الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة منتوري قسنطينة

كلية العلوم قسم الكيمياء

رقم الترتيب ....

رقم التسلسل ....

مذكرة
مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم
تخصص كيمياء عضوية
شعبة كيمياء النبات

تحت عنوان

فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتة *Phoenix dactylifera* (*Degla beida*)

تقديم

شباح كوثر

لجنة المناقشة:

- د. فضيلة بن عياش	أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة	رئيسة
- د. حسين دندوقي	أستاذ محاضربجامعة ق. مرباح ورقلة	مشرفا
- د. سمير بن عياش	أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا
- د. قدور لعمارة	أستاذ بجامعة ع. بن مهيدي أم البواقي	ممتحنا
- د. عبد الرحمن تنيو	أستاذ محاضر بجامعة منتوري قسنطينة	ممتحنا

جانفي 2007

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

بسم الله الرحمن الرحيم

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الإهداء

أهدي هذا العمل المتواضع ،

إلى روح والدي الكريمين

إلى الذي يعطي دون حدود ، أعزّ إنسان : أخي شرافت

إلى أغلى من في الدنيا ، توأم روحي : أختي سميحة

إلى الذي منحني كل العون و السعادة : زوجي وليد

إلى أخي ، زوج أختي: عبد الرحمن

إلى التي كانت بمثابة أمي : خالتي محبوبة و كل أولادها

إلى خالاتي و أولادهم خاصة مريم ، لمياء و نادية

إلى عائلتي الجديدة خاصة : أمي حبيبة ، ابتسام ، مريم و حسناء

إلى صديقاتي : منال ، حنان ، سهيلة ، وردة ، نسيمة ، وداد ، طيبة ، وسيمة ، زهرة ، زهية ، سهيلة ، سعدة ، سعاد ، حياة ، ياسمينة ،آمال ، رتيبة ، زليخة ، وصاف، ليلى ، ميمي ، سوسن ، سهيلة ، حنان ، وهيبة ، صبرينة ، منى ، ابتسام ، آسيا و نجوى.

إلى الذين أمدوني بكل العون المادي و المعنوي : عامر ، شوقي و رشيد

إلى زملائي في المخبر : عدلان ، شعيب ، الحاج

إلى كل العائلة الكريمة فردا فردا

إلى كل أساتذتي في جميع الأطوار الدراسية

إلى كل من ساعدني من قريب أو بعيد

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تشكرات

الحمد لله ، و الصلاة و السلام على رسول الله صلى الله عليه و سلم و على صحبه و من والاه.

الحمد الأكبر ، و الشكر الأوّل و الآخر لله الذي هدانا لهذا و ما كنا لنهتدي لولا أن هدانا الله.

أتقدم بجزيل الشكر و أسمى عبارات التقدير للأستاذ **حسين حندوقي** لقبوله الإشراف على هذا العمل ، و على كل نصائحه و مساعداته لإنجاز هذا البحث على أكمل وجه.

خالص التقدير للأستاذة **بن عياش فضيلة** على كل التوجيهات و المساعدات التي قدمتها لنا إضافة إلى قبولها رئاسة لجنة المناقشة.

أتقدم بالشكر الجزيل للأستاذ **بن عياش سمير** لاستقباله لنا في مخبره و توفيره لمختلف الوسائل و التجهيزات لإنجاز هذا العمل و على قبوله المشاركة في لجنة المناقشة.

إمتناني إلى أعضاء لجنة المناقشة ، الأستاذين **قدور لعمارة ، تنيو عبد الرحمن** لتشريفهم هذا العمل بالإطلاع عليه و تصحيح أخطائه مشاركة منهم لتحسينه.

و أخيرا شكري الخالص لكل من ساعدني في إنجاز هذا العمل بتوجيهاته و مساعداته خاصة الأستاذ **بوهروم محمد** ، **عكال صالح** ، **صغيري رمضان** و **الطويل أحمد**.

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المقدمة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

إنّ تواجد الإنسان في بيئة بها هذا التنوع الهائل من الغطاء النباتي – لا شك – جعله يفكر في كيفية استغلاله للمحافظة على بقائه و تطوير أسلوب حياته للحصول على ظروف عيش أفضل، فكما استساغ طعم الثمرة و وجدها تُسكِت جوعه أدرك أنّ تناول بعض الأوراق قد يسكت ألم بطنه، كما أنّ محاولته لإيقاف نزيف جرح بلفه ببعض النبات قد يكون سبب إدراكه أنّ هذا النبات يسرِّع من عملية الشفاء.

و سواء بدأ الأمر بهذه العفوية أو بطريقة أخرى، فإنّه لم يبق بهذه البساطة بل تطور مع تطور الإنسان حتى أصبح علما مستقلا بذاته يسمى" فن التداوي بالأعشاب " و الذي برع فيه أهل الشرق كالهنود و الصينيين الذين وصلنا منهم كتاب يعود تاريخه إلى 2000 سنة قبل الميلاد ، اسمه " Pen-tsao " أي الأعشاب الطبية و فيه حوالي 365 نبتة مداوية ، أما العرب فلهم فضل كبير في تعميق المعارف حول الخصائص العلاجية للنباتات ، حيث وضع البيروني كتاب " النباتات الطبية و استعمالاتها " و داود الأنطاكي " تذكرة داود " و هي مرجع رئيسي لكل العاملين بالطب التقليدي ، كما لا ننسى فضل ابن سينا، ابن البيطار ، الرازي و غيرهم الذين تفننوا في اختيار بعض الأعشاب و معرفة خصائصها ، مضارها و منافعها ، طرق تركيبها مع بعضها ، و الجرعات التي ينبغي للمريض أن يستخدمها [1]. و في نهاية القرن 19 م عرف هذا العلم فرعا جديدا سرعان ما استقل بذاته تمثل في البحث عن المادة الفعّالة في النبات الطبّي ثمّ تصنيعها كيميائيا حيث أحدث ذلك ثورة في عالم الأدوية و سميت الأدوية " المعجزة " كالأسبرين و البنسلين ...إلخ ، لكن و مع بداية السبعينات بدأت العودة بالتدريج إلى الاهتمام بالأعشاب الطبية لمّا أثبتت الدراسات أنّ لتلك الأدوية آثارا جانبية خطيرة في معظم الأحيان ، بينما تكون تراكيز هذه المواد الفعّالة متوازنة و مخففة في النبات و تتفاعل برفق مع الجسم البشري في صورتها الطبيعية ، إضافة إلى تعاون بعض المواد الموجودة في النبات معها حتى لو كانت على شكل آثار فقط. مما حدى بكثير من سكان العالم اليوم بالعودة إلى استعمال النباتات الطبية في مختلف علاجاتهم ، الأمر الذي جعل الهيئات المختصة تبذل جهودا

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

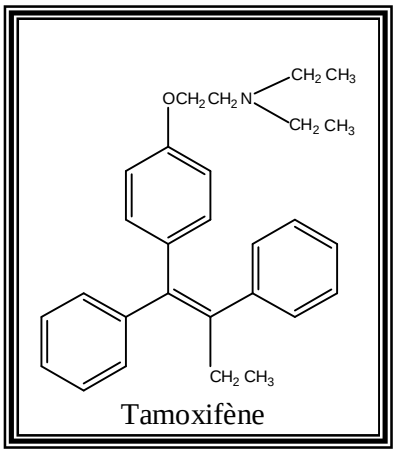
لمسايرة الوضع الجديد حيث أخذت بعض المنظمات خطوات مهمة لتشجيع العلماء على البحث في هذا المجال و تطويره كمنظمة الصحة العالمية و الإتحاد الأوروبي [3،2] مما نتج عنه أنّ:

- 40 ٪ من الأدوية المستعملة عبارة عن عناصر طبيعية.
- 50 ٪ من الوصفات الطبية في الولايات المتحدة الأمريكية- حسب إحصائيات 1995- تحتوي على الأقل على دواء مستخرج من أصل طبيعي.
- من مجموع الأدوية الجديدة التي طرحت في السوق ما بين:1981 – 2002 م ،14 ٪ لمعالجة الأمراض السرطانية ، 7 ٪ ضدّ الحساسية و 15 ٪ ضد بعض الطفيليات هي عبارة عن مركبات طبيعية [4 ،5].

لكن و بالرغم من كل هذه الجهود فإن الإحصائيات تؤكد عدم إعطاء هذا المورد الطبيعي حقه من الدراسة و بذلك الاستفادة أكثر منه ، لأنه و من بين 250000 نبتة راقية ، 10 ٪ فقط درست في كيمياء النبات و معظمها درست سابقا حيث لم تكن التقنيات بهذا التطور و الفعالية التي هي عليها اليوم[5] و هو ما دفعنا إلى البحث عن نبتة لا تخفى أهميتها على أحد و في نفس الوقت لم تنل نصيبها الكاف من الدراسة ، و وقع اختيارنا على النخيل المثمرة التي طالما أثبتت فائدتها في مختلف المجالات فكانت مصدرا لبناء المساكن حيث استُخدِم جذعها كقواعد و دعائم لإسناد البيوت ، و كان من سعفها سقوف لتغطية المنازل كما استخدمها الإنسان كوقود ... إلخ. أما التمور إضافة إلى كونها غذاءا كاملا إلى جانب الحليب و الألبان فهي تحتوي على سكريات بسيطة ، سهلة الهضم و الامتصاص لذا أوصى النبّي صلى الله عليه و سلم أن تكون أول ما يفطر عليه الصائم كما أنّه حنك بها فم المولود بعد الولادة مباشرة،و هي ثمرة تحتوي على عناصر غذائية متنوعة و فيتامينات إضافة إلى مواد دابغة (tanins) و التي تعمل على تثبيط نمو الجراثيم ، كما لا تزال الدراسات قائمة فيما يتعلق بتأثير تناول التمر على معدل كفاءة جهاز المناعة من حيث عدد الخلايا المختلفة و إفراز الأجسام المضادة التي تتفاعل مع

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

السموم الداخلية و الخارجية في الجسم البشري [6].و قد كشفت دراسة جديدة أجراها باحثون في جامعة لويزيانا الأمريكية ما بين (1997-2005 م) عن فعالية مركبات " Tocotrinol " الموجودة في النخيل و التي تنتمي إلى عائلة الفيتامين E [7]حيث أنّ تناولها مع عقار " Tamoxifène "[8] في سن مبكرة تعمل كمادة وقائية تحمي النساء من الإصابة بأورام الثدي السرطانية.



Tamoxifène

ليس هذا فحسب، فقد استُخدِمت بعض الأنواع التي تنتمي إلى عائلة النخيل في مواطنها الأصلية للتداوي من بعض الأمراض ، فاستخدمت : *Areca catechu L.* و *Cocos nucifera L.* لمعالجة الالتهابات الرئوية و أمراض الكبد ، *Sabal serrulata* لمعالجة الأمراض المتعلقة بمشاكل النظام الكلوي [9]. كما أنه يوجد سبب إضافي يحرك فينا الفضول العلمي لمعرفة كل صغيرة و كبيرة عن هذه النبتة علّنا نعرف سرّ تكريم الله عزّ و جلّ للنخلة و ذلك بذكرها 20 مرة في القرآن الكريم أشار تعالى في معظمها أنها من أشجار الجنة ، و مما قاله عز و جل عنها:

- « و هزّي إليك بجذع النخلة تساقط عليك رطبا جنيّا فكلي و اشربي و قرّي عينا» مريم -25-
- « و النخل باسقات لها طلع نضيد » ق -10-
- « و من ثمرات النخيل و الأعناب تتخذون منه سكرا و رزقا حسنا »النحل-67-

صدق الله العظيم.

يتناول بحثنا هذا ثلاث فصول ، يتضمن الأول منها معلومات نباتية و كيميائية عن العائلة النخيلية و النبتة المدروسة و هي الدقلة البيضاء ، و بما أن هدفنا هو معرفة بنية الفلافونيدات المستخرجة من المستخلص البوتانولي فقد ارتأينا أن يكون الفصل الثاني محورا للتعريف بهذه المركبات و ذكر خصائصها و فعاليتها البيولوجية إضافة إلى التقنيات المتبعة لتحديد بنيتها الكيميائية.
أما الفصل الثالث فيشمل الجانب العملي إضافة إلى نتائج البحث و مناقشتها و المتمثلة في دراسة الأطياف و تحديد بُنى الفلافونيدات المستخرجة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المراجع

1. http://www.m3loma.com/nabat/.(ed en arabe).
2. Mills, S.Y.(2002) « ESCOP Research Committee and European Phytotherapy Research Group ». The European Phytojournal, Issue 2.
3. Herbalism, W.(2001)« Clinical Reference, Integrative Medicine Communications ». www. OneMedicine.com.
4. Newman and all.(2003). J.Nat.Prod.
5. Tulkens, P. « Les plantes : Découverte des médicaments par criblage de sources naturelles et ethnopharmacologie ». http://www.md.ucl.ac.be/pharma/FARM3334/2003-2004/2-sources-naturelles/Frederich/Frederich.pdf
6. El-Rachid, N., El-Kahtani, H. (2002). «Les intérêts des palmiers » .Science et technique N=º62. (ed en arabe).
7. http://fr.wikipedia.org/wiki/vitamine _E#Structure.
8. Allain, P.(2005) « Les médicaments » (3ème édition) .
www. pharmacorama .com.
9. www.plantencyclo.com.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الفصل الأول:
النخيل و الدقلة البيضاء

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

I . العائلة النخيلية:

1.I .توزيعها الجغرافي في العالم:

يعتبر اتساع حيّز استعمالات النخلة في حياة الإنسان سببا رئيسيا في اتساع رقعتها الجغرافية حيث لم تبقى الأنواع المتعددة للعائلة النخيلية حبيسة مواطنها الأصلية بل انتقلت زراعتها حتى عبر القارات و الأمر جدّ واضح بالنظر إلى المساحات الخضراء في الخريطة-1- [1] .

الخريطة-1- : توزيع النخيل في العالم

2.I .تصنيفها النباتي:

تصنف العائلة النخيلية كما يأتي **[2]** :

التصنيف النباتي :		
Embranchement	Spermaphytes	الفـــــــرع
Sous- Embranchement	Angiospermes	تحت الفـــــــرع
Classe	Monocotylédones	الصنف
Sous classe	Asteridae	تحت الصنف
Ordre	Arecales (Palmales)	الرتبة
Famille	Arecaceae (Palmae)	العائلة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

و يعتبر هذا التصنيف لعائلة النخيل(**Palmae ou Arecaceae**) آخر تصنيف حيث تم إنجازه عام **1987** م و يعد الأكثر قبولا و اعتبارا، و هو نتيجة لمجموع أعمال كل من:

Nathalie Uhl ، John Dransfield و **Kew** الذين غيروا التصنيف القديم لـ :

Dr H.E Moore المنجز سنة **1973** م [2].

و يقدر اليوم أن عائلة النخيل - و هي العائلة الوحيدة التي تنتمي إلى رتبة Palmales و يعتبر Corner أن هذه العائلة من أقدم العائلات النباتية المزهرة إن لم تكن الأقدم على الإطلاق - تضم حوالي 225 جنسا[3] و حوالي 4000 نوع أو أكثر [4]. و الجدول-1- يشمل بعض الأمثلة [1].

*** الجدول -1-: أهم أقسام العائلة النخيلية ***

SOUS-FAMILLE	TRIBU	SOUS-TRIBU	Nbre de GENRES	Exemples de GENRES (liens hypertexte sur les fiches genres résistant au froid)
Coryphoideae	Corypheae	Thrinacinae	14	Chamaerops
		Livistoninae	12	Acoelorraphe
		Coryphinae	4	Nannorrhops
		Sabalinae	1	Sabal
	Phoeniceae		1	Phoenix
	Borasseae	Lataniinae	4	Latania, Borassus,
		Hyphaeninae	3	Hyphaene, Medemia
Calamoideae	Calameae	Ancistrophyll-inae	3	Laccosperma
		Eugeissoninae	1	Eugeissona
		Metroxylinae	2	Metroxylon, Korthalsia
		Calamineae	8	Calamus, Salacca,
		Plectocomiinae	3	Plectocomia,
		Pigafettinae	1	Pigafetta
		Raphiinae	1	Raphia
		Oncocalami-nae	1	Oncocalamus

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

*** تابع للجدول -1-: أهم أقسام العائلة النخيلية ***

	Lepidocaryeae		3	Lepidocaryum, Mauritia, Mauritiella
Nypoideae			1	Nypa
Ceroxyloideae	Cyclospatheae		1	Pseudophoenix
	Ceroxyleae		5	Ceroxylon, Juania, Orianopsis
	Hyophorbeae		5	Hyophorbe, Gaussia, Wendlandiella
Arecoideae	Caryoteae		3	Arenga, Caryota, Wallichia
	Iriarteeae	Iriarteinae	4	Iriartea, Iriartiella, Dictyocaryum, Socratea
		Wettiniinae	2	Wettinia, Catoblastus
	Podococceae		1	Podococcus
	Areceae	Oraniinae	2	Orania, Halmoorea
		Manicariinae	1	Manicaria
		Leopoldiniinae	1	Leopoldiana
		Malortieinae	1	Reinhardtia
		Dypsidinae	1	Dypsis
		Euterpeinae	6	Euterpe, Prestoa, Hyospathe
		Roystoneinae	1	Roystonea
		Archontoph-oenicinae	7	Archontophoenix, Rhopalostylis,Chambeyronia
		Cyrtostachy-dinae	1	Cyrtostachys
		Linospadicinae	4	Howea, Linospadix,
		Ptychosperm-atinae	9	Ptychosperma, Veitchia
		Arecinae	8	Areca, Pinanga
		Iguanurinae	27	Iguanura, Dictyosperma Palago

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

*** تابع للجدول -1-: أهم أقسام العائلة النخيلية ***

		Oncosperm-atinae	**8**	**Oncosperma, Nephrosperma, Verschaffeltia, Deckenia**
		Sclerosperm-atinae	**2**	**Marojejya, Sclerosperma**
	Cocoeae	**Beccarioph-oenicinae**	**1**	**Beccariophoenix**
		Butiinae	**8**	**Butia, Cocos, Syagrus, Jubaea, Lytocaryum, Parajubaea, Allagoptera, Polyandrococos**
		Attaleinae	**1**	**Attalea**
		Elaeidinae	**2**	**Elais, Barcella**
		Bactridinae	**6**	**Bactris, Aiphanes, Acrocomia, Gastrococos, Desmoncus, Astrocaryum**
		Geonomeae	**6**	**Geonoma, Calyptronoma, Calyptrogyne, Pholidostachys, Welfia, Asterogyne**
Phytelephan-tideae			**3**	**Phytelephas, Ammandra, Palandra**

و تتعدد أهمية المجموعة النخيلية تبعا لما تنتجه من ثمار صالحة للأكل كالنخيل المثمرة (Palmier dattier) و نخيل جوز الهند(Cocotier) أو لما يستخرج منها كنخيل الزيت، الشمع، العاج... و هذه المواد تفيد عادة في الصناعات التجميلية و غيرها و أنواع أخرى يستخرج منها خشب عالي الجودة مثل: Palmier à rotin[2] .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

II . الجنس "*Phoenix*":

أشارت الدراسات إلى أن الجنس *Phoenix* من أوسع أجناس العائلة النخيلية انتشارا [5] حيث يشمل 12 نوعا حسب تصنيف Aug.CHEVALIER كما هو موضح في الجدول-2- [6]:

*** الجدول-2-: توزيع الجنس*Phoenix* في العالم ***

الجنس *Phoenix*	أماكن التواجد (التوزيع الجغرافي)
• ***Phoenix dactylifera*** L.	أفريقيا، آسيا الغربية، و أدخلت إلى أمريكا و أستراليا.
• ***Phoenix atlantica*** A.chev. • ***Phoenix canariensis*** Chaband.	أفريقيا الغربية، جزر الكناري، أرخبيل الرأس الأخضر.
• ***Phoenix reclinata*** Jacq.	أفريقيا الاستوائية، اليمن.
• ***Phoenix sylvestris*** Roxb.	الهند، غرب باكستان.
• ***Phoenix humilis*** Royle.	الهند ، برمانيا ، جنوب الفيتنام.
• ***Phoenix hanceana*** Naudin.	الصين الجنوبية ، التايوان .
• ***Phoenix roebelinii*** O'Brien.	سيلان، تونكين، وسط الفيتنام، اللاوس،تايلاند.
• ***Phoenix farinifera*** Roxb.	الهند، سيلان، وسط الفيتنام.
• ***Phoenix rupicola*** T.Anders.	الهند.
• ***Phoenix acaulis*** Roxb.	بنغال.
• ***Phoenix paludosa*** Roxb.	بنغال، تايلاند، سومطرة، جنوب برمانيا، جزر هندية في خليج البنغال ،جنوب الفيتنام.

بالإضافة إلى المهّجنة(*Phoenix* hybrides) حيث تحتوي على 36 كروموزوم يمكن أن تهّجن فيما بينها بسهولة، لهذا فهناك العديد من الأنواع المهّجنة طبيعيا مثل :

Phoenix dactylifera× Phoenix sylvestris في شمال البنغال ،

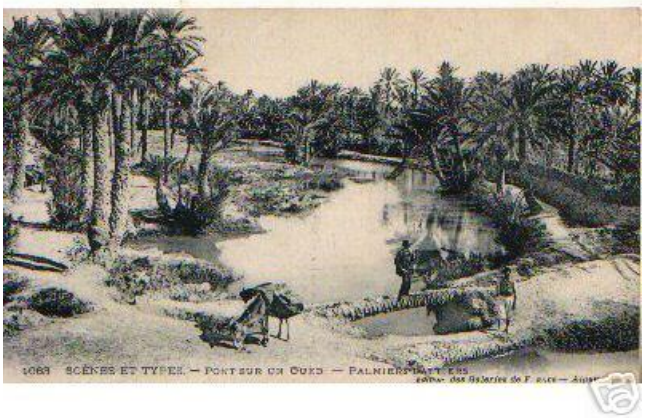
Phoenix canariensis× Phoenix dactylifera في المغرب و الجزائر، بالإضافة إلى التهجين الصناعي بهدف الحصول على نخيل الزينة [7].

و قد اتخذنا كمحور للبحث أحد أهم أنواع النخيل و هي النخيل المثمرة و التي سنتطرق إليها بإسهاب فيما يأتي.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

III . النخيل المثمرة: *Phoenix dactylifera L.*:

1)لمحة تاريخية:



النخيل المثمرة تمثل نبتة هي بصفة عامة ــ و في تصور أغلبية الناس- الماهية المجردة للصحراء، إذ تعتبر النوع النباتي الأكثر انتشارا في المناطق الجافة و شبه الجافة، و كشاهد على المكانة الخاصة المحفوظة لهذه النبتة فإن الكثير من القصص و الأساطير القديمة قد نسبت إلى النخيل المثمرة[5]،كما كانت رمزا مميزا لدى شعوب عديدة حيث مثلت أوراقها لدى الإغريقيين القدماء و الرومان رمزا للنصر، و يمنح الفرنسيون ما يسمى بـــ: Palme académique كأوسمة للأدباء و العاملين على نشر الثقافة الفرنسية. كما وُجدت لدى المصريين القدماء في رسوماتهم و زخارفهم [3]، و أكدت بحوث أنه في سنة 2600 ق.م صنع المصريون من عصارة النخيل نوعا من الخمر سمي بـــ: ' شراب الحياة ' ربما لموت النخلة بعد سحب و لو القليل منه لذا منع استخراجه فيما بعد [8].

