

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة منتوري قسنطينة

قسم الكيمياء

كلية العلوم الدقيقة

رقم الترتيب:.....

رقم التسلسل:.....

رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير

في الكيمياء العضوية

شعبة كيمياء النبات

تحت عنوان:

إستخلاص، فصل و تحديد بنيات منتوج
الأبيض الثانوي عند نبات جنس *Centaurea*:
C.Sphaerocephala L.

من طرف: باز مسعود

امام اللجنة:

رئيسة

أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة

الدكتورة فضيلة بن عياش

مشرف و مقرر

أستاذ محاضر بجامعة منتوري قسنطينة

الدكتور بن تامن علي

ممتحن

أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة

الدكتور سمير بن عياش

ممتحن

أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة

الدكتور عبد الرحمان ثنيو

اكتوبر 2006

الإهداء

إلى معلم الأجيال

إلى مربية الأجيال

إلى الوالدين الكريمين

مرهني هذا العمل

شكر و تقدير

الشكر و الحمد لله الذي خلق الإنسان من عدم، و علمه ما لم يكن يعلم، و الصلاة و السلام على أعلم الخلق النبي الأمي الأكرم.

و عملا بقول سيد الخلق: لم يشكر الله من لم يشكر الناس

أتقدم بالشكر الحار و التقدير و العرفان إلى الذي ساهم بجهوده و أفكاره العلمية من البداية و حتى النهاية، الأستاذ المشرف على هذا البحث: السيد بن تامن علي

كما أتوجه بخالص تشكراتي إلى ذات الحمل الثقيل و المسؤوليات الكثيرة الأستاذة: فضيلة بن عياش لقبولها رئاسة لجنة المناقشة و على الجهود التي بذلتها خلال هذا البحث .

وأوجه خالص تشكراتي للأستاذة: سمير بن عياش و عبد الرحمان ثنيو لقبولهما عضوية هذه اللجنة.

كما لا أنسى تقديم شكري لكل أعضاء مخبر التحليل الفيزيوكيميائي و البيولوجي قسم الكيمياء، جامعة منتوري قسنطينة و كل من ساعدني قريبا كان أو بعيدا.

الفهرس

1	المقدمة
4	I. الفلافونويدات
4	1.I مفاهيم أساسية
4	1.1.I.1. التعريف بالفلافونويدات
5	2.1.I.2. أقسام الفلافونويدات
8	2.I.2. الإصطناع الحيوي
8	1.2.I.1. طريق الخلات
8	2.2.I.2. طريق الشيكيميك
	3.2.I.3. الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل
11	الفلافونويدية بدءا من الشالكون
12	4.2.I.4. تثبيت المجموعات
12	1.4.2.I.1. تثبيت مجموعات الهيدروكسيل
13	2.4.2.I.2. تثبيت مجموعات الميثيل
13	3.4.2.I.3. تثبيت جزيئات السكر
14	3.I.3. الإصطناع المخبري
15	1.3.I.1. الشالكون
16	2.3.I.2. ثنائي هيدروشالكون
16	3.3.I.3. الفلافانول
17	4.3.I.4. الفلافون
18	5.3.I.5. الفلافونول
19	6.3.I.6. ثنائي هيدروالفلافونول
19	7.3.I.7. الأورون

20.....	8.3.I. إيزوفلافون
21.....	4.I. أهمية الفلافونويدات
22.....	5.I. الفصل والتنقية
22.....	1.5.I. الفصل
22.....	1.1.5.I. كروماتوغرافيا العمود CC
22.....	2.1.5.I. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM
24.....	3.1.5.I. كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية CP
	4.1.5.I. كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء
24.....	HPLC العالي
25.....	6.I. التنقية
26.....	II. الدراسة البنوية للفلافونويدات
26.....	1.II. الخصائص الكروماتوغرافية
26.....	1.1.II. اللون الإستشعاعي
27.....	2.1.II. ثابت الإحتباس
28.....	2.II. السبل الطيفية
28.....	1.2.II. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV)
	1.1.2.II. طيف الإمتصاص في الوسط
29.....	الميثانولي
	2.1.2.II. طيف الإمتصاص في وجود
30.....	NaOMe أو NaOH
	3.1.2.II. طيف الإمتصاص في وجود
30.....	NaOAc
	4.1.2.II. طيف الامتصاص في وجود
31.....	NaOAc+H ₃ BO ₃
	5.1.2.II. طيف الإمتصاص في وجود
31.....	AlCl ₃ و AlCl ₃ +HCl

34.....	2.2.II مطيافية الرنين المغناطيسي
36.....	3.2.II مطيافية الكتلة
36.....	1.3.2.II تقنية القذف الإلكتروني EI
40.....	2.3.2.II تقنية القذف السريع بالذرات F.A.B
40.....	3.3.2.II تقنية الإلكترون سبراي
40.....	3.II الإمهاء الحمضية
42.....	III النتائج الكيميائية
42.....	1.III الدراسة النباتية لـ <i>C. sphaerocephala</i> L.
	1.1.III وضع النبتة ضمن التصنيف
42.....	النظامي للنباتات
42.....	2.1.III وصف النوع <i>sphaerocephala</i>
42.....	2.III المادة النباتية
43.....	3.III التحليل الكيميائي
43.....	1.3.III الإستخلاص
	2.3.III الفصل بواسطة كروماتوغرافيا
45.....	العمود
	3.3.III الفصل بواسطة كروماتوغرافيا
46.....	الطبقة الرقيقة
46.....	1.3.3.III معالجة الكسر
46.....	2.3.3.III معالجة الكسر
47.....	IV تشخيص المركبات المفصولة
47.....	1.IV تشخيص المركب CSF ₆₁
56.....	2.IV تشخيص المركب CSF ₆₂

63.....	CSF ₁₀₁ تشخيص المركب	3.IV
70.....	CSF ₁₀₂ تشخيص المركب	4.IV
76.....	الخاتمة	
77.....	المراجع	

مقدمة

يمثل الغطاء النباتي قسما كبيرا من الطبيعة المحيطة بنا و هو ذو أهمية كبيرة من حيث أسباب و ضروريات الحياة البشرية ، وقد امتدت يد الإنسان منذ القديم بالبحث و التنقيب عما في النبات من أسرار غذائية،دوائية أو غيرها.

إن شساعة القطر الجزائري و موقعه الجغرافي و تعدد المناخات به (المناخ المتوسطي، المناخ القاري، المناخ شبه الصحراوي، المناخ الصحراوي) قد جعلته مكانا مناسباً لنمو العديد من الأنواع و الأصناف النباتية المختلفة وهذا ما دفع بالباحثين الجزائريين لدراستها و تحليلها كيميائياً.

بناء على هذا و تكملة لما قام به الأساتذة الباحثون و الطلبة بمخبر التحليل الفيزيوكيميائي و البيولوجي، قسم الكيمياء - جامعة منتوري قسنطينة، قمنا بدراسة فيتوكيميائية لإحدى نباتات الشرق الجزائري و هي *Centaurea sphaerocephala* L. المنتمة إلى العائلة المركبة التي تضم عددا كبيرا من الاجناس .

إن نبات جنس *Centaurea* كان هدفا للعديد من الدراسات الفيتوكيميائية التي أدت إلى فصل عدد كبير من المركبات أهمها الفلافونويدات [1،2] و اللاكتونات السييسكوي تربيينية [3،4].

تم اختيار هذه النبتة على أسس كيميائية و بيولوجية،فمن الناحية الكيميائية هو إحتواء جنس *Centaurea* على المركبات الفلافونويدية و تنوع كبير من اللاكتونات السييسكوي تربيينية، أما من الناحية البيولوجية فالكثير من الأنواع المنتمة لهذا الجنس أثبتت قدرتها العلاجية لكثير من الأمراض حيث تستعمل في الطب الشعبي.

يوجد بالقطر الجزائري 45 نوعا من جنس *Centaurea* و قد أنجز على البعض منها العديد من الأبحاث و تم فصل عدد كبير من المركبات و الجدول التالي يبين الأنواع التي تمت دراستها بمخبرنا:

النبتة	نوع و عدد المركبات المفصولة
<i>Centaurea lippii</i>	ثلاث فلافونويدات [5] لاكتونا سيسكوي تربيني [5]
<i>Centaurea musimomum</i>	أربعة عشرة لاکتونا سيسكوي تربيني [6،7]
<i>Centaurea napifolia</i>	خمسة فلافونويدات [8،9] لاكتونا سيسكوي تربيني [8،9]
<i>Centaurea incana</i>	أربعة عشرة فلافونويدا [10]
<i>Centaurea calcitrapa</i>	إثنا عشرة فلافونويدا [11] لاكتونين سيسكوي تربينين [12]
<i>Centaurea pullata</i>	لاكتونين سيسكوي تربينين [13]
<i>Centaurea nicaensis</i>	إثنا عشرة فلافونويدا [14] أربع لاکتونات سيسكوي تربينية [15]
<i>Centaurea furfuracea</i>	إثنا عشرة فلافونويدا [16،17]
<i>Centaurea parviflora</i>	أربع فلافونويدات [18]
<i>Centaurea pungens</i>	أربع فلافونويدات [19]
<i>Centaurea granata</i>	لاكتونا سيسكوي تربيني [20]
<i>Centaurea maroccana</i>	مركبين فلافونويدين [21] لاكتونين سيسكوي تربينين [21] مركبا عطريا [21]
<i>Centaurea acaulis</i>	فلافونويدا [8] سته لاکتونات سيسكوي تربينية [21] مركبا عطريا [8]

الجدول رقم 1: الانواع النباتية المدروسة و عدد و نوع المركبات المفصولة

و من بين أنواع *Centaurea* التي تمت دراستها بمخابر أخرى نذكر منها:

. [25] *C. jacea*, [24] *C. americana*, [23] *C. ptosimopappa*, [22] *C. ruthenica*

أما النبتة التي نحن بصدد دراستها فقد كانت محل بحث مرتين. [26،27]

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

الفصل الأول: و هو عبارة عن مدخل للفلافونويدات تعريفًا، تصنيفًا، تصنيعًا و طرقًا للفصل و التنقية.

الفصل الثاني: تم فيه الحديث عن الطرق الفيزيوكيميائية لتحديد الصيغ الكيميائية لمختلف المركبات الفلافونويدية.

الفصل الثالث: خص للطريقة العملية المخبرية المتبعة خلال هذا البحث من استخلاص، فصل....

الفصل الرابع: يتضمن النتائج المحصلة و مناقشتها.

و أخيرا الخاتمة: قيما فيها نتائج هذا البحث.

الفهرس

1.....	المقدمة
4.....	I. الفلافونويدات.....
4.....	1.I مفاهيم أساسية.....
4.....	1.1.I التعريف بالفلافونويدات.....
5.....	2.1.I أقسام الفلافونويدات.....
8.....	2.I الإصطناع الحيوي.....
8.....	1.2.I طريق الخلايا.....
8.....	2.2.I طريق الشيكيميك.....
	3.2.I الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل
11.....	الفلافونويدية بدءا من الشالكون.....
12.....	4.2.I تثبيت المجموعات.....
12.....	1.4.2.I تثبيت مجموعات الهيدروكسيل.....
13.....	2.4.2.I تثبيت مجموعات الميثيل.....
13.....	3.4.2.I تثبيت جزيئات السكر.....
14.....	3.I الإصطناع المخبري.....
15.....	1.3.I الشالكون.....
16.....	2.3.I ثنائي هيدروشالكون.....
16.....	3.3.I الفلافانول.....
17.....	4.3.I الفلافون.....
18.....	5.3.I الفلافونول.....
19.....	6.3.I ثنائي هيدرو الفلافونول.....
19.....	7.3.I الأورون.....
20.....	8.3.I إيزوفلافون.....

21.....	4.I أهمية الفلافونويدات.....
22.....	5.I الفصل والتنقية.....
22.....	1.5.I الفصل.....
22.....	1.1.5.I كروماتوغرافيا العمود CC.....
22.....	2.1.5.I كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM.....
24.....	3.1.5.I كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية CP.....
	4.1.5.I كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء
24.....	العالي HPLC.....
25.....	6.I التنقية.....
26.....	II الدراسة البنيوية للفلافونويدات.....
26.....	1.II الخصائص الكروماتوغرافية.....
26.....	1.1.II اللون الإستشعاعي.....
27.....	2.1.II ثابت الإحتباس.....
28.....	2.II السبل الطيفية.....
28.....	1.2.II مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).....
	1.1.2.II طيف الإمتصاص في الوسط
29.....	الميثانولي.....
	2.1.2.II طيف الإمتصاص في وجود
30.....	NaOH أو NaOMe.....
	3.1.2.II طيف الإمتصاص في وجود
30.....	NaOAc.....
	4.1.2.II طيف الامتصاص في وجود
31.....	NaOAc+H ₃ BO ₃
	5.1.2.II طيف الإمتصاص في وجود
31.....	AlCl ₃ و AlCl ₃ +HCl.....
34.....	2.2.II مطيافية الرنين المغناطيسي.....
36.....	3.2.II مطيافية الكتلة.....

36.....	1.3.2.II . تقنية القذف الإلكتروني EI
40.....	2.3.2.II . تقنية القذف السريع بالذرات F.A.B
40.....	3.3.2.II . تقنية الإلكترون سبراي
40.....	3.II . الإماهة الحمضية
42.....	III . النتائج الكيميائية
42.....	1.III . الدراسة النباتية لـ <i>C. sphaerocephala</i> L.
	1.1.III . وضع النبتة ضمن التصنيف
42.....	النظامي للنباتات
42.....	2.1.III . وصف النوع <i>sphaerocephala</i>
42.....	2.III . المادة النباتية
43.....	3.III . التحليل الكيميائي
43.....	1.3.III . الإستخلاص
	2.3.III . الفصل بواسطة كروماتوغرافيا
45.....	العمود
	3.3.III . الفصل بواسطة كروماتوغرافيا
46.....	الطبقة الرقيقة
46.....	1.3.3.III . معالجة الكسر
46.....	2.3.3.III . معالجة الكسر
47.....	IV . تشخيص المركبات المفصولة
47.....	1.IV . تشخيص المركب CSF ₆₁
56.....	2.IV . تشخيص المركب CSF ₆₂
63.....	3.IV . تشخيص المركب CSF ₁₀₁

70..... CSF₁₀₂ تشخيص المركب 4.IV

76.....الخاتمة

77.....المراجع

الفصل I

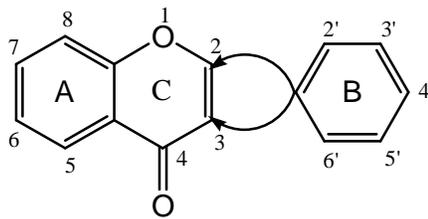
الفلافونويدات

1.1. مفاهيم أساسية:

1.1.1. التعريف بالفلافونويدات:

تمثل المركبات الفينولية قسما بالغ الأهمية في حقل المنتجات الطبيعية وذلك لتعددتها و تباين هيكلها البنائية، من هذه المركبات منتجات أيضا ثانوية تسمى: الفلافونويدات. أصل تسمية الفلافونود يرجع إلى الكلمة الإغريقية flavus التي تعني اللون الأصفر، تنتشر الفلافونويدات في الأجزاء النباتية المختلفة، خاصة في الأوراق و البراعم و الأزهار، توجد في معظم الأصناف النباتية بالأخص الراقية منها، و منعدمة تقريبا عند الطحالب. [28،29،30]

هيكلها الأساسي بسيط نسبيا فهي تتكون من 15 ذرة كربون موزعة على ثلاث حلقات من الشكل $C_6-C_3-C_6$: حلقتين عطريتين A و B تجمعهما حلقة غير متجانسة C. [31]

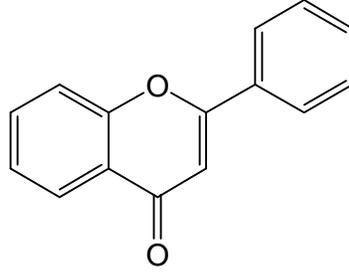


الشكل رقم 1: الهيكل الفلافونويدي.

2.1.I. أقسام الفلافونويدات:

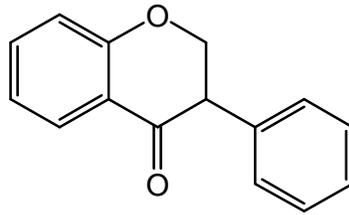
يمكن تقسيمها حسب جهة ارتباط الحلقة C إلى:

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



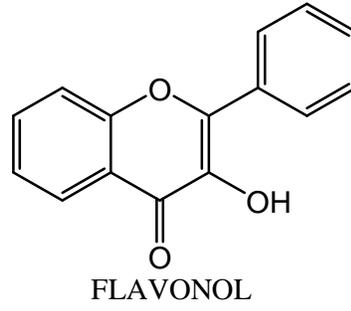
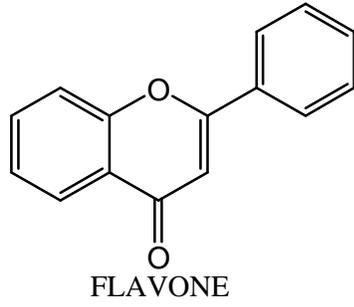
الشكل رقم 2 : فلافونويد

- إيزوفلافونويدات : إذا كان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقاً من الكربون 3.

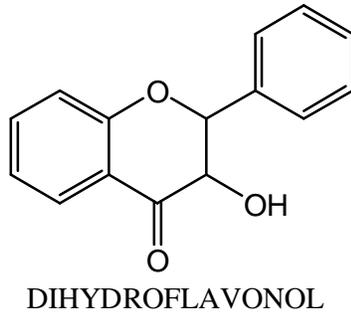
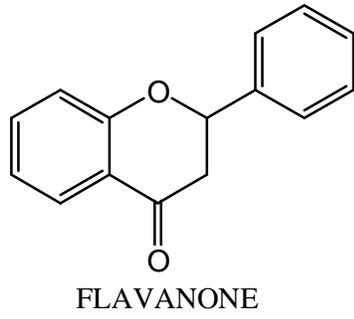


الشكل رقم 3 : إيزوفلافونويد

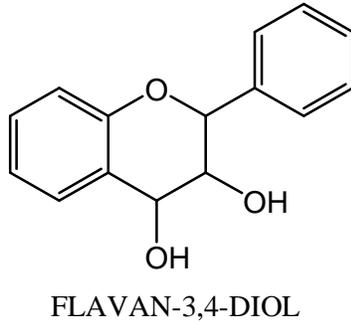
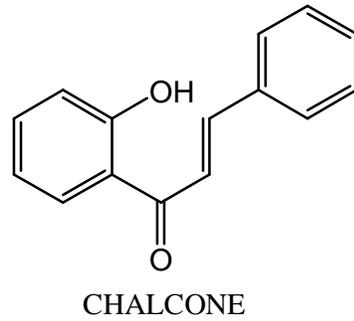
كما يمكن تقسيمها وفقاً لدرجة تأكسد الحلقة C إلى الأقسام المبينة في الشكل رقم 4 . [32]



وجود هيدروكسيل في الموضع 3. وجود بروتون في الموضع 3.



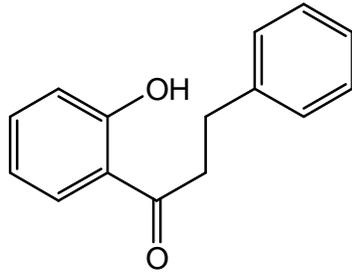
غياب الرابطة الثنائية C₂-C₃ و وجود مركز لا تناظر.



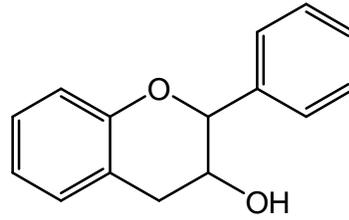
غياب الحلقة C.

هيدروكسيل في الموضع 4.

الشكل رقم 4: الهياكل الفلافونويدية المختلفة.

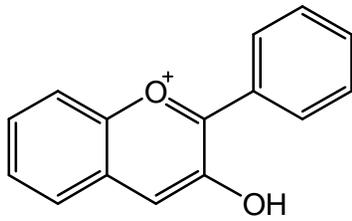


DIHYDROCHALCONE

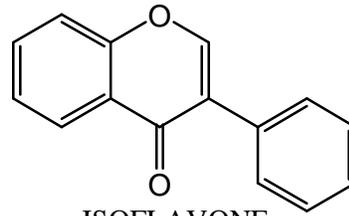


FLAVAN-3OL

غياب وظيفة السيتون في الموضع 4. غياب الحلقة C و الرابطة الثنائية C₂-C₃.



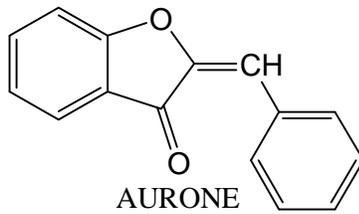
ANTHOCYANIDINE



ISOFLAVONE

إرتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا

من الكربون 3



AURONE

الحلقة C خماسية .

الشكل رقم 4: الهياكل الفلافونويدية المختلفة. (تابع)

2.I. الإصطناع الحيوي:

بينت التجارب التي أجريت باستعمال ^{14}C لمعرفة طرق الإصطناع الحيوي للفلافونويدات وجود طريقين:

• طريق الخلات

• طريق الشيكيميك

و الإنزيم الأساسي هو Chalcone synthase (CHS) [36,35,34,33]

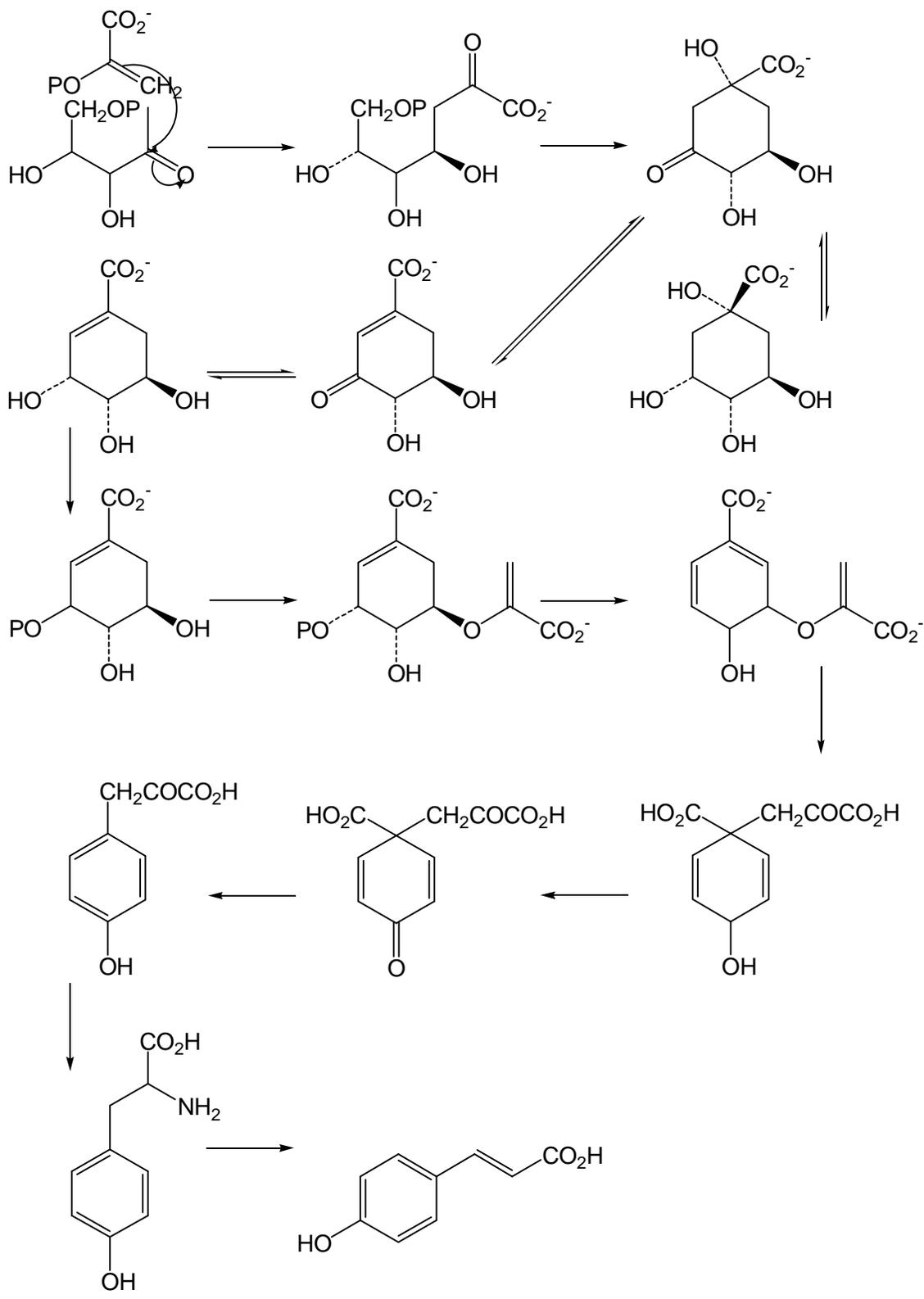
1.2.I. طريق الخلات:

الحلقة A تتشكل من تكاثف رأس- ذيل لثلاث وحدات من الخلات على شكل Malonyl-CoA مع حمض Para-coumarique-CoA . الشكل رقم 6 . [40,39,38,37]

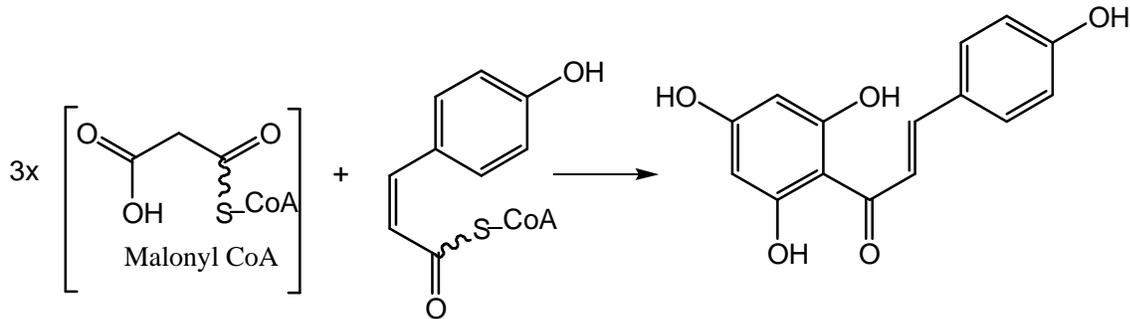
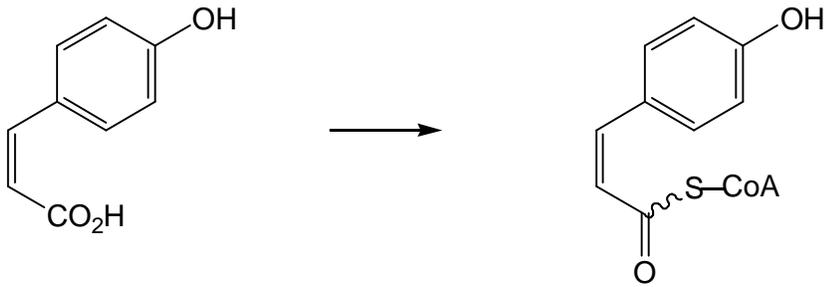
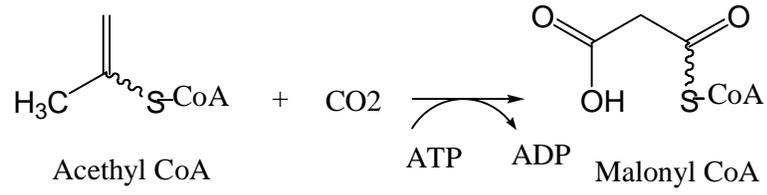
2.2.I. طريق الشيكيميك:

أثبتت التجارب على عددا كبيرا من المركبات المختلفة أن لحمض الشيكيميك دور في تكوين الحلقة B . إن تكاثف ثلاث وحدات من خلات الايثيل في صورة مالونات كوانزيم A يؤدي إلى تشكيل الحلقة A لتتحد مع حمض باراكوماريك، هذا التكاثف يؤدي إلى تكوين نواة الشالكون. الشكل رقم 5 [43,42,41,40] يعتبر 4,2',4',6'-tetrahydroxychalcone نقطة انطلاق لإصطناع العديد من الفلافونويدات بمساعدة إنزيمات تخص كل مرحلة .

ينتج الفلافانون من عملية تحويل فراغية نوعية ابتداء من الشالكون [2]، كما أن إعادة الترتيب للفلافانون بمساعدة Iso flavone syntase تقود الى الإيزوفلافون، أما الإنزيم Flavanone Hydroxylase فيحفز تفاعل تثبيت الهيدروكسيل على الفلافانون لنحصل على ثنائي هيدروالفلافونول. [4,3]



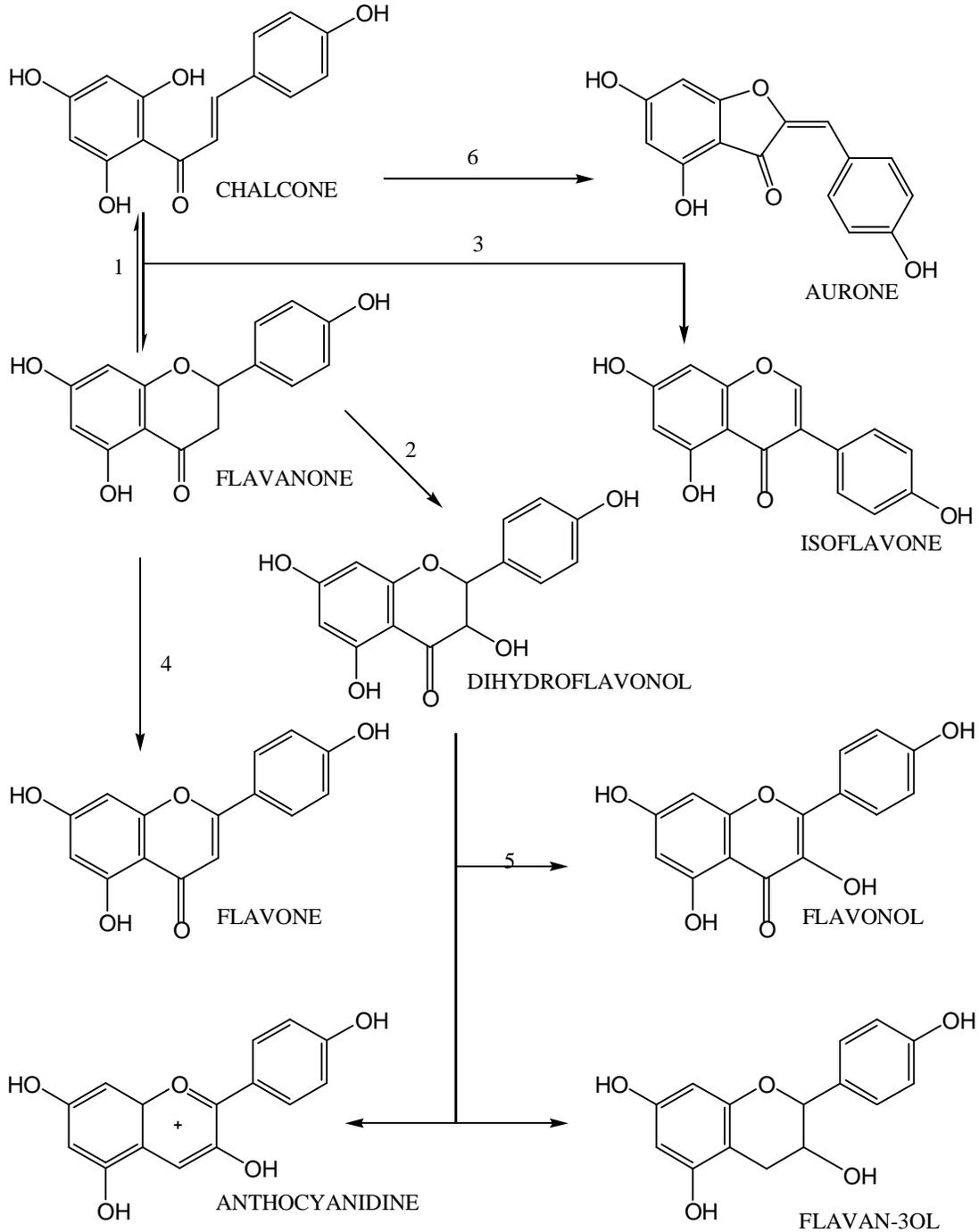
الشكل رقم 5: طريق الشيكيميك



الشكل رقم 6: طريق الخلات.

3.2.I. الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونويدية بدءاً من الشالكون:

بالوصول إلى مرحلة الشالكون تبدأ مرحلة تصنيع مختلف الهياكل اعتماداً على عدة إنزيمات.



1-chalcone isomérase. . 2-flavanone -3hydroxylase. 3-isoflavone synthase
4-flavone synthase. 5-flavonol syntase 6- sans cataliseur.

الشكل رقم 7: الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونويدية انطلاقاً من الشالكون.

4.2.I. تثبيت المجموعات:

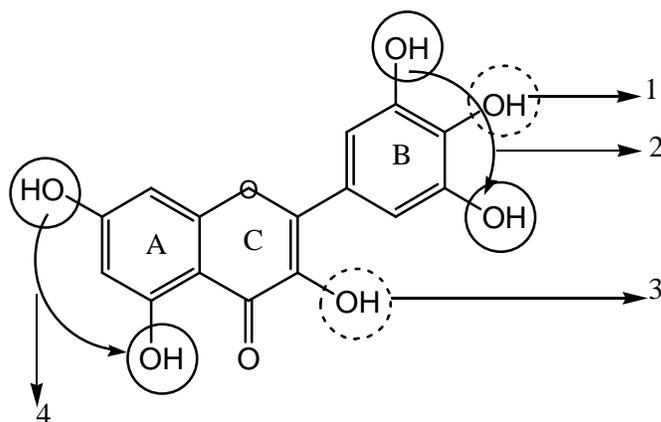
1.4.2.I. تثبيت مجموعات الهيدروكسيل:

يعتبر هيدروكسيلي الموقع 5 و الموقع 7 من المجموعات الأصلية في الحلقة A. [31]

بالنسبة للحلقة B فان هيدروكسيل الموقع 4 يظهر قبل تكوين نواة الشالكون، [31] بينما هيدروكسيلي

الموقع 3 و الموقع 5 فبعد غلق الحلقة C. [44،43]

وبالإمكان الإشارة أيضا إلى أن هيدروكسيل الموقع 3 يتم تثبيته في مرحلة تشكيل الشالكون.



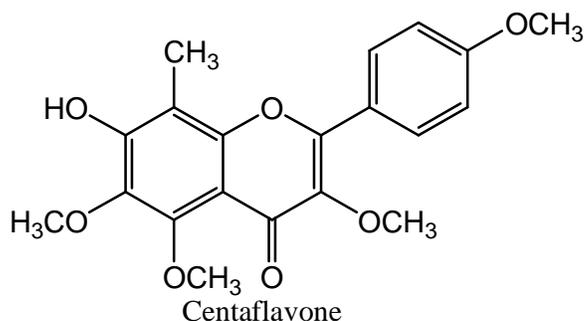
- 1-قبل تشكيل نواة الشالكون.
2-بعد غلق الحلقة C.
3-في مرحلة تشكيل الشالكون.
4-قبل تشكيل النواة A.

الشكل رقم 8 : تثبيت مجموعات الهيدروكسيل.

2.4.2.I. تثبيت مجموعات الميثيل:

- الحالة الأولى: تثبيت مجموعة الميثيل على الأجليكون حيث الرابطة بين كربون الميثيل و كربون الحلقتين A و B

- الحالة الثانية: هي مثيلة مجموعات الهيدروكسيل بوجود الإنزيم O-methyl-transférase، و يمكن تثبيت مجموعة الميثيل سواء قبل أو بعد تشكيل نواة الشالكون. [47,46]
كما يمكن ظهور مجموعات ميثوكسي عن طريق المثيلة المباشرة على الحلقة البنزينية. [32]



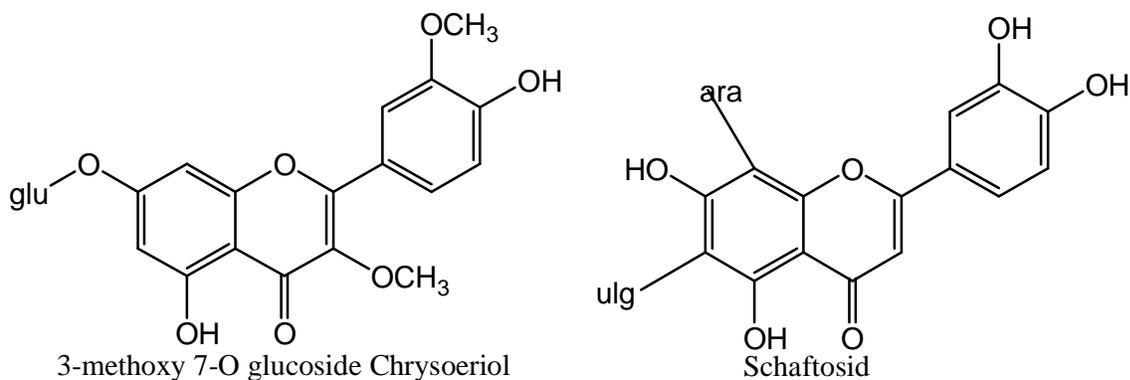
الشكل رقم 9 : تثبيت مجموعات الميثيل

3.4.2.I. تثبيت جزيئات السكر:

- الحالة الأولى:
تثبيت جزيئة السكر على الأجليكون حيث الرابطة بين كربون السكر و كربون الحلقتين A و B [40,36] (C-glucoside)، وهي مقاومة للأحماض و الإرتباط عادة بالموقعين 6 و 8.

- الحالة الثانية:

الرابطة من النوع O-glucoside و هذا بوجود الإنزيم O-glucoside-transférase [40].

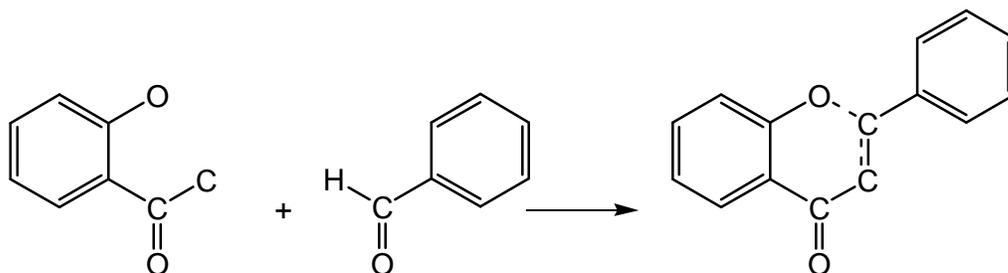


الشكل رقم 10 : تثبيت جزيئات السكر

3.I. الإصطناع المخبري: [35]

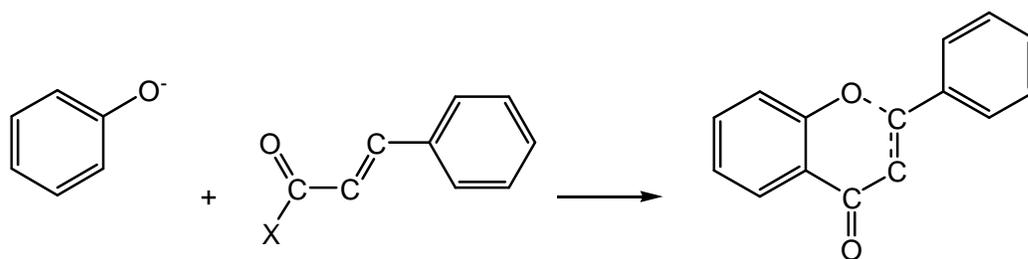
نظريا توجد طريقتان أساسيتان لتصنيع الفلافونويدات مخبريا بشكل عام و هما :

-التكاثف الألدولي:



الشكل رقم 11

-أسألة الفينولات:



الشكل رقم 12

1.3.I. الشالكون:

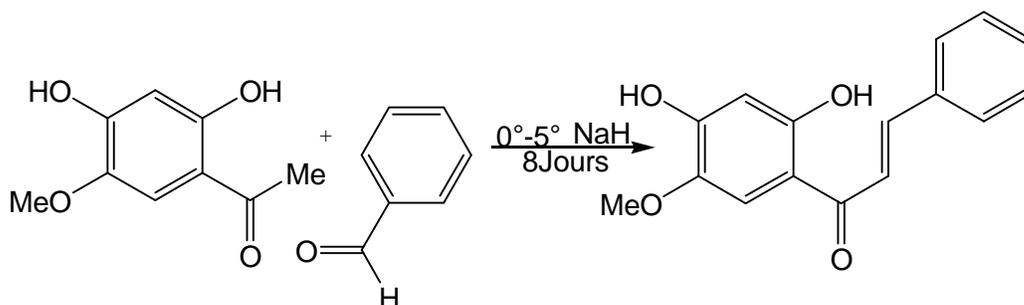
يمكن الحصول على الشالكونات بالتكاثف الألدولي لـ 2-hydroxyacetophenone مع المشتقات البنزينية الألديهيدية (benzaldehydes) في الوسط الحمضي أو القاعدي.

في الوسط الحمضي تحدث عملية تحلق للشالكون تؤدي إلى ظهور الفلافانون وفق تفاعل متوازن (شالكون -فلافانون)، إلا أن هذا التوازن ينزاح بشكل شبه كلي إلى جهة الشالكون و هذا في حالة وجود هيدروكسيل حر في الوضع 4 بالنسبة للشالكون .

في الوسط القاعدي يجري التفاعل تحت الشروط التالية:

0°م - 20°م ، 50%-60% KOH ، 15 - 48 ساعة.

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

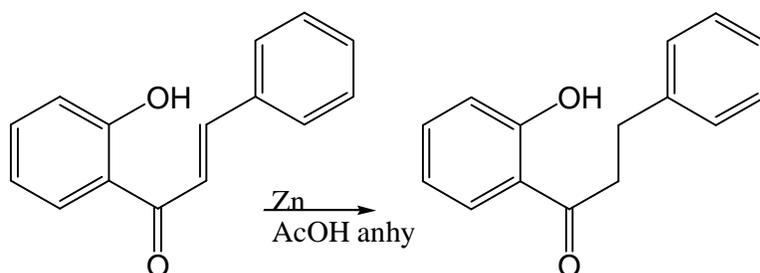


الشكل رقم 13

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

2.3.I. ثنائي هيدروشالكون:

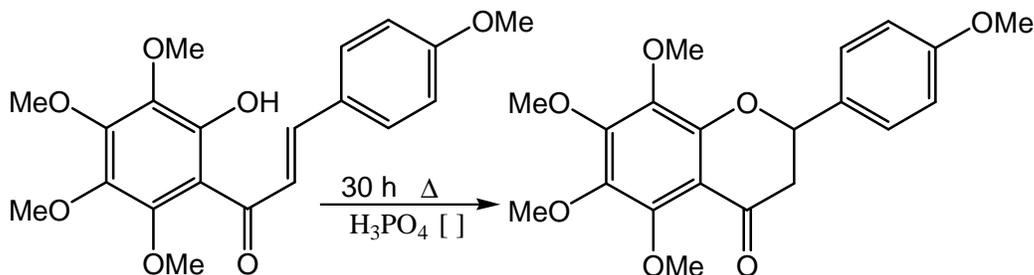
نتحصل على ثنائي هيدروشالكون من تكاثف الفينولات مع مشتقات حمض ثنائي هيدرو سيناميك (acide dihydrocinnamique) أو بهدرجة الشالكون أو الفلافانون.



الشكل رقم 14

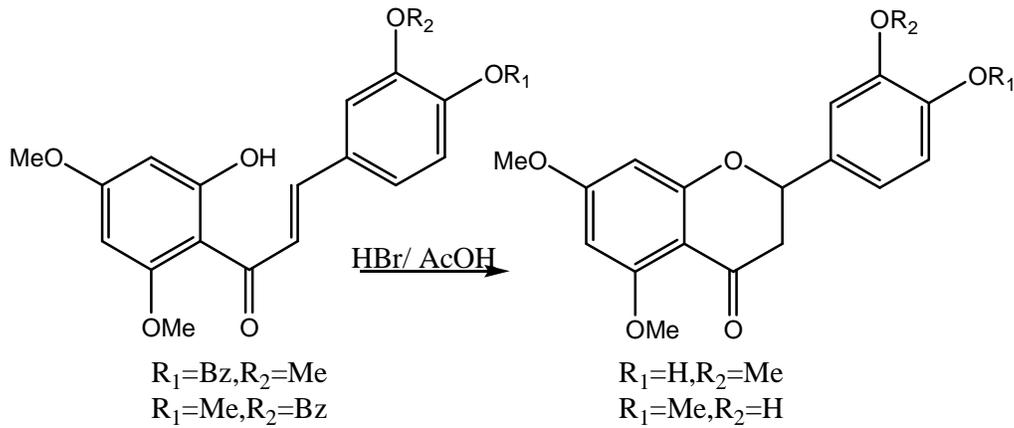
3.3.I. الفلافانون:

يتم الحصول على الفلافانون انطلاقاً من الشالكون و هذا بغلق الحلقة و قد لوحظ أن وجود هيدروكسيل حر في الوضع 6 بالنسبة للشالكون يؤدي إلى مردود جيد و يمكن أن نذكر أيضاً أن الفلافانون المستبدل في الوضع 8 لا يمكن الحصول عليه إلا تحت شروط قاسية.



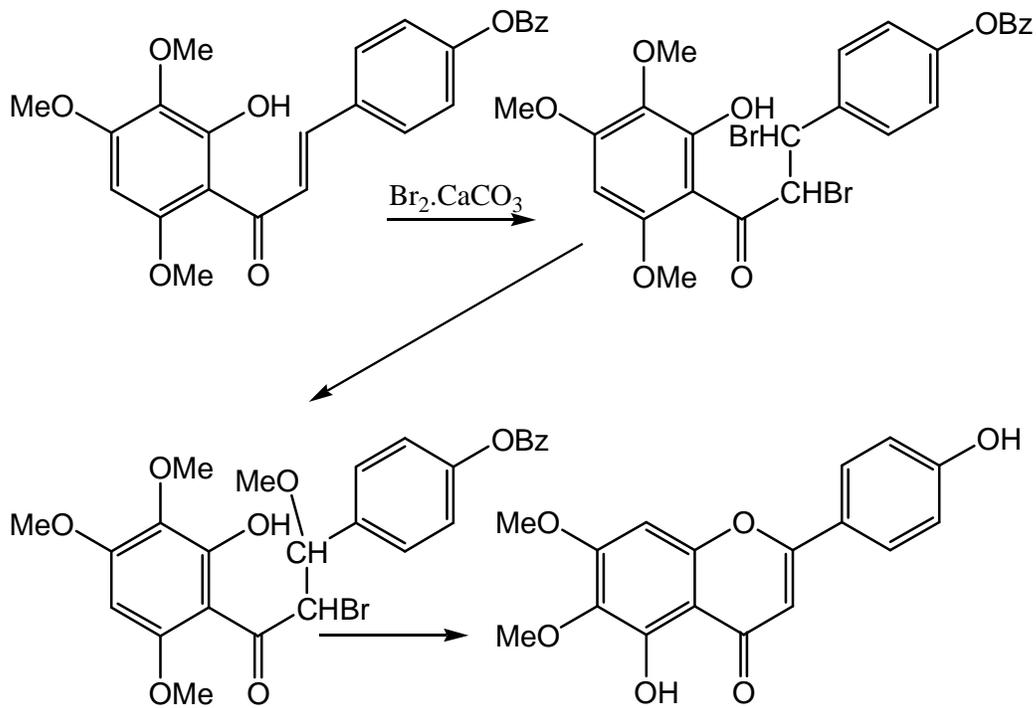
الشكل رقم 15

و فيما يلي بعض التفاعلات الخاصة التي يمكن الحصول بها على فلافونون خاص:

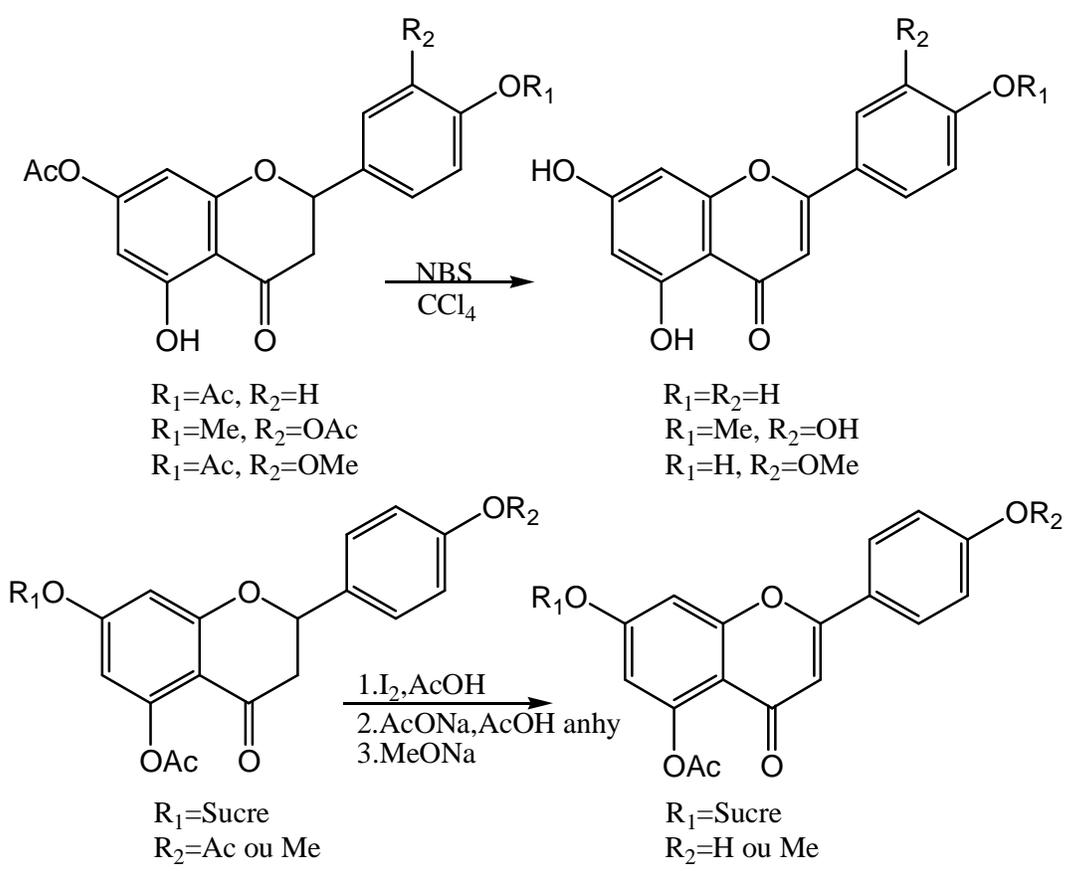


الشكل رقم 16

4.3.I الفلافونون:

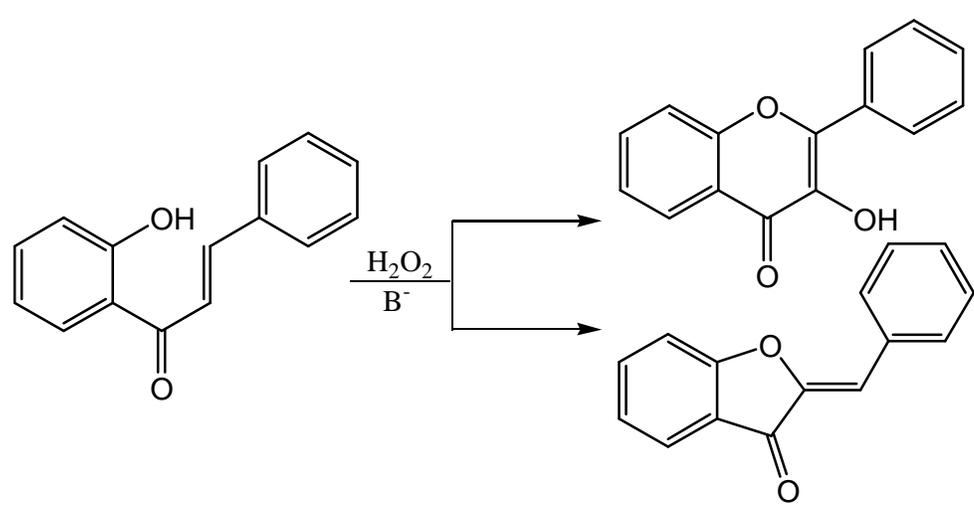


الشكل رقم 17



الشكل رقم 18

5.3.I الفلافونول:

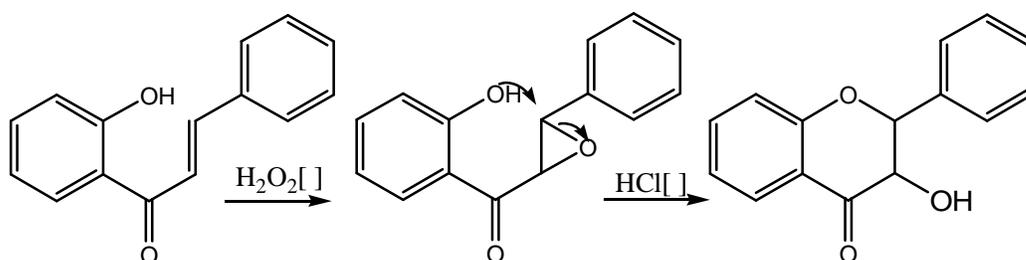


الشكل رقم 19

و قد لوحظ أن شروط التفاعل ووجود المستبدلات لها تأثير كبير على المردودية، بالنسبة للمستبدلات فوجود هيدروكسيل في الوضع 2 و الوضع 4 ومجموعة ميثوكسيل في الوضع 6 يرفع من مردود التفاعل باتجاه الحصول على الفلافونول المطلوب.

أما الشروط المثالية فهي: $5\% - 30\% \text{H}_2\text{O}_2$ ، $20\% \text{NaOH}$ و يمنع تشكل الأورون في مثل هذه التفاعلات وجود مجموعة ميثوكسيل في الوضع α بالنسبة لوظيفة السيتون وتحت حرارة منخفضة و لمدة تتراوح بين 12-48 ساعة.

I.6.3. ثنائي هيدروالفلافونول:

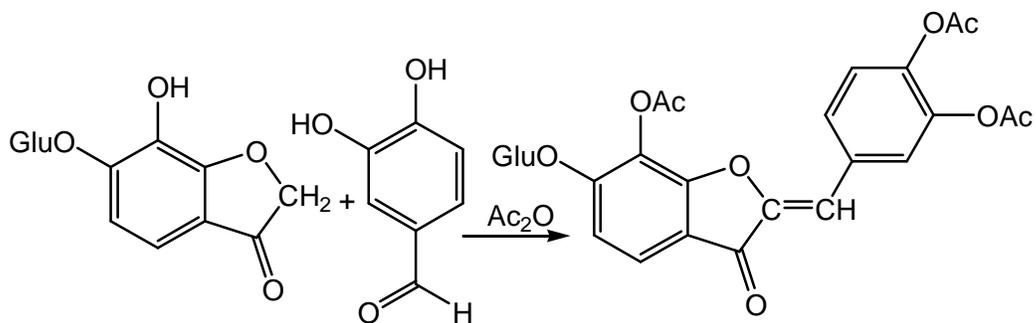


الشكل رقم 20

ويمكن إجراء الخطوة الثانية من هذا التفاعل في وجود حمض HCl المركز أو باستعمال HCl النقي و حمض الخل البلوري و هذا بوجود BF_3 و الإثر كمذيب .

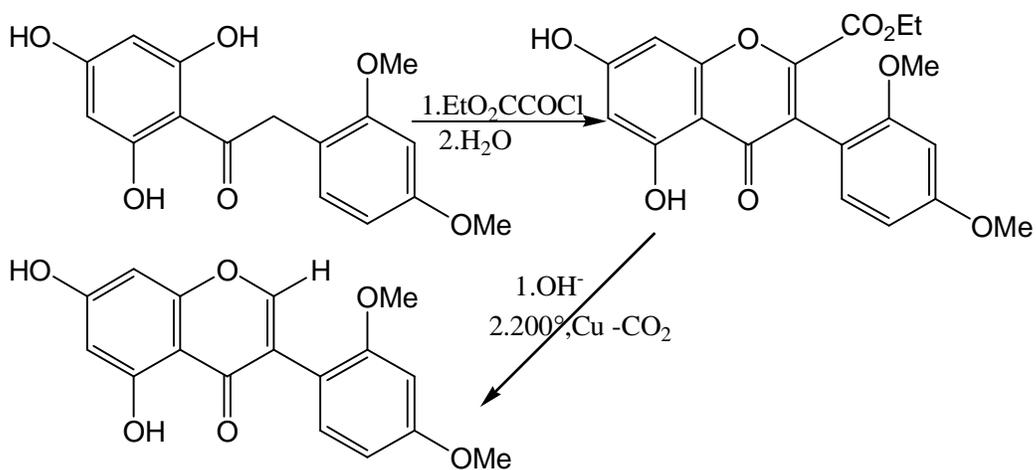
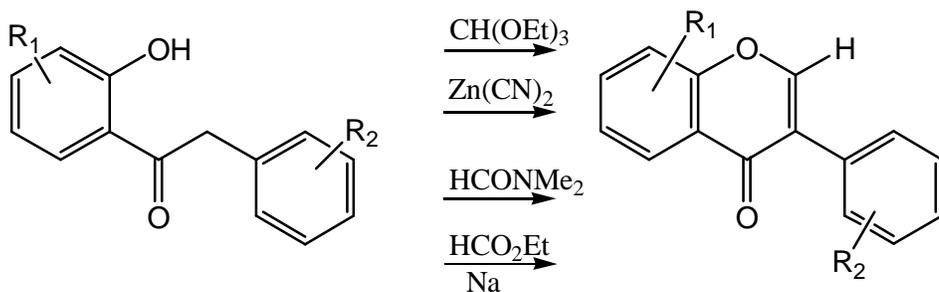
I.7.3. الأورون:

تقريبا كل الطرق العملية المستعملة تعتمد أساسا على تكاثف الكومارين مع الألديهيدات العطرية في وسط حمضي إلا أنه في حالة وجود سكريات كمستبدلات لا يمكن استعمال هذه الطريقة التي تتطلب وجود حمض HCl لذا نعتد على تفاعلات أخرى:

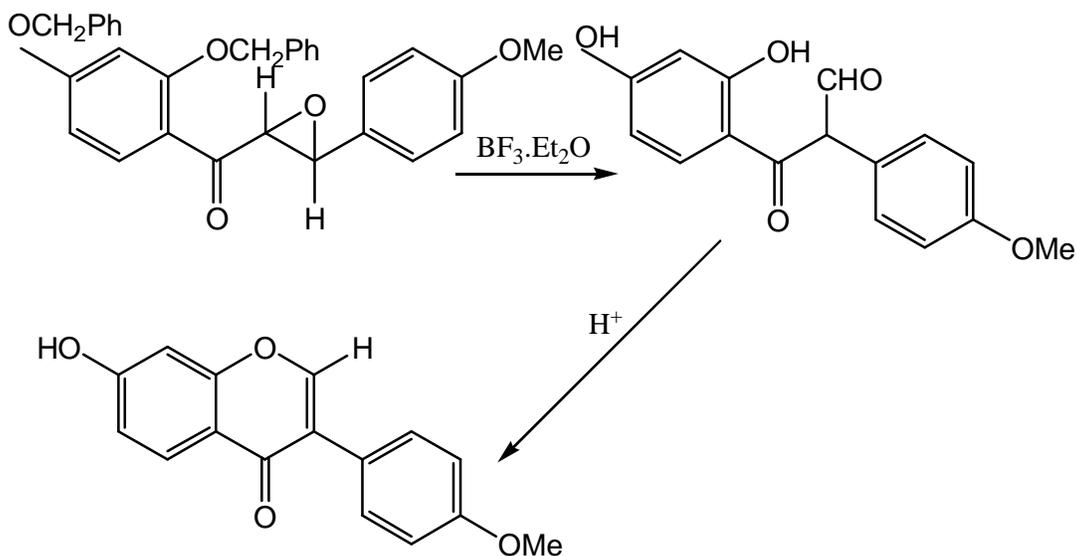


الشكل رقم 21

8.3.I. ايزوفلافون:



الشكل رقم 22



الشكل رقم 23

4.I. أهمية الفلافونويدات:

بينت الكثير من الدراسات و الأبحاث أن للفلافونويدات دورا مهما لعلاج الكثير من الأمراض [50،49،48] وقد لوحظ وجود ارتباط بين التركيبية الكيميائية للفلافونويد و خصائصه العلاجية، فوجود زيادة في مجاميع الهيدروكسيل ينتج عنه زيادة في النشاط المضاد للأورام [53،52،51]، و الزيادة في عدد مجاميع الميتوكسيل ينتج عنه الزيادة في النشاط المضاد للسرطان [56،55،54]. كما أن لبعض الفلافونويدات تأثيرات مضادة للالتهاب [58،57]، للحساسية [60،59]، للميكروبات [62،61] و للفيروسات [64،63].

طرق الفصل والتنقية

5.I. الفصل والتنقية:

1.5.I. الفصل:

تستخدم الكروماتوغرافيا على نطاق واسع لفصل المركبات الفلافونويدية إذ تعتبر من أهم الطرق التحليلية و التحضيرية وهذا وفقا لمناهج هي:

1.1.5.I. كروماتوغرافيا العمود CC:

ويتم إجرائها كما يلي:

إختيار العمود ذي الأبعاد المناسبة وهذا حسب كمية المستخلص المستعمل ويثبت بواسطة حامل.

يعبأ العمود بالطور الثابت المشبع بالمذيب الأقل قطبية ويستخدم كطور ثابت عادة:

السيلاكجال: لفصل الفلافونيدات الأجليكونية: 32 غ لكل 1 غ من المستخلص على الأقل

متعدد الأמיד: لفصل الفلافونيدات الغليكوزيدية: 10 غ لكل 1 غ من المستخلص على الأقل

بعد توضع الطور الثابت بشكل جيد داخل العمود يحضر المستخلص وفق الطريقة المناسبة

(صلب أو سائل) ثم يوضع على سطح الطور الثابت.

يضاف المملص الذي يكون في البداية غير قطبي ثم ترفع قطبيته تدريجيا إلى غاية الوصول إلى قطبية

عالية، وتتم مراقبة الحزم بالاعتماد على الأشعة فوق البنفسجية (UV) حيث تستقبل أسفل العمود وهذا

في حالة استخدام متعدد الأמיד كطور ثابت، أما في حالة استخدام السيلكاجال فيتم فحص وجمع الكسور

بعد استقبالها أسفل العمود باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية.

2.1.5.I. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM:

تحضر طبقة رقيقة من دعامة صلبة على شريحة من الزجاج (20 سم × 20 سم) ثم يوضع

الخليط عرضيا على بعد 1.5 سم من خط الانطلاق ثم توضع الشريحة في حوض به المذيب

المناسب، وأثناء هجرته يجر معه مختلف المركبات على شكل حزم ويتم تحديدها بعد ملاحظتها

بالأشعة فوق البنفسجية (UV).

تكشط الحزم كلا على حدى وتوضع في قمع زجاجي وتغسل مرتين، الأولى بالمذيب المستعمل والثانية بالميثانول ، يركز الراشح وتفحص مدى نقاوة الحزم بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحليلية، والأنظمة المستعملة كمذيبات عادة هي: [65]

بالنسبة لمتعدد الأמיד:

الفلافونويدات الغليكوزيدية:

أستيل أسيتون:ميثيل إيثيل سيتون:الميثانول:الماء المقطر .

13 3 3 1

الفلافونويدات الأجليكونية قليلة الهيدروكسيل:

الميثانول: ميثيل إيثيل سيتون:الهكسان:الطولوين . الميثانول: ميثيل إيثيل سيتون:الطولوين .

4 3 3 30 90 2 1.5

60 30 10 5

الميثانول: ميثيل إيثيل سيتون:الإثر:الطولوين .

60 2 10 10

الفلافونويدات الأجليكونية متعددة الهيدروكسيل:

الماء المقطر:حمض الخل: الميثانول. حمض الخل:البيتانول العادي:الإيثانول: الماء المقطر .

50 25 20 2 18 1 1

بالنسبة للسيلكاجال:

الفلافونويدات الغليكوزيدية:

الميثانول: الماء المقطر:البيريدين:خلات الإيثيل .

80 20 10 5

الفلافونويدات الأجليكونية قليلة الهيدروكسيل:

الميثانول:الكلوروفورم .

15 1

3 1

الفلافونويدات الأجليكونية متعددة الهيدروكسيل:

الطولوين: أسيتون: الكلوروفورم. الماء المقطر: الميثانول: خلات الإيثيل .

63 12 9 7 5 8

3.1.5.I. كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية CP :

يؤتى بورق من نوع **whatman** رقم I أو III ويوضع الخليط على كامل عرض الورقة على مسافة 2 سم من الحافة العلوية للورقة، وبعد أن تجفف تغمس في حوض به المذيب المناسب للفصل حيث تبدأ الحزم في الهبوط حتى وصول المذيب إلى مسافة قصيرة من الحافة السفلية للورقة. تسحب الورقة من المذيب وتترك لتجف.

تحدد الحزم باستعمال الأشعة فوق البنفسجية (UV) وتقطع وتغمس في الميثانول، فنرشح ليجفف الراشح، ثم تجرى له عملية فحص متعددة بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للتأكد من نقاوة المركب، والأنظمة المستعملة في هذه التقنية عادة هي: [66]

الماء المقطر: حمض الخل: البيتانول العادي.

4 1 5

الماء المقطر: حمض الخل: البيتانول الثالثي.

1 3 1

حمض كلور الماء: الماء المقطر: حمض الخل.

3 10 30

حمض الخل: حمض الخل.

تراكيز مختلفة. 10 25

75 90

ويمكن استعمال كروماتوغرافيا الورقة التحضيرية ذات البعدين إذا كان البعد الواحد غير كاف لفصل الخليط فصلا كاملا على أن يكون البعدان عموديين، إذ بعد إجراء البعد الأول تسحب الورقة وتترك لتجف ثم تدار بزاوية 90⁰ وتغمس في مذيب آخر وعادة يكون الأول عضويا والثاني مائيا.

4.1.5.I. كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC :

وتحتاج هذه التقنية لاستخدام ضغط عال لدفع المملص خلال عمود رفيع، وأفضل ما في هذه

التقنية أن الفصل يتم بشكل جيد، وفي وقت قصير، والأنظمة المستعملة كمملصات عادة هي: [67]

حمض الخل: أستونتريل: الماء المقطر.

4 10 90

4 80 20

6.I. التنقية:

وتتم على:

عمود صغير من متعدد الأמיד SC_6 باستعمال Toluène كمذيب وقليلًا من الميثانول.

عمود صغير من Sephadex LH20 باستعمال الميثانول كمذيب .

كما يمكن الإعتماد على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية، و كذا على البلورة و إعادة البلورة.

الفصل II

الدراسة البنيوية للفلافونويدات

تتركز على التقنيات التالية:

1. الخصائص الكروماتوغرافية:

– اللون الإستشعاعي

– ثابت الإحتباس

2. السبل الطيفية:

– مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).

– مطيافية الرنين النووي المغناطيسي

– مطيافية الكتلة

3. الإمهاء الحمضية

II.1. الخصائص الكروماتوغرافية:

II.1.1. اللون الإستشعاعي:

إن أول ما يمكن إعتماده لمعرفة أو تحديد الصيغة البنيوية للفلافونويدات ولو بشكل عام هو لون

المركب، تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV). الجدول رقم 2

لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV)	الصيغ المختلفة
بنفسجي-أسود	فلافون 5، 6، 7، ثلاثي هيدروكسيل فلافون 5، 7، 8، ثلاثي هيدروكسيل فلافون فلافونول مستبدل في الموضع 3 بعض الشالكونات
بنفسجي-نيلي	فلافون بدون هيدروكسيل في الموضع 5 فلافانول بدون هيدروكسيل في الموضع 5 فلافونول مستبدل في الموضع 3 أو بدون هيدروكسيل في الموضع 5
أصفر أو أصفر باهت	فلافونول مع هيدروكسيل حر في الموضع 3 ومع، أو بدون هيدروكسيل في الموضع 5
أزرق مخضر	فلافانول بدون هيدروكسيل في الموضع 5
برتقالي لامع	إيزوفلافون
أصفر مخضر أخضر	أورون بعض الشالكونات

الجدول رقم 2: لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV)

وعلاقته بالبنية الفلافونويدية. [66، 67، 68]

II. 2.1. 2. ثابت الإحتباس:

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

ونلجأ لثابت الإحتباس R_f لتحديد البنية المحتملة وهو قيمة مميزة لكل مركب في شروط كروماتوغرافية معينة من حرارة، رطوبة، تركيز للعينة، وللمذيب. ويمكن بهذا الثابت معرفة ما إذا

كان المركب جليكوزيدا أو أجليكونا، ومعرفة ما إذا كان المركب أحادي السكر أو ثنائي السكر أو ثلاثي السكر. [44،61]

مجموعات الهيدروكسيل الحرة قليلة R_f تزداد في النظام العضوي.
 R_f تنقص في النظام المائي.

إستبدال الهيدروكسيل بمجموعة ميثيل R_f تزداد في النظام العضوي.

المركب مستبدل بسكر أو أكثر R_f تزداد في النظام المائي. [70،69،68،67]
 R_f تنقص في النظام العضوي.

ولقياس ثابت الإحتباس R_f للمركبات النقية نستعمل عدة أنظمة ومنها:

الميثانول: ميثيل إيثيل سيتون: الطولين.

3 3 4

أستيل أسيتون: ميثيل إيثيل سيتون: الميثانول: الماء المقطر.

1 3 3 13

II.2. السبل الطيفية:

II.2.1. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV):

تعتبر هذه التقنية من أهم التقنيات لتحديد بنية الفلافونيدات وهذا لسهولة تحقيقها (لا تتطلب كمية كبيرة من المركب)، وأساس هذه التقنية هو أن لكل مركب طيف امتصاص مميز في الوسط الكحولي (الميثانول) ويتغير هذا الطيف بإزاحات معينة بعد إضافة الكواشف التالية:

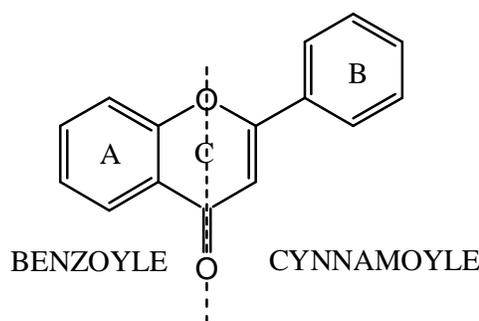
MeONa ou NaOH; AlCl₃, (AlCl₃+HCl); NaOAc,(NaOAc+H₃BO₃).

II.1.1.2. طيف الإمتصاص في الوسط الميثانولي:

يتميز طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) في الوسط الميثانولي بوجود عصابتين:

العصابة I : في حدود (400, 300 nm) ناتجة عن إمتصاص الشكل الرنيني Cinamoyle وهذا لوجود ترافق مجموعة الكربونيل C_4 مع الرابطة الثنائية $C_2=C_3$ والحلقة العطرية B ويمكن من خلال هذه العصابة التمييز بين الفلافونول والفلافون .

العصابة II : في حدود (240-280 nm) ناتجة عن إمتصاص الشكل الرنيني Benzoyle (لوجود ترافق مجموعة الكربونيل C_4 مع الحلقة العطرية A). [71]



الشكل رقم 24

ومن خلال المقارنات التي أجريت بين أطياف مختلف الفلافونيدات أمكن الوصول إلى عدة استنتاجات أهمها:

الزيادة في عدد مجموعات الهيدروكسيل الحرة يؤدي عادة إلى انزياح في اتجاه طول موجات أكبر (إنزياح باتروكومي) [72،73]

إستبدال مجموعة هيدروكسيل بمجموعة ميثيل أو سكر في المواقع 3، 5، 7، 4 يؤدي إلى انزياح في اتجاه طول موجات أقل (إنزياح هيبسوكرومي). [73]

نوع الفلافونيد	العصابة I nm	العصابة II nm
فلافون	350-310	280-250
فلافونول	360-330	280-250
هيدروكسيل الموضع 3 مستبدل		
فلافونول	385-350	280-250
هيدروكسيل الموضع 3 حر		
فلافونون وثنائي هيدرو فلافونول	330-300	295-275
إيزوفلافون	330-310	275-245
شالكون	390-340	270-230
		شدة منخفضة
أورون	430-380	270-230
أنتوسيانيدين وأنتوسيانين	560-465	280-270

الجدول رقم 3: أهم الإنزيمات الملاحظة في الوسط الميثانولي.

