

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح ورقلة

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء



مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر الأكاديمي

في الكيمياء

تخصص كيمياء منتجات طبيعية

من إعداد الطالبة:

حسيني أمينة

الموضوع:

المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية والفعالية المضادة للأكسدة لنبات طبي
من العائلة الكرنبية (Brassicaceae).

نوقشت يوم: 2020/09/30

أمام لجنة المناقشة المكونة من

رئيسا	أستاذ محاضر - أ - جامعة ورقلة	شبهوات الياقوت
مناقشا	أستاذ محاضر - أ - جامعة ورقلة	بوزيان مباركة
مؤطرا	أستاذ محاضر - أ - جامعة ورقلة	حمادة جميلة
مساعد مؤطر	أستاذ محاضر - أ - جامعة ورقلة	مخلفي طارق

السنة الجامعية: 2020 / 2019

اهداء

الحمد لله ذي المن والفضل والإحسان حمدًا يليق بجلاله وعظمته
وَصَلِّ اللّهُمَّ عَلَى خَاتَمِ الرُّسُلِ، مَنْ لَا نَبِيَّ بَعْدَهُ، صَلَاةً تَقْضِي لَنَا
بِهَاجَاتِنَا، وَتَرْفَعُنَا بِهَا إِلَى الدَّرَجَاتِ وَتَبَلِّغُنَا بِهَا أَقْصَى الْغَايَاتِ
مِنْ جَمِيعِ الْخَيْرَاتِ، فِي الْحَيَاةِ وَبَعْدَ الْمَمَاتِ . وَاللَّهُ الشُّكْرُ أَوْلَا وَآخِرًا، عَلَى
حَسَنِ تَوْفِيقِهِ، وَكَرِيمِ عَوْنِهِ.

أهدي ثمرة هذا العمل المتواضع :

* إلى نبع الحنان ... إلى من تحت قدميها الجنان... إلى هبة الرحمان... أمي
الغالية.

* إلى رمزي العطاء... إلى من علمني أن الدنيا أخذ وعطاء... أبي العزيز.

* إلى جميع أفراد عائلتي الكريمة .

* إلى حاملي لواء العلم والمعرفة

* إلى كل من جمعني بهم دروب الدراسة وافاق المعرفة إلى زملائي بقسم الكيمياء

شكر و تقدير

الشكر والحمد للمولى عز وجل الذي هدانا لهذا العمل فوقنا فيه ،ورزقنا نعمة العلم فيسر لنا طريقه وأضاء لنا دروب الجهل فمحا خطوبه القائل في محكم التنزيل (وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون) ، فله تعالى الحمد كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه .

*ثم الشكر الوافر للأستاذة المشرفة على هذه الدراسة: حمادة جميلة التي رافقتني في رحلة هذا العمل بتوجيهاتها وارشاداتها المصحوبة بابتسامات تفلج الصدور،فجزاها الله كل الخير، وأدام عليها الفضل العظيم.

كما أتقدم بالشكر الخالص والعرفان الجميل للأستاذ مخفي طارق على التوجيهات والمعارف العلمية التي قدمها لنا .

شكر و عرفان الى أعضاء لجنة المناقشة على قبولهم اثناء وتمثين هذا العمل والذي يشرفنا حضورهم وهم :

*الأستاذة:شبهوعات الياقوت.

*الأستاذة: بوزيان مباركة.

كما لا يسعني إلا أن أخص بأسمى عبارات الشكر تحمل خالص المشاعر الطيبة والصادقة تقديرا واحتراما لكل أستاذ وأستاذة كانوا لنا دربا طيلة هذا المشوار الدراسي .

ولكل من ساعدنا من قريب أو بعيد بكلمة التشجيع ، الى كل من أعطى دفعة لهذا البحث ليلج الى الضوء ، كما لاننسى أن نتقدم بأرقى وأثن عبارات الشكر والعرفان الى القائمين على قسم الكيمياء .أما باقي الأسماء فقد اختزلناها في ذاكرة المعترف لهم إلى الأبد .

شكراااا.

الصفحة	العنوان
1	❧ مقدمة عامة الجانب النظري
	I-الفصل الأول: الدراسة الببليوغرافية للنبته
5	I-1- تمهيد:
5	I-2- الوصف النباتي للنوع <i>Moricandia arvensis (L.) DC</i>
7	I-3-التصنيف النظامي للنبته <i>Moricandia arvensis (L.) DC</i>
7	I-4-التوزيع الجغرافي للنبته
8	I-5-الاستعمالات العلاجية
9	I-6-الدراسات العلمية السابقة
9	I-6-1- الدراسات البيولوجية
9	I-6-1-أ- الفعالية المضادة للبكتيريا
9	I-6-1-ب-الفعالية المضادة للأكسدة
10	I-6-1-ج - الفعالية المضادة للديدان الطفيلية الكيسية والرخويات
10	I-6-1-د - الفعالية المضادة للسمنة
11	I-6-2- الدراسات الكيميائية الفصل الثاني: الدراسة البنوية للفلافونيدات
20	II-1- تمهيد
20	II-2- تعريف الفلافونيدات
21	II-3- تصنيف الفلافونيدات
23	II-4-أهمية الفلافونيدات
23	II-5-الدراسة الكيميائية للفلافونيدات
23	II-5-1- الاستخلاص:
24	II-5-2- الفصل الكروماتوغرافي
25	II-5-3-التعيين البنوي للمركبات الفلافونيدية
25	II-5-3-1- الخواص الكروماتوغرافية
25	II-5-3-1-أ - اللون الاستشعاعي
26	II-5-3-1-ب - ثابت الاحتجاز R_f
27	II-5-3-2 - التحليل الطيفي للفلافونيدات

27	II - 5-3-2 - أ - مطيافية الأشعة فوق البنفسجية
33	II - 5-3-2 - ب-مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN ¹ H
III الفصل الثالث : تحليل نتائج الفصل الفلافونيدي	
39	III-1- المادة النباتية
39	III-2- الاستخلاص والفصل
40	III-3- النتائج والمناقشة
42	III-4- تشخيص المركبات المفصولة
42	III-4-1-التعيين البنوي للمركب (1)
42	III-4-1-1- تحليل نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV)
44	III-4-1-2- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون RMN ¹³ C للمركب (1)
45	III-4-1-3- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN ¹ H للمركب (1)
46	III-4-2- التعيين البنوي للمركب (2)
46	III-4-2-1- تحليل نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (2)
48	III-4-2-2- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون. RMN ¹³ C للمركب 2.
49	III-4-2-3- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN ¹ H للمركب (2)
51	III-4-3- التعيين البنوي للمركب (3)
51	III-4-3-1- تحليل نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (3)
52	III-4-3-2- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون RMN ¹³ C للمركب (3)
53	III-4-3-3- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN ¹ H للمركب (3)
55	III-4-4- التعيين البنوي للمركب (4)
55	III-4-4-1- تحليل نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (4)
56	III-4-4-2- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون RMN ¹³ C للمركب (4).
57	III-4-4-3- تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون

RMN ¹H للمركب (4) .

IV الفصل الرابع

60	IV-1- تمهيد
61	IV-2- المركبات الفينولية والفعالية المضادة للأكسدة
61	IV-3- طرق تحليلية واختبارات لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة
61	IV-3-1- التقدير الكمي للفينولات الكلية
63	IV-3-2- التقدير الكمي للفلافونيدات
63	IV-3-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة
64	IV-3-4-أ- اختبار DPPH للمستخلصات العضوية
65	IV-3-4-ب- اختبار ABTS
67	IV-4- مقارنة نتائج الفعالية للأكسدة
67	IV-4-1- مقارنة نتائج التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات الكلية
68	IV-4-2- مقارنة نتائج اختبار DPPH
69	IV-4-3- نتائج اختبار ABTS
	الجانب التطبيقي
	V الفصل الخامس:
72	V-1- المادة النباتية
72	V-2- المواد و الادوات والاجهزة المستعملة
73	V-3- الاختبارات الكيميائية الأولية
76	V-4- نتائج الاختبارات الكيميائية الأولية
77	V-5- الاستخلاص
81	الخاتمة

قائمة الصور

الصفحة	العنوان	الصورة
6	النبتة <i>Moricandia arvensis</i> (L.)DC	الصورة: 1-I
7	نموذج أزهار <i>Moricandia arvensis</i> (L.)DC في صورة شمسية وأخرى تشكيلية توضح المقطع الداخلي لها .	الصورة: 2-I
76	نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية للمستخلصات بعد اضافة الكواشف.	الصورة: 1-V

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	الشكل
21	الهيكل الفلافونيدي	الشكل: 1-II
21	الهيكل الفلافونيدية المختلفة	الشكل: 2-II
30	المعقد المتشكل بين الفلافونيد و (NaOAc + H ₃ BO ₃)	الشكل: 3-II
31	المعقدات الثابتة وغير الثابتة بينالفلافونويد وAlCl ₃ قبل وبعد اضافة HCl	الشكل: 4-II
46	صيغة المركب Hesperetin	الشكل: 1-III
50	صيغة المركب Hispidulin	الشكل: 2-III
54	صيغة المركب Salvigenin	الشكل: 3-III
59	صيغة المركب 3'-O- Methylpratensein	الشكل: 4-III
64	آلية ارجاع الجذر DPPH [·] في وجود عامل مضاد للأكسدة	الشكل: 1-IV
66	آلية ارجاع الجذر ABTS ^{·+} بواسطة عامل مضاد للأكسدة	الشكل: 2-IV

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	الجدول
7	التصنيف النظامي للنوع DC (<i>Moricandia arvensis</i> (L.))	الجدول: (1.I)
12	بعض المركبات المفصولة من مستخلصات النبتة	الجدول: (2.I)
14	بعض المركبات المفصولة من النبتة بواسطة HPLC-MS	الجدول: (3.I)
16	الشروط التجريبية لتشخيص مكونات الزيت الأساسي للنبتة في حالة GC /MS و في حالة FID GC	الجدول: (4.I)
17	المركبات المفصولة من الزيت الاساسي للنبتة	الجدول: (5.I)
22	أهم مميزات الاصناف الفلافونيدية	الجدول: (1.II)
25	العلاقة بين لون المركب تحت اشعة UV وبنيته الكيميائية	الجدول: (2.II)
27	العلاقة بين R_f والبنية الفلافونيدية	الجدول: (3.II)
28	اهم الانزياحات الملاحظة في الوسط الميثانولي	الجدول: (4.II)
31	مختلف تأثير الكواشف على طيف UV ودلالاتها	الجدول: (5.II)
35	قيم الانزياح الكيميائي لبروتونات الحلقة A	الجدول: (6.II)
37	قيم الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري	الجدول: (7.II)
41	النتائج المحصل عليها من خلال نتائج الاختبارات الأولية	الجدول: (1.III)
42	الخواص الكروماتوغرافية للمركبات المفصولة	الجدول: (2.III)
43	نتائج امتصاص الأشعة فوق البنفسجية للمركب 1	الجدول: (3.III)
44	نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ^{13}C RMN	الجدول: (4.III)
	للمركب 1	
46	نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون 1H RMN	الجدول: (5.III)
	للمركب 1	
47	نتائج طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية للمركب 2	الجدول: (6.III)
48	نتائج طيف الرنين النووي للكربون ^{13}C RMN للمركب 2	الجدول: (7.III)
50	نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون 1H RMN	الجدول: (8.III)
	للمركب 2	
52	نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية للمركب 3	الجدول: (9.III)
53	نتائج طيف الرنين النووي للكربون ^{13}C RMN للمركب 3	الجدول: (10.III)

الجدول:(11.III) : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN^{1H} للمركب 3 .

الجدول:(12.III) نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية للمركب 4

الجدول:(13.III) نتائج طيف الرنين النووي للكربون RMN^{13C} للمركب 4

الجدول:(14.III) : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN^{1H} للمركب 4 .

الجدول: (1.IV) نتائج اختبار DPPH حسب المرجعين [13] و[14]

الجدول: (2.IV) نتائج اختبار ABTS حسب المرجع [13]

الجدول: (1.V) المواد و الادوات والاجهزة المستعملة

الجدول:(2 .V) نتائج الاختبارات الكيميائية الأولية

Moricandiaarvensis(L).D

المخططات

79 المخطط استخلاص الفلافونيدات من *Moricandiaarvensis(L.)DC* (1.V)

قائمة المختصرات:

Solvents and reactifs:	Structural determination:
AcOEt :Ethylacetate	d: Doublet
AcOH: Acetic acid	dd: Doublet of doublet
AlCl ₃ : Aluminum chloride	J: coupling constant (Hz)
n-BuOH: Butan-1-ol	t: Triplet, q: Quartet, s: Singlet
CD ₃ OD: Deuteriomethanol	¹ H-NMR: Proton Nuclear Magnetic Resonance
CHCl ₃ : Chloroform	¹³ C-NMR: 13Carbon Nuclear Magnetic Resonance
CDCl ₃ : Deuteriochloroform	HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation
CH ₂ Cl ₂ : Dichloromethane	HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
EtOH: Ethanol ;	Cosy: Correlation Spectroscopy
Ep :Peterolum ether	MS: Mass Spectrometry
DMSO-d ₆ :(Hexadeutero-Dimethylsulfoxid)	m/z: Mass_to_Charge ratio M+: Molecular ion
H ₃ BO ₃ : Boric acid	UV: Ultraviolet
HCl: Hydrochloric acid	UV/Vis: Ultraviolet _ Visible
MeOH: Methanol	
NaOAc: Sodium acetate anhydrous powder	
NaOH: Sodium hydroxide	
Ep :Peterolum ether	
DMSO-d ₆ : (Hexadeutero-Dimethylsulfoxid)	
H ₃ BO ₃ : Boric acid	
HCl: Hydrochloric acid	
MeOH: Methanol	
NaOAc: Sodium acetate anhydrous powder	
NaOH: Sodium hydroxide	

Chromatographic techniques:	Unites:
CC: Column chromatography	%: Percent
GC_MS: Gas chromatography _ Mass spectroscopy	λ : Lambda maximum wavelength
HPLC: High performance liquid chromatography	G: Gram
Rf: Retention factor	Hz: Hertz
Biological activities:	μ g: Micro gram
IC ₅₀ : 50% inhibitory concentration	μ l: Micro liter
DPPH: 1,1-diphenyl -2- picrylhydrazyl radical	mg: Milligram
ABTS ^{•+} : 2,2'-azino-bis-(3- ethylbenzothiazoline-6- sulphonate) radical cation	nm: nanometer
ROS: Reactive oxygen species	ppm: parts per million
	M: Molar
	min: Minute



المقدمة

مقدمة عامة.