و أما اشتقاق تسميتها علميا و هي باللاتينية *Phoenix dactylifera L.* فقد أطلقه عليها Linné سنة 1734م حيث *Phoenix*(Phoiniks بالإغريقية القديمة،Phénix بالفرنسية) تعني ' مثمرة ' و اعتبروها شجرة الفينيقيين [9] ، و *dactylifera* مرجعها إلى اللاتينية ' dactylus' المشتقة من الإغريقية ' daktulos' المرادفة للإصبع(doigt) بسبب شكل الثمرة.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

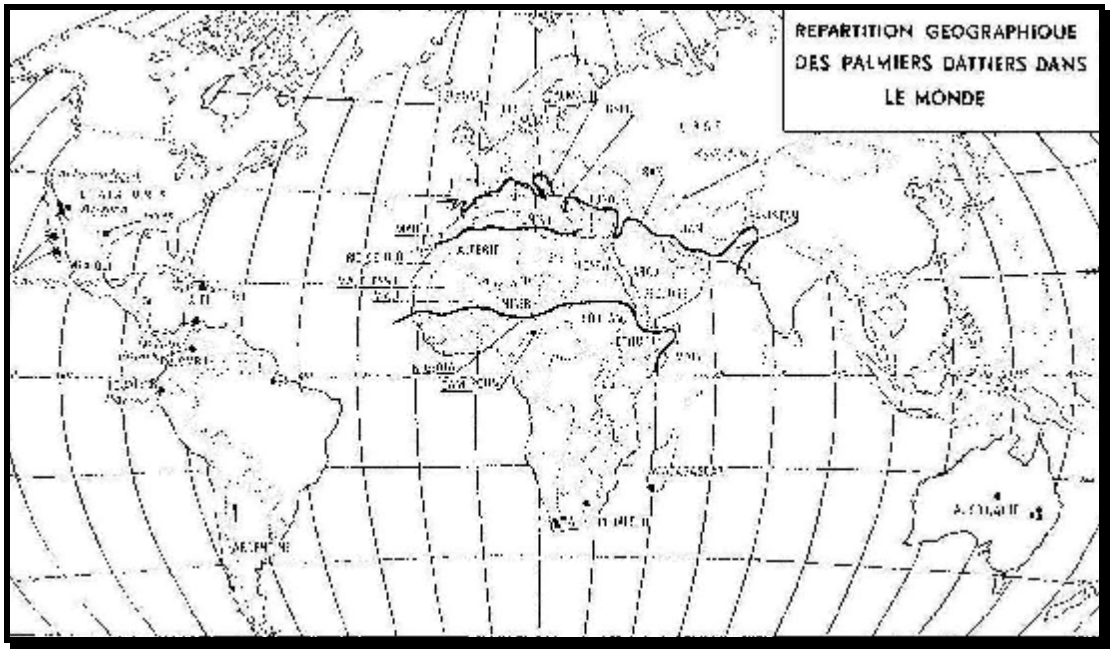
2) التوزيع الجغرافي في العالم:

اختلفت الآراء في الموطن الأصلي للنخلة المثمرة أو نخلة البلح إذ نسبها البعض لبابل بالعراق و نسبها آخرون للأحساء بالجزيرة العربية و في ذلك يقول -ابن وحشية- أقدم مؤرخي العرب في الزراعة "... و إنه يحتمل أن تكون جزيرة حرقان الواقعة على الخليج العربي بالبحرين هي الموطن الأصلي الذي نشأت فيه نخلة البلح و منها انتقلت إلى بابل" ، أما عن وصفها ' شجرة الفينيقيين ' فيحتمل أن السبب هو أن العالم النباتي ' ثيوفر سنوس ' الإغريقي الأصل (372-287 ق.م) قد ارتحل من اليونان إلى فينيقية فرأى النخلة أول ما رآها هناك ، فنسبها إلى فينيقية التي لا تضم أرضها الآن من النخيل شيئا [8] ،و قد نقلت خارج موطنها الأصلي فيما بعد سواء كنبتة مثمرة أو للزينة.

و لقد أدخلت إلى السواحل الشرقية لأفريقيا من قبل العرب، و هذا قبل - و بفترة طويلة- أوائل رحلات الملاحين الأوروبيين في القرن 15 م، و في القرون 17 و 18م إلى جزر القمر و Maxareignes و أيضا إلى مدغشقر، و في القرن 19م إلى أستراليا ، و مؤخرا فقط إلى جنوب أفريقيا. أما إلى العالم الجديد أو القارة الأمريكية فقد تم إدخالها في أوائل القرن 16م أي بعد اكتشاف هذه القارة بفترة قريبة و قد حظيت بمكانة هامة، و كـــذلك الأمر في شمال أفريقيا و الشرق الأوسط أما في غير هذه المساحات فقد وجهت كزراعة خفيفة أو حفظت كنباتات للزينة.

و الخريطة-2- توضح امتداد حزام النخيل في شمال أفريقيا و شبه الجزيرة العربية و الحد الجنوبي لآسيا و أوروبا ، بالإضافة إلى النقاط المبينة في القارة الأمريكية و أستراليا و غيرها [5].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



*** **الخريطة -2-: توزيع النخيل المثمرة في العالم** ***

3) النخيل المثمرة في الجزائر:

يعتبر الإرث الوطني من النخيل ثروة هامة في الجزائر إذ تحتل المرتبة الثانية في بلدان الوطن العربي من حيث عدد النخيل الذي يقدر بحوالي 10.05 مليون نخلة [8] في مساحة تقدر بـــ : 45 ألف هكتار و هذا 7.5 ٪ تقريبا من إجمالي مساحة النخيل في العالم ، أما من ناحية الكثافة فلها المرتبة السادسة بـــ:167 نخلة/الهكتار و المرتبة الثامنة (دائما في العالم العربي) من حيث متوسط إنتاج النخلة في الموسم و هو : 20 كغ [3] ، لكن و في مناطق أخرى من العالم تنتج النخلة الواحدة حتى 100 كغ أو أكثر و هذا التباين الواضح يردّ إلى سبب مهم هو العناية بالنخلة(السقي المنتظم، الأسمدة، ترميلها...) إذ كلما اعتني بها أكثر أعطت أكثر.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

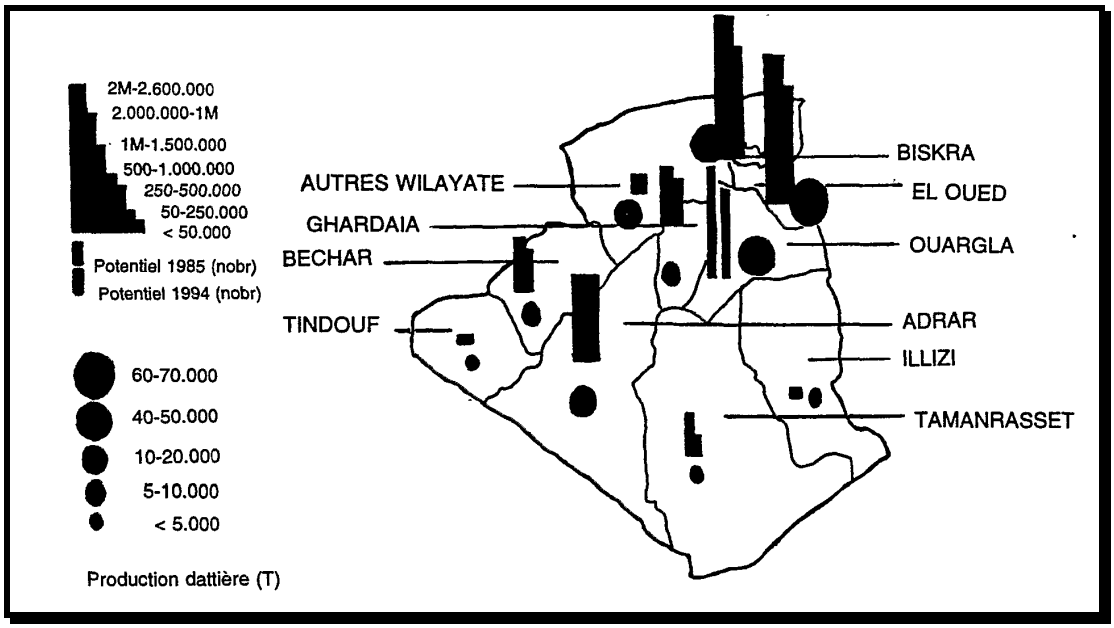
و قد تراجع الاهتمام بها في بلادنا بسبب توقف المصانع المنشأة لهذا الغرض في بداية السبعينيات و نقص اليد العاملة المتخصصة للقيام على احتياجاتها خاصة و أن لهذه النبتة مميزات منفردة ككونها جنسين ذكر و أنثى و لحدوث عملية التلقيح أو انتقال حبوب الطلع من النخلة الذكر إلى الأنثى لا يكفي دور الحشرات أو الرياح كما هو الحال عند باقي النباتات بل يجب أن تتم العملية يدويا أو آليا ، لكن و في مقابل هذا الجهد من الجدير بالذكر أن ' دقلة نور ' و هي من أجود أنواع التمور الجزائرية حسب التصنيف العالمي، تمثل دخلا معتبرا بالعملة الأجنبية إذ وصل سعر 4 إلى6 كغ منها سعر برميل من البترول(12 إلى 18 دولار سنة 1995 م)[8 ، 10] .

و يتميز النخيل في الجزائر بمعدل استيطان جد مرتفع يقدر بـــ: 70٪ في واحات الجنوب الغربي و أكثر من 60٪ في واحات الجنوب الشرقي [11] ، كما بتنوع جيني مهم (العديد من مئات اللمات clones و هي مجموعات نباتية تتميز بصفات نباتية خاصة) [12] و يرجع هذا للطرق التقليدية التي كانت تتبع سابقا و هي أن يترك المزارعون النخيل ينحدر من سلالة أنوية لا يعرفون جنسها أو نوعها و نذكر أن التمييز بين الأنواع يعتمد على مورفولوجية الثمرة (اللون و الحجم) و الورقة (اللون،الطول، شكل و توضع الأشواك عليها) و بعضها يتم التعرف عليه بالاعتماد على دلائل بيولوجية كيميائية و النخيل الأنثوية التي يكون إنتاجها الكمي و النوعي مقبولا يكاثرونها بإعادة زرع الفسائل المتولدة عن النخلة الأم.

إن تقسيم أو توزيع أنواع التمور يتم من خلال مناطق التقسيم العالمية و التي تعتمد بصفة مباشرة على الشروط البيولوجية المناخية التي يتحملها كل نوع مثلا: التمر من نوع دقلة نور في الجزائر، في طولقة -بسكرة- و وادي ريغ هي من نوعية رفيعة في حين أن تلك التي تأتي من مزاب هي بصفة عامة أقل جودة منها [8، 10]، و بالمناسبة تقدر أصناف التمور بالجزائر بحوالي 55 صنف موزعة على مناطق مختلفة مثل: ختمه، مزاب، وادي ريغ، بسكرة، زيبان ، وادي سوف و غيرها من

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المناطق الموضحة في الخريطة -3-[13] ، و أهم هذه الأنواع : الغرس، تكربوشت، بودروة، دقلة بيضاء، دقلة نور، ثورى، تنسين، تاتي ،دقل مغص ، ... بالإضافة إلى أنواع عديدة أخرى [3].



*****الخريطة-3-: توزيع النخيل المثمرة و كثافة إنتاجها في الجزائر*****

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Degla beida:الدقـــلة البيضـــاء IV

Famille : *Arecaceae.*

Sous-famille : *Coryphoideae*.

Tribu : *Phoeniceae.*

Genre : *Phoenix*.

Espèce : *dactylifera*.

Sous espèce : *Degla beida*.

هي النوع الذي سندرس أوراقه بطريقة كيميائية لمعرفة نواتج الأيض الثانوي لها ، حيث تعد الدقلة البيضاء من أهم الأصناف الجافة في الجزائر و تنتشر زراعتها في الزيبان، سوف، واد ريغ و المنيعة و بشكل أقل في مزاب، ورقلة و الأوراس ونادرة في غير هذه الأماكن. و يتم تصدير معظم تمورها إلى بلدان الجنوب (أفريقيا) حيث تصدر في أكياس عادية ، فكونها جافة لا يعرضها للتلف عند التخزين أو النقل ، و هي من الأصناف مبكرة النضج حيث يكون ذلك في شهر أوت في مزاب و سوف، سبتمبر في متليلي و أكتوبر في غيرها أما جنيها فمن أكتوبر حتى نوفمبر.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

شكل التمرة مستطيلة أو رفيعة ذات قمة مائلة حيث لون ' البسر' أصفر و التمر بني فاتح أو عنبري، أما الورقة و تسمى السعف أو الجريد فهي أوراق مركبة ريشية طولها بين : 300-380 سم و عرضها: 80-85 سم[14].

V. أهم الدراسات المنجزة عن النخيل المثمرة:

من خلال بحثنا المكتبي وجدنا بعض البحوث البيولوجية هدفها دراسة دور المركبات الفينولية للنخيل المثمرة في الدفاع الحيوي ضد بعض الأمراض كالبيوض الذي يعد أخطرها على الإطلاق في وقتنا الحالي [15] ، كما وجدنا دراسات حول فعالية بعض أنزيمات الأكسدة الفينولية في النخيل كـــ: peroxidase و polyphenoloxidase و غيرها [16،17] أو حول الفعالية ضد المؤكسدة لبعض المواد مثل : anthocyanins،carotenoids، phenolics كالتي أجريت على ثلاث أنواع مختلفة من التمور الطازجة و المجففة من مناطق مختلفة في عّمان [18].

أما بالنسبة لدراسة المركبات الفينولية الموجودة في النخيل المثمرة فقد وجدنا بحثا تناول بالدراسة نوعا ذو جودة عالية من التمور المسماة دقـــلة نور ***Deglet noor*** (*Phoenix dactylifera*) و كانت المركبات الفلافونيدية المتحـــصل عليها من الثمرة هي الموضـــحة في الجدول -3- [19] :

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المراجع

1. www. France – palmier .com.
2. Guglielmo, A.,Pavone, P., Salmeri, C. « Les palmiers » webmaster , Département de Botanique.
http://www.dipbot.unict.it/Les%20Palmiers/index.html.
3. Atef, M.I., Mohammed, N.H.(1998) « Le palmier de date : culture, protection et production dans le monde arabe » (2 eme eds) . Construction des connaisances : Jalel hazi et leur associés – Alexandarie – Egypte.79,431-433.(ed en arabe).
4. M.Al-Katib,Y.(1988) « Taxonomy of seed plants » La direction de la maison des livres d'imprimerie et de diffusion – Université El Moussal- Bagdad.231-33. (ed en arabe).
5. Munier, P.(1973) « Le palmier dattier ». Maisonneuve & Larose .Paris.
6.Chevalier, Ang.(1952) In « Recherches sur les phoenix africains,R.B.A » (Munier, P. Eds) Maisonneuve & Larose .Paris.
7.Ben Khalifa, A. (1993) « Calcul d'un indice de diversité du palmier dattier dans les oasis Algériennes » Colloque International de Phytogéographie Tropicale. Paris.
8. Waked, A.E. (1973) « Les Palmiers » Bibliothèque d'anglo-Egyptien .Cairo,p.50. (ed en arabe).
9. Maspéro,G. In « Histoire ancienne des peuples de l'Orient dans » (Munier, P. Eds) Maisonneuve & Larose .Paris..
10. Dubost, D. **(**1992) « Aridité, agriculture et développement : le cas des oasis algériennes » Sécheresse, 85-96.
11. Belguedj, M. (1996) « Caractéristiques des cultivars de dattiers du sud-est du Sahara algérien » *Vol* 1, I .T.D.A.S., p. 68.
12. Brac de La Perrière, R. A., Ben Khalifa, A.(1989) « Identification des cultivars de dattiers (Phoenix dactylifera L.) du sud-ouest algérien » Plant Genetic Resources Newsletter, 13-19.
13. Messar ,E.M.(1988) «Le secteur phoenicicole algérien : Situation et perspectives à l'horizon 2010 » Dierction des Services Agricoles, Ouargla.
14. Brac de La Perrière, R. A., Ben Khalifa, A., Hannachi, S., Khitri, D. (1998) « Inventaire varietal de la palmeraie algerienne »Séléction et Impression, Anep Rouiba (Algérie) .44-45.
15. Ziouti, A., El Modafar, C., Boustani, E. (1998) « Rфle des composйs phйnoliques du palmier dattier *(Phoenix dactylifera* 1.) dans sa dйfense contre

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

le bayoud *(Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis)* » 2nd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-2), http://www.mdpi.org/ecsoc/.
16. Qaddoury, A., Amssa, M. (2003) « Endogenous phenolic contents, peroxidase and polyphenoloxidase activities in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) offshoots related to rooting ability » Acta physiol. Plant . *Vol :* 25, n°4, pp. 417-421.
17. Qaddoury, A., Amssa, M. (2004) « Effect of exogenous indole butyric acid on root formation and peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase activities and phenolic contents in date Palm offshoots » Botanical Bulletin of Academia Sinica, *Vol:* 45, n° 2, pp. 127-131.
18. Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., Shahidi, F.(2005) « Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera L.*) varieties grown in Oman » J. agric. food chem. *Vol:* 53, n°19, pp. 7592-7599.
19. Hong, Y.J., Tomas-Barberan, F.A., Kader, A.A., Mitchell, A.E.(2006) « The flavonoid glycosides and procyanidin composition of Deglet Noor dates (*Phoenix dactylifera*) » J. Agric. Food Chem. *Vol:* 54, pp. 2405-2411.

www.manaraa.com

الفصل الثاني:
الفلافونيدات

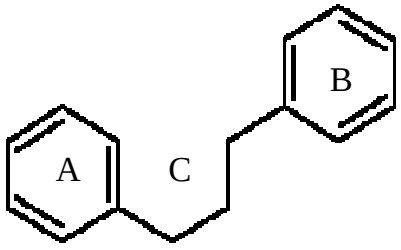
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

I. تعريف الفلافونيدات:

نظرا لإتساع دائرة البحث في مجال المنتجات الطبيعية ، فقد أخذت الفلافونيدات حيزا كبيرا من اهتمام الباحثين باعتبارها من أهم المجموعات الفينولية و القسم البالغ الأهمية من نواتج الأيض الثانوي التي تحدث في جميع خلايا و أنسجة النباتات و الدليل على ذلك أن 8000 نوع من الفلافونيدات في صورتها الإيتروزيدية و الأجليكونية تم استخراجها طبيعيا من النبات [1].

و مصطلح Flavonoide في اللغة الأجنبية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus و تعني أصفر و هي عبارة عن صبغات نباتية صفراء موزعة على جميع أجزاء النبات ، و بشكل أكبر في الجزء الهوائي منه ، مسؤولة عن ألوان الأزهار ، الفواكه و أحيانا الأوراق [2] ، و تتوزع بشكل واسع و تنوع كبير في النباتات الراقية (خاصة Angiospermes) و بشكل جدّ محدود في الفطريات و الطحالب [3].

و قد اكتشفت الفلافونيدات من طرف عالم الكيمياء الحيوية "Albert Szent-györgyi" و الذي صنفها على أساس أنها فيتامين P و أدرك أنها تزيد و تعزز من دور الفيتامين C [4] ، أما كلمة فلافونيد فقد أدخلت عام 1952 م من طرف "Geissman" إشارة إلى جميع الصفات التي تملك الهيكل القاعدي C_6-C_3-C_6 و هي عبارة عن وحدتين عطريتين C_6 (A et B) ترتبطان (C) بسلسلة من 3 كربونات [5] (الشكل1) .



الشكل-1- : الهيكل القاعدي للفلافونويدات

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

II.أنواع الفلافونيدات:

تصنف الفلافونيدات إلى 12 قسما حسب درجة تأكسد الوحدة C [6] ، حيث يمكن تجميعها إلى 5 أقسام رئيسية هي:

-- 2-phénylbenzopyriliums مثل: anthocyanes.

-- 2-phénylchromones مثل:

-flavonols , flavones و مركباتها ثنائية الجزيئة.

-flavanones، dihydroflavonols و مشتقات 2,3-dihydrogénés .

-- 2-phénylchromanes مثل:

-flavanes

-flavan-3,4-diols , flavan-3-ols

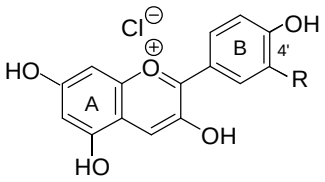
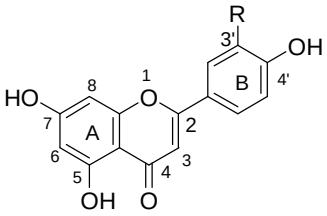
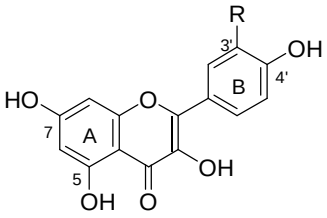
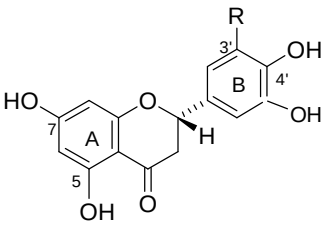
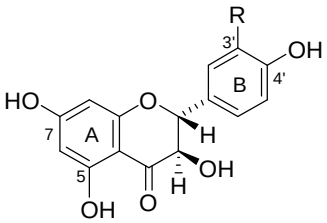
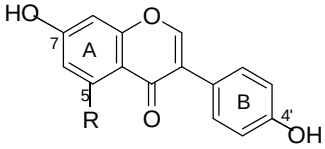
--Chalcones، dihydrochalcones (الحلقة البيرانية مفتوحة) .

--2-benzylidène-coumaranones (=aurones) .

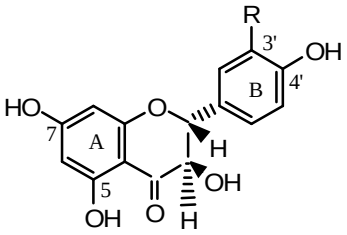
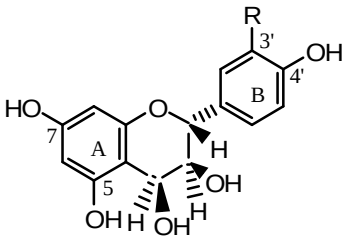
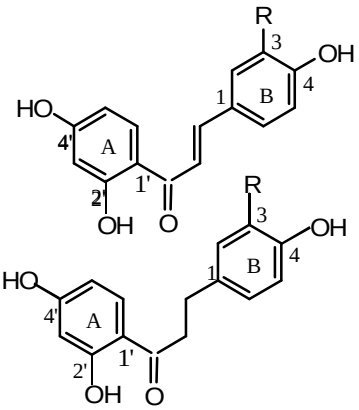
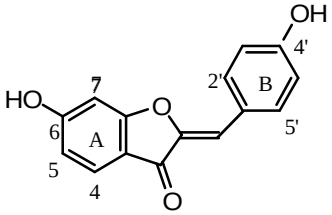
و الجدول -4- يوضح مختلف أقسامها و ألوان تواجدها في الطبيعة:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

*** الجدول-4-: أهم أقسام الفلافونيدات ***

Classe	Sous classe	Coloration	Structure	Exemple
2-phenyl-benzopy-rilliums.	Anthocyanes	Rouge,violet ou bleu		Cyanidine (R = H) Delphinidine (R = OH)
2-phenyl-chromones	Flavones	Violet		Apigénine (R = H) Lutéoline (R = OH)
	Flavonols	Jaune		Kaempférol (R = H) Quercétine (R = OH)
	Flavanones	Jaune		Naringénine (R = H) Eriodictyol (R = OH)
	2,3 dihydro-flavonols ou flavononols	Jaune		Dihydrokaempférol (R = H) Dihydroquercétine (R = OH)
	Isoflavones			Diadzeine (R = H) Genisteine (R = OH)

www.manaraa.com

2-phenyl-chromanes	Flavanes Flavan-3-ol Flavan-3,4-diols		 	Afzéléchol (R = H) Catéchol (R = OH) Leucopélargonidol (R = H) Leucocyanidol (R =OH)
Chalcones Dihydro-chalcones		Jaune		Isoliquiritigénine (R = H) Buteine (R = OH) Dihydro-isoliquiritigénine (R = H) Dihydrobuteine (R = OH)
2-benzylidéne coumaranones	Aurones	Jaune		Hispidol

www.manaraa.com

III.الاصطناع الحيوي للفلافونيدات:

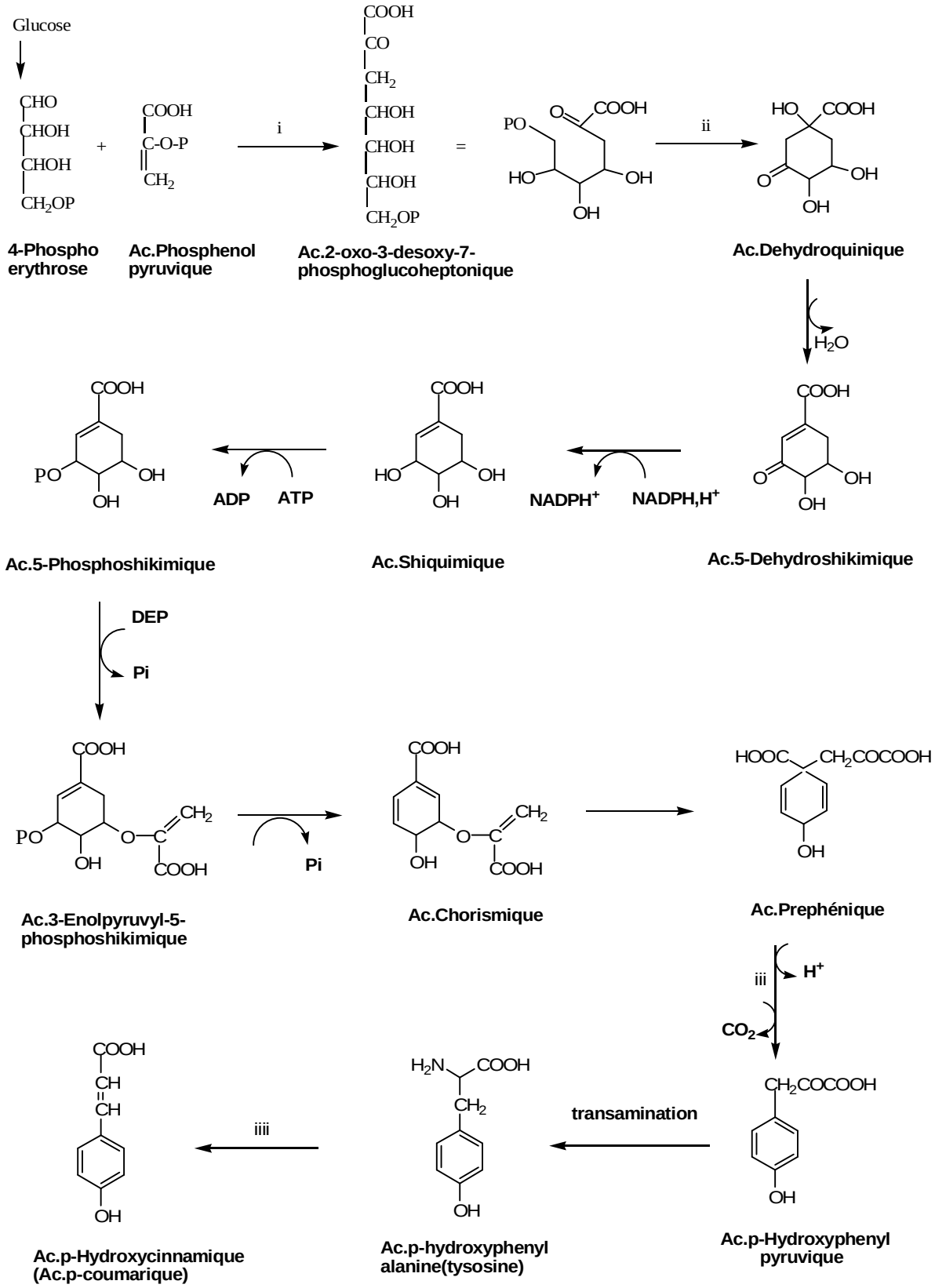
يعتبر استعمال النظائر الموسومة ب: ^{14}C المشع من أهم الطرق التي ساعدت على تتبع الطريقة التي يتم بواسطتها اصطناع المركبات داخل مصادرها الطبيعية أو ما يسمى بالاصطناع الحيوي للمركبات الطبيعية ، حيث - و بالنسبة للفلافونيدات – لاحظ العالم "Robinson" سنة 1936 [7] أن استبدال النواتين البنزينيتين للمركبات الفلافونيدية مختلف جوهريا مما يستلزم أنه ليس لهما نفس الأصل الوراثي الحيوي ، و باستمرار هذه التجارب تمّ التوصل إلى أنّ هذا الاصطناع يتم خلال ثلاث مراحل و هي:

1. **المرحلة الأولى**:

Ø طريق حمض الشيكيميك:

استطاع العالم" Davis " سنة 1955 [8] أن يتتبع تكوين الحلقة (B) و السلسلة الكربونية (C_3) انطلاقا من الجلوكوز و هذا كما هو موضح في الشكل-2- التالي:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل-2-: تكوين حمض Ac.p-coumarique انطلاقا من الجلوكوز مرورا بحمض الشيكميك

www.manaraa.com

الأنزيمات التي رمزنا لها بالحروف من i إلى iiii هي على التوالي:

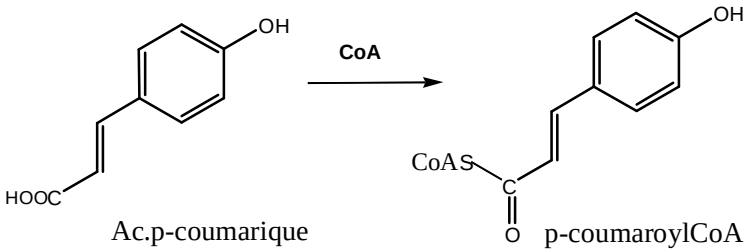
i- Aldolase, 3-désoxy-o-arabinoheptulosonate-7-phosphate synthase ou DHAP synthase.

ii- Déshydroquinate synthase.

iii- Préphénate déshydrogénase.

iiii- Tyrosine ammonia-lyase.

ثم يتحول الناتج وهو Ac.p-coumaroyl (Ac.coumarique) إلى p- coumaroyl- CoA(الشكل-3-) .

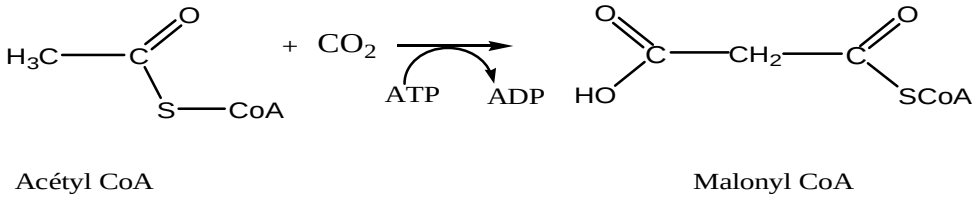


*** الشكل -3- تحول Ac.p-coumarique إلى p-coumaroylCoA ***

2. **المرحلة الثانية:**

Ø طريق الخلات:

يتم تثبيت مجموعة كربوكسيل مع أستيل مرافق-انزيم (Acétyl-CoA) فينتج عنه وحدة (Malonyl-CoA) – الشكل -4- – .



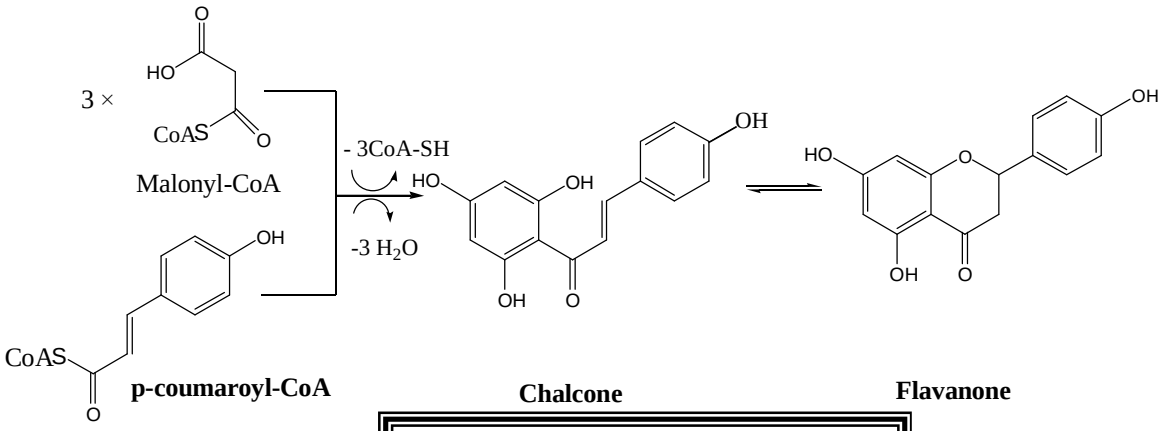
*** الشكل-4-: تشكيل Malonyl-CoA انطلاقا من Acétyl-CoA و CO_2 ***

3. **المرحلة الثالثة:**

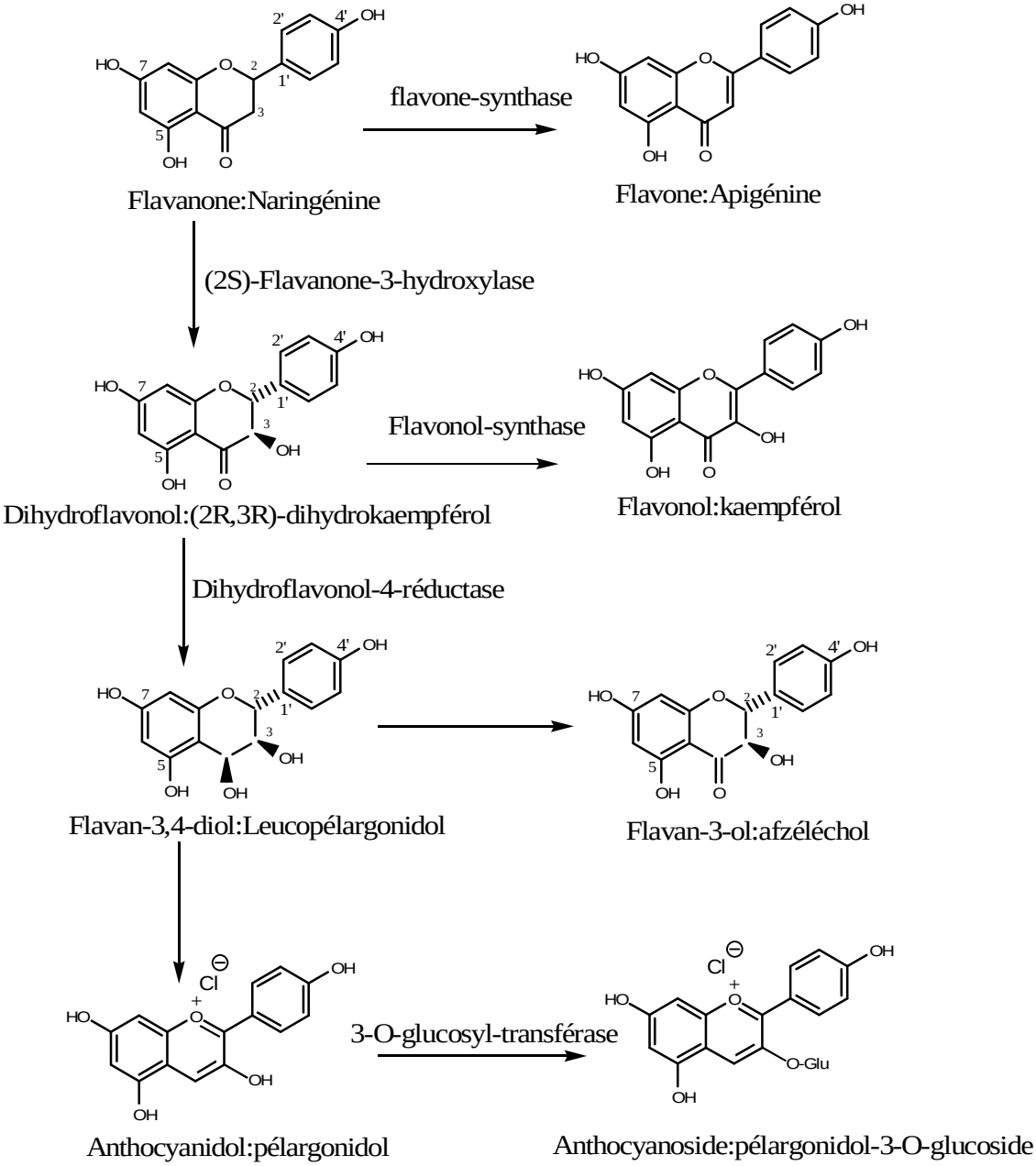
Ø طريق الشالكون:

تتشكل الحلقة(A) من تكاثف ثلاث وحدات من Malonyl-CoA [9] و اتحاد الناتج مع حصيلة المرحلة الأولى(p-coumaroyl-CoA) يعطي الشالكون و هو النواة الأساسية التي تنحدر منها مختلف هياكل الفلافونيدات كما هو موضح في الشكل -5- [5].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



الشكل-5-: الشالكون نواة للفلافونيدات



www.manaraa.com

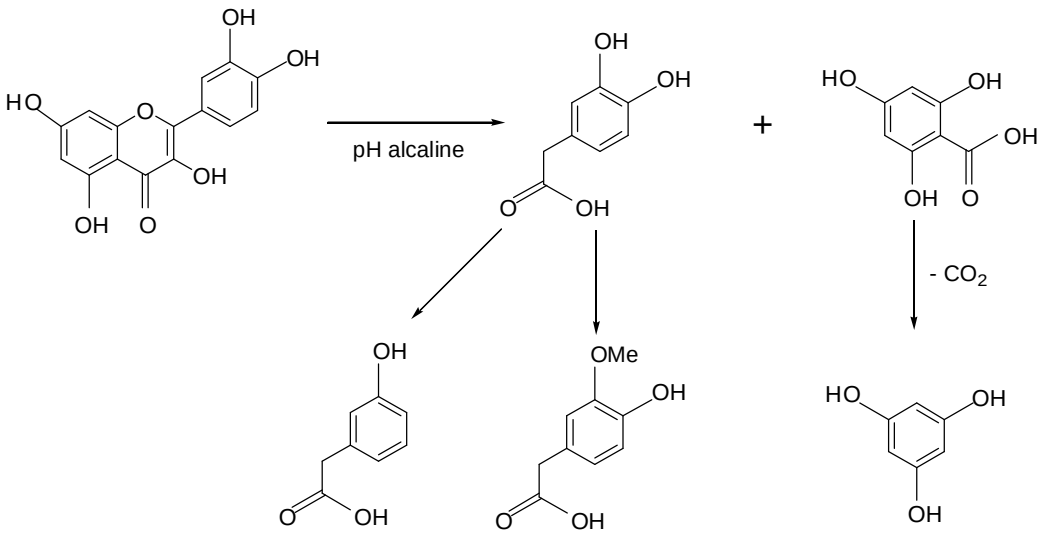
IV.خصائص الفلافونيدات:

ترتبط خصائصها بنوع و قسم الفلافونيد و بحالة وجوده (فلافونيدات حرة ،جليكوزيدية ، كبريتية...) لكن يمكن تلخيص أهمها في النقاط التالية:

- تتغير ألوان الفلافونيدات باختلاف أنواعها فمثلا: الفلافونات ، الفلافونولات و الأورونات تتواجد بألوان تتدرج من الأصفر حتى الأحمر أما الأنتوسيانيدات فلها ألوان متعددة كالأحمر الغامق، البنفسجي و الأزرق.
- تتعلق ذوبانيتها بشكل تواجدها و مستبدلاتها فالفلافونيدات الجليكوزيدية ،الكبريتية و الأنتوسيانيدات تذوب في الماء و الكحول، الفلافونيدات الأجليكونية متعددة الهيدروكسيل تذوب في الكحول(إيثانول، ميثانول، بوتانول) بينما الأقل استبدالا تذوب في الإيثر، خلات الإيثيل، الأسيتون، و بالنسبة للفلافونيدات الأجليكونية متعددة الميثوكسيل فتذوب في المحاليل الأقل قطبية كإيثر البترول و الكلوروفورم[3].
- الفلافونيدات هي العناصر المسؤولة عن إعطاء اللون للنبتة و بصفة خاصة للأزهار مما يمنحها الصفة الجاذبة للحشرات و الطيور التي تنقل حبات الطلع و بذلك تمنح دورة جديدة لحياة هذه النباتات، كما تلعب دور حماية لها إذ تعطي طعما مميزا للنبتة مما يبعد الحشرات الضارة عنها.
- لها دور في مراقبة نمو و تطور النبات و هذا بتفاعلها بطريقة معقدة مع مختلف هرمونات النمو النباتية كما تتكامل فيما بينها لتساهم فيما يسمى بـــ:Phytoalexines و هو إنتاج النبتة لأيض يعالج الإصابات التي تسببها البكتيريا و الفطريات[10].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- تحمي نسيج النبات لكونها تمتص الأشعة فوق البنفسجية (250-270 ن.م) و عليه فهي تحمي المواد الأساسية (البروتينات و الأحماض النووية) من الآثار السامة لهذه الإشعاعات[11] ، كما تساعد على الإنقاص من ظاهرة النتح في المناطق الجافة[12].
- تعتبر مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة ، ذوابة في القواعد القوية مثل: هيدروكسيل الصوديوم. و يتم هدم معظمها في ظروف قاعدية قوية و هذا بتكسير الحلقة C، من أجل هذا ثبت أنّها ليست سامة للإنسان و الثدييات حيث يتم هدمها على مستوى الأمعاء. فمثلا يتم هدم الكرستين على النحو الموضح في الشكل-6-:



*** الشكل -6- هدم جزيئة الكرستين ***

- إن من أهم ميزات الفلافونيدات كونها عناصر ضد مؤكسدة ، و يتمثل فعل ' ضد-الأكسدة ' حسب العالم Halliwell [13] في الفعاليات التالية:

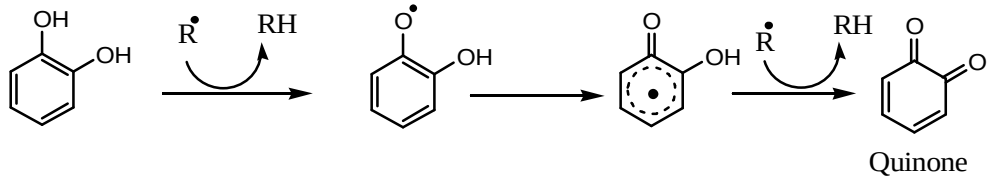
ü الإحاطة بـــ:ROS (Reactive Oxygen Species) و تثبيطها و هي عناصر أوكسجينية تتولد في الخلية عند دخول أكسجين التنفس إليها و التي تسمى بالجذور الحرة للأكسجين و هي عناصر فعّالة في الجسم لكن ارتفاع نسبة إنتاجها يحدث عدم توازن بين بنائها و هدمها مما

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

يسبب ضررا كبيرا بسبب قدرتها على إتلاف الخلايا و الأنسجة و بالتالي الأعضاء مما يجعلها المسبب الرئيسي لعدة أمراض، لكن الدراسات أثبتت تأثير الفلافونيدات عليها كأعمال Pietta Dugas[14] [15] حيث يرتبط الفلافونيد مع الجذر ($R^{\cdot}$) حسب المعادلة التالية:

$$Fl\text{-}OH + R^{\cdot} \longrightarrow Fl\text{-}O^{\cdot} + RH$$

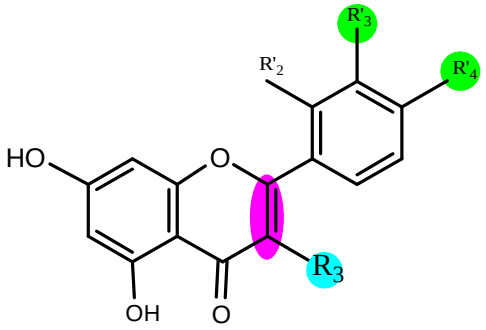
و الجذر الفلافونوكسي ($Fl\text{-}O^{\cdot}$) يمكن أن يتفاعل مع آخر و يعطي صيغة الكينون المستقرة، و يمكن تلخيص ذلك في الشكل -7-:



***الشكل -7- تأثير الفلافونيدات على ROS ($R^{\cdot}$) ***

- تثبيط بعض الأنزيمات كـــ:XO (La xanthine oxydase) و الذي يعتبر المصدر البيولوجي الأكثر أهمية للجذر فوق المؤكسد superoxyde ، و قد أثبتت دراسات العالم Hanasaki و مساعدوه [16] حول مرض La goutte (و هو مرض ناتج عن ارتفاع نسبة حمض اليوريك في الدم) أنّ بعض الفلافونيدات تؤثر على XO و بالتالي تخفيض تركيز حمض اليوريك مما يساعد على السيطرة على هذا المرض. و قد تأكدت هذه النتائج بأعمال Cos و مساعدوه [17] الذين أثبتوا دور الرابطة C_2 -C_3 بالنسبة للفلافونات و الفلافونولات في تثبيط أنزيم XO بالإضافة إلى العناصر الفعّالة الأخرى و الموضحة في الشكل-8-:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

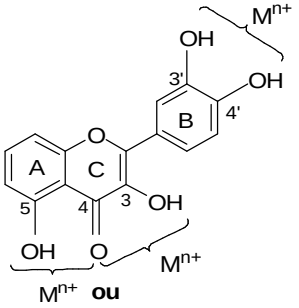


*** الشكل -8-أهم الوظائف الفعّالة في خاصيّة ضدّ الأكسدة***

ü إنّ لبعض الشوارد المعدنية كـــ: Fe^{2+} و Cu^{+} دورا هاما في بعض الوظائف الفيزيولوجية إذ تدخل في تركيب بعض البروتينات المتجانسة Hémoprotéines أو كونها Cofacteurs لمختلف أنزيمات الدفاع الذاتي ضدّ المؤكسد ، لكنّها في نفس الوقت تساعد على إنتاج بعض الجذور الحرّة كما في التفاعل التالي:

$$H_2O_2 + Fe^{2+}(Cu^{+}) \longrightarrow OH^{\cdot} + OH^{-} + Fe^{3+}(Cu^{2+})$$

و لذلك فإنّ ارتباط بعض الفلافونيدات بهذه العناصر يحدّ من إنتاج الجذور الحرّة ، و الشكل -9- يعطي أهم المواقع لتشكل معقدات (complexes) بين الأيونات المعدنية كالحديد و الألمنيوم مع الفلافونيدات[18] :



*** الشكل -9-أهم مواقع المخالب للأيونات المعدنية ***

V .الفعّالية البيولوجية للفلافونيدات:

في السنوات الأخيرة ، ظهر و بشكل جلّي نتائج الأبحاث المكثفة في ميدان الطّب و البيولوجيا و كذا التأثير الدوائي للفلافونيدات و التي بدأت بأعمال Szent Gyorigyi باكتشافه للمادة P [4] و أوصلت للتعرف إلى الفعاليات الآتية:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

1. مضادات للحساسية:

يعود هذا الفعل إلى تأثير الفلافونيدات على إنتاج histamine المسبب للحساسية و ذلك بتثبيطها لبعض الأنزيمات المحفزة كـــ: AMP cyclique phosphodiesterase و ATPase Ca^{2+}-dépendante فمثلا هذا الأخير يساعد على تحرير طاقة تسهل للأغشية الخلوية امتصاص الكالسيوم مما يسمح بتحرير histamine المخزن داخل الحويصلات.

كما أثبتت الدراسات أن مركب quercétine أظهر قدرة أكبر من تلك التي لـــ: Cromoglycate de sodium و هو الدواء المستعمل لتثبيط histamine [19] .

2. مضادات للالتهاب:

تحت تأثير Cyclooxygénase(1) و lipooxygénase(2) يحدث الأيض الذي ينتج عنه acide arachidonique المحرض لحدوث الحساسية ، و قد أثبتLandolfi و فريقه أن بعض الفلافونيدات قادرة على تغيير مسار الاصطناع الحيوي لهذا الحمض داخل الصفائح الدموية [20] حيث ثبت أن كلاً من quercétine و myricétine في تراكيز عالية يثبطان الأنزيمين (1) و(2) أما عند تراكيز واطئة فيثبطان الأنزيم (2)، و بالنسبة للأنزيم (1) فيثبطه كل من apigénine و chrysine.

3. مضادات للقرحة:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

في تجارب أجريت على فئران المختبرات، ثبت أن quercétine و naringénine يلعبان دورا هاما في معالجة القرحة و حماية خلايا المعدة منها ، و بشكل خاص ثبت أن quercétine تظهر فعالية في إنتاج mucus الذي يعد فخا للجذور الحرة المسببة لهذا المرض [19] .

كما نشرت أبحاث لـــ:Izzo تدرس العلاقة بين خصائص كل من : quercétine ، naringénine ، rutine و kaempférol و بين RAF(Platelet Activating Factor) و هو عنصر قوي مسبب للقرحة [21].

4. مضادات للسرطان:

وفق دراسة Bracke فإن لـــ: catéchine و الموجود في كل أنواع الشاي خاصة الأخضر، فعالية ضد-ورمية حيث يثبط t-PA (tissue-type plasminogen activator) و ذلك بربطه بـــ:

laminine و هي جزيئة تلعب دورا هاما عند موت الخلايا [22] ،كما أن هذا الفلافونيد يعزز من مقاومة Collagène [23] المنظم لنمو الخلايا و يثبط Collagènase[24].

إن quercétine أيضا تكبح تزايد نمو الخلايا و تغلق بعض المواقع المستقبلة للهرمونات[25].

