** الهيكل الأساسي المميز لهذا النوع من منتجات الايض الثانوي [24] . والمخطط I-1- يبين الإصطناع الحيوي ل trihydroxyxanthones [23] :



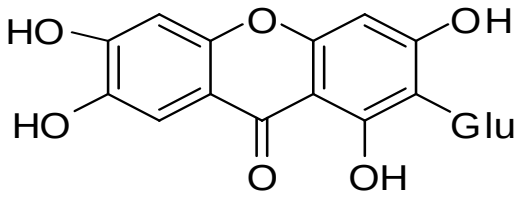
المخطط I-2: الاصطناع الحيوي ل trihydroxyxanthones

تتوزع الكسنتونات في النباتات على شكل *O*-glycosylxanthonesبالاضافة الى

C- glycosylxanthones.

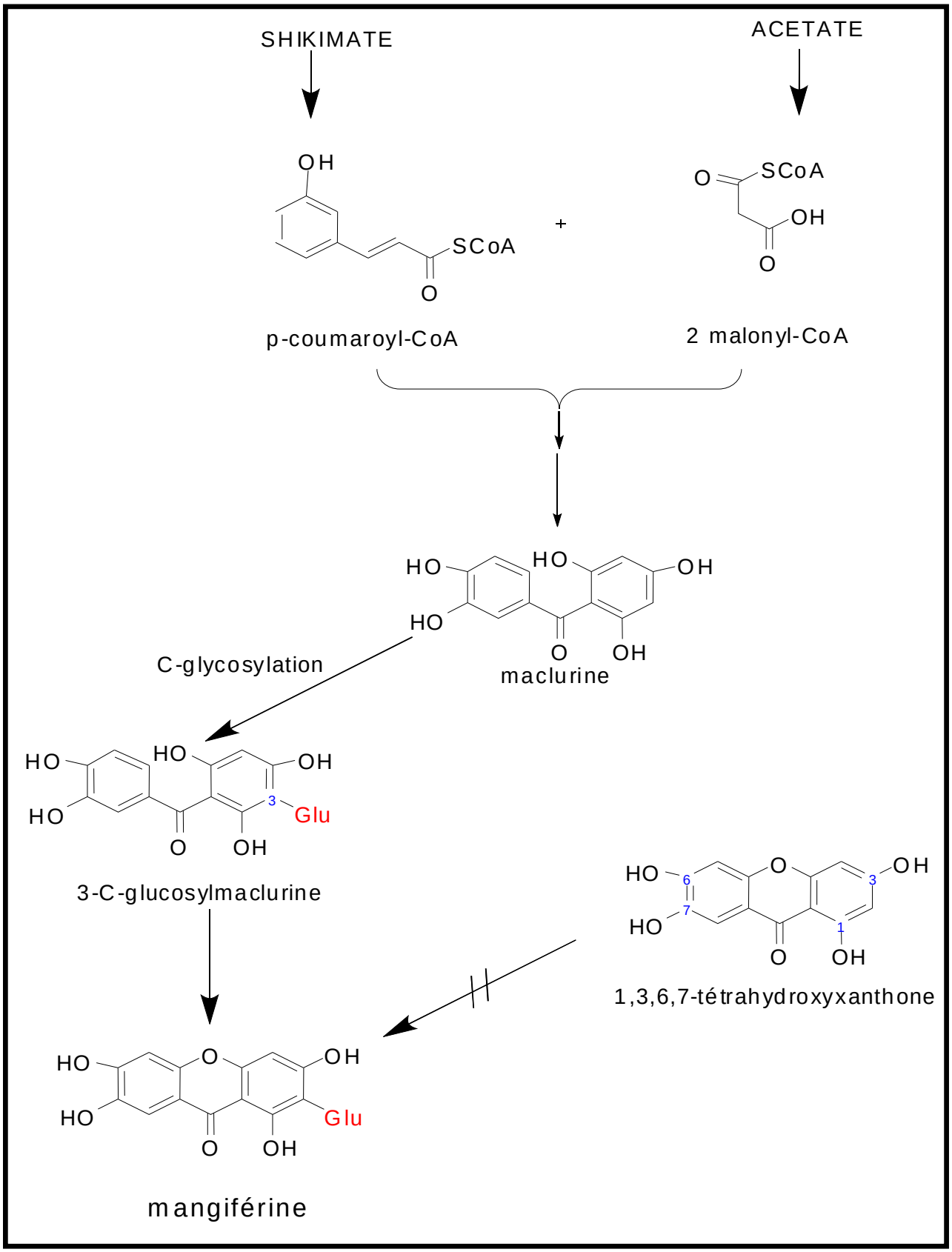
[25] malonyl-CoA مع وحدتين من *p*-coumarate هذه الأخيرة تتشكل عن طريق تكاثف وحدة من فاصطناعها و توزيعها في المملكة النباتية يكون اقرب من الفلافونويدات[26] نأخذ كمثال اصطناع Mangiférine(17.

و الذي تم فصله لأول مرة من النبتة ***Mangifera indica*** **L. (Anacardiaceae)** [27].



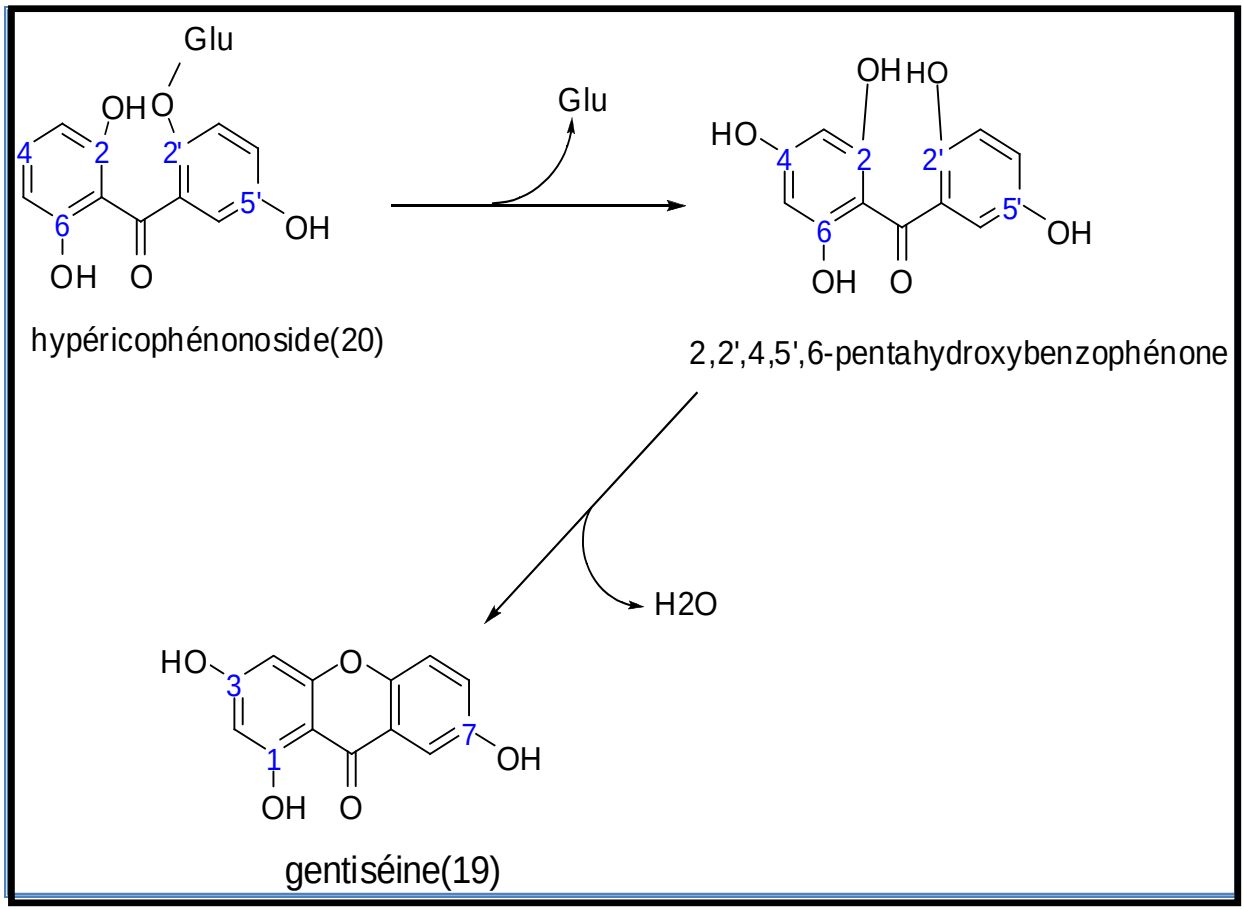
(17)

و المخطط I -3- يبين الاصطناع الحيوي ل Mangiférine(17) [25]:



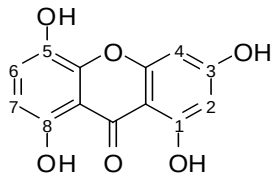
المخطط I-3: الاصطناع الحيوي لـ mangiférine

كما نجد الـ gentiséine (18) وهو من مشتقات الكسنتونـــات و الذي نتحصل عليه عن طريق الإماهة الحمضية أو الإنزيمية لمركب أل hypéricophénonoside (19) و الذي تم عزله من نبتة *Hypericum annulatum* من طرف Kitanovو Nedialkov ولقد اثبت العديد من الباحثين أن هذا المركب الطبيعي له الدور الأول في الاصطناع الحيوي ال gentiséine (18) (1, 3,7-trihydroxyxanthone) كما يبين المخطط I -4 [28]:

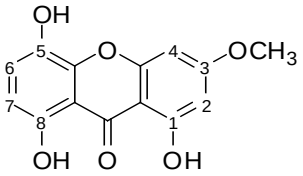


المخطط I-4:اصطناع gentiséine

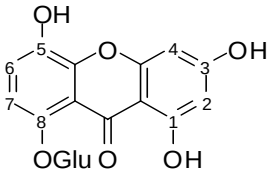
I-2-3 بعض أشكال الكسنتونات :



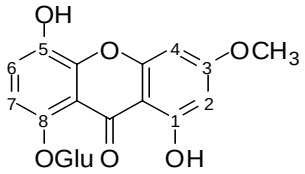
Bellidine



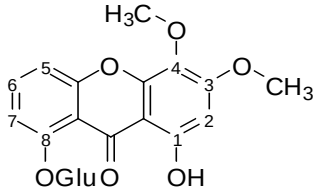
Bellidifoline



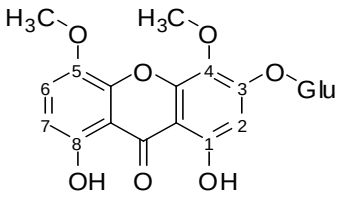
Norswertianoline



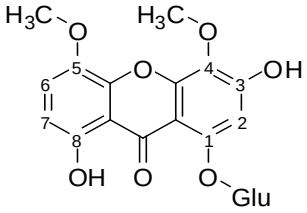
Swertianoline



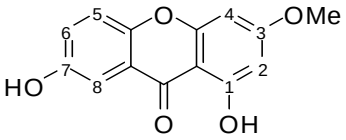
Triptexanthoside C



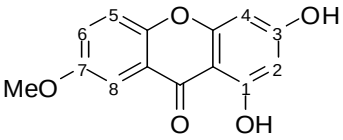
Corymbiférine-3-O-glucoside



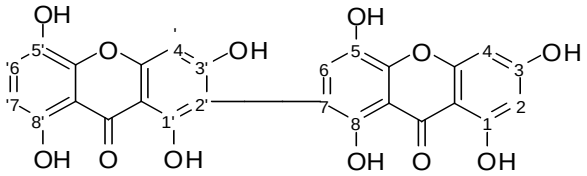
Corymbiférine-1-O-glucoside



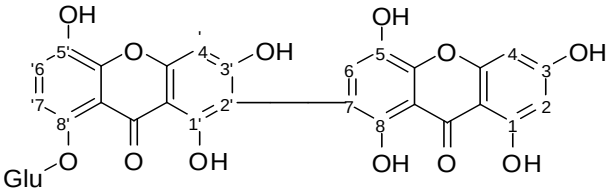
Gentisine



Isogentisine



Swertiabisxanthone-I



Swertiabisxanthone-I-8'-O-glucoside

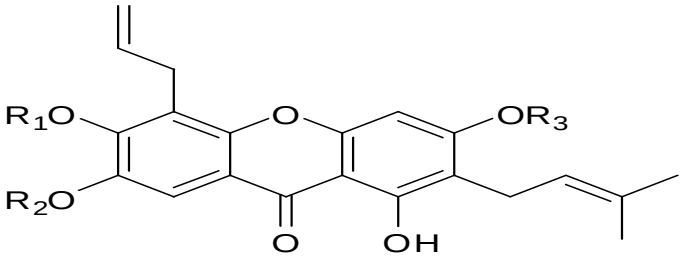
شكل I -3- : بعض أشكال الكسنتونات

I-2-4 الفعالية البيولوجية :

معظم الكسنتونات تتميز بأنها ، مضادة للأكسدة و مضادة للالتهاب [29] و هذين الخاصيتين مهمة للوقاية من بعض الحالات المرضية كالزهايمر [30] ،لها أيضا فعالية إرخاء الأوعية القلبية وتمنع تخثر الدم حيث تثبط تراكم الصفائح الدموية [31] لها فعالية ضد الخلايا السرطانية [32] ،مضادة للمالاريا [33] ، وهي نشيطة ضد الفيروسات خاصة ضد فيروس VIH[34] ، لديها فعالية كبيرة ضد الميكروبات و أيضا ضد البكتيريا خاصة *Staphylococcus aureus* [35] .

هناك أكثر من 200 نوع من الكسنتونات المتواجد في الطبيعة, لكن لقد تم فصل أكثر من 40 منها من فاكهة ***(Garcinia Mangostana) mangoustan*** تنمو هذه الفاكهة في جنوب شرق أسيا يطلق عليها {ملكة الفواكه} أو { فاكهة الآلهة} و لقد أكد الباحثين أنها مفيدة جدا للصحة و من بين الكسنتونات المفصولة منها[36]:

BR - xanthone A, BR - xanthone B, Calabaxanthone, Dulxanthone D, Garcinone A, Garcinone B, Garcinone C, Garcinone D, Garcinone E, Garcimangosone A , Garcimangosone B ,Garcimangosone C , 1-Isomangostin , 3-Isomangostin , 1-Isomangostin hydrate, 3-Isomangostin hydrate, Gartamin , Demethylcalabaxanthone , Maclurin , Mangostenone , Mangostin , Mangostinonev , Mangostinone A , Mangostinone B, Mangoxanthone D, Alpha-Mangostin , Beta-Mangostin, Gamma-Mangostin, Norathriol , Tovophyllin , Tovophyllin A , Tovophyllin B, Trapezifolixanthone.



$\alpha-mongostan(\alpha M): R_1=Me, R_2=R_3=H$

$\beta-mongostan(\beta M): R_1=R_2=Me, R_3=H$

$\gamma-mongostan(\beta M): R_1=R_2=R_3=H$

$\beta-mongostan\text{-}OMe(\beta M-OMe): R_1=R_2=R_3=Me$

شكل I -3- : بعض أشكال الكسنتونات -تابع-

و تتميز هذه الفاكهة ب خصائص عديدة جيدة للصحة (من خلال الأعمال التي قام بها عالم النباتات **James Duke**):

- خصائص ضد الأورام السرطانية .
- الوقاية من مرض الزهايمر و الباركينسون .
- لها فعالية ضد حساسية البشرة .
- مضادة للالتهابات و الأكسدة .
- تساعد على حماية القلب .
- مخفضة للسكر و ضغط الدم .
- تساعد على خفض الدهون في الدم .
- مضادة للفيروسات و الميكروبات .
- تساعد على إنقاص الوزن .

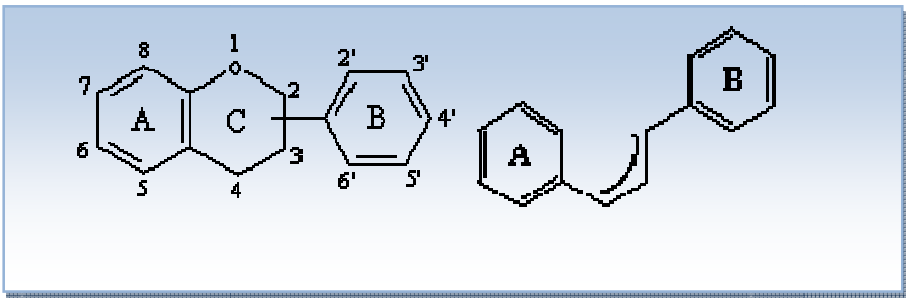
Mangoustan

I-3 الفلافونويدات:

I-3-1 تعريفها:

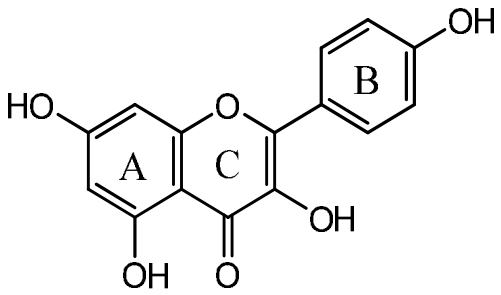
الفلافونويدات هي مشتقات 1,3-diphenylpropane ، وهي تنتشر في الطبيعة بشكل كبير ، واسعة الإنتشار عند النباتات الراقية لكن تكون ضئيلة عند الطحالب. معظم الفلافونويدات مركبات صفراء اللون حيث تساهم في اللون الأصفر للأزهار والفواكه.

تظهر الفلافونيدات في النباتات ببنى كيميائية مختلفة، إذ تم التعرف على أكثر من 9000 فلافونويد [37]، جميعها تشترك في الهيكل القاعدي الذي يتكون من 15 ذرة كربون، تتوزع على حلقتين عطريتين تسمى الوحدتين A وB ترتبطان بسلسلة من ثلاث كربونات تشكل في غالب الأحيان الحلقة البيرانية C من الشكل (**Ar-C3-Ar**) الشكل I-4 .

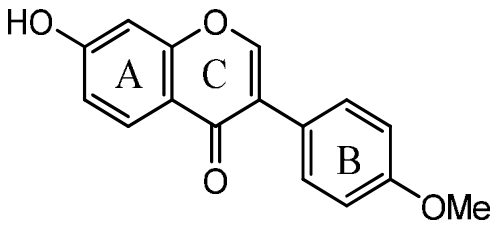


الشكل I-4 :الهيكل القاعدي للفلافونيدات

فهي توجد في العادة على شكل جليكوزيدات التي قد تكون على هيئة سكر أحادي أو ثنائي ، أو ربما يدخل في بناء السكر أكثر من وحدتي سكر أحادي. لحد الآن يوجد أكثر من 2000 جليكوزيد (فلافونات ، فلافونولات) تم عزله ، كما أن هناك منتجات طبيعية وثيقة الصلة بالتركيب البنائي للفلافونات وهي الإيزوفلافونات مثل : (Formononetine) ، و فلافونويدات سلفاتية وهي عبارة عن مركبات إستر سولفاتي للعديد من هيدروكسيلات الفلافون أو الفلافونول(kaempferol) أو مثيلاتهم الإيثيرية ، وهي أقل إنتشارا في الطبيعة بخلاف الفلافونات و الفلافونولات المنتشرة على نطاق واسع [15] .

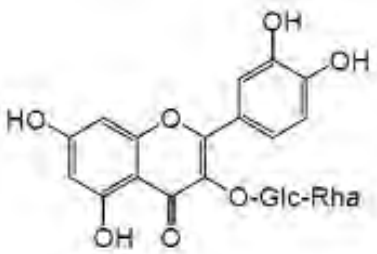


Kaempférol

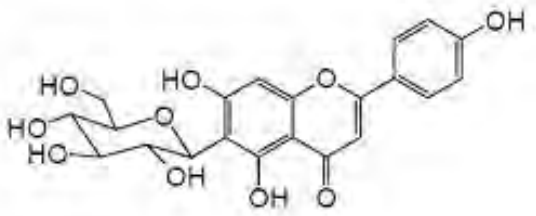


Formononetine

قد تكون وحدة السكر مرتبطة إلى ذرة أكسجين مجموعة الهيدروكسيل مثل مركب الrutine أومرتبطة مباشرة بإحدى ذرات كربون الحلقة العطرية مثل مركب الisovitexine .وأغلب السكريات الأحادية المتواجدة في بناء الفلافونويدات هي الجلوكوز والجلاكتوز والأرابينوز و الزيلوز.



Rutine

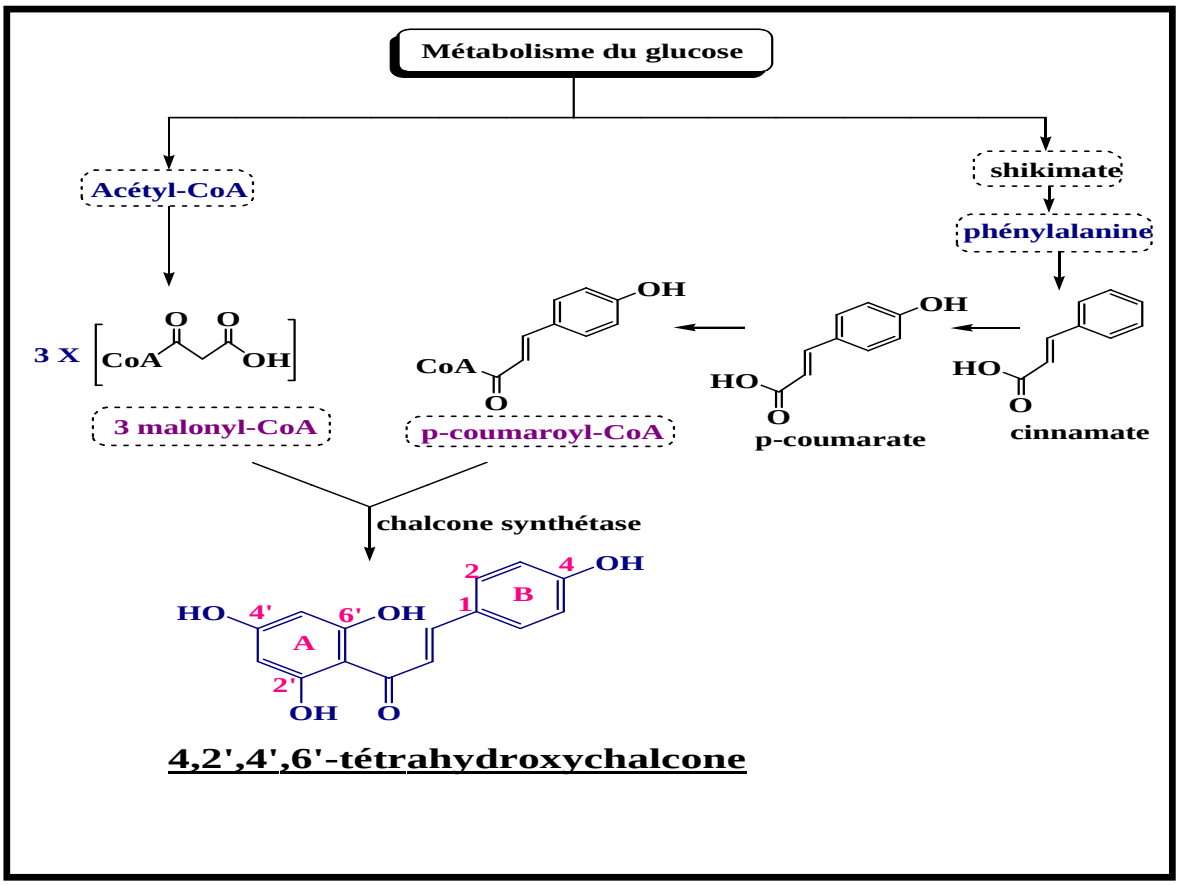


Isovitexine

I-3-2 الاصطناع الحيوي للفلافونيدات:

تشترك كل الفلافونيدات في هيكلها القاعدي لأنها تشتق من نفس الأصل الحيوي. إذ تتشكل الحلقة A من تكاثف ثلاث جزيئات (malonyl-coenzyme A) الناتجة عن أيض الجلوكوز. و يؤدي أيض الجلوكوز أيضا بطريق (shikimate) إلى phénylalanine، ثم إلى *p*-coumaroyl-CoA إلى تشكيل الحلقة B وسلسلة الثلاث كربونات C .

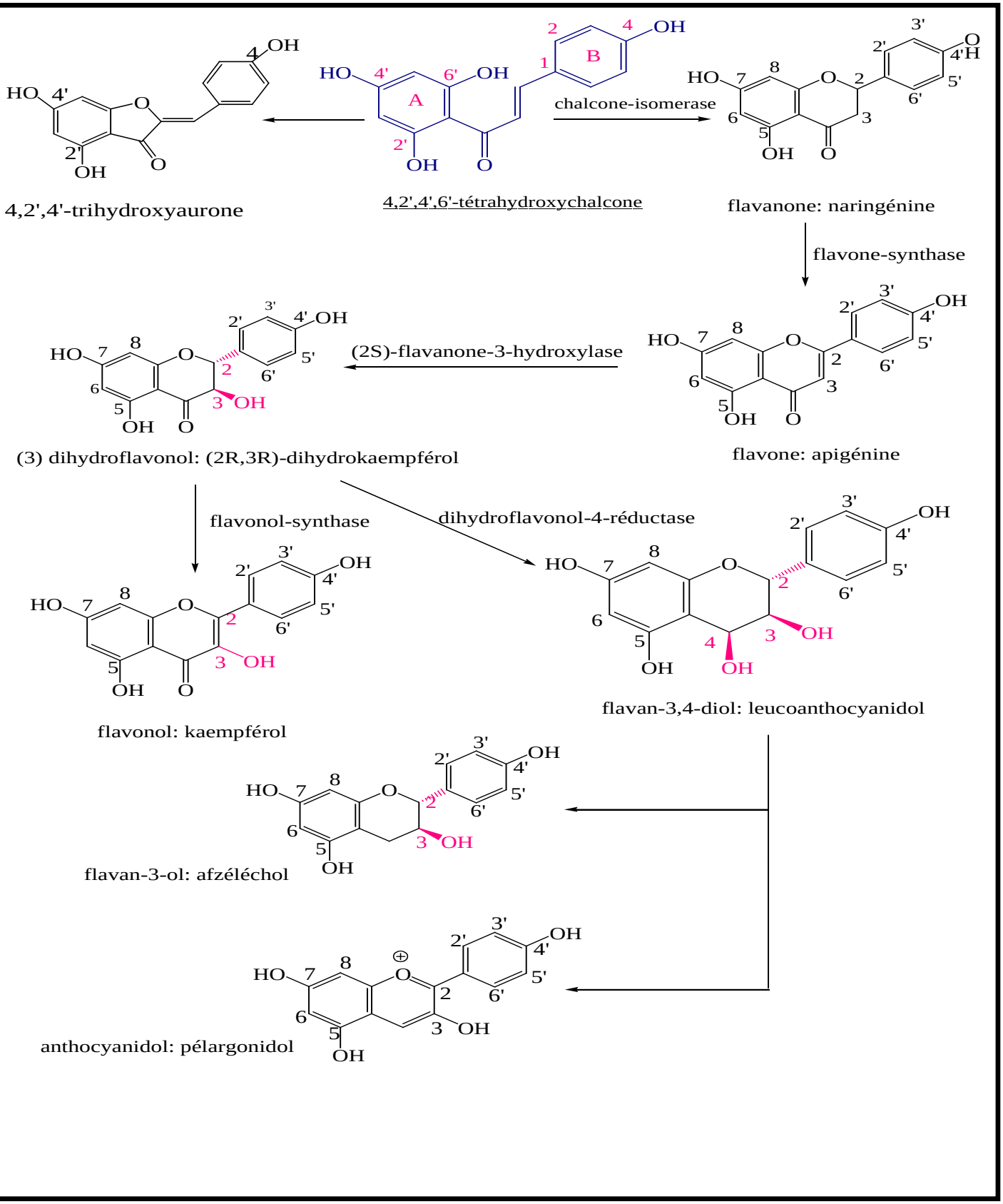
كخطوة موالية يتكاثف جزيء *p*-coumaroyl-CoA مع ثلاث وحدات للـ malonyls-CoA في نفس المرحلة الإنزيمية لينتج عنها الشالكون (4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone) ذو اللون الأصفر، عن طريق إنزيم (chalcone synthétase) الذي يمثل النواة الأولى لبناء مختلف أنواع الفلافونيدات [38] المخطط I-5، و تتشكل الحلقة C من تحلق الشالكون عن طريق الـ chalcone isomérase لينتج الـ (flavanone).



المخطط I-5-: الإصطناع الحيوي لنواة الشالكون

يتحول (flavanone) إلى (flavone) عن طريق إنزيم (flavone synthase) الذي يحفز خلق رابطة مزدوجة بين الكربونين (C-2 وC-3) أو إلى (dihydroflavonol) بفعل الإنزيم (-(*2S*)-flavanone-3-hydroxylase). الذي يحفز إدخال مجموعة OH على الكربون C-3.

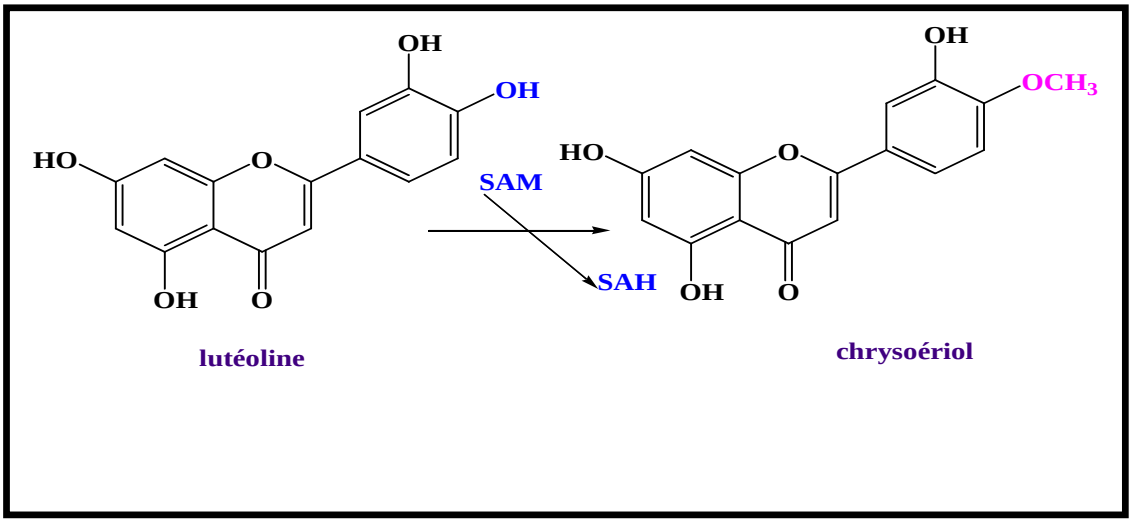
dihydroflavonol الناتج في وجود الإنزيمين (flavonol synthase) أو (-dihydroflavonol-4-réductase) يتحول إلى (flavonol) أو إلى (flavan-3,4-diol) على الترتيب. هذا الأخير يمكن أن يكون مولدا لـ (flavan-3-ols) و (anthocyanidols) المخطط I-6- [38]:



المخطط I-6- : الاصطناع الحيوي للفلافونيدات.