يذكر التاريخ أن بداية اهتمام الإنسان واستعماله للمستخلصات النباتية منذ آلاف السنين ،حيث قنن الدساتير الطبية التي يصف فيها النبات الطبي بدقة مع ذكر الأجزاء التي تستعمل وكذلك طرق تحضير الجرعات اللازمة التي يجب على المريض أخذها [1]. وبعد أن أصبح الأصل الكيميائي الفعال في العديد من النباتات معروفا ومع ازدياد الطلب على العقاقير، عمد الكيميائيون على التحضير العضوي لها. لكن ثبت أن معظم الأدوية التي تصنع حديثا لاتخلو من الأعراض الجانبية ...من هنا استعادت النباتات الطبية قيمتها وأوصت المؤتمرات الدولية بالعودة إلى الطبيعة الأم والاهتمام بالثروات النباتية فهي المصدر الآمن للغذاء والدواء وقد قال ابوقراط قديما (ليكن غذاؤك دواؤك وعالجوا كل مريض بنبات أرضه فهو أجلب لشفائه) [2، 3].

و مازال حتى الآن عدد كبير من العقاقير ذات الأصل النباتي ذات قيمة علاجية كبيرة. ولذلك يمكن القول أن للنباتات الطبية دور في معالجة الكثير من الأمراض فما أنزل اللّٰهُمّن داء إلا وأنزل له دواء، حيث تحتوي النباتات على كم هائل من المركبات الكيميائية من فلافونيدات كومارينات ،تربينات قلويدات... الخ وتعد الفلافونيدات من نواتج الأيض الثانوي الأكثر انتشارا في المملكة النباتية حيث تم حصر أكثر من 4000 مركب فلافونيدي [4].

تملك الجزائر ثروة نباتية متنوعة، لما لها من مساحات واسعة وتنوع في المناخ إضافة إلى موقعها الجغرافي. ولا يخفى ما لهذه الثروة النباتية من قيمة اقتصادية لا يمكن إهمالها أو الاستهانة بها بل يجب المحافظة عليها وتنميتها ، وتقييمها وإدارتها على نحو مستدام وعقلاني من جل الحفاظ على التوازن البيئي والتنوع البيولوجي [5] .

وفي رحلة البحث عن أهمية النباتات الطبية وتحديد خصائصها العلاجية أي مدى تأثيراتها الفسيولوجية والبيولوجية على الكائن الحي لإثراء مكتبة النباتات الطبية وفي إطار البحث عن مصادر المواد الفعالة الطبيعية وتحديد الوقوف على بعض نواتج الأيض الثانوي خاصة الفلافونيدي منها. ارتأينا للمساهمة في دراسة بعض خصائص ومكونات أحد نباتات العائلة الكرنبية .وبالتحديد سنسلط الضوء على النوع *Moricandi arvensis (L.)DC* أختيرت على أساس دراسات علمية سابقة فيتوكيميائية وبيولوجية، لدعم الدراسات السابقة ولتقييم هذه الثروة النباتية بالجزائر لاسيما تلك المستعملة في الطب التقليدي. فهل يمكننا اعتبار هذه النبتة نباتا طبييا؟ وماهي المركبات الفعالة الموجودة في مستخلصاتها؟ وهل تملك فعالية بيولوجية؟؟

ولحل هذه الإشكالية،ارتأينا للدراسة الفيتوكيميائية للنبتة ودراسة فعاليتها المضادة للأكسدة.وتحوي المذكورة على جزء نظري وجزء تطبيقي. وخطة البحث تتضمن مايلي:

الجزء النظري يحتوي على أربعة فصول:

الفصل الأول: الدراسة البيبليوغرافية للنبتة

الفصل الثاني: الفلافونيدات

الفصل الثالث: تضمن دراسة تحليلية لنتائج الفصل الفلافونيدي لدراسة سابقة.

الفصل الرابع: تطرقنا إلى مقارنة نتائج الفعالية المضادة للأكسدة لبعض مستخلصات النبتة لدراسات سابقة .

أما في الجزء التطبيقي تناولنا فيه الأعمال المخبرية التي توصلنا لها وتضمن فصل واحد خاص بالدراسة الفيتوكيميائية للنبتة.

الجزء النظري

الفصل الأول:

الدراسة البيبليوغرافية للنبذة

I-1-تمهيد:

يزيد عدد الأنواع النباتية المدروسة في الجزائر عن 3100 نوع [6]. وتعتبر العائلة الكرنبية أو ما تعرف بالصليبية قديما، أنها من بين العائلات النباتية الموجودة في بلادنا. وتصنف نباتاتها من ذوات الفلقتين، وهي عبارة عن أعشاب حولية متواجدة في المناطق الحارة والمعتدلة وبشكل خاص في إقليم البحر المتوسط تحتوي على 338 جنس و370 نوع [7]. أما في الجزائر فنجد 200 جنس [8].

ومن أجناسها:

Brassica، *Ammosperma*، *Diplômatis*، *Moricandia*... [9]. بعض نباتات هذه العائلة

نباتات رحيقية مثل جنس الملفوف، كما تحتوي على أنواع نباتية أخرى ضارة. ومن بين الاستعمالات

الشائعة لنباتات هذه العائلة يستعمل البعض منها للزينة (مثل نبات المنثور)، والبعض الآخر في

استخدام زيتها المستخلص لصناعة الصابون كنبات الكاميلينا .

وما يميز هذه العائلة أن نباتاتها جد مغذية لاحتوائها على الفيتامينات ،الألياف،السكريات

والمركبات الفينولية ... [10].

سنسلط الضوء في هذه الدراسة على النوع *Moricandia arvensis*(L.)DC الذي ينتمي للجنس

Moricandia

I - 2 - الوصف النباتي للنوع *Moricandia arvensis* (L.)DC:

أحد الأنواع الثمانية للجنس *Moricandia* الذي ينتمي للعائلة الكرنبية. وهي عبارة عن

أعشاب حولية، خشبية، ذات جدع جذري غالبا ماتكون متفرعة ونادرا مانجدها مستقيمة [11].



الصورة (I . 1): النباتة *Moricandia arvensis* (L.)DC

ومن مميزاتنا أن:

أوراقها: بسيطة كاملة الحافة، متبادلة، لحمية، عديمة الاذنات وأوعيتها خشبية وضيقة.

الساق: يتراوح ارتفاعها ما بين 30 إلى 40 سم.

أزهارها: ثنائية الجنس، منتظمة، يتكون الكاس من 4 سبيلات، أما التويج فيتكون من 4 بتيلات

بنفسجية اللون ومتعامدة، طولها يتراوح من 15 إلى 20 مم.

ثمارها: عبارة عن سيليكات خطية ومضغوطة.

بذورها: عديدة ، صغيرة، بيضاوية الشكل، ملساء و لونها بني فاتح.

الطلع : مكون من 6 أسديه عادة تكون في محيطين، 2 في المحيط الخارجي ذات خيوط قصيرة و 4

في المحيط الداخلي ذات خيوط طويلة.

المدقة: تتكون من كربلتين ملتحمتين جانبيا [12].



الصورة (I. 2): نموذج أزهار *Moricandia arvensis* (L.) DC في صورة شمسية وأخرى تشكيلية توضح المقطع الداخلي لها .

ومن أسمائها الشائعة:

بالعربية كرنب ، كرمب الجمل .

بالفرنسية: Chou des champ

بالانجليزية: violet –cabbage, Purple mistress

بالألمانية: Acker- Morikandie [13].

I-3- التصنيف النظامي للنوع *Moricandia arvensis* (L.) DC: [14].

الجدول (I.1) : التصنيف النظامي للنوع *Moricandia arvensis* (L.) DC

Regne	<i>Plantae</i>	المملكة
Sous Regne	Rhizophytes	تحت المملكة
Emrenchement	Phanerogams	الشعبة
Sous- Emrenchement	Anngiosperms	تحت الشعبة

Classe	<i>Dicotylédons</i>	الصف
Sous-Classe	<i>Dialypétals</i>	تحت الصف
Ordre	<i>Rhoeadales</i>	الرتبة
Famille	<i>Brassicaceae</i>	العائلة
Genre	<i>Moricandia</i>	الجنس
Espèce	<i>M.arvensis (L.)Dc</i>	النوع

4-I - التوزيع الجغرافي للنبتة :

إن الجنس *Moricandia* متواجد في كل من شمال إفريقيا، أوروبا وجنوب آسيا. أما النوع *Moricandia arvensis (L.)DC* فهي مستوطنة في مناطق البحر الابيض المتوسط [15].

ومن خلال الدراسات العلمية التي أجريت في الجزائر، تبين أن هذه النبتة متواجدة في العديد من ولايات الوطن على سبيل المثال بجاية، سطيف، بسكرة، ورقلة، غرداية، النعامة، بشار [8، 16].

5-I - الاستعمالات العلاجية:

تعتبر نبتة *Moricandia arvensis (L.)DC* من النباتات المستعملة في الطب الشعبي خاصة في صحراء الجزائر لتوفرها على خصائص علاجية هامة. فحسب المعطيات التقليدية لمنطقة تبسة (الشرق الجزائري) أن لها فعالية مضادة لداء الثعلبية، كما لها فعالية علاجية لسم العقرب والروماتيزم. وفي بعض التقارير ذكر أنها تستخدم في المطبخ التقليدي. أما منطقتي ورقلة وغرداية (الجنوب الجزائري) فهي تعطى لتسمين الأغنام والجمال نظرا لما تحتويه من قيمة غذائية. أيضا يتم غلي أوراقها واستخدام المستخلص لعلاج مرض الزهري [16، 17].

I-6- الدراسات العلمية السابقة:

من بين المجالات التي درست هذه النبذة، نجد المجال البيولوجي والمجال الكيميائي، الأمر الذي أدى إلى تثمين و تعزيز أهميتها.

I-6-1- الدراسات البيولوجية:

بالإضافة إلى استخداماتها العلاجية *Moricandia arvensis (L.)DC* لديها العديد من

الخصائص البيولوجية، نذكر منها:

I-6-1-أ - الفعالية المضادة للبكتيريا :

من خلال دراسات علمية تبين أن المستخلص الميثانولي والمائي أظهر أعلى تثبيط لبكتيريا

Pseudomonas aeruginosa [17].

أظهر مستخلص الميثانولي أعلى نسبة تثبيط لبكتيريا *E.coli* (PQ37·PQ35) مقارنة

بالمستخلصات العضوية الأخرى حيث قدرت النسبة لكل من *PQ37 E coli* ، *PQ35 E. coli*

95.37%، 99.87% على التوالي .

I-6-1-ب -الفعالية المضادة للاكسدة:

أظهرت الأبحاث العلمية أن مستخلصات خلاص الايثيل للأوراق وللسيقان لها دور في حماية

AND من التلف وتدمير الخلايا السرطانية،من خلال نشاطها المضاد للأكسدة. أما مستخلصات

الكوروفورم، فقد أظهرت أعلى قيمة للقدرة المضادة للاكسدة المكافئة ل Trolox (TEAC)

للجنر $ABTS^{+}$ ، حيث قدرت IC_{50} لها ب $0.9mg/mL$ [18].

أظهر كل من مستخلص الميثانول و خلاص الايثيل أفضل قدرة تثبيطيه للجذر DPPH [19،18]. كما كان لمستخلص خلاص الايثيل فعالية مضادة للأكسدة في حماية *acide linoleique* من الأكسدة بواسطة البيروكسيد H_2O_2 وذلك من خلال اختبار β -caroténe حيث قدرت IC_{50} بـ $35.69 \mu g/mL$ [19].

I-6-1-ج - الفعالية المضادة للديدان الطفيلية الكيسية والرخويات:

بعد الاستخلاص ونتائج الفحص الكيميائي للمستخلصات النباتية المائية والعضوية (الاسيتون، الميثانول، الكلوروفورم و البيتانول) تم تقييم نشاطها المضاد للديدان الكيسية (*Heterodera lymnaeaacuminata*) وللرخويات الناقلة للطفيليات في المياه العذبة (*Bulinustruncatus*) في ظل الظروف التجريبية (درجة الحرارة الملائمة $24^{\circ}C$ والرطوبة والتهوية). أظهر المستخلص المائي أن له أعلى نشاط في التثبيط بعد استعماله لمدة من 24 ساعة الى 96 ساعة مقارنة بالمستخلصات العضوية، حيث قدرت نسبة معدل وفيات من العينات المختبرة ($LC\%$) بـ $34,49\%$ [8].

I-6-1-د - الفعالية المضادة للسمنة :

إن الليباز البنكرياسي، إنزيم رئيسي مسؤول عن امتصاص الدهون في الجسم وبهذا يكون أحد الأهداف لعلاج السمنة، في حين جذبت المركبات الطبيعية مؤخرًا اهتمامًا كبيرًا. تعتبر *Moricandia arvensis (L.) DC* أحد المصادر للمواد الكيميائية النباتية الحيوية للتثبيط الدوائي لامتصاص الدهون. تم التحقق من القدرة التثبيطية لإنزيم الليباز البنكرياسي من خلال

اتخاذ p-nitro phenyl caprylate (NPC) كركازة، فتنشيط هذا الإنزيم يؤدي إلى حماية (NPC) من التحلل المائي .

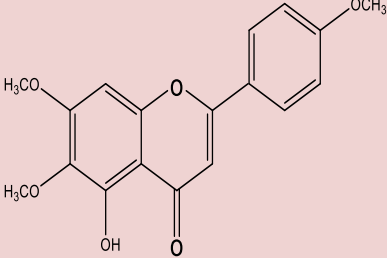
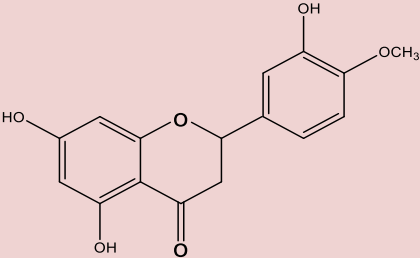
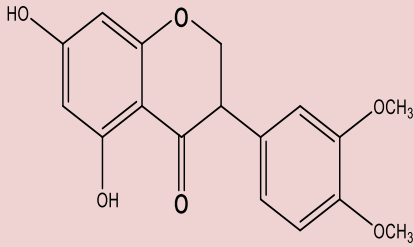
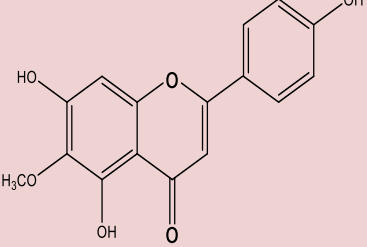
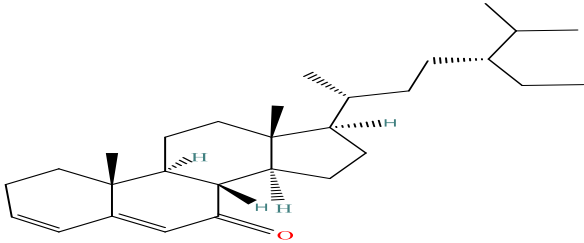
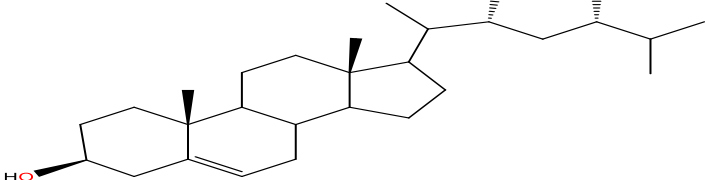
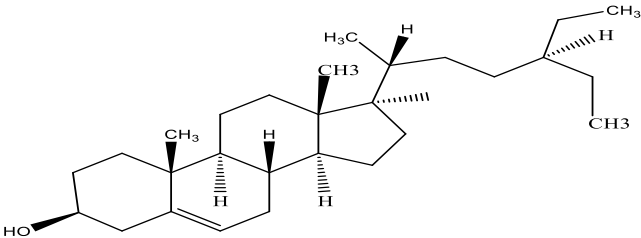
حيث أظهر كل من مستخلص الميثانول، ديكلوروميثان وخلات الايثيل تنشيطا قويا لإنزيم الليباز. فقد بلغت قيم IC_{50} لهذه المستخلصات 2.06 ، 1.52، و 1.31 mg/mL على التوالي. أظهرت أعلى قدرة تثبيطية لهذا الإنزيم في مستخلص الميثانول وبنسبة 76.46%، لاحتوائه على الفلافونيدات الجليكوزيدية المسؤولة على تثبيط الليباز البنكرياسي وبهذا فهي مضادة للسمنة [19].

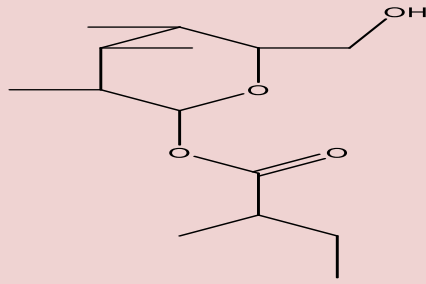
I-6-2- الدراسات الكيميائية:

من خلال النتائج المحصل عليها تبين أن المستخلص الميثانولي يحتوي على أعلى نسبة لكمية الفينولات والفلافونيدات (التقدير الكمي) حيث قدرت بنسبة 92.5mg/g و 18.34mg/g على التوالي [19].

تم عزل وتشخيص باستعمال الطرق الطيفية 3 مركبات كربوهيدراتية [20]، و 4 مركبات فلافونيدية من مستخلصات الكلوروفورم وخلات الايثيل [17]. ومن خلال الدراسة الفيتوكيميائية للزيت الأساسي للنبتة، تم عزل 3-indonylethylen oxide وثلاث مشتقات جليكوزيدية [21]. وبواسطة GC-MS تم فصل 3 مركبات ستيروولية (phytosterols) من مستخلص الهكسان [19].

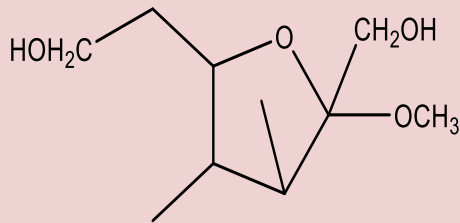
الجدول (2.I) : بعض المركبات المفصولة من مستخلصات النباتة

المركبات	المواد الفعالة
<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>Salvigenin</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Hesperetine</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p>Hispidulin</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>3'-O-Methylpratensein</p> </div> </div>	<p>الفلافونيدات [12]</p>
<div style="text-align: center; margin-bottom: 20px;">  <p>Stigmasta-3,5-dien-7-one</p> </div> <div style="text-align: center; margin-bottom: 20px;">  <p>22,24- Dimethylcholesterol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>β-Sitosterol</p> </div>	<p>الستيرولات [19]</p>

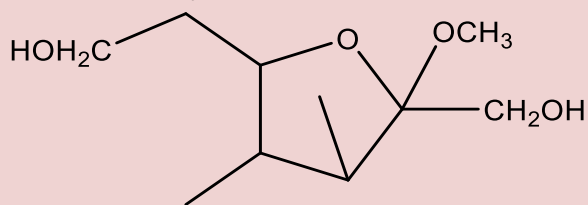


β -D-glucopyranosyl-2-Méthylbutanoate

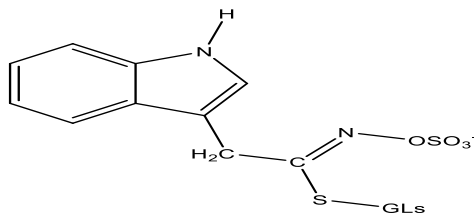
الجليسيدات [20]



O-méthyl- α -D-fructofuranose

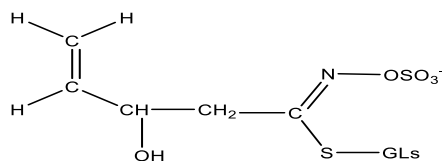


2-O-méthyl- β -D-fructofuranose

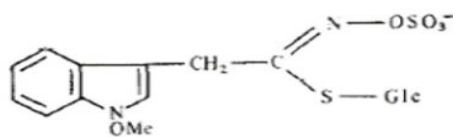


3-indolyl methylglucosinolate

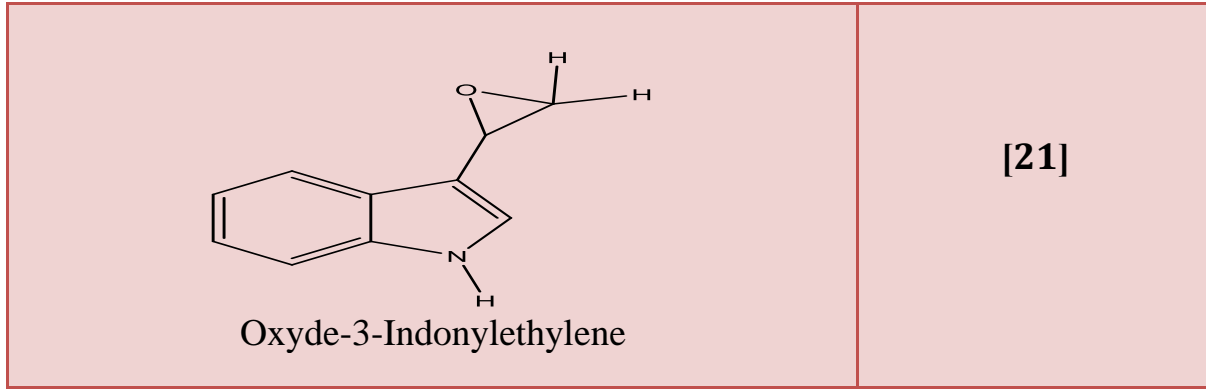
المشتقات الجليكوزيدية
[21]



2-hydroxy but-3-enylGlucosinolate



methoxy-3-indolylmethylglucosinolate



فصلت 7 فلافونيدات جليكوزيدية و 7 مشتقات جليكوزيدية أليفاتية، باستعمال HPLC-MS من مستخلص الميثانول. حيث وجد 5 مركبات من الفلافونيدات الجليكوزيدية لها نفس الأيون الجزيئي $[Aglycone+H]^+$ له $M/Z = 287 \text{ g/mol}$ والذي ينطبق على جزيئة **Kaempférol** ومركبين لهما نفس الأيون الجزيئي $[Aglycone+H]^+$ له $M/Z = 303\text{g/mol}$ والذي ينطبق على جزيئة **Quercetin**. [19].

الجدول (3.I): بعض المركبات المفصولة من النباتة بواسطة HPLC-MS.

[M + H] ⁺ MS/MS (%)	pic de base (%)	المركبات
611 (1.0) [(M + H)-146] ⁺ ; 595 (46) [(M + H)-162] ⁺ ; 449 (4) [(M + H)-308] ⁺ ; 287 (1) [(M + H)-308-162] ⁺ , [Aglycone + H] ⁺	757 (100)	Kaempferol-3-O-β-(2''-O-glucosyl)-rutinoside
595 (37) [(M + H)-132] ⁺ ; 581 (2) [(M + H)-146] ⁺ ; 433 (6) [(M + H)-162-132] ⁺ ; 287 (2) [(M + H)-132-162-146] ⁺ , [Aglycone + H] ⁺	727 (100)	Kaempferol-3-O-β-(2''-O-xylosyl-6''-O-rhamnosyl)-glucoside
611 (2) [(M + H)-162-] ⁺ ; 449 (64) [(M + H)-162-162] ⁺ ; 303 (18) [(M + H)-162-162-146] ⁺ , [Aglycone + H] ⁺	773 (100)	Quercetin-3-O-β-sophoroside-7-O-α-rhamnoside.

449(71)[(M+H)-162]+;303(19) [(M+H)-162-146]+,[Aglycone+H]+	611 (100)	Quercetin-3-O-β-glucosyl-7-O-α-rhamnoside
595 (2) [(M + H)-162]+; 433.1 (81) [(M + H)-162-162]+; 287.0 (28) [(M + H)-162-162-146]+, [Aglycone + H]+	757 (100)	Kaempferol-3-O-β-sophoroside-7-O-α-rhamnoside
433(78)[(M+H)-162]+;287(23) [(M+H)-162-146]+,[Aglycone+H]+	595 (100)	Kaempferol-3-O-β-glucosyl-7-O-α-rhamnoside
433 (100) [(M + H)-132]+; 419 (4) [(M + H)-146]+; 287 (23) [(M + H)-132-146]+, [Aglycone + H]	565 (100)	Kaempferol-3-O-α-arabinosyl-7-O-α-rhamnoside
MS/MS (%) [M + Na]⁺ m/z	Pic de base	المركبات
219 (2) [(M + Na)-RCNOH]+; 100 (100) [CH ₂ CHCH ₂ NCS + H]+; 72 (10) [CH ₂ NCS]+	320	3-Hydroxypropyl-GLS
219 (35) [(M + Na)-RCNOH]+; 100 (100) [CH ₂ CHCH ₂ NCS + H]+	334	3-Hydroxybutyl-GLS
(185 (3) [(M + Na)-RCNOH-H ₂ S]+; 154 (2) [(M + Na)-Glu]+; 72 (10) [CH ₂ NCS]+; 58 (19) [NCS]+	316	Gluconapin (3-Butenyl-GLS)
186 (2) [(M + Na)-RCNOH-H ₂ S]+; 100 (100) [CH ₂ CHCH ₂ NCS + H]+; 72 (10) [CH ₂ NCS]+	318	Isobutyl-GLS
220 (38) [(M + Na)-RCNOH]+; 174 (2) [(M + Na)-Glu]+; 100 (100) [CH ₂ CHCH ₂ NCS + H]+; 72 (10) [CH ₂ NCS]+	336	Glucoviorylin (2- (Methylthio)-ethyl-GLS)
219 (15) [(M + Na)-RCNOH]+; 100 (100) [CH ₂ CHCH ₂ NCS + H]+; 58 (13) [NCS]+	350	Glucoiberverin (3-(Methylthio)-propyl- GLS)
220 (2) [(M + Na)-RCNOH]+; 100 (100)	352	Glucotropaeolin

[CH ₂ CHCH ₂ NCS + H] ⁺ ; 72 (10)	(Benzyl-GLS)
[CH ₂ NCS] ⁺	

سمح التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية ل 17 عينة من نوع *Moricandia arvensis* (L.)DC

تم التحصل عليها من مناطق مختلفة من الشرق الجزائري (بجاية ،سطيف، باتنة ،بسكرة) و

استخلصت عن طريق التقطير المائي. تراوحت نسبة المردود بين 0,045% و 0,065% أما

متوسطه قدر ب 0,051%. تم التعرف على 45 مركبا كيميائيا باستعمال GC/MS

، GC/FID بما فيها: كحول، 9 الكانات، 3 مشتقات Glucosinolates، ألكينين، 11 حمض دهني، 5،

الدهيدات، 7 كيونات، 3 استرات، تربينين، ومركبين اخرين. حيث شكلت الأحماض الدهنية غالبية

الزيوت الاساسية المستخلصة من الجزء الهوائي للنوع *Moricandia arvensis* (L.)DC بنسبة (%)

47,59)، تليها الكيتونات (15,44%) ثم التربينات (13,42%) [22].

الجدول (4.I):الشروط التجريبية لتشخيص مكونات الزيت الأساسي للنبذة في حالة GC/MS وفي

حالة GC/FID.

الشروط التجريبية في حالة GC/FID	الشروط التجريبية في حالة GC/MS
العمود: 0.25 mm x 30 m من نوع 6890	العمود: 0.25mm x 30 m من نوع
.HP	HP7890
الغاز الحامل: الهيدروجين 1 ml/min	الغاز الحامل: الهيليوم 1ml/min
درجة الحرارة عند الحقن: 280 °C	درجة الحرارة عند الحقن: 250 °C
درجة حرارة الكاشف: 300 °C	درجة حرارة الكاشف: 280 °C
برمجة الفرن: 50 لكل 5min، 5 °C/ min	برمجة الفرن: 50°C لكل 5min، 5 °C/ min

<p>50 ° إلى 300 °C ، 5min ب 300 °C . نوع الكاشف: التأين باللهب</p>	<p>50 ° إلى 300 °C ، 5min ب 300 °C . تقنية الحقن: split نوع الكاشف: مطيافية الكتلة HP 5975-C</p>
---	--

الجدول (5.I): المركبات المفصولة من الزيت الاساسي للنبتة

المركبات	المواد المفصولة
<p>Tridecane ,Eicosane , Pentacosane , Heptacosane ,n- Heneicosane , Tricosane n-Heptadecane,n- Docosane,Heptacosane</p>	<p>الألكانات</p>
<p>tridécène<1->, Nonene,</p>	<p>الألكينات</p>
<p>AcNonaoïque ,AcDécanoïque (Carpique),Acide Dodécanoïque(Laurique) , AcTétradécanoïque (myristique), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (Phtalate) 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutylphtalate Acide hexadécanoïque (palmitique) 9,12-octadécanoïque acide (Acide linoléique) acideoctadécanoïque (stearique) Hexadecanoicacid, 2-hydroxy Octadecanoicacid, 2-hydroxy-1,3-p</p>	<p>الأحماض الدهنية</p>
<p>n-Decanal, Nonanal,,tétradécanal Pentadécanal,benzèneacétaldehyde</p>	<p>الألدهيدات</p>
<p>hydroxy-4-methyl-pentan-2-one - trimethylcyclohexa-1,3-diényl)butan-2-one .) 4-(2,6,6 GERANYL ACETONE, nerylacétone ,</p>	

2-pentadécanone , 2-Pentadecanone-6,10,14-trimethyl , farnésylacétone C .	الكيتونات
Octadécanol	الكحولات
linolénoate de méthyl cyclopentanoate d'éthényle Ethyllinoleolate	الأسترات
,butényl isothiocyanate-3 ,diméthyltrisulfide .1,4-diméthyl tétrasulfid	مشتقات Glucosinolates
phytol.,-Ionone β	التربينات
heptyl,hexyl ether (Z,Z)-6,9-cis-3,4-epoxy-nonadecadi	مركبات أخرى

الفصل الثاني:

الفلافونيدات

II-1- تمهيد:

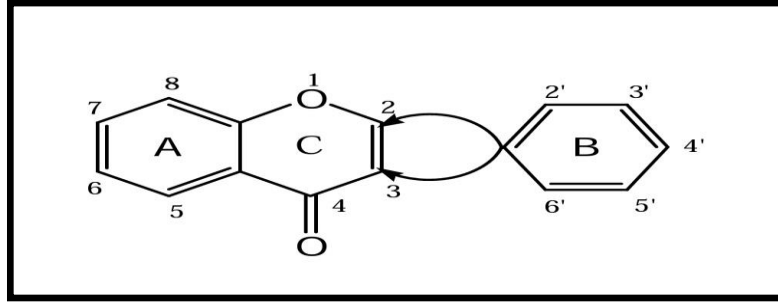
اهتم العلماء الباحثون بالفلافونيدات منذ زمن بعيد، نظرا لفوائدها المتعددة منها الصيدلانية واستعمالاتها الكثيرة في ميادين حيوية متنوعة، اذ يمثل القسم الأكبر منها منتجات الأيض الثانوي للنبات، وقد تم حصر أكثر من 4300 بنية في صورة ايتيروزيدية [23،24]. تم استخراجها من النبات وبصورة واسعة عند كاسيات البذور حيث يبلغ تنوع البنيات التركيبية أقصاه، غير تنوع بنياتها يكون محدودا عند عاريات البذور والطحالب.

تتواجد الفلافونيدات على مستوى الخلية النباتية في شكل ايتيروزيدات متمركزة في حويصلة الخلية تتحلل في الماء. أما الفلافونيدات متعددة الميوكسيل فتتواجد في سيتوبلازم الخلية غير أن تواجدها في صورة جليكونات فإنها تتوضع على الأنسجة السطحية للأوراق [25].

II-2- تعريف الفلافونيدات:

المصطلح مشتق من الكلمة اللاتينية « flavus » وتعني أصفر. تعتبر من أهم المجموعات الفينولية وتمثل القسم الأكبر لنواتج الأيض الثانوي للنبات. معظم مركباتها صفراء اللون، حيث تكون مسؤولة مع مركبات أخرى على ألوان الأزهار والثمار والفواكه وأحيانا الأوراق [26].

حظيت الفلافونيدات بالدراسة الوافرة منذ اكتشافها من طرف عالم الكيمياء الحيوية " AlbertSzent Gyorgi. إلا أن كلمة فلافونويد أدخلت عام 1952 م من طرف Hinreiner و Geissman لتطلق على جميع الصبغات النباتية والتي تملك الهيكل C6-C3-C6 و الذي يضم 15 ذرة كربون موزعة على الحقتين A (و) B تجمعهما حلقة غير متجانسة (C) تحوي عنصر أكسجين [27].



الشكل (II 1): الهيكل الفلافونيدي

II - 3- تصنيف الفلافونيدات:

بنويوا تتفرع الفلافونيدات إلى عدة أنواع تبعا: لعدد، موضع وطبيعة المستبدلات التي تكون في

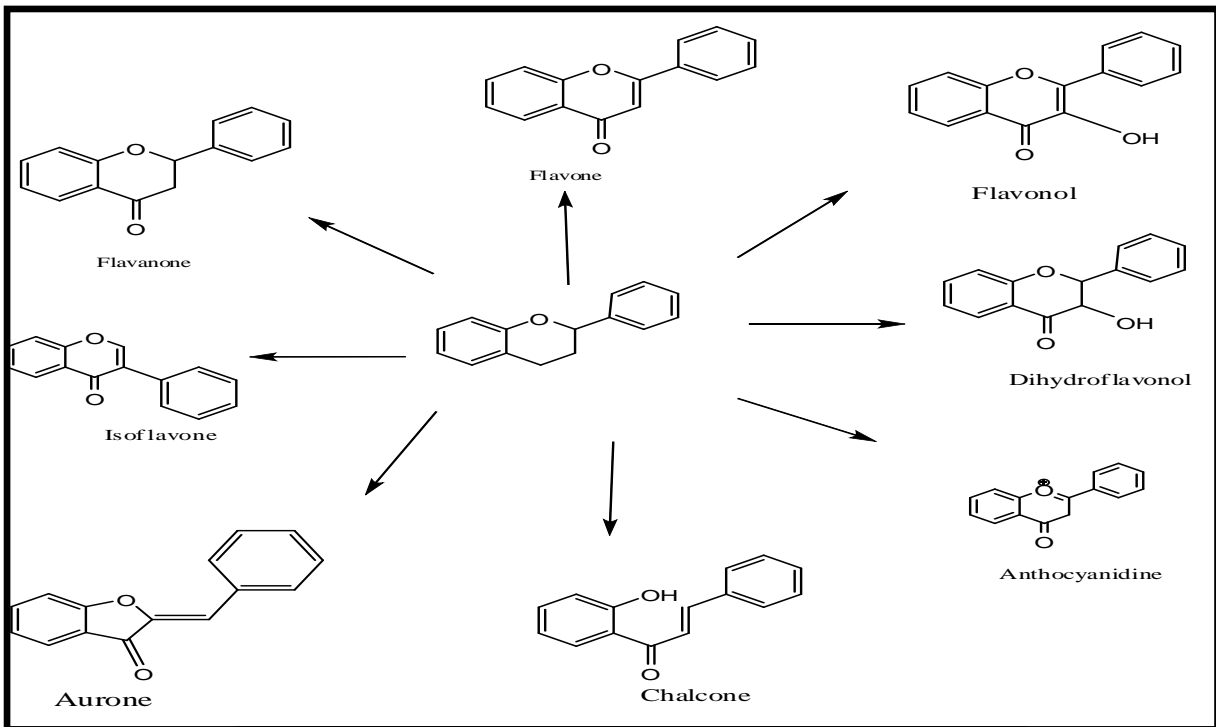
أغلب الأحيان عبارة عن مجموعات ميتوكسيل أو جليكوزيل كما تم تحديد البنى وتصنيفها حسب درجة

التأكسد الحلقة (C) [28]:

توجد المركبات الفلافونيدية على نوعين إما اجليكونات، وتكون عادة تحمل مستبدلات

الميتوكسيل أو الهيدروكسيل. أو جليكوزيدات يضم بناؤها وحدات سكرية بسيطة أو معقدة [29]. حيث

ترتبط مع الجزء السكري برابطة من النوع C - C أو النوع C - O - C [28].



الشكل (II 2): الهياكل الفلافونيدية المختلفة

جدول (1. II): أهم مميزات الاصناف الفلافونيدية

المرجع	المميزات	الصف
[30]	* رابطة غير مشبعة بين C_2 و C_3 * وجود وظيفة السيتون في الموقع 4 * تتميز بوجود ذرة هيدروجين في الموضع 3.	الفلافون
[30]	* مستبدلة بمجموعة هيدروكسيل OH في الموضع 3 لمركب فلافوني , كما تكون الحلقة B مستبدلة 80 % في الموضع 4' ب هيدروكسيل أو ميتوكسيل . إما الحلقة A فتكون مستبدلة بأكثر من 90% ب OH ، OCH_3 أو بوحدات سكر في الموقعين C_5 و C_7 .	الفلافونول
[31]	* وجود رابطة مشبعة بين C_2 و C_3 ووجود مركز لاتناظر (OH في الموقع 3).	ثنائي هيدروفلافونول
[31]	* غياب الحلقة C	الشالكون
[31]	* الحلقة C خماسية	الاورون
[31]	* ارتباط الحلقة B مع الحلقة C على مستوى من الكربون 3.	ايزوفلافون
[30]	* وجود رابطة مشبعة بين C_2 و C_3	الفلافانون

II-4- أهمية الفلافونيدات:

أهم فعالية علاجية للفلافونيدات هي خاصية الفيتامين P بسبب نشاطها الواقي اتجاه انخفاض سماحية الشعيرات الدموية، لذلك تعتبر كأدوية لمعالجة العجز الوريدي [32].

بينت الكثير من الدراسات والابحاث أن للفلافونيدات دورا مهما لعلاج الكثير من الامراض، وقد لوحظ وجود ارتباط بين التركيبة الكيميائية للفلافونويد وخصائصه العلاجية، فالزيادة في مجاميع الهيدروكسيل ينتج عنه زيادة في النشاط المضاد للاورام، والزيادة في مجاميع الميتوكسيل ينتج عنه الزيادة في النشاط المضاد للسرطان [31].

تتراكم الفلافونيدات في الطبقات السطحية للنبات، فهي بمثابة مرشحات للأشعة فوق البنفسجية التي تصل اليها، كما أنها المسؤولة عن لون النبات، وقد لوحظ أن الفلافونيدات تلعب دور في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها والبعض منها تقوم بدور مبيدات للحشرات، حيث أنها تعمل كجزئيات انذار للفطريات والبكتيريا أو كمضادات حيوية [28].

II-5- الدراسة الكيميائية للفلافونيدات:

II-5-1- الاستخلاص:

عادة ماتجرى عملية استخلاص الفلافونيدات على الجزء الهوائي من النبات، لأن اصطناعها يتعلق بالضوء، وبذلك التراكيز العالية لهذه المركبات تتواجد في الاجزاء الهوائية المعرضة للشمس [33].

تستخلص الفلافونيدات باستخدام مذيبات مختلفة القطبية ويتم اختيار المذيب المناسب وفقا لنوع الفلافونويد وأشهر الطرق اتباعا هي استخدام الميثانول أو الايثانول أو مزيج احدهما مع الماء بنسب

(70% ، 80%) ثم نبخر الكحول والطور المائي يخضع لاستخلاص سائل/سائل باستعمال مذيبات مختلفة و متفاوتة في القطبية [28].

II -5- 2- الفصل الكروماتوغرافي:

فصل الفلافونيدات مؤسس على التقنيات الكروماتوغرافية التي تعد من أهم الطرق التحليلية، على سبيل المثال كروماتوغرافيا العمود CC التي تعد طريقة كلاسيكية للفصل وتستعمل لهذا الغرض أطوارا ثابتة وفقا لنوع الفلافونويد كالسيليكا جال لفصل الفلافونيدات الأقل قطبية، أما السيليلوز ومتعدد الأמיד لفصل الفلافونيدات الغليكوزيدية غير أن هذا الأخير لقي تطبيقا واسعا في فصل الفلافونيدات الجليكوزيدية [33].

وتعد كروماتوغرافيا الورق CP من أحسن الطرق لفصل المركبات الفلافونيدية خصوصا في فصل الفلافونيدات الجليكوزيدية. وتستخدم جمل من الاطوار المتحركة نذكر منها [28، 34]

BAW: n-BuOH /AcOH /H₂O (4/1/5) ; TBA:tBuOH /AcOH / H₂O (3 /1/1)

كما يتم فصل هذه المركبات بكروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة CCM باستعمال أطوار متحركة حسب طبيعة الفلافونويد. وكدعامة صلبة نجد متعدد الاميد والسيليكا جال، إلا أن هذا الأخير يعرف بتطبيق واسع نظرا لتوفره وقلة تكلفته [28، 33].

II -5- 3-التعيين البنوي للمركبات الفلافونيدية:

ترتكز الدراسة البنوية للفلافونيدات اساسا على الخصائص الكروماتوغرافية، وكذا على طرق التحليل الفيزيوكيميائية المختلفة حيث تلعب دورا مهما في تعيين تركيب الجزيئات، خاصة أطياف الأشعة فوق البنفسجية، أطياف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون وللكربون 13 وأطياف الكتلة

إضافة إلى تحاليل أخرى للرنين النووي المغناطيسي ثنائي البعد (Cosy H-H ، HMBC ، HSQC...) في حالة الصيغ الجزيئية المعقدة [30].

II-5-3-1 - الخواص الكروماتوغرافية:

أ - اللون الاستشعاعي:

اللون الاستشعاعي للمركبات تحت مصباح الأشعة فوق البنفسجية يعطينا معلومات أولية عن

الصيغة البنوية التقريبية من خلال البقع الملونة [34].

الجدول: (2.II) العلاقة بين لون المركب تحت اشعة UV وبنيته الكيميائية [16].

لون المركب الفلافونيدي تحت UV	نوع الفلافونيد.
بنفسجي_ أسود	فلافون 5، 7، 6 أو 5، 8، 7 ثلاثي هيدروكسيل فلافون فلافونول مستبدل في الموضع 3 بعض الشالكونات
بنفسجي_ نيلي	فلافونول أو فلافانول يملك هيدروكسيل في الموضع 3 فلافون أو فلافانول دون OH في الموضع 5 فلافونول مستبدل في 3/ او دون OH في الموضع 5
أصفر أو أصفر باهت	فلافونول مع OH حرة في 3 و/ أو دون OH حر في 5
برتقالي لامع	ايزوفلافون
أصفر مخضر	أورون

أخضر	بعض الشالكونات
أزرق مخضر	فلافانون دون OH في الموضع 5
أزرق فاتح (مشع)	فلافون دون OH حر في الموضع 5 مع OH-3

ب/ ثابت الاحتجاز R_f .

يمكن عن طريق قيم معامل الاحتجاز R_f (الإنحباس) وباستعمال أنظمة معروفة، التمييز فيما إذا كان المركب إيتروزديا أو جليكونيا بلو معرفة ما إذا كان هذا الأخير أحادي أو ثنائي أو ثلاثي السكر [30].

ويعرف بأنه النسبة بين المسافة المقطوعة من طرف المركب انطلاقا من نقطة البداية والمسافة المقطوعة من طرف المذيب و من نفس النقطة. وهو قيمة مميزة لكل مركب في شروط كروماتوغرافية (درجة الحرارة، المذيب) [34].

الجدول (3.II) : العلاقة بين R_f والبنية الفلافونيدية

R_f	البنية الفلافونيدية
زيادة R_f في المذيبات المائية ونقصان في المذيبات العضوية.	الزيادة في عدد مجاميع OH
زيادة R_f في المذيبات العضوية ونقصان في المذيبات المائية.	الزيادة في عدد مجاميع OCH_3
زيادة R_f في المذيبات المائية ونقصان في المذيبات العضوية.	وجود مجموعة سكرية
زيادة R_f في المذيبات العضوية ونقصان في المذيبات المائية.	وجود مجموعات الاسيتيل

II- 5-3-2 - التحليل الطيفي للفلافونيدات:

سنتطرق الى دراسة مطيافيتين من مطيافيات التحليل الطيفي للفلافونيدات :

II- 5-3-2-أ-مطيافية الاشعة فوق البنفسجية:

تعتبر هذه المطيافية من أهم الوسائل المستعملة في التعرف عن البنية الكيميائية للفلافونويد،

وهذا لسهولة تحقيقها اذ لا تتطلب كمية كبيرة من المركب وتعطي معلومات معتبرة عن البنية

المحتملة، إذ تقوم على أساس أن لكل مركب فلافونيدي طيف امتصاص مميز في وسط

كحولي(ميثانولي) وبإضافة كواشف معينة (HCl+AlCl₃،NaOAc + H₃BO₃،NaOAc ، NaOH)

(يتغير هذا الطيف فيمكننا من التعمق أكثر في الدراسة البنوية حيث تتوضح لنا مستبدلات الهيكل

الفلافونيدي [35].

* طيف الامتصاص الميثانولي :

يتميز طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية للمركب الفلافونويدي في محلول ميثانولي،

بعصابتي امتصاص وهذا في جميع المركبات الفلافونويدية إلا أنه يختلف مكان امتصاص هاتين

العصابتين باختلاف نوع المركب الفلافونويدي. ويشار إلى هاتين العصابتين بالعصابةI(التي تمتص

عند طول موجة أعلى) و العصابة II. كما هو موضح في الجدول التالي [36]

الجدول(II.4): أهم الانزياحات الملاحظة في الوسط الميثانولي

العصابة II (nm)	العصابة I (nm)	نوع الفلافونويد
280 – 250	350 – 310	فلافون
280- 250	360 – 330	فلافونول مستبدلة في الموضع 3-OH

280 – 250	385 – 350	فلافونول(حرة في الموضع 3 ب OH)
275 – 245	330 – 310	إيزوفلافون
295 – 275	310 – 300	فلافانول أو ثنائي هيدروفلافونول
270 – 230	390 – 334	شالكون
270 – 230	430 – 380	اورون
280 – 270	560 – 465	أونثوسيانيدين

فمن الملاحظ أنه كلما زاد عدد مجموعات الهيدروكسيل فإن عصابة الامتصاص تتزاح إلى طول موجي أعلى (انزياح باتوكرومي)[36].

وعند استبدال مجموعات الهيدروكسيل بمجموعات الميتوكسيل أو وحدات سكر في المواقع 3، 5، 7، 4' يؤدي إلى انزياح في اتجاه طول موجات أقل (انزياح هيبسوكرومي)[37].

** طيف الامتصاص في وجود NaOH:

هيدروكسيل الصوديوم قاعدة قوية تؤين جميع مجموعات الهيدروكسيل للمركب الفلافونويدي، وإضافتها للمحلول الميثانولي تحدث إزاحة باتوكرومية للطيف، ويكون تأثيرها على العصابة I أشد منها على العصابة II [38].

*** طيف الامتصاص في وجود NaOAc:

خلات الصوديوم قاعدة ضعيفة لذا فهي تؤين مجموعات الهيدروكسيل الأكثر حامضية فقط

مثل التي تلك في المواقع 4،3،7. وبصورة خاصة تعتبر كاشفا نوعيا لهيدروكسيل الموقع 7.

مما يحدث إزاحة باتوكرومية للعصابة II بمقدار (+5 إلى +20 نانومتر) [38].

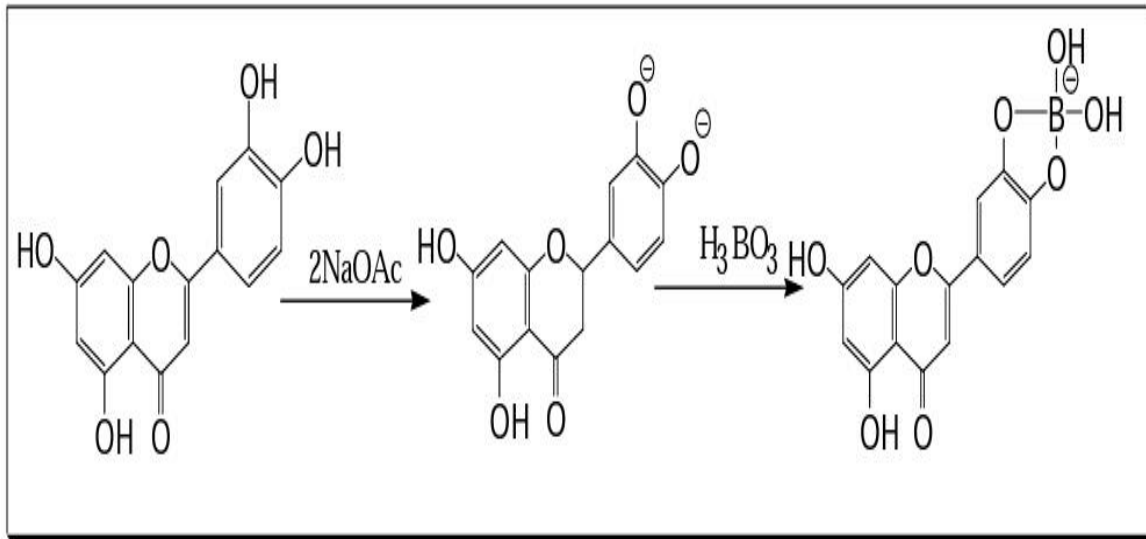
**** طيف الامتصاص في وجود $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$

يضاف حمض البيوريك H_3BO_3 على العينة في وجود NaOAc فيكون معقدات مع

الهيدروكسيلاات الفينولية في موضع اورثو. فتستغل للكشف عن أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة

B في المواقع 3 و4 وعلى الحلقة A في المواقع 6، 7 او 7،8 فيؤدي الى انزياح باتوكرومي

للعصابة I بمقدار (+12 إلى +36 نانومتر) مقارنة بطيف الامتصاص الميثانولي [39].



الشكل (3.II): المعقد المتشكل بين الفلافونيد و ($\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$)

*طيف الإمتصاص في وجود $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ و AlCl_3

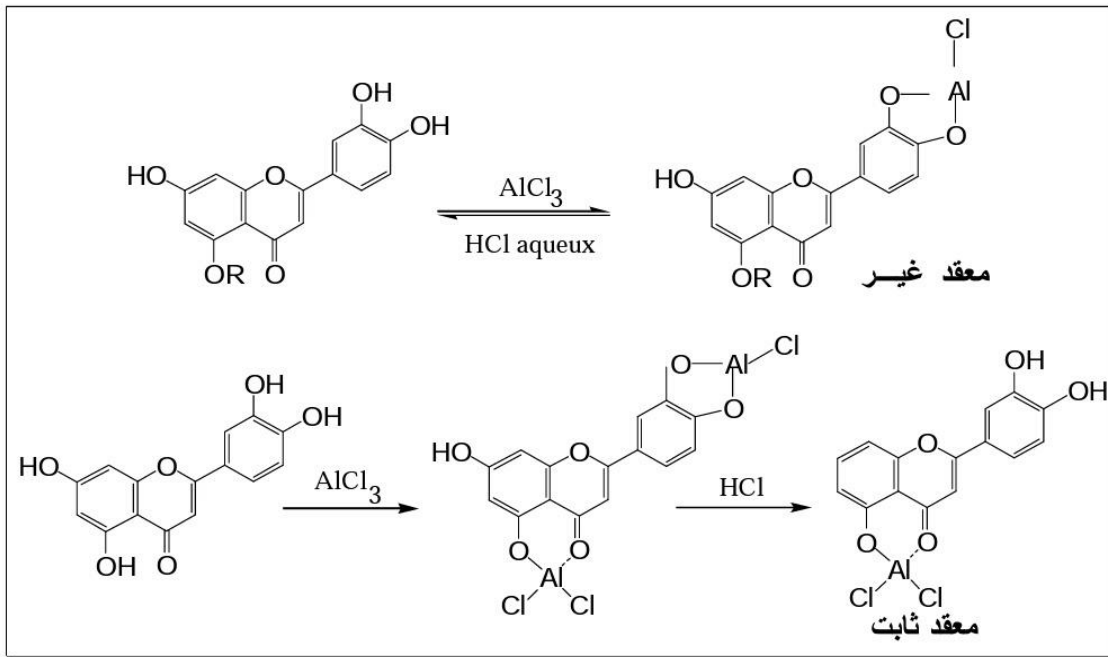
يشكل كلوريد الألمنيوم مع كربونيل الموقع 4 و مجموعة الهيدروكسيل في الموقع 3-C أو 5-C معقدات

مما يؤدي هذا التأثير إلى انزياح باتوكرومي للعصابة I، مقارنة بطيف الميثانول حيث تبقى

المعقدات ثابتة بعد إضافة HCl. كما يشكل $AlCl_3$ في نفس الوقت معقدا غير ثابت مع مجموعة أورثو ثنائي هيدروكسيل بعد إضافة HCl.

من خلال هذه المعقدات نستنتج مايلي :

- انزياح باثو كرومي للعصابة I بدون تغيير بعد إضافة HCl يدل على وجود OH حر في الموضع 5 أو/ و في الموضع 3 و غياب نظام أورثو ثنائي الهيدروكسيل في الحلقة B أو في الموضعين 7 و 8 أو 6 و 7 .
 - انزياح هبسوكرومي للعصابة I بعد إضافة HCl دون الرجوع إلى طيف الميثانول يدل على وجود OH حر في الموضع 3 أو/ 5 و وجود نظام أورثو ثنائي هيدروكسيل في الحلقة A أو
- [40]B.



الشكل (II. 3): المعقدات الثابتة وغير الثابتة بين الفلافونويد و $AlCl_3$ قبل وبعد إضافة HCl

الجدول (5.II): تأثير مختلف الكواشف على طيف UV ودلالاتها

التعليل	الازاحة المشاهدة (nm)	الكاشف
<p>* -OH' 4 , 3 أو أورثو ثنائي OH على الحلقة A أو ثلاثة OH متجاورة على الحلقة B . * -OH' 4 * -OR' 4 , 3 -OH * -OH 7</p>	<p>* نقصان في شدة الامتصاص بمرور الزمن. (تفكك الطيف) . * + 45 إلى + 60 دون نقصان في الشدة * + 45 إلى + 60 مع نقصان في الشدة * ظهور عصابة جديدة بين 335-320 .</p>	NaOH
<p>* -OH 7 * -OH 7 مع مستبدل أكسيجيني في الموقع 6 و / أو في الموقع 8 . * tri-OH' 4 , '3,3 ; 5,7,8 ; 5,6,7 OR-7 (فلافون -OH' 4 أو فلافونول)</p>	<p>+ 5 إلى + 20 للعصابة II . * إزاحة قليلة. * النقصان في الشدة بمرور الزمن (تفكك الطيف) . * $\Delta\lambda (\Delta I) < \Delta\lambda (\Delta I)$</p>	NaOAc
	<p>NaOAc NaOH</p>	

<p>*أرثوثنائي هيدروكسيل على الحلقة B *أرثوثنائي هيدروكسيل على الحلقة A في 7,6 أو 8,7 .</p>	<p>12+* الى + 36 للعصابة I . *ازاحة باتوكرومية ضعيفة .</p>	<p>NaOAc + H₃BO₃</p>
<p>*أرثوثنائي هيدروكسيل على الحلقة .B *أرثوثنائي هيدروكسيل على الحلقة A إضافة الى أورثو ثنائي الهيدروكسيل الحلقة B .</p>	<p>30+* الى + 40 مقارنة بطيف .HCl /AlCl₃ 20+* الى +25 مقارنة بطيف + HCl . AlCl₃</p>	<p>AlCl₃</p>
<p>* -OH 5 مع وجود مجموعة أكسجينية في الموقع 6. *5-OH بدون مجموعة أكسجينية في الموقع 6 . * OH -3 مع او عدم وجود OH في الموضع 5. * -OH 5 مع مجموعة مستبدلة في الموقع 6 .</p>	<p>17+* الى + 20 للعصابة I. 35+* الى + 55 للعصابة I. 50+* الى + 60 للعصابة I دون تغير.</p>	<p>AlCl₃ + HCl</p>

II - 3-5- 2- ب - مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون $^1\text{H RMN}$:

هي طريقة فيزيائية تعتمد على الخواص المغناطيسية، الميكانيكية والكمية لنواة الذرة فهي تطبق في الكيمياء لتحديد الشكل البنوي والفراغي للمركبات [28]. تستخدم هذه التقنية في التحليل الكيفي للفلافونيدات لمعرفة :

*درجة تأكسد الحلقات C, B, A.

* عدد السكريات الموجودة في المركب ونوع الرابطة α, β بين السكر والأجليكون.

* عدد ومواقع مجموعات الميثوكسيل في المركب.

يمكن الحصول على طيف $^1\text{H RMN}$ للفلافونيدات باستعمال مذيبات مختلفة أفضلها CDCl_3

(الذي يعطي نتائج جيدة مع الفلافونيدات غير القطبية) ومذيب DMSO-d_6 الذي يعطي نتائج جيدة مع الجليكوزيدات والأجليكونات.

تتوزع بروتونات الفلافونيدات بشكل مجموعات محددة هي بروتونات الحلقة A، بروتونات الحلقة B، بروتونات الحلقة C في حالة الفلافون، بروتونات اليفاتية (سكريات، مجموعات الميثوكسيل) [34].

* البروتونات الأروماتية :

* 1. بروتونات الحلقة A:

بروتونات H_6 و H_8 تعطي زوج من الاشارات الثنائية في المجال [6.0- 6.5ppm] بثابت تزاوج $J = 2.5 \text{ Hz}$ وفي حالة وجود مستبدل في الموضع 7 و /أو 5 فان مجال الاشارة يتأثر حسب طبيعة هذه المستبدلات.

بعض الفلافونيدات تحتوي على بروتون وحيد على الحلقة A وبالتالي فإن الإشارة الناتجة عن البروتون H_6 أو H_8 تكون أحادية بجوار $6,3\text{ppm}$. بينما البعض الآخر يحتوي على مستبدل وحيد في الموضع 7، فإن H_5 تكون اشارته ثنائية بجوار 8.0ppm ويحمل ثابت تزاوج $J = 9\text{ Hz}$ نظرا لوضع أورثو مع H_6 [40].

جدول (6.II) : قيم الانزياح الكيميائي لبروتونات الحلقة A

H ₈	H ₇	H ₆	H ₅	الفلافونيد
d(J=2,5H) 6,5-6,3ppm	-	d(J=2,5Hz) 6,2-6,0 ppm	-	5,7 -OH
d(J=2,5H) 6,9-6,5ppm	-	d (J=2,5Hz) 6,4-6,2ppm	-	5-OH, 7-OR R=Sucre
6,3ppm(s)	-	-	-	5,6,7-OR R=H,Sucre
-	-	6,3ppm(S)	-	5,7,8 OR
d (J=2,5Hz) 6,7-7,0ppm	-	dd(9 ;2,5 Hz) 6,7-7,1ppm	d (J=9Hz) 8.0 ppm	7-OR (R=H,Sucre)

*.2. بروتونات الحلقة B:

بروتونات هذه الحلقة كالتالي H_2 ، H_3 ، H_5 ، H_6 تتموضع في المجال ($6,5-8,0\text{ppm}$) وقيمتها تعتمد على المستبدلات الموجودة على الحلقة B وكذا درجة تأكسد الحلقة C .

مستبدل وحيد على الحلقة B:

في هذه الحالة الحلقة لديها أربع بروتونات H_2 ، H_3 ، H_5 ، H_6 وتظهر هذه البروتونات على شكل ثنائي وبناتب تزواج ($J=9 \text{ Hz}$) وفي المجال (6,7_8,0ppm) .

مستبدلان على الحلقة B:

في هذه الحالة الحلقة بها ثلاث بروتونات H_2 ، H_6 ، H_5 ، حيث H_5 يظهر كإشارة ثنائية بناتب تزواج ($J=9 \text{ Hz}$) وفي المجال (6,7-8,0ppm). في حين يظهر H_2 بإشارة ثنائية ($J=2,5 \text{ Hz}$) غالبا ماتكون متداخلة مع إشارة H_6 الذي يظهر كإشارة ثنائي - ثنائية وبناتب تزواج ($J=9, 2,5 \text{ Hz}$) وهاتان الإشارتان تتمركزان في المجال (7,2-8,0 ppm).

ثلاث مستبدلات على الحلقة B:

بروتونات الحلقة هما H_2 ، H_6 متكافئان ويظهران بإشارة أحادية في المجال (6,5_7,5 ppm) في حالة كون المستبدلات عبارة عن هيدروكسيل. أما في حالة ارتباط الموضع 3 أو 5 بمجموعة ميتوكسي أوسكر فإننا نحصل على إشارة ثنائية غير متناظرة ($J= 2,5 \text{ Hz}$)

[41].

*.3. بروتون الحلقة C:

يعطي بروتون H_3 في الفلافون إشارة أحادية حادة في المجال (H_3 ppm) (6,2-6,4) وبالتالي يكون هناك تداخل مع إشارة بروتون الحلقة A ثلاثية الاستبدال .

** . البروتونات الأليفاتية :

** 1. بروتونات مجموعة الميتوكسيل:

تكون إشارات الميتوكسيل بصورة عامة في المجال (3,0_ 4,1 ppm).

** 2. بروتونات السكر:

يعتمد الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري H₁'' على طبيعة الفلافونيد، كما تستغل قيمة ثابت

الاقتران بين H₁'' و H₂'' للتعرف على نوع الرابطة α أو β بين السكر والأجليكون [41].

الجدول (II. 7) : قيم الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري

الفلافونيد	δ(H ₁ '') ppm
7-O-glycosylflavonol	4,8-5,2
3-O-glycosylflavonol	5,7-6,0
7- O-rhamnosylflavonol	5,1-5,3
3-O- rhamnosylflavonol	5,0-5,1

الفصل الثالث:

تحليل نتائج الفصل الفلافونيدي

في هذا الفصل سنهتم بدراسة بعض نتائج الفصل الفلافونيدي لهذه النبتة بالاستعانة بالنتائج المحصل عليها في المرجع [17] . والفلافونيدات التي درست هي كالاتي :

. 3'-O-Methylpratensein، Hispidulin ،Salvigenin ،Hesperetin

تم التعرف على البنى الفلافونيدية من خلال الخصائص الكروماتوغرافية بالإضافة إلى طرق التحليل الفيزيوكيميائية، التي ساهمت في تحديد تركيب هذه الجزيئات بدقة.

سننطلق إلى تحليل و تفسير النتائج المحصل عليها استنادا لنتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية إضافة إلى مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون وللكربون.

III-1-المادة النباتية:

تم جني النبتة *Moricandia arvensis (L.)DC* في فترة الازهار ما بين شهر فيفري- مارس 2009 من منطقة واد زوزفانة (صحراء الجزائر) وقد تم التعرف عليها من قبل البروفيسور معروف عبد الرزاق (جامعة النعامة). بعد عملية التجفيف تم إجراء مجموعة من الاختبارات الأولية **phytochemical screening** لمعرفة أنواع المركبات الفعالة التي تحتويها النبتة .

III-2-الاستخلاص والفصل الكروماتوغرافي:

أخذ 100 g من المسحوق النباتي ونقع في 600mL من محلول كحولي (ماء / ميثانول: 20 / 80) لمدة 48 ساعة وفي درجة حرارة الغرفة، يرشح وتكرر العملية ثلاث مرات . بعد جمع الراشح يبخر ثم يخفف بالماء المقطر ويترك ليلة كاملة، ويرشح.

بعد عملية النقع تأتي مرحلة استخلاص سائل _سائل بواسطة مذيبات عضوية (الهكسان، الكلوروفورم و خلات الايثيل) وبنفس الطريقة تجفف وتبخر .

حيث كانت كمية الأطوار العضوية بعد التجفيف والتبخير تحت الضغط كالاتي:

بالنسبة للكلوروفورم 4g، أما بالنسبة لخلات الايثيل كانت 3.75g تخضع هذه الكميات الى

الدراسة الكروماتوغرافية.

نوع الكروماتوغرافيا: كروماتوغرافيا العمود

العمود الزجاجي: من نوع 20 / 300 (mm)

الطور الثابت: السيليكاجال

الأنظمة المستعملة :

بالنسبة لكسور الكلوروفورم، النظام المستعمل هو ايثر البترولي / ميثانول (0/100 ، 5 /95 ،

، 15 /85 ، 20 / 80 ، 25/75 ، 35 /63 ، 50 / 50 ، 80 / 20) .

بالنسبة لكسور خلات الايثيل ،النظام المستعمل هو ايثر البترولي / خلات الايثيل (5 /95 ،

، 15 /85 ، 20 / 80 ، 25/75 ، 30 /70) .

III-3- النتائج والمناقشة:

يوضح الجدول (1.III) أهم النتائج المحصل عليها من خلال نتائج الاختبارات الأولية

لمنتجات الأيض الثانوي وفق جملة من الاختبارات الأولية حسب phytochemical screening ، حيث

توضح النتائج الايجابية على احتواء النبتة على المركبات التالية : الأحماض الدسمة، القلويدات،

الكومارينات، الفلافونيدات، الصابونيزيدات، الستيرويدات إضافة الى التانينات.أما النتائج التي تخص

الأنتراكينونات و المركبات المرجعة فقد ظهرت سالبة وتدل على عدم احتواء النبتة عليهما.

الجدول (III. 1) : النتائج المحصل عليها من خلال نتائج الاختبارات الأولية

نتائج phytochemical screening	
+	الأحماض الدسمة
+	القلويدات
-	الأنتراكينونات
+	الكومارينات
+	الفلافونيدات
-	المركبات المرجعة
+	الصابونيزيدات
+	الستيرويدات
+	التانينات

تم استخلاص الفلافونيدات من هذه النبتة، ثم أخضعت أطوار الكلوروفورم وخلات الايثيل الى الدراسة الكروماتوغرافية (بواسطة كروماتوغرافيا العمود). وتم تحليل الكسور بواسطة كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة CCM، وباستعمال أنظمة مختلفة القطبية تم تحديد 4 مركبات (اثنين منها لكل طور) من خلال الألوان الظاهرة على مستوى الطبقة تحت الأشعة فوق البنفسجية، إضافة الى R_f لكل مركب حسب النظام الموجود فيه، بعد ذلك أخضعت للدراسة الطيفية لتحديد بنيتها بدقة.

الجدول (III 2): الخواص الكروماتوغرافية للمركبات المفصولة

المركبات	R _f لكل مركب على مستوى CCM وحسب كل نظام	الكسور
1	0.65 (أزرق) [I] 0.14 (أزرق) [II] 0.38 (أسود) [III]	110-74
2	0.62 (بنفسجي) [I] 0.13 (أصفر) [II] 0.53 (بنفسجي) [III]	110-74
3	0.88 (بنفسجي) [I] 0.39 (بنفسجي) [II] 0.51 (بنفسجي) [IV]	80-75
4	0.68 (أسود) [I] 0.43 (أسود) [IV] 0.52 (أسود) [III]	130-90

حيث أن الأنظمة هي:

[I] BAW (4/1/5) , [II] CHCl₃/MeOH/H₂O (9/1/0.5),

[III] (CH₃)₂CO/H₂O (1/1), [IV] MeOH / CHCl₃(9/1)

[V] Toluene /(CH₃)₂CO/ MeOH (4/3/3) .

III-4- تشخيص المركبات المفصولة:

III-4-1- التعيين البنوي للمركب (1):

1/تحليل نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (1):

من خلال نتائج الجدول (III.3) أن عصابتي طيف امتصاص المركب في الوسط الميثانولي

، I، II لهما طول موجي (nm) 331،255 على التوالي وهذا مايميز التركيب البنوي

لل Flavanone.

عند اضافة الكاشف NaOH للوسط الميثانولي، ومقارنة الطيف المسجل في NaOH بالطيف المسجل في MeOH ، نلاحظ ثبات العصابتين (I و II) مع ظهور عصابة جديدة هذا دليل على وجود OH في الموقع 7 .

بمقارنة الطيف المسجل في HCl / AlCl₃ بالطيف المسجل في الوسط الميثانولي، نلاحظ ازاحة باتوكرومية للعصابة I تقدر ب (nm) 34+ وهذا يدل على وجود OH في الموقع 5 وغياب مجموعة أكسجينية في الموقع 6 .

بمقارنة الطيف المسجل في AlCl₃ بالطيف المسجل في HCl + AlCl₃ لانجد أي ازاحة دلالة على عدم وجود أي أورثو ثنائي هيدروكسيل .

عند اضافة ال NaOAc، وبمقارنة الطيف المسجل في NaOAc مع الطيف المسجل في الوسط الميثانولي نلاحظ ازاحة باتوكرومية للعصابة II تقدر ب (nm) 9+ وهذا يدل على وجود OH في الموقع 7 ، مما يؤكد نتيجة الطيف المسجل في NaOH .

جدول (3.III): نتائج امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (1)

الكواشف	العصابة I (nm)	العصابة II (nm)	عصابة جديدة (nm)	التعيينات الكيميائية
MeOH	331	255	/	Flavanone
+NaOH	330	255	300	OH في الموقع 7
+AlCl ₃	366	254	300	/
+AlCl ₃ + HCl	365	265	/	OH في الموقع 5

OH في الموقع 7	/	264	331	+NaOAc
/	/	265	332	+NaOAc+ H ₃ BO ₃

مجموعة هذه المعلومات المستنتجة من أطياف UV تقود بأن الصيغة المحتملة كالآتي :

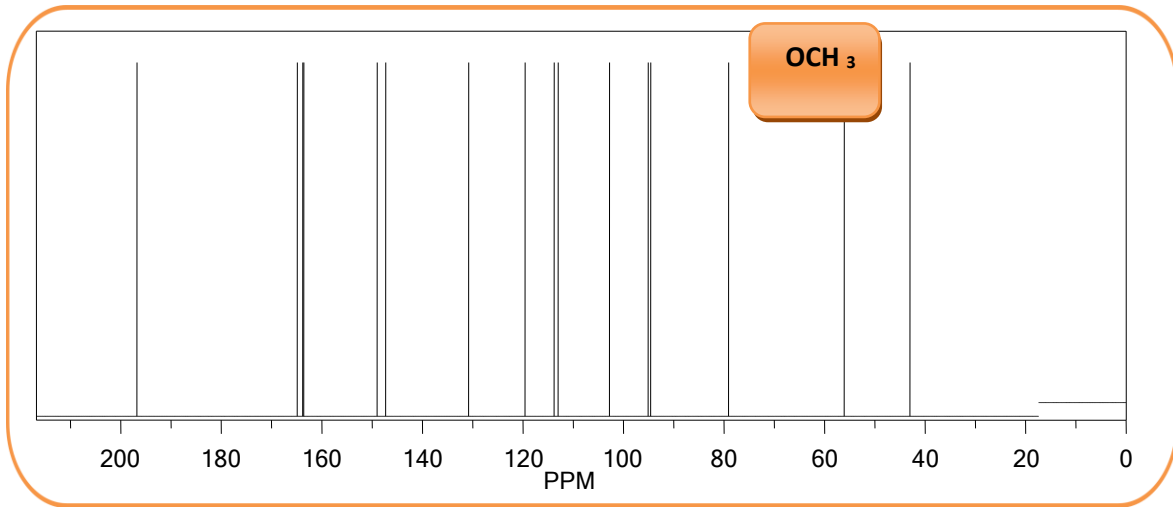
Flavanone , 3-H , 5-OH , 7-OH .

2/ تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (1):

من خلال نتائج طيف ¹³C RMN الجدول (III. 4)، نلاحظ وجود 16 ذرة كربون (C16) من

بين هذه الذرات 15 ذرة تخص الهيكل الفلافونيدي (Flavanone)، إضافة إلى وجود ذرة كربون ذات

الإزاحة كيميائية عند 56.1ppm وهي مميزة لكربون مجموعة الميثوكسيل.



الشكل (III.1): طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (1)

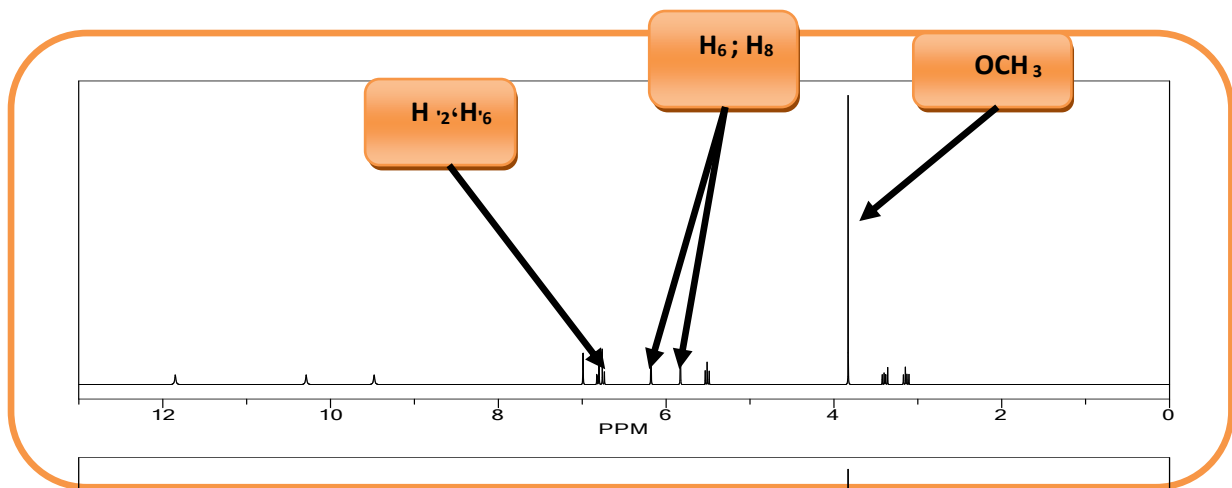
الجدول (4.III): نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{13}C RMN للمركب (1)

C ₉	C ₈	C ₇	C ₆	C ₅	C ₄	C ₃	C ₂	C
102.2	95.2	166.5	96	164	197	42.5	77.1	δ (ppm)
C ₁₇	C ₁₆ (6')	C ₁₅ (5')	C ₁₄ (4')	C ₁₃ (3')	C ₁₂ (2')	C ₁₁ (1')	C ₁₀	C
56.1	115.1	119.3	140.1	143.2	117.2	129.3	164.1	δ (ppm)

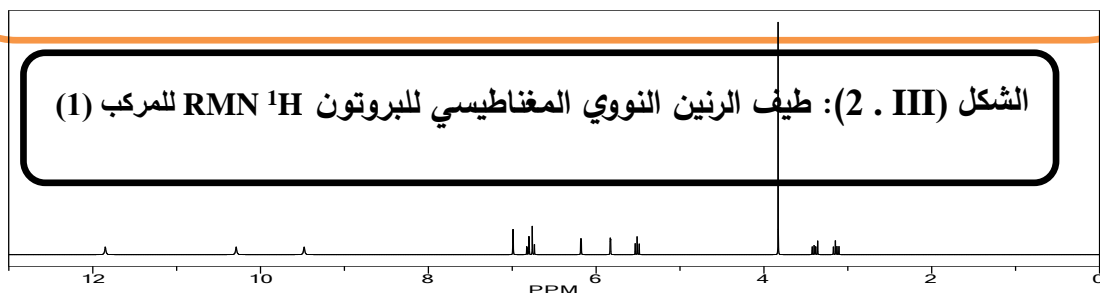
3/ تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (1):

لمعرفة باقي مستبدلات المركب (1)، 6، 8، 2'، 3، 4، 5'، 6'، نقوم بمناقشة نتائج طيف

^1H RMN التي دونت نتائجه في الجدول (5. III).



الشكل (2. III): طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (1)



وجود إشارات متعددة بجوار **6.82 ppm** وبتكامل **2H**، وهذا يدل على وجود بروتونين في الموضعين **2'** و **6'** وهي بروتونات خاصة بالحلقة **B**، وتعد الإشارات يشير إلى وجود مستبدل أوكسيجيني في الموضع **3'**.

وجود قمة مضاعفة عند **6.76 ppm** تكاملها **1 H**، وذات ثابت تزاوج **J=8.2Hz** وهذا الثابت يشير إلى وضعية أورثو (Ortho) للبروتون بالنسبة الى بروتون آخر. ومنه نستنتج أن موضعه يكون عند **5' C**.

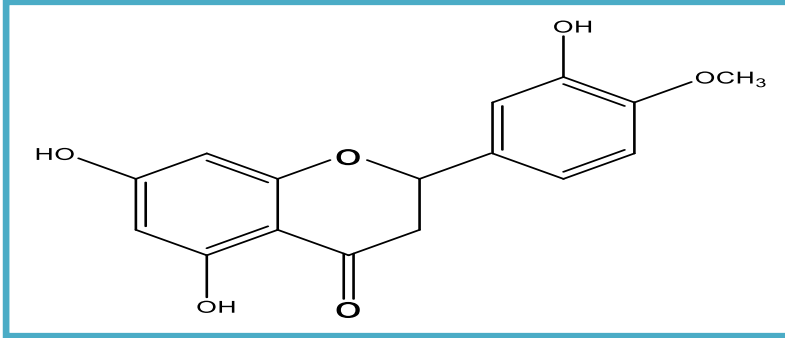
وجود قمتين أحاديتين في المجال **[5.96 - 6 ppm]** ، لكل قمة تكامل **1H**، وثابت تزاوج **J = 2.1Hz** ويشير الثابت الى الوضعية ميتا (metha) لهذين البروتونين . ومنه فإنهما موجودين في الموضعين **6** و **8** .

وجود قمة أحادية عند **3.85ppm** ذات التكامل **3 H** وهي قمة مميزة لمجموعة الميتوكسيل، قد تكون هذه الأخيرة موجودة في الموضع **3'** أو **4'**. لكن حسب قيم **RMN ¹³C** نجد الإزاحة الكيميائية للكربون **3'** أكبر بقليل نوعا ما من قيمة الإزاحة الكيميائية للكربون **4'**، أي أن هذا الأخير يكون به مجموعة أقل سحبا من التي تكون على مستوى الكربون **3'** . ومنه فان موضع مجموعة الميتوكسيل يكون على مستوى الكربون **4'**.

الجدول (5.III) : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (1)

الازاحة الكيميائية (ppm)	التعددية	التكامل	ثابت التزاوج (Hz)	التعينات الكيميائية
6.82	M	2H	/	$\text{H}_{2,6}$
6.76	D	1H	8.2	H_5
6- 5.96	S	2H	2.1	H_6 H_8
3.85	S	3H	/	OCH_3

مجموعة هذه المعلومات تفود الى أن الصيغة النهائية للمركب (1) $(\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6)$:



الشكل (III.3) : صيغة مركب Hesperetin

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

III-4-2- التعيين البنوي للمركب (2) :

1/تحليل نتائج مطيافية الاشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (2) :

من خلال نتائج جدول (III.6)، نلاحظ أن قيم عصابتي امتصاص المركب في الوسط

الميثانولي I و II ، 333 و 265 (nm) على التوالي ، وهذا مايميز الهيكل الفلافونيدي

لل Flavone.

بمقارنة الطيف المسجل في الوسط NaOH بالطيف المسجل في الوسط MeOH، نجد أن هناك إزاحة باتوكرومية للعصابة I (+54nm) وهذا ما يشير إلى وجود OH في الموضع 4'. إضافة إلى ظهور عصابة جديدة عند 324nm دلالة على وجود OH في الموضع 7.

بمقارنة الطيف المسجل في AlCl₃ بالطيف المسجل في HCl+AlCl₃ لا نجد أي إزاحة دلالة على عدم وجود أي أورثو ثنائي هيدروكسيل على مستوى الحلقتين العطريتين A و B.

بمقارنة الطيف المسجل في (HCl + AlCl₃) مع الطيف المسجل في الوسط MeOH، نجد أن هناك إزاحة باتوكرومية للعصابة I (+21nm) وهذا يشير إلى وجود OH في الموضع 5. إضافة إلى وجود مجموعة أوكسجينية في الموضع 6.

الطيف المسجل في حالة NaOAc يؤكد وجود OH في الموضع 7، وهذا اعتمادا على الإزاحة الباتوكرومية للعصابة II (+10 nm).

كذلك الطيف المسجل في (NaOAc + H₃BO₃) يشير إلى عدم وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على مستوى الحلقتين A و B وهي نفس الملاحظة المأخوذة من الطيف في AlCl₃.

الجدول (III.6) : نتائج طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (2):

الكواشف	العصابة I (nm)	العصابة II (nm)	عصابة جديدة (nm)	التعيينات الكيميائية
MeOH	333	265	/	Flavone
+ NaOH	387	270	324	OH في الموضع 4' OH في الموضع 7

/		268	354	+AlCl ₃
OH في الموقع 5 اضافة الى وجود مجموعة أوكسجينية في الموقع 6 .	/	270	354	+ AlCl ₃ / HCl
OH في الموقع 7	324	275	336	+ NaOAc
/	/	269	337	+ NaOAc + H ₃ BO ₃

ومنه مجموعة المعلومات المستنتجة من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية تعطي الصيغة

المحتملة للمركب (2):

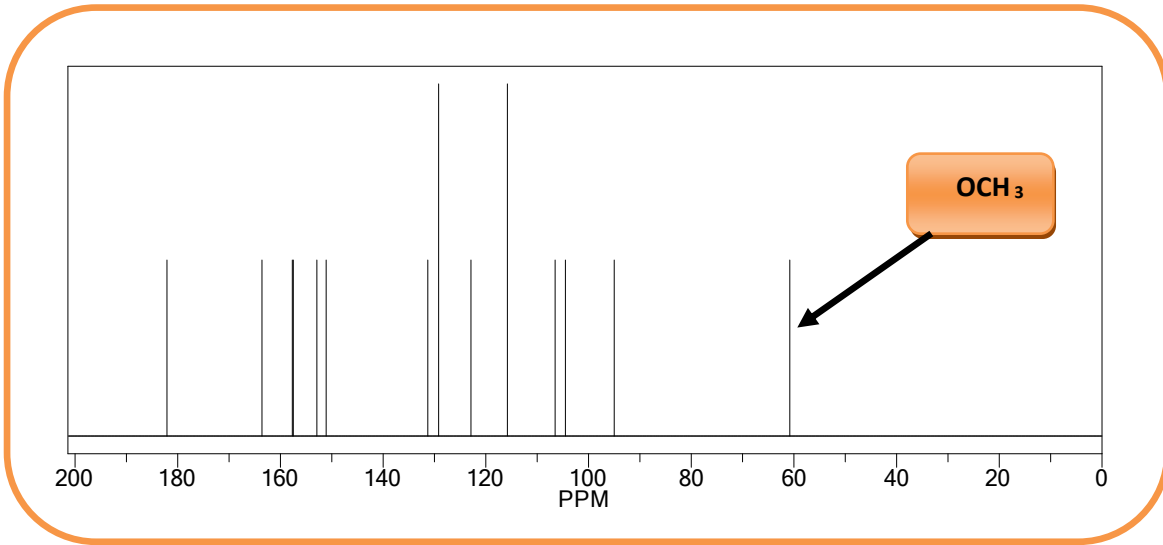
Flavone , 3-H , 4-OH , 5-OH , 7-OH , 6-O- (H,R,Sucre)

2/ تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (2):

من خلال نتائج الجدول (III. 7). نلاحظ أن هناك 16 ذرة كربون (C16)، منها 15 ذرة تخص

الهيكل الفلافونيدي (Flavone)، إضافة إلى وجود ذرة كربون لها إزاحة كيميائية عند 56.1ppm

وهي مميزة لكربون مجموعة الميثوكسيل (-OMe) .



الشكل (III. 4): طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (2)

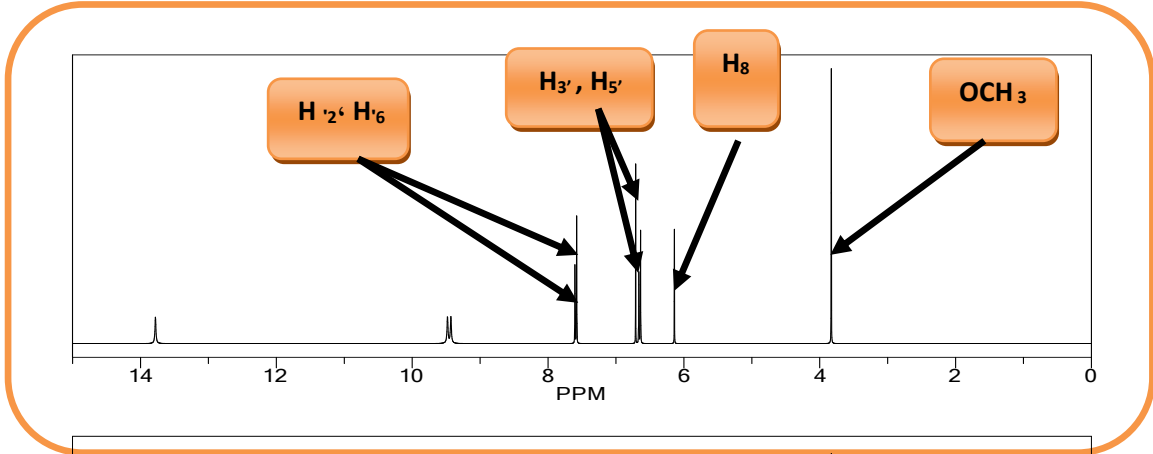
الجدول (III. 7): نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (2):

C ₉	C ₈	C ₇	C ₆	C ₅	C ₄	C ₃	C ₂	C
103	94	151	132	148	182	103	163	δ (ppm)
C ₁₇	C ₁₆ (6')	C ₁₅ (5')	C ₁₄ (4')	C ₁₃ (3')	C ₁₂ (2')	C ₁₁ (1')	C ₁₀	C
56.1	128	115	162	115	128	123	152	δ

3/ تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (2):

لمعرفة باقي مستبدلات المركب $2', 3', 5', 6'$ نقوم بمناقشة نتائج طيف ^1H RMN التي

دونت نتائجه في الجدول (III . 8).



الشكل (III . 5): طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN

وجود قمة أحادية عند 6.70 ppm ذات التكامل 1H ، ومنه فان هذا البروتون يكون في
الموضع 8.

وجود قمة مضاعفة عند 6.90ppm ذات تكامل 2 H وثابت تزاوج 8.2 Hz . وهذا يشير

إلى وجود بروتونين في الموضعين $3'$ و $5'$.

وجود قمة مضاعفة عند 7.88 ppm ذات التكامل 2 H وثابت تزاوج 8.2 Hz ويشير هذا

الثابت للوضعية أورثو لكل البروتون بالنسبة الى بروتون آخر. ومنه فان هذين البروتونين هما

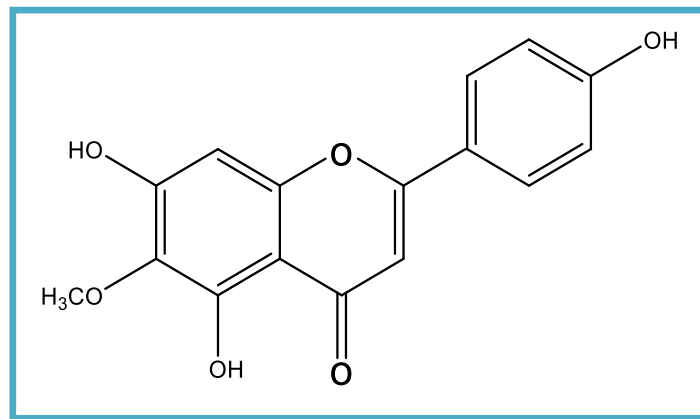
$\text{H}_{2'}$ ، $\text{H}_{6'}$

وجود قمة أحادية عند 3.13ppm وتكاملها 3H . وهذا يشير إلى مجموعة الميثوكسيل (OMe). وقد تكون هذه المجموعة على مستوى الكربون 6 أو $4'$. وحسب النتائج المحصل عليها من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية و طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون فان الكربون 6 له إزاحة كيميائية أقل من الكربون $4'$. ومنه مجموعة الميثوكسيل تكون على مستوى الكربون 6 .

الجدول (8.III): نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (2).

الازاحة الكيميائية (ppm)	التعددية	التكامل	ثابت تزاوج (Hz)	التعيينات الكيميائية
3.13	S	3H	/	OCH_3
6.70	S	1H	/	H_8
6.90	d	2 H	8.2	$\text{H}_{3'}, \text{H}_{5'}$
7.88	d	2H	8.2	$\text{H}_{2'}, \text{H}_{6'}$

نستنتج من خلال هذه الدراسة أن صيغة المركب (2) ($\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$) كالتالي :



الشكل (III.6): صيغة المركب Hispidulin.

$4',5,7$ -trihydroxy-6-methoxyflavone (Hispidulin, 6-O-Methoxyapigenin)

III-4-3- التعيين البنوي للمركب (3):

1/ تحليل نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (3):

من خلال نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية للمركب 3 ، نلاحظ أن قيم عصابتي امتصاص المركب في الوسط الميثانولي I و II، 329 و 276 (nm) على التوالي ، وهذا مايميز الهيكل الفلافونيدي لل Flavone.

بمقارنة الطيف المسجل في الوسط NaOH بالطيف المسجل في الوسط MeOH ، نجد أن هناك إزاحة باتوكرومية للعصابة (+45 nm) وهذا مايشير إلى وجود OR في الموضع '4 . وغياب عصابة جديدة يشير الى غياب OH في الموضع 7 .

بمقارنة الطيف المسجل في $AlCl_3$ بالطيف المسجل في $AlCl_3+HCl$ لا نجد أي إزاحة دلالة على عدم وجود أي أورثو ثنائي هيدروكسيل على مستوى الحلقتين العطريتين A و B .

بمقارنة الطيف المسجل في ($AlCl_3 + HCl$) مع الطيف المسجل في الوسط MeOH، نجد أن هناك إزاحة باتوكرومية للعصابة (+ 19nm) وهذا يشير الى وجود OH في الموضع 5 إضافة إلى وجود مجموعة أوكسجينية في الموضع 6 .

الطيف المسجل في حالة NaOAc يؤكد على عدم وجود OH في الموضع 7 .

كذلك الطيف المسجل في ($NaOAc + H_3BO_3$) يشير إلى عدم وجود أورثو ثنائي

الهيدروكسيل على مستوى الحلقتين A و B وهي نفس الملاحظة المأخوذة من الطيف في $AlCl_3$.

الجدول (III.9) : نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (3)

التعينات الكيميائية	عصابة جديدة (nm)	العصابة II (nm)	العصابة I (n m)	الكواشف
Flavone	/	276	329	MeOH
غياب OH في الموقع 7	/	296	374	+NaOH
/	/	299	349	+AlCl ₃
5-OH وجود مجموعة أوكسجينية في الموضع 6. 6-O(H,R,Sucre) .	/	299	348	+AlCl ₃ HCl
غياب OH في الموقع 7	/	299	330	+NaOAc
/	/	269	330	+NaOAc H ₃ BO ₃

من خلال النتائج المستتجة من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية تقود إلى الصيغة المحتملة للمركب