5. بعض الفعاليات الأخرى:

a. يمكن لبعض الفلافونيدات أن تمنع حدوث مرض السكري أو على الأقل إنقاصه و هذا بتثبيط أنزيم Aldose réductase [26] ، و حسب أعمال كل من

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Ong و Khoo فإن myricétine يملك فعل hypoglycémiant لدى الحيوانات المريضة بالسكري [28،27].

b. بعض الفلافونيدات تستطيع الإنقاص من خطورة التعرض للأمراض القلبية كـــ : cardiovasculaire [29] .

c. أثبتت الدراسات أنها مضادة للحمى [30].

VI. **التصنيف الكيميائي**:

إن غنى المملكة النباتية جعل تصنيفها بالاعتماد على الخصائص الشكلية المشتركة أمرا غير كاف بل منح الفرصة لعلوم أخرى كي تتدخل و تساعد على إيجاد طرق جديدة للتصنيف كعلم الكيمياء الحيوية النباتية الذي تمكن علماؤه من الوصول إلى وجود مركبات كيميائية تتكون بآليات أيضية معينة في أنواع أو فصائل نباتية دون الأخرى ، مما يكسبها صفة مشخصات تصنيفية.

و قد أخذت الفلافونيدات مكانا هاما في هذا المجال بامتلاكها لميزات عديدة تؤهلها لأن تكون من أهم المشخصات التصنيفية ، ككونها مركبات ثابتة حيث لا تتأثر بسهولة أثناء عملية الاستخلاص كما أنها تخزن في الخلية النباتية و بالتالي لا تتدخل في تفاعلات الأيض ، و تواجدها في النبات لا هو بالواسعة الشاملة كل النباتات كالسكريات و البروتينات و لا هي بالقليلة النادرة بتواجدها في نوع واحد مما يفقدها صفة الأهمية التصنيفية، إضافة إلى سهولة الكشف عنها و التعرف عليها[32،31].

و قد أظهرت بعض الدراسات أنه بالإمكان استنتاج تطور التفرع الوراثي بمعنى الكشف عن شجرة حياة الأنواع النباتية من خلال استخدام الفلافونيدات كمشخصات وراثية و هذا من خلال النتائج التالية[33،32]:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- تتواجد بعض أقسام الفلافونيدات في مجموعات نباتية معينة و تكون مميزة لها كمركبات (biflafonyl) المميزة للنباتات معراة البذور (gymnospermes) و مركبات (isoflavones) التي تميز عائلة البقوليات(leguminose).
- تواجد مركبات الأنتوسيانين يرتبط بالاختيار الطبيعي للون الأزهار.
- المجموعات النباتية الأولية كالطحالب و السراخس تحتوي على فلافونيدات بسيطة بينما النباتات الراقية مثل مغطاة البذور تحتوي على فلافونيدات معقدة.

VII. طرق الدراسة الكيميائية للفلافونيدات:

VII. 1) الكشف عنها:

تعتبر كروماتوغرافيا الورق و مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – دون إهمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة- من أهم طرق التحليل المستخدمة للتحليل الأولي للمستخلصات الخام و هذا للكشف عن الأجليكونات و الجليكوزيدات الموجودة بها.

فبالنسبة لبعض الفلافونيدات مثل: anthocyanines، chalcones، aurones يمكن تمييزها مرئيا على الورق أما غيرها فنلجأ إلى بعض الكواشف لتمييزها و هذا بالفحص المباشر باستخدام الأشعة فوق البنفسجية عند 365 ن.م قبل و بعد الرش بكلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ ، و كذلك الأمر بالنسبة لأبخرة محلول النشادر NH_3 المركز ، حيث تحدث تغيرات في نوع الإستشعاع كما يبين الجدول - 5- [35،34]:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

*** الجدول-5- تأثير NH_3 على لون بعض الفلافونيدات تحت UV***

لون البقعة تحت أشعة UV دون NH_3 بوجود NH_3	الصيغ الكيميائية المحتملة
بنفسجي –أسود أصفر أو أصفر مخضر.	5-OH Flavones;5-OH Flavonols(3-OR,4'-OH)
بنفسجي –أسود تغير طفيف أو عدم التغير في اللون.	Flavones ; Flavonols (3-OR, 5-OH, 4'-OH) Flavones (6-OH ou 8-OH)
أزرق أصفر مخضر أو أزرق مخضر.	Flavones(5-OR) ; Flavonols(3-OR, 5-OR)
أصفر فاقع تغير طفيف أو عدم أو أصفر باهت التغير في اللون.	Flavonols(5-OH) ; Flavones(3-OH,5-OR)

VII. 2) الاستخلاص:

أ) تحضير المادة النباتية:

و هي أوّل الخطوات ،حيث يتم تجفيف الجزء المراد دراسته و يكون عموما من الجزء الهوائي للنبتة وذلك لارتباط الاصطناع الحيوي للفلافونيدات بالعامل الضوئي، كما قد تدرس الجذور،الثمار أو البذور. و تتم العملية في الظل و بعيدا عن الرطوبة و يلي ذلك التنقية و الطحن.

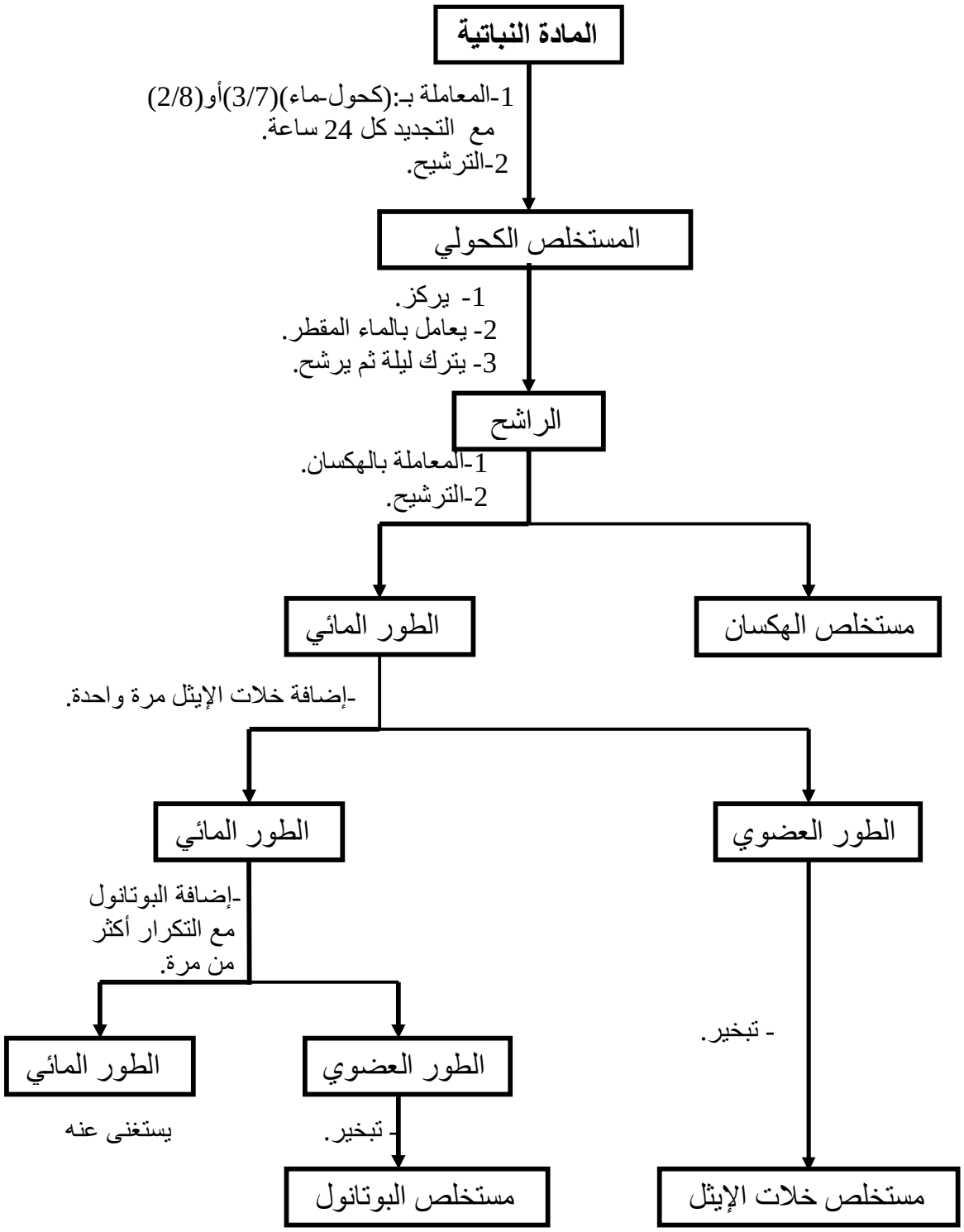
ب) عملية الاستخلاص:

تتم هذه العملية بوضع المادة النباتية في محلول مائي-كحولي (كحول-ماء) بنسبة حجمية (3/7) أو (2/8) حيث يستعمل عادة الميثانول أو الإيثانول أما في حالة المادة الخضراء فيفضل استعمال الميثانول 100٪ و تترك لمدة لا تقل عن اليوم الكامل ثمّ تجمع الرشاحة و تركّز بتبخير المحلول .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

تكرر العملية على الأقل 3 مرات . نعامل المستخلص الخام بالماء المقطر المغلي و نتركه ليلة كاملة ثمّ نرشحه و نبدأ أول الأمر بإضافة الهكسان حتى نتخلص من المركبات ضعيفة القطبية من : دهون، تربينات، كلوروفيل و غيرها. كمرحلة ثانية نضيف خلات الإيثل مرة واحدة إلى الطور المائي الجديد و أخيرا البوتانول العادي لأكثر من مرة . و بتركيز المستخلصات في كل مرة نحصل على مستخلص خام للهكسان ، لخلات الإيثل وللبوتانول العادي و هي التي تنجز عليها عمليات الفصل و التنقية عليها لاحقا. و عملية الاستخلاص ملّخصة في الشكل-10- [36، 37]:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



***الشكل -10- طريقة استخلاص الفلافونيدات من النبات ***

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

VII. 3) الفصل و التنقية:

أ- الفصل:

أهم طرق الفصل و التنقية هي الكروماتوغرافيا التي اكتشفت عام 1903 م من قبل عالم النبات الروسي Twest [38] ، و هي طريقة تحليلية تحضيرية ذات نطاق واسع الاستعمال في فصل الخلائط و تنقية المركبات.

تنقسم إلى أربع تقنيات أساسية هي:

- كروماتوغرافيا العمود(CC).
- كروماتوغرافيا الورق التحضيرية(CPP).
- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية(CCMP).
- كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء(HPLC).

أ-1 كروماتوغرافيا العمود:

تعد هذه التقنية الأكثر استعمالا لفصل الكميات الكبيرة و الأكثر تعقيدا من الفلافونيدات ، و أساسها طوران يتعلق اختيار أحدهما و هو الطور السائل أو المملص بالآخر و هو الدعامة و التي إما أن تكون السيليكاجال، السيليلوز أو متعدد الأميد(SC_6) و يفضل هذا الأخير لاحتوائه على وظيفة الأميد التي تكوّن روابط هيدروجينية مع مجاميع هيدروكسيل المركبات الفينولية. و يتم تحضيره أوّلا بوضعه في الميثانول و رجّه ميكانيكيا لمدة لا تقل عن ساعتين نزيل بعدها الأجزاء الدقيقة التي تكون على سطح السائل و هذا بعد مدة راحة (30 د) ثمّ نضيف الميثانول و نكرر العملية حتى تتجانس أجزاؤه .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

يجفف بعد ذلك للتخلص من آثار الميثانول و يوضع في التولوين لمدة ليلة مع التحريك من فترة لأخرى.

نثبت العمود الذي تتباين أبعاده حسب كمية المستخلص و نضع أسفله قطعة من القطن ثمّ نملؤه بالدعامة المغموسة في المذيب الأقل قطبية، و نستمر في إضافة هذا المذيب وحده حتى تتراص الدعامة جيّدا،نضيف طبقة من رمل خاص (sable de fontaine bleau)أو قطعة قطن و نضع فوقها المستخلص الخام المذاب في أقل كمية من الميثانول و الذي نغسل آثاره بإضافة المذيب الأقل قطبية عدة مرات.ثمّ نعمد إلى زيادة قطبية المملص و نراقب الحزم النازلة بمصباح الأشعة فوق البنفسجية UV عند 365 ن.م ، و نجمع كل حزمة في كسر واحد ،و الذي نركزه تحت ضغط منخفض [38، 39].

أ-2 كروماتوغرافيا الورق التحضيرية:

تعد من أفضل التقنيات المستعملة لفصل الفلافونيدات خاصة القطبية كالفلافونيدات السكرية [37] كما تستعمل على المستخلص مباشرة في حالة عدم غناه بالمركبات الفلافونيدية أو لجمع و فصل الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي.

الدعامة المستخدمة في هذه التقنية هي ورق واتمان رقم 3(Papier Whatman) و تتم العملية كالتالي:

- تحضير الورقة بأبعاد تتلاءم مع الحوض(La cuve).
- وضع المستخلص بواسطة ماصة باستور على كامل عرض الورقة مع بعد 2 سم عن الهامش.
- تترك الورقة لتجف ثمّ تغمس في المملص الذي يبدأ في إنزال الحزم تسلسليا.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- تستمر العملية من 8 إلى 16 ساعة حسب نوع المملص ، نخرج بعدها الورقة لتجف.
- يتم تحديد الحزم بمصباح الأشعة فوق البنفسجية ثمّ تقص الحزم إلى قطع صغيرة و توضع في الميثانول المغلي، بعدها ترشح و تركز الرشاحة.
- في حالة الحصول على مركب نقي تتوقف العملية و إلاّ تستمر بنفس التقنية أو بتقنيات أخرى.

و أهم المذيبات المستعملة في هذه التقنية:

- **ü** حمض الخل بتراكيز مختلفة من 5 إلى 70 ٪ (من 6 إلى 8 ساعات)
- **ü** 5 / 1 / 4 : (الماء / حمض الخل / البوتانول العادي) B.A.W (16-18سا).
- **ü** 1 / 1 / 3 : (الماء / حمض الخل / البوتانول الثالثي) T.A.W .
- **ü** 3 /10/ 30 : (حمض الكلور / الماء / حمض الخل) Forestal (15ساعة).
- **ü** 2.2 / 1 /4 : (الماء / الإيثانول /البوتانول العادي) B.E.W .
- **ü** 1 / 1 : (البوتانول العادي / حمض الكلورN2) (24 ساعة).

ملاحظات:

- بالنسبة لـــ: B.E.W إذا لوحظ وجود أكثر من طور في درجة حرارة الغرفة نضيف القليل من الإيثانول إلى النسبة المذكورة.
- بالنسبة للمملص الأخير نلاحظ وجود طورين فنأخذ الطبقة العلوية.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

و قد طُورت هذه التقنية من بعد واحد إلى ذات بعدين و تتم بنفس الخطوات السابقة و التي تنجز في المذيب العضوي كبعد أول و تجفف الورقة ثمّ نديرها بـــ:90° و نضعها في المذيب المائي كبعد ثان و قد أدت إلى نتائج فصل جيّدة ، خاصة للمركبات الفلافونيدية الإيتيروزيدية [39].

أ-3 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية:

نقوم بتحضير الدعامة بالرّج الجيّد لمتعدد الأميد مع الإيثانول ، السيليكاجال أو السيليلوز مع الماء المقطر ثمّ نضعها بواسطة Etaleur على صفائح من زجاج أو بلاستيك (20×20سم) بسمك منتظم و نتركها تجف ثم نضعها في درجة حرارة 100°م على الأقل لمدة ساعة بالنسبة للسيليكاجال و السيليلوز. بعد أن تبرد نضع عليها العينة بطريقة عرضية على بعد 1.5 سم من خط الانطلاق ونغمسها عموديا في حوض به المملص المناسب و بانتشار هذا الأخير تفصل المركبات على شكل أحزمة نحددها بمصباح UV .نقوم بكشط كل منها على حدى و نغسلها بالميثانول جيّدا في أقماع زجاجية ، تركز بعدها الرشاحة و تفحص لمعرفة درجة نقاوتها.

و تعد هذه التقنية الأكثر استعمالا لتعدد ميزاتها كسرعتها حيث تستغرق من 30 دقيقة إلى 3 ساعات و حساسيتها حيث يمكن الحصول على كميات برتبة 1 إلى 100 مغ كما لا تستهلك كميات كبيرة من المذيبات.

وأهم المملصات المستعملة ملخصة في الجدول -6-:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

*** الجدول-6- : بعض أنظمة الفصل أو المملصات ***

الدعامة الصلبة	المملص
متعدد الأميد	Toluène/MEC/MeOH 4/3/3 Toluène/ EtOH /MEC/ E. pétrole (E.P) 60/10/10/10 MeOH/ H_2O/AcOH 18/1/1 H_2O /EtOH/ MEC/ Acetylacétone 13/3/3/1 H_2O/ MeOH/BuOH/AcOH 60/20/25/2
السيليكاجال	Hexane ou E.P / AcOEt 1/1 Hexane / AcOEt / MeOH 1.5/ 7 /1.5 Toluène / AcOEt / AcOH 5/3/1 ou 4/2/1 Toluène / Ethyl formiat / HCO_2H 5/2/1 Toluène / Pyridine / HCO_2H 36/9/5 Toluène / Dioxane / AcOH 90/25/4 Toluène / Pyridine / Ammoniaque 80/20/1 Isopropanol / AcOH / H_2O 2/1/1 $CHCl_3$ / AcOH 1/1 $CHCl_3$ / MeOH / H_2O 40/9/1 ou 8/4/1 $CHCl_3$ / Acétone / HCO_2H 95/5/1 AcOEt / MEC / HCO_2H / H_2O 5/3/1/1 AcOEt / MeOH / H_2O 100/17/3 AcOEt / MeOH / AcOH 8/1/1 AcOEt / H_2O / MeOH / AcOH 13/3/3/4 AcOEt / Pyridine / H_2O / MeOH 80/20/10/5 AcOEt / MeOH 15/1
السيليلوز	AcOH 10-30٪

أ-4 كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء :

تسمح هذه التقنية بتعيين عدد المركبات التي تحتوي عليها العينة كما قد تفصلها حيث يجر المملص معه المركبات بصفة انتقائية فتفصل المركبات الأكثر قطبية ، تليها الأقل و هذا تحت ضغوط عالية و بذلك تكون كروماتوغرافيا تحليلية تجزيئية . و المملص المستعمل يتكون من مذيبين A و B حيث :

A) الماء / الأسيتونتريل / حمض الخل : 90 / 10 / 4.

B) الماء / الأسيتونتريل / حمض الخل : 20 / 80 / 4.

و ذلك وفق برنامج يحدد نسب تدفق هذين المذيبين.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ب- التنقية:

وهي عملية مكملة لعملية الفصل بها يتم التخلص من الشوائب و الآثار العالقة بالمركب المفصول و نستخدم فيها إما عمودا من متعدد الأميد SC_6 حيث نضع المركب المفصول و المذاب في قليل من الميثانول و نغسله بالتولوين، بعدها نغير المملص تدريجيا بإضافة الميثانول حتى ينزل المركب في شكل حزمة واحدة حيث نتتبعه بمصباح UV في غرفة مظلمة ، أو نستخدم كطريقة أخرى عمودا من السيفادكس (Sephadex LH20) بواسطة مذيب واحد بنفس الطريقة السابقة فنحصل على المركب النقي المطلوب.

VII. 4) الدراسة البنيوية للفلافونيدات:

لمعرفة نوع الفلافونويد المفصول نعتمد على خواصه الكروماتوغرافية كلونه الإستشعاعي و ثابت انحباسه مضافة إلى المعلومات المتحصل عليها من الطرق المختلفة للتحليل الطيفي.

أ-الخواص الكروماتوغرافية:

تتلخص أساسا في عنصرين مهميّن هما:

أ-1.اللون الإستشعاعي:

تتميز الفلافونيدات بأنّها تعطي ألوانا معينة تحت الأشعة فوق البنفسجية و التي تساعدنا على التعرف على نوع الفلافونويد ،و نلخصها بصفة عامة في الجدول -7-:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

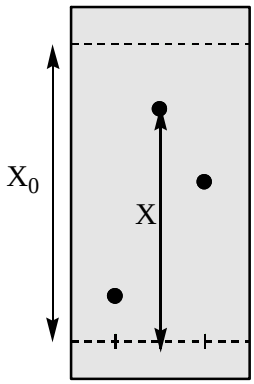
*** الجدول-7-: العلاقة بين لون المركب و بنيته الكيميائية [40،37] ***

المركب لون تحت أشعة UV	البنى الكيميائية المختلفة
بنفسجي-أسود.	. فلافون. . 5،6،7 أو 8،7،5 ثلاثي هيدروكسيل فلافون. . فلافونول مستبدل في الموضع 3. . بعض الشالكونات.
بنفسجي-نيلي.	. فلافونول أو فلافانول يملك هيدروكسيل في 3. . فلافون أو فلافانون دون OH في5. . فلافونول مستبدل في 3 أو دون OH في 5.
أصفر أو أصفر باهت.	. فلافونول مع OH حر في3 أو دون OH في 5.
برتقالي لامع.	.إيزوفلافون.
أصفر مخضر.	. أورون.
أخضر.	. بعض الشالكونات.
أزرق مخضر.	. فلافانون دون OH في 5.

أ-2. معامل الانحباس R_f:

يعرف R_f بأنه: $R_f = x / x_0$ حيث: x هي المسافة المقطوعة من طرف المركب و x_0 هي المسافة المقطوعة من طرف المذيب ابتداء من نفس النقطة. و هو ثابت مميّز لكل مركب و هذا في شروط معينة كدرجة الحرارة ، نوع المملص و بذلك الدعامة...إلخ [41].

و يتم قياس R_f في الأنظمة الثلاثة الآتية:



- Toluène / MEC / MeOH : 4/3/3 v
- H_2O / MEC / EtOH / Acétylacétone : 13/3/3/1 v

CCM على متعدد الأميد.

- Acide acétique : 10 – 30 ٪ v

CCM على السيليلوز.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

و ترتبط هذه القيمة بطبيعة المستبدلات و مواقعها على الجزئ و هذا في مذيبات معينة [41،42،43،44]. فمثلا:

-- كلما زاد عدد OH ↖ ⟸ R_f ↙ في: T/MEC/MeOH 4/3/3(نظام عضوي).

-- كلما زاد عدد OCH_3 ↖ ⟸ R_f ↖ في: T/MEC/MeOH 4/3/3(نظام عضوي).

-- كلما زاد عدد السكر ↖ ⟸ R_f ↖ في: H_2O/EtOH/MEC/Acétylacétone 13/3/3/1.

-- مثيلة OH الموضع 5 ⟸ R_f ↙ في الأنظمة العضوية.

كما يمكن استعمال شواهد معروفة لمقارنتها بالمركب المجهول و من خلال تماثل R_f في أكثر من نظام نماثل المركبات.

ب- <u>طرق التحليل الطيفي:</u>

ب-1 <u>مطيافية الأشعة فوق البنفسجية:</u>

تحتوي الفلافونيدات على مجموعات وظيفية هي المسؤولة عن قدرتها على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية و التي تدعى: Chromophores (تعرّف بأنها عبارة عن مواقع غنية بالإلكترونات كما قد تكون عبارة عن مجموعات كيميائية مثل مجموعة الهيدروكسيل "OH_" ،الميثوكسيل "CH_3O_"...)

و تعد مطيافية الأشعة فوق البنفسجية من أهم الوسائل المستعملة للتعرف على البنية الكيميائية للمركبات الفلافونيدية رغم تطور طرق التحليل الأخرى و قد نشرت أبحاث عديدة تؤكد هذا

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

[46،45،43،38،4] حيث يرجع هذا إلى أسباب عديدة كسهولة و سرعة تحقيقها ،لا تحتاج إلى كمية كبيرة من المركب لإنجازها كما أنها تعطي معلومات وافية عن البنية الكيميائية.

وتتم بتسجيل طيف الميثانول في كل سلسلة ثم إضافة الكاشف و تسجيل الطيف مرة أخرى في الحين ثم بعد مدة زمنية بالنسبة لبعض الكواشف فنحصل على السلاسل الآتية :

1) MeOH .

2) MeOH + 1 قطرة من NaOH (0.5 نظامي في H_2O) و نسجل الطيف في الحال.

3) نفس المحلول السابق نسجله بعد 5 دقائق.