II.2.1.2. طيف الإمتصاص في وجود NaOH أو NaOMe:

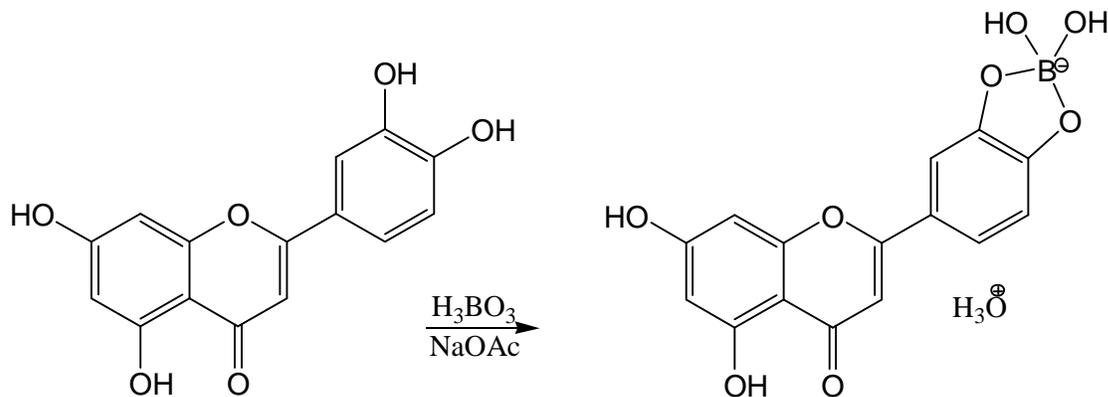
هيدروكسيل الصوديوم قاعدة قوية تؤين جميع مجموعات الهيدروكسيل للمركب الفلافونيدي (إنزيم باتوكرومي لكامل الطيف)، ويكون تأثيرها على العصابة I أشد منه على العصابة II. [67]

II.3.1.2. طيف الإمتصاص في وجود NaOAc:

خلات الصوديوم قاعدة ضعيفة لذا فهي تؤين مجموعات الهيدروكسيل الأكثر حامضية فقط C_3, C_4, C_7 وتعتبر كاشفا نوعيا لهيدروكسيل الموقع 7، ويظهر ذلك جليا على العصابة II للطيف المسجل. [45]

II. 4.1.2. طيف الامتصاص في وجود $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$:

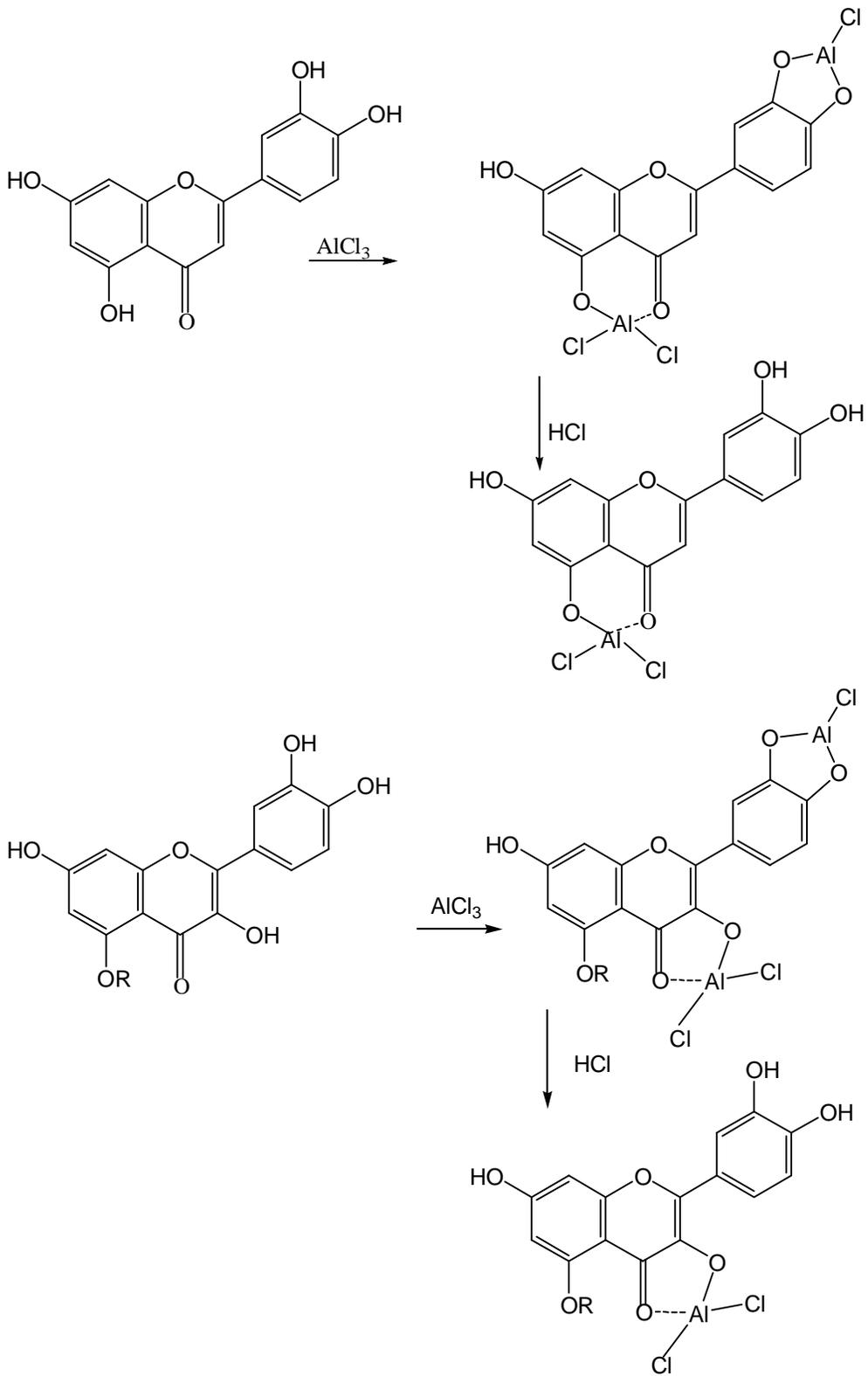
يستخدم هذا المحلول للكشف عن أورثو ثنائي الهيدروكسيل، إذ يشكل حمض البوريك معقدات معها في وجود الخلات ويؤدي إلى انزياح باتوكرومي. [74]



الشكل رقم 25

II. 5.1.2. طيف الامتصاص في وجود AlCl_3 و $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$:

يشكل AlCl_3 مع الكربونيل C_4 وهيدروكسيل الموقع C_3 أو الموقع C_5 معقدات وكذلك مع أورثو ثنائي الهيدروكسيل، إلا أن الأول معقد ثابت والثاني غير مستقر في الوسط الحمضي. التحليل يبدأ أولاً بمقارنة الطيف المسجل في الميثانول مع الطيف المسجل في $(\text{AlCl}_3 + \text{HCl})$ وفي حالة وجود انزياح باتوكرومي للعصابة I يدل على وجود هيدروكسيل في الموقع 5 أو 3. في المرحلة الثانية تتم مقارنة الطيف المسجل في وجود $(\text{AlCl}_3 + \text{HCl})$ مع الطيف المسجل في وجود AlCl_3 ففي حالة وجود انزياح هيبسوكرومي للعصابة I بعد إضافة HCl إلى طيف AlCl_3 دل على وجود أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A أو B. [70] الشكل رقم 26



الشكل رقم 26

التعليق	الإزاحة nm		المفاعل
	العصابة II	العصابة I	
فلافون فلافونول (3-OR) فلافونول (3-OH) فلافونون	280-250 280-250 280-250 295-275	350-310 360-330 375-350 330-300	MeOH
4'-OH 3-OH,4'-OR 4'-OH,3-OH أو أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A أو الحلقة B 7-OH		45+ إلى 65+ مع استقرار الشدة الضوئية 45+ إلى 65+ مع نقصان في الشدة الضوئية 45+ إلى 65+ طيف يتحلل مع الوقت عصابة جديدة بين 330nm - 320	NaOMe
7-OH 7-OH مع مستبدل في 6 أو 8 5، 6، 7-5، 7، 8-3، 3، '4، '3 ثلاثي هيدروكسيل	5+ إلى 20+ عدم وجود انزياح أو انزياح ضعيف طيف يتحلل مع الوقت		NaOAc
أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A		12+ إلى 36+ إزاحة باتوكرومية ضعيفة	H ₃ BO ₃ + NaOAc

الجدول رقم 4 : التأثيرات المختلفة للكواشف على طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) .

أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A و الحلقة B كذلك		30+ إلى 36+ مقارنة بطيف $AlCl_3/HCl$ 20+ إلى 40+ مقارنة بطيف $AlCl_3/HCl$	$AlCl_3$
5-OH مع مجموعة أوكسجينية في الموقع 6 5-OH 3-OH أو 3-OH و 5-OH		17 إلى 55+ 35+ إلى 55+ 50+ إلى 60+	$AlCl_3 + HCl$

الجدول رقم 4 : التأثيرات المختلفة للكواشف على طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) (تابع).

II.2.2. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي RMN :

يعتبر طيف الرنين النووي المغناطيسي RMN من أهم الطرق المتاحة للحصول على التركيبية الكيميائية للمركبات وتوجد عدة تقنيات هي:

§ طيف RMN للبروتون 1H

§ طيف RMN للكربون ^{13}C

كما ظهرت للوجود تقنيات جديدة أمكن بها الجمع بين أطيف البروتون 1H والكربون ^{13}C للحصول على طيف ثنائي البعد، ويمكن بهذه التقنيات معرفة:

§ درجة تأكسد الحلقات A, B, C

§ عدد مجموعات الميتوكسيل

§ عدد السكريات ونوع الرابطة α أو β .

وفيما يلي جداول تبين بعض الإنزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقات A, B, C . [75,72]

(H-8)		(H-6)		(H-5)		الفلافونيد
δ , ppm	J, Hz	δ , ppm	J, Hz	δ , ppm	J, Hz	
6.3-6.5 (d)	2.5	6.0-6.2 (d)	2.5	—	—	5,7-OH
6.5-6.9 (d)	2.5	6.2-6.4 (d)	2.5	—	—	5-OH, 7-O sucre
6.7-7.0 (d)	9.0-2.5	6.7-7.1 (dd)	9.0-2.5	8.0 (d)	—	7-OR (H, sucre)
6.3 (s)	—	—	—	9.0	—	5,6,7-OR(H,sucre)
—	—	6.3 (s)	—	—	—	5, 7, 8-OR

الجدول رقم 5 : الإنزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة A [72]

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

الجدول رقم 5 : الإنزياحات الكيميائية لبروتونات الحلقة B

بالنسبة لبروتون الحلقة C في الفلافون ذو إشارة أحادية في المجال (6.2-6.4 ppm).

بروتونات الميتوكسيل تتموضع في المجال (3.5-4.1 ppm). [76]

بروتونات السكر تتميز بالبروتون الأنوميري، إذ يختلف انزياح هذا البروتون حسب طبيعة الفلافونيد وكذا موقع ونوع الرابطة بين السكر والأجليكون وتتواجد إشارته عموماً في مجالات أدنى من مجال إشارات بقية بروتونات الاجليكون. [70] الجدول رقم 7

H-1"(δ , ppm)	طبيعة السكر
5.25-5.56	3-O- β -D-Glucoside
5.6	3-O- β -D-Galactoside
4.64-4.88	8-C- β -D-Glucoside
4.85-5.26	6-C- β -D-Rhamnoside

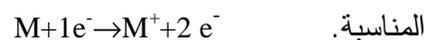
الجدول رقم 7: قيم الإنزياح للبروتون الأنوميري لبعض الجليكوزيدات في DMSO-d6

II.3.2. مطيافية الكتلة:

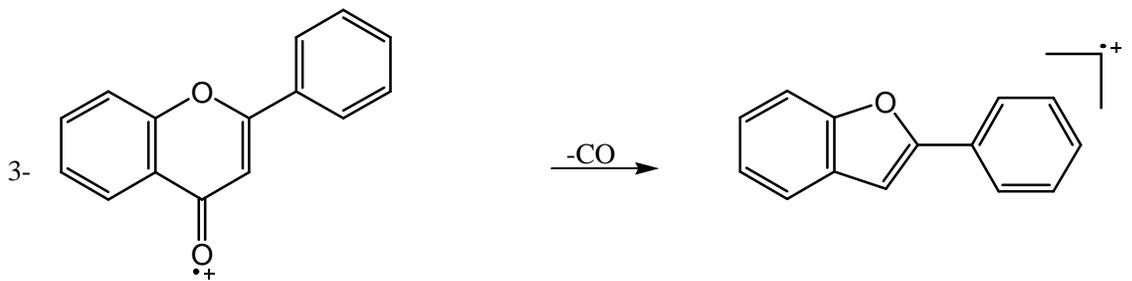
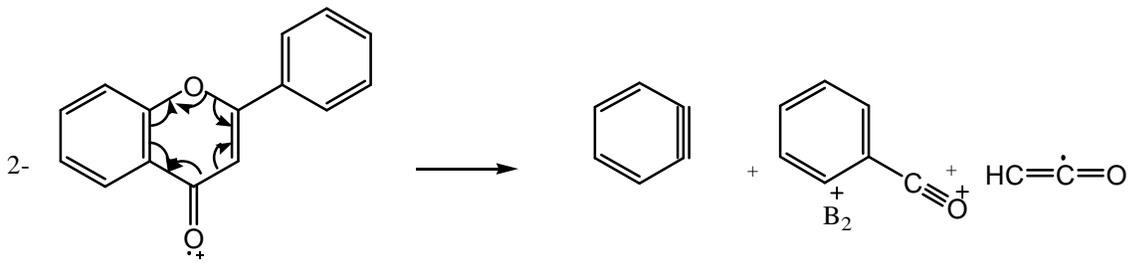
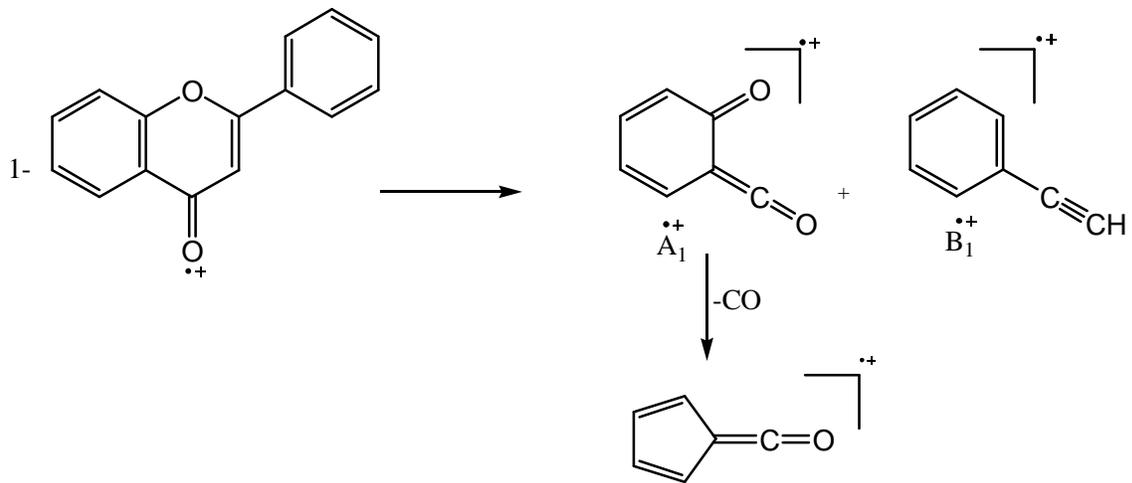
وتستعمل هذه التقنية للتعرف على البنية الكيميائية للمركب بمعرفة الوزن الجزيئي، وبدراسة مختلف الشظايا الناتجة عن انقسامه. ومن التقنيات المستعملة:

II.1.3.2. تقنية القذف الإلكتروني EI:

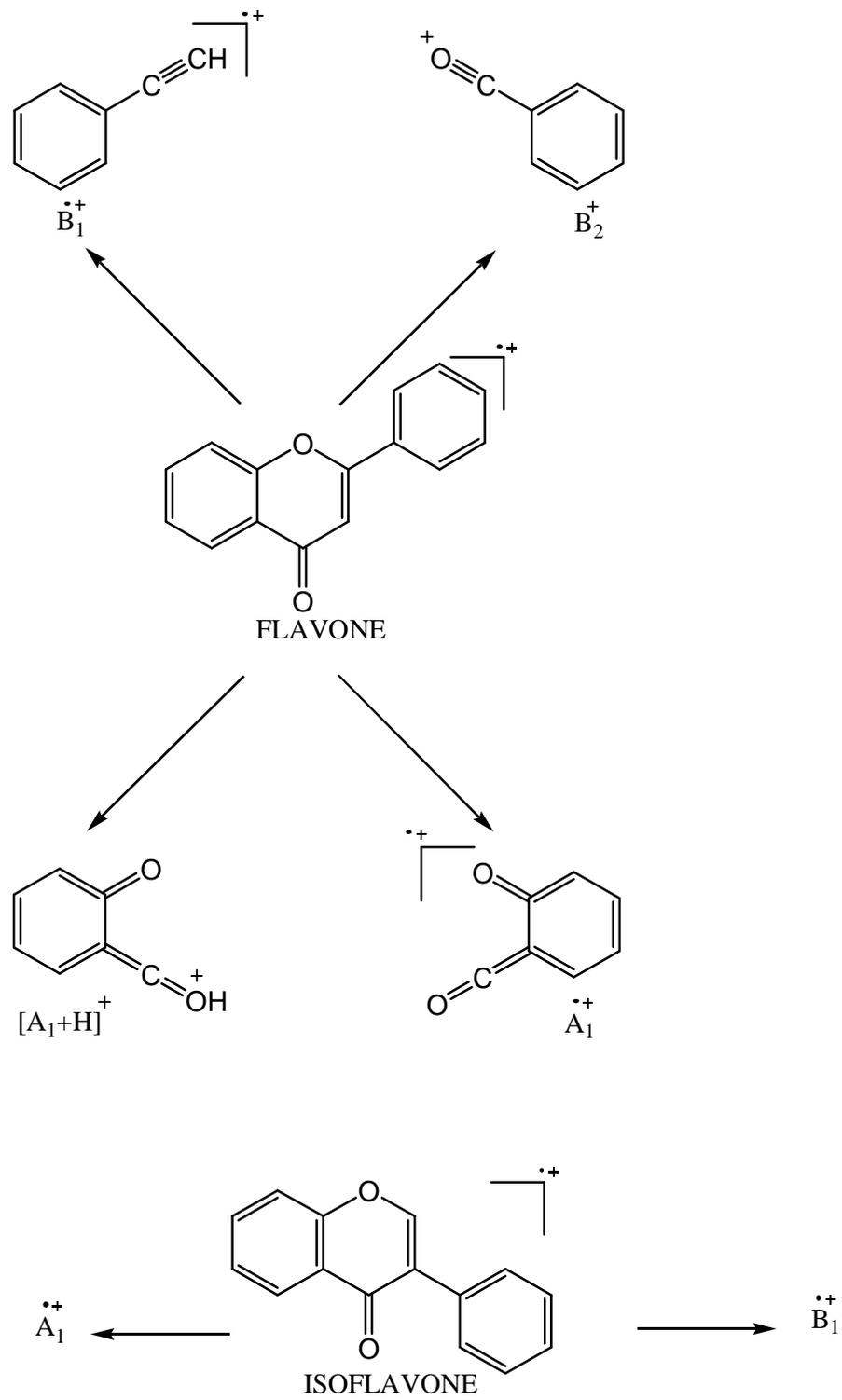
وتتم هذه التقنية بقذف المركب بسيل من الإلكترونات داخل غرفة التأين عند درجة الحرارة



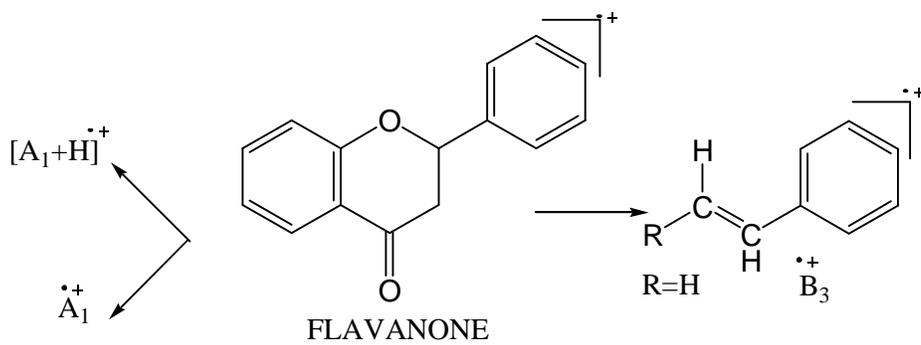
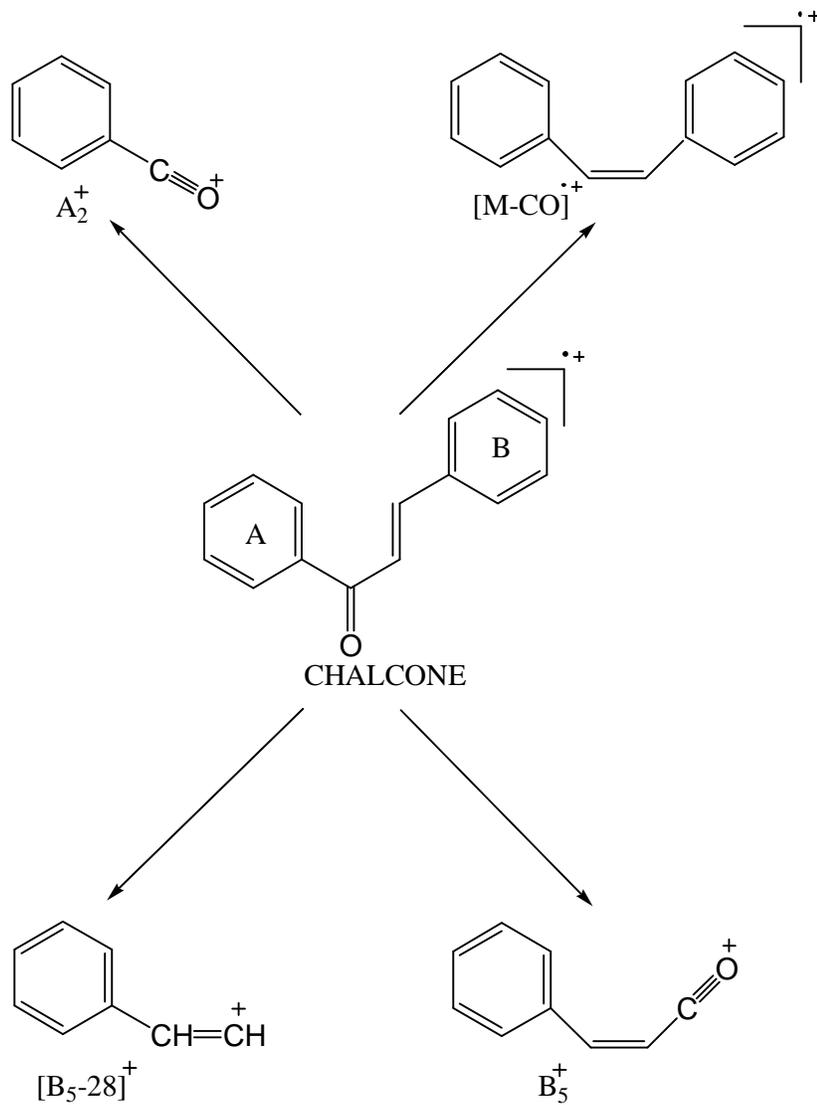
إلا أن هذه التقنية غير صالحة مع الجليكوزيدات لاحتوائها على المستبدلات السكرية وفيما يلي شرح لأهم الشظايا على بعض الأقسام الفلافونويدية بشكل عام:



الشكل رقم 27: آليات الإنشطار لبعض الفلافونويدات.



الشكل رقم 27: آليات الإنتشار لبعض الفلافونويدات. (تابع)



الشكل رقم 27: آليات الإنشطار لبعض الفلافونويدات. (تابع)

II.3.2.2. تقنية القذف السريع بالذرات F.A.B : [77]

تستعمل هذه التقنية مع المركبات الجليكوزيدية، حيث تأين المركبات دون تسخين ومن مميزات هذه التقنية:

§ تكوين أيونات موجبة وسالبة.

§ مدة حياة طويلة للعينة.

§ تكوين أيونات شبه جزيئية. Quasi moléculaires.

II.3.3.2. تقنية الإلكتروسبراي:

تسمح بدراسة الجزيئات ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة كالبروتينات وتستعمل أيضا مع الجليكوزيدات (O-glycosides)

II.3. الإماهة الحمضية:

ويتم الاعتماد على هذه العملية لمعرفة عدد ونوع السكريات وشكل الارتباط مع الجليكوزيدات. عمليا يتم أخذ كمية من الجليكوزيد المذاب في أقل كمية من الميثانول، يضاف له 2 مل من محلول (4N,HCl)، ويسخن الخليط في حمام مائي تحت 100°م من 15 إلى 120 دقيقة. بعد هذا تضاف 2 مل من الإثير الإيثيلي EtOEt و يرج جيدا ثم تفصل الطبقة العضوية، وتكرر العملية مع خلاص الإيثيل AcOEt ، وأخيرا مع البيوتانول العادي n-Butanol. تركز كل الطبقات العضوية والمائية وبهذا نحصل على الأجليكون في إحدى الطبقات العضوية والجزء السكري في الطبقة المائية. وأخيرا يتم التعرف على الأجليكون المنفصل بتسجيل طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV) أما الجزء السكري فيتم في البداية تحضير شرائح كروماتوغرافية ترش بمحلول (0.2 M NaH₂ PO₄) ثم تترك لتجف لتوضع بعدها بقع من الطبقة المائية وبعض الشواهد السكرية المعروفة وتغمس الشريحة في المذيب أسيتون/ماء (1/9)

بعد انقضاء الوقت المناسب وسحب الشريحة وجفافها، ترش بمحلول مالونات الأنيلين (1 غ حمض المالونيك - 1 سم³ أنيلين - 3 سم³ حمض الفوسفوريك - الإيثانول 80 % - 100 سم³) ثم تسخن تحت 100°م لمدة 5 دقائق لتظهر بقع السكر على الشريحة وبهذا يتم معرفة نوع السكر.