تتم عملية مثالة مجموعات الهيدروكسيل عن طريق إنزيم O-Methyl-transferase ومانح للمثيل S-adenosyl-methionine (SAM) [39].

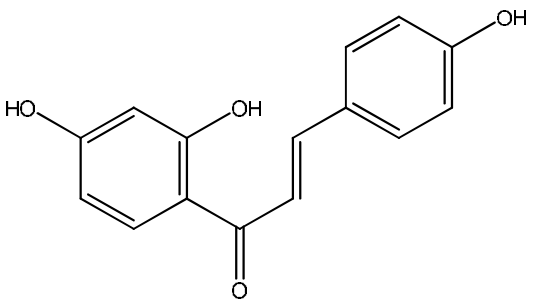
في حالة الهيدروكسيلات (OH) الأصلية، هذا التفاعل يتم قبل تشكيل نواة الشالكون، كما يمكن أن يتم كذلك بعد هذه المرحلة وعلى مجموعات الـ (OH) الأخرى مثل مثألة lutéoline ليعطي chrysoériol المخطط I-7-.



المخطط I-7-: تفاعل مثألة هيدروكسيل أصلي بعد غلق النواة C.

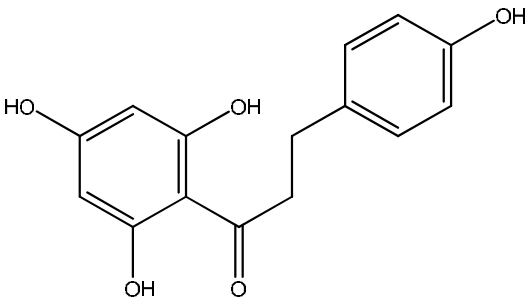
I-3-3 أقسام الفلافونويدات:

نستطيع أن نقسم الفلافونويدات إنطلاقا من الإصطناع الحيوي لها, فبعضها يعتبر وسائط ومركبات نهائية في الإصطناع الحيوي مثل الشالكونات، الفلافانو-3-أول، فلافان-3,4-ديول . بعضها الآخر تعرف فقط بالمركبات النهائية في الإصطناع الحيوي كأنثوسيانينات، الفلافانونات، الفلافونولات. معظم الفلافونويدات ملخصة في الهياكل التالية [15] :



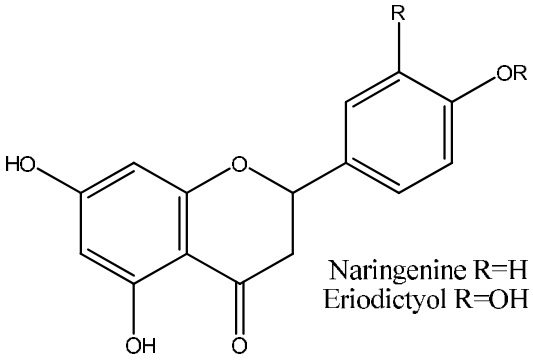
Isoliquiritigenine

Chalcone



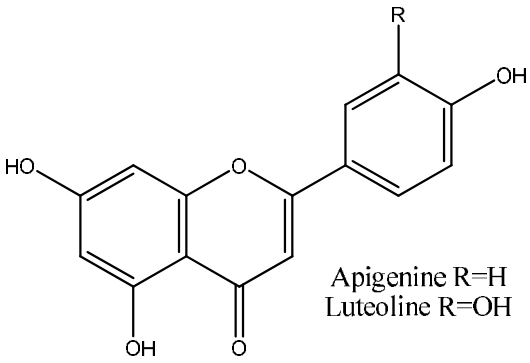
Dihydronaringenine chalcone

Dihydrochalcone



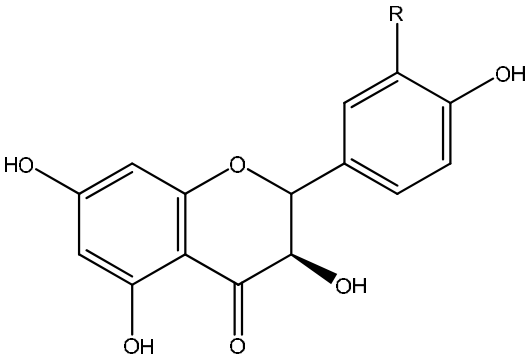
Naringenine R=H
Eriodictyol R=OH

Flavanone



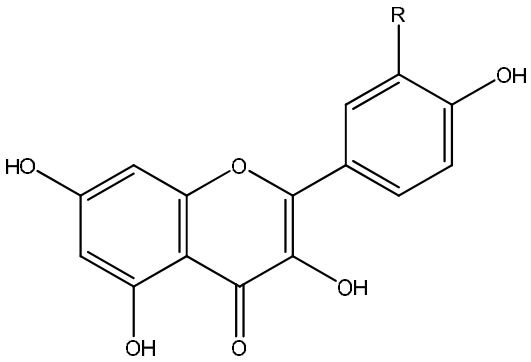
Apigenine R=H
Luteoline R=OH

Flavone



Dihydrokaempferol R=H
Dihydroquercetine R=OH

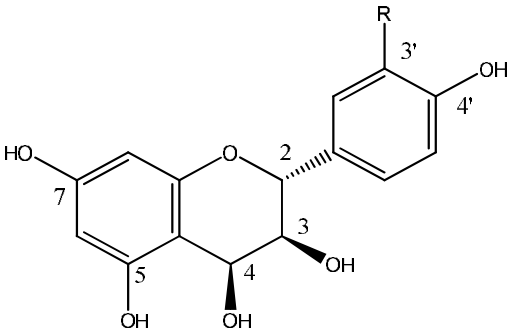
Flavanon-3-ol



Kaempferol R=H
Quercetine R=OH

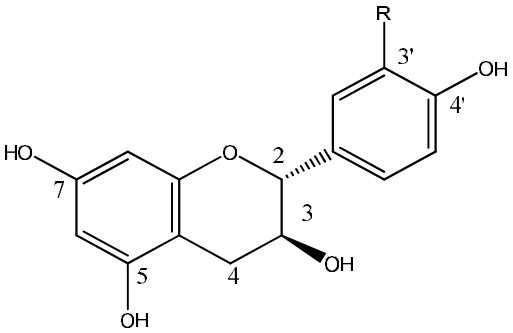
Flavanol

شكلI -6- : يبين مختلف هياكل الفلافونويدات.



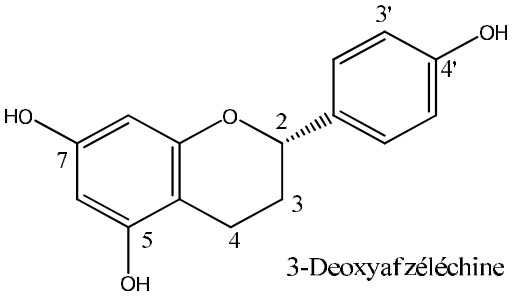
Loucopelargonidine R=H
Loucocyanidine R=OH

Flavan-3,4-diol



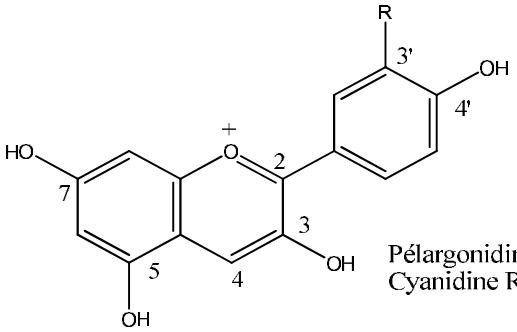
Afzaléchine R=H
(+)-Catécheine R=OH

Flavan-3-ol



3-Deoxyafzéléchine

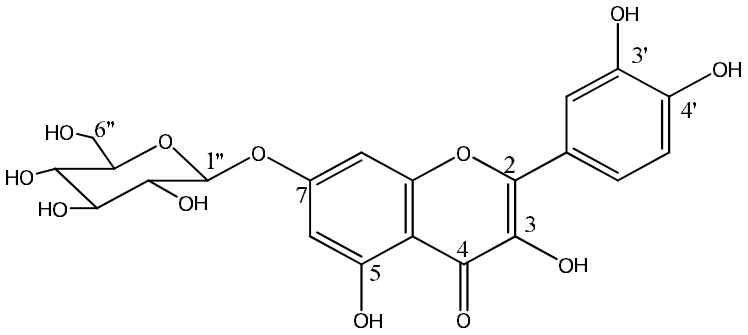
Flavane



Pélargonidine R=H
Cyanidine R=OH

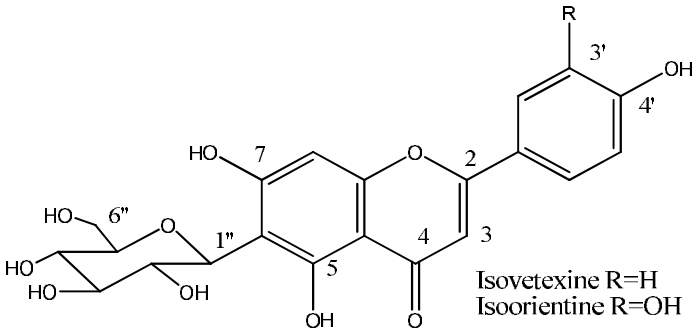
Anthocyanidine

Flavonoide O-glycoside



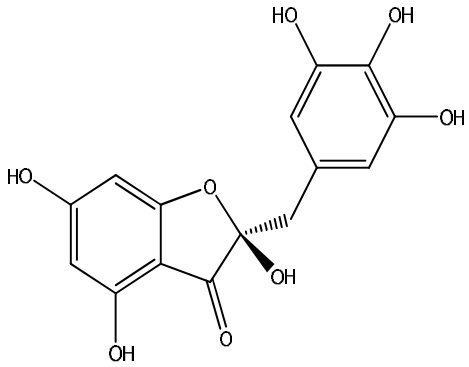
Quercetin 7-O-β-D-glucopyranoside

Flavonoide C-glycoside



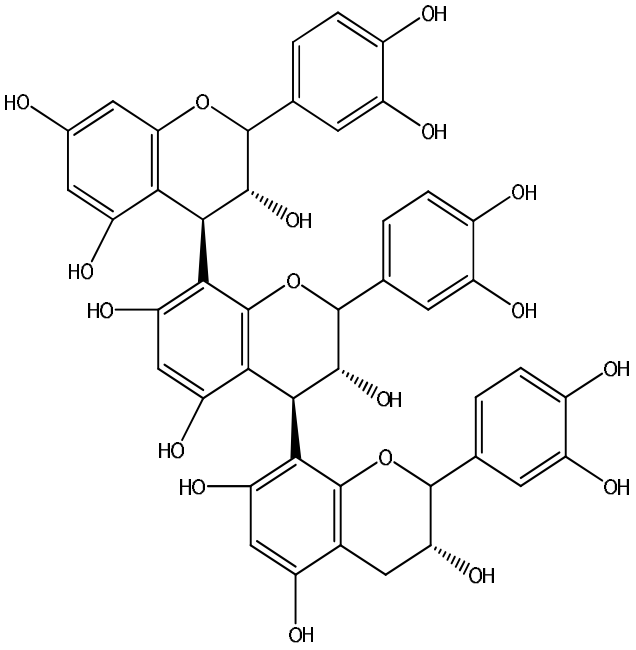
Isovetexine R=H
Isoorientine R=OH

شكلI -6- : يبين مختلف هياكل الفلافونويدات -تابع-



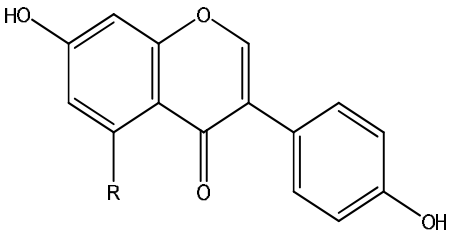
Amaronol A

Aurone



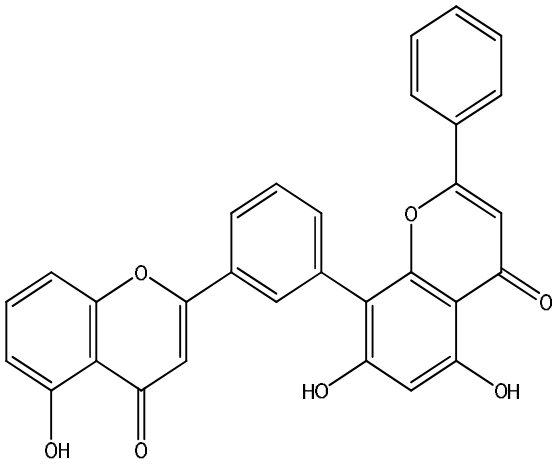
trimére Epicatechine
Tannin condensé

Proanthocyanidine



Daidzeine R=H
Genistenine R=OH

Isoflavonoide



Amentoflavone

Biflavonoide

شكل I-6- : يبين مختلف هياكل الفلافونويدات -تابع-

I-3-4 توزيعها في المملكة النباتية:

النباتات هي الوحيدة القادرة على تصنيع الفلافونويدات عدى استثناءات قليلة جدا، إذ تم استخراجها من مرجان بحري وعدد قليل من الفطريات [40]. فقد تم الكشف عن وجود مركبات فلافونويدية لدى الطحالب، كاسيات الزهر الوعائية، وعند عاريات و كاسيات البذور [41]. وتنتشر بشكل واسع لدى هذه الأخيرة (Angiospermes) أين يبلغ التنوع النباتي أقصاه [42].

و قد لوحظ تواجد بعض أقسام الفلافونويدات في مجموعات نباتية معينة تكون مميزة لها، كالإيزوفلافونات المميزة للعائلة البقلية [43] مما جعل مؤخراً علماء النبات يربطون بين انتشار هذه الجزيئات الفلافونويدية والتصنيف النظامي للنّبات (Systèmes taxonomiques) [44، 45] و مما ساعد على ذلك توزيعها شبه التام في النباتات، استقرارها النسبي، وسهولة تحديدها وقوة ميل النباتات إلى إنتاج نفس النوع من الفلافونويدات مما جعل منها مؤشرات كيميائية اختيارية في هذا التصنيف [46،47].

يمكن أن تتواجد الفلافونويدات في معظم أجزاء النبات، و خاصة في الشكل الإيتيروزيدي لأن هذا الشكل يجعلها أقل تفاعلا و أكثر انحلالا في الماء مما يسهل تخزينها في فجوات الخلايا ، خلايا و حويصلات الأوراق، في البراعم والجذور و في خلايا البشرة للأزهار [48،49].

أما الفلافونويدات التي تنحلّ في المذيبات غير القطبية، كالفلافونيدات عديدة الميثوكسيل فتتواجد في سيتوبلازم الخلية [50] حيث تتوضع الفلافونويدات الأجليكونية على الأنسجة السطحية للأوراق، وتكون ملازمة لمواد ذات طبيعة ليبوفيلية وهو الحال بالنسبة لنباتات المناطق الجافة وشبه الجافة [48،51] كما تتواجد في الأنسجة النباتية الميتة (نتيجة التميه الحمضي المحفز بواسطة الإنزيمات) وكذا في خشب الأشجار [50].

لوحظ أن flavanones و flavones غالبا ما تتواجد معا في نفس النبتة، و كذا flavanols وanthocyanes على عكس Flavones وflavonols فهي عادة لا تظهر معا في النبات الواحد [52]. عضوية الإنسان غير قادرة على تصنيع الفلافونويدات ، لكن غنى النباتات بهذا النوع من المركبات جعلها تتوفر في غذاءه اليومي في الفواكه خاصة القشرة الخارجية لها (البرتقال، العنب،..)، في الخضر وخاصة الورقية منها(الخس، البصل، السبانخ...)،في البذور (الفول، الكاكاو،..)، أوراق الشاي...والجدول الموالي يظهر توزيع الفلافونويدات في بعض المصادر الغذائية[53]:

الفلافونويدات	العناصر الغذائية
Flavanones	
Naringénine	**الفواكه من نوع الليمون**
Flavones	
Chrysine	**قشر الفواكه**
Apigénine	**الكرفس، إكليل الجبل، البقدونس، الزعتر**
Lutéoline	**الكرفس، البقدونس**
Flavonols	
Kaempférol	**الشاي الأسود، القرنبيط، الفجل.**
Quercétine	**الطماطم، الزيتون، التفاح ، البصل.**
Myricétine	**التوت البري.**
Flavan-3-ol	
Epicatéchine	**الشاي الأسود، الشاي الأخضر.**
Catéchine	**//.**
Anthocyanidols	
Cyanidol	**عنب الأحراج.**
Malvidol	**الفراولة، العنب**
Apigénidol	الفراولة، توت العليق

الجدول I-1-: توزيع الفلافونويدات في بعض المصادر الغذائية.

I-3-5 الخواص والفعالية البيولوجية للفلافونويدات:

بما أن الفلافونويدات مركبات هيدروكسيلية فإنها لابد أن تتصف بخواص وصفات الفينولات ,فهي مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة ذوابة في القواعد القوية مثل هيدوكسيد الصوديوم وتتصف الفلافونويدات التي تحمل عددا كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحوي على وحدات سكر بالصفة القطبية ، وعليه فهي ذوابة في المذيبات القطبية مثل الميثانول و الإيثانول وثنائي ميثيل سلفوكسيد والأسيتون و الماء. ووجود بقية السكر في جزيء المركب يجعله أكثر ذوبانا في الماء. أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات وكذلك الفلافانونات، الفلافونات، التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر .

تمتلك الفلافونويدات عدة خصائص فعالة, من بينها الخصائص التالية [15] :

- ✓ مضادة للأكسدة.
- ✓ مضادة للالتهاب.
- ✓ مضادة للفيروسات.
- ✓ مضادة لتسمم الكبد.
- ✓ مضادة للبكتيريا.
- ✓ مضادة لارتفاع ضغط الدم.
- ✓ مضادة للأورام السرطانية.

فالعديد من الأدوية التقليدية والنباتات الطبية تحتوي على الفلافونويدات كمركبات فعالة بيولوجيا.فالخصائص المضادة للأكسدة للفلافونويدات تكون موجودة في الفواكه الطازجة و الخضار, حيث يعتقد بأنه يساهم في الوقاية من السرطان وأمراض القلب. الـ Rutine مركب فلافونويدي جليكوزيدي يوجد في العديد من النباتات مثل *Sophora japonica* و *Fagopyrum esculentum* و *Ruta graveolens* و *Fagopyrum esculentum* ، فهو من المحتمل أن يكون المركب الأكثر دراسة من بين كل الفلافونويدات ، إذ يدخل في تركيب مختلف متعددات الفيتامين (multivitamin) ،فلافونويد آخر هو الـ Néohesperidine والمستخلص من نبتة *Citrus peels* يدخل في تركيب المضافات الغذائية وكذلك يستعمل في معالجة النزيف الشعري (hémorragie capillaire)[15].

I-3-6 الدراسة الكيميائية للفلافونويدات:

- **-6-1- الاستخلاص :**

قبل الشروع في عملية الاستخلاص يشترط تجفيف النبتة جيدا في أماكن خاصة تسمح بالتهوية وبعيدا عن أشعة الشمس والرطوبة، تفاديا للتفاعلات الإنزيمية التي قد تحدث تغيرات على المركبات المستخلصة. وفي هذا النوع من المركبات الفينولية يستحب الاستخلاص بمحاليل كحولية، كالميثانول والإيثانول مع إضافة الماء بنسب 20 إلى 50% [45، 54] بعد التركيز والتخلص من الكحول المستعمل، يعمد إلى استخلاص انتقائي من نوع سائل/سائل، باستعمال مجموعة من المذيبات كإيثر البترول لنزع الكلوروفيل والليبيدات، وثنائي إثيل إيثر (diethyl ether) لاستخلاص الأجليكونات الحرة [45] وأكثر المذيبات استعمالا أسيتات الإثيل (AcOEt) لاستخلاص الأجليكونات عديدات الهيدروكسيل والجليكوزيدات أحادية السكر كما يستعمل البيوتانول العادل (n-BuOH) في استخلاص الجليكوزيدات عديدة السكر.

- **-6-2- الفصل والتنقية :**

يعتمد على التقنيات الكروماتوغرافية بمختلف أنواعها في فصل وتنقية المركبات الفلافونيدية، فتعتبر كروماتوغرافيا العمود الطريقة الأنجع في فصل الكميات الكثيرة والأكثر تعقيدا، إذ تعتمد هذه الطريقة على الأطوار الثابتة : السليكاجل (Silicagel) والسليلوز(Cellulose) ومتعدد الأميد، SC_6 (Polyamide, eg. Machry Nagel) الذي يعتبر الأفضل لكونه مناسبا لفصل جميع المركبات الفلافونيدية خاصة الجليكوزيدية منها وذلك لاحتوائه على الوظيفة الأميدية السامحة بتشكيل روابط هيدروجينية قوية مع المجاميع (OH) الهيدروكسيلية [55]، وتعتبر كروماتوغرافيا الورق التحضيرية (PC) الطريقة الأفضل في تحليل الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي، ومن أشهر المذيبات المستخدمة في هذه التقنية نجد :

S_1 : حمض الخل CH_3-COOH بتراكيز مختلفة.

S_2 : البيوتانول النظامي : حمض الخل : الماء (W:A:B) (4 : 1 : 5) (الطبقة العضوية).

بالإضافة إلى هذه الطرق يستعان أيضا بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) ذات دعامة متعدد الأميد (DC_6)، ومن أشهر الجمل المستخدمة في هذه التقنية نجد :

S_3 : 13.3.3.1 (أستيل استون ـ مثيل إيثيل سيتون ـ ميثانول ـ ماء).

S_4 : 4.3.3 (مثيل إيثيل سيتون ـ ميثانول ـ طولوين).

S_5 : 18.1.1 (ماء ـ حمض الخل ـ ميثانول).

S_6 : 60.28.7.7 (مثيل إيثيل سيتون ـ ميثانول ـ إيثير البترول ـ طولوين).

يتم تنقية المركبات المفصولة بالاستعانة بعمود صغير من متعدد الأميد (SC_6) باستعمال طوليان كمذيب وإغنائه بالقليل من الميثانول، ثم عمود من Séphadex LH 20 باستخدام الميثانول كمذيب.

- **-3-6- التعيين البنيوي للفلافونيدات :**

-1-3-6- ثابت الانحباس :

Rf هو قيمة مميزة للمركب في شروط كروماتوغرافية معينة (درجة الحرارة، طبيعة المادة ، والمملص). وتتأثر هذه القيمة بالمستبدلات ومواقعها على الجزئي. فمن خلال Rf يمكن التمييز بين الجليكوزيدات أحادية، ثنائية، متعددة السكر [55] وبين الأجليكونات البسيطة، ومتعددة الهيدروكسيل أو متعددة الميتوكسيل.

-2-3-6-اللون الاستشعاعي :

كما أن لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) يعطي معلومات أولية عن البنية الكيميائية للمركب. كما يبين الجدول I-2 [55] :

لون المركب تحت الأشعة (UV)	التراكيب البنيوية المحتملة
بنفسجي مسود	فلافون فلافونول مستبدل في الموضع 3. 7,6,5 أو 8,7,5 ثلاثي هيدروكسي فلافون. شالكون
أزرق	فلافون أو فلافانول بدون (5-OH). فلافونول مستبدل في 3 وبدون (5-OH). فلافون او فلافانول مستبدل في 3 ب OH
أصفر أصفر لامع	فلافونول (3-OH) مع أو بدون (5-OH) فلافونول مستبدل في الموضع 5.
برتقالي لامع	إيزوفلافون.
أصفر مخضر	أورون.
أخضر	بعض الشالكونات

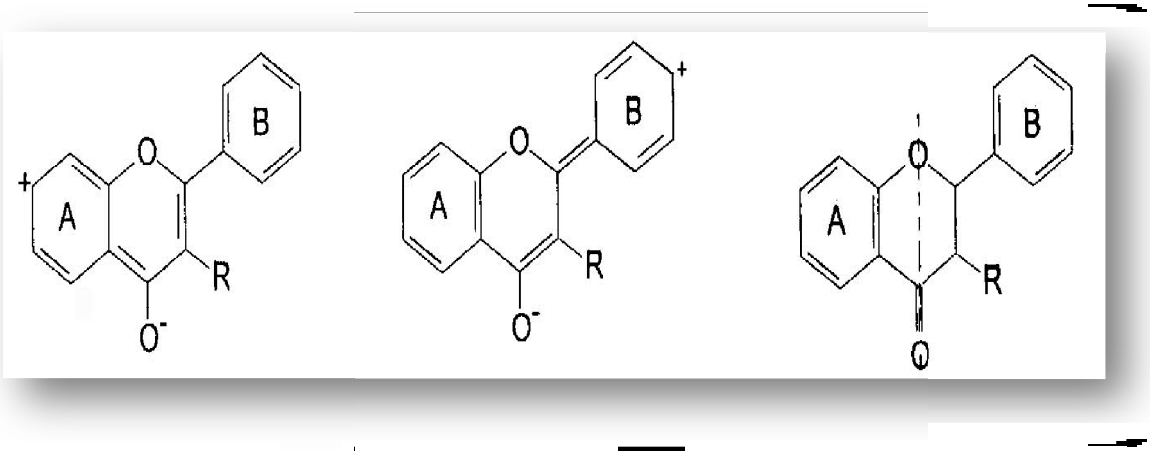
جدول I-2- يوضح العلاقة بين لون المركب تحت (UV)وبنيته الكيميائية.

-6-3-2- مطيافية الاشعة فوق البنفسجية (UV) :

تعتبر مطيافية الأشعة فوق البنفسجية من أهم الوسائل المستعملة للتعرف على البنى الكيميائية للفلافونيدات، نظرا للمعلومات الوافية التي تقدمها ولكونها لا تتطلب كمية كبيرة من المركب .

-6-3-2-1- طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي :

يعطي طيف الفلافونويدات الحاوية على مجموعة كربونيل في C_4 (فلافون، فلافونول)، عصابتين I و II [56] تبعا للشكل الموالي :



Benzoyle / B II **Cinnamoyle/B I** **Benzoyle / Cinnamoyle**

الشكل I- 7: العصابتين الخاصتين بالهيكل الفلافونويدي

العصابة I : ذات قيمة امتصاص عظمى في حدود (300-400 nm)، وهي راجعة إلى امتصاص الصورة Cinnamoyle الناتج عن ترافق مجموعة الكربونيل C_4 مع الرابطة الثنائية والحلقة B. إذ تسمح بتمييز الفلافونول عن الفلافون وتعطي معلومات عن التغيرات البنيوية للحلقتين B و C [56].

العصابة II : ذات قيمة امتصاص عظمى في حدود (250-280 nm)، وهي ناتجة عن الشكل Benzoyle الناجم عن ترافق مجموعة الكربونيل مع الحلقة العطرية A. وهذا ما يمكننا من الكشف عن الهياكل الفلافونيدية المختلفة.

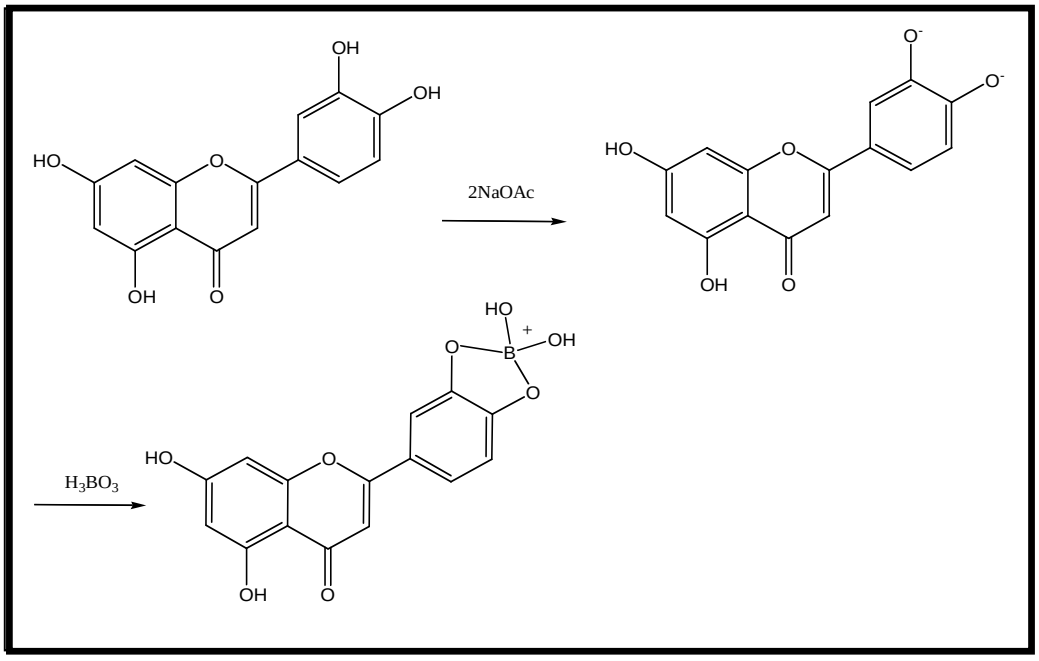
يعتمد مكان الحزمتين على عدد وموقع مجموعات الهيدروكسيل البديلة، فمن الملاحظ أنه كلما زادت مجاميع الهيدروكسيل، فإن حزمة الامتصاص تزداد إلى طول موجي أعلى "انزياح باتوكرومي". وعند استبدال مجموعات الهيدروكسيل بمجموعات ميتوكسيل، أو وحدات سكر تزاح حزمتا الامتصاص إلى طول موجي أقل "انزياح هيبسوكرومي" [57].

-6-3-2-2- طيف الامتصاص في وجود الكواشف :

* في وجود NaOH (NaOMe) : NaOH قاعدة قوية تؤين كل هيدروكسيلات الفلافونويد إذ تُحْدِث انزياح Bathocrome للطيف يكون واضحا على الحزمة I.