1) MeOH.

2) MeOH + من 5 إلى 6 قطرات من $AlCl_3$ (1٪ في MeOH).

3) نفس المحلول السابق نضيف له من 1 إلى 2 قطرة من HCl 50٪ (6 نظامي).

1) MeOH.

2) NaOAc + MeOH (بزيادة).

3) نفس المحلول السابق نضيف له قطرتين من H_3BO_3 (1٪ في H_2O).

و بهذا نحصل على 9 أطياف ندرسها كما يلي:

ب-1-1 طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي:

يظهر في هذا الطيف و في حالة فلافون أو فلافونول عصابتين أساسيتين (الشكل-11-)هما :

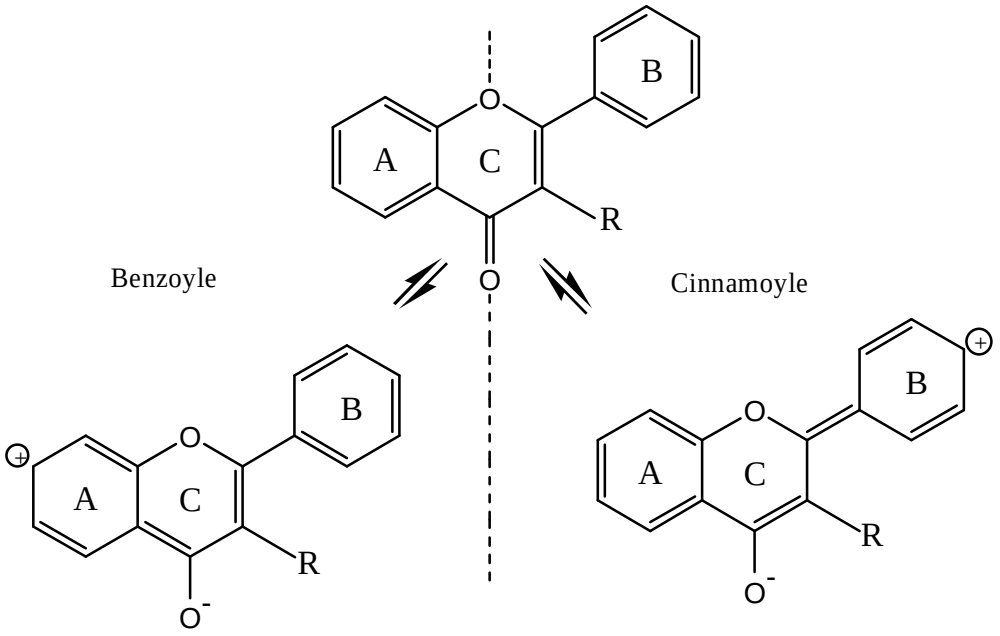
العصابة I :

تظهر بين 305 – 385 ن.م و تعود إلى امتصاص الشكل Cinnamoyle الموضح في المخطط التالي و الذي ينتج عن ترافق مجموعة كربونيل C_4 مع الحلقة البنزينية B و الرابطة الثنائية للحلقة غير المتجانسة المركزية.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

العصابةII:

تظهر بين 250 - 280 ن.م و تعود إلى امتصاص الشكل Benzoyle و الذي ينتج عن ترافق مجموعة كربونيل C_4 مع الحلقة البنزينية A .



الشكل -11- الشكلين السيناموليلي و البنزيلي

و يمكننا التمييز بين الفلافون و الفلافونول من خلال وضعية العصابة I في الطيف الميثانولي حيث تظهر بين 305-350 ن.م بالنسبة للفلافون و 350-385 ن.م بالنسبة للفلافونول[4].

كما يمكننا استخلاص النتائج التالية:

- - تتغير إزاحة العصابة I في حالة تثبيت OH على الحلقة B أكثر مما لو كانت على الحلقة A.

- - استبدال OH بـــ: OCH_3 أو O-sucre في المواقع C_3، C_7، $C_{4'}$ ينتج عنه انزياح Hypsochrome للعصابة I يتراوح بين 3-10 ن.م في حالة $C_{4'}$ و بين 12-17 نم في C_3 و بين 5-15 ن.م للعصابتين في حالة C_7 و يكون التأثير ضعيفا في حالة الاستبدال في المواقع الأخرى .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

***الجدول-8- : أهم الإنزياحات الملاحظة للعصابتين I و II في الميثانول [37] ***

العصابة I (نم)	العصابة II (نم)	نوع الفلافونويد
350-310	280-250	فلافون.
360-330	280-250	فلافونولOH 3 مستبدل.
385-350	280-250	فلافونولOH 3 حر.
330-310 نتوء 330-300 نتوء	275-245 295-275	إيزوفلافون. إيزوفلافون (5-dioxy-6,7 dioxygéné)
390-340	270-230 شدة منخفضة	شالكون.
430-380	270-230 شدة منخفضة	أورون.
560-465	280-270	أنتوسيانيدين و أنتوسيانين.

ب-1-2 الامتصاص في وجود كواشف:

في وجود NaOH (NaOMe):

تؤين NaOH جميع الهيدروكسيلات الفينولية للجزيئة باعتبارها قاعدة قوية جدّا مما ينتج عنه انزياح باثوكرومي (في اتجاه λ الطويلة) لكامل الطيف حيث يظهر هذا التأثير على العصابة I أكثر من II كما يمكن الإشارة إلى :

- حدوث فعل باثوكرومي من 40 إلى 60 ن.م على العصابة I دون نقص الكثافة مع مرور الوقت و هذا معناه وجود OH حر في '4 .
- حدوث فعل باثوكرومي من 50 إلى 60 ن.م على العصابة I مع شدة منخفضة معناه استبدال الموقع '4.
- ظهور عصابة III ما بين 320-335 ن.م هذا معناه وجود OH حر في 7.

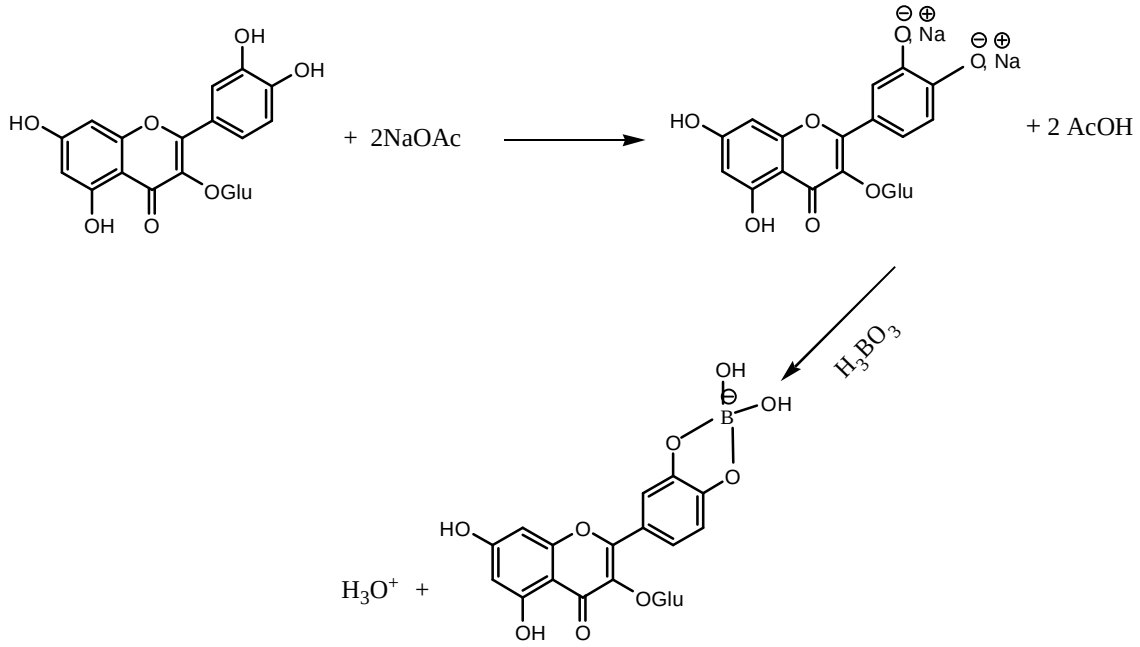
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

في وجود NaOAc:

تؤين NaOAc مجموعات الهيدروكسيل الأكثر حمضية باعتبارها قاعدة أضعف من NaOH أي تؤثر على المجموعات الموجودة في 7، '4 و هي عبارة عن كاشف نوعي لهيدروكسيل الموقع 7 حيث أنه في حالة حدوث انزياح باثوكرومي (+5 إلى +20 ن.م) للعصابة II فهذا معناه وجود OH حر في 7 و عدمه معناه وجود OR في 7 .

في وجود H_3BO_3 + NaOAc:

يستعمل هذا المحلول للكشف عن أورثو ثنائي الهيدروكسيل باستثناء الموضع (5-6) فمثلا يمكن ملاحظة وجوده في الموقع '3 ،'4 بالانزياح الباثوكرومي لـــ:I من 12-63 ن.م [37] و يلغى في حالة استبدال أحدهما ، حيث تتشكل المعقدات الموضحة في الشكل -12- [47]:

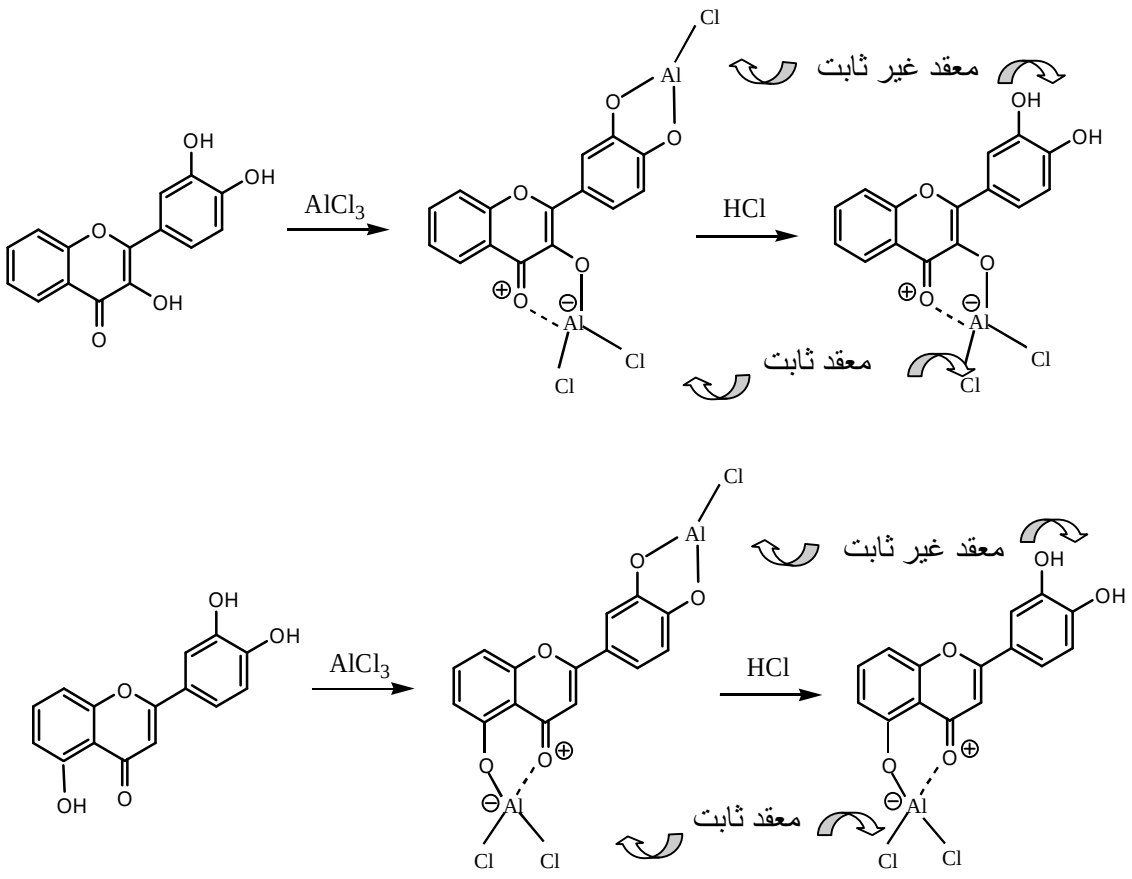


***الشكل-12- تشكيل المعقد في وجود H_3BO_3 + NaOAc ***

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

في وجود $AlCl_3$:

يشكل $AlCl_3$ معقدات ثابتة بين كربونيل الموضع 4 و هيدروكسيل الموضع 3 أو(و) الموضع 5 في الوسط الحمضي أي بعد إضافة HCl ، و معقدات غير ثابتة في الوسط الحمضي مع المركبات المحتوية على هيدروكسيل حر في (3' ، 4')، (7 ، 8)، (6، 7) كما هو موضح في المخطط -13-:



**الشكل-13- المعقدات الثابتة وغير الثابتة بين $AlCl_3$ و بعض الفلافونيدات في وجود وغياب HCl **

www.manaraa.com

- في وجود $HCl+AlCl_3$:

نقارن الطيف المسجل في وجود $AlCl_3$ مع المسجل بعد إضافة HCl فتكون الإزاحة إيبسوكرومية (30-40 ن.م) للعصابة I في حالة وجود معقد غير مستقر و هذا معناه وجود أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A وB و بذلك يكون طيف $AlCl_3$ الممثل لتأثير كل المعقدات الثابتة و غير الثابتة أما طيف $AlCl_3$+ HCl فطيف المعقدات الثابتة فقط.

***الجدول-9-: جدول يلخص تأثيرات الكواشف على طيف UV و تعليلاتها ***

الكاشف	الإزاحة(ن.م) العصابة I(ن.م)	 العصابةII(ن.م)	التعليل
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 $\Delta\lambda_{NaOAc}$ (I) < $\Delta\lambda_{NaOH}$ (I)	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		أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B. أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة A

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

	+20إلى +25 للعصابة I مقارنة بطيف $AlCl_3$ +HCl	(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.

ب-2 مطيافية الكتلة:

تستخدم هذه التقنية لسببين أولهما أنها لا تحتاج إلى كمية كبيرة من العينة و ثانيهما المعلومات التي يمكن استقاؤها لتعيين البنية الكيميائية للفلافونيدات و المتمثلة في الوزن الجزيئي، عدد و نوعية المستبدلات الهيدروكسيلية و الميثوكسيلسة المرتبطة بالأجليكون، بالإضافة إلى توزيعها على الحلقتين A و B[37].

و نعتمد لدراسة الفلافونيدات تقنيتين أساسيتين هما:

تقنية القذف الإلكتروني (I.E) و تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B).

ب.1.2 تقنية القذف الإلكتروني (I.E):

تستعمل هذه التقنية في حالة الأجليكونات فقط لأن المستبدلات السكرية للجليكوزيدات لا تتحمل الطاقة القوية التي تتطلبها هذه التقنية، كما أنها أي الجليكوزيدات لا تتميز بخاصية التطاير و التي تعتبر مبدأ للعمل إذ يتم تطيير المركب في غرفة التأين في درجة 100-300 م° ثم يقذف بسيل من الإلكترونات لتأينه وفق المعادلة[48،49] :

$$M + 1é \longrightarrow M^{+\bullet} + 2é$$

- حالة الأجليكونات :

**أجليكون الفلافون:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

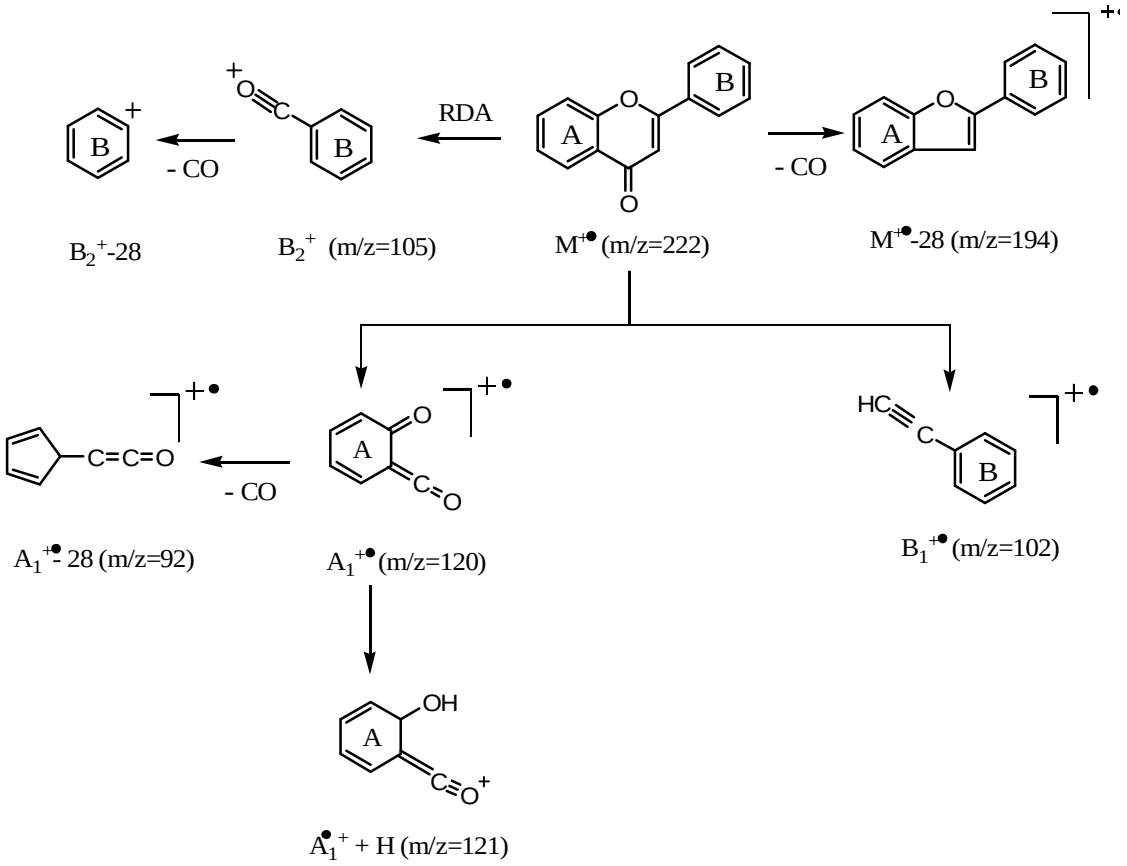
حسب دراسة Audier [50] فإن الانشطار يكون من نوع RDA (Retro-Diels-Alder)

على مستوى الحلقة C ينتج عنه قمة A_1^+ مميزة للحلقة A و قمتين B^+_1، B^+_2 مميزتين لـــ B .

*** الجدول-10- : أهم انشطارات أجليكون الفلافون ***

الشطر	القمة(*m/z*)	التعليل
$A^{+\cdot}$	120	الحلقة A غير مستبدلة.
	121	الحلقة A أحادية أو متعددة الهيدروكسيل.
	153-152	الحلقة A ثنائية أو متعددة الهيدروكسيل.
	167-166	الحلقة A أحادية الهيدروكسيل ، أحادية الميثوكسيل .
	183-182	الحلقة A ثنائية الهيدروكسيل ، أحادية الميثوكسيل .
$B^{+}\cdot$	102	الحلقة B غير مستبدلة.
	118	الحلقة B أحادية الهيدروكسيل.
	134	الحلقة B ثنائية الهيدروكسيل.
	148	الحلقة B أحادية الهيدروكسيل ، أحادية الميثوكسيل .
	150	الحلقة B ثلاثية الهيدروكسيل.
	162	الحلقة B ثنائية الميثوكسيل.
	(15-B)87	الحلقة B تكون O-méthosylée.
	القمة A أكبر من B	مشتق غير مؤكسجن على B.
	القمة B أكبر من A	الحلقة B لها ميثوكسيل.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



***الشكل-14- آلية انشطار أجليكونات الفلافون

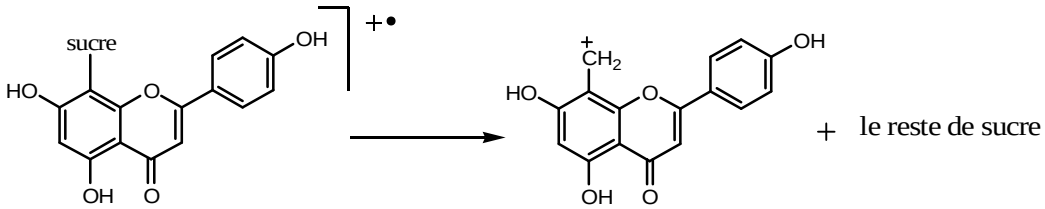
** أجليكون الفلافونول:

يحدث انشطار Diels-Alder و يتبعه ظهور أيونين مهمين هما : B^+_2 (C) ، $[A_1+H]^{+\cdot}$ (D) حيث الأول يعبر عن الحلقة B و الثاني عن A بالإضافة إلى القمة الأساسية و هي للأيون الجزيئي $M^{+\cdot}$.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

حالةالجليكوزيدات:

- في حالة ما إذا كان الفلافون مرتبط بالسكر برابطة O-glucosidique فإن هذا يؤول إلى حـــذ ف أو إزالة الجزء السكري ، لذلك يكون طيف الكتلة هو طيف الأجليكون إضافة إلى قمم قليلة الأهمية.
- في حالة إذا كانت الرابطة C-glucosidique حرة فإن الطيف لا يحتوي على الأيون الجزيئي و تكون القمة الأساسية هي الجزء الأجليكوني المحتوي على CH_2^+ و ينتج عنه فقد جزئ السكر[37].



*** الشكل -16- شظية الفلافونيد بعد فقد السكر ***

و لهذا تستعمل مشتقات هذه المركبات خاصة الميثيلية و يحتوي طيفها على قمة الأيون الجزيئي التي تكون بشدة مابين 15-100 ٪ و قمم أخرى كـــ: $[M-OCH_3]^+$التي تكون غالبا القمة الأساسية (Pic de base)و يلاحظ في المركبات أحادية السكرC-6 و ليسC-8 ،والمركبات ثنائية السكر في C-6,C-8، و $[M-sucre]^+$ ...إلخ[51].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ب.2.2 تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B):

تعد من التقنيات الحديثة ،تستعمل لتأيين المركبات الطيارة و الجزيئات التي تتكسر بالحرارة دون تسخين كالجليكوزيدات (O-glycosides) و التي نتحصل منها على طيف به معلومات تخص الجزء السكري إضافة إلى الأيونات المميزة للفلافونيدات .

و تعتمد هذه التقنية على وجود منبع تفريغ (كاثود) و الذي يؤين ذرات الأرغون فنحصل على (Ar^+):

$$Ar \longrightarrow Ar^+ + 1é$$

و التي تدخل إلى غرفة الصدم المحتوية هي الأخرى على غاز الأرغون و تحت ضغط معين يحدث إنتقال الشحنة بين Ar و Ar^+ كما يلي:

$$Ar^+ + Ar \longrightarrow Ar + Ar^+$$

تبقى الذرات الناتجة (Ar) محافظة على طاقتها و عند خروجها من غرفة الصدم نحصل على الخليط $(Ar^+ :Ar)$ ،نعزل منه Ar^+ بلوحي مكثفة و بذلك نحصل على سيل من ذرات Ar تدخل إلى غرفة التأين لتصدم ذرات المركب المدروس الموضوعة على لوح معدني فنحصل على أيونات المركب التي يتم قلعها ، تسريعها و تحليلها بعد ذلك [52].

ب-3 مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H R.M.N :

نستقي من هذه التقنية معلومات مهمة لبروتونات المركبات الفلافونيدية من خلال انزياحها و ثوابت تزاوجها بالإضافة إلى درجة تأكسد الحلقات A،B و C ، عدد السكريات الموجودة في المركب و نوع الرابطة α،β بين السكر و الأجليكون و عدد مجموعات الميثوكسيل في المركب ... .