السكر	R _f
α(L)rhamnose	0.88
D(+)-xylose	0.79
β(+)-glucose	0.53

الجدول رقم 8: قيم ثابت الإحتباس R_f لبعض السكريات المعروفة

الفصل III

طريقة الفصل

III. النتائج الكيميائية :

III.1. الدراسة النباتية لـ *C. sphaerocephala* L. :

III.1.1 وضع النبتة ضمن التصنيف النظامي للنباتات:

Embranchement	Angiospermes	الفرع
Classe	Dictotyledones	الصف
Ordre	Asterales	الرتبة
Famille	Composées	العائلة
Sous-Famille	Tubiflores	تحت العائلة
Tribu	Cynarées	القبيلة (الفصيلة)
Genre	Centaurea	الجنس
Espece	<i>sphaerocephala</i>	النوع

III.2.1. وصف النوع *sphaerocephala* :

كما هو الحال لمعظم النباتات الزهرية فإن نبات *C. sphaerocephala* L. هو نبات معمر، ذو سيقان متفرعة، غير قائمة في الغالب (أرضية) طولها من 10 إلى 70 سم أوراقها الفتية لزجة و مديبة . في نهاية الساق زهرة وحيدة بنفسجية مغلقة بحراشف مجتمعة على شكل كرة، طول كل حرشفة من 10 إلى 30 مم، و لكل حرشفة من 5 إلى 13 شوكة غير متداخلة و منظمة تتجه من قلب الزهرة إلى خارجها.

2.III. المادة النباتية :

تم جمع هذه النبتة في شهر جوان من سنة 2003 من منطقة القالة ولاية الطارف بالشرق الجزائري. حيث تم قطفها ثم تقسيمها إلى أعضائها المختلفة (الأوراق والأزهار). أجريت عملية التجفيف لهذه الأعضاء بوضعها في أماكن خاصة تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة، حيث تم الإستخلاص كل على حدى ثم الجمع بين مستخلصيهما لاحتوائهما على نفس المركبات وكانت كتلة المادة المستعملة هي 2.170 كغ من الأوراق والأزهار

3.III. التحليل الكيميائي :

1.3.III. الإستخلاص :

تمت عملية الاستخلاص كما يلي:

بعد تجفيف الأوراق والأزهار و تنقيتها و تقطيعها نقعت في خليط من الميثانول و الماء(2:8) وتركت لمدة 24 ساعة، رشح و ركز المحلول تحت ضغط منخفض و35 درجة مئوية. أعيدت هذه العملية ثلاث مرات.

يخفف المحلول الناتج بالماء المقطر ثم يضاف رباعي خلات الرصاص للتخلص من الكلوروفيل، يرشح الخليط و يستقبل الراشح في دورق لتبدأ عملية الإستخلاص من النوع سائل-سائل كما يلي:

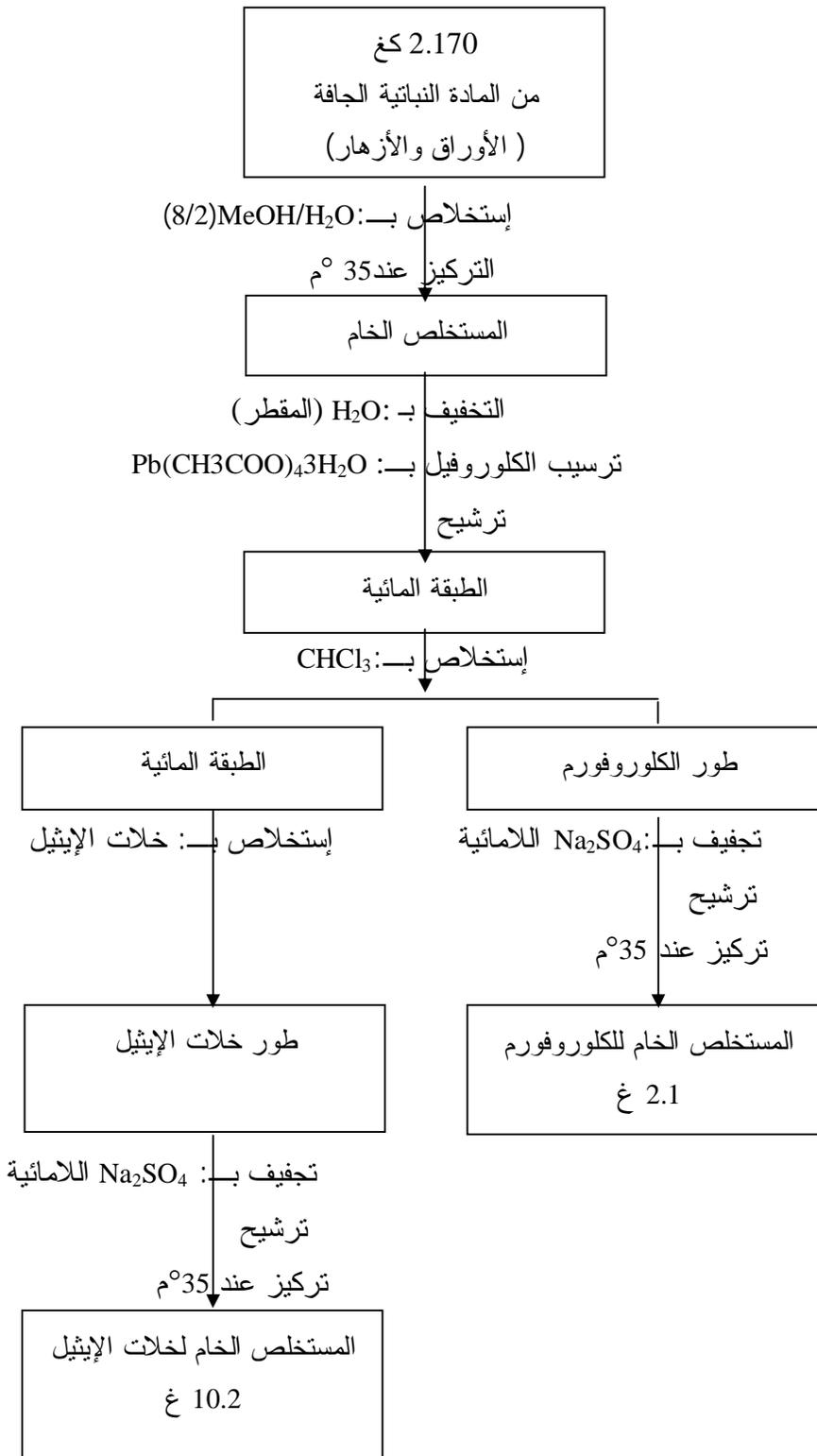
(1) يضاف الكلوروفورم للراشح، على أن يكون الحجم المستعمل مساويا لثلث حجم الراشح تفصل الطبقة العضوية وتركز. تعاد العملية ثلاث مرات، يجفف المحلول الكلوروفورمي بكبريتات

الصوديوم اللامائية Na_2SO_4 ، يرشح المحلول و يركز الراشح. (تحصلنا على 2.1غ)

(2) الطبقة المائية أعيد استخلاصها مرة أخرى بخلات الإيثيل بنفس طريقة الكلوروفورم

(تحصلنا على 10.2غ)

ويمكن تلخيص هذه العملية في الشكل التالي:



الشكل رقم 28: عملية استخلاص *C. sphaerocephala* L.

III.2.3. الفصل بواسطة كروماتوغرافيا العمود :

أخذنا مستخلص خلات الإيثيل (9,5 g) وأجرينا عليه عدة اختبارات لأجل اختيار المملص والدعامة بعد ذلك عالجنه بواسطة كروماتوغرافيا العمود حيث كانت الدعامة هي :

4 سم طول الدعامة 60 سم والمملص المستعمل هو الكلوروفورم ثم زيادة الأسيتون تدريجيا والكسور المحصل عليها جمعت تبعا لكروماتوغرافيتها على الطبقة الرقيقة التحليلية بعد معالجة هذه الأخيرة بواسطة الكاشف (Révélateur) الذي هو عبارة عن خليط مكون من CH_3COOH (80 ml) H_2O (16ml) H_2SO_4 (4 ml) ، وتسخينها داخل فرن درجة حرارته 100 م° لمدة ثلاثة دقائق بعد فحصها تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) 254 و 366 نانومتر .

الكسور	المملص	الوزن (مع)	ملاحظات
300مل (F ₁)	CHCl ₃ 100 %	30	شحوم
800مل (F ₂)	CHCl ₃ -Acetone 19-1	290	شحوم زائد كلوروفيل
1 - 8 (F ₃)	CHCl ₃ -Acetone 15-1	82	خليط معقد
9 - 16 (F ₄)	CHCl ₃ -Acetone 12-1	73	خليط معقد
17 - 26 (F ₅)	CHCl ₃ -Acetone 9-1	31	خليط
27 - 96 (F ₆)	CHCl ₃ -Acetone 9 -1	756	بقعتان
97 - 116 (F ₇)	CHCl ₃ -Acetone 7 -1	86	خليط
117 - 148 (F ₈)	CHCl ₃ -Acetone 5 -1	490	خليط
149 - 188 (F ₉)	CHCl ₃ -Acetone 3 -1	165	خليط
189 - 208 (F ₁₀)	CHCl ₃ -Acetone 1 -1	362	خليط قابل للفصل
209 - 240 (F ₁₁)	CHCl ₃ -Acetone 1 -1	268	خليط
241 - 279 (F ₁₂)	CHCl ₃ -Acetone 1 - 2	1402	خليط قابل للفصل

جدول رقم 9: كروماتوغرافيا العمود لمستخلص خلات الإيثيل *C. sphaerocephala* L.

خليط قابل للفصل	1120	CHCl ₃ -Acetone 1 – 3	(F ₁₃)	280-299
خليط قابل للفصل	392	CHCl ₃ -Acetone 1 – 3	(F ₁₄)	300 -307
خليط قابل للفصل	890	CHCl ₃ -Acetone 1 – 5	(F ₁₅)	308 -340
خليط معقد	1306	Acetone 100 %	(F ₁₆)	1000مل
خليط معقد	1410	MeOH 100 %	(F ₁₇)	1000مل

جدول رقم 9: كروماتوغرافيا العمود لمستخلص خلات الإيثيل *C. sphaerocephala* L. (تابع)

III.3.3. الفصل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة:

III.3.3.1. معالجة الكسر F₆(762مغ):

بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية المكررة مرتين باستعمال شرائح من السيليكالجال تم فصل مركبين هما: CSF₆₂(6مغ)، CSF₆₁(5مغ) حيث كان المذيب هو CHCl₃:CH₃OH 15:1 باستعمال الأشعة فوق البنفسجية (UV) 366،254 نانومتر تمت تنقية المركب CSF₆₁ باستعمال شرائح من السيليكالجال حيث كان المذيب هو:



III.3.3.2. معالجة الكسر F₁₀(362مغ):

بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية المكررة مرتين باستعمال شرائح من متعدد الاميد تم فصل مركبين هما: CSF₁₀₂(16مغ)، CSF₁₀₁(10مغ) حيث كان المذيب هو:



باستعمال الأشعة فوق البنفسجية (UV) 366،254 نانومتر

تمت تنقية المركبين CSF₁₀₂، CSF₁₀₁ باستعمال شرائح من السيليكالجال حيث كان المذيب هو:



الفصل IV

تشخيص المركبات المفصولة

IV. تشخيص المركبات المفصولة:

النظام I: الميثانول: ميثيل إيثيل سيتون: الطولين.

4 3 3

النظام II: أستيل أسيتون: ميثيل إيثيل سيتون: الميثانول: الماء المقطر .

13 3 3 1

2.IV. تشخيص المركب CSF₆₁ :

خواصه الكروماتوغرافية:

جدول رقم 9: الخواص الكروماتوغرافية للمركب CSF₆₁

النظام	I	II
ثابت الإحتباس	0.74	0.01
اللون الإستشعاعي	بنفسجي	

جدول رقم 10: نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV)

للمركب CSF₆₁ (الطيف رقم 1: طول الموجة بالنانومتر)

المفاعلات	الحزمة II	الحزمة I
MeOH	272	340
NaOH	348-272	404
NaOAc	276	348
H ₃ BO ₃ + NaOAc	276	340
AlCl ₃	276	364
AlCl ₃ +HCl	276	364

التحليل:

اللون البنفسجي تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) و الحزمة I في حدود 340 نم بالنسبة للطيف المسجل في MeOH دلالة على أن المركب فلافون أو فلافونول مستبدل في الوضع 3

قيم ثابت الاحتباس (R_f) تدل على أن المركب هو اجليكون .

بمقارنة الطيف المسجل في NaOH بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثوكرمومية للحزمة I (+64 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 4، كما نلاحظ ظهور حزمة جديدة في حدود 348 نم دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7.

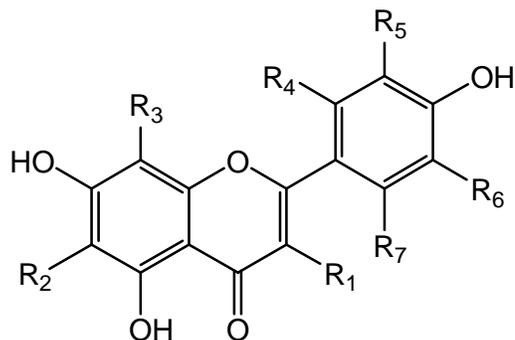
بمقارنة الطيف المسجل في $AlCl_3$ بالطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ لا نجد أي إزاحة دلالة على عدم وجود أي أورثو ثنائي هيدروكسيل .

بمقارنة الطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثوكرمومية للحزمة I (+24 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 5.

الطيف المسجل في NaOAc يؤكد وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7 و هذا اعتمادا على الإزاحة الباثوكرمومية للحزمة II (+4 نم) و التي تشير أيضا إلى عدم وجود مستبدل في الوضع 6 و الوضع 8 و بما أن الطيف لا يتحلل مع الوقت فإنه لا وجود لثلاثي هيدروكسيل و لا وجود لأورثو ثنائي الهيدروكسيل أيضا على الحلقة A .

الطيف المسجل في $(H_3BO_3 + NaOAc)$ يشير إلى عدم وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A والحلقة B وهي نفس الملاحظات المأخوذة من الطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$

مجموعة هذه المعلومات تقود إلى الصيغة التالية:



جدول رقم 11 : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون $^1\text{H-NMR}$

(الطيف رقم 3) للمركب CSF_{61} ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 250MHz)

التعيينات الكيميائية	ثابت الإقتران $J(\text{Hz})$	التكامل	التعددية	الإزاحة $d(\text{ppm})$
H_6	2.29	1H	d	6.20
H_8	2.29	1H	d	6.29
H_3	—	1H	s	6.55
$\text{H}_{5'}$	8.43	1H	d	6.80
H_2, H_6'	—	2H	m	7.40
$-\text{OCH}_3$	—	3H	s	3.85

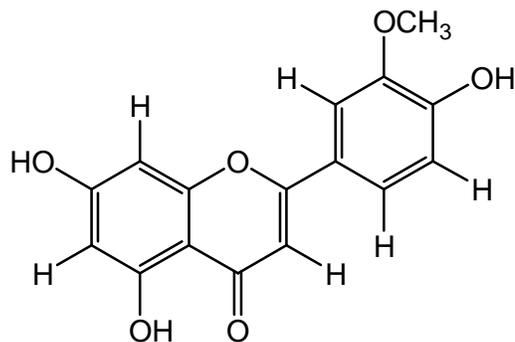
يبين طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون $^1\text{H-NMR}$ (الطيف رقم 3) الذي دونت نتائجه في الجدول رقم 11 وجود إشارتين ثنائيتين ($J=2.29$) بتكامل 1H لكل منهما عند $\delta=6.20$ و $\delta=6.29$ وهي إزاحات خاصة ببروتونات الحلقة A لذا يمكن نسبتها إلى كل من H_8 و H_6 على الترتيب وذلك تأكيدا لما ورد في نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).

كما يبين نفس الطيف وجود إشارة أحادية بتكامل 1H عند $\delta=6.55$ يمكن نسبتها إلى البروتون H_3 وهذا تأكيدا لما ذكر من خواصه الكروماتوغرافية.

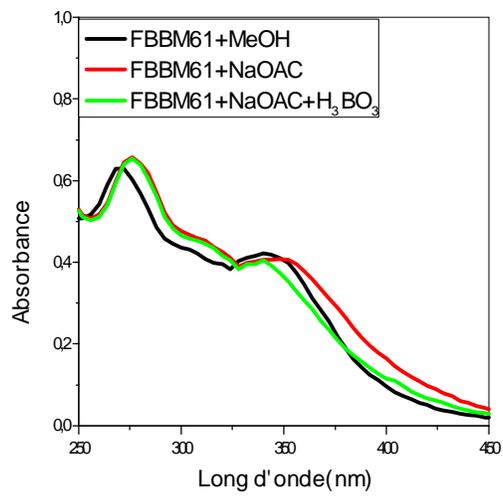
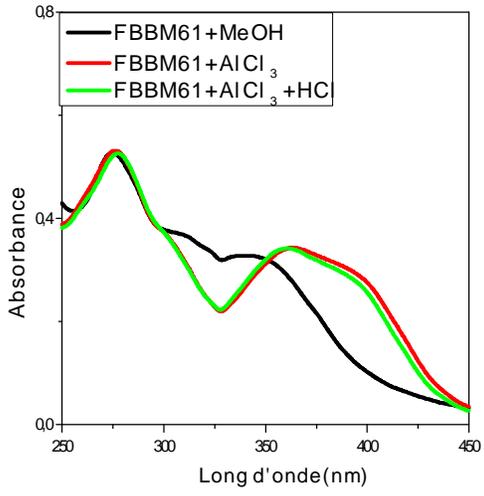
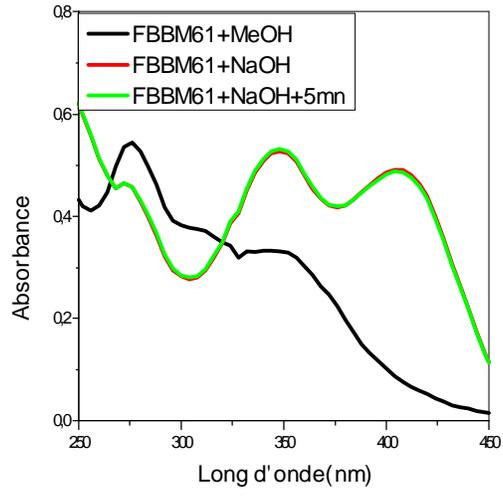
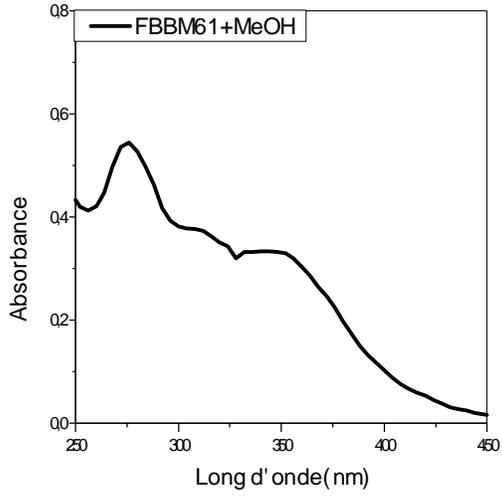
و نشير أيضا إلى وجود إشارة ثنائية ($J=8.43$) بتكامل 1H عند $\delta=6.80$ يمكن نسبتها إلى البروتون H_5 و نلاحظ وجود إشارات متعددة بتكامل 2H بجوار $\delta=7.40$ يمكن نسبتها إلى البروتونين H_2 و H_6 .

اما الإشارة الأحادية ذات التكامل 3H عند $\delta=3.85$ فهي خاصة بمجموعة ميثوكسيل في الوضع 3' وهذا إعتادا على النتائج السابقة.

مجموعة هذه المعلومات تقود إلى الصيغة التالية :



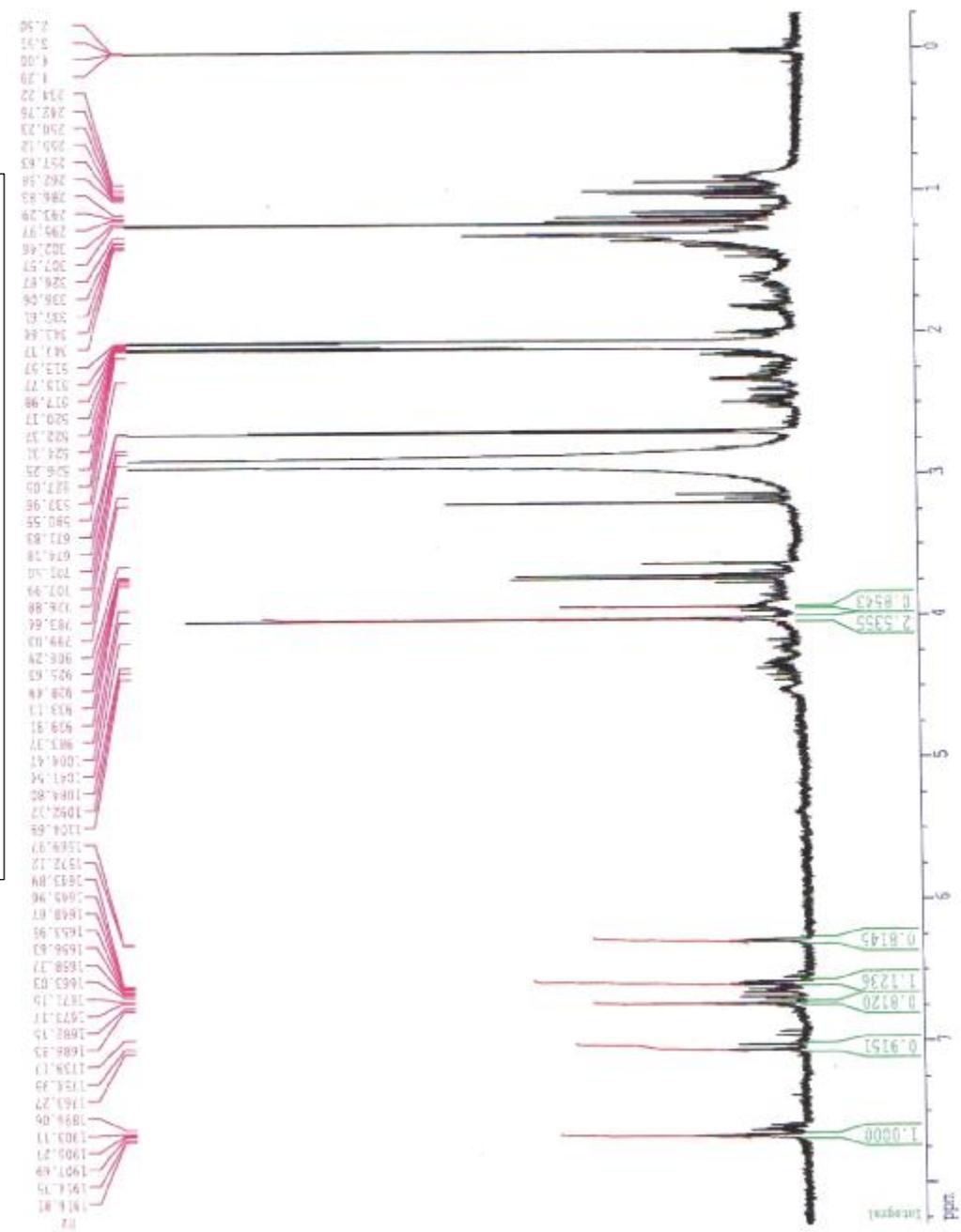
5,7,4'-trihydroxy 3'-methoxyflavone (3'-methoxy apigénine).