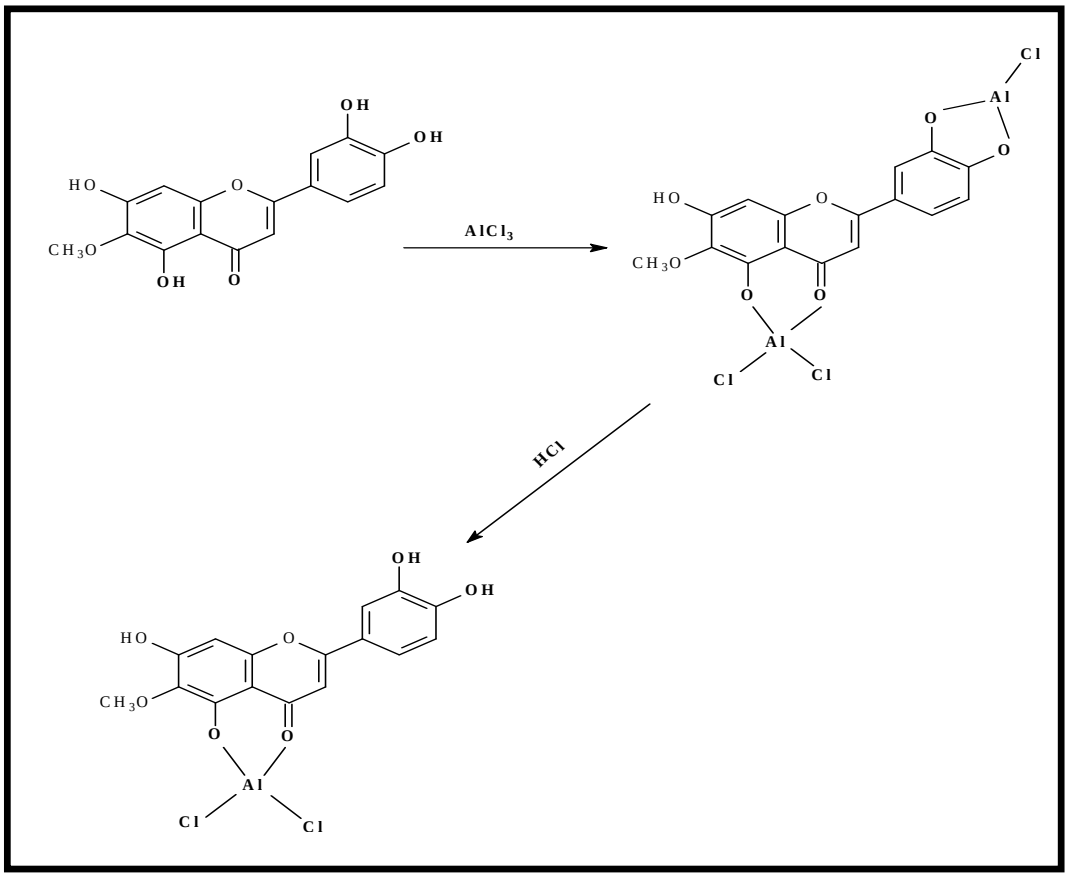
* في وجود NaOAc : NaOAc أساس ضعيف مقارنة بـ NaOH فهي تؤين فقط الهيدروكسيلات الأكثر حامضية C_7، C_3، C_4'، ويعتبر NaOAc كاشفا نوعيا لهيدروكسيل C_7.

* في وجود $NaOAc+H_3BO_3$: يستعمل هذا المحلول للكشف عن أورثو ثنائي الهيدروكسيل، إذ يشكل حمض البوريك في وجود خلات الصوديوم معقدات مع الهيدروكسيلات الفينولية في الموضع أورثو حسب . المخطط I-8



. المخطط I-8: يوضح المعقد المتكوّن بين الفلافونويد ومحلول ($NaOAc+H_3BO_3$).

* في وجود $AlCl_3$، $AlCl_3+HCl$: يشكل كلوريد الألومنيوم معقدات ثابتة في الوسط الحمضي مع مجموعة الكربونيل، وهيدروكسيلات المواقع 3 أو 5، ومعقدات غير ثابتة مع جملة أورثو ثنائي الهيدروكسيل مثل 3'، 4' كما هو موضح في المخطط I-9.



المخطط I-9: المعقدات الثابتة وغير الثابتة بين الفلافونيد و $AlCl_3$ قبل وبعد إضافة HCl.

الطريقة العملية:

لتسجيل أطياف الأشعة فوق البنفسجية لمركب فلافونويدي، يتم قياس وتسجيل الطيف الميثانولي لكل مرحلة

المرحلة1: بعد تسجيل طيف الإمتصاص في الميثانول يضاف لخلية المركب قطرات من NaOH بتركيز0.5 عياري ثم يسجل الطيف مباشرة، وبعد مرور5 دقائق يعاد تسجيل نفس الطيف.

المرحلة2 : يعاد تحضير الخلية الحاوية على المركب، ويضاف إليها بعض القطرات من$AlCl_3$ بتركيز1٪ في الميثانول، ثم يسجل طيف الإمتصاص بعدها تضاف قطرات من HCl (4 عياري) ثم يسجل الطيف .

المرحلة3: تحضر خلية جديدة للمركب المدروس ويضاف لها NaOAc (الصلب) حتى التشبع ثم يسجل الطيف، لتضاف بعدها إلى نفس الخلية قطرات من حمض البوريك H_3BO_3 المحضر في الماء بتركيز1٪ ثم يسجل طيف الإمتصاص.

والجدول I-3 يبيّن أهم الانزياحات الملاحظة بإضافة مجموعة من المتفاعلات على الحزمتين I وII [55، 58، 59].

الكاشف	قيم الإزاحة(nm)		التعليل
	العصابة I	العصابةII	
MeOH	350-310 360-330 385-350	280-250 280-250 280-250	فلافون فلافونول (3-OR) فلافونول (3-OH)
NaOH	+45إلى+65 للعصابة I دون نقصان في شدة الامتصاص +45إلى+65 للعصابة I مع نقصان في شدة الامتصاص عصابة جديدة بين 320-335 (ن.م) طيف يتحلل مع مرور الوقت		4'-OH 3-OH, 4'-OR 3, 4'-OH أو أورثو ثنائي الهيدروكسيل علىA أو ثلاث هيدروكسيلات متجاورة على B.
NaOAc	+5إلى+20 للعصابة II. إزاحة صغيرة للعصابة II. طيف يتحلل مع مرور الوقت $\Delta\lambda$ (I) NaOAc < $\Delta\lambda$ (I) NaOH		7-OH 7-OH (مع مستبدل في 6و/ أوفي 8) T-OH : 5,6,7 ; 5,7,8 ; 3,3',4' 7-OR (في حالة flavonols، 4'- OH flavones).
$NaOAc + H_3BO_3$	+12 إلى+36 للعصابة I. إزاحة باثوكرومية ضعيفة للعصابة I.		أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B. أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A.
$AlCl_3$	+30إلى +40 للعصابة I مقارنة بطيف$AlCl_3$ +HCl +20إلى +25 للعصابة I مقارنة بطيف $AlCl_3$ +HCl		أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B. أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A (إضافة إلى أورثو ثنائي الهيدروكسيل على B).
$AlCl_3$ +HCl مقارنة بطيف الميثانول	+17 إلى +20 للعصابة I. +35 إلى +55 للعصابة I. +50إلى+60 للعصابة I.		5-OH مع وجود مجموعة أكسجينية في 6 5-OH مع عدم وجود مجموعة أكسجينية في 6 3-OH أو 3-OH و 5-OH.

(+) : باتوكروم , (-) : هبسوكروم .

الجدول I–3- : يوضح أهم الانزياحات الملاحظة بإضافة مجموعة من المتفاعلات .

-6-3-2-3- الإماهة الحمضية :

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

-6-3-2-4- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي :

❖ البروتون ^{1}H R.M.N

يعتمد التحليل الطيفي للرنين النووي المغناطيسي على الخواص المغناطيسية لأنوية بعض الذرات مثل الهيدروجين H^{1}، الكربون C^{13}، الفلورF^{19}، الفوسفورP^{31}. ويمثل R.M.N ^{1}H حوالي 80٪ من دراسات الرنين النووي المغناطيسي وذلك لما لهذه الأنوية من خواص مغناطيسية قوية وإنتشار واسع في الطبيعة, تستعمل هذه التقنية في التحليل الكيفي للفلافونيدات لمعرفة درجة تأكسد الحلقات A، B، C ، وكذا عدد ومواقع المجموعات الميتوكسيلية وعدد وطبيعة السكريات الموجودة في المركب. ولتحقيق هذه التقنية تستخدم الكثير من المذيبات أشهرها : $CDCl_3$ ديوتروكلوروفورم الذي يعطي نتائج جيدة مع الفلافونيدات غير القطبية، و $DMSO-d_6$ (Hexadeuterodimethyl sulfoxide) الذي يستخدم في حالة الفلافونيدات الجليكوزيدية خاصة وكذا الأجليكونات [57]، تظهر بروتونات الفلافونيدات في المجال (0-9 ppm)، وتوزع في مجموعات محددة، وفيما يلي جداول تبيّن الانزياح الكيميائي لمختلف بروتونات الحلقتين A، B [60].

H-8	**H-7**	**H-6**	**H-5**	نوع الفلافونويد
d(*J* =2.5 Hz) 6.5 –6.3 ppm	-	d(*J*=2.5 Hz) 6.2 –6.0 ppm	-	5,7-OH
d(*J* =2.5 Hz) 6.4 –6.1 ppm	-	d(*J* =2.5 Hz) 6.1 –5.9 ppm	-	5-OH,7-OR (R=Glc)
6.3 ppm (S)	-	-	-	5,6,7-OR (R=H, Glc)
-	-	6.3 ppm (S)	-	5,7,8-OR (R=Glc,H)
d(*J* =2.5 Hz) 7 –6.7 ppm	-	d,d(9 Hz, 2.5 Hz) 7.1 –6.7 ppm	d(*J* =9 Hz) 8,0 ppm	7-OR (R=H, Glc)

الجدول I-4- : الانزياح الكيميائي لبروتونات الحلقة A.

H-6' , H2' d(*J* = 8.5 Hz)	H-5' , H3' d(*J* = 8.5 Hz)	الفلافونويد
7.,9 – 7.7 ppm	7.1 – 6.5 ppm	فلافون
8.1 – 7.9 ppm	7.1 – 6.5 ppm	فلافونول

الجدول I-5- : الانزياح الكيميائي لبروتونات الحلقة B في حالة C_4' = OR.

H-6' dd(*J*= 8.5; 2.5 Hz)	H2' d(*J* = 2.5 Hz)	**نوع الفلافونويد**
7.5 – 7.3 ppm	7,3 - 7,2 ppm	Flavone (3',4' OH; 3' OMe, 4' OH; 3'-OH, 4' OMe)
7.9 – 7.6 ppm	7,7 - 7,5 ppm	Flavonol (3',4' OH; 2'-OH, 4' OMe)
7.6 – 7.4 ppm	7,8 - 7,6 ppm	Flavonol (3',4' OH; 3' OMe, 4'-OH)

الجدولI-6-: الإزاحة الكيميائية للبروتونات 2'، 6' للحلقة B.

بروتونات الحلقة C :

يتأثر بروتون C_3 في الفلافون بمستبدلات كلتا الحلقتين العطريتين، ويعطي إشارة أحادية في المنطقة (6.2-6.4 ppm) تتداخل مع إشارة برتوني الحلقة A(H8, H6) [60].

يعطي بروتون C_2 في الإيزوفلافون إشارة أحادية حادة في حدود 8-8.5 ppm [60].

بروتونات الميتوكسيل :

تظهر بروتونات الميتوكسيل في المجال 3.8-4.5 ppm [60].

بروتونات السكريات :

يمكن التعرف على نوع السكر من خلال بروتونه الأنوميري، ذو انزياح كيميائي يعتمد أساسا على طبيعة الفلافونيد وموقع ونوع الرابطة بين السكر والأجليكون، والجدول -6- يعطي قيم الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H_1 لبعض الفلافونيدات أحادية السكر.

الفلافونويد	δ H_1'' ppm
7-O-glucosyl flavonol	5.2 – 4.8
3-O-glucosyl flavonol	6.0 – 5.7
7-O-rhamnosyl flavonol	5.3 – 5.1
3-O-rhamnosyl flavonol	5.1 – 5.0

الجدول I-7- : يبيّن قيم الانزياح الكيميائي لـ ''H_1 لبعض الفلافونويدات أحادية السكر.

❖ الكربون $RMN^{13}C$:

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

- ✓ معرفة العدد الإجمالي لذرات الكربون للفلافونيد .
- ✓ معرفة عدد كربونات السكر .
- ✓ معرفة عدد الكربونات المؤكسجة داخل أنوية الفلافونيدات .
- ✓ طبيعة ومكان ارتباط الوحدة السكرية.
- ✓ التمييز بين هياكل الفلافونيدات إعتمادا على الإنزياح الكيميائي للكربونات 2 ،3 و 4.

يوضح الجدول التالي الإزاحات الكيميائية لذرات الكربون 2 ،3 ،4 للفلافونات والفلافونولات من خلال تقنية الرنين النووي المغناطيسي$RMN^{13}C$ [61] .

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

الجدول I-8- : الإزاحة الكيميائية لبعض ذرات الكربون للفلافونات و الفلافونولات.

قد تعجز كل من مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H R.M.N وللكربون R.M.N ^{13}C على تحديد موضع الإستبدال بالدقة اللازمة فنلجئ إلى مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ثنائية البعد، التي تعطي تعالقات بين أنوية متجانسة مثل ^{1}H-^{1}H Cosy أو أنوية غير متجانسة مثل HSQC ولكن هذه الأخيرة لا تسمح بمعرفة الكربونات الرباعية. فتستعمل HMBC تقنية فيتم تحديدها[62].

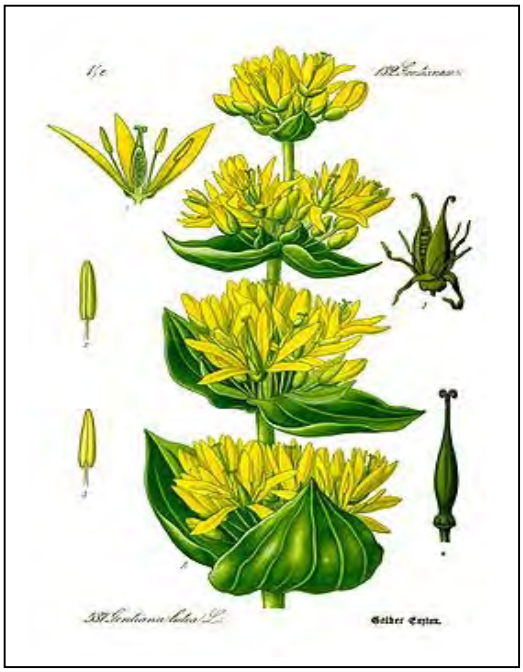
تقدم مطيافية الكتلة خدمة واسعة للتعرف على البنى الفلافونيدية ،خاصة كونها لا تتطلب كمية كبيرة من المركب إذ يكفي جزء من ملغ، فمن خلالها يمكن معرفة الوزن الجزيئي وبالتالي معرفة الصيغة المجملة للمركب الذي يبين نوعية المستبدلات ميتوكسيلية كانت أو هيدروكسيلية، كما تمكن قيم الشظايا من معرفة توزع هذه المستبدلات على الحلقتينA وB .وتعتمد هذه التقنية على عدة طرق أهمها: طريقة القذف الإلكتروني (IE) ,مع تطور مطيافية الكتلة ظهرت تقنيات جديدة، كتقنية الإلكتروسبراي Electro-spry، وتقنية القذف بالذرات المسرعة FAB[62].

الفصل الثاني

الدراسة الفيتوكيميائية لعائلة Gentianacea ونبتة

Centaurium.erythreae.

II- عائلة Gentianaceae:



II-1- مقدمة:

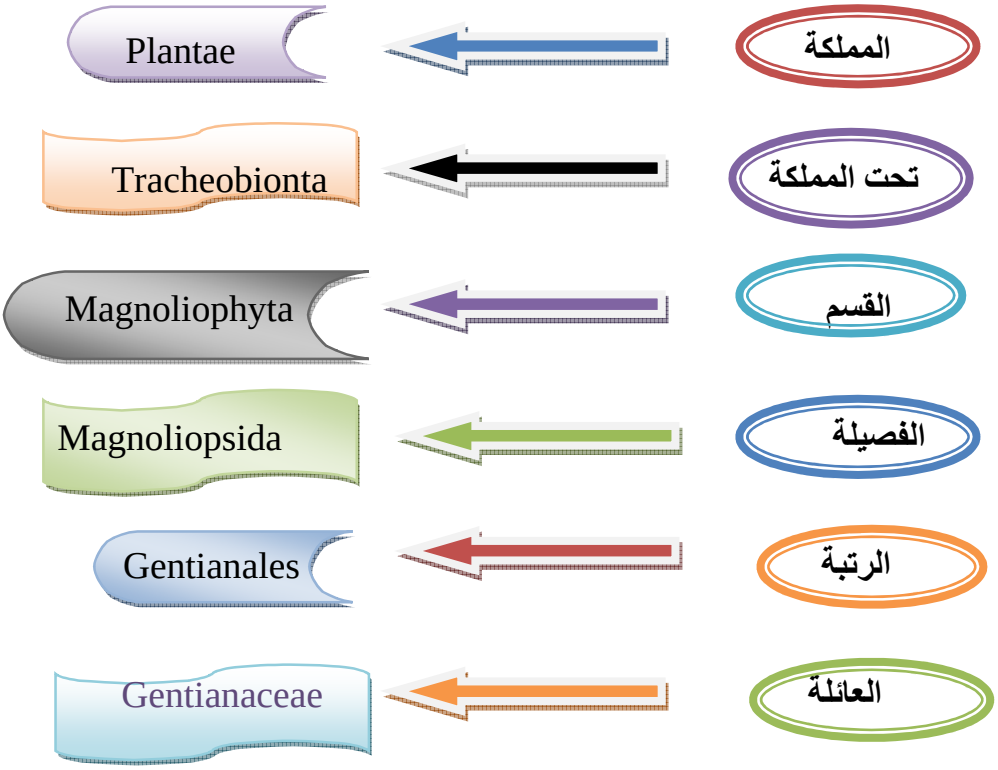
Gentianacea هي عائلة واسعة من dicotylédones, تتواجد في المناطق الباردة و الاستوائية حيث تضم أكثر من **1600** نوع وتنقسم إلى **87** جنس حسب وصف Jussieu في 1789.

لكن في التصنيف الجديد classification APG (1998) و(2003) classification APG II العائلة أدمجت أنواع جديدة فأصبحت تضم **1650** نوع مقسمة إلى **82** جنس[63] تقريبا و الجدول-2- الموالي يبين وضعية العائلة:

APG II	Takhtajan	Dahlgren	Thorne	Cronquist	Engler	المصنف
Tricolpées (Eudicotylédones)						**فوق الفصيلة**
Tricolpées évoluées	**Magnoliopsida**				**Dicotyledonae**	**الفصيلة**
Asteridae	**Lamiidae**	**Magnoliidae**		**Asteridae**	**Sympetalae**	**تحت الفصيلة**
Euastéridées I ou Lamidées	**Gentiananae**					**فوق الرتبة**
Gentianales						**الرتبة**
Gentianaceae						**العائلة**

الجدول II-1-: وضعية عائلة Gentianaceae حسب التصنيف المتطور.

II-2-التصنيف الكلاسيكي للعائلة :



II-3-الوصف النباتي :

هذه العائلة من النباتات العشبية تكون سنوية وحتى معمرة و نادرا ما تكون عبارة عن شجيرات (*Macrocarpaea* spp.) ، يوجد بعض النباتات النادرة المختلفة بأنواعها الخالية من الكلوروفيل التي تعيش على العضويات المنحلة. (*Voyria,Voyrella*) ، أوراقها عادة ما تكون متقابلة-متعاكسة ،أحيانا متناوبة (*Swertia*) هذه الأوراق تكون موضوعة مباشرة على الساق أو نابتة من نفس الساق ، الإزهار يكون على شكل مجموعة من الزهور المحورية أو النهائية أو عبارة عن زهور وحيدة ، الزهور منتظمة تكون أحادية الجنس أو زهور خنثوية . كأس الزهرة يتكون من 4 إلى 5 سبلات ملتحمة فيما بينها نادرا ما تكون حرة . أما البتلات عددها من 4 إلى 5 و تكون أيضا ملتحمة, فتشكل تويج الزهرة و الذي يكون عبارة عن جرس، بالنسبة للمآبر تكون موضوعة على قاعدة التويج ، متعددة مثل الجيوب فتكون متناوبة معها .مجموعة الأعضاء التناسلية للزهرة متكونة من {المبيض,الميسم, التويج} تتموضع على قرص غدي ، المبيض يكون في الأعلى, البويضات كثيرة ،القلم بسيط ،المدقة عادية أو ذات جيبين ،الفواكه عبارة عن كبسولة مفتوحة ،أما الرشيم فيكون صغير و مستقيم [63].

التصنيف الوراثي يضع هذه العائلة تحت –فصيلة أل **Asteridae** و التي تتميز ب 6 قبائل و هي :

Gentianeaeو Chironieae, Exaceae , Helieae, Potalieae, Saccifolieae

نستطيع تلخيص ال **82** جنس لهذه العائلة في القائمة التالية [63] :

Bartonia, Anthocleista Belmontia, Bisgoeppertia, Blackstonia, Canscora, Celiantha, Centaurium, Chironia, Chorisepalum, Cicendia, Comastoma, Congolanthus, Cotylanthera, Coutoubea, Cracosna, Crawfurdia, Curtia, Deianira, Djaloniella, Enicostema, Eustoma, Exaculum, Exacum, Fagraea, Faroa, Frasera, Geniostemum, Gentiana, Gentianella, Gentianopsis, Gentianothamnus, Halenia, Hockinia, Hoppea Irlbachia,, Ixanthus, Jaeschkea, Karina, Lapithea, Latouchea, Lehmanniella, Lisianthius, Lomatogoniopsis, Lomatogonium, Macrocarpaea, Megacodon, Microrphium, Monodiella, Neblinantha, Neurotheca, Obolaria, Oreonesion, Senaea,Ornichia, Orphium, Potalia, Prepusa, Pterygocalyx, Pycnosphaera, Rogersonanthus, Sabatia, Saccifolium, Schinziella, Schultesia, Sebaea, Sipapoantha, Swertia, Symbolanthus, Symphyllophyton, Tachia, Tachiadenus, Tapeinostemon, Tetrapollinia, Tripterospermum, Urogentias, Veratrilla, Voyria, Voyriella, Wurdackanthus, Zonanthus, Zygostigma.

II-4-عائلة Gentianaceae من الناحية الفرموكولوجية و الفيتو كيميائية :

II-4-1 الناحية الفرموكولجية :

اشتق اسم ال ***Gentiana*** من اسم الملك ***Illyrie Gentius*** في القرن الثاني قبل الميلاد ,حيث أكتشف بعض الخصائص الخافضة للحرارة ل **gentiane**[64] ،الجذور دائما تستعمل لهذا الغرض في بعض المناطق الجبلية ، تعرف نباتات عائلة الGentianaceae بمذاقها المر و هذا راجع لوجود الاريدويدات مثل amarogentine (المركب الأكثر مرارة) و التي تعالج نقصان الشهية و الحمى [65] ، و أيضا بدأت تستعمل لعلاج التهاب الكبد [66] ، آما بالنسبة للكسنتونات فالمنجوفيرين مضاد للالتهابات [67] bellidifoline و swerchirine فهي مخفضة للسكر[68].

أيضا المواد المستخلصة من *Swertia* لها فعالية منفرة للحشرات [69] و لقد تم فصل 5 من tetrahydroxyxanthones من *Tripterospermum lanceolatum* التي اثبت أنها لها فعالية كبيرة لثبط فعالية فيروس اللوكيميا [70] .

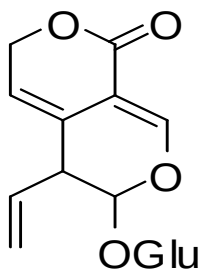
II-4-2 الناحية الفيتو كيميائية:

عائلة الGentianaceae تحتوي على أنواع عديدة تمتاز بخصائص فيتو كيميائية مهمة تستعمل في الطب القديم ، تتميز هذه العائلة بوجود الاريدويدات و الكسنتونات بالاضافة الى الفلافونويدات C – السكرية و المانجوفيرين [71].

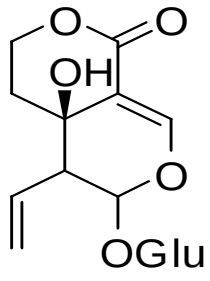
✓ 2-1- الاريدويدات :

فلقد تم فصل 90 نوع من الاريدويدات من هذه العائلة و التي تكمن فيsec-iridoides السكرية و مشتقاتها أين تتمثل في: sweroside(18) ، swertiamarine (19) ، gentiopicroside (20) , الاريدويدات الكربوكسيلية و مشتقاتها Acide secologanique(21) وMorroniside (22) كما يبن الشكلII-1- [71].

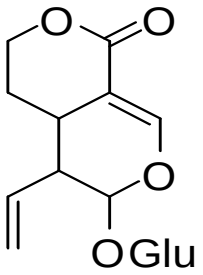
±



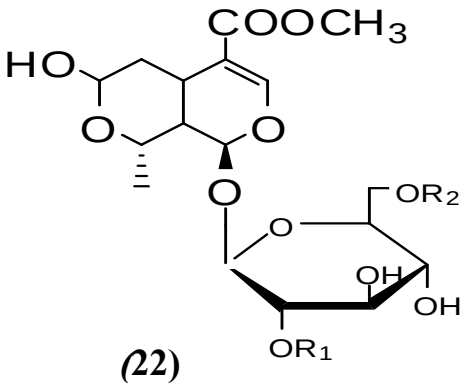
(20)



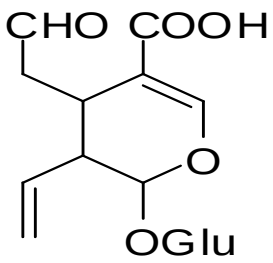
(19)



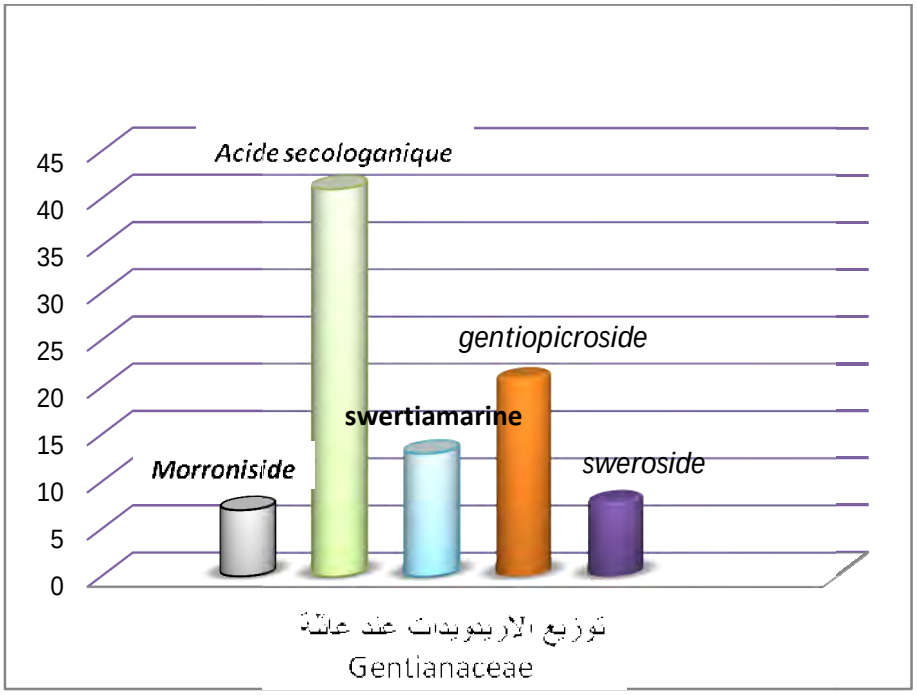
(18)



(22)



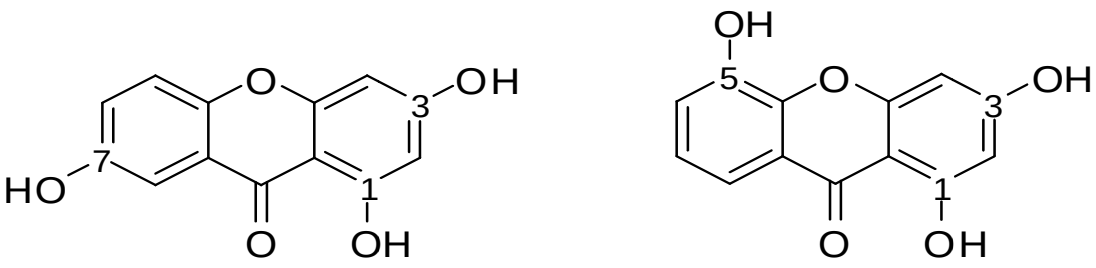
(21)



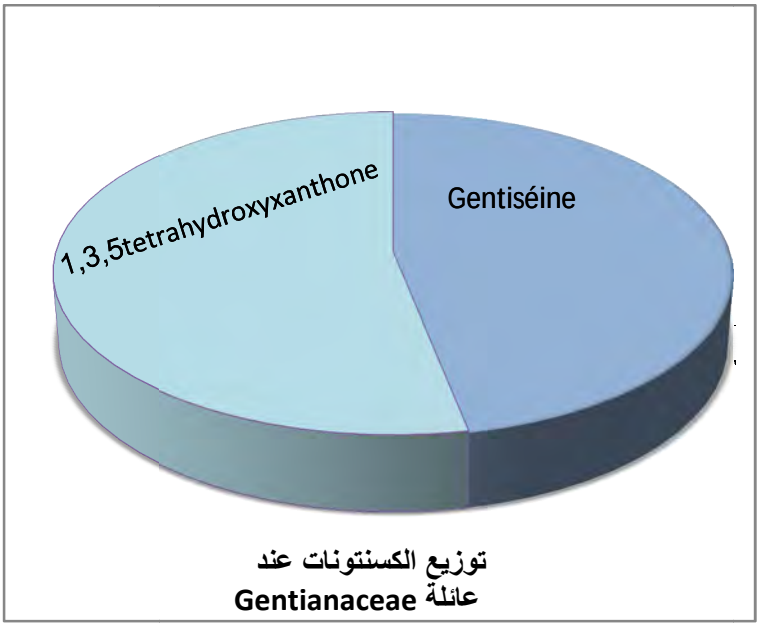
الشكل II-1 توزيع الاريدويدات عندعائلة Gentianaceae.

✓ 2-2-الكسنتونات :

لقد تم إحصاء 100مركب من العائلة, حيث تتوزع على 110نوع في 21 جنس حيث تشتق جميع هذه المركبات من:1,3,5 tetrahydroxyxanthone **(23)** و gentiséine **(24)** كما يبين الشكلII-2- [71].



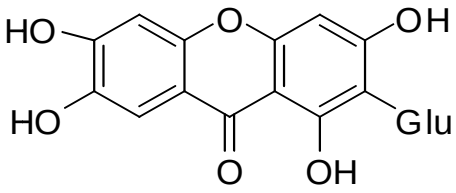
(23) **(24)**



الشكلII-2- توزيع الكسنتونات عندعائلةGentianaceae.

✓ 2-3 المنجوفيرين :

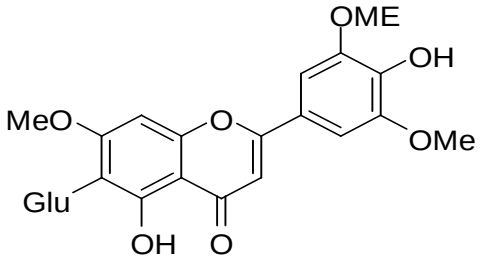
وهوعبارة عن نوع من الكسنتونات السكرية **(17)** ,لكن توزيعه في العائلة محدود مقارنة بالمنتجات الأخرى و لقد تم إحصاءه على 42 نوع في 7 اجناس [71].