و يمكننا التمييز بين مختلف أنواع البروتونات بالاعتماد على المعلومات الآتية:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ب.1.3البروتونات الأروماتية:

- بروتونات الحلقة A (الجدول-11-) [4]:

*** الجدول-11- :إزاحة و ثابت تزاوج بروتونات A في بعض الفلافونيدات ***

الفلافونيد	H-5	H-6	H-8
5,7- OH	-	*d* (*J*=2.5Hz) 6.0-6.2ppm	*d* (*J*=2.5Hz) 6.3-6.5ppm
5-OH, 7-OR(R = sucre)	-	*d* (*J*=2.5Hz) 6.2-6.4ppm	*d* (*J*=2.5Hz) 6.5-6.9ppm
5,6,7- OR(R = H, sucre)	-	-	*s* (6.3ppm)
5,7,8- OR(R = H, sucre)	-	*s* (6.3ppm)	
7- OR(R = H, sucre)	*d* (*J*=9Hz) 8.0 ppm	*dd* (9Hz ,2.5Hz) 6.7-7.1 ppm	*d* (*J*=2.5Hz) 6.7-7.0 ppm

- بروتونات الحلقة B(الجدول-12-):

تتراوح الإزاحة الكيميائية لبروتونات الحلقة A بين: 6.0 و 7.0 ppm و هذا وفقا للمستبدلات الموجودة على الحلقة B و درجة تأكسد الحلقة C.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

*** الجدول-12- : إزاحة و ثابت تزاوج بروتونات B في بعض الفلافونيدات ***

الفلافونويد	الإشارات التي تظهر في الطيف
عند : $C_{4'}$ -OR	1- لدينا البروتونات في:2'،3'،5'،6' و بسبب الدوران الحر لـ B تظهر على شكل زوج من الإشارات الثنائية (J=8.5Hz) في: 7.9-6.7 ppm حيث H (3'،5') في مجال أعلى من H (2'،6') و هذا بفعل حجب مستبدلC4'على الأولين والتعرية الناتجة عن الحلقة C للأخيرين. 2- في حالة الفلافون كل من الثنائية: (3'،5')،(2'،6') تظهر على التوالي في الإزاحة: (7.1-6.5) (7.9-7.7) ppm. 3- في حالة الفلافونول كل من الثنائية: (3'،5')،(2'،6') تظهر على التوالي في الإزاحة: (7.1-6.5) (8.1-7.9) ppm.
عند: $C_{4'}$ -OR $C_{3'}$ -OR	1- لدينا البروتونات في:2'،5'،6' حيث يظهرH-5' كإشارة ثنائية (J=8.5Hz) في المجال 7.1-6.7 ppm ، H-2' كإشارة ثنائية (J=2.5Hz) غالبا ما تتداخل مع إشارة H-6' التي تكون ثنائية ثنائية (J=2.5Hz, 8.5Hz) و كلاهما يظهران في المجال: 7.9-7.2 ppm. 2- يمكن التمييز بين الفلافونولات الآتية من خلال الموضع التقريبي لـ H-2' و H-6' حيث: -- في الفلافونولين(3',4'di-OH ; 3'-OH,4'-OMe) يكونH-2' في حوالي7.7-7.5 ppm و H-6' في 7.9-7.6 ppm بنفس الثوابت السابقة(التعددية و J). -- في الفلافونولات (4'-OH ; 3'-OMe) يكونH-2' في حوالي7.6-7.8 ppm وH-6' في 7.6-7.4 ppm بنفس الثوابت السابقة(التعددية و J).
عند: $C_{4'}$ -OR $C_{3'}$ -OR $C_{5'}$ –OR	في حالة تماثل المستبدلات يكون لدينا البروتونين H-2'،H-6' و يكونان متكافئين و يظهران كإشارة أحادية واحدة بتكامل 2H بين: 7.5-6.5 ppm.

- بروتون الحلقة C:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

-- في حالة الفلافون ، يعطي بروتون H-3 إشارة أحادية حادة في المنطقة 6.2-6.4 ppm و بالتالي تتداخل مع إشارة بروتوني الحلقة A H-6 (أو H-8) و ذلك في حالة :5,7,8-OH (5,6,7-OH) على التوالي.

ب.2.3. البروتونات الأليفاتية:

تتمثل في بروتونات الميتوكسيل و التي تكون تقريبا في المجال 3.5-4.1 ppm و التي تتغير إزاحتها تبعا لتأثير المستبدلات القريبة .

ب.3.3. بروتونات السكر:

لدينا نوعان من الجليكوزيدات :

- الجليكوزيدات أحادية السكر:

Ø إشارة البروتون الأنوميري "H-1 تكون عموما في مجال أدنى من مجال بقية بروتونات السكر.

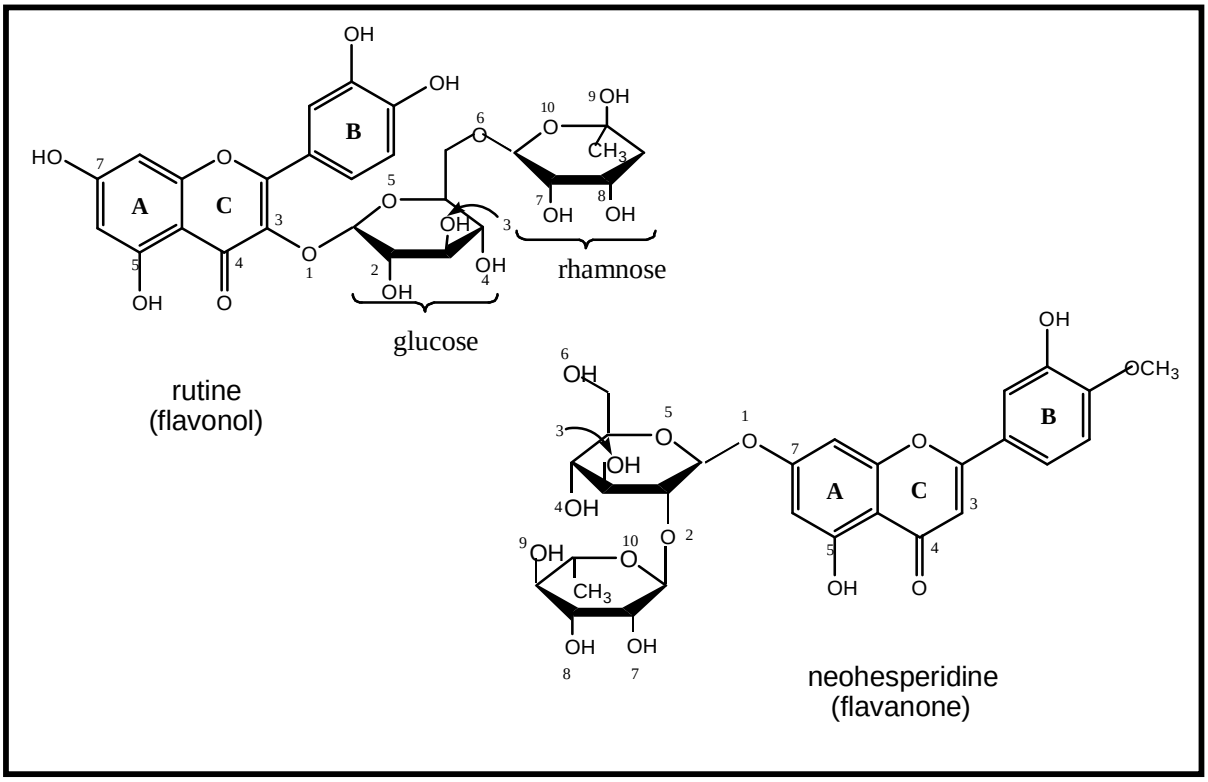
Ø من خلال ثابت الاقتران بين "H-2 نتعرف على نوع الرابطة α أو β بين السكر و الأجليكون ففي حالة سكر الجلوكوز الذي يكوِّن دائما الرابطة β يعطي "H-1 إشارة ثنائية (متعددة في حالة 7-O-glucosides) بـــ:J=7Hz ناتج عن تزاوج ثنائي محوري مع "H-2 ،أما في حالة سكر الرامنوز حيث يمكن أن تكون الرابطة α يعطي إشارة "H-1 بـــ: J=2Hz نتيجة اقتران "استوائي- استوائي" بين "H-1 و "H-2.

Ø نتعرف على سكر الرامنوز من خلال إشارة مجموعة ميثيل الرامنوز التي تظهر في 0.8-1.2 ppm كثنائية بـــ J=6Hz أو إشارة متعددة [4].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

- <u>الجليكوزيدات ثنائية السكر:</u>

Ø أغلب مركبات (Rhamnoglucosyl flavonoides) يكون الجزء السكري منها إما Rutinoside أو Neohesperidoside اللذان يختلفان في كيفية ارتباط الرامنوز بالجلوكوز.



*** الشكل -17- : جزيئتي rutine و neohesperidine[53] ***

إشارة "H-1 في (7, 3-O-rutinosides) تتمركز في المجال 4.2-4.4 ppm بـــ (*J*=2Hz) و تظهر إشارة بروتونات ميثيل الرامنوز في: 0.7-1.0 ppm ، أما إشارة "H-1 في : (7,3-O -neohesperidosides) فتتمركز في المجال 4.9-5.0 ppm بـــ (*J*=2Hz) و تظهر إشارة بروتونات ميثيل الرامنوز كثنائية (*J*=2Hz) عند: 1.1-1.3 ppm [54].

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

جـــ- الحلمهة الحمضية :

هي الطريقة المستخدمة لمعرفة نوع السكر المرتبط بالأجليكون في المركبات الفلافونيدية الجليكوزيدية ، كما تعطينا فكرة عن كون المركب جليكوزيدا من نوع (O-glycosyl) أو (C-glycosyl) لأن الرابطة من النوع الثاني مقاومة للتحليل الحمضي.

تتم الحلمهة بإضافة 2 ملل من HCl (2N) إلى الجليكوزيد الموضوع في أنبوب إختبار ، و يسخن في حمام مائي (100م°) مدة ساعة حيث ينفصل الجزء السكري عن الأجليكون ، حيث نجري الاستخلاص سائل – سائل باستعمال الإيثر ،أسيتات الإيثيل والبوتانول النظامي مع تكرار عملية الاستخلاص مرتين لكل مذيب بالترتيب المذكور سابقا، ثم نجمع و نركز الطبقة العضوية لكل واحد على حدا . نجري أطياف UV في الميثانول و نقوم بمقارنة كوكروماتوغرافية باستعمال الشواهد للتعرف على الأجليكون.

أما الشق السكري فيبقى في الطور المائي الذي نركزه حتى الجفاف من جهة ، و من جهة أخرى نأخذ طبقة من السيليكاجال ($60F_{254}$) و نرشها بمحلول من NaH_2PO_4 و بعد جفافها في الهواء توضع في فرن (100م°) مدة ساعة، لنضع بعدها نقطة من الطبقة المائية المحتوية على السكر مع بعض الشواهد السكرية المعروفة و هذا بمراعاة التجانس في التراكيز .

نستعمل $(CH_3)_2CO/H_2O$ 9:1 كمملص و عند جفاف الكروماتوغرام نرشه بكاشف مالونات الإيثلين ثم يوضع من جديد في فرن (100م°) مدة 5 دقائق ، حيث تظهر بقع السكريات داكنة و نقوم بمقارنة R_f السكر المجهول مع بقية الشواهد المعروفة لنتبين نوعه.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

المراجع

1. Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M.(2002)« Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes » .chem.biol.interact.139,1-21.
2. Harborne, J.B.(1975) « The flavonoids » *Vol.I,* Chapman and Hall.
3. Docencia.udea.edu.co/~farmacogfit/Flavonoides/D_main.html - 3k
4. Mabry, T.J., Thomas, M.B., Markham, K.R.(1970) « The systhematic identification of flavonoids », p. 13, Springer-Verlag, Berlin .
5. Bruneton, J.(1999) « Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales», p.1120, (3ème édition) Tec & Doc Lavoisier .Paris.
6. Bruneton, J.(1993) « Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales », p.266, (2ème édition) Tec & Doc Lavoisier .Paris.
7. Robinson, R.(1936) Nature., 137,1172.
8. Davis, B.D.(1955) Advancedas in Enzymology, 16 ,227.
9. Dendougui, H. (1989) Thèse de magister , Université de Constantine.
10. MARFAK, A.G.(2003) Thèse de doctorat ,Université de Limoges.
11. Mc.Lure, J.W. (1975) In « Physiology and Fonction of flavonoids» (Harborne, J.B. eds) Chapman and Hall. London, 970-1055.
12. Wollenweber, E., Dietz, V.H.(1980) Biochemical Systematicsv and ecology. 8, 21.
13. Halliwell, B.(1994) « Free radicals and antioxidants : a personal view» Nutr. Rev. 52: 253-265.
14. Pietta, P. G.(2000) « Flavonoids as antioxidants » J. Nat. Prod. 63: 1035-1042.
15. Dugas, A.J., Castaneda-Acosta, J., Bonin, G.C., Price, K.L., Fischer, N.H. Winston,G.W.(2000) « Evaluation of the total peroxyl radical-scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships » J. Nat .Prod. 63: 327-31 .
16. Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S.(1994) «The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids » Free Radic. Biol. Med. 16: 845-850.
17. Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P.,Cimanga, K., Van-Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J., Vanden Berghe, D.(1998) « Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers » J. Nat. Prod. 61: 71-76.
18. Van Acker, S.A.B.E., van den Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., van Bennekom, W.P., van der Vijgh, W.J.F., Bast, A.(1996) « Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids » Free Rad. Biol. Med. 20: 331-342.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

19. Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F.(1999) « Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs » Review. Life Sci. 65: 337-53.
20. Landolfi, R., Mower, R.L., Steiner, M.(1984) « Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids » Structure-activity relations. Biochem Pharmacol. 33:1525-1530.
21. Izzo, A.A.(1996) « PAF and the digestive tract » A review. J. Pharm. Pharmacol. 48: 1103- 11.
22. Bracke, M., Vyncke, B., Opdenakker, G., Foidart, J.M., De Pestel, G., Mareel, M.(1991) « Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro » Clin Exp Metastasis. 9 :13-25.
23. Scutt, A., Meghji, S., Canniff, J.P., Harvey, W.(1987) « Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis» Experientia. 43: 391-393.
24. Makimura, M., Hirasawa, M., Kobayashi, K., Indo, J., Sakanaka, S.,Taguchi, T., Otake, S.(1993) « Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity » J Periodontol. 64:630-636.
25. Larocca, L.M., Giustacchini, M., Maggiano, N., Ranelletti, F.O.; Piantelli, M.; Alcini, E., Capelli, A.(1994) « Growth-inhibitory effect of quercetin and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas » J Urol. 152: 1029-1033 .
26. Chaudhry, P.S., Cabrera, J., Juliani, H.R., Varma, S.D.(1983) « Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin » Biochem Pharmacol. 32:1995.
27. Ong, K.C., Khoo, H.E.(1997) « Biological Effects of Myricetin » Genera Pharmacol. 29: 121-126.
28. Ong, K.C., Khoo, H.E.(2000) « Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats » Life Sci. 67: 1695-1705.
29. Hertog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B., Kromhout, D. (1993) « Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study » Lancet. 342:1007-1011.
30. Chu, S.C., Hsieh, Y.S., Lin, J.Y.(1992) « Inhibitory effects of flavonoids on Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase activity » J.Nat.Prod. 55: 179-183.
31. Harborne, J.B(1965) In « Chemistry and Biochemistry of plant pigment » (Goodwin, T.W. eds.) Academic Press, New-York.
32. Ribéreau-Gayon, P. (1968) « Les Composés phénoliques des végétaux » ,p.233, Dundo. Paris.
33. Harborne, J.B.(1973) In « flavonoids » (Lawrence, P. , Miller, P.P. eds) ,p.344, Litton Educationnal Publishing. Inc .
34. Harborne, J.B (1973) « Phytochemical Methodes », p.54, Chapman and Hall. London.

www.manaraa.com

35. Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B. (1970) « The systematic Identification of flavonoids», p. 13, Springer- Verlag, Berlin.
36. Kamanzi, K.(1979) « Constribution à l'étude chimiosystématique de quelques centaurées » Thèse de doctorat.(3éme cycle).Lyon I.
37. Markham ,K.R.(1982) « Techniques of flavonoids identification » Academic press. London.
38. Jay ,M. , Gonnet ,J.F. , Wollenweber , Voirin ,B.(1975) « Sur l'analyse qualitative des aglycones flavoniques dans une optique chimiotaxonomique » Phytochem .14 :1605,1612.
39. Gonnet, J.F.(1974) Thèse de doctorat, Université de Lyon.
40. Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H.(1975) « The flavonoids » Tome I. Academic press. London.
41. Combier, H.(1968)Thèse de doctorat .Université Claude Bernard .Lyon I.
42. Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H. (1975) « The flavonoids » Tome I, Tome II . Chapman and Hall, London.
43. Voirin, B.(1983) Phytochemistry, 22, (10), 2107-2145.
44. Randerah, H. (1971) « Chromatography sur couche minces » Gautier Villard.
45. Harborne, J.B. (1967) « Comparative biochemistry of the flavonoids » Academic press. London.
46. Jurd, L. (1962) In « The chemistry of flavonoid compounds » (Geissman, T.A eds) ,p.107,Pergamon press, New-York.
47. Voirin, B. (1970) Thèse de doctorat .Université de Lyon.
48. Constantine, E., Schenell, A.(1986) « Spectroscopie de masse. Principes et applications » Tec & Doc Lavoisier. Paris.
49. Harborne, J.B.(1988) « The flavonoids.advances in research since 1980 » Chapman and Hall. New-York .
50. Audier, H.(1966) « Etude des composés flavoniques par la spectroscopie de masse » Bull.Soc.Chim.Fr. 9 : 2892-2899.
51. Boullant, M.L., Faver-Bouvin, S.,Chopin, J. (1975)« Structural determination of C-glycosyl flavonoids by masse spectrometry of their permethyl ethers » Phytochemistry .14: 2264-2274.
52. Zararka, T.C. (1994) « Méthodes spectroscopique d'analyse chimique » .O.P.U
53. Satterfield, M., Brodbelt, J.S.(2001) « Structural Characterization of Flavonoid Glycosides by Collisionally Activated Dissociation of Metal Complexes » J Am Soc Mass Spectrom . 12: 537–549 .
54. Markham, K.R., Mabry, T.J. (1975) In « Ultraviolt-visible and proton magnetic resonance spectroscopy of flavonoids » (Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H.eds), p.45, Chapman and Hall . London.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الفصل الثالث:
العملي، النتائج
والمناقشات

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

I.المادة النباتية:

تم جمع أوراق النخلة المثمرة المسماة " دقلة بيضاء " (*Degla beida*)"*Phoenix dactylifera*" من مدينة تقرت في شهر فيفري سنة 2004 م حيث تمّ تجفيفها في الظل، بعد ذلك قُطعت إلى أجزاء صغيرة بعدما أزيلت الأجزاء المتلفة ثم وُزنت فأعطت وزن : 2172.31 غ.

و باعتبار اهتمامنا بدراسة المحتوى الفلافونيدي لأوراق هذه النبتة ، فقد اتبعنا المنهج التالي:

II. الاستخلاص:

وضعنا المادة النباتية في أواني مجهزة لهذه العملية و غمرناها بمحلول به : ماء / ميثانول (7/3) و تركت لمدة 36 ساعة، ليرشح بعدها و يركز الراشح أما المحلول المسترجع بعد التركيز فيُجدد بالكمية الكافية لغمر المادة النباتية و هذا لإعادة العملية حتى يضعف تركيز لون الراشح أي استخلاص أكبر كمية ممكنة و لذلك فقد كررنا العملية 4 مرات.

أذبنا المستخلص الخام المركزالمتحصل عليه في حوالي 900 مل من الماء المقطر الدافئ (400-500 مل ماء مقطر لكل 1 كغ من المادة النباتية الجافة) ثم تركناه ليلة كاملة للراحة و أخذنا فقط الجزء السائل و تخلصنا من الراسب الذي بقي في أسفل الإناء لنبدأ بعدها بفصل الأطوار حيث أضفنا أولا الكلوروفورم بنسبة3/1 من حجم المستخلص المذاب في الماء المقطر و ننتبه أن لا نرّج جيدا مخافة تشكل مستحلب وتركناه مدة زمنية كافية حتى انفصل الطوران حيث يكون الطور الكلوروفورمي هو الأثقل أي الأسفل و هو الذي قمنا بتركيزه و كررنا العملية حتى غاب اللون المميز لهذا الطور، و في الأخير نقلنا المستخلص المركز بإذابته في القليل من الكلوروفورم و وضعناه في قارورة صغيرة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

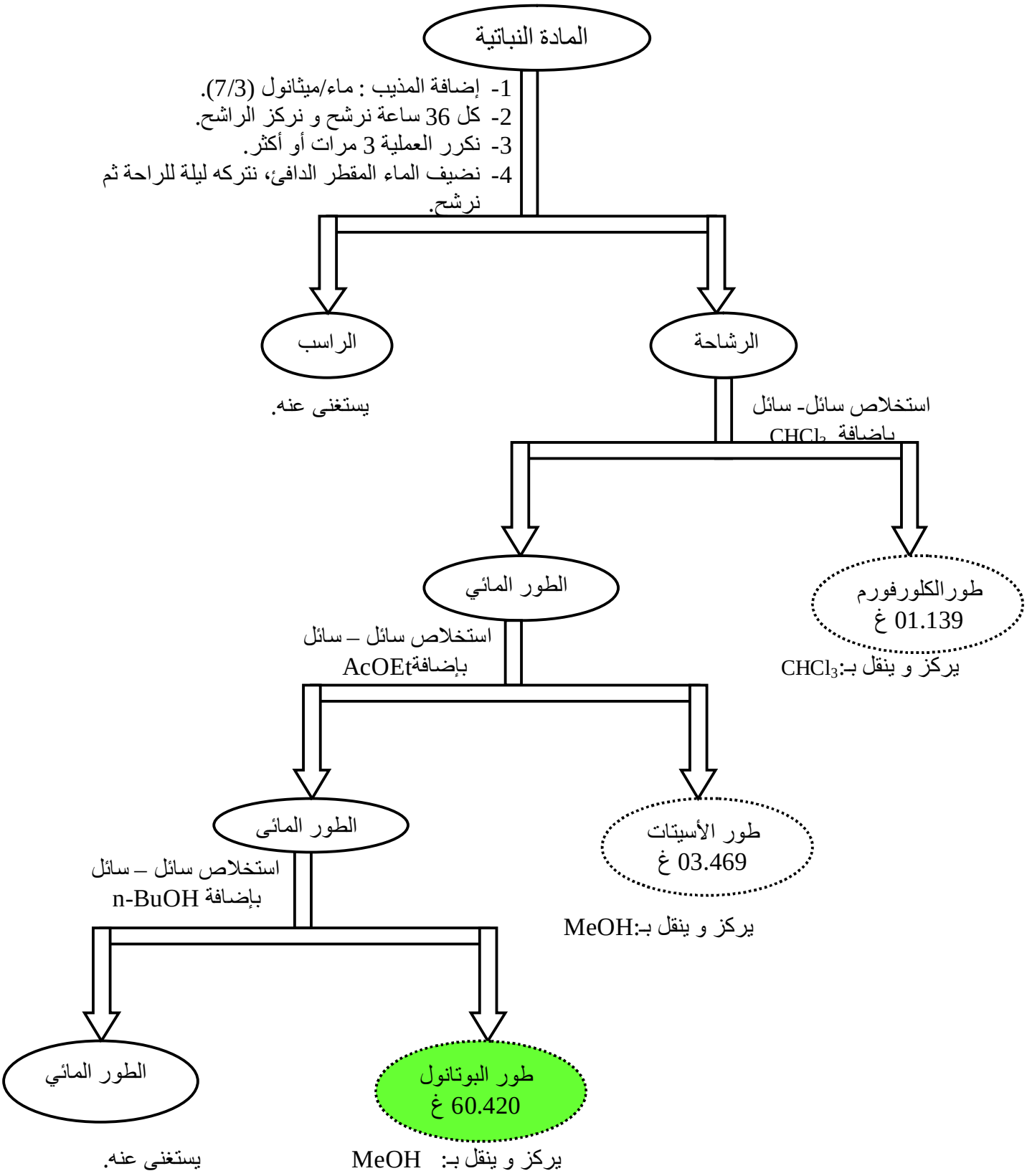
معلومة الوزن و هذا لمعرفة وزن هذا الطور. بنفس الطريقة عاملنا الطور المائي بخلات الإيثيل ثم بالبوتانول النظامي و اللذان يكون فيهما الطور العضوي هو الأخف أي إلى الأعلى مع الانتباه بأن تتم العملية مرة واحدة بالنسبة لخلات الإيثيل و أكثر من مرة للبوتانول و في كل مرة ننقل المستخلص المركز بقليل من الميثانول ثم نزن فحصلنا بذلك على:

- وزن طور الكلوروفورم = 01.139 غ.
- وزن طور الأسيتـــــــــــات = 03.469 غ.
- وزن طور البوتـــــــــــانول = 60.420 غ.