الطيف رقم 1: السلسلة الطيفية للأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب CSF61

SPECTRE 1D 100MHZ : E4611_1.DDDV4

الطيف رقم 2: طيف البروتون ¹H-RMN (250MHz) CD₃COCD للمركب CSF61



Current Date Parameters
NAME: E4611_1.DDDV4
EXPNO: 1
PROCNO: 1

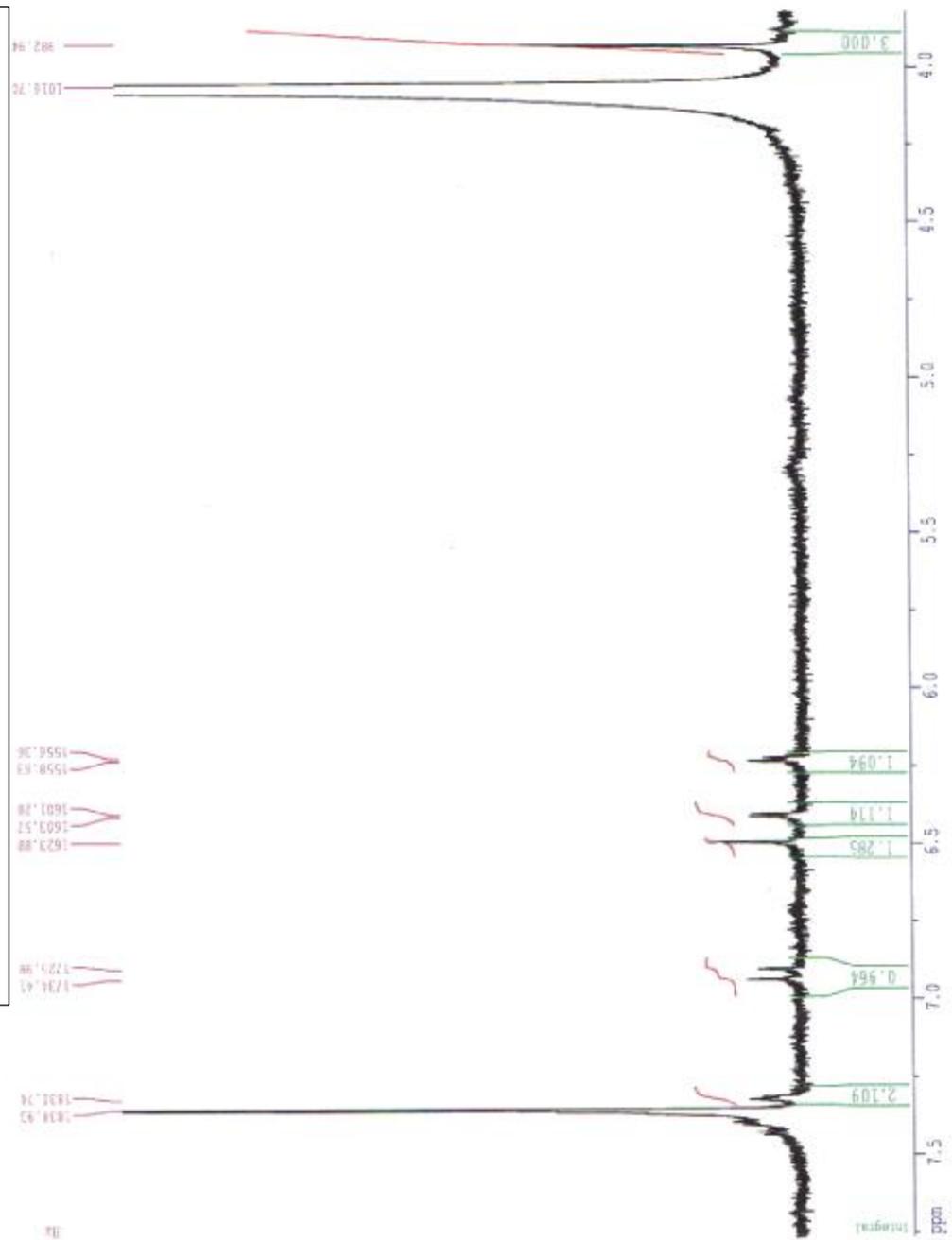
1D - Acquisition Parameters
Date_ Time: 20060601 11:00:00
Date_ Time: 20060601 11:00:00
Time: 00:00:00
INSTRUM: spect
PROBHD: 5 mm QNP 1H
PULPROG: zgpg30
TD: 65536
SOLVENT: Acetone
NS: 1
DS: 4
SWH: 6512.287 Hz
F2: 125.761 MHz
AQ: 0.184659 Sec
RG: 2.1486211 mm
AQ: 82.7
SR: 19.531 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 1.56 Hz
GB: 0
PC: 1.00000000 Sec
EC: 12.34 sec
DC: 179.14 sec
SFO: 299.1320311 MHz
SFO2: 125.761 MHz
SFO3: 125.761 MHz
SFO4: -4.00 sec
F41: -4.00 sec

1D - Processing parameters
SI: 32768
SF: 299.1320311 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 1.56 Hz
GB: 0
PC: 1.00000000 Sec
EC: 12.34 sec
DC: 179.14 sec
SFO: 299.1320311 MHz
SFO2: 125.761 MHz
SFO3: 125.761 MHz
SFO4: -4.00 sec
F41: -4.00 sec

3D NMR Parameters
SI: 32768
SF: 299.1320311 MHz
WDW: EM
SSB: 0
LB: 1.56 Hz
GB: 0
PC: 1.00000000 Sec
EC: 12.34 sec
DC: 179.14 sec
SFO: 299.1320311 MHz
SFO2: 125.761 MHz
SFO3: 125.761 MHz
SFO4: -4.00 sec
F41: -4.00 sec

Spectre proton :ECH: ID0061-2

طيف رقم 3: طيف البروتون $(CDCl_3+CD_3OD, 250MHz)$ RMN- 1H للمركب CSF61 تكبير المجال 3.75- 7.75



Current Data Parameters
 Name: ID0061-2
 Date_: 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 2010-09-20 14:39
 Time: 14:39
 Acquisition: 5.00 UHF 1H
 P1: 12.00
 P2: 12.00
 P3: 12.00
 P4: 12.00
 P5: 12.00
 P6: 12.00
 P7: 12.00
 P8: 12.00
 P9: 12.00
 P10: 12.00
 P11: 12.00
 P12: 12.00
 P13: 12.00
 P14: 12.00
 P15: 12.00
 P16: 12.00
 P17: 12.00
 P18: 12.00
 P19: 12.00
 P20: 12.00
 P21: 12.00
 P22: 12.00
 P23: 12.00
 P24: 12.00
 P25: 12.00
 P26: 12.00
 P27: 12.00
 P28: 12.00
 P29: 12.00
 P30: 12.00
 P31: 12.00
 P32: 12.00
 P33: 12.00
 P34: 12.00
 P35: 12.00
 P36: 12.00
 P37: 12.00
 P38: 12.00
 P39: 12.00
 P40: 12.00
 P41: 12.00
 P42: 12.00
 P43: 12.00
 P44: 12.00
 P45: 12.00
 P46: 12.00
 P47: 12.00
 P48: 12.00
 P49: 12.00
 P50: 12.00
 P51: 12.00
 P52: 12.00
 P53: 12.00
 P54: 12.00
 P55: 12.00
 P56: 12.00
 P57: 12.00
 P58: 12.00
 P59: 12.00
 P60: 12.00
 P61: 12.00
 P62: 12.00
 P63: 12.00
 P64: 12.00
 P65: 12.00
 P66: 12.00
 P67: 12.00
 P68: 12.00
 P69: 12.00
 P70: 12.00
 P71: 12.00
 P72: 12.00
 P73: 12.00
 P74: 12.00
 P75: 12.00
 P76: 12.00
 P77: 12.00
 P78: 12.00
 P79: 12.00
 P80: 12.00
 P81: 12.00
 P82: 12.00
 P83: 12.00
 P84: 12.00
 P85: 12.00
 P86: 12.00
 P87: 12.00
 P88: 12.00
 P89: 12.00
 P90: 12.00
 P91: 12.00
 P92: 12.00
 P93: 12.00
 P94: 12.00
 P95: 12.00
 P96: 12.00
 P97: 12.00
 P98: 12.00
 P99: 12.00
 P100: 12.00
 P101: 12.00
 P102: 12.00
 P103: 12.00
 P104: 12.00
 P105: 12.00
 P106: 12.00
 P107: 12.00
 P108: 12.00
 P109: 12.00
 P110: 12.00
 P111: 12.00
 P112: 12.00
 P113: 12.00
 P114: 12.00
 P115: 12.00
 P116: 12.00
 P117: 12.00
 P118: 12.00
 P119: 12.00
 P120: 12.00
 P121: 12.00
 P122: 12.00
 P123: 12.00
 P124: 12.00
 P125: 12.00
 P126: 12.00
 P127: 12.00
 P128: 12.00
 P129: 12.00
 P130: 12.00
 P131: 12.00
 P132: 12.00
 P133: 12.00
 P134: 12.00
 P135: 12.00
 P136: 12.00
 P137: 12.00
 P138: 12.00
 P139: 12.00
 P140: 12.00
 P141: 12.00
 P142: 12.00
 P143: 12.00
 P144: 12.00
 P145: 12.00
 P146: 12.00
 P147: 12.00
 P148: 12.00
 P149: 12.00
 P150: 12.00
 P151: 12.00
 P152: 12.00
 P153: 12.00
 P154: 12.00
 P155: 12.00
 P156: 12.00
 P157: 12.00
 P158: 12.00
 P159: 12.00
 P160: 12.00
 P161: 12.00
 P162: 12.00
 P163: 12.00
 P164: 12.00
 P165: 12.00
 P166: 12.00
 P167: 12.00
 P168: 12.00
 P169: 12.00
 P170: 12.00
 P171: 12.00
 P172: 12.00
 P173: 12.00
 P174: 12.00
 P175: 12.00
 P176: 12.00
 P177: 12.00
 P178: 12.00
 P179: 12.00
 P180: 12.00
 P181: 12.00
 P182: 12.00
 P183: 12.00
 P184: 12.00
 P185: 12.00
 P186: 12.00
 P187: 12.00
 P188: 12.00
 P189: 12.00
 P190: 12.00
 P191: 12.00
 P192: 12.00
 P193: 12.00
 P194: 12.00
 P195: 12.00
 P196: 12.00
 P197: 12.00
 P198: 12.00
 P199: 12.00
 P200: 12.00
 P201: 12.00
 P202: 12.00
 P203: 12.00
 P204: 12.00
 P205: 12.00
 P206: 12.00
 P207: 12.00
 P208: 12.00
 P209: 12.00
 P210: 12.00
 P211: 12.00
 P212: 12.00
 P213: 12.00
 P214: 12.00
 P215: 12.00
 P216: 12.00
 P217: 12.00
 P218: 12.00
 P219: 12.00
 P220: 12.00
 P221: 12.00
 P222: 12.00
 P223: 12.00
 P224: 12.00
 P225: 12.00
 P226: 12.00
 P227: 12.00
 P228: 12.00
 P229: 12.00
 P230: 12.00
 P231: 12.00
 P232: 12.00
 P233: 12.00
 P234: 12.00
 P235: 12.00
 P236: 12.00
 P237: 12.00
 P238: 12.00
 P239: 12.00
 P240: 12.00
 P241: 12.00
 P242: 12.00
 P243: 12.00
 P244: 12.00
 P245: 12.00
 P246: 12.00
 P247: 12.00
 P248: 12.00
 P249: 12.00
 P250: 12.00
 P251: 12.00
 P252: 12.00
 P253: 12.00
 P254: 12.00
 P255: 12.00
 P256: 12.00
 P257: 12.00
 P258: 12.00
 P259: 12.00
 P260: 12.00
 P261: 12.00
 P262: 12.00
 P263: 12.00
 P264: 12.00
 P265: 12.00
 P266: 12.00
 P267: 12.00
 P268: 12.00
 P269: 12.00
 P270: 12.00
 P271: 12.00
 P272: 12.00
 P273: 12.00
 P274: 12.00
 P275: 12.00
 P276: 12.00
 P277: 12.00
 P278: 12.00
 P279: 12.00
 P280: 12.00
 P281: 12.00
 P282: 12.00
 P283: 12.00
 P284: 12.00
 P285: 12.00
 P286: 12.00
 P287: 12.00
 P288: 12.00
 P289: 12.00
 P290: 12.00
 P291: 12.00
 P292: 12.00
 P293: 12.00
 P294: 12.00
 P295: 12.00
 P296: 12.00
 P297: 12.00
 P298: 12.00
 P299: 12.00
 P300: 12.00
 P301: 12.00
 P302: 12.00
 P303: 12.00
 P304: 12.00
 P305: 12.00
 P306: 12.00
 P307: 12.00
 P308: 12.00
 P309: 12.00
 P310: 12.00
 P311: 12.00
 P312: 12.00
 P313: 12.00
 P314: 12.00
 P315: 12.00
 P316: 12.00
 P317: 12.00
 P318: 12.00
 P319: 12.00
 P320: 12.00
 P321: 12.00
 P322: 12.00
 P323: 12.00
 P324: 12.00
 P325: 12.00
 P326: 12.00
 P327: 12.00
 P328: 12.00
 P329: 12.00
 P330: 12.00
 P331: 12.00
 P332: 12.00
 P333: 12.00
 P334: 12.00
 P335: 12.00
 P336: 12.00
 P337: 12.00
 P338: 12.00
 P339: 12.00
 P340: 12.00
 P341: 12.00
 P342: 12.00
 P343: 12.00
 P344: 12.00
 P345: 12.00
 P346: 12.00
 P347: 12.00
 P348: 12.00
 P349: 12.00
 P350: 12.00
 P351: 12.00
 P352: 12.00
 P353: 12.00
 P354: 12.00
 P355: 12.00
 P356: 12.00
 P357: 12.00
 P358: 12.00
 P359: 12.00
 P360: 12.00
 P361: 12.00
 P362: 12.00
 P363: 12.00
 P364: 12.00
 P365: 12.00
 P366: 12.00
 P367: 12.00
 P368: 12.00
 P369: 12.00
 P370: 12.00
 P371: 12.00
 P372: 12.00
 P373: 12.00
 P374: 12.00
 P375: 12.00
 P376: 12.00
 P377: 12.00
 P378: 12.00
 P379: 12.00
 P380: 12.00
 P381: 12.00
 P382: 12.00
 P383: 12.00
 P384: 12.00
 P385: 12.00
 P386: 12.00
 P387: 12.00
 P388: 12.00
 P389: 12.00
 P390: 12.00
 P391: 12.00
 P392: 12.00
 P393: 12.00
 P394: 12.00
 P395: 12.00
 P396: 12.00
 P397: 12.00
 P398: 12.00
 P399: 12.00
 P400: 12.00
 P401: 12.00
 P402: 12.00
 P403: 12.00
 P404: 12.00
 P405: 12.00
 P406: 12.00
 P407: 12.00
 P408: 12.00
 P409: 12.00
 P410: 12.00
 P411: 12.00
 P412: 12.00
 P413: 12.00
 P414: 12.00
 P415: 12.00
 P416: 12.00
 P417: 12.00
 P418: 12.00
 P419: 12.00
 P420: 12.00
 P421: 12.00
 P422: 12.00
 P423: 12.00
 P424: 12.00
 P425: 12.00
 P426: 12.00
 P427: 12.00
 P428: 12.00
 P429: 12.00
 P430: 12.00
 P431: 12.00
 P432: 12.00
 P433: 12.00
 P434: 12.00
 P435: 12.00
 P436: 12.00
 P437: 12.00
 P438: 12.00
 P439: 12.00
 P440: 12.00
 P441: 12.00
 P442: 12.00
 P443: 12.00
 P444: 12.00
 P445: 12.00
 P446: 12.00
 P447: 12.00
 P448: 12.00
 P449: 12.00
 P450: 12.00
 P451: 12.00
 P452: 12.00
 P453: 12.00
 P454: 12.00
 P455: 12.00
 P456: 12.00
 P457: 12.00
 P458: 12.00
 P459: 12.00
 P460: 12.00
 P461: 12.00
 P462: 12.00
 P463: 12.00
 P464: 12.00
 P465: 12.00
 P466: 12.00
 P467: 12.00
 P468: 12.00
 P469: 12.00
 P470: 12.00
 P471: 12.

2.IV. تشخيص المركب CSF₆₂ :

خواصه الكروماتوغرافية:

جدول رقم 13 : الخواص الكروماتوغرافية للمركب CSF₆₂

النظام	I	II
ثابت الإحتباس	0.73	0.02
اللون الإستشعاعي	بنفسجي	

الجدول رقم 14 : نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV)

للمركب CSF₆₂ (الطيف رقم 4: طول الموجة بالنانومتر)

المفاعلات	الحزمة II	الحزمة I
MeOH	268	332
NaOH	324-276	392
NaOAc	272	344
H ₃ BO ₃ + NaOAc	272	348
AlCl ₃	276	384-348
AlCl ₃ +HCl	276	384-348

التحليل:

اللون البنفسجي تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) و الحزمة I في حدود 332 نم بالنسبة للطيف المسجل في MeOH دلالة على أن المركب فلافون أو فلافونول مستبدل في الوضع 3

قيم ثابت الإحتباس (R_f) تدل على أن المركب هو اجليكون .

بمقارنة الطيف المسجل في NaOH بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثو كرومية للحزمة I (+60 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 4.

نلاحظ ظهور حزمة جديدة في حدود 324 نم دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7.

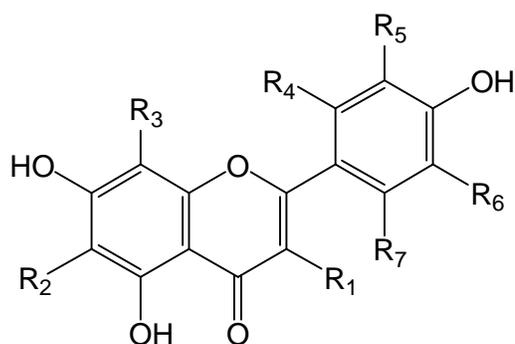
بمقارنة الطيف المسجل في $AlCl_3$ بالطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ لا نجد أي إزاحة دلالة على عدم وجود أي أورثو ثنائي هيدروكسيل.

بمقارنة الطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثوكرومية للحزمة I (+52 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 5.

الطيف المسجل في NaOAc يؤكد وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7 و هذا اعتمادا على الإزاحة الباثوكرومية للحزمة II (+4 نم) و التي تشير أيضا إلى عدم وجود مستبدل في الوضع 6 و الوضع 8 و بما أن الطيف لا يتحلل مع الوقت فإنه لا وجود لثلاثي هيدروكسيل و لا وجود لأورثو ثنائي الهيدروكسيل أيضا على الحلقة A .

الطيف المسجل في $(H_3BO_3 + NaOAc)$ يشير إلى عدم وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A و الحلقة B و هي نفس الملاحظات المأخوذة من الطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$.

من هذه النتائج يمكن كتابة الصيغة التالية:



الجدول رقم 15 : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H -RMN

($\text{CD}_3\text{COCD}_3, 250\text{MHz}$) للمركب CSF_6_2 (الطيف رقم 5)

الإزاحة d(ppm)	التعددية	التكامل	ثابت الإقتران J(Hz)	التعيينات الكيميائية
6.28	d	1H	2.1	H ₆
6.57	d	1H	2.1	H ₈
6.64	s	1H	—	H ₃
7.06	d	2H	8.91	H ₃ , H ₅
7.96	d	2H	8.91	H ₂ , H ₆

يبين طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H -RMN (الطيف رقم 5) والذي دونت نتائجه في الجدول رقم 15 وجود إشارتين ثنائيتين ($J=2.1$) بتكامل 1H لكل منهما عند $\delta=6.28$ و $\delta=6.57$ وهي إزاحات خاصة ببروتونات الحلقة A لذا يمكن نسبتها إلى كل من H₆ و H₈ على الترتيب وذلك تأكيداً لمعطيات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).

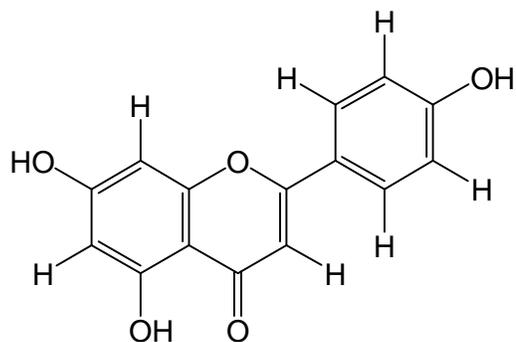
كما يبين نفس الطيف وجود إشارة أحادية بتكامل 1H عند $\delta=6.64$ يمكن نسبتها إلى البروتون H₃ وهذا ما يؤكد ان المركب هو فلافون وليس فلافونول مستبدل في الوضع 3.

و نشير أيضاً إلى وجود إشارتين ثنائيتين بتكامل 2H لكل منهما عند $\delta=7.06$ و $\delta=7.96$ هاتان الإشارتان مميزتان لبروتونات الحلقة B المستبدلة في الموقع 4 (H₂, H₆, H₃, H₅)

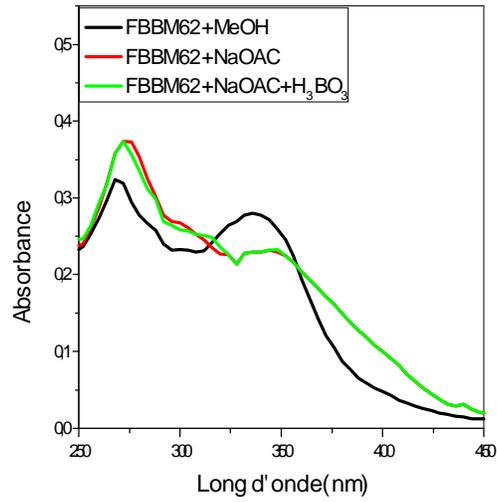
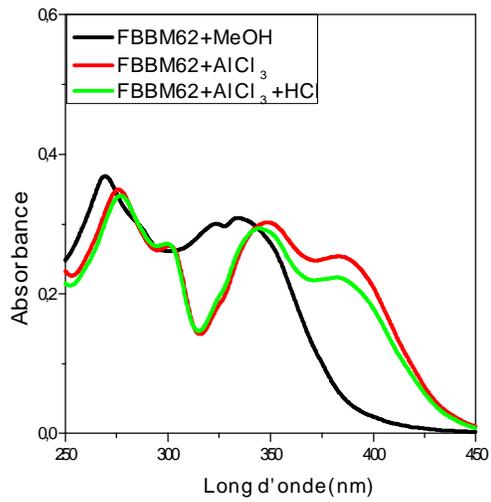
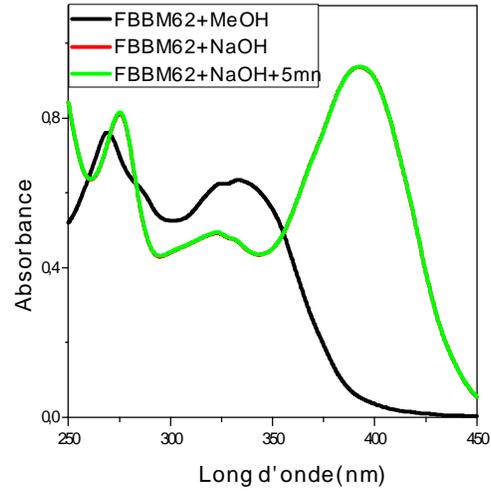
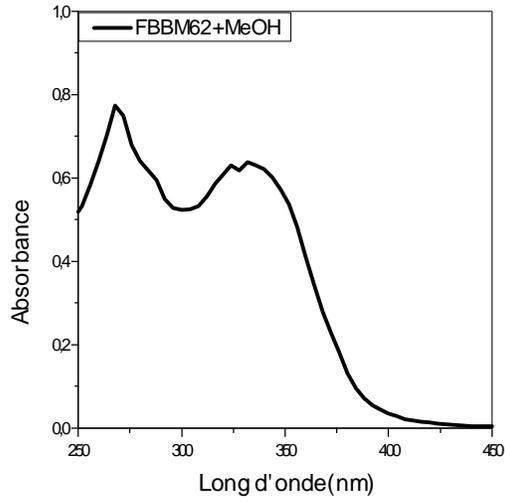
ملاحظة:

الإشارتان الموجودتان في حدود $\delta=6.80$ خاصة ببعض الشوائب و هي نفسها الموجودة في الطيف رقم 2 الخاص بالمركب CSF_6_1 قبل تنقيته، إذ يلاحظ زوال هاتين الإشارتين بعد تنقيته (الطيف رقم 3)، وبهذا نتأكد من أنها خاصة ببعض الشوائب.