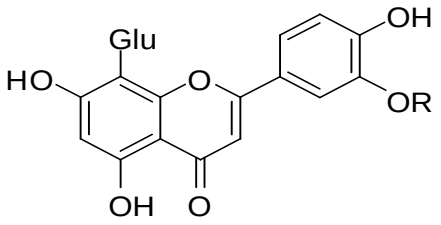
(17)

✓ 2-4 الفلافونويدات :

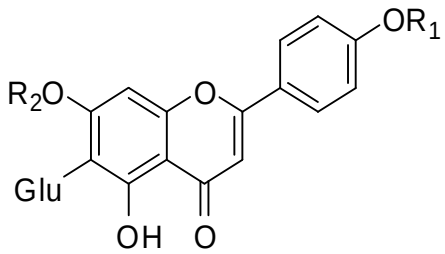
و تكمن في **C-glucoflavones** و هي أيضا من المنتجات القليلة الانتشار في العائلة حيث تم إحصاء 9 مركبات فقط و لقد تم توزيعها على 78 نوع في 9 أجناس [71].

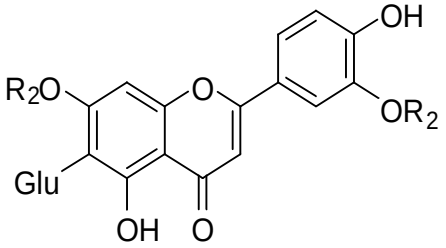


Isoperinine



R=H, Orientine
R=Me,scoparine





R_1=R_2=H,Isovetexine
R_1=Me,R_2=H,Isocytisoside
R_1=H,R_2=Me,Swertisine

R_1=R_2=H,Isoorientine
R_1=Me,R_2=H,Isoscoparine
R_1=H,R_2=Me,Swertiajaponine

5-II نبات *Centaurium erythreae* :

1-5-II الجنس *Centaurium* :

هناك نوعين من جنس *Centaurium* احدهما ينتمي إلى العائلة المركبة ,و الآخر ينتمي الى عائلة Gentianaceae،و هو الجنس المدروس و الذي يتكون من 20 نوع, قبيلة Chironieae و تحت قبيلة Chironiinae ، و هذا الجنس مشهور جدا في الميثولوجيا اليونانية لفعاليته في الطب الشعبي نبات هذا الجنس عبارة عن شجيرات صغيرة ،غالبا ما تنمو مرتين في السنة و تكون أزهارها وردية.أحيانا ما يطلق اسم *Erythraea* على هذا الجنس . من بين أنواعه : *C. erythraea* , *C. favargeri* *C. littoral*‘*C, pulchellum.* , *C. scilloides* , *C. spicatum* , *C maritimum*

2-5-II التسمية :

تعني كلمة Centaurium في الميثولوجيا اليونانية الكائن المهجن بين الإنسان و الحصان و هذه الكائنات كانت مولعة بالطب ، من بينها Chiron Centaure فهو بتميز بعلمه الواسع في علم النباتات علم الفلك,الجراحة,الفنون و الصيد .عند وقوع الحرب بين الهر قل و السنطوريون (les Centaures و Héraclès) جرح Chiron Centaure في قدمه فعولج بنبتة *Centaurium Erythreae* .

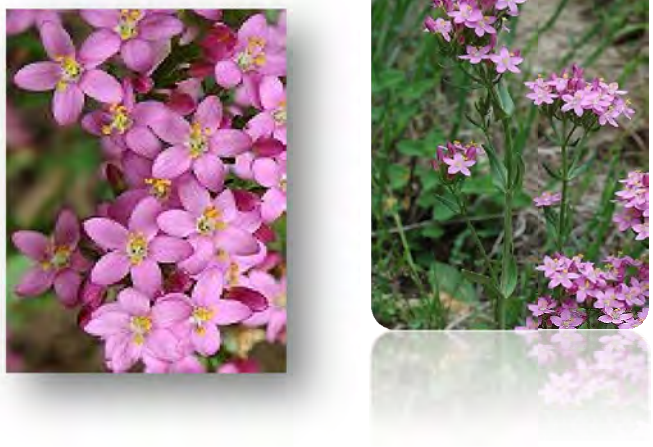
و لقد تحولت هذه الكلمة إلى centum aurie و التي تعني مئة قطعة ذهبية ،بسبب ذوقها المر أطلق عليها الرومان herbe félis terre أي عشبه المرارة الصفراء الأرضية ، ولقد وجد أن هذه النبتة قد تم استعمالها من طرف تلامذة Hippocrate (في القرن 4و5 قبل الميلاد) كمسهلة و لمعالجة العيون و تضميد الجراح .من بين مرادفاتها : Petite centaurée *Herbe à la fièvre*, *Herbe à chiron*, *Quinquina d'Europe*, *centaurium minus*, *centaurium umbellatum*, الشكلII-3- [72,73,74].

II-5-3 التوزيع الجغرافي :

تنمو هذه النبتة في كل أوروبا ماعدا منطقة القطب ، في شمال أمريكا و شمال إفريقيا في وسط أسيا و استراليا . نجدها في المناطق الرطبة، ومنحدرات الجبال إلى ارتفاع حتى 1400متر[74] .

II-5-4 الوصف المورفولوجي للنبتة :

تنمو هذه النبتة مرة وحتى مرتين في السنة من شهر جوان إلى سبتمبر طولها من 10- 60سم جذورها رفيعة بيضاء ،ساقها رشيقة ذو قسم مربع يتفرع في الجزء العلوي ذو غصين منتصب،أوراقها خضراء تتوزع على شكل 3 وريقات ،أزهارها ذات لون وردي أحيانا بيضاء على شكل باقة تتموضع في أعلى النبتة (15مم) ،كاس الزهرة ضيق شكله خماسي ينقسم إلى 5 قطع مستقيمة-مأنبية ، التاج عبارة عن أنبوب رقيق بارز على الكأس, مفتوح ، 5 مآبر حرة بارزة خارج الأنبوب ، ومبيض مستطيل اسطواني مملوء بالقلم و المدقة في الأعلى ذات جيبين .[72,73].



Famille** : ***Gentianacea.

*** Genre** : ***Centaurium.***

*** Espèce** ***:*** ***Erythreae .***

الشكل II-3-:*Centaurium erythreae*.

II-5-5 استعمالات نبتة *Centaurium erythreae* :

! 5 -1- في الطب التقليدي :

تستعمل جميع أجزاء النبات و حتى الأزهار، بحيث يتم جمعه في الربيع عند الإزهار.وتستعمل في التطبيب الداخلي و الخارجي .

- الاستعمال الداخلي:

تغلى كمية من هذه النبتة و تشرب ، فتساعد على تنشيط إفرازات الكبد و المعدة، و بذلك تقلل من تقلصات المعدة ،عسر الهضم ،الطفيليات المعوية [75] ، كما وجد أنها فعالة ضد الإرهاق ،فقر الدم ،مرض النقرس ،فقدان الشهية ،مضادة للحمى ،الروماتيزم ،الملا ريا ،الانتفاخ العصبي [76,77].

- الاستعمال الخارجي:

تستعمل كضمادات للجروح، و القروح، الكز يما، الدوالي، تستعمل أيضا لتساقط الشعر[76,77].

! 5-2-في الطب الحديث :

و تستعمل كمغلي أعشاب (tisane) من بين هذه الأدوية [78]:

DIATISAN* - Laboratoires LEHNING

Traditionnellement utilisée pour stimuler l'appétit

20 sachets-doses papier de 1,5 g

Composition pour 1 sachets-doses 1.5g :

0,30 g petite centaurée et, houblon, genièvre, orange amère, gentiane, menthe poivrée

TISANE HEPATIQUE DE HOERDT* - Laboratoires WIEGER

Traditionnellement utilisée pour favoriser la production de bile par le foie et sa sécrétion dans l'intestin

24 sachets-doses papier de 2 g

Composition pour un sachet-dose de 2 g : 0,38 g petite centaurée et, absinthe, achillée millefeuille, aigremoine, boldo, chiendent, ményanthe,

II-5-6 الفعالية البيولوجية لنبتة *Centaurium erythreae* :

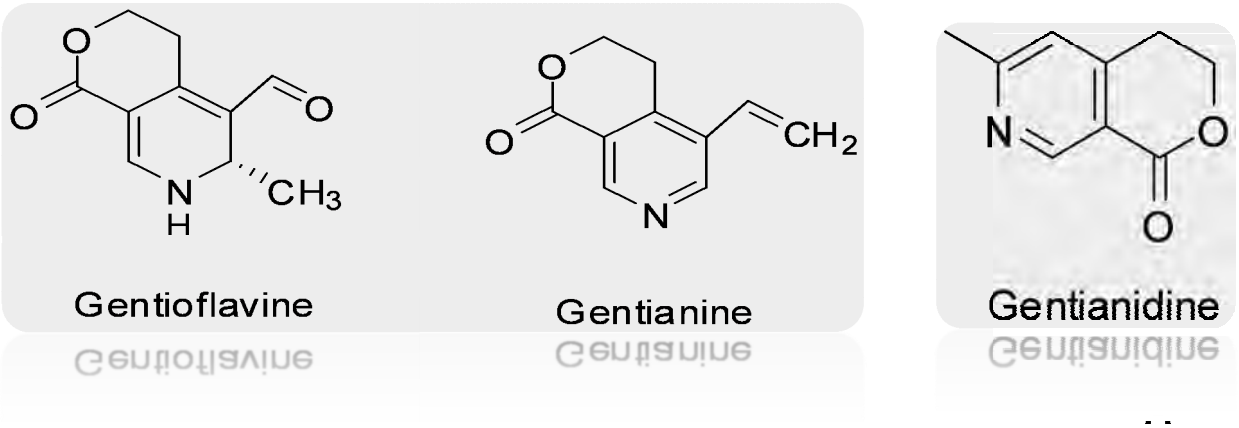
- متعدد الميثيل كسنتون المفصول من هذه النبتة اظهر فعالية antimutagenic ضد بيكتيريا Salmonella typhimurium[79] .
- و لقد حددت فعالية Gentiopicroside (20) وذلك بانه مضاد للبكتيريا و الجذور الحرة [80].
- Swertiamarin (19) و sweroside (18). أيضا المفصول من النبتة حددت فعاليتها ضد البكتيريا و الجذور الحرة ، فكلا من المركبين يثبط نموBacillus subtilis، Citrobacter freundEscherichia[81].
- المستخلص الكحولي للأوراق النبتة يظهر فعالية Hepatoprotective ضد acetaminophen-induced و المجرب على كبد الفار [82].
- وجود فعل diurétique (مدر للبول) لهذه النبتة[83].
- لمنقوع هذه النبتة قدرة على استرجاع الجذور الهيدروكسيلية و حمض hypochlorure وأيضا لها فعالية مضادة للأكسدة [84,85].

II-5-7 *Centaurium erythreae* من الناحية الفيتو كيميائية :

خضع نبات *Centaurium erythreae* لعدة دراسات فيتوكيميائية تم خلالها عزل عدة مركبات كيميائية تتمثل في: الأحماض الفينولية ، الالكلويدات ،التربينات الثلاثية، الاريدويدات , الكسنتونات ، الفلافونويدات [4].

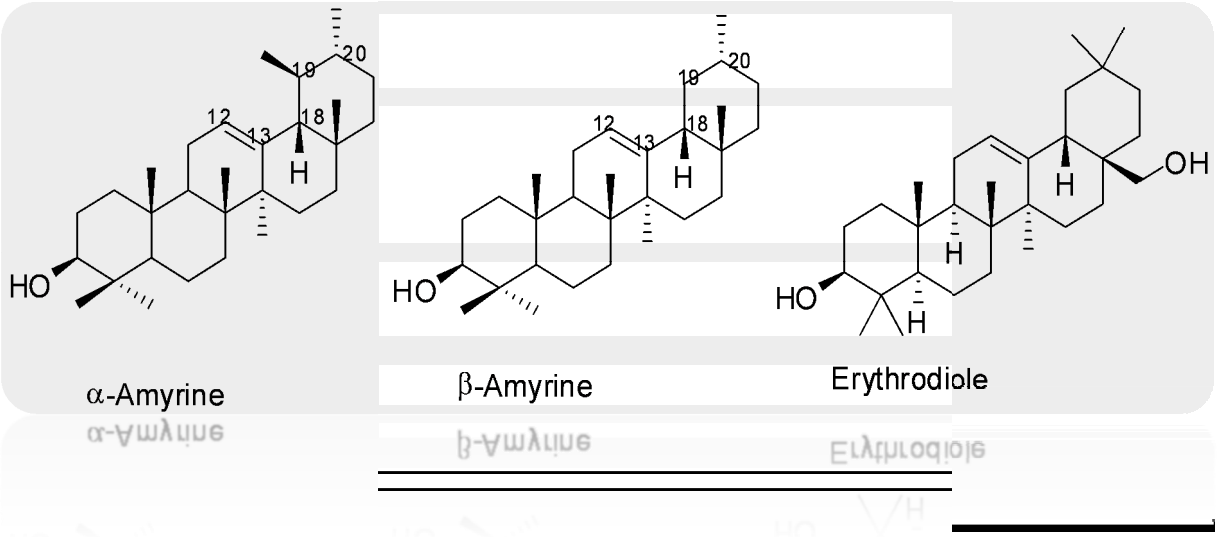
1-7- الالكلويدات :

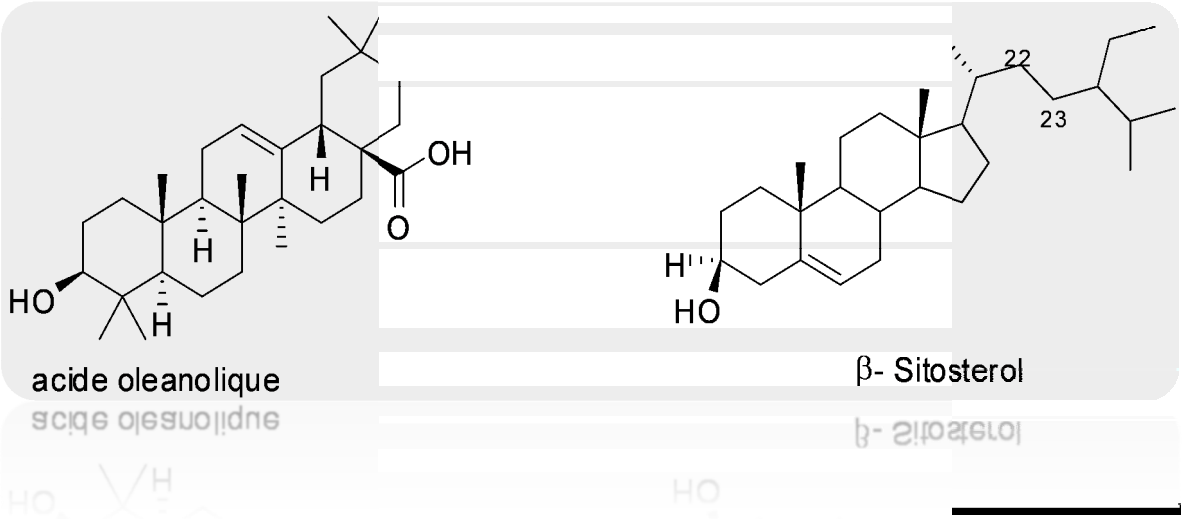
و لقد تم عزل [4] :

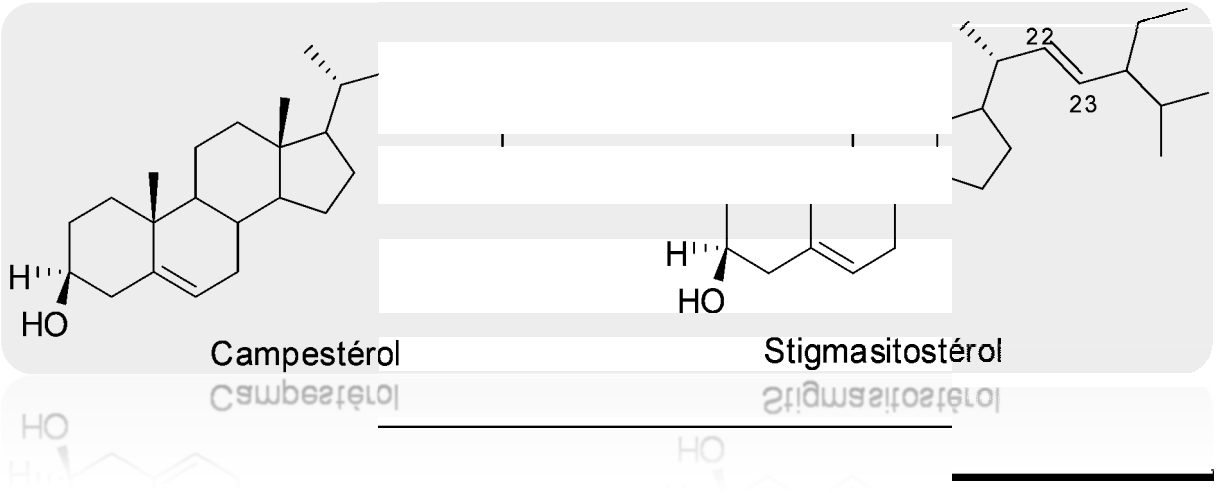


2-7- التربينات الثلاثية :

و تكمن في [86] :







3-7- الأحماض الفينولية:

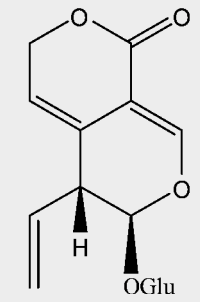
- الأحماض الفينولية المفصولة مبينة في الجدول II-2- :

الصيغة	المستبدلات				اسم الحمض	المرجع
	R1	R2	R3	R4		[4,86]
	H	H	OH	H	Acide Hydroxybenzoïque	//
	H	OMe	OH	H	Acide vanillique	//
	H	OMe	OH	OMe	Acide syringique	//
	H	OH	H		Acide p-coumarique	//
	OH	OH	H		Acide caféique	//
	OMe	OH	H		Acide férulique	//
	OMe	OH	Ome		Acide sinapique	//
					2,5Dihydroxyterephthalique	//
					Hydroxyterephthalique	//

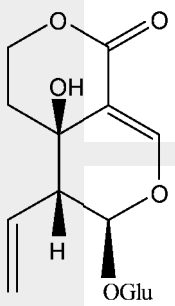
الجدول II-2- الأحماض الفينولية المفصولة من *C. erythreae*.

-7-4- الاريدويدات :

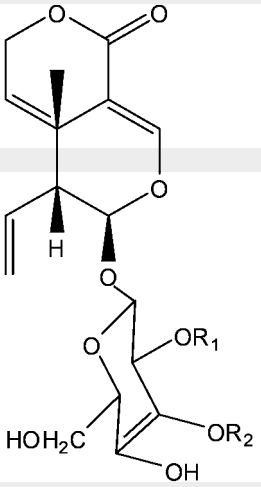
و تتمثل في [4,71,80,81] :



Genntiopicroside



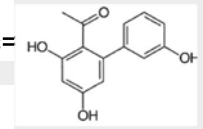
Swertiamarine

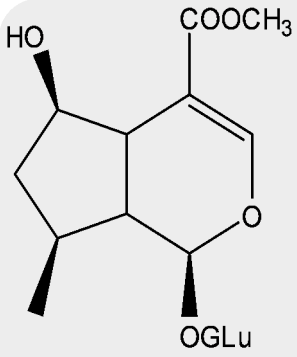


R_1 =H, R_2=H, Sweroside
R_1 =A, R_2=B centapicrine
R2=C Amarogentine

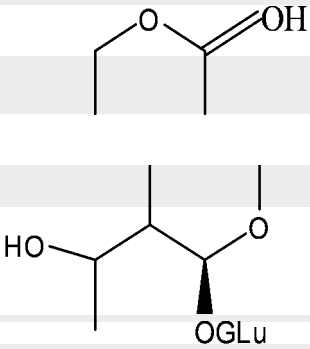
A=m hydroxybenzoyl
B=acetyl

c=

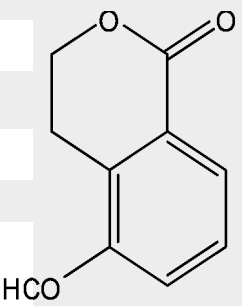




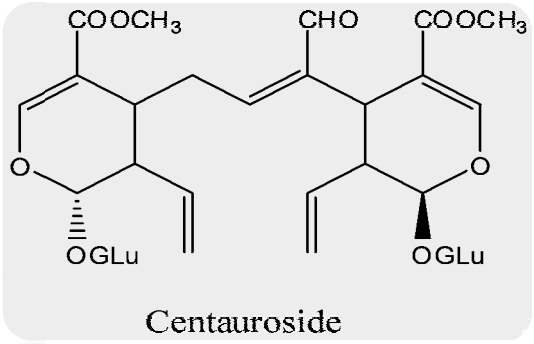
Dihydrocornine



Gentioflavoside



erythrocentrine



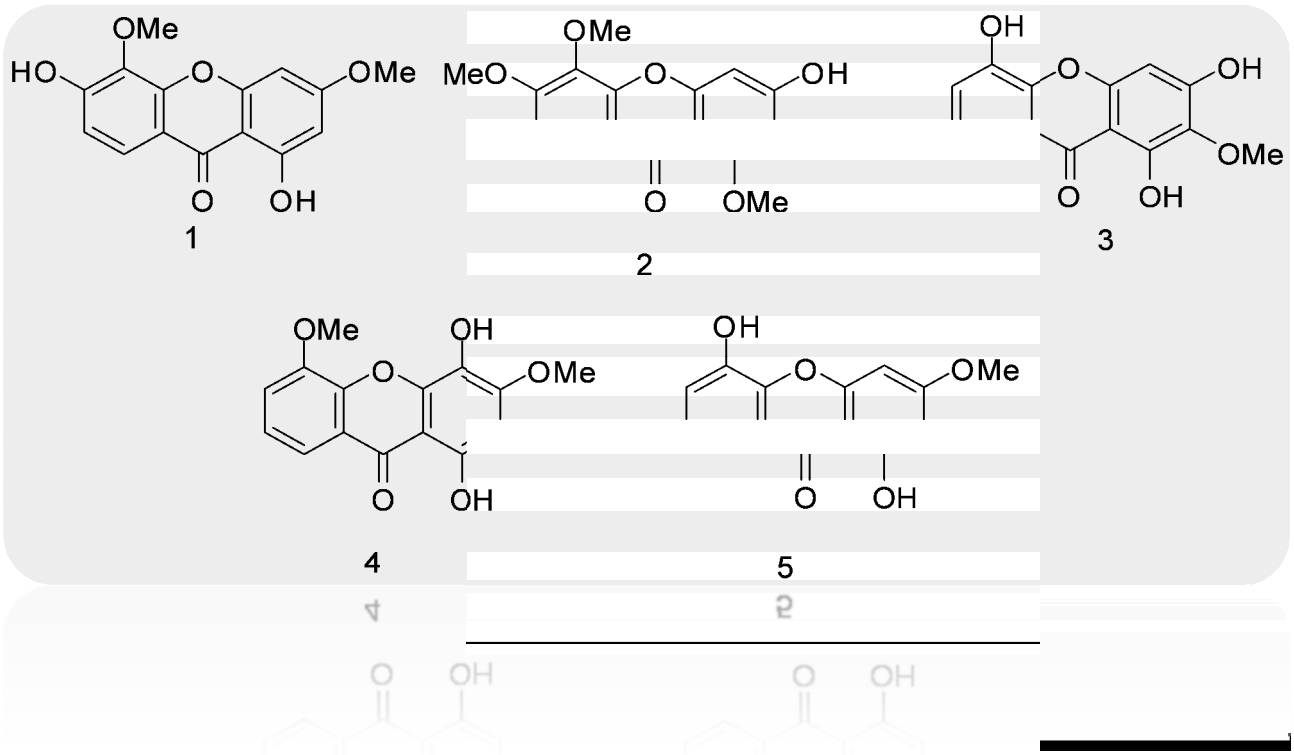
Centauroside

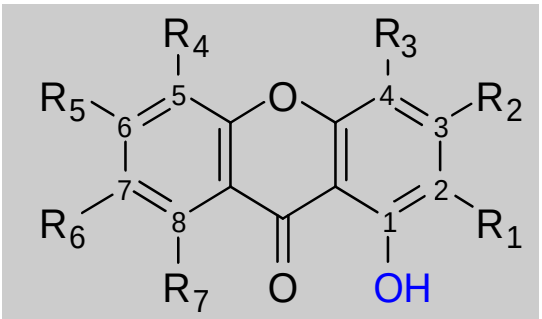
-5-7- الكسنتونات :

الكسنتونات المفصولة من هذه النبتة تكون متعددة المستبدلات كما يبين الجدولII -3-:

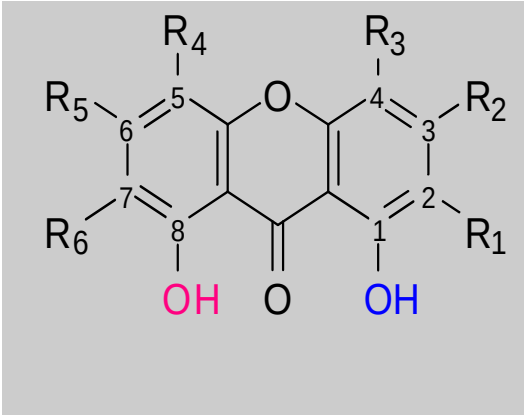
اسم المركب	رقم البنية	المرجع
1,6-dihydroxy-3,5-dimethoxyxanthone	1	[87]
3-hydroxy-1,5,6-trimethoxyxanthone	2	//
1,3,5-trihydroxy-2-methoxyxanthone	3	//
1,4-dihydroxy-3,5-dimethoxyxanthone	4	[89]
1,5-hydroxy-3-methoxyxanthone	5	[88]
1-hydroxy-3,5,6,7-tetramethoxyxanthone	6	//
1-hydroxy-3,5,6-trimethoxyxanthone	7	//
1-hydroxy-3,7,8-trimethoxyxanthone	8	//
1-hydroxy-3,5,6,7,8-pentamethoxyxanthone	9	[80]
1,8-dihydroxy-3,5,6,7-tetramethoxyxanthone	10	[80]
1,8-dihydroxy-3,4,6-trimethoxyxanthone	11	[89]
1,8-dihydroxy-2,3,4,6-tetramethoxyxanthone	12	//
Methylswertianine	13	//
Methylbellidifoline	14	//

الجدول II-3- الكسنتونات المفصولة من *C. erythrea*.