و قد قمنا بتلخيص العمليات السابقة في الشكل -18- الموالي:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

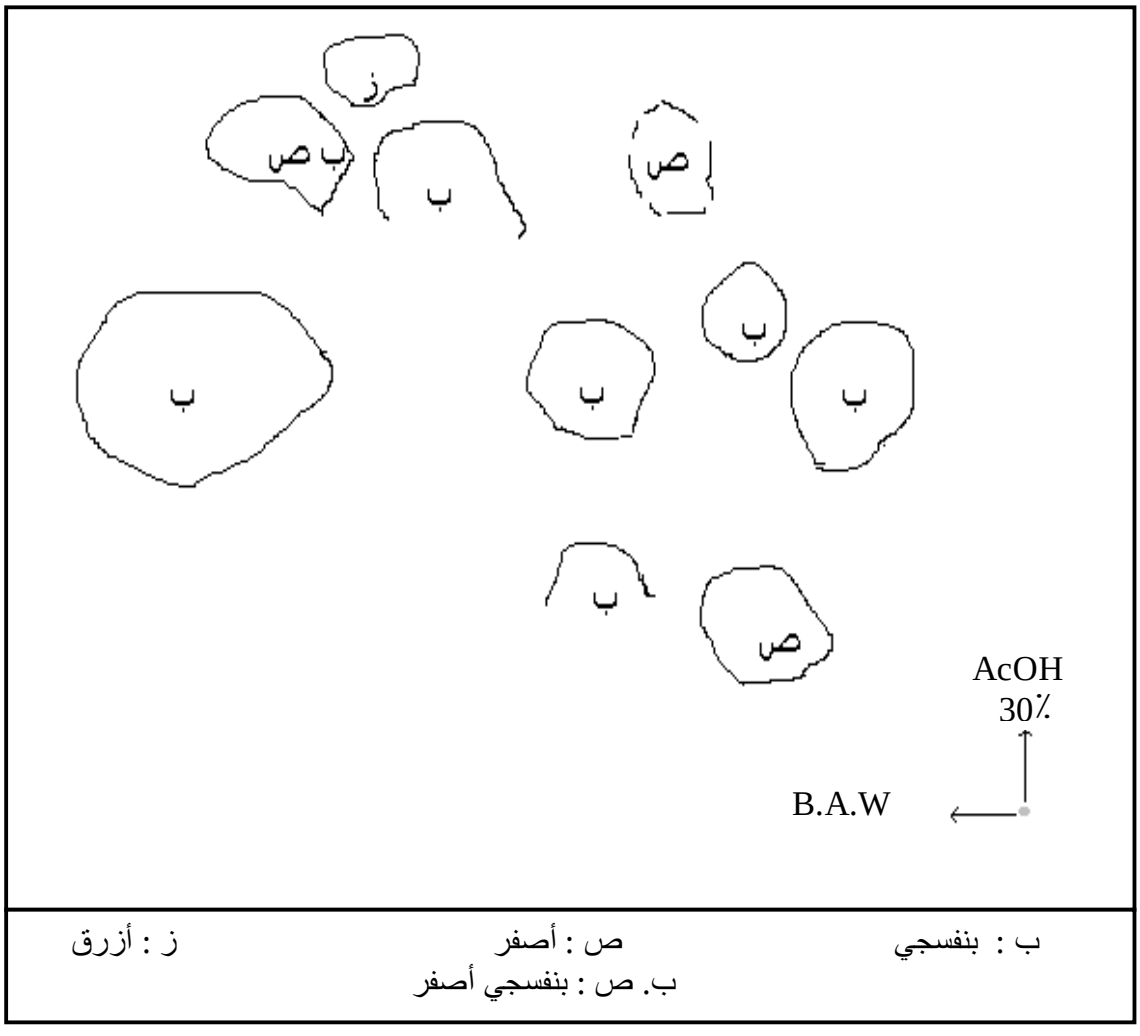
** الشكل -18-الطريقة المتبعة لاستخلاص طور الكلوروفورم،الأسيتات و البوتانول من المادة النباتية**



المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

قمنا بإجراء فحص كروماتوغرافي ثنائي البعد للطور البوتانولي على الورق حيث في البعد الأول D_1 كان المملص هو المذيب العضوي : 4/1/5 B.A.W (n-**B**uOH, **A**cétic acid, **W**ater)

و في البعد الثاني D_2 المملص هو المذيب المائي : 30 ٪ acide acétique فحصلنا على كروماتوغرام الشكل -19-



ب : بنفسجي ص : أصفر ز : أزرق

ب. ص : بنفسجي أصفر

** الشكل -19- : كروماتوغرام ثنائي البعد على ورق واطمان لطور البوتانول لأوراق دقلة بيضاء **

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

III. عمليات الفصل:

1) العمود الكروماتوغرافي:

1-1 تحضير الدعامة:

نأخذ كمية كافية من متعدد الأميد(polyamide SC_6) و نغمس في الماء المقطرحتى يطفو الماء، و يترك المزيج تحت الرّج الميكانيكي لمدة لا تقل عن ساعتين ثم نتركه للراحة حوالي نصف ساعة لنقوم بعدها بالتخلص من السائل الحاوي على الشوائب .

نكرر هذه العملية إلى حين صفاء الماء ثم نقوم بعملية ترشيح جيد للماء بواسطة Buchner تحت ضغط منخفض ،يعاد غسل متعدد الأميد المجفف بالإيثانول مرة واحدة و يرشح من جديد، ثم يوضع في علبة مغطاة بورق الألمنيوم و يترك تحت الهواء ليجف مع التحريك من حين لآخر.

نضع الكمية التي نحتاجها من متعدد الأميد في التولوين و نحركه جيدا و نتركه لمدة ليلة أو أقل قبل استعماله أي قبل و ضعه في العمود.

2-1 طريقة العمل:

حضّرنا العمود الكروماتوغرافي بوضع قطعة من القطن أسفله ثم أضفنا الدعامة المحضرة سابقا حتى ارتفاع (3/2) ثلثي العمود و أضفـــنـــا بعدها التولوين لعدة مرات لرّص الدعامة بشكل جيد.

كمرحلة ثانية قمنا بتحضير المستخلص - و الذي كان في هذه الدراسة عبارة عن حوالي 17.43 غ من المستخلص البوتانولي – و ذلك بإذابته في أقل كمية ممكنة من الميثانول و وضعناه من على الطبقة العلوية لمتعدد الأميد بواسطة ماصة باستور بشكل متجانس ، و بدأنا بإضافة المذيب الأقل قطبية و هو التولوين ثم زدنا في القطبية بإضافة الميثانول بشكل تدريجي إلى غاية الوصول إلى المملص القطبي أي الميثانول الصافي فقط. و قد تمت متابعة الحزم النازلة بمصباح الأشعة فوق

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

البنفسجية UV و التي يتم استقبالها في دوارق و بعدها تركز تحت ضغط منخفض، فحصلنا على الكسور الموضحة في الجدول- 13- :

*** الجدول -13- : الكسور المتحصل عليها من عمود متعدد الأميد للطور البوتانولي ***

أرقام الكسور	نسبة التولوين في المملص(٪)	نسبة الميثانول في المملص(٪)
3 – 1	100	0
6 – 4	95	5
8 ، 7	90	10
18 – 9	85	15
25 – 19	80	20
30 – 26	70	30
40 – 31	60	40
51 – 41	50	50
59 – 52	35	65
65 – 60	20	80
70 – 66	0	100

3-1 جمع الكسور المتشابهة:

نقوم بجمع الكسور المتشابهة في أغلب الاختبارات الكروماتوغرافية أحادية البعد التالية:

- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)المحضر حيث الدعامة الصلبة عبارة عن متعدد الأميد DC6.6 و المملصات هي :

-- (S.I) تولوين / ميثيل إيثيل سيتون / ميثانول : 3/3/4

-- (S.II) ماء / إيثانول / ميثيل إيثيل سيتون / أستيل أسيتون : 1/3/3/13

-- (S.III) ماء / ميثانول / بوتانول نظامي / حمض الأستيك : 2/25/20/60

- الكروماتوغرافيا الورقية (CP) حيث الدعامة ورق Whatman أما المملصات فهي :

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

-- (S.IV) B.A.W: 4/1/5 حيث نأخذ الطبقة العلوية أي العضوية.

-- (S.V) حمض الأستيك (AcOH): 15 ٪

استطعنا جمع الكسور بالشكل الموضح في الجدول -14- :

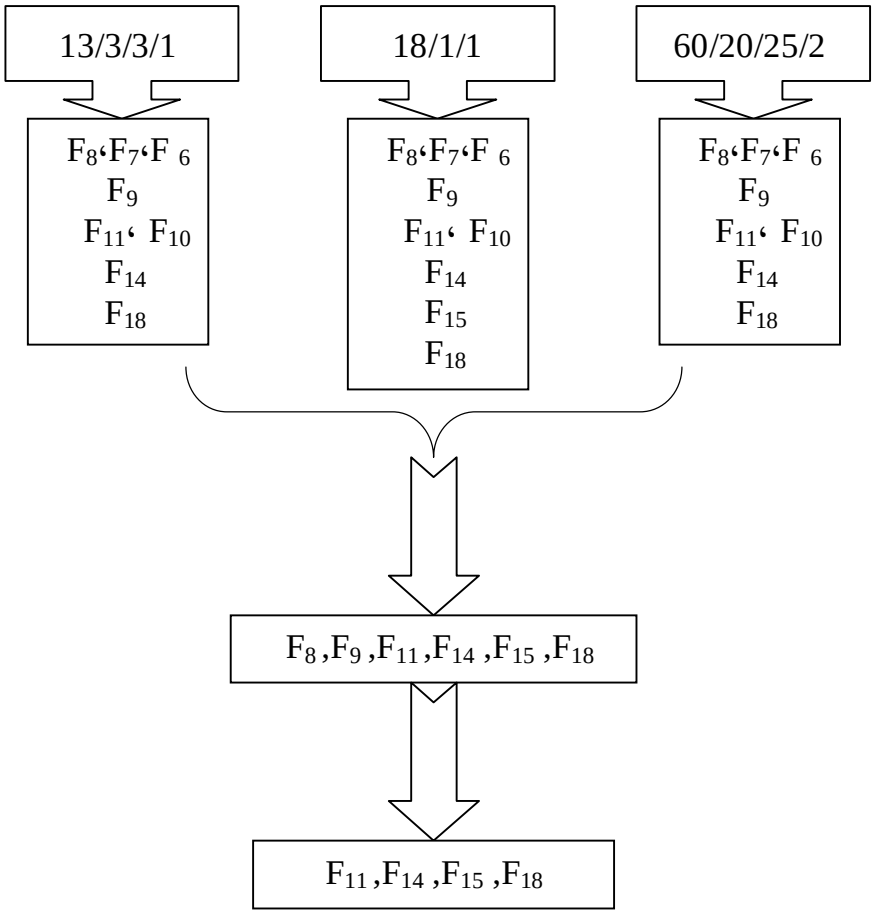
*** الجدول -14- : الكسور بعد الجمع ***

الكسور المحصل عليها من العمود	الكسور بعد الجمع
4 – 1	F_1
6 ، 5	F_2
8 ، 7	F_3
9	F_4
10	F_5
11	F_6
12	F_7
17 – 13	F_8
26 – 18	F_9
27	F_{10}
30 – 28	F_{11}
31	F_{12}
32	F_{13}
43 – 33	F_{14}
55 – 44	F_{15}
63 – 56	F_{16}
67 – 64	F_{17}
70 – 68	F_{18}

و لإختيار الكسور التي ستتم دراستها ، أجرينا الاختبارات الكروماتوغرافية الآتية(حيث :

$MeOH /AcOH / H_2O$: S.IV-18/1/1-)حيث أخذنا بعين الاعتبار التركيز على الكسور التي تحتوي على كل الفلافونيدات المحتمل وجودها في الدقلة البيضاء و هذا بالاعتماد على اللون و ثابت الانحباس أولا و كمرحلة ثانية اهتممنا بالكمية أو الوزن كما هو موضح في الشكل -19-:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com



*** الشكل -19- الكسور النهائية ***

2) كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة(CCM) و العمود الوميض(flash-colonne):

لتسهيل العمل اعتمدنا الترميز التالي:

F_{11} ⟶ A (غ 0.465)

$F_{14} + F_{15}$ ⟶ B (غ 3.529)

F_{18} ⟶ C (غ 0.283)

أجرينا اختبارات كروماتوغرافية لإيجاد المملصات المناسبة فكانت:

- بالنسبة لكل من الكسرين A و C اخترنا الدعامة هي السليكاجال و المملص هو:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

. $AcOEt / H_2O / AcOH$ 8/1/1 : S.VII

v بالنسبة للكسر B و نظرا للوزن المعتبر نسبيا فقد اخترنا الفصل بعمود كروماتوغرافي من نوع « flash-colonne » ، و قد اعتمدنا السليكاجال كدعامة و المملص هو (S.VII) فحصلنا على الكسور من 1 إلى 36 و التي جمعناها كما يوضح الجدول -15- :

*** الجدول-15-: كسور flash-colonne للكسر B ***

كسور العمود	الكسور بعد الجمع	المملص
04 – 01	لاشيء	S.VII
06 – 05	B_1	//
7	لاشيء	//
12 – 08	B_2	//
18 – 13	B_3	//
20 – 19	B_4	//
22 – 21	B_5	//
29 – 23	B_6	//
35 – 30	B_7	100٪ ميثانول
36	B_8	100٪ ميثانول

واصلنا عمليات الفصل و التنقية المتتابعة للكسور غير المتشابهة و التي تحتوي على كميات معتبرة و مركبات مفصولة بطريقة جيدة ، و في الأخير اخترنا المركبات الفلافونيدية التي تمكنا من تنقيتها بطريقة جيدة لدراستها و معرفة صيغتها الكيميائية و الشكل -20- يلخص ما قمنا به حيث:

S.VIII هو: 30/9/2 $CHCl_3 / MeOH / H_2O$ حيث الدعامة هي : السليكاجال.

S.IX هو: 15 ٪ AcOH // : السيليلوز.

و كل المراحل التي تمت في الجانب العملي لهذا البحث ملخصة في الشكل –20-:

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

www.manaraa.com

IV. التعيين البنيوي :

اعتمدنا في التعرف على البنى الكيميائية للمركبات النقية المتحصل عليها على:

- السلوك الكروماتوغرافي بالاستعانة بالشواهد و لتعيين الجزء السكري في حالة الجليكوزيدات نستخدم الحلمهة الحمضية .

- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ــ المرئية.

- الرنين النووي المغناطيسي (^{13}C , ^{1}H)RMN.

تحصلنا على 5 مركبات فلافونيدية حيث قيم R_f موضحة في الجدول -15- و هذا في الأنظمة التالية:

- (I) Toluène/MeCOEt/MeOH 4 :3 :3 ك.ط.ر على متعدد الأميد DC6.6
- (II) H_2O/MeCOEt/EtOH/$(Ac)_2CH_2$ 13:3:3:1
- (III) AcOH : 15% . ك.ط.ر على السيليلوز

*** الجدول -16- : قيم R_f في الأنظمة (I) ، (II) ، (III) ***

المركبات	قيمة $R_f \times 100$ في النظام :		
	النظام (I)	النظام (II)	النظام (III)
B_{2a2}	25.58	17.65	30.36
B_{2b}	28.07	20.59	28.57
B_{2c}	50.87	23.53	33.92
B_{3c2}	24.42	14.70	28.91
B_{5b2}	50.87	41.18	54.38

و من خلال مقارنة المعلومات الطيفية وجدنا تشابها بين بعض المركبات و هذا كما هو موضح فيما يلي :

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

1.IV. التحليل البنيوي للمركب $B_{2a2} \equiv B_{2b} \equiv B_{3c2}$:

نأخذ المركب B_{2a2} كمثال للدراسة نظرا لتشابهه مع المركبين الآخرين :

1.1. الاستشعاع تحت الأشعة UV : **بنفسجي** .

2.1. معامل الاحتباس (R_f) : توضح قيم معامل الاحتباس في الجدول -17- .

جدول -17-

الجملة	$R_f \times 100$
I	25.58
II	17.65
III	30.36

ك. ط. ر على متعدد الأميد DC.6.6 بالنسبة لـــ:

Toluène/MeCOEt/MeOH 4 :3 :3 (I)

H_2O/MeCOEt/MeOH/$(Ac)_2CH_2$ 13:3:3:1 (II)

ك. ط. ر على السيليلوز بالنسبة لـــ:

AcOH : 15% (III)

3.1. المعطيات الطيفية :

1.3.1. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية(UV):

*** الجدول – 18 – نتائج (UV) ***

الكواشف	العصابة II (ن.م)	العصابة I (ن.م)	قمم و نتوءات (ن.م)
MeOH	257	357	
NaOH	276	409	327
$AlCl_3$	272	435	
$AlCl_3$+HCl	270	402	366
NaOAc	273	389	
NaOAc+H_3BO_3	264	383	322
في NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر			

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2.3.1. مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون(^{1}H)RMN :

*** الجدول -19- نتائج RMN(^{1}H) ***

البروتون الموافق	الإشارة	التكامل	δ(ppm)
H-2'	*d*(*J* = 2 Hz)	H	7.72
H-6'	*d d*(*J* = 8.5 Hz , *J* = 2 Hz)	H	7.62
H-5'	*d*(*J* = 8.5 Hz)	H	6.90
H-8	*d*(*J* = 2 Hz)	H	6.41
H-6	*d*(*J* = 2 Hz)	H	6.22
H-1" جلوكوز	*d*(*J* = 7.5 Hz)	H	5.28

3.3.1. الحلمهة الحمضية :

ü الشق الأجليكوني :

- السلوك الكروماتوغرافي :

اللون الإستشعاعي	أصفر .
R_f×100 في الجملة I	18.94

- مطيافية(UV) :

الكاشف	العصابة I (ن.م)	العصابة II (ن.م)
MeOH	372	256

ü الشق السكري : جلـوكـوز .

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

4.3.1.التعليل:

- يشير السلوك الكروماتوغرافي لمختلف الجمل إلى كون المركب جليكوزيدا.

- اللون البنفسجي تحت الأشعة UV و قيمة العصابة I في الميثانول (λ_I=357 nm (MeOH يدلان على عدم وجود OH حر في الموضع 3 .

- الإزاحة الباثوكرومية بـــ: $\Delta\lambda_I$ (NaOH / MeOH) = +52 nm تدل على وجود OH حر في الموضع '4 ، و استقرار طيف NaOH يؤكد غياب OH حر في الموضع 3 .

- الإزاحة الباثوكرومية بـــ: $\Delta\lambda_I$ ($AlCl_3$+HCl / MeOH) = +45 nm دليل على وجود OH حر في الموضع 5.

- ظهور قمة جديدة عند 327 nm دليل على وجود OH حر في الموضع 7 في طيف NaOH، تؤكده الإزاحة الباثوكرومية بـــ: $\Delta\lambda_{II}$ (NaOAc / MeOH) = +16 nm .

- الإزاحة الإيبسوكرومية بـــ: $\Delta\lambda_I$ ($AlCl_3$/$AlCl_3$+HCl) = +33 nm دليل على وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B أي الموقع '3 به OH حر.

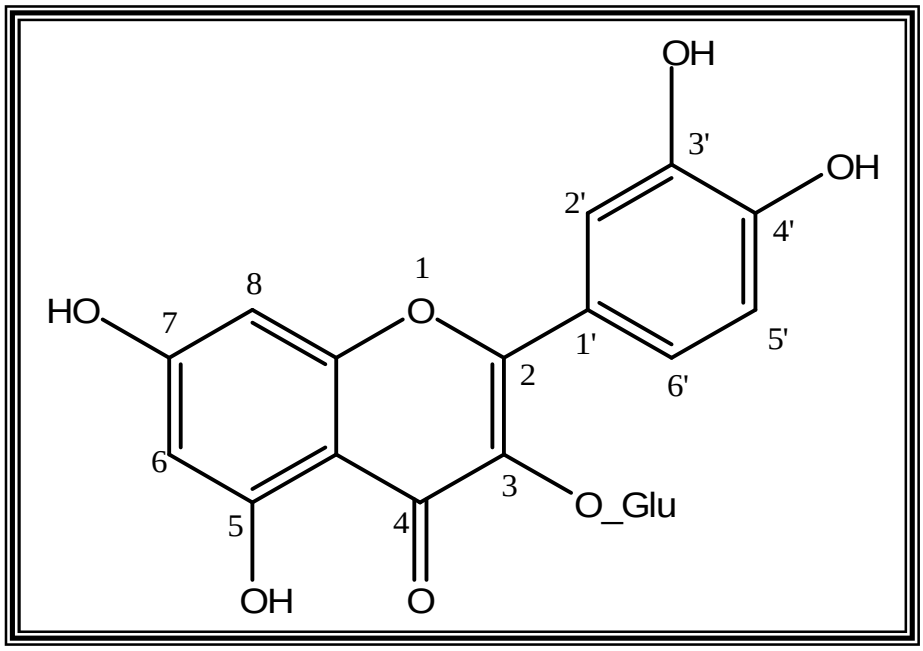
- إنّ وجود إشارات بروتونات عطرية في المجال المنخفض ذات التعددية: *d* فـــ *dd* ثم *d* تدل على كون الحلقة B ثنائية الاستبدال ، و عليه-إضافة لما سبق- فإن '3،´4 بهما OH حر.

- أما بروتونات الحلقة A فتظهر في مجال البروتونات العطرية (لكن في مجال أعلى من بروتونات الحلقة B) على شكل إشارتين كل منهما عبارة عن ثنائية *d*(*J* = 2 Hz) و هذا يعني خلو الموقعين 6 ، 8 من أي مستبدل.

- وجود إشارة لثنائية *d* (*J* = 7.53) عند: δ = 5.28 ppm تلحق بالبروتون الأنوميري لسكر الجلوكوز (glucose) .

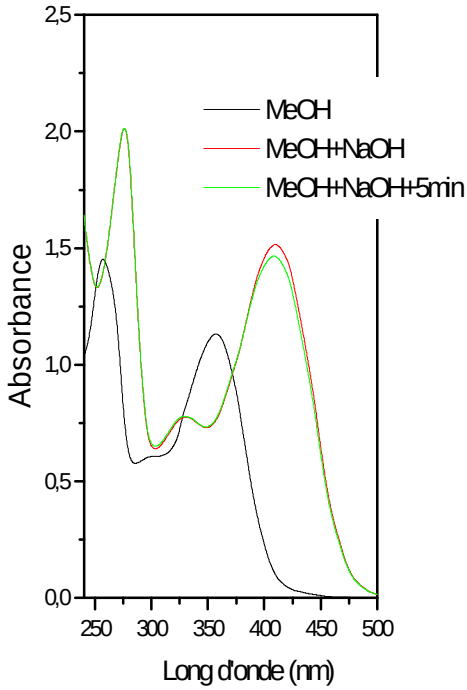
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

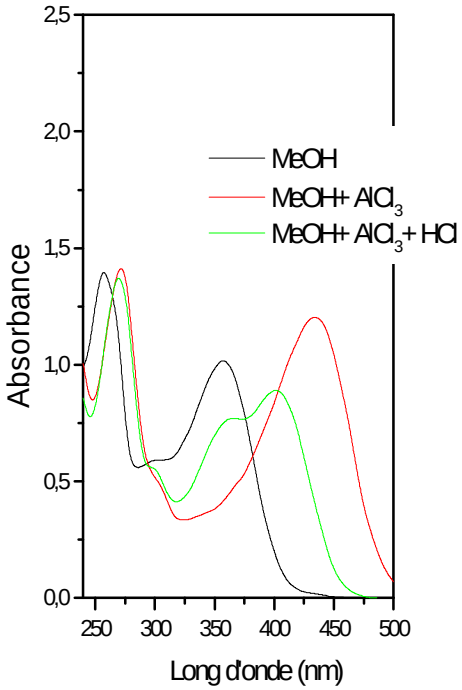
و للتأكد من أن السكر هو الجلوكوز قمنا بعملية الحلمهة الحمضية و قارنا الشق السكري لـــ: B_{2a2} بعدة شواهد سكرية فوجدنا أنه يماثل شاهد الجلوكوز كما هو موضح في الشكل -29 - أما موقع إرتباطه فمن خلال المعلومات الطيفية لدينا فقط الموقع 3 و تأكدنا من ذلك باجراء كروماتوغرام في الجملة I و تسجيل طيف UV لأجليكونه فوجدنا أن الموقع 3 أصبح به OH حر بعد الحلمهة. إذا صيغة هذه المركبات هي :

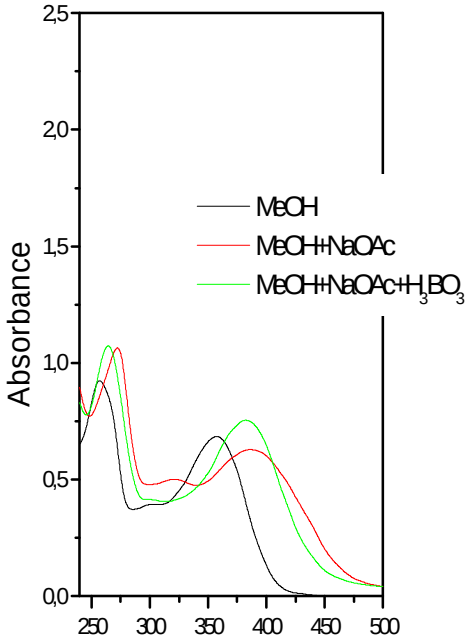


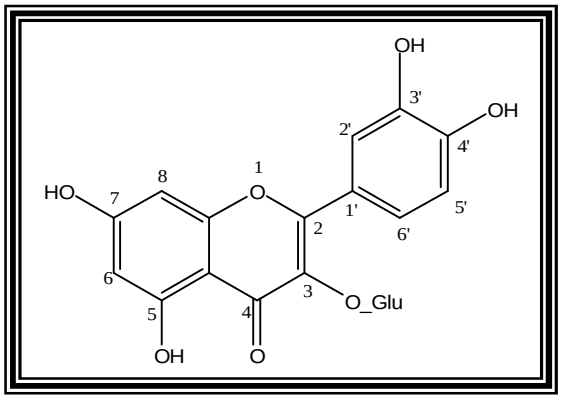
*** **$B_{2b} \equiv B_{3c2} \equiv B_{2a2}$** = 3-glucosyl quercetine -21- الشكل ***

www.manaraa.com









$B_{2a2} \equiv B_{2b} \equiv B_{3c2}$

*** الشكل -22- : سلاسل أطياف UV للمركب **B_{2a2}** في MeOH و مختلف المفاعلات ***

www.manaraa.com

www.manaraa.com

ستشارات
www.manaraa.com

2.IV. التحليل البنيوي للمركب $B_{2c} \equiv B_{5b2}$:

نأخذ B_{5b2} كمثال للدراسة :

1.2. الاستشعاع تحت الأشعة UV : **بنفسجي** .