مجموعة هذه المعلومات تقود إلى الصيغة التالية :



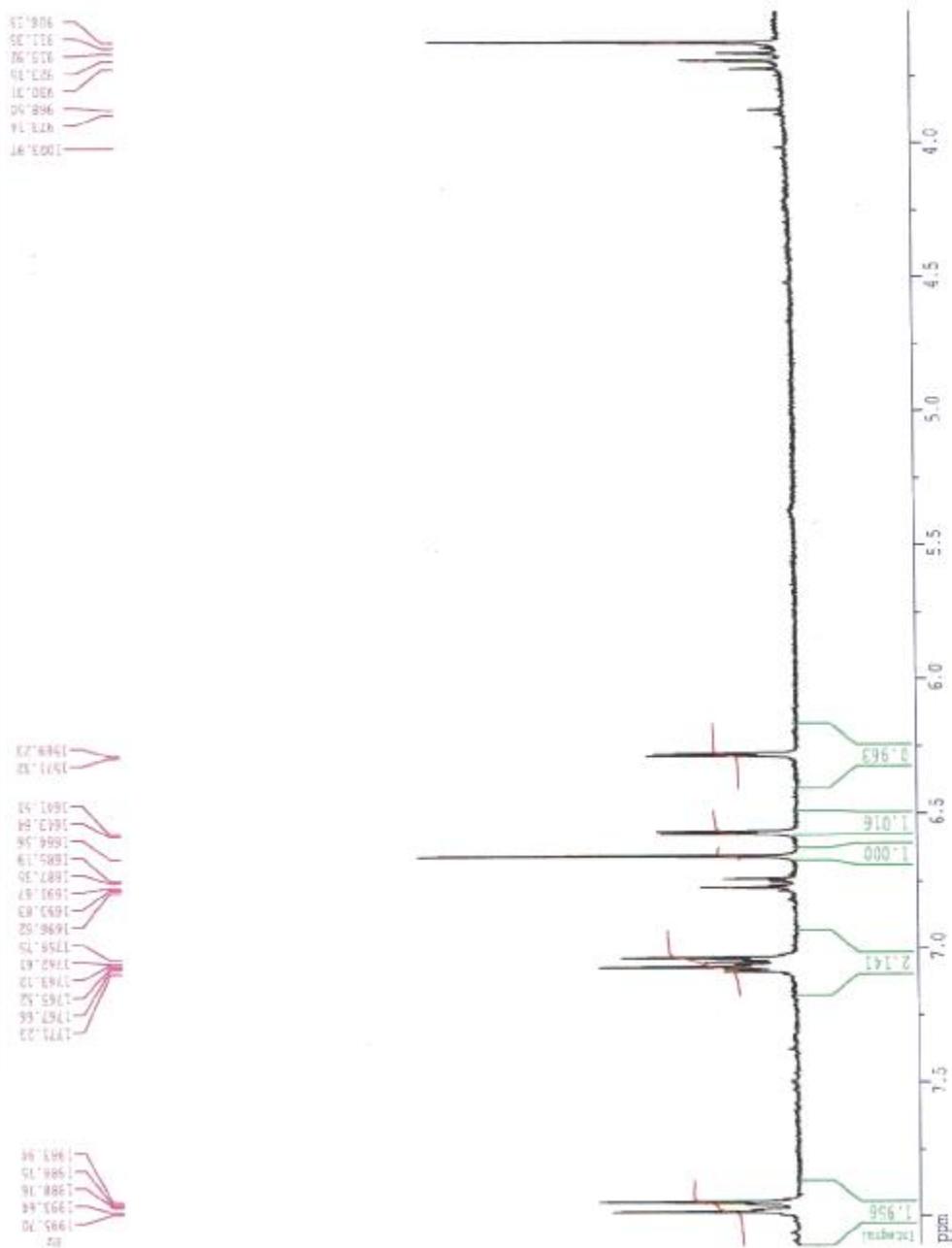
5,7,4'-trihydroxy flavone (apigénine).



الطيف رقم 4: السلسلة الطيفية للأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب CSF62

Spectre proton :ECH: FBEM62

الطيف رقم 5: طيف البروتون ^1H RMN (CD_3COCD_3) للمركب CSF62 تكبير المجال 7.75-3.75



Current Data Parameters
 NAME: FBEM62
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_ Time: 25-17
 Operator: spect
 INSTRUM: spect
 PROCNO: 1
 F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 250.1300000 MHz
 AQ: 0.10000000
 RG: 2.00000000
 GB: 0.00000000
 SC: 0.00000000
 SD: 0.00000000
 SSB: 0.00000000
 CB: 0.00000000
 CC: 0.00000000
 CD: 0.00000000
 CE: 0.00000000
 CF: 0.00000000
 CG: 0.00000000
 CH: 0.00000000
 CI: 0.00000000
 CJ: 0.00000000
 CK: 0.00000000
 CL: 0.00000000
 CM: 0.00000000
 CN: 0.00000000
 CO: 0.00000000
 CP: 0.00000000
 CQ: 0.00000000
 CR: 0.00000000
 CS: 0.00000000
 CT: 0.00000000
 CU: 0.00000000
 CV: 0.00000000
 CW: 0.00000000
 CX: 0.00000000
 CY: 0.00000000
 CZ: 0.00000000
 D0: 0.00000000
 D1: 0.00000000
 D2: 0.00000000
 D3: 0.00000000
 D4: 0.00000000
 D5: 0.00000000
 D6: 0.00000000
 D7: 0.00000000
 D8: 0.00000000
 D9: 0.00000000
 D0: 0.00000000
 D1: 0.00000000
 D2: 0.00000000
 D3: 0.00000000
 D4: 0.00000000
 D5: 0.00000000
 D6: 0.00000000
 D7: 0.00000000
 D8: 0.00000000
 D9: 0.00000000
 E0: 0.00000000
 E1: 0.00000000
 E2: 0.00000000
 E3: 0.00000000
 E4: 0.00000000
 E5: 0.00000000
 E6: 0.00000000
 E7: 0.00000000
 E8: 0.00000000
 E9: 0.00000000
 F0: 0.00000000
 F1: 0.00000000
 F2: 0.00000000
 F3: 0.00000000
 F4: 0.00000000
 F5: 0.00000000
 F6: 0.00000000
 F7: 0.00000000
 F8: 0.00000000
 F9: 0.00000000
 G0: 0.00000000
 G1: 0.00000000
 G2: 0.00000000
 G3: 0.00000000
 G4: 0.00000000
 G5: 0.00000000
 G6: 0.00000000
 G7: 0.00000000
 G8: 0.00000000
 G9: 0.00000000
 H0: 0.00000000
 H1: 0.00000000
 H2: 0.00000000
 H3: 0.00000000
 H4: 0.00000000
 H5: 0.00000000
 H6: 0.00000000
 H7: 0.00000000
 H8: 0.00000000
 H9: 0.00000000
 I0: 0.00000000
 I1: 0.00000000
 I2: 0.00000000
 I3: 0.00000000
 I4: 0.00000000
 I5: 0.00000000
 I6: 0.00000000
 I7: 0.00000000
 I8: 0.00000000
 I9: 0.00000000
 J0: 0.00000000
 J1: 0.00000000
 J2: 0.00000000
 J3: 0.00000000
 J4: 0.00000000
 J5: 0.00000000
 J6: 0.00000000
 J7: 0.00000000
 J8: 0.00000000
 J9: 0.00000000
 K0: 0.00000000
 K1: 0.00000000
 K2: 0.00000000
 K3: 0.00000000
 K4: 0.00000000
 K5: 0.00000000
 K6: 0.00000000
 K7: 0.00000000
 K8: 0.00000000
 K9: 0.00000000
 L0: 0.00000000
 L1: 0.00000000
 L2: 0.00000000
 L3: 0.00000000
 L4: 0.00000000
 L5: 0.00000000
 L6: 0.00000000
 L7: 0.00000000
 L8: 0.00000000
 L9: 0.00000000
 M0: 0.00000000
 M1: 0.00000000
 M2: 0.00000000
 M3: 0.00000000
 M4: 0.00000000
 M5: 0.00000000
 M6: 0.00000000
 M7: 0.00000000
 M8: 0.00000000
 M9: 0.00000000
 N0: 0.00000000
 N1: 0.00000000
 N2: 0.00000000
 N3: 0.00000000
 N4: 0.00000000
 N5: 0.00000000
 N6: 0.00000000
 N7: 0.00000000
 N8: 0.00000000
 N9: 0.00000000
 O0: 0.00000000
 O1: 0.00000000
 O2: 0.00000000
 O3: 0.00000000
 O4: 0.00000000
 O5: 0.00000000
 O6: 0.00000000
 O7: 0.00000000
 O8: 0.00000000
 O9: 0.00000000
 P0: 0.00000000
 P1: 0.00000000
 P2: 0.00000000
 P3: 0.00000000
 P4: 0.00000000
 P5: 0.00000000
 P6: 0.00000000
 P7: 0.00000000
 P8: 0.00000000
 P9: 0.00000000
 Q0: 0.00000000
 Q1: 0.00000000
 Q2: 0.00000000
 Q3: 0.00000000
 Q4: 0.00000000
 Q5: 0.00000000
 Q6: 0.00000000
 Q7: 0.00000000
 Q8: 0.00000000
 Q9: 0.00000000
 R0: 0.00000000
 R1: 0.00000000
 R2: 0.00000000
 R3: 0.00000000
 R4: 0.00000000
 R5: 0.00000000
 R6: 0.00000000
 R7: 0.00000000
 R8: 0.00000000
 R9: 0.00000000
 S0: 0.00000000
 S1: 0.00000000
 S2: 0.00000000
 S3: 0.00000000
 S4: 0.00000000
 S5: 0.00000000
 S6: 0.00000000
 S7: 0.00000000
 S8: 0.00000000
 S9: 0.00000000
 T0: 0.00000000
 T1: 0.00000000
 T2: 0.00000000
 T3: 0.00000000
 T4: 0.00000000
 T5: 0.00000000
 T6: 0.00000000
 T7: 0.00000000
 T8: 0.00000000
 T9: 0.00000000
 U0: 0.00000000
 U1: 0.00000000
 U2: 0.00000000
 U3: 0.00000000
 U4: 0.00000000
 U5: 0.00000000
 U6: 0.00000000
 U7: 0.00000000
 U8: 0.00000000
 U9: 0.00000000
 V0: 0.00000000
 V1: 0.00000000
 V2: 0.00000000
 V3: 0.00000000
 V4: 0.00000000
 V5: 0.00000000
 V6: 0.00000000
 V7: 0.00000000
 V8: 0.00000000
 V9: 0.00000000
 W0: 0.00000000
 W1: 0.00000000
 W2: 0.00000000
 W3: 0.00000000
 W4: 0.00000000
 W5: 0.00000000
 W6: 0.00000000
 W7: 0.00000000
 W8: 0.00000000
 W9: 0.00000000
 X0: 0.00000000
 X1: 0.00000000
 X2: 0.00000000
 X3: 0.00000000
 X4: 0.00000000
 X5: 0.00000000
 X6: 0.00000000
 X7: 0.00000000
 X8: 0.00000000
 X9: 0.00000000
 Y0: 0.00000000
 Y1: 0.00000000
 Y2: 0.00000000
 Y3: 0.00000000
 Y4: 0.00000000
 Y5: 0.00000000
 Y6: 0.00000000
 Y7: 0.00000000
 Y8: 0.00000000
 Y9: 0.00000000
 Z0: 0.00000000
 Z1: 0.00000000
 Z2: 0.00000000
 Z3: 0.00000000
 Z4: 0.00000000
 Z5: 0.00000000
 Z6: 0.00000000
 Z7: 0.00000000
 Z8: 0.00000000
 Z9: 0.00000000
 10: 0.00000000
 11: 0.00000000
 12: 0.00000000
 13: 0.00000000
 14: 0.00000000
 15: 0.00000000
 16: 0.00000000
 17: 0.00000000
 18: 0.00000000
 19: 0.00000000
 20: 0.00000000
 21: 0.00000000
 22: 0.00000000
 23: 0.00000000
 24: 0.00000000
 25: 0.00000000
 26: 0.00000000
 27: 0.00000000
 28: 0.00000000
 29: 0.00000000
 30: 0.00000000
 31: 0.00000000
 32: 0.00000000
 33: 0.00000000
 34: 0.00000000
 35: 0.00000000
 36: 0.00000000
 37: 0.00000000
 38: 0.00000000
 39: 0.00000000
 40: 0.00000000
 41: 0.00000000
 42: 0.00000000
 43: 0.00000000
 44: 0.00000000
 45: 0.00000000
 46: 0.00000000
 47: 0.00000000
 48: 0.00000000
 49: 0.00000000
 50: 0.00000000
 51: 0.00000000
 52: 0.00000000
 53: 0.00000000
 54: 0.00000000
 55: 0.00000000
 56: 0.00000000
 57: 0.00000000
 58: 0.00000000
 59: 0.00000000
 60: 0.00000000
 61: 0.00000000
 62: 0.00000000
 63: 0.00000000
 64: 0.00000000
 65: 0.00000000
 66: 0.00000000
 67: 0.00000000
 68: 0.00000000
 69: 0.00000000
 70: 0.00000000
 71: 0.00000000
 72: 0.00000000
 73: 0.00000000
 74: 0.00000000
 75: 0.00000000
 76: 0.00000000
 77: 0.00000000
 78: 0.00000000
 79: 0.00000000
 80: 0.00000000
 81: 0.00000000
 82: 0.00000000
 83: 0.00000000
 84: 0.00000000
 85: 0.00000000
 86: 0.00000000
 87: 0.00000000
 88: 0.00000000
 89: 0.00000000
 90: 0.00000000
 91: 0.00000000
 92: 0.00000000
 93: 0.00000000
 94: 0.00000000
 95: 0.00000000
 96: 0.00000000
 97: 0.00000000
 98: 0.00000000
 99: 0.00000000
 100: 0.00000000

3.IV. تشخيص المركب CSF₁₀₁ :

خواصه الكروماتوغرافية:

جدول رقم 16: الخواص الكروماتوغرافية للمركب CSF₁₀₁

النظام	I	II
ثابت الإحتباس	0.65	0.04
اللون الإستشعاعي	بنفسجي	

الجدول رقم 17: نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV)

للمركب CSF₁₀₁ (الطيف رقم 6: طول الموجة بالنانومتر)

المفاعلات	الحزمة II	الحزمة I
MeOH	272	352
NaOH	324-272	404
NaOAc	272	352
H ₃ BO ₃ + NaOAc	264	376
AlCl ₃	276	424
AlCl ₃ +HCl	280-264	368

التحليل:

اللون البنفسجي تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) و الحزمة I في حدود 352 نم بالنسبة للطيف المسجل في MeOH دلالة على أن المركب فلافون أو فلافونول مستبدل في الوضع 3

قيم ثابت الإحتباس (R_f) تدل على أن المركب هو اجليكون .

بمقارنة الطيف المسجل في NaOH بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثوكرمومية للحزمة I (+52 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 4، كما نلاحظ ظهور حزمة جديدة في حدود 324 نم دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7 .

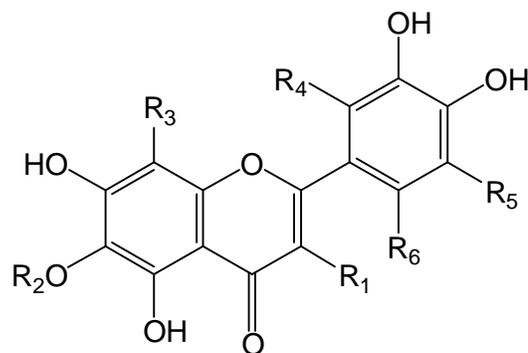
بمقارنة الطيف المسجل في $AlCl_3$ بالطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ نلاحظ وجود إزاحة هيبسوكرومية (-56 نم) دلالة على وجود أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A أو الحلقة B.

بمقارنة الطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثوكرومية للحزمة I (+16 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حرفي في الوضع 5 مع مجموعة أوكسيجينية في الوضع 6.

الطيف المسجل في NaOAc يؤكد وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7 هذا اعتمادا على عدم وجود أي إزاحة باثوكرومية للحزمة II و التي تشير أيضا إلى وجود مستبدل في الوضع 6 أو الوضع 8 و بما أن الطيف لا يتحلل مع الوقت فإنه لا وجود لثلاثي هيدروكسيل و لا وجود لأورتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A.

الطيف المسجل في $(H_3BO_3 + NaOAc)$ يشير إلى وجود أورتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B هذا اعتمادا على وجود إزاحة باثوكرومية للحزمة I (+24 نم).

من هذه النتائج يمكن كتابة الصيغة التالية:



الجدول رقم 18 : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H -RMN

(الطيف رقم 7) CSF_{101} للمركب $(\text{CD}_3\text{COCD}_3, 250\text{MHz})$

الإزاحة d(ppm)	التعددية	التكامل	ثابت الإقتران J(Hz)	التعينات الكيميائية
6.61	s	1H	—	H ₈
6.63	s	1H	—	H ₃
7.05	d	1H	8.5	H _{5'}
7.50	dd	1H	8.5- 2.25	H _{6'}
7.53	d	1H	2.25	H _{2'}
3.88	s	3H	—	-OCH ₃

يبين طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H -RMN (الطيف رقم 7) الذي دونت نتائجه في الجدول رقم 18 وجود إشارة أحادية بتكامل 1H عند $\delta=6.61$ يمكن نسبتها إلى البروتون H₈ وهذا تأكيدا لمعطيات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).

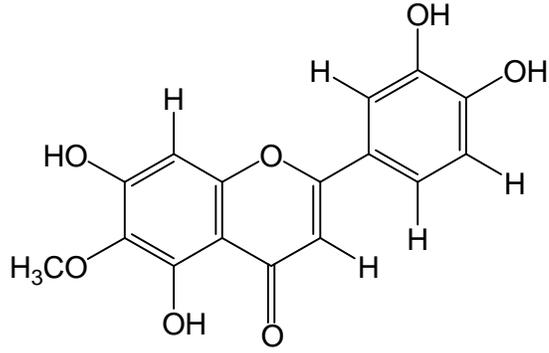
ونجد أيضا إشارة أحادية بتكامل 1H عند $\delta=6.63$ يمكن نسبتها إلى البروتون H₃

كما يبين نفس الطيف وجود إشارة ثنائية ($J=8.50$) بتكامل 1H عند $\delta=7.05$ يمكن نسبتها إلى البروتون H_{5'}

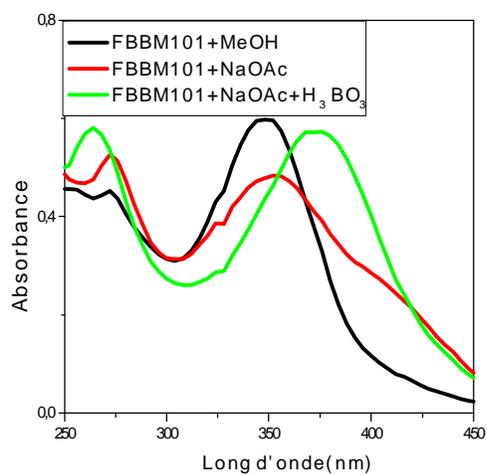
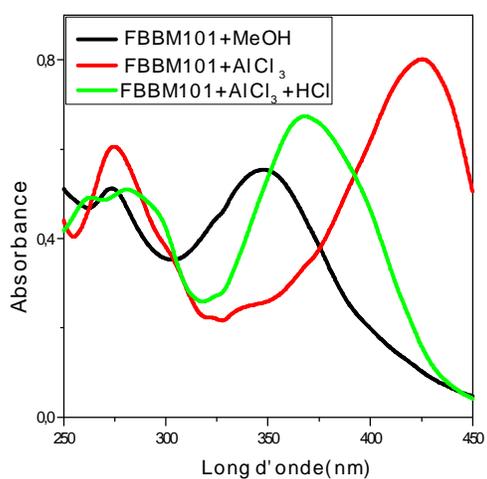
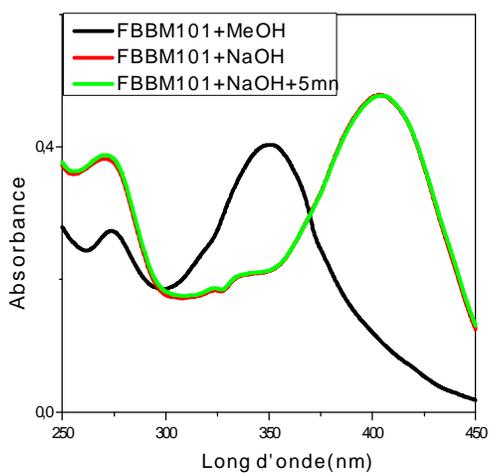
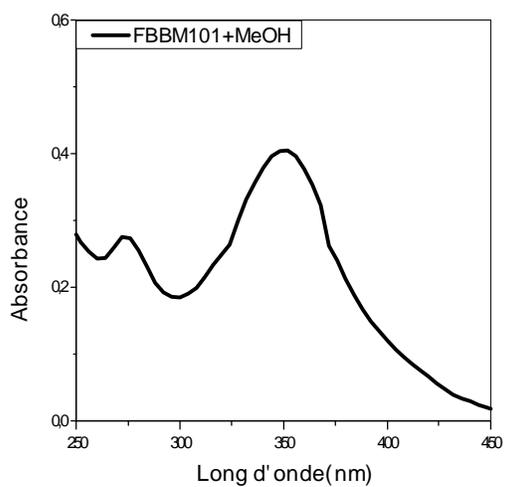
و نشير أيضا إلى وجود إشارات متداخلة (ثنائي - ثنائي 2.25 ، $J=8.5$ ، ثنائي $J=2.25$) بتكامل 2H عند $\delta=7.50$ و $\delta=7.53$ وهي إزاحات خاصة ببروتونات الحلقة B يمكن نسبتها إلى كل من البروتونين H_{2'}، H_{6'} على الترتيب.

ونلاحظ وجود إشارة أحادية عند $\delta=3.88$ بتكامل 3H خاصة بمجموعة ميثوكسيل في الوضع 6 وهذا اعتمادا على النتائج السابقة، و تأكيدا لنتائج المقارنة الخاصة بالطيف المسجل في الميثانول والطيف المسجل في $(\text{AlCl}_3+\text{HCl})$.

مجموعة هذه المعلومات تقود إلى الصيغة التالية :



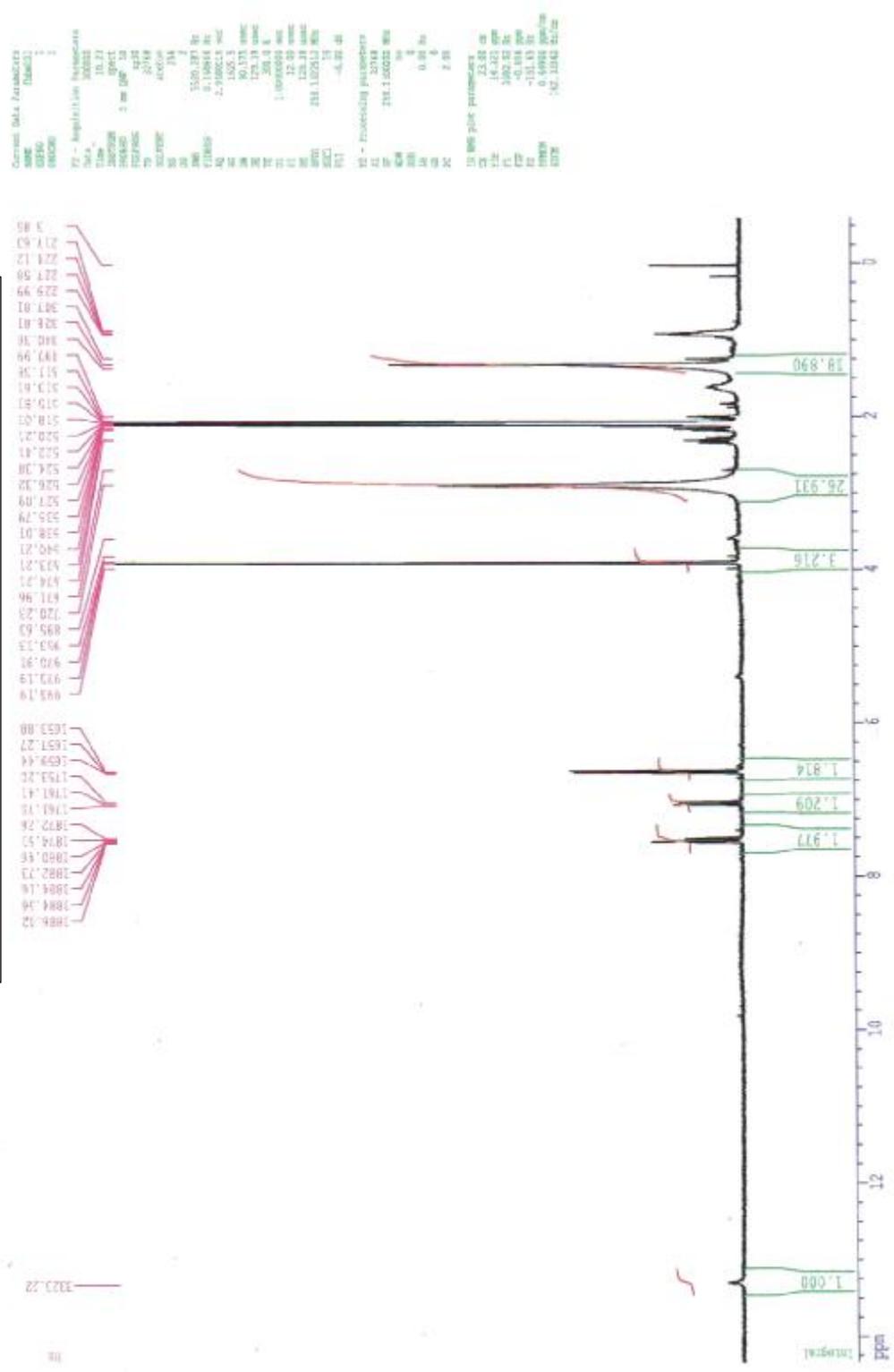
5,7,3',4'-tetrahydroxy 6-methoxyflavone (6-methoxy luteoline)



الطيف رقم 6: السلسلة الطيفية للأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب CSF101

Spectre proton : ECH: FWHM 1.01

الطيف رقم 7: طيف البروتون (CD₃COCD₃, 250MHz) RMN-¹H للمركب CSF101



3.IV. تشخيص المركب CSF₁₀₂ :

خواصه الكروماتوغرافية:

جدول رقم 19 : الخواص الكروماتوغرافية للمركب CSF₁₀₂

النظام	I	II
ثابت الإحتباس	0.61	0.06
اللون الإستشعاعي	بنفسجي	

الجدول رقم 20: نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV)

للمركب CSF₁₀₂ (الطيف رقم 8: طول الموجة بالنانومتر)

المفاعلات	الحزمة II	الحزمة I
MeOH	252	348
NaOH	324-268	404
NaOAc	260	376-368
H ₃ BO ₃ + NaOAc	256	360
AlCl ₃	272	424
AlCl ₃ +HCl	272	388-384

التحليل:

اللون البنفسجي تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) و الحزمة I في حدود 348 نم بالنسبة للطيف المسجل في MeOH دلالة على أن المركب فلافون أو فلافونول مستبدل في الوضع 3

قيم ثابت الإحتباس (R_f) تدل على أن المركب هو اجليكون.

بمقارنة الطيف المسجل في NaOH بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثو كرومية للحزمة I (+56 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 4، كما نلاحظ ظهور حزمة جديدة في حدود 324 نم دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7 .

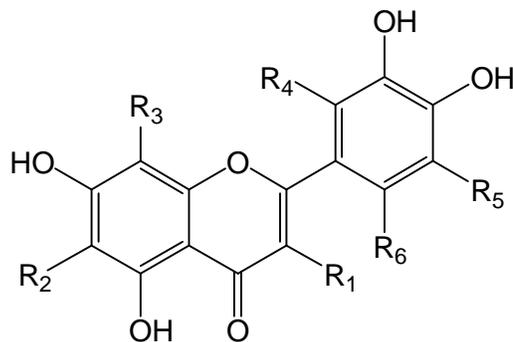
بمقارنة الطيف المسجل في $AlCl_3$ بالطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ نلاحظ وجود إزاحة هيسوكرومية (-36 نم) دلالة على وجود أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة B أو الحلقة A .

بمقارنة الطيف المسجل في $(AlCl_3+HCl)$ بالطيف المسجل في MeOH نجد إزاحة باثوكرومية للحزمة I (+40 نم) دلالة على وجود هيدروكسيل حر في الوضع 5 .

الطيف المسجل في NaOAc يؤكد وجود هيدروكسيل حر في الوضع 7 هذا اعتمادا على وجود إزاحة باثوكرومية للحزمة II (+8 نم) و التي تشير أيضا إلى عدم وجود مستبدل في الوضع 6 أو الوضع 8 و بما أن الطيف لا يتحلل مع الوقت فإنه لا وجود لثلاثي هيدروكسيل ولا وجود لأورتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A.

الطيف المسجل في $(H_3BO_3 + NaOAc)$ يشير إلى وجود أورتو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B هذا اعتمادا على وجود إزاحة باثوكرومية للحزمة I (+12 نم).

من هذه النتائج يمكن كتابة الصيغة التالية:



الجدول رقم 21 : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H -RMN

(الطيف رقم 9) للمركب CD_3COCD_3 (250MHz) CSF_{102}

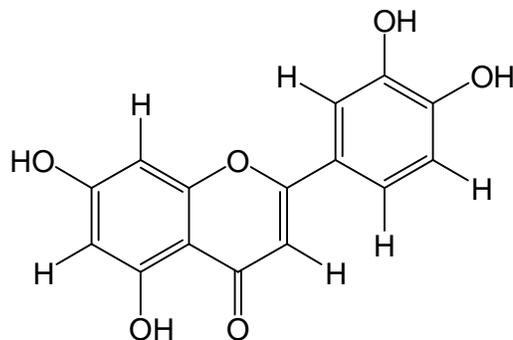
الإزاحة d(ppm)	التعددية	التكامل	ثابت الإقتران J(Hz)	التعيينات الكيميائية
6.27	d	1H	2.15	H ₆
6.54	d	1H	2.15	H ₈
6.61	s	1H		H ₃
7.02	d	1H	8.15	H _{5'}
7.49	dd	1H	8.15-2.15	H _{6'}
7.52	d	1H	2.15	H _{2'}

يبين طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H -RMN (الطيف رقم 9) الذي دونت نتائجه في الجدول رقم 21 وجود إشارتين ثنائيتين ($J=2.15$) بتكامل 1H لكل منهما عند $\delta=6.27$ و $\delta=6.54$ وهي إزاحات خاصة ببروتونات الحلقة A لذا يمكن نسبتها إلى كل من البروتونين H₆ و H₈ على الترتيب وذلك تأكيدا لما ورد في نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV).
كما يبين نفس الطيف وجود إشارة أحادية عند $\delta=6.61$ خاصة بالبروتون H₃ (فلافون).

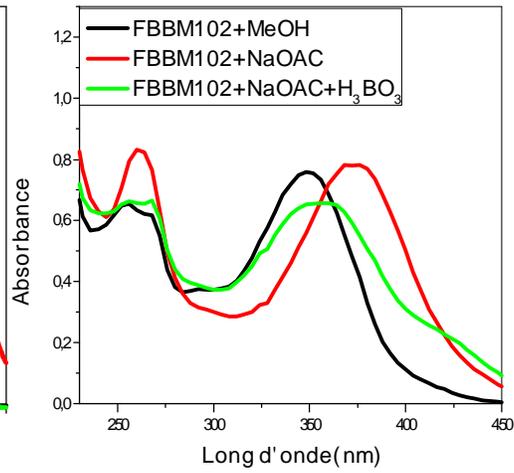
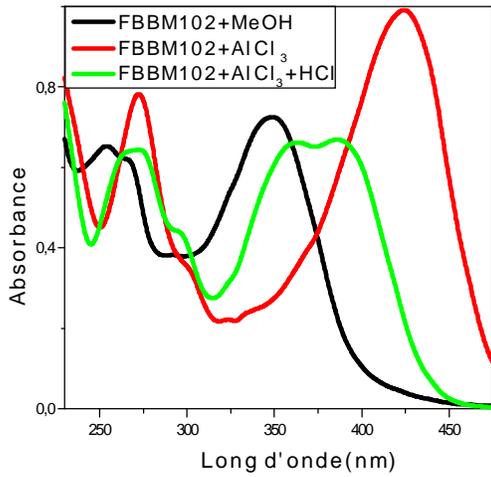
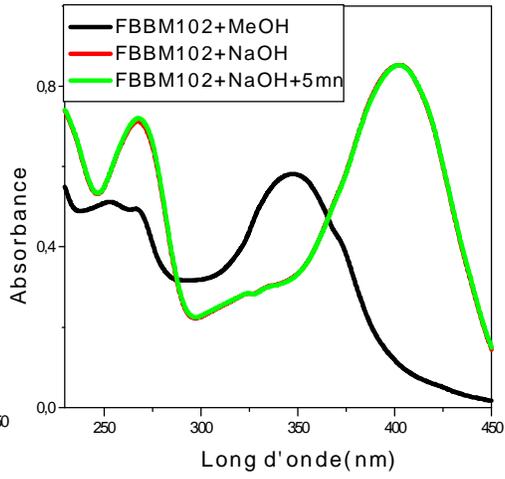
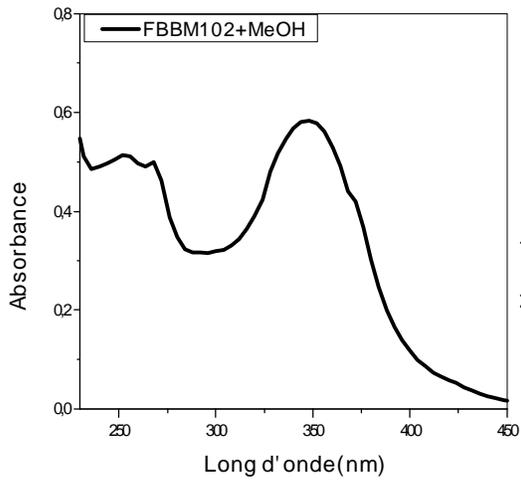
و تشير أيضا إلى وجود إشارة ثنائية ($J=8.15$) بتكامل 1H عند $\delta=7.02$ يمكن نسبتها إلى البروتون H₅.

و يمكن ملاحظة وجود إشارات متداخلة (ثنائي - ثنائي، $J=8.15, 2.15$ ، ثنائي $J=2.15$) بتكامل 2H عند $\delta=7.49$ و $\delta=7.52$ وهي إزاحات خاصة ببروتونات الحلقة B لذا يمكن نسبتها إلى كل من البروتونين H_{2'}, H_{6'} عند الترتيب.

مجموعة هذه المعلومات تقود إلى الصيغة التالية :



5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (lutéoline)



الطيف رقم:8:السلسلة الطيفية للأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب CSF102

الخاتمة:

كما تقدم و أشرنا في بداية هذا البحث فالغاية الرئيسية هي التعرف على نواتج الأيض الثانوي
الفلافونويدي لنبات *Centaurea sphaerocephala* L.

تمت البداية بعرض مختلف الهياكل الفلافونويدية، الإصطناع الحيوي، طرق الفصل، التنقية و الاساليب
الفيزيوكيميائية لتحديد الصيغة البنوية.

تمكنا في هذا العمل المخبري من عزل و تحديد الصيغة البنوية لأربعة مركبات هي:

5,7,4'-trihydroxy 3'-methoxyflavone (3'-methoxy apigénine).

5,7,4'-trihydroxy flavone (apigénine).

5,7,3',4'-tetrahydroxy 6-methoxyflavone (6-methoxy lutéoline)

5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (lutéoline).

إعتمدنا في فصل هذه المركبات على الكروماتوغرافيا بأنواعها (كروماتوغرافيا العمود
وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة). و تمت التنقية بالكروماتوغرافيا المتكررة.

إن تحديد الصيغ البنوية للمركبات المعزولة تم بالإعتماد على التحليل الطيفي للرنين النووي
المغناطيسي ($^1\text{H-RMN}$) و مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV-VIS).

BIBLIOGRAPHIE

المراجع

- [1] M. J. Boland et E. Wong, *Aur. J. Biochem*, 50, 383 (1975),
Biorg. Chem, 8,1 (1979).
- [2] G. Kochs et H. Grisebach, *Aur. J. Biochem*, 155-311 (1986).
- [3] G. Stotz, R. Spribille et G. Forkmann, *J. Plant Physiol*, 116-173 (1984)
- [4] L. P. Christensen and L. Jorgen, *Phytochemistry*, 30, 2663-65 (1991).
- [5] N. Mezache, thèse de magister, Constantine (2002).
- [6] K. Medjroubi, F. Benayache, S. Benayache, S. Akkal, N. Khalfallah
and P. Aclinou, Guaianolide from *Centaurea musimomum*, *Phytochemistry*,
45 (7), 1449 (1997).
- [7] J. G. Platas, C. Ruiz-perez, A. G. Ganzlez, J. Bermejo and K. Medjroubi,
4 β ,15-dihydro-3dehydrosolstitialin A, *Acta Cryst*, 55, 1837 (1999).
- [8] A. Bentamen, thèse de magister, Constantine (1997).
- [9] S. Akkal, F. Benayache, S. Benayache, K. Medjroubi, E. Seguin and F. Telliquin,
Flavonoid Aglycone from *Centaurea napifolia*, *Chemistry of natural compounds*,
39 (2) 219-220 (2003).
- [10] S. Akkal, S. Benayache, S. Benayache and M. Jay, Flavonoids from
Centaurea incana, *Biochemical systematic and Ecology*, 4, 361 (1997).
- [11] R. Bencherait, thèse de magister, Constantine (1989).
- [12] K. Medjroubi, thèse de magister, Constantine (1991).
- [13] F. Benayache, S. Benayache, K. Medjroubi, G. Massiot, P. Aclinou, B. Drodz
and G. Nowak, *Phytochemistry*, 31 (12), 4359-4360 (1992).
- [14] G. Athmani, S. Benayache, F. Benayache, H. dendoughi, M. Jay, *J. Sac.*
Alger. Chem, 8 (1), 29-36 (1998).
- [15] K. Medjroubi, N. Bouderdara, F. Benayache, S. Akkal, E. Seguin and F. Telliquin,
Sesquiterpene lactone of *Centaurea nicaensis*, *Chemistry*
of natural compounds, 39 (5), 506 (2003).
- [16] S. Akkal, F. Benayache, S. Benayache, K. Medjroubi, M. Jay, F. Telliquin and
E. Seguin, New flavone glycoside from, *Centaurea furfuracea*,
Fitoterapia, 70, 368-370 (1999).
- [17] S. Delouche, thèse de magister, Constantine (2003).
- [18] C. Boubekri, thèse de magister, Constantine (2003).
- [19] R. Benakcha, thèse de magister, Constantine (2001).

- [20] K. Medjroubi, F. Benayache, S. Benayache, S. Akkal, M. Kaabeche, E. Seguin and F. Telliouin, Eudesmanolide from *Centaurea granata*, *Phytochemistry*, 49 (8), 2425 (1998).
- [21] A. Bentamen, thèse de doctorat, Constantine (2005).
- [22] T. Mishio, T. Honma and T. Iwashina, Yellow flavonoids in *Centaurea ruthenica* as flower pigments, *Biochemical Systematics and Ecology*, V. 34, 180-184(2006)
- [23] S. Çelik, S. Rosselli, A. M. Maggio, R. A. Raccuglia, I. Uysal, W. Kisiel, K. Michalska and M. Bruno, Guaianolides and lignans from the aerial parts of *Centaurea ptosimopappa*, *Biochemical Systematics and Ecology*, V. 34, 349-352 (2006)
- [24] M. Shoeb, S.M. MacManus, Y. Kumarasamy, M. Jaspars, L. Nahar, P. Kong Thoo-Lin, H. Nazemiyeh and S. D. Sarker Americanin, a bioactive dibenzylbutyrolactone lignan, from the seeds of *Centaurea americana* *Phytochemistry*, In Press, Corrected Proof, (2006).
- [25] K. Rämö, H. Slotte, T. Kanerva, K. Ojanperä and S. Manninen, Growth and visible injuries of four *C. jacea* L. ecotypes exposed to elevated ozone and carbon dioxide, *Environmental and Experimental Botany*, V. 58, Issues 1-3, 287-298 (2006).
- [26] M. M. S. M. Bastos, A. Kijjoa, J. M. Cardoso, A. B. Gutierrez and W. Herz, *Planta Med*, 56, 403-405 (1990).
- [27] M. Bruno, C. Fazio, S. Passananti, M. P. Paternostro, J. G. Diaz and W. Herz, *Phytochemistry*, 35(5), 1371-1372 (1994).
- [28] E. Haslam, in *comprehensive organic chemistry*, eds D. H. R. Barton and W. D. Ollis, pergamon, oxford, 5, 1167-205 (1979).
- [29] F. Gibson and J. Pittard, *Bact. Rev*, 32, 465-92 (1968).
- [30] L. Crombie, I. Holden, N. Van Brggen and whiting, *A. chem. Soc*, 1063-5 (1986).
- [31] J. B. Harbone, *Flavonoids-in phytochemistry-* eds J. B. Litton, educational publishing inc (1973).
- [32] P. R. Gayon, *Les composés phénoliques des végétaux*, eds Dunod, Paris (1968).
- [33] J. Mann, *Secondary metabolism*, eds Clarendon press, Oxford (1987).
- [34] H. Edwin, *Shikimic acid, metabolism and metabolites*, eds John Wiley and Sons (1993).
- [35] J. B. Harborne, *The flavonoids, advances in research since 1980*, eds Chapman and Hall, New York (1988).
- [36] J. Chopin, *Actualités de phytochimie fondamentale*, 2^{ème} Série, eds Masson, Paris, 119 (1966).
- [37] J. B. Harborne, *The flavonoids*, V. 2, eds Chapman and Hall, London (1975).
- [38] L. Ptschke, and H. Y. Grisebach, *Naturforsch*, 20b, 1039-42 (1965).
- [39] H. Grisebach, and W. Barz. *Naturwiss*, 56, 538-44 (1969).
- [40] J. B. Harborne, *Biochemistry of phenolic compounds*
Academic press, New York (1964).

- [41] G. Richter, *Metabolism des végétaux, physiologie et biochimie*, eds press polytechniques et Universitaire Romandes, Lausanne (1993).
- [42] J. J. Lee, A.sano, Y. Sheih, T. L. etal. *J. Amer. chem. Soc*, 106. 3367-8 (1984).
- [43] M. J. Turner, B. W. smith, and E. J. Haslam, *chem. Soc. perkinI*, 52. 5 (1975).
- [44] V. Deluca, R. K. Ibrahim, *Arch biochem biophys*, 606 (1985).
- [45] J. B. Harborne and T. Swain, *perspectives in phytochemistry*, Academic press, London (1969).
- [46] M. Z. Jay, *Natur forsch*, 38c, 413 (1983).
- [47] Z. Sutfeld, *Natur forsch*, 36c, 30 (1981).
- [48] J. L. Massot, M. N. Bertran et T. Adzet, *Plantes Med et Phytotherapie*, 8 (1), 41-45 (1979).
- [49] L. Beranger-Beausquesne, M. Pinlkas, M. Torck, *Les plantes dans la therapeutique moderne*. Ed. Maaloine (1975).
- [50] G. E. Ferraro, *Acta frm. Bonaerense*, 2 (2), 97-103 (1983).
- [51] P. G. Pietta, *J. Nat. prod*, 63, 1035-1042 (2000).
- [52] D. Puisseux, D. S., *Plantamedica*, 2,95-190 (1988).
- [53] J. W. Melure, *Physiologie and function of flavonoids*, eds Chapman and Hall, London (1975).
- [54] D. Jiang, D. H. Zien, W. J. Ren, *Phytochemistry*, 62 (8), 1235-1238 (2003)
- [55] C. M. O. Simoes, M. Amoros, Grre, L., *J. Nat. pro*, 53, 989 (1990).
- [56] J. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, eds techniques et documentation, 2^{eme} édition Lavoisier (1993).
- [57] K. Kamanzi et J. Raynaud, *Plantes Med et Phytotherapie*, 10, 78-84 (1976).
- [58] B. Drodz, *Diss. Pharm. Pharmacol*. 19, 223-225 (1967).
- [59] B. Maurizio and H. Warner, *Phytochemistry*, 27 (6), 1873-75 (1988).
- [60] S. C. Chu, Y. S. Hsich, J. Y. Lin, *J. Nat. pro*, 55, 179 (1992).
- [61] M. Paris et M. Hurabielle, *Abrege de matiere medicale.V.I* eds Masson, Paris, New York (1981).
- [62] M. Ghbor, *Anti-inflammatory and antiallergic properties of flavonoids in cody*, V. 5, eds *plant flavonoids in biology and medicine*, New York (1986).
- [63] M. T. Pischen, E. Seoane, A. Tortajada, *Phytochemistry*, 23, 9 (1984).
- [64] J. V. Arnold, A.Roger, *Advances in medicinal plant research*, eds Wissenchft liche verlgs gesellschaft mbh, Stuttgart (1985).
- [65] H. K. Wang, S. Y. Lin, K. M. Hwang, G. Tylor and K. M. Lee, *Bioorg. Med. chem*, 2, 1397 (1994).
- [66] Randerathk, *Chromatographie sur couches minces*, eds Gautier Villard (1971).
- [67] J. B. Harborne, *The flavonoids*, V .1, eds Chapman and Hall, London (1975).
- [68] K. R. Markham, *Methods in plant biochemistry*, eds academic press voll, 197-232 (1989).
- [69] Alain berthillier, *La chromatographie et ses application-dundo* (1972)
- [70] T. J. Mabry, M. B. Thomas, *The systematic identification of flavonoids*, eds Springer-Verlag, Berlin (1970).

- [71] L. Jurd and Horowitz, The chemistry of flavonoid compounds. pergmon press New York, 107-155 (1962).
- [72] T. J. Marbry, Perspectives in phytochemistry, p. 45, eds Chapman and Hall. London (1969).
- [73] T. J. Marbry, Perspectives in phytochemistry, eds, J. B. Harborne. Academic press (1963).
- [74] K. R. Markham, The technique of flavonoids identification, eds academic press, London, New York (1982).
- [75] K. R. Markham, and H. Geiger, ¹H NMR Spectroscopy of flavonoids, eds J. B. Harborne. Chapman and Hall, London (1993).
- [76] T.Y. Marbry, The ultra-violet and nuclear magnetic resonance analysis of flavonoids in respective in phytochemistry, eds J. B. Harborne, 1-45 (1969).
- [77] M. Becchi, D. Fraisse, Fast atom bombardment and Collision Activated-dissociation|mass-analysis ion Kin tics analysis of C-Glycosidic flavonoids. Biomedical and environmental mass electrometry, 18, 122-130 (1989).

الملخص:

إنصب إهتمامنا في هذا البحث على فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي الفلافونويدي، و قد تمت هذه الدراسة لإعتبارين:

أولهما يتعلق بجنس *Centaurea* الذي يكثر إستعماله في الطب الشعبي و لفعالته ضد كثير من الأمراض.

ثانيهما فيتعلق بالنوع *sphaerocephala* الذي لم تتم دراسة نواتج أبيضه الثانوي الفلافونويدي سابقا.

و قد توصلنا خلال هذا العمل إلى تحديد أربع صيغ بنيوية لأربعة مركبات فلافونويدية أجليكونية في حالتها الطبيعية.

و المركبات المعزولة هي:

5,7,4'-trihydroxy 3'-methoxyflavone

5,7,4'-trihydroxy flavone

5,7,3',4'-tetrahydroxy 6-methoxyflavone

5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone

إن تحديد الصيغ البنيوية للمركبات المعزولة تم بالإعتماد على التحليل الطيفي للرنين النووي المغنطيسي ($^1\text{H-NMR}$) و مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV-VIS).

Summary

In this research, we attract your attention to the structuration and the determination of the secondary metabolites notably the type flavonoids.

This investigation was carried by two pathways:

- This first one concerned the genus *Centaurea* from which several species are used in folk medicine.

- Secondly it concerns the specie *sphaerocephala* which flavonoid secondary metabolism was not studied.

Our experiences on the spicity of genus *Centaurea sphaerocephala* L. led to the structural purification and determination of four flavonoids

The separated products are:

5,7,4'-trihydroxy 3'-methoxyflavone (3'-methoxy apigenin).

5,7,4'-trihydroxy flavone (apigenin).

5,7,3',4'-tetrahydroxy 6-methoxyflavone (6-methoxy luteolin).

5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (luteolin).

These structures were illustrated by the technics: NMR-¹H and UV-VIS.

Résumé

Dans cette recherche, nous avons porté notre attention sur la structuration et la détermination des métabolites secondaires notamment de type flavonoïdes.

Cette étude a été menée selon deux approches :

La première concerne le genre *Centaurea* dont plusieurs espèces sont utilisées en médecine populaire .

La deuxième concerne l'espèce *sphaerocephala* dont l'étude des métabolites secondaires notamment de type flavonoïdes n'a pas été réalisée auparavant .

Nos expériences, sur l'espèce de ce genre *centaurea sphaerocephala L.*, ont abouti à la purification et à la détermination structurales de quatre flavonoïdes.

Les produits séparés sont:

5,7,4'-trihydroxy 3'-methoxyflavone (3'-methoxy apigénine).

5,7,4'-trihydroxy flavone (apigénine).

5,7,3',4'-tetrahydroxy 6-methoxyflavone (6-methoxy lutéoline)

5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (lutéoline).

Les structures ont été élucidées par les techniques: RMN-¹H et UV-VIS.