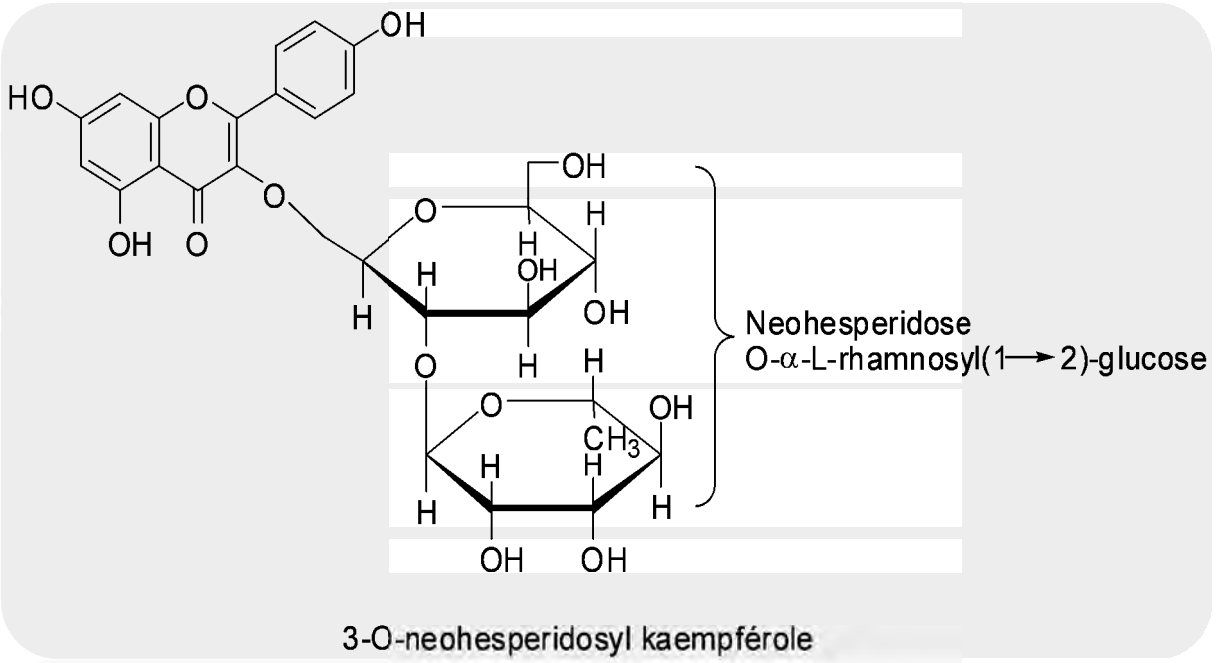
رقم البنية	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
6	H	OMe	H	OMe	OMe	OME	H
7	H	OMe	H	OMe	OMe	H	H
8	H	OMe	H	H	H	OMe	OMe
9	H	OMe	H	OMe	OMe	OMe	OMe



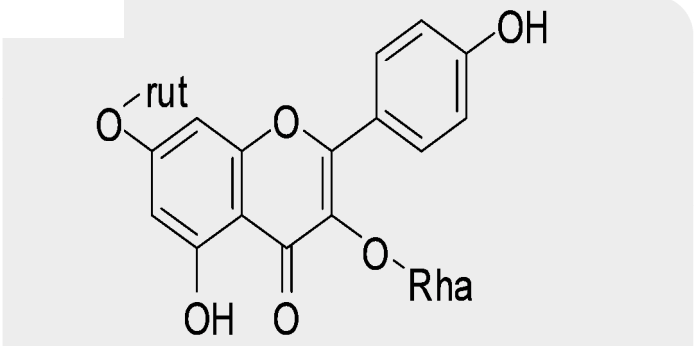
رقم البنية	R1	R2	R3	R4	R5	R6
10	H	OMe	H	OMe	OMe	OMe
11	H	OMe	H	OMe	OMe	H
12	OMe	OMe	H	OMe	OMe	H
13	OH	H	H	H	OMe	H
14	H	OMe	H	OMe	H	H

-7-7- الفلافونويدات:

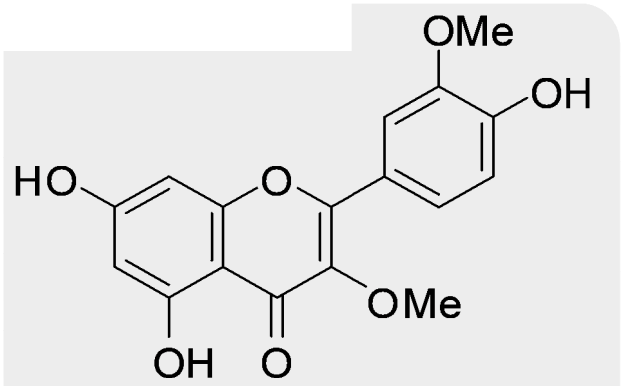
و لقد تم فصل أربع فلافونويدات و هي [90]:



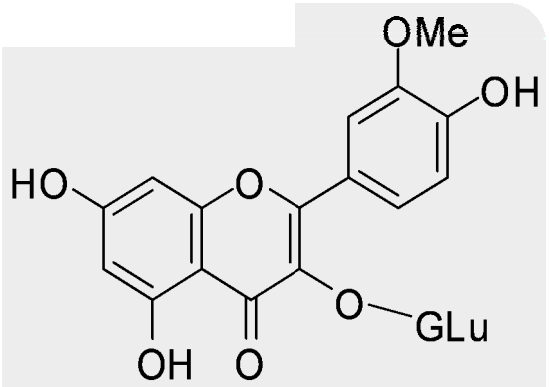
3-O-neohesperidosyl kaempférole



3-O-Rhamnosyl-7-O-rutinosyl kaempférole



3,3'-dimethylethere Quercétine



3-O-Glucosyl Isorhamnitine

II-8- بعض الفلافونويدات المفصولة من نفس الجنس:

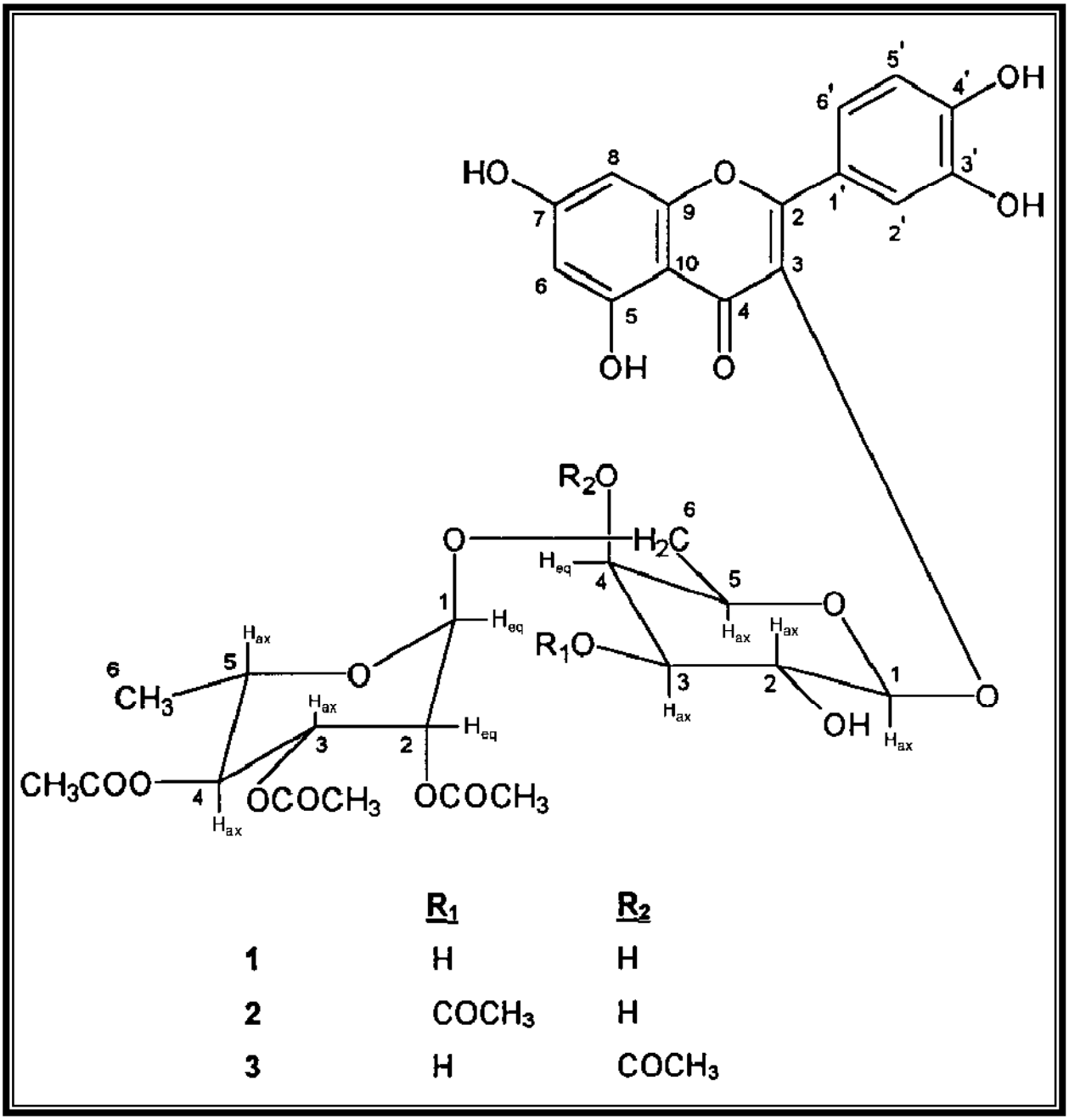
يتميز هذا الجنس بوجود تقريبا نفس منتجات الايض الثانوي لكن تعتبر الفلافونويدات من المركبات القليلة الانتشار و حسب الدراسة البيبليوغرافية لقد تم فصل الفلافونويدات إلا من الجنس *C .spictum* و تتمثل في [91]:

1-quercétine 3-*O*-(2 ;3 ;4-triacetyl-*α*-rhamnopyranosy) -(1→6)-*β*-galactopyranoside .

2- quercétine 3-*O*-[(2 ;3 ;4-triacetyl-*α*-rhamnopyranosy) -(1→6)]-3-acetyl-*β*-galactopyranoside .

3- quercétine 3-*O*-[(2 ;3 ;4-triacetyl-*α*-rhamnopyranosy) -(1→6)]-4-acetyl-*β*-galactopyranoside .

و الموضحة كما يلي:



الشكل II- 4: الفلافونويدات المفصولة من *C .spictum*.

الفصل الثالث

الدراسة الكيمائية لنبتة ***Centaurium erythrea***

ومناقشة النتائج.

III-1- الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة "*Centaurium Erythreae*" :

تم قطف و جمع النبتة في أواخر شهر جوان من سنة 2008 من طرف الأستاذ الشريف بهلول من منطقة القل ، أجريت لها عملية التجفيف بوضعها في أماكن خاصة تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة، بعد ذلك طحنت فكانت كتلة الأوراق 125.25غ أما الأزهار 147.53غ .

صورة فوتوغرافية لنبتة *Centaurium Erythreae*

III-1-1 الاستخلاص :

و تتم عملية الاستخلاص على مراحل :

بعد قطع وطحن الاوراق (125.25غ) و الازهار(147.53غ) الجافة ، نقعت كل واحدة على حدا في خليط من الميثانول و الماء(7: 3) ثم تركت لمدة 24 ساعة ، تكرر العملية3 مرات أو أكثر و في كل مرة نرشح و نركز الراشح و ذلك تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة لا تتجاوز 40 درجة أين نتحصل على المستخلص الخام.

- الخلاصة المتحصل عليها تم إذابتها بالماء المقطر يترك مدة ليلة كاملة بعدها يرشح على ورق الترشيح للتخلص من الشوائب و الأتربة ويحتفظ بالراشح.

- تعامل الرشاحة المائية بإيثر البيترول أو الهكسان و ذلك من أجل التخلص من المركبات الطبيعية ذات القطبية الضعيفة مثل الدهون، و الكلوروفيل الذي تجرى له عملية تبخير.

- يعامل الطور المائي بالكلوروفورم ثلاث مرات لنحصل على طور الكلوروفورم الذي يبخر تحت ضغط منخفض.

- يعامل الطور المائي بخلات الإيثيل ثلاث مرات لنحصل على طور الخلات الذي يبخر تحت ظغط منخفض.

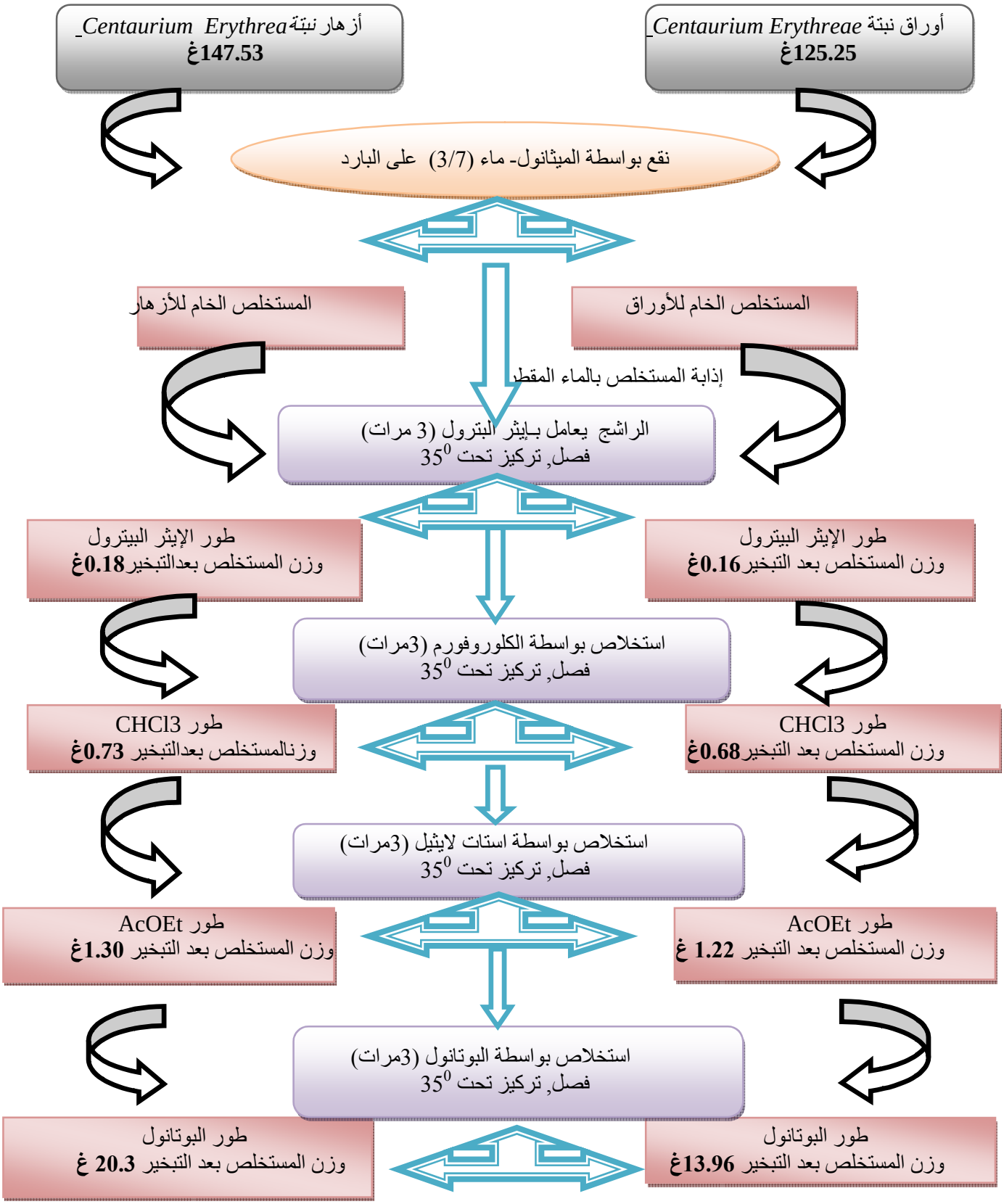
- يعامل كذلك الطور المائي بالبوتانول العادي و تكرر هذه العملية ثلاث مرات أو أكثر، لنحصل على طور البوتانول و ذلك بعد التبخير تحت ضغط منخفض.

يكون لدينا في النهاية:

- المستخلص الجاف للإيثر البيترولي.
- المستخلص الجاف للكلوروفورم.
- المستخلص الجاف لخـلات الإيثيل .
- المستخلص الجاف للبوتانول العادي.

و المخطط III-1- يمثل مختلف خطوات الاستخلاص

:



مخططIII-1-: استخلاص نبتة *Centaurium Erythreae* .

III-1-2 طريقة الفصل والتنقية :

قبل عملية الفصل قمنا بإجراء عمليات اختبار للمستخلص البوتانولي للأوراق و الآزهار أحادي البعد بإستعمال ورق wathman رقم 3 وذلك بإستخدام نظامين مختلفين هما :

(1) n- BuOH : HOAc : H_2O (BAW) 4 : 1 : 5 (**الطبقة العضوية**)

(2) AcOH 15 %

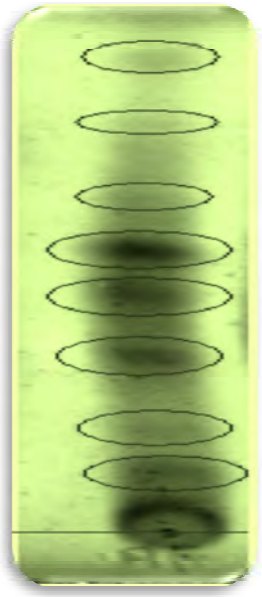
فتبين لنا أن هناك تقارب بين هاذين المستخلصين فتم جمعهما معا.

أخضع المستخلص البيتانولي لنبتة *C .Erythreae* لفحوص تحليلية تمهيدية باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية من السيليكاجال ،وتم الكشف عنها بمصباحuv(254nmو365nm) و استظهارها بكاشف أساسه حمض الكبريت المركز (H_2SO_4) وهذا للبحث عن الجملة المناسبة لتمليص و فصل أكبر عدد من المركبات.

- كاشف حمض الكبريت حضر بالنسب التالية:

H_2SO_4 / CH_3COOH / H_2O 16 / 80 / 4 (v/v/v)

- وبعد عدة اختبارات تحصلنا على الجملة المناسبة للتمليص و هي : CH_2CL_2 /MeOH بالنسب 7/1 و الشكل III -1- يوضح ذلك.



الشكلIII -1- :طور البيتانول في النظام (CH_2CL_2 /MeOH 7/1).

- ❖ تمت عملية الفصل الأولية للمستخلص البيتانولي (15غ) بتقنية كروماتوغرافيا العمود، حيث اعتمدنا فيها على طوران، الأول هو الدعامة أو الطور الثابت وكان من السيليكاجال، والطور المتحرك السائل بدور المملص يتكون من الميثانول و ديكلورومیثان.
- ❖ اختير العمود بأبعاد متناسبة مع وزن المستخلص (75 /1.8) سم، وضعت في أسفله قطعة من القطن ثم حلقة من ورق Whatmann № 3 لتفادي تسرب حبيبات السيلكاجال المستعمل، حضر في المذيب الأقل قطبية مع الرج المتواصل ، بعدها ملئ العمود بالمزيج (سيليكاجال– ديكلورومیثان)، مع مراقبة عدم تشكل أي فقاعات هوائية.
- ❖ حوّل المستخلص البيتانولي إلى مسحوق ناعم بعد أن كان بمظهر لزج، وهذا بإضافة (8-10غ) من السيلكاجال عليه وإخضاعه للتبخير تحت ضغط منخفض، جفف بتعريضه للهواء.
- ❖ ثبت المسحوق السابق في العمود بصفة مستوية ومتجانسة، و وضعت عليه قطعت قطن أخرى لتفادي تشوه المستوي عند إضافة المذيب.
- ❖ تمت عملية الفصل بإضافة ديكلورومیثان النقي ثم إشباعه تدريجيا يالميثانول إلى غاية الوصول لنسبة 100% من هذا الأخير، وقد كانت نهاية التصفية بالميثانول 100%.
- ❖ اعتمدنا في تغيير قطبية المذيبات على فحوص كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية لمختلف الكسور ،بعد معاينتها بمصباح uv (254nmو365nm)، ثم استظهارها بكاشف (H_2SO_4) مع تسخينها إلى 100°م.
- ❖ جمعت الكسور المتماثلة اعتمادا على نفس الطريقة السابقة من فحوص كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية، بحيث حصلنا في الأخير على**20 كسرا** كما هو موضح في الجدولIII-1-:

رقم الكسور قبل التجميع	الكسور بعد التجميع	$\%CH_2CL_2$	%MeOH	كتلة الكسر (g)	الملاحظة
1	F1	100	0	0.04	خليط قابل للفصل لكن المركبات مجودة بكمية قليلة جدا
2	F2	/	/	0.01	//
3	F3	/	/	0.03	//
4	F4	/	/	0.02	//
5	F5	/	/	0.08	//
6	F6	/	/	0.04	//
8-7	F7	99	1	0.05	//
15-9	F8	95	5	0.12	خليط معقد
21-16	F9	90	10	0.35	خليط قابل للفصل
28-22	F10	85	15	0.10	//
58-29	F11	/	/	2.603	//
88-59	F12	80	20	2.33	خليط+راسب ابيض
100-89	F13	75	25	2.08	خليط
136-101	F14	70	30	2.78	//
143-137	F15	65	45	1.03	//
162-144	F16	50	50	2	//
174-163	F17	30	70	0.3	//
179-175	F18	20	80	0.06	خليط غير قابل للفصل
187-180	F19	00	100	0.14	//
195-188	F20	/	/	0.08	//
المجموع	**20 كسر**	*	*	**14.243 غ**	*

الجدولIII-1-: نتائج الفصل بكروماتوغرافيا العمود للطور البيتانولي لنبات *Centaurium Erythreae*

من بين الكسور المحصل عليها قمنا بعمليات الفصل على الكسور التالية: **F9،F10،F11،F12** .

III-1-2- فصل و تنقية الكسور :

✓ 1-2 الكسر F9 :

تضمن هذا الكسر بقعا ذات ألوان مختلفة، و بأعداد قليلة نسبيا ، وقد تم فصلها بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية **(CCM)**، باستعمال النظام CH_2Cl_2/ MeOH بالنسب التالية 9.5/0.5 والتي توالت بها عمليات الفصل الأخرى كالتالي:

الكسر F9	الوزن	الدعامة	المذيب	النتائج
الكسر F9 (ك.ج)	0.35غ	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقةCCM	CH_2Cl_2/ MeOH 9.5/0.5	**4 كسور جزئية(ك.ج)**
$F9_1$		//	CH_2Cl_2/ MeOH 9/1 x2	**$F9_1$**
$F9_2$		//	//	**خليط**
$F9_3$				**خليط**
$F9_4$		//	**CH_2Cl_2/ MeOH 3/0.25 x 2**	**$F9_4$**

الجدولIII-2-1 :نتائج التحليل الكروماتوغرافي للكسرF9

نتائج هذا الفصل أعطى المركب $F9_1$ و$F9_4$ يذوبان بشكل كلي في الميثانول ويظهران بلون اصفر بعد الاستظهار بكاشف حمض الكبريت ، لكن الكمية قليلة جدا لا يمكن إجراء أي تحليل عليها.

✓ 2-2- الكسر F10 :

تم فصل مكونات هذا الكسر بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) التحضيرية، والتي توالت بها عمليات الفصل الأخرى كالتالي:

الكسر F10	الوزن	الدعامة	المذيب	النتائج	
الكسر F10 (ك.ج)	0.10غ	(CCM) التحضيرية	CH2Cl2/AcoEt/MeOH 6/2.5/1.5	3كسور جزئية	
$F10_1$				كمية قليلة	
$F10_2$				$F10_2$	
$F10_3$		//		$F10_{31}$, $F10_{32}$	
$F10_{31}$			CH2Cl2/AcoEt/MeOH 6 /1.5/2.5	$F10_{311}$	$F10_{312}$

الجدولIII-2-2:نتائج التحليل الكروماتوغرافي للكسرF10 .

نتائج هذا الفصل أعطى المركب $F10_2$ (MP13)الذي ظهر في شكل راسب أبيض ، و المركبين $F10_{311}$و$F10_{312}$ اللذان لا يظهرا إلا بعد الاستظهار بحمض الكبريت.

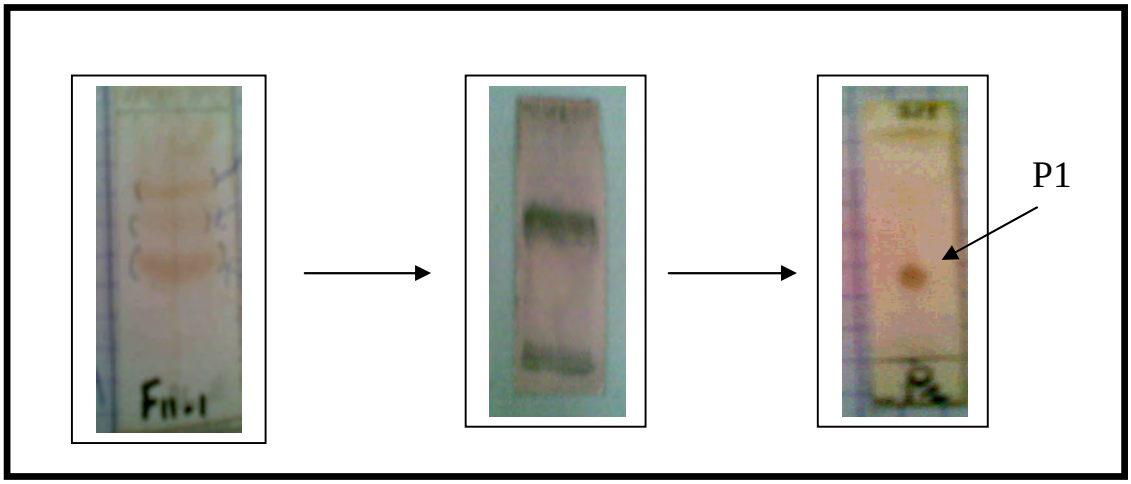
✓ -3-2 الكسر F11:

قمنا بمعالجة هذا الكسر باستعمال كرماتوغرافيا العمود (السيليكاجال العادي) نظرا لوزنه المعتبر تمت عملية الفصل بإضافة CH_2CL_2 النقي ثم إشباعه تدريجيا بالميثانول والجدول التالي يوضح الكسورالمجمعة باستعمال كرماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية :

F_{11}	المذيب		الكسور	الملاحظات
	CH_2Cl_2 %	MeOH %		
F_{11-1}	98	2	18-1	خليط
F_{11-2}	91	9	86-19	ثلاث بقع
F_{11-3}	70	30	123-87	لون بني((traînée))
	50	50		

الجدولIII-2-3 :نتائج التحليل الكروماتوغرافي للكسرF11 .

F_{11-2} قمنا بفصله باستعمال كرماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية باستعمال النظام CH_2Cl_2/ MeOH بالنسب التالية 5/1 فقمنا بالتحصل على المركب P1 .



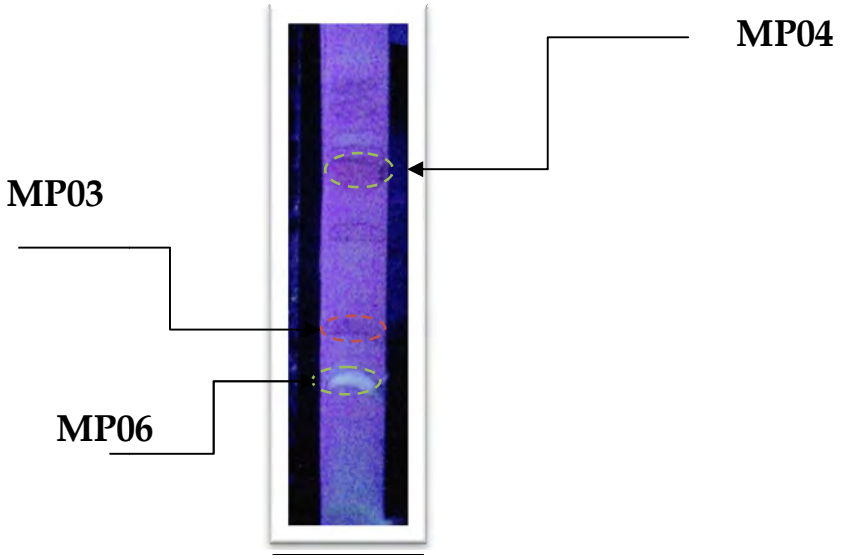
الشكل III-2-: الصفائح الكروماتوغرافية للمركب P1.

✓ 4-2- الكسر F12:

هذا الكسر يحتوى علي راسب أبيض تم عزله و تنظيفه و إذابته في الميثانول وزنه 0.0132 g قمنا بتجريبه في النظام 13/3/3/1 فوجدنا انه بقعة واحدة وعند اجراء اختبار RMN ^1H تبين ان المركب عبارة عن خليط من سكرين .

- كما وجدنا في طور الأسيتات راسب أصفر عند معالجته بالنظام CH_2Cl_2/ MeOH بالنسب 7/1 وجدنا أنه مركبين الفصل بينهماصعب لان القطبية متقاربة جدا.

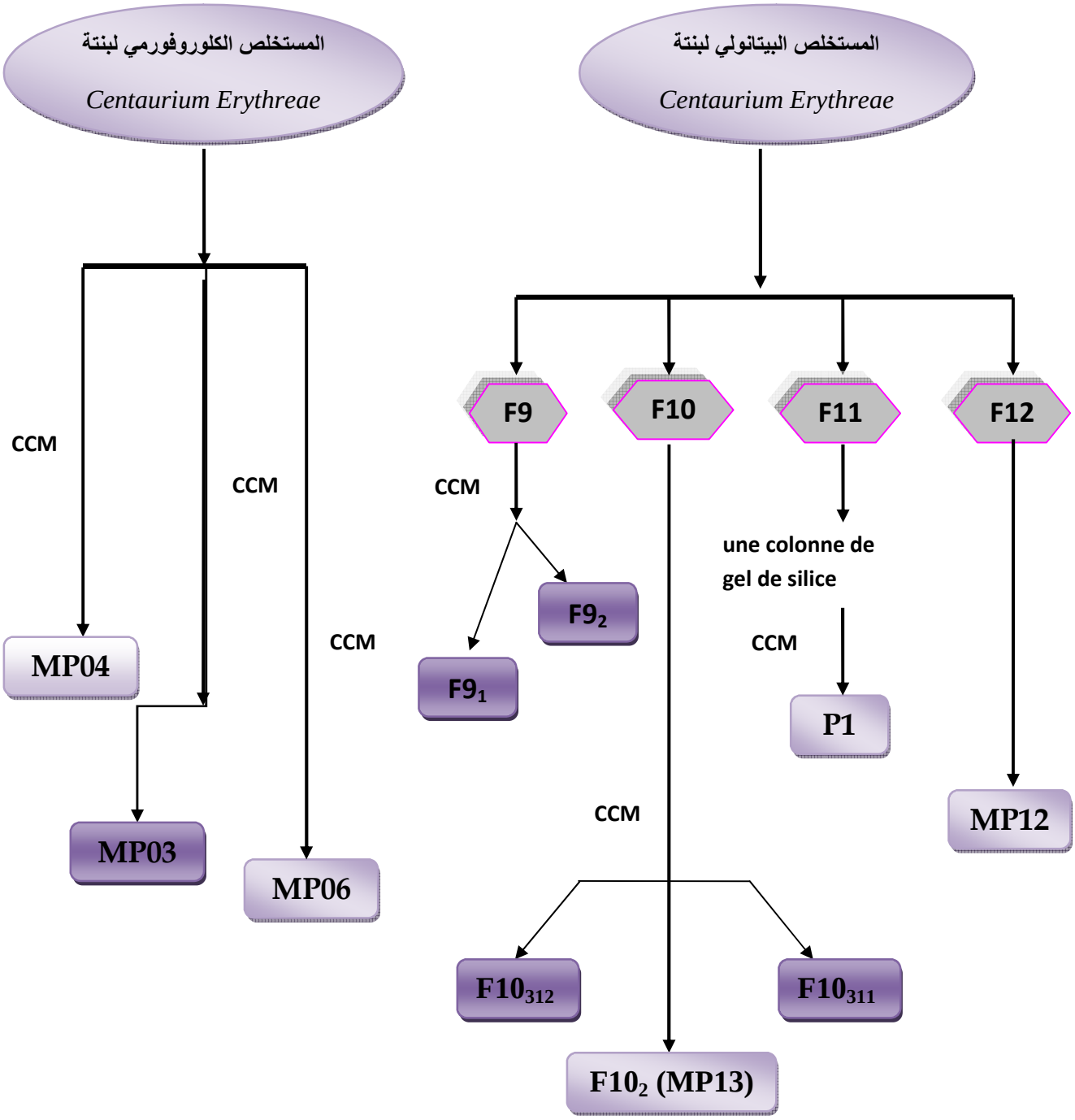
- أما الطور الكلوروفورمي و نظرا لوزنه القليل فتم فصله عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) التحضيرية, عولج هذا الأخير بالنظام CH_2Cl_2/Acetone بالنسب9/1 إستطعنا أن نفصل مركبين نقيين MP06, MP04 أما MP03 تظهر معه اثار المركبات الاخرى .



الشكلIII- 3- الطور الكلوروفورمي في النظامCH_2Cl_2/Acétone

غنى نبتة *C .Erythreae* بالمركبات الطبيعية خاصة في الطور البيتانولي أدى إلى تعدد الكسور في كل مرة، و إلى تتابع عمليات الفصل من خلال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وغيرها، في الأنظمة المختلفة، ونتيجة لذلك كان قلما نحصل في النهاية على مركبات نقية بوزن يسمح بإجراء التحاليل الطيفية اللازمة لمعرفة بنيتها الدقيقة .

والمخطط III -2- يلخص لنا مختلف الأعمال الكروماتوغرافية المنجزة على العمود و الطبقة الرقيقة التحضيرية :



المخطط III -2- : ملخص لمختلف الأعمال الكروماتوغرافية المنجزة.

III-2- النتائج و المناقشة:

بالاعتماد على السلوك الكروماتوغرافي، طيف الأشعة فوق البنفسجية ، طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الأماهة الحمضية تم التعرف على الصيغ الكيميائية المفصلة للمركبات المفصولة.

III-2-1 التعيين البنيوي للمركب MP04:

المركب MP04 يظهر على شكل مسحوق أبيض وزنه≈ mg7

بعد الكشف على بقعة هذا المركب على الطبقة الرقيقة التحليلية بتمريرها على غاز النشادر أعطت لونا أصفرا مما يشير أن المركب من نوع فلافونويد,

أعطى أيضا هذا المركب لونا أصفرا تحت أشعة " وود" و هذا يشير الى أن نوع هو فلافونول3 -OHالفلافونويد .

✓ طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN ^{1}H:

طيفRMN ^{1}H للمركب مأخوذ في ($250M\ Hz, CDCl_3$) (طيف رقم III-1) وأيضا الأجزاء المكبرة منه (طيف رقم III-1-1) و(طيف رقم III-1-2) أعطت ما يلي :

- إشارة أحادي بتكامل 1H عند $\delta = 13$ ppm موافقة لبروتون OH في الموقع 5 ,(5OH)

استبدال para للحلقة B (’OR-4) وذلك لوجود:

- وجود إشارة ثنائي بتكامل 2H عند $\delta = 7{,}96$ ppm و ثابت تزاوج ($\boldsymbol{J}$ = 8,8 *Hz*) موافقة للبروتونين ’H-6 و ’H-2 ، ثنائي آخر بنفس ثابت التزاوج و بتكامل 2H عند $\delta = 7{,}03$ ppm يوافق البروتونين ’H-5و’H-3 .

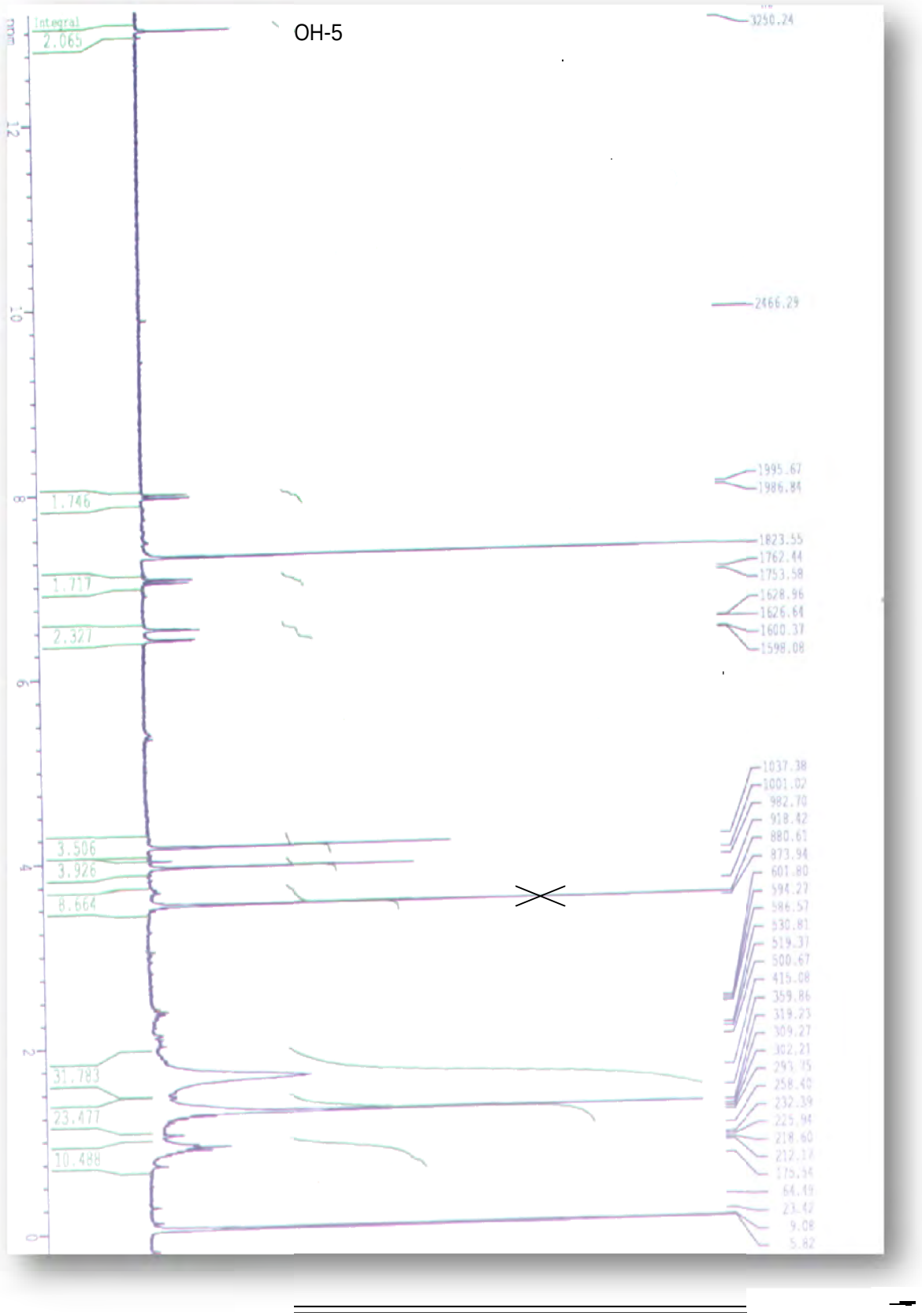
وجود مستبدل في الحلقة A في الموقع 7 (OR-7) و ذلك لوجود :

- وجود ثنائي بثابت تزاوج (J = 2,3 Hz) و تكامل 1H عند δ = 6,51 ppm يوافق بروتون H-8، و ثنائي آخر بنفس ثابت التزاوج عند δ = 6,39 ppm و تكامل 1H يوافق البروتون H-6 .
- وجود إشارتين أحاديتين بتكامل 3H عند δ = 4,14ppm و δ = 4ppm و التي توافق مجموعتين من OMe.

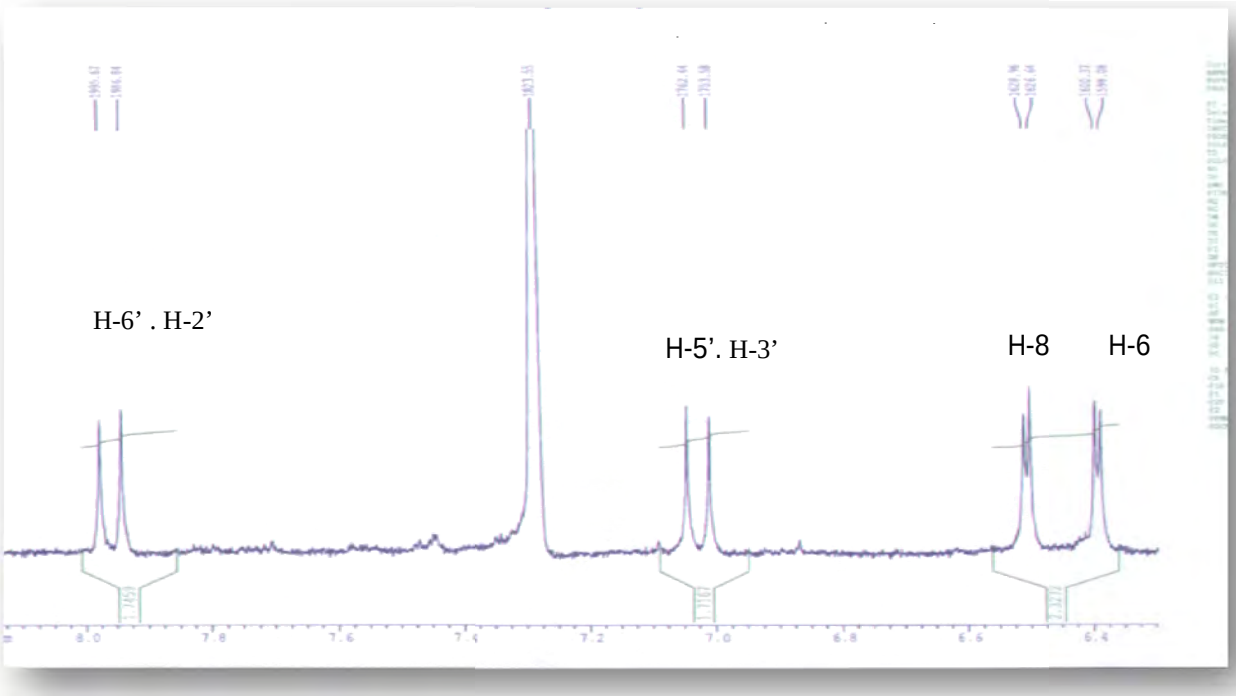
كل هذه النتائج موضحة في الجدول III-3- أدناه :

البروتونات المرفقة	ثابت التزاوج (Hz)	التكامل	*التعددية*	الإزاحة الكيميائية (ppm)
O H-5	-	1H	*s*	13
H-6'.H-2'	8,8	2H	*d*	7,96
H-5'.H-3'	8,8	2H	*d*	7,03
H-8	2,3	1H	*d*	6,51
H-6	2,3	1H	*d*	6,39
OMe	-	3H	*s*	4,14
OMe	-	3H	*s*	4

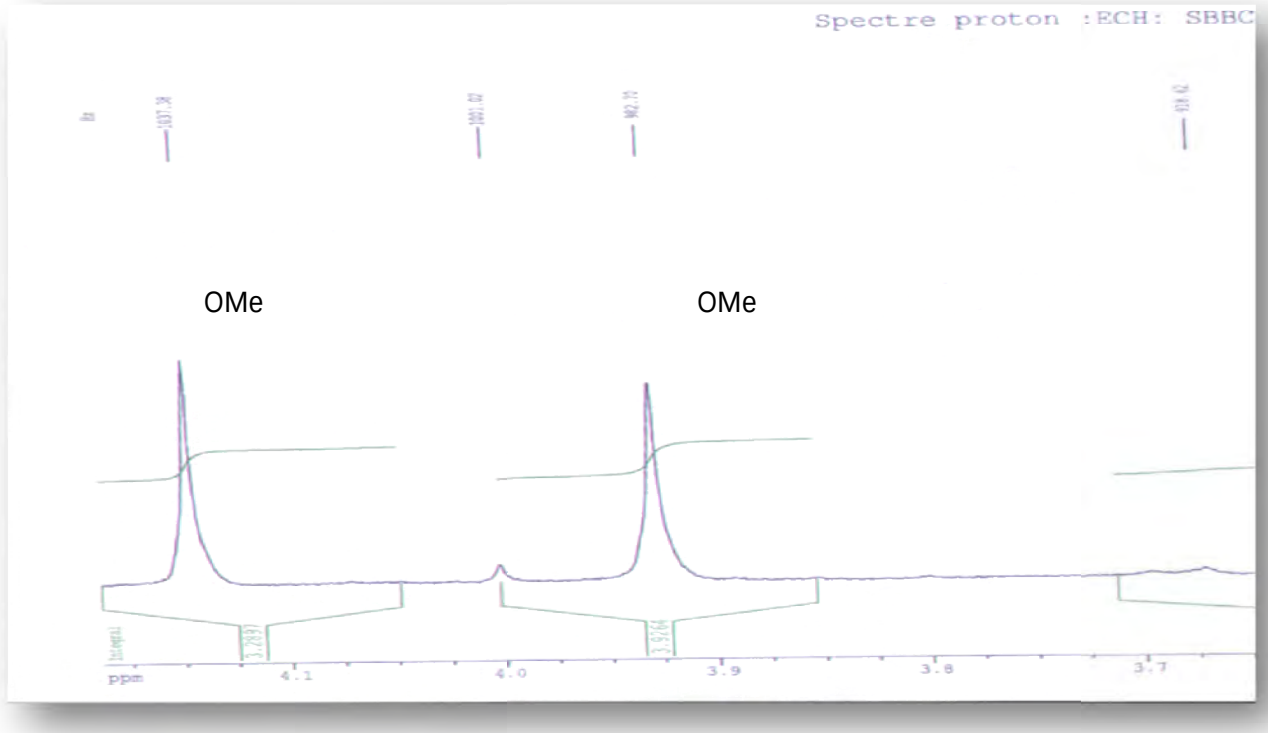
الجدول III-3- : لنتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H RMN للمركب MP04.



(طيف رقم III-1) : : طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H RMN للمركب MP04 مأخوذ في $CDCl_3$.

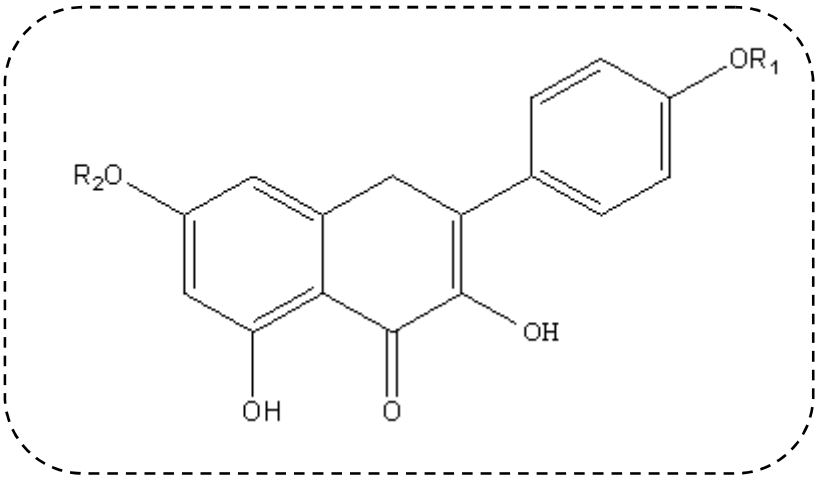


(طيف رقم III-1-1-) : تكبير للطيف في المجال [ppm 8-6,4] .



(طيف رقم III-1-2-) : تكبير للطيف في المجال [ppm 4,2-3,8] .

و من هذه المعطيات نستطيع فرض الصيغة الجزئية لهذا المركب :



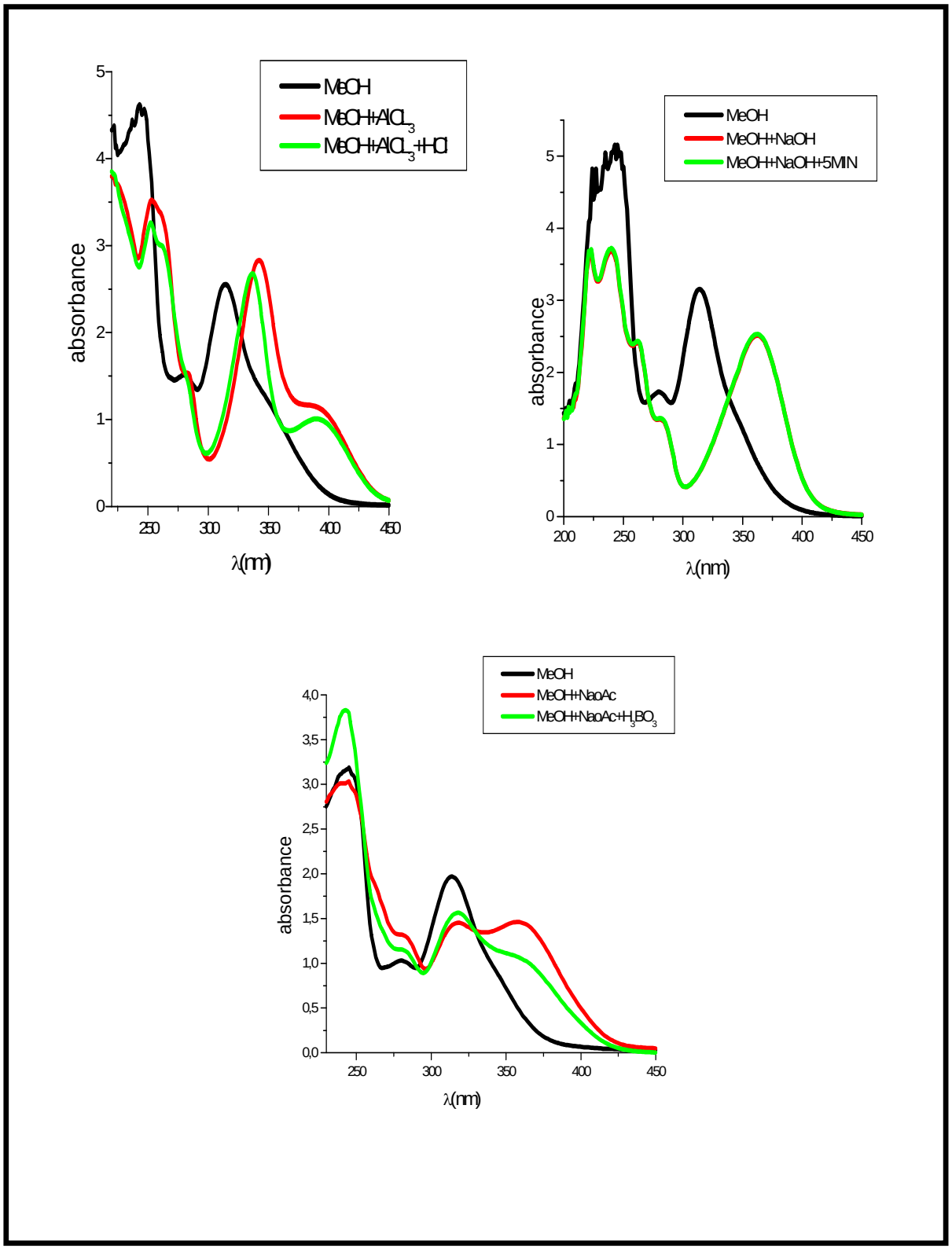
الشكل III-4 : الصيغة الجزئية المركبMP04 .

✓ **<u>مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية (طيفIII-1-3):</u>**

- الإزاحة الباثوكرومية للعصابة I المقدرة ب $\Delta\lambda_I$ = +48 nm بعد اضافة NaOH مع النقصان في الشدة الضوئية تدل على وجود OR في الموقع C-4' ، عدم وجود عصابة جديدة بين (320-335nm) تدل على عدم وجود OH حر في الموقع 7، وهذا ما يؤكده عدم وجود انزياح في العصابة II عند اضافة NaOAC ومنه الموقع C-7 يوجد به OR.

- إضافة الكاشف $AlCl_3/HCl$ يؤدي الى إزاحة باثوكرومية للعصابة I المقدرة ب$\Delta\lambda_I$ = +22 nm مقارنة بطيف الميثانول و هو ما يؤكد وجود OH حر في الموقع C-5.

- طيف $AlCl_3/HCl$ مقارنة مع طيف $AlCl_3$ يعطينا إزاحة ابسوكرومية ضعيفة مقدرة ب $\Delta\lambda$= +5 nm تؤكد لنا عدم وجود النظام اورثو di-OH.



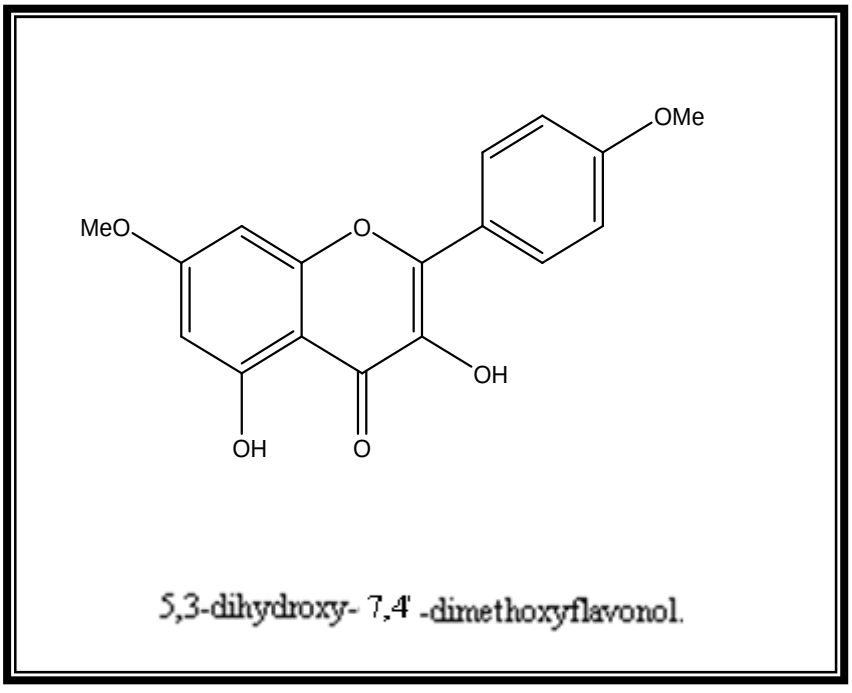
(طيف 3-1-III)مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية للمركبMP04 .

نتائج الأشعة الفوق بنفسجية موضحة في الجدول التالي :

الكاشف	عصابةI (nm)	عصابةII (nm)
MeOH	315	*283,245*
+ NaOH	363	*283,264,245*
+ NaOAc	*358,363*	*283,245*
+ $AlCl_3$	*337,389*	*283,245*
+ $AlCl_3$/HCl	*342,389*	*283,245*
في NaOH وبعد خمس دقائق : الطيف مستقر		

الجدولIII-4- نتائج الأشعة الفوق بنفسجية المركب MP04.

ومن خلال هذه النتائج تكون صيغة المركب **MP04:**



5,3-dihydroxy- 7,4' -dimethoxyflavonol.

III-2-2 التعيين البنيوي للمركب MP06:

المركبMP06 يظهر على شكل مسحوق أبيض وزنه≈ 5mg

بعد الكشف على بقعة هذا المركب على الطبقة الرقيقة التحليلية بتمريرها على غاز النشادر أعطت لونا أصفرا مما يشير أن المركب من نوع فلافونويد.

أعطى أيضا هذا المركب لونا أصفر لامع تحت أشعة " وود" و هذا يشير الى أن نوع الفلافونويد هو فلافونول مستبدل في الموقع 5.

✓ طيف الرنين النووي المغناطيسي ^1H RMN:

طيف ^1H RMN للمركب مأخوذ في ($CDCl_3$,250 MHz) (طيف رقم III-2) وأيضا الأجزاء المكبرة منه (طيف رقم III-2-1) و(طيف رقم III-2-2) أعطت ما يلي :

وجود اشارة ثنائي بتكامل 2H عند $\delta = 8$ ppm و ثابت تزاوج ($J = 8,8$ Hz) موافقة للبروتونين H-6' و H-2' ، ثنائي آخر بنفس ثابت التزاوج و بتكامل2Hعند $\delta = 6,98$ ppm يوافق البروتونين H-5' و H-3' .

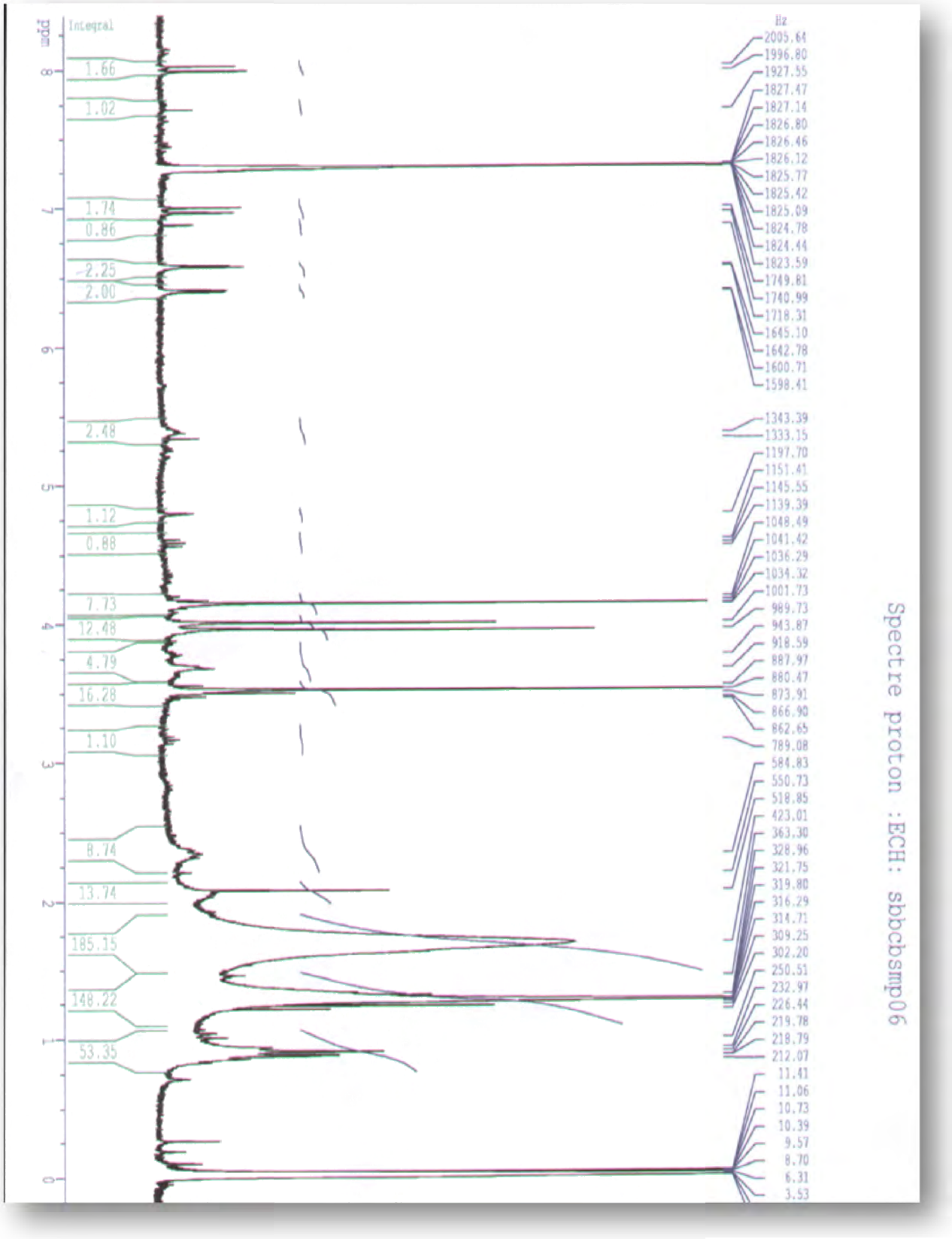
وجود مستبدل في الحلقة A في الموقع 7 (OR-7) و ذلك لوجود :

- وجود ثنائي بثابت تزاوج ($J = 2,3$ Hz) و تكامل 1H عند $\delta = 6,57$ ppm يوافق بروتون H-8 و ثنائي آخر بنفس ثابت التزاوج عند $\delta = 6,39$ ppm بتكامل 1H يوافق البروتون H-6 .
- وجود ثلاث إشارات أحادية بتكامل 3H عند $\delta = 4,14$ ppm و $\delta = 4$ppm و $\delta = 3,95$ppm التي توافق ثلاث مجموعات من OMe.

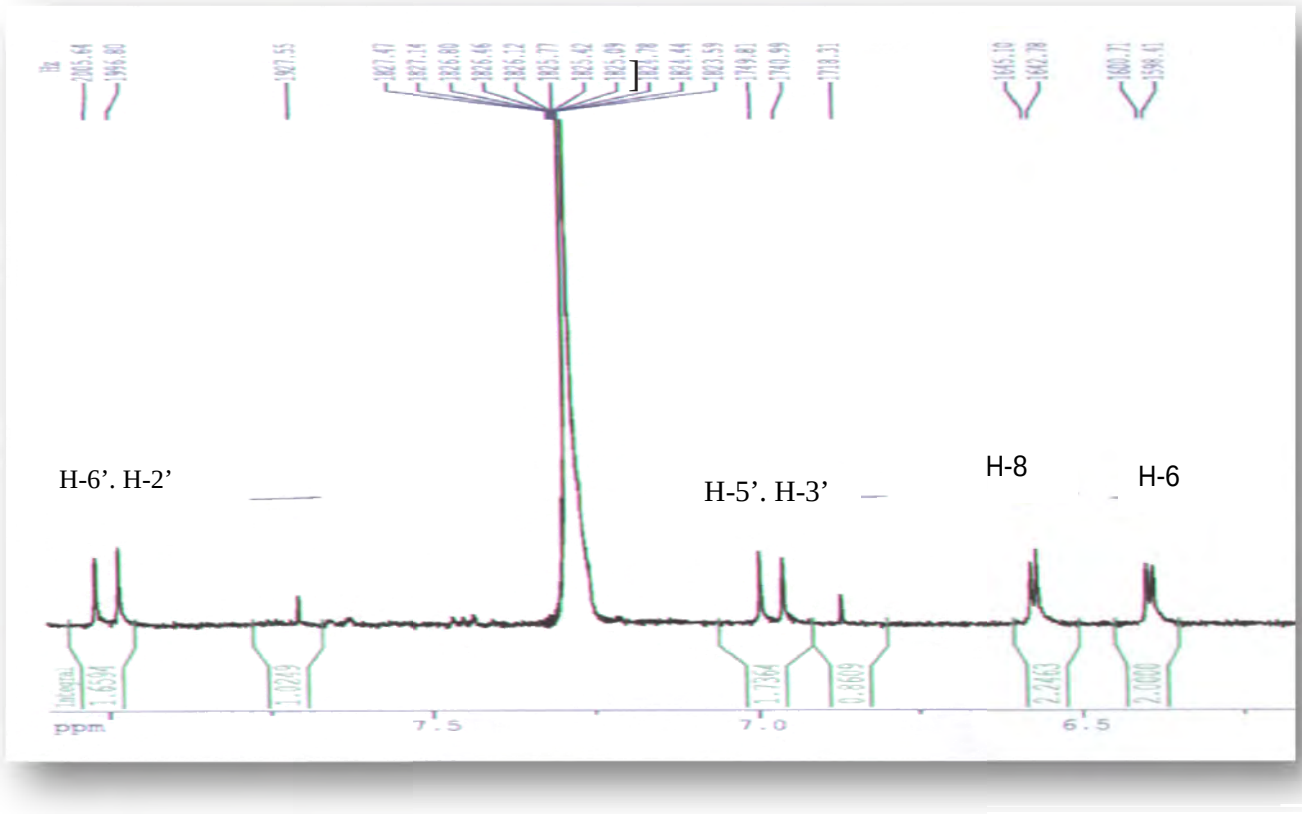
كل هذه النتائج موضحة في الجدول III-7- أدناه :

ا لبروتونات المرفقة	ثابت التزاوج (Hz)	التكامل	*التعددية*	الإزاحة الكيميائية (ppm)
H-6'.H-2'	*8*,8	2H	*d*	8
H-5'.H-3'	8,8	2H	*d*	6,98
H-8	2,3	1H	*d*	6,57
H-6	2,3	1H	*d*	6,39
OMe	-	3H	*s*	4,14
OMe	-	3H	*s*	4
OMe	-	3H	*s*	3,95

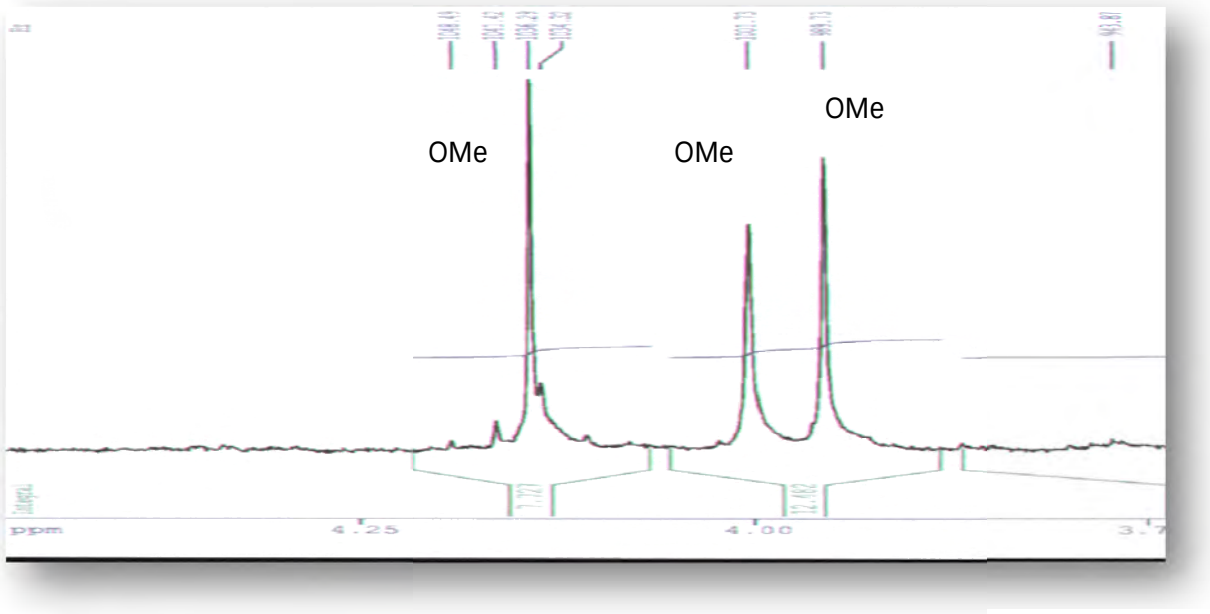
جدولIII-5-: نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H RMN للمركب MP06.



(طيف رقم III-2-) : : طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H RMN للمركب MP06 مأخوذ في $CDCl_3$

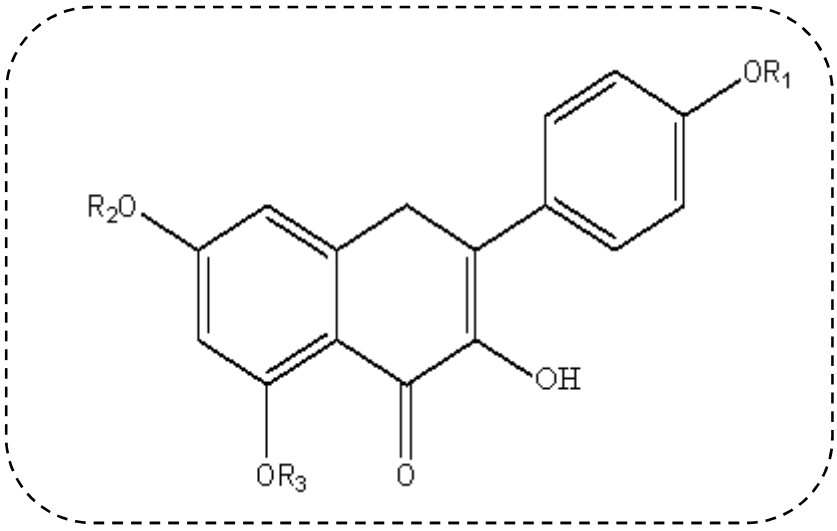


(طيف III-2-1-) : تكبير للطيف في المجال [8-6,25 ppm] .



(طيف III-2-2-) : تكبير للطيف في المجال [4,25-3,75 ppm] .

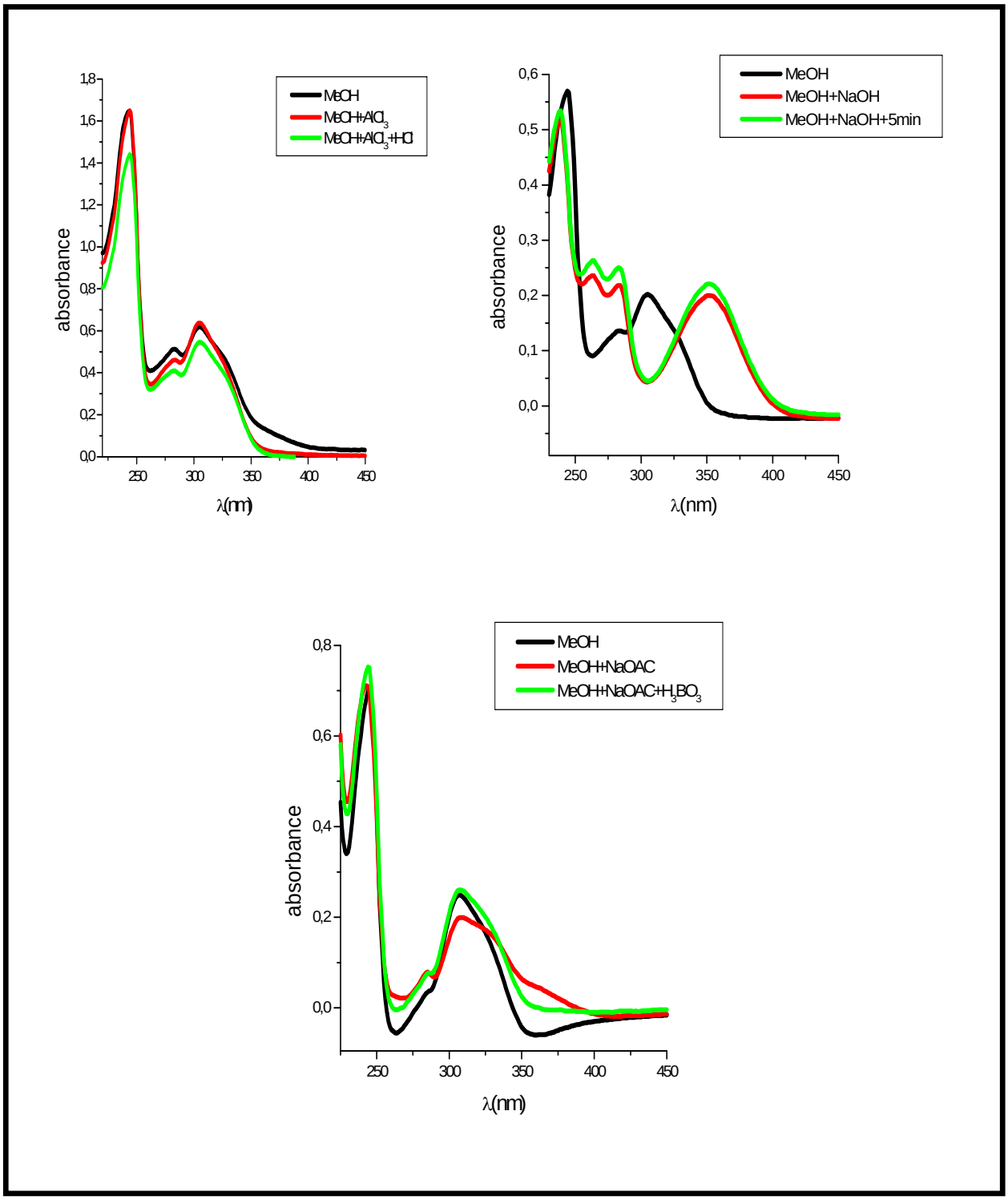
و منه نستطيع فرض الصيغة الجزئية لهذا المركب :



الشكل III-5 : الصيغة الجزئية المركب MP06 .

✓ **<u>مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية (طيف III-2-3-):</u>**

- بعد إضافة NaOH نلاحظ إزاحة باثوكرومية للعصابة I المقدرة ب $\Delta\lambda_I = +58$ nm مع عدم الزيادة في الشدة الضوئية تدل على وجود OR في الموقع C-4' ، عدم وجود عصابة جديدة بين (320- 335nm) تدل على عدم وجود OH حر في الموقع 7، وهذا ما يؤكده عدم وجود انزياح في العصابة II عند اضافة NaOAC ومنه الموقع C-7 يوجد به OR.
- عدم وجود انزياح للعصابة I بعد إضافة الكاشف $AlCl_3$أو حتى بعد إضافة الحمض تؤكد لنا عدم وجود النظام اورثو di-OH على الحلقةB ، و ايضا تطابق طيف $AlCl_3/HCl$ مع الميثانول أي عدم وجود إزاحة باتوكرومية يؤكد عدم وجود OH حر في الموقع5.



(طيف II-2-3) :مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية للمركب MP06 .

نتائج الأشعة الفوق بنفسجية موضحة في الجدول التالي :

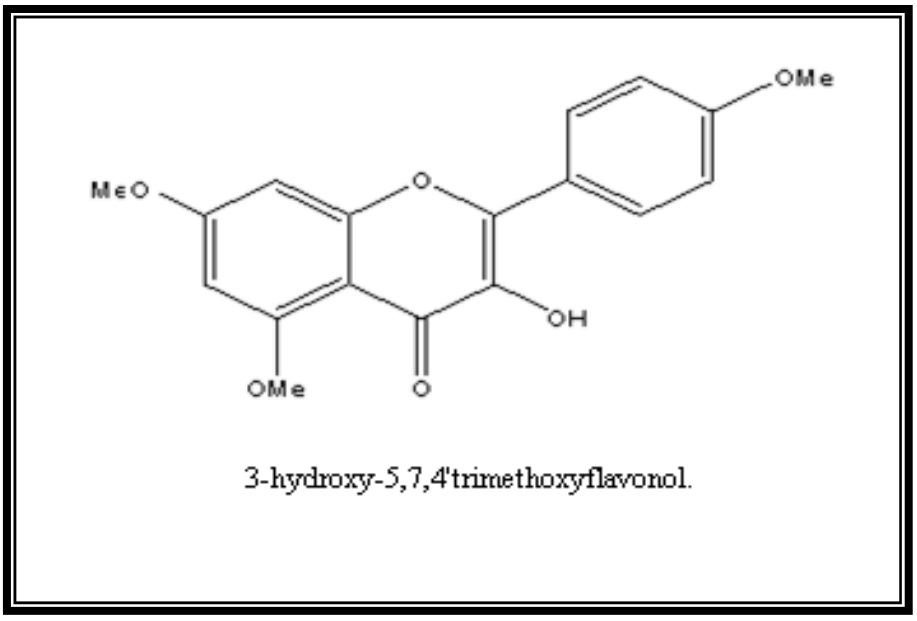
الكاشف	عصابةI (nm)	عصابةII (nm)
MeOH	305	*280,245*
+ NaOH	362	*280,262,245*
+ $NaOAc/ H_3BO_3$	*305*	*280,245*
+ $AlCl_3$	*305*	*280,245*
+ $AlCl_3/HCl$	*305*	*280,245*
في NaOH وبعد خمس دقائق : الطيف مستقر		

الجدول III-6- : نتائج الأشعة الفوق بنفسجية للمركب MP06 .

خلاصة:

- عدم الزيادة في الشدة الضوئية تدل على وجود OR في الموقع 'C-4 ، أي وجود OMe.
- عند إضافة NaOAC لم تكن هناك إزاحة مما يؤكد وجود OR في الموقع -7.أي وجود OMe
- تطابق طيف $AlCl_3$ و$AlCl_3/HCl$ مع طيف الميثانول يؤكد عدم وجود النظام اورثو di-OH، أيضا غياب OH في الموقع -5 يؤكد وجود OMe .

مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية للمركب MP06 و طيف ^1H RMN تؤدي إلى استنتاج الصيغة التالية:



3-hydroxy-5,7,4'trimethoxyflavonol.

III-3- التعيين البنيوي للمركب MP13:

المركب MP13 يظهر على شكل راسب أبيض وزنه≈mg10.

بعد الكشف على بقعة هذا المركب على الطبقة الرقيقة التحليلية بتمريرها على غاز النشادر أعطت لونا أصفرا مما يشير أن المركب من نوع فلافونويد,

أعطى أيضا هذا المركب تحت أشعة " وود" اللون البنفسجي و هذا يشير الى أن نوع الفلافونويد هو فلافون أو فلافونول مستبدل في الموضع 3.

✓ طيف الرنين النووي المغناطيسي ^{1}H RMN:

طيف ^{1}H RMN للمركب MP13 مأخوذ في (250M Hz, CD_3OD) (طيف رقم III-3) وأيضا الأجزاء المكبرة منه (طيف رقم III-3-1) و(طيف رقم III-3-2) أعطت ما يلي :

وجود مستبدلpara في الحلقة B في الموقع 4، (OR-4') و ذلك :

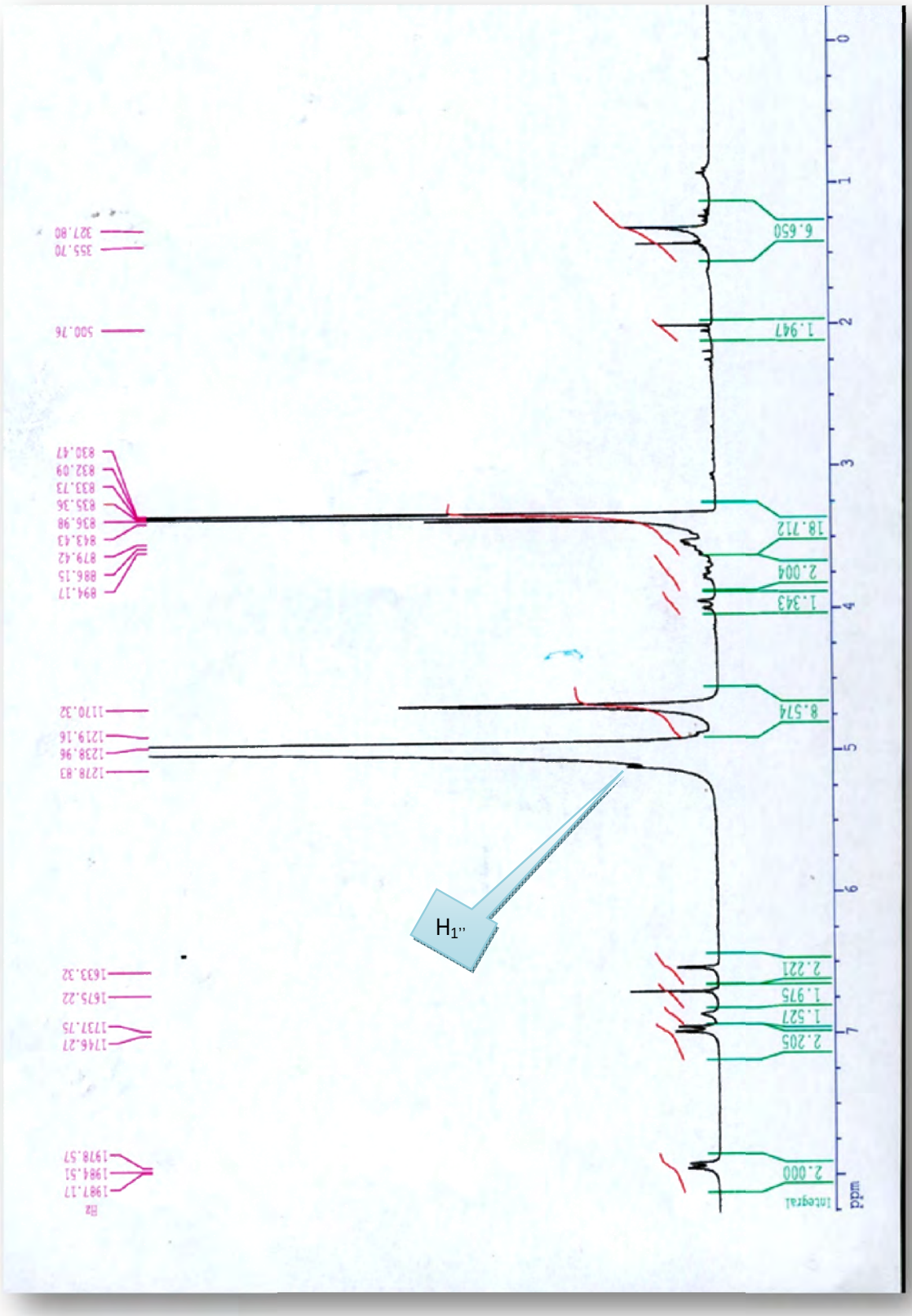
- وجود إشارة ثنائية بتكامل 2H عند δ = 7,92ppm و ثابت تزاوج (J =7.3 Hz) هي إزاحة خاصة ببروتونات الحلقة B يمكن نسبها إلى كل من البروتونين $H_{2'}$, $H_{6'}$.
- كما يبين الطيف وجود إشارة ثنائية بتكامل 2H عند δ = 6,96ppm و ثابت تزاوج (J =8.1 Hz) يمكن نسبها إلى كل من البروتونين $H_{3'}$ و $H_{5'}$.
- إشارة أحادية عريضة *sl* بتكامل 1H عند δ = 6,86ppm يمكن نسبها إلى البروتون H_8.
- إشارة أحادية بتكامل 1H عند δ = 6,69ppm يمكن نسبها إلى البروتون H_3.
- إشارة أحادية عريضة *sl* بتكامل 1H عند δ = 6,53ppm يمكن نسبها إلى البروتون H_6.

و نلاحظ وجود إشارة ثنائي غير مكتمل بتكامل 1H عندδ = 5.11ppm و هي إزاحة خاصة بالبروتون الأنوميري $H_{1'}$.

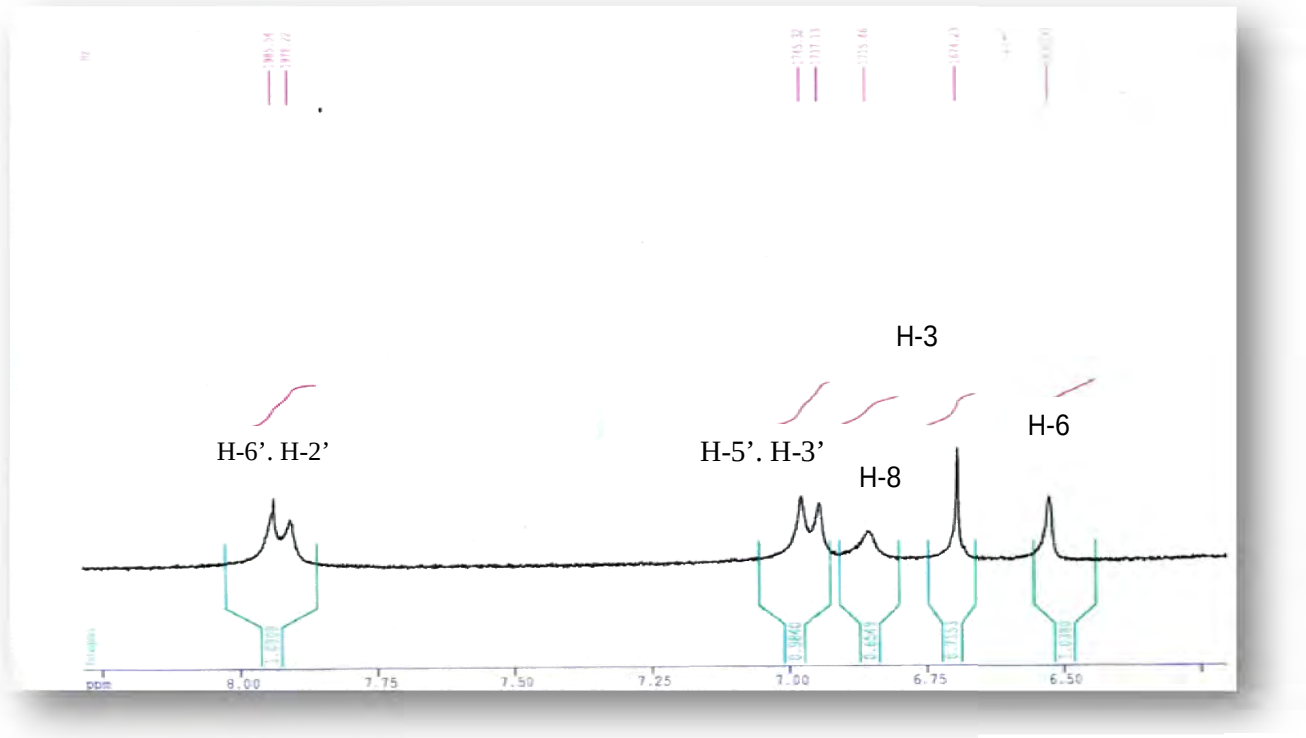
كل هذه النتائج موضحة في الجدول-15- أدناه :

البروتونات المرفقة	ثابت التزاوج (Hz)	التكامل	*التعددية*	الإزاحة الكيميائية (ppm)
$H_{2'},H_{6'}$	7,3	2H	*d*	7,92
$H_{3'},H_{5'}$	8,1	2H	*d*	6,96
H_8	-	1H	*sl*	6,86
H_3	-	1H	*s*	6,69
H_6	-	1H	*sl*	6,53
$H_{1''}$	-	1H	/	5,11
بروتونات السكر	-	-	*m*	3,37-3,93

جدولIII-7-: نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب MP13.

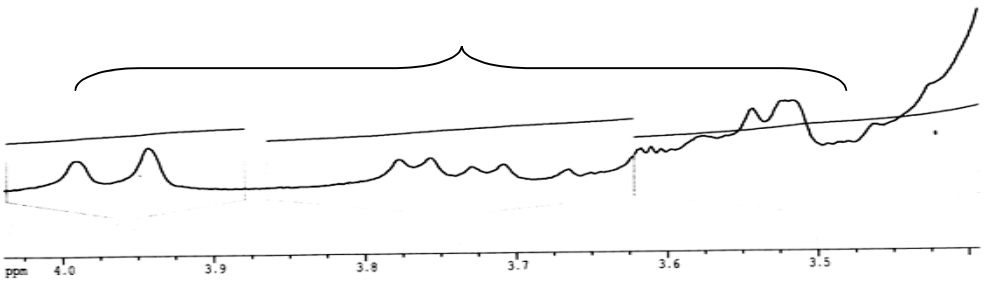


(طيف III-3-) : طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب MP13 مأخوذ في CD_3OH.



(طيف III-3-1) : تكبير للطيف في المجال [ppm 8-6, 5] .

البروتونات الخاصة بالسكر



(طيف III-3-2) :تكبير للطيف في المجال [ppm 4-3.5] .

ظهرت إشارة البروتون الأنوميري للسكر($H_{1''}$) كثنائية غير مكتملة عند δ=5,11 ppm لم نستطع التعرف على السكر لذلك قمنا بعملية الاماهة الحمضية للمركب .

- ✓ **الإماهة الحمضية:**

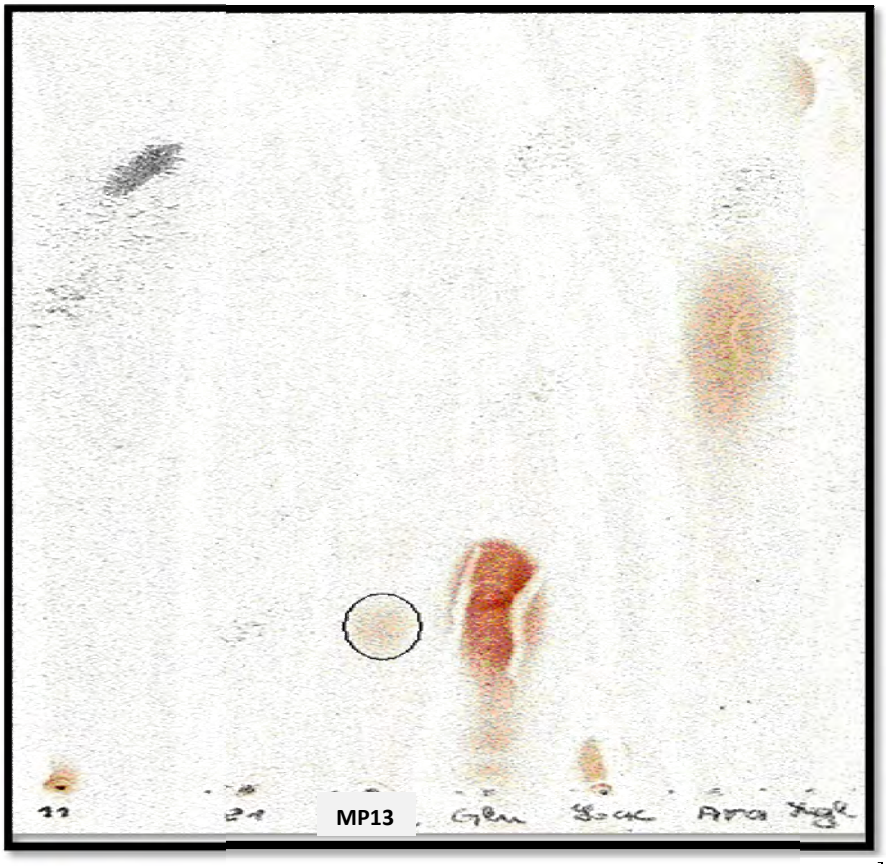
تؤخذ كمية قليلة من المركب المذاب في الميثانول، و يضاف إليها 2 ملل من HCl، يسخن الخليط في حمام مائي (100°C) لمدة 120الى160د ، بعدها نقوم باستخلاص سائل-سائل و ذلك باضافة ثنائي إيثيل الإثير بعدها أسيتات الإيثيل و اخيرا البوتانول العادي.

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

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

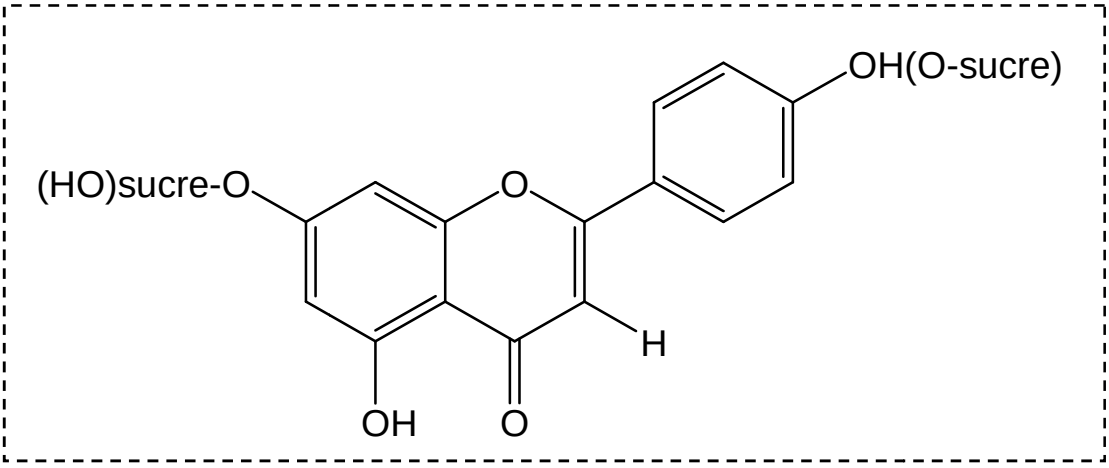
- ✓ نقوم بتبخير الطور المائي المتحصل عليه و الذي يحتوي على الجزء السكري، لنعيد تذويبه في كمية قليلة جدا من الماء و بذلك يكون جاهزا للإستعمال .
- ✓ يرش اللوح الكروماتوغرافي من نوع (Gel de silice 60F 254) بمحلول من NaH_2PO_4 (0,2 M) ، ثم يترك ليجف في الهواء بضع دقائق قبل وضعه في فرن تحت درجة حرارة 100°م لمدة ساعة، بعدها توضع نقاط من الطور المائي المحتوي على السكر (المحضر سابقا) مع بعض شواهد سكرية معروفة، ليغمس اللوح في مملص يحتوي على (أسيتون : ماء) بنسبة (9 : 1)، و بعد 150-180 دقيقة يستخرج الكروماتوغرام و يترك ليجف مدة ساعة، ليعاد وضعه مرة ثانية في نفس المملص السابق و لنفس المدة السابقة، يستخرج بعدها ليجف مدة ساعة، عندها يرش بواسطة كاشف مالونات الأنيلين (حمض المالونات 1غ – حمض الفوسفوريك 3ملل – الأنيلين 1ملل – الإيثانول 100ملل) ويترك بضع دقائق ليجف في الهواء بعد ذلك يوضع في الفرن تحت درجة حرارة 100°م لمدة 5 دقائق، حيث تبدأ بقع السكريات في الظهور فتكون بنية اللون بالعين المجردة و صفراء عند رؤيتها تحت أشعة UV ، عندها يتم التعرف على السكريات التي بحوزتنا و ذلك بمقارنتها مع الشواهد السكرية المستعملة.

و اللوح الكروماتوغرافي المنجز مبين في الشكل يبين ان السكر هو.*D*-Glucose



الشكلIII 6: كروماتوغرام السكر المفصول من المركبMP13
مقارنة مع شواهد سكرية معروفة.

و منه نستطيع فرض الصيغة الجزئية لهذا المركب



الشكل III-7 : الصيغة الجزئية المركب MP13 .

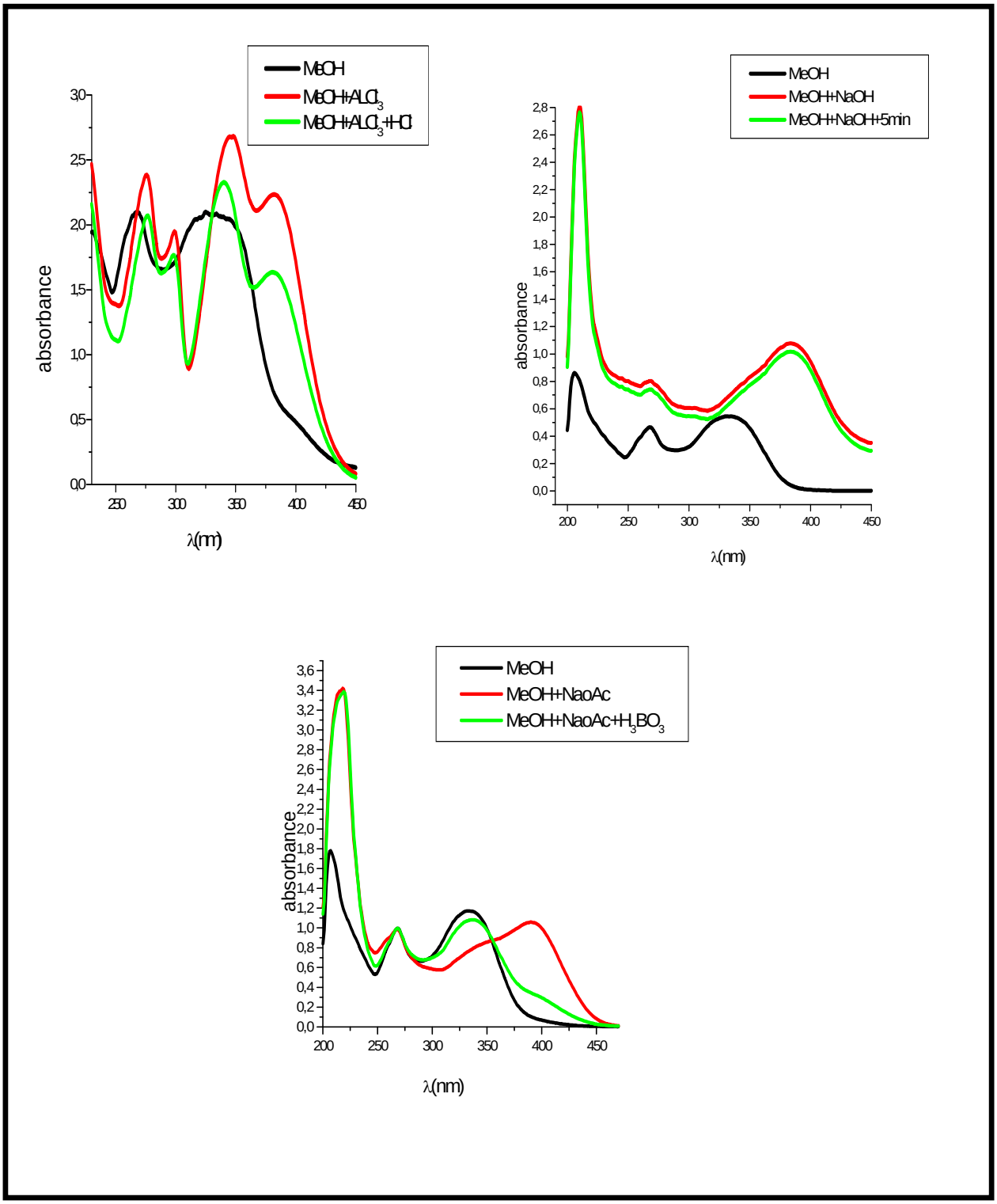
✓ مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية (طيف III-3-3):

- بعد إضافة NaOH نلاحظ إزاحة باثوكرومية للعصابة I المقدرة ب $\Delta\lambda_I$ =+52 nm مع الزيادة في الشدة الضوئية تدل على وجود OH حر في الموقع C-4' ، عدم وجود عصابة جديدة بين (320- 335nm) تدل على عدم وجود OH حر في الموقع 7,

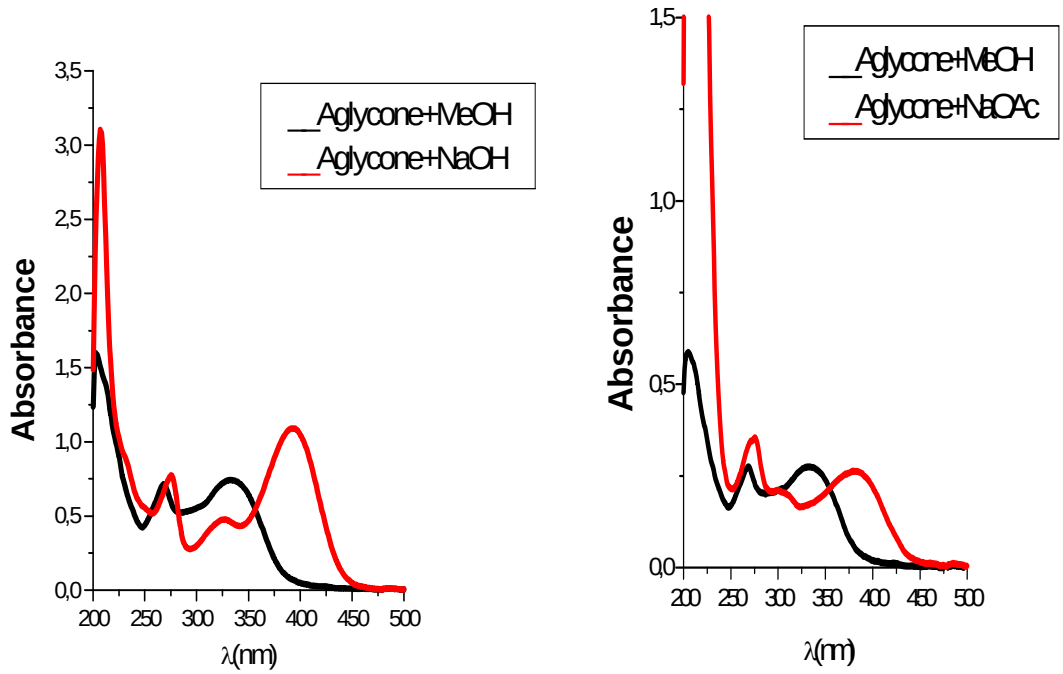
- بمقارنة الطيف المسجل في $AlCl_3$ مع الطيف المسجل في ($AlCl_3$+HCl) لا نجد أي إزاحة في العصابة II دلالة على عدم وجود أي أورثو ثنائي هيدروكسيل.

- بمقارنة الطيف المسجل في الميثانول و الطيف المسجل في ($AlCl_3$+HCl) نجد إزاحة باثكرومية للعصابة II nm 49+= $\Delta\lambda_I$ دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الموضع 5.

- عند إضافة NaOAc لم تكن هناك إزاحة العصابة II.مما يؤكد وجود OR في الموقع - 7.
- الطيف المسجل في $NaOAc+H_3BO_3$ يشير إلى عدم وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A أو الحلقة B و هي نفس الملاحظات المأخوذة من طيف المسجل في($AlCl_3$+HCl).
- بالنسبة للشق الأجليكوني فقد تم تسجيل طيف UV في NaOH فلاحظنا وجود عصابة جديدة عند 325nm وأيضا وجود ازاحة باثوكرمية للعصابة II مقدرة ب
  nm 7+= $\Delta\lambda_{II}$ عند إضافة NaOAc هذا يدل على وجود OH حر في الموقع 7,
  إذن هذه المعلومات تؤكد لنا وجود المستبدل *O*-sucre في الموقع 7 .



(طيف III-3-3) :مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية للمركب MP13 .



(طيف III-3-4) :مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية للشق الأجليكوني للمركب MP13 .

نتائج الأشعة الفوق بنفسجية موضحة في الجدول التالي :

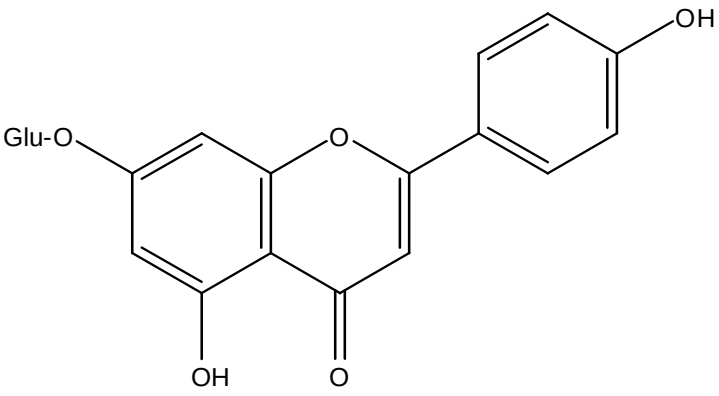
الكواشف	العصابة I (nm)	العصابة II (nm)
MeOH	331	268
NaOH	383	269
$AlCl_3$	345,384	275,299
$AlCl_3$+HCl	383,341	277,299
NaOAc	386	268
NaOAc+H_3BO_3	336	268
في NaOH وبعد خمس دقائق : الطيف مستقر		

الجدولIII-9- : نتائج الأشعة الفوق بنفسجية للمركب MP13 .

الشق الأجليكوني		
وجود عصابة جديدة عند325nm		+ NaOH
+379nm	+275nm	+NaOAc

الجدولIII-10- : نتائج الأشعة الفوق بنفسجية للشق الأجليكوني للمركب MP13 .

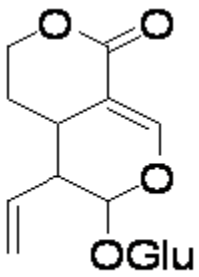
مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية للمركب MP13 و طيف RMN ^1H تؤدي إلى استنتاج الصيغة التالية



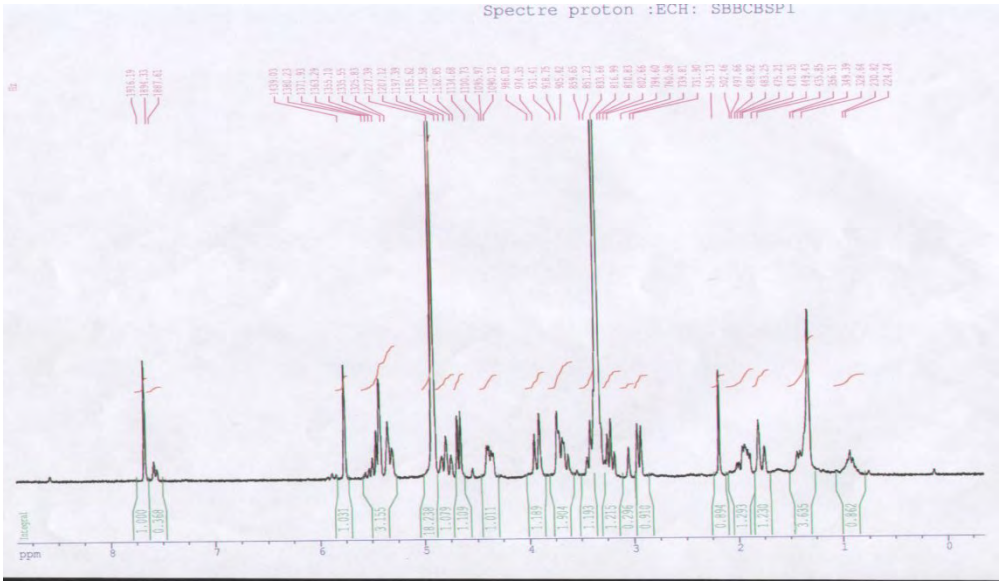
7-*O*-glucosyl Apigénine

- المركب P1:

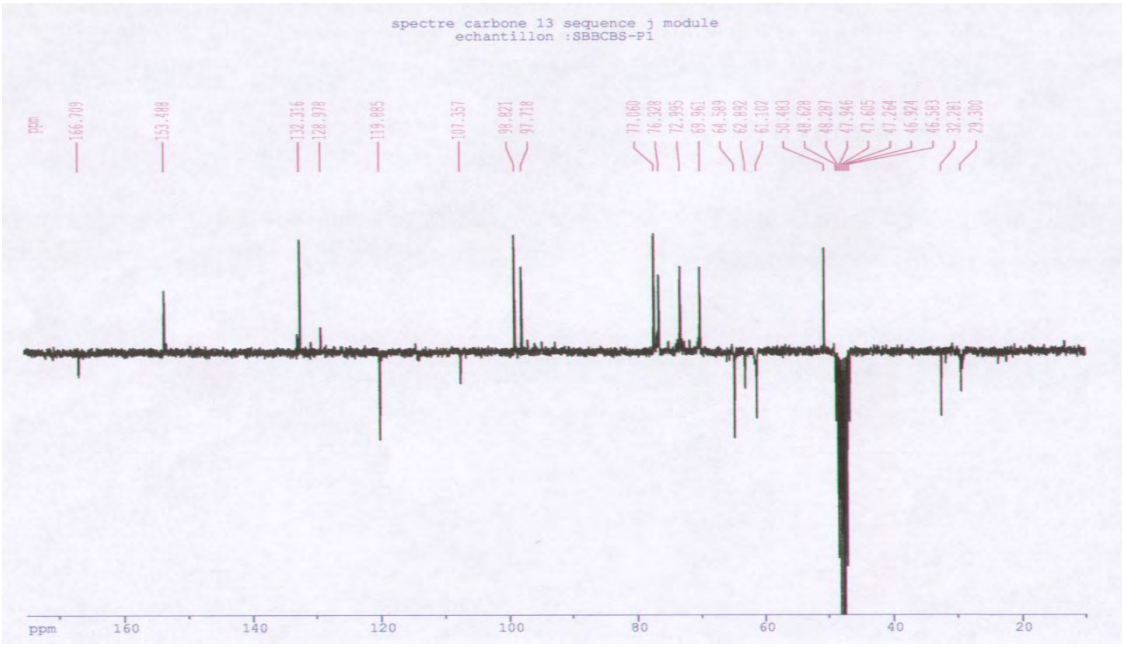
بالنسبة للمركب P1 هو ينتمي إلى عائلة الاريدويدات وهو عبارة عن Swerodide وتم التعرف عليه عن طريق مقارنة طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H RMN بطيف لنفس المركب و يحتاج إلى دراسة معمقة كمطيافية الكتلة و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ثنائية البعد لمعرفة الصيغة الدقيقة للمركب .



Swerodide



طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H RMN للمركبP1
مأخوذ في (CD_3OH 250 Hz,).



طيف ^{13}C RMN J_{mod} للمركبP1
مأخوذ في (CD_3OH 250 Hz,).

الخاتمة

الخاتمة

يعتبر هذا العمل كامتداد للدراسات القيتوكيميائية لنباتات الجزائر الطبية ، حيث كان هدفنا من خلال هذا البحث فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي لنبتة *Centaurium erythraea* و التي تنتمي إلى عائلة Gentianacaea .

اتبعنا جملة من الخطوات في عملية الفصل ابتداءا من الاستخلاص يليه فصل اولي بواسطة كروماتوغرافيا العمود بعدها القيام باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة . و من اجل التحديد البنيوي للمركبات استخدمنا مطيافية الاشعة فوق البنفسجية ،و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون و الاماهة الحمضية فكانت الحصيلة خمس مركبات .

لقد فصلنا مركبين من الطور الكلوروفورمي و هما :

- **3-hydroxy-5,7,4'-trimethoxyflavonol.**
- **5, 3- dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavonol.**

و مركبين من الطور البوتانولي: .

- **7-*O*-glucosyl Apigénine.**
- **Swerodide .**

و من خلال الابحاث البيبليوغرفية تبين ان المركبات الفلافونوبدية المفصولة جديدة بانسنة الى هذه النبتة و العائلة .

المراجع

المراجع

[1]د. عادل عبد العال,الطب القديم, الطبعة الأولى 2007 .

[2] د.حسان قبيسي ,2007 , معجم الأعشاب و النباتات الطبية ، دار الكتب العلمية ، بيروت ،لبنان ، الطبعة الثانية.

[3] د.علي الغنيمي ، موسوعة نباتات الإمارات العربية المتحدة في تراث الطب الشعبي، جامعة UAE.(1993م)

[4] W.G.van der Sluis, 1985, Chemotaxonomical investigations of the genera *Blackstonia* and *Centaurium* (Gentianaceae). Plant Syst. Evol. 149, 253–2.

[5] N . Mascolo, 1987, Biological screening of Italian medicinal plants for anti-inflammatory activity. Phytother Res; 1: 28–31.

[6] J.Bruneton, 1999,Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales, 3 eme ed.Tec & Doc, Paris.

[7] A.Bianco, 1990,Elsevier Science Publishers, 7, 329.

[8] Y.Takeda, Y.Morimato, Y.J.Matsumoto, 1995, J.Nat .Prod, 58, 1217-1221.

[9] A.Nangia, , G.Prasuna,1996,Tetrahedron, 52, 3435.

[10] M.Pavan, 1955,Chim. Industr, 37, 625.

[11] R.Fusc, , R. Trave, et A. Vercellone,1955, Chim. Industr, 37, 251.

[12] R.T. Brown, et C.L. Chapple,1976,Tetrahedron Letters, 17, 787-790.

[13] S.Damtoft, H. Franzyk, S.R.Jensen,1997,Phytochemistry, 45, 743–750.

[14] C.A. Boros, F.R. J.Stramitz,1991, J.Nat. Prod, 54, 1173.

[15] D.Satyajit, 2007, Chemistry for Pharmacy Students, John Wiley & Sons Ltd, England.

[16] E.L.Ghisalberti,1998, Phytomedicine, 5, 147–163.

[17] P.M .Dewick,2002 ,Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach, 2ème ed. England.

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

[19] P. M. Richardson ,1983, C-Glycosylxanthones in the fern genera *Davallia*, *Humata*, and *Nephrolepis*. Phytochemistry, 22: 309-311.

[20] J. G.Ondeyka, A. W.Dombrowski, J. P.Polishook, T.Felcetto, W. L.Shoop, Z.Guan, S. B.Singh,2006,Isolation and insecticidal/anthelmintic activity of xanthonol, a novel bisxanthone,from a non-sporulating fungal species. Journal of Antibiotics, 59: 288-292.

[21] J. Santesson ,1969, Chemical studies on lichens. Xanthones of some crustaceous lichens. Arkiv foer Kemi ,31: 57-64.

[22] http://fr .wikipedia.org/wiki/xanthone.

[23] J. R. Lewis, P. Gupta ,1971, Biogenesis of xanthones in *Gentiana lutea*. Journal of the Chemical Society: 629-631.

[24] I.Carpenter, H.D.Locksley, F. Scheinmann, 1969, Xanthones in higher plants:biogenetic proposals and a chemotaxonomic survey , Phytochemistry ,8, 2013-2026.

[25] G. Franz, M. Grün, 1983, Chemistry, occurrence and biosynthesis of *C*-glycosyl compounds in plants. Planta Med. 47, 131-140.

[26] K.Hostettmann, H. Wagner, 1977, Xanthone glycosides. Phytochemistry, 16, 821-829.

[27] M .Fujita, T. Inoue ,1981,Studies on the constituents of *Iris florentina* L. I. Isolation of C-glucosylxanthones from the underground parts and their biosynthesis. Yakugaku Zasshi, 101: 1118-1123.

[28] G.M. Kitanov, P.T Nedialkov,2001, Benzophenone *O*-glucoside, a biogenic precursor of 1,3,7-trioxygenated xanthones in *Hypericum annulatum*. Phytochemistry, 57, 1237-1243.

[29] B. W.Lee, J. H.Lee, S.-T.Lee, H. S.Lee, W. S.Lee, T.-S.Jeong, K. H.Park,2005,Antioxidant and cytotoxic activities of xanthones from *Cudrania tricuspidata*.Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter, 15: 5548-5552.

[30] A.Lanari, F.Amenta, G.Silvestrelli, D.Tomassoni, L.Parnetti ,2006, Neurotransmitter deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease .Mechanisms of Ageing and Development, 127: 158-165.

[31] D.-J.Jiang, Z.Dai, Y.-J. Li,2004,Pharmacological effects of xanthones as cardiovascular protective agents. Cardiovascular Drug Reviews ,22: 91-102.

[32] C.-N.Lin, S.-J .Liou, T.-H.Lee, Y.-C.Chuang, S.-J Won,1996, Xanthone derivatives as potential anti-cancer drugs. Journal of Pharmacy and Pharmacology ,48: 539-544.

[33] R. W .Winter, M. K.Riscoe, D. J .Hinrichs,2001, Preparation of xanthone derivatives for treating infectious diseases and complexation of heme and porphyrins.

[34] A.Groweiss, J. H.Cardellina, II, M. R .Boyd,2000, HIV-inhibitory prenylated xanthones and flavones from *Maclura tinctoria*. J. Nat. Prod, 63: 1537-1539.

[35] V. Rukachaisirikul, M. Kamkaew, D. Sukavisit , S.Phongpaichit,P. Sawangchote, W.C .Taylor,2003, Antibacterial xanthones from the leaves of *Garcinia nigrolineata*. J. Nat.Prod, 66: 1531-1535.
[36] D.Lamarre ,les propriétés des plantes médicinales.
[37] D.J. Newman, G.M.Cragg, K.M.Snader, 2003, J. Nat. Prod., 66, p. 1022
[38] S.N.Hasan, R.Khalpey ,Z.,1996, Differences in the serum levels of acetaldehyde and cytotoxic acetaldehyde-albumin complexes after the consumption of red and white wine: in vitro effects of flavonoids, vitamin E, and other dietary antioxidants on cytotoxic complexes. Alcohol. Clin. Exp. **,** 20(5), 799-803.
[39] A .Negre-Salvayre,Mabile, L. Delchambre, J.Salvayre, 1995 ,alpha-Tocopherol, ascorbic acid, and rutin inhibit synergistically the copper-promoted LDL oxidation and the cytotoxicity of oxidized LDL to cultured endothelial cells. Biol. Trace Elem**,** 47(1-3), 81-91.
[40] B .Havsteen,.1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. Biochem. Pharmacol. 32, 1141-1148.
[41] T. Iwashina ,2000, The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. Journal of Plant Research.113(3), 287-299.
[42] K.R. Markham,1988, Distribution of flavonoids in the lower plants and its evolutionary significance. In The Flavonoids: Advances in research since 1980. Harborne J.B. Ed. Chapmann & Hall. London. pp 427-468.
[43] G.A Cooper-Driver., and M. Bhattacharya ,1998,Role of phenolics in plant evolution. Phytochemistry. 49(5),1165-1174.
[44] R.J Grayer, M.W.Chase, and M.S.J Simmonds. 1999,A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: An appreciation of Hegnauer's"Chemotaxonomie der Pflanzen". Biochemical Systematics and Ecology 27(4), 369-393
[45] J. Bruneton ,1999, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Technique &Documentation. Paris.

[46] H.M., Merkem and Beecher G.R. ,2000,Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(3), 577-599.
[47] W.E Bronner, G.R. Beecher, 1995, Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. Journal of Chromatography A. 705:247-256.

[48] A. Crozier, E. Jensen,Lean,1997, Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography J.Chromatography A. 761: 315-321.

[49] P.C.H.Hollman, M.G.L Hertog, M.B. Katan, 1996, Analysis and health effects of flavonoids. Food Chem. 57: 43-46.

[50] P.C.H.Hollman, & ICW Arts , 2000, Flavonols, flavones and flavanols - nature, occurrence and dietary burden. J sci food agric 80, 1081-1093.

[51] MGL .Hertog,1996, Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. Proc Nutr Soc 55, 385-397.

[52] KR. Price & MJC. Rhodes ,1997,Analysis of the major flavonol glycosides present in four varieties of onion (Allium cepa) and changes in composition resulting from autolysis. J sci food agric 74, 331-339.

[53] W.E.Bronner, G.R. Beecher, 1995,Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. Journal of Chromatography , 705:247-256.

[54] Y., Sato, S. Suzaki , T. Nishikawa , M. Kihara, H.Shibata , and T. Higuti, ,2000, Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, J. Ethnopharmacol. 72, 483–488.

[55] K.R. Markham,1982, Technique of flavonoid identification, Academic press, London.

[56] L.Jurd, R. Horowitz , 1962, Spectral properties of flavonoid compounds, pergamon press, Oxford, 107-2055.

[57] H. El hazimi, 1995, Natural product, 149-190.

[58] T.J.Mabry, K. R Markham. and M.B. Thomas,1970,The systimatic identification of flavonoids, Springer, New york, 45-126.

[59] E. Wollenweber,1982, Occurrence and localization of flavonoid aglycones, In the flavonoids-Advances in Research (Harborne, J.B. and Mabry, J.J. eds. Chapman and Hall, London, New York).

[60] K.R. Markham, and H. Geige, 1994,^{1}HRMN spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuteurodimethyl-sulfoxide, In the flavonoids, edited by J.B. Harborne, (1993). Chapman and Hall, London.

[61] L.Jurd, and R.Horowitz,1962,Spectral properties of flavonoid compounds, pergamon press, Oxford, 107-2055.

[62] H. Audier, 1966, Etude des composés flavoniques par spectrométrie de masse.

[63] http://fr.wikipedia.org/wiki/Gentianaceae.
[64] J.Corneliuson,1997,Växternas namn - Vetenskapliga växtnamns etymology. Wahlström &Widstrand, Stockholm.
[65] Martindale,1982,Bitters, in: J. E. F. Reynolds, ed. The Extra Pharmacopoeia, ed.28. The Pharmaceutical Press, London.
[66] J. Zhou, 1991, Bioactive glycosides from Chinese medicines. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 86, 231–234
[67] S. Mandal, P. C. Das, P. C. Joshi, A. Chatterjee, C. N. Islam, M. K. Dutta, B. B.Patra,1992,Anti-inflammatory action of *Swertia chirata*. Fitoterapia 63: 122–128.
[68] A. M. Saxena, & S. K. Mukherjee,1992, Mechanism of blood sugar loweringaction of *Swertia chirayita*: effect of impure swerchirin (SWI) oninsulin release from isolated beta cells of the pancreas. Microb. Biotechnol. 7:27–29.
[69] T .Okada,1977, Insect repellant. Japan. Patent. 78; 75,327.
[70] C. H. Chen, J. Y. Lin, C. N. Lin, & S. Y. Hsu,1992, Inhibition of angiotensin-I-converting enzyme by tetrahydroxyxanthones isolated from *Tripterospermum lanceolatum*. J. Nat. Prod. 55: 691–695.
[71] S. R.Jensen, J. Schripsema ,2002, Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. Systematics and Natural History. Cambridge University Press. p 573-631.
[72] http://plantes.sauvages.free.fr/pages_plantes/petite-centaureecommune.htm
[73] http://fr.wikipedia.org/wiki/Petite_centaurée
[74] R . Dodoens, 1557.Histoire des plantes,
[75] Flore forestière, tome1 ,2005, institut pour le développement forestier.
[76] La Santé par les plantes, sélection du Reader's digest, 2002.
[77] J. Valnet, 1983 Phytothérapie, traitement des maladies par les plantes.
[78] J. Morel, 2008 , Traité pratique de phytothérapie.

[79]O. Schimmer, H. Mauthner. , 1996, Polymethoxylated xanthones from the herb of *Centaurium erythraea* with strong antimutagenic properties in Salmonella typhimurium , Planta medica vol. 62, n°6, Pages 561-564.
[80] Y. Kumarasamy,L. Nahar, S. D. Sarker, 2003,Bioactivity of gentiopicroside from the aerial parts of *Centaurium erythraea* ,Fitoterapia, *Volume 74*, Issues 1-2, Pages 151-154.
[81] Y. Kumarasamy, L. Nahar, P.J. Cox, M. Jaspars, S.D. Sarker, *2003,* Bioactivity of secoiridoid glycosides from *Centaurium erythraea* , Phytomedicine Volume 10, Issue 4, Pages 344-347.
[82] M. Mroueh ,Y.Saab , R. Rizkallah , 2004,Hepatoprotective activity of *Centaurium erythraea* on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats, Phytotherapy research , vol. 18, n°5, *Pages* 431-433 .

[83] M. Haloui , L. Louedec, J. Michel, B. Lyoussi[a] ,*2000,*.Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea,* Journal of Ethnopharmacology, Volume 71, Issue 3, Pages 465-472.

[84] P. Valentão, E. Fernandes, F. Carvalho, P.B. Andrade, R.M. Seabra, M.L. Bastos, *2003*,Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small Centaury *(Centaurium erythraea)* infusion. A comparative study with green tea *(Camellia sinensis) ,*Phytomedicine, Volume 10, Issues 6-7, Pages 517-522.

[85] P. Valentão, E. Fernandes, F. Carvalho, P. B. Andrade, R. M. Seabra, and M. L. Bastos,2003 , Antioxidant Activity of *Centaurium erythraea* Infusion Evidenced by Its Superoxide Radical Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Activity ,CEQUP/Servio de Farmacognosia and CEQUP/Servio de Toxicologia, Faculdade de Farmcia, Portugal.

[86] V. Bellavita, F. Schiaffella, T. Mezzetti,1974,Triterpenoids of *Centaurium erythraea* . Phytochemistry, Volume 13, Issue 1, Pages 289-290.

[87] P. Valentão, PB.Andrade, E. Silva, A.Vicente, H. Santos, ML. Bastos, RM.Seabra, 2002 ,Methoxylated xanthones in the quality control of small centaury (*Centaurium erythraea*) flowering tops. J Agric Food Chem,50(3):460-3.

[88] R .Aquino, I. Behar, P. Garzarella, A.Dini, C. Pizza,1985,Composizione chimica e proprieta biologiche della *Erythraea centaurium* Rafn. Boll Soc Ital Biol Sper;61:165-9 .

[89] N.M.Neshta ,V.I.Clyzin ,A.V.patudin , 1984,A New xanthone compound from *centaurium erythtreae* ,N^0=1,page110 .

[90] M.Sharaf, , M. A.El-Ansari, , Z.Weglarz, , A. Geszprych , 2001, Phenolic constituents of *centaury* .National Research Centre, El-Dokki 12311, Cairo, Egypt.

[91] A. Abdelaaty Shahat, S.Apers, S .Van Miert, M. Claeys, L .Pieters and A.Vlietinck ,2001 , Structure elucidation of three new acetylated flavonoid glycosides from *Centaurium spicatum* . *Magn. .Reson. Chem.* .2001; 39: 625–629.

ملخص

هدفنا الرئيسي هو الدراسة الفيتوكيميائية لـ *C. erythrea* والذي يتمثل في تحديدإكإعدد من المركبات لتوسيع وتعميق المعرفة الفيتوكيميائية لهذه النبتة.

اختيارنا لهذه النبتة يرجع إلى غناها بمنتجات الأيض الثانوي المعروفة بنشاطاتها البيولوجية المتعددة ، الغرض الفيتوكيميائى يتمثل في عزل و تحديد البنى الكيميائية للمركبات الطبيعية المعزولة باستعمال مختلف التقنيات الكروماتوغرافية (كروماتوغرافيا العمود و الطبقة الرقيقة التحضيرية) و هذا ما سمح بعزل ثلاث مركبات التى تم تحديد بنياتها باستعمال تقنيات التحليل المعروفة بما فيها طيف الرنين البروتونH^1 RMN و *مطيافية الأشعة الفوق بنفسجية*(UV) و الاماهة الحمضية .

سمحت الدراسة الفيتوكيميائية *C. erythrea* بعزل4 مركبات نقية تم الحصول على بنياتها:

- **3-hydroxy-5,7,4'-trimethoxyflavonol.**
- **5, 3- dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavonol.**
- **7-*O*-glucosyl Apigénine.**
- **Sweroside.**

الكلمات المفتاحية : *C. erythraea*، Gentianacaea ، الأيض الثانوي.

Résumé

Le but principal de ce travail concerne l'étude phytochimique de *C. erythrea* ,(Gentianacea) . Il consiste à identifier le maximum de composés afin d'élargir et d'approfondir la connaissance phytochimique de cette plante.

Notre choix pour cette espèce est justifié parce qu'elle est très riche en métabolites secondaires présentant diverses activités biologiques. L'objectif phytochimique correspond, en effet, à l'isolement et à la détermination structurale des molécules naturelles par différentes méthodes chromatographiques, notamment la chromatographie sur colonne de gel de silice et sur plaques préparatives de gel de silice ce qui a permit d'isoler **4 produits**, leurs structures ont été déterminées par la combinaison de méthodes spectrales à savoir la spectrophotométrie UV-Visible, la RMN ^{1}H. et l'hydrolyse acide .

L'étude phytochimique menée sur *C. erythrea* a permis l'obtention de 4 produits purs. Il s'agit de :

- **3-hydroxy-5,7,4'-trimethoxyflavonol.**
- **5, 3- dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavonol.**
- **7-*O*-glucosyl Apigénine.**
- **Sweroside.**

Mot clé : *C. erythraea* , Gentianacaea, métabolites secondaires.

Summary

The aim of this work relates to the phytochimical study of *C. erythrea* (Gentianacaea) It consists in identifying the maximum of compounds in order to widen and improve the phytochimical knowledge of this plant.

Our choice for this species is justified by it's richness in secondary metabolites presenting various biological activities.

The phytochimical objective corresponds, indeed, with the insulation and the structural determination of the natural molecules of *C. erythraea* . with this intention, we carried out separation and the purification of the different phytoconstituants by various chromatographic methods, in particular the silica gel column chromatography and on silica gel preparation plate what has made it possible to insulate **4 products**, their structures were determined by the combination of spectral methods namely the UV-Visible spectrophotometry, the RMN ^{1}H .and

The phytochimical study undertaken on *C. erythraea* has allowed obtaining 4pure products .it is about:

- **3-hydroxy-5,7,4'-trimethoxyflavonol.**
- **5, 3- dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavonol.**
- **7-*O*-glucosyl Apigénine.**
- **Sweroside.**

Key words: *C. erythraea* , Gentianacaea, Secondary metabolites.