2.2. معامل الاحتباس (R_f) : توضح قيم معامل الاحتباس في الجدول -20- .

جدول -20-

الجملة	$R_f \times 100$
I	50.87
II	41.18
III	54.38

ك. ط. ر على متعدد الأميد DC.6.6 بالنسبة لـــ:

Toluène/MeCOEt/MeOH 4 :3 :3 (I)

H_2O/MeCOEt/MeOH/$(Ac)_2CH_2$ 13:3:3:1 (II)

ك. ط. ر على السيليلوز بالنسبة لـــ:

AcOH : 15% (III)

3.2. المعطيات الطيفية :

1.3.2 مطيافية الأشعة فوق البنفسجية(UV):

*** الجدول – 21 –نتائج (UV) ***

الكواشف	العصابة II (ن.م)	العصابةI (ن.م)	قمم و نتوءات(ن.م)
MeOH	255	356	266
NaOH	271	416	327
$AlCl_3$	268	404	364
$AlCl_3$+HCl	268	404	364
NaOAc	273	382	320
NaOAc+H_3BO_3	271	371	316
في NaOH و بعد 5 دقائق : الطيف مستقر			

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2.3.2 . الرنين النووي المغناطيسي RMN(^{1}H) :

*** الجدول -22- نتائج RMN(^{1}H) ***

δ(ppm)	التكامل	الإشارة	البروتون الموافق
7.90	H	*d*(*J* = 2 Hz)	H-2'
7.65	H	*d d*(*J* = 8.5 Hz , *J* = 2 Hz)	H-6'
6.92	H	*d*(*J* = 8.5 Hz)	H-5'
6.42	H	*d*(*J* = 2 Hz)	H-8
6.22	H	*d*(*J* = 2 Hz)	H-6
5.25	H	*d*(*J* = 7.5 Hz)	H-1'' جلوكوز
4.52	H	*d*(*J* = 1.7 Hz)	H-1''' رامنوز
3.95	3 H	*s*	3'-O-CH_3
1.10	3 H	*d*(*J* = 6.2 Hz)	CH_3 الرامنوز

3.3.2 . الحلمهة الحمضية :

ü الشق الأجليكوني :

- السلوك الكروماتوغرافي :

اللون الإستشعاعي	أصفر .
R_f×100 في الجملة I	20

- مطيافية(UV) :

الكاشف	العصابة I (ن.م)	العصابة II (ن.م)
MeOH	370	254

ü الشق السكري : جلـوكـوز + ر امـنـوز .

www.manaraa.com

4.3.2.التعليل:

- يشير السلوك الكروماتوغرافي لمختلف الجمل إلى كون المركب جليكوزيدا.

- اللون البنفسجي تحت الأشعة UV و قيمة العصابة I في الميثانول (MeOH) λ_I=355 nm يدلان على عدم وجود OH حر في الموضع 3 .

- الإزاحة الباثوكرومية بـــ: $\Delta\lambda_I$ (NaOH / MeOH) = +56 nm تدل على وجود OH حر في الموضع '4 ، و استقرار طيف NaOH يؤكد غياب OH حر في الموضع 3 .

- عدم تغير طيف $AlCl_3$ بعد إضافة HCl دليل على غياب أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B.

- الإزاحة الباثوكرومية بـــ: $\Delta\lambda_I$ ($AlCl_3$+HCl / MeOH) = +47 nm دليل على وجود OH حر في الموضع 5.

- ظهور قمة جديدة عند 327 ن.م في طيف NaOH دليل على وجود OH حر في الموضع7 ، تؤكده الإزاحة الباثوكرومية بـــ: $\Delta\lambda_{II}$ (NaOAc / MeOH) = +18 nm .

- إنّ وجود إشارات بروتونات عطرية في المجال المنخفض ذات التعددية : *d* فـــ *dd* ثم *d* تدل على كون الحلقة B ثنائية الاستبدال ، و عليه فإن الموقع '3 به مستبدل غير OH .

- أما بروتونات الحلقة A فتظهر في مجال البروتونات العطرية (لكن في مجال أعلى من بروتونات الحلقة B) على شكل إشارتين كل منهما عبارة عن ثنائي *d*(*J* = 2 Hz) و هذا يعني خلو الموقعين 6 ، 8 من أي مستبدل.

- وجود إشارة لثنائية *d* (*J* = 7.5) عند: δ = 5.25 ppm تلحق بالبروتون الأنوميري لسكر الجلوكوز (glucose) ، إلى جانب ظهور إشارة البروتون الأنوميري لسكر الرامنوز على شكل

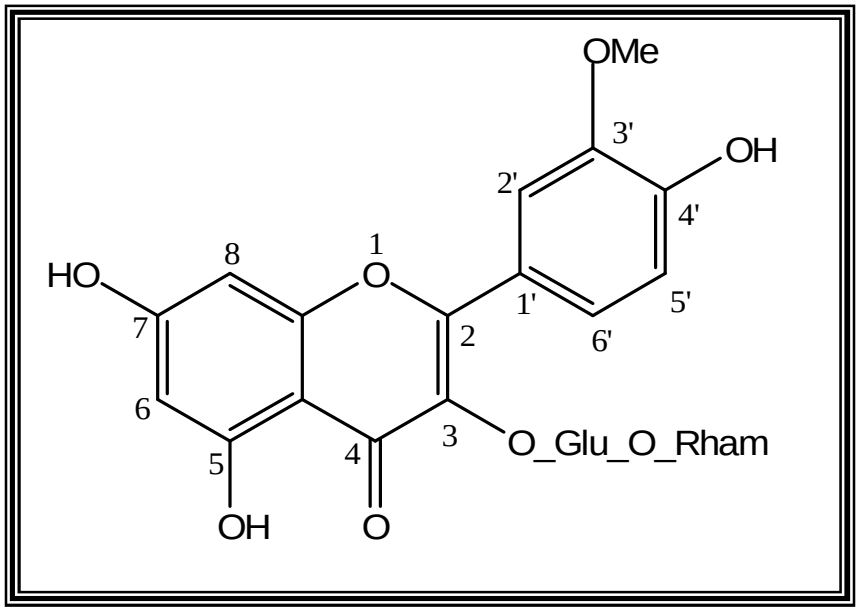
المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ثنائي $d(J = 1.7\ Hz)$ عند: 4.52 ppm و إشارة ثنائي الميثيل $d(J = 6.2\ Hz)$ عند:
$\delta = 1.10$

- وجود إشارة أحادية s بتكامل 3H عند: δ = 3.95ppm تلحق ببروتونات المجموعة OCH_3 .

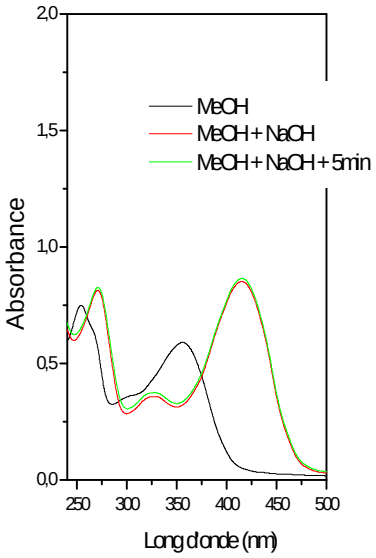
و من مجموع هذه المعطيات الطيفية نستدل على كون الهيكل الفلافونيدي به مستبدلين عند كل من 3 ، '3 أحدهما OCH_3 و الآخر سكري rhamnose و glucose .

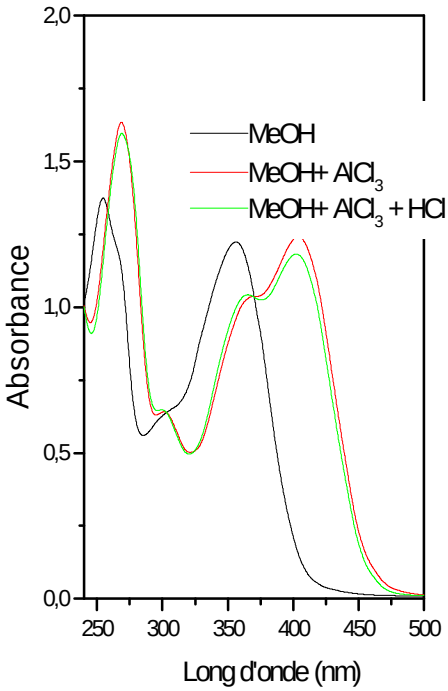
و لتحديد موقع كل مستبدل أجرينا الحلمهة الحمضية فوجدنا أن السكرين هما الجلوكوز و الرامنوز كما هو موضح في الشكل -29- أما الأجليكون فإضافة إلى لونه الأصفر و إزاحة العصابة I التي تؤكد وجود OH في الموقع 3 فقد قمنا بتسجيل طيف NaOH فحصلنا على عصابة جديدة في 321 ن.م ثم سجلنا بعد مرور فترات زمنية فلاحظنا تحلل الطيف و هذا معناه 3,4'-OH أي أن السكرين مرتبطين ببعضهما في الموقع 3 ، و عليه فإن صيغة هذه المركبات:

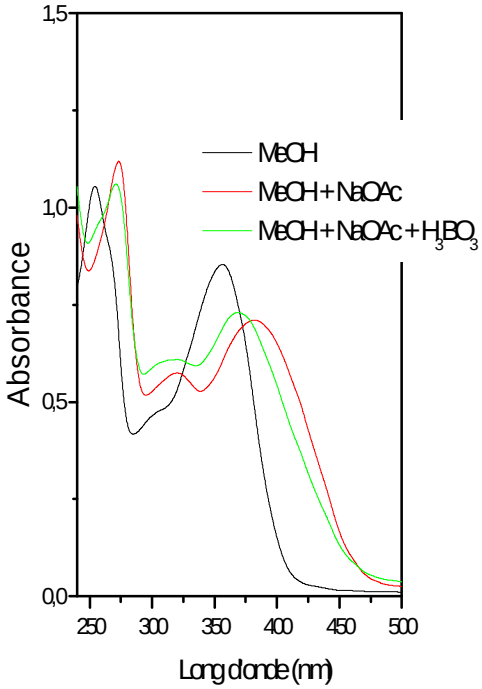


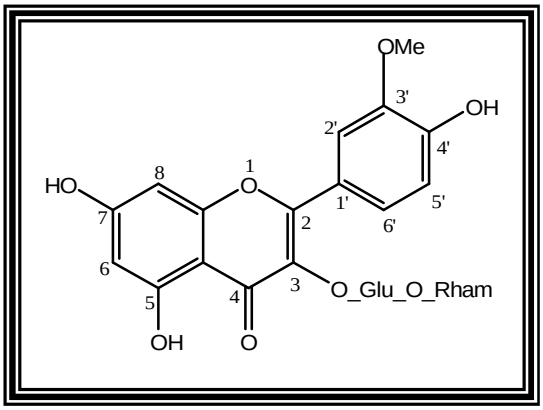
B_{2c} ≡ B_{5b2} =3-rhamnoglucosyl Isorhamnètine : -25-الشكل

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com







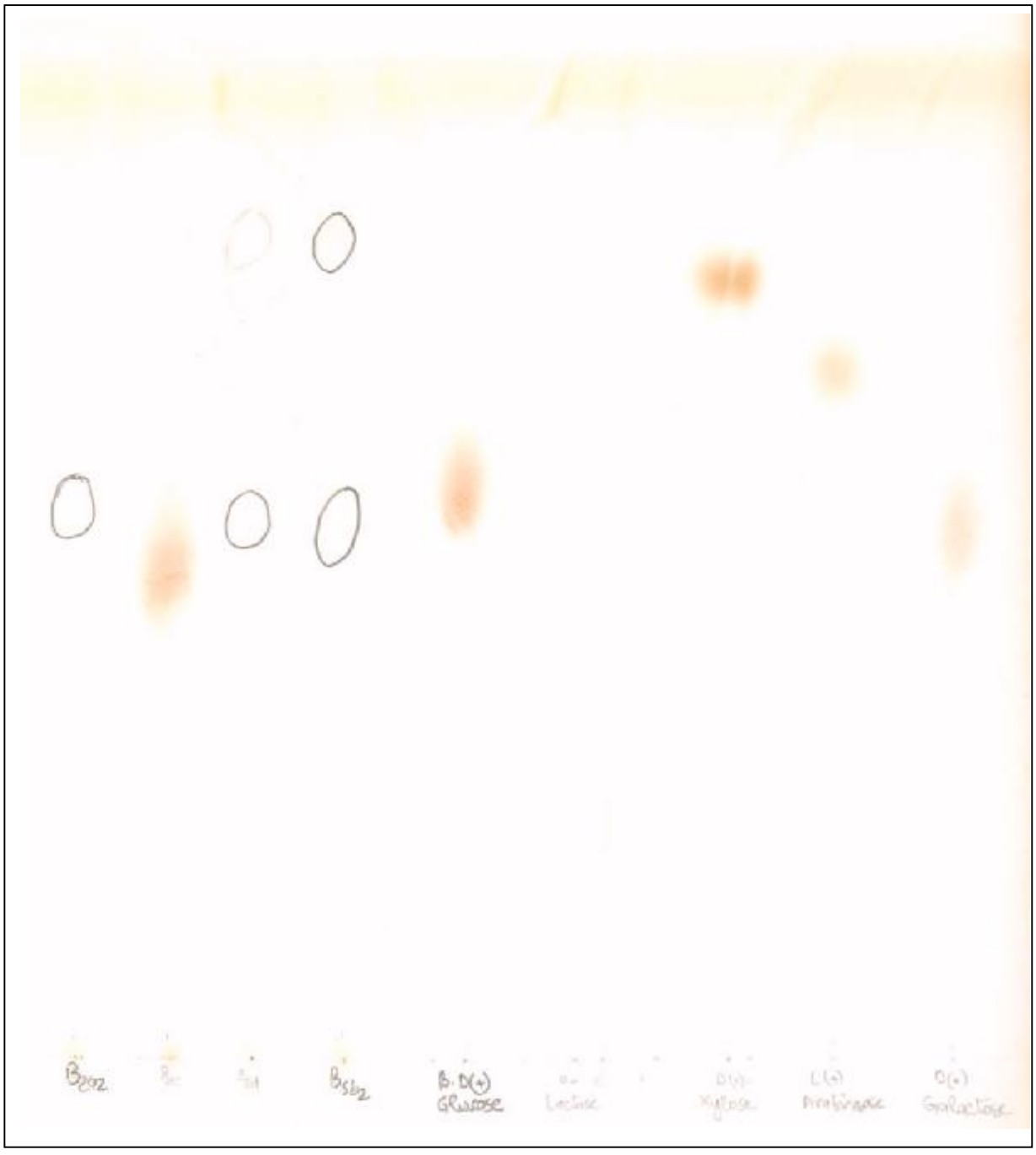


$B_{2c} \equiv B_{5b2}$

*** الشكل -26- : سلاسل أطياف UV للمركب **B_{5b2}** في MeOH و مختلف المفاعلات ***

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

www.manaraa.com



الشكل -29-: كروماتوغرام السكريات المفصولة من المركبات مقارنة مع شواهد سكرية معروفة

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الخاتمة

استطعنا من خلال هذا البحث فصل المركبات الفلافونيدية و التي تعتبر من نواتج الأيض الفلافونيدي من الطور البوتانولي للنبتة (*Degla bayda*)*Phoenix dactylifera* ، و خلال قيامنا بهذا البحث أجرينا دراسة مكتبية عن كل من النبتة المدروسة و المركبات الفلافونيدية.

و كان منهجنا في عملية الفصل الخطوات الآتية :

- استخلاص الطور البوتانولي .
- الفصل الأولي بواسطة كروماتوغرافيا العمود.
- الفصل باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و العمود الوميض(flash-colonne).
- و أخيرا، التنقية باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ذات الدعامة – متعدد الأميد -.

أما في عملية التعيين البنيوي فقد استخدمنا كلا من الإماهة الحمضية ، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV ، و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ^{1}H RMN.

و بذلك تم فصل نوعين من المركبات الفلافونيدية في أول دراسة لهذه النبتة حسب بحثنا المكتبي هما :

** 3- glucosyl quercetine.

** 3- rhamnoglucsyl Isorhamnètine.

و نضع كمشاريع مستقبلية دراسة مستخلص خلات الإيثل لهذه النبتة ، و دراسة كاملة لأنواع أخرى من العائلة النخيلية التي لم تنل حقها من الدراسة الكيميائية النباتية على الرغم من أهميتها.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

الملخص

إنّ هدفنا الرئيسي من هذا البحث هو فصل و التعرف على نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي للطور البوتانولي للنبتة *Phoenix dactylifera* (*Degla bayda*) التي تنتمي إلى العائلة النخيلية ، و قد تمكنا من فصل مركبات فلافونيدية باستعمال مختلف التقنيات الكروماتوغرافية (كروماتوغرافيا العمود CC ، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM ، العمود الوميض flash-colonne ، كروماتوغرافيا الورق CP) . و باستعمال الإماهة الحمضية و مختلف الطرق الفيزيائية من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي ^{1}H RMN ، تم تحديد بنى المركبات المفصولة :

** 3- glucosyl quercetine.

** 3- rhamnoglucsyl Isorhamnètine.

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

Résumé

L'objectif principal de ce travail est d'identifier les métabolites secondaires (flavonoides) de la plante *Phoenix dactylifera* (*Degla bayda*) appartenant à la famille des Palmiers (Arecaceae).

L'utilisation des différentes méthodes de séparation chromatographiques (colonne, papier, couche mince) a permis d'isoler deux composés flavoniques , et grâce à l'hydrolyse acide et aux méthodes spectroscopiques usuelles (UV et RMN ^{1}H), les structures de ces flavonoides ont été établies comme suivant :

** 3- glucosyl quercetine.
** 3- rhamnoglucsyl Isorhamnètine.

www.manaraa.com

Abstract

The principal aim of the present work consisted to identify the secondary metabolites (flavonoids) of *Phoenix dactylifera* (*Degla bayda*) belonging to the Arecaceae (Palmae) family.

The use of the different chromatographic methods (column, paper, thin layer) permitted the isolation of two flavonoids, and with using the acid hydrolysis and usual spectroscopic methods (UV , ^{1}H NMR), the structures of this compounds were established as :

** 3- glucosyl quercetine.
** 3- rhamnoglucsyl Isorhamnetine.

www.manaraa.com

الفهرس

المقدمة..... 1

المراجع..... 5

الفصل الأول..... 6

I. العائلة النخيلية..... 7

1.I. توزيعها الجغرافي في العالم 7

2.I. تصنيفها النباتي 7

II. الجنس ***Phoenix.*** 11

III. النخيل المثمرة:***Phoenix dactylifera L.***..... 12

1) لمحة تاريخية..... 12

2) التوزيع الجغرافي في العالم..... 13

3) النخيل المثمرة في الجزائر..... 14

VI .الدقلة البيضاء : ***Degla beida***..... 17

V. أهم الدراسات المنجزة عن النخيل المثمرة..... 18

المراجع..... 20

الفصل الثاني..... 22

I. تعريف الفلافونيدات..... 23

II. أنواع الفلافونيدات..... 24

III. الاصطناع الحيوي للفلافونيدات..... 27

1) المرحلة الأولى(طريق حمض الشيكميك)..... 27

2) المرحلة الثانية(طريق الخلات)..... 29

3) المرحلة الثالثة(طريق الشالكون)..... 29

IV. خصائص الفلافونيدات..... 31

المنارة للاستشارات

www.manaraa.com

V . الفعالية البيولوجية للفلافونيدات..... 34
1. مضادات للحساسية..... 35
2. مضادات للالتهاب..... 35
3. مضادات للقرحة..... 35
4. مضادات للسرطان..... 36
5. بعض الفعاليات الأخرى..... 36
VI. التصنيف الكيميائي..... 37
VII. طرق الدراسة الكيميائية للفلافونيدات..... 38
1.VII. الكشف عنها..... 38
2.VII. الاستخلاص..... 39
أ) تحضير المادة النباتية..... 39
ب) عملية الاستخلاص..... 39
3.VII. الفصل و التنقية..... 42
أ- الفصل..... 42
أ-1. كروماتوغرافيا العمود..... 42
أ-2. كروماتوغرافيا الورق التحضيرية..... 43
أ-3. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية..... 45
أ-4. كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء 46
ب- التنقية..... 47
4.VII. الدراسة البنيوية للفلافونيدات..... 47
أ-الخواص الكروماتوغرافية..... 47
أ-1. اللون الإستشعاعي..... 47
أ-2 . معامل الانحباس 48
ب- طرق التحليل الطيفي..... 49
ب-1 مطيافية الأشعة فوق البنفسجية 49
ب-1-1 طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي..... 50

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

ب-1-2 الامتصاص في وجود كواشف..... 52
ب-2 مطيافية الكتلة..... 56
ب.1.2 تقنية القذف الإلكتروني (I.E)..... 56
حالة الأجليكونات..... 56
حالة الجليكوزيدات..... 59
ب.2.2 تقنية القذف السريع بالذرات (F.A.B)..... 60
ب-3 مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون..... 60
ب.1.3 البروتونات الأروماتية..... 61
بروتونات الحلقة A..... 61
بروتونات الحلقة B..... 61
بروتـــون الحلقة C 62
ب.2.3. البروتونات الأليفاتية..... 63
ب.3.3. بروتونات السكر..... 63
الجليكوزيدات أحادية السكر..... 63
الجليكوزيدات ثنائية السكر..... 64
جـــ. الحلمهة الحمضية..... 65
المراجع..... 66
الفصل الثالث..... 69
I. المادة النباتية..... 70
II. الاستخلاص..... 70
III. عمليات الفصل..... 74
1. العمود الكروماتوغرافي..... 74
1.1 . تحضير الدعامة..... 74
2.1. طريقة العمل..... 74
3.1. جمع الكسور
المتشابهة..... 75

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com

2 . كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و العمود الوميض..... 77
IV.التعيين البنيوي..... 80
1.IV. التحليل البنيوي للمركبB_{2a2}≡B_{3c2}≡B_{2b}..... 81
2.IV. التحليل البنيوي للمركبB_{5b2} ≡ B_{2c} 88
الخاتمة..... 96
الملخص..... 97

المنارة للاستشارات
www.manaraa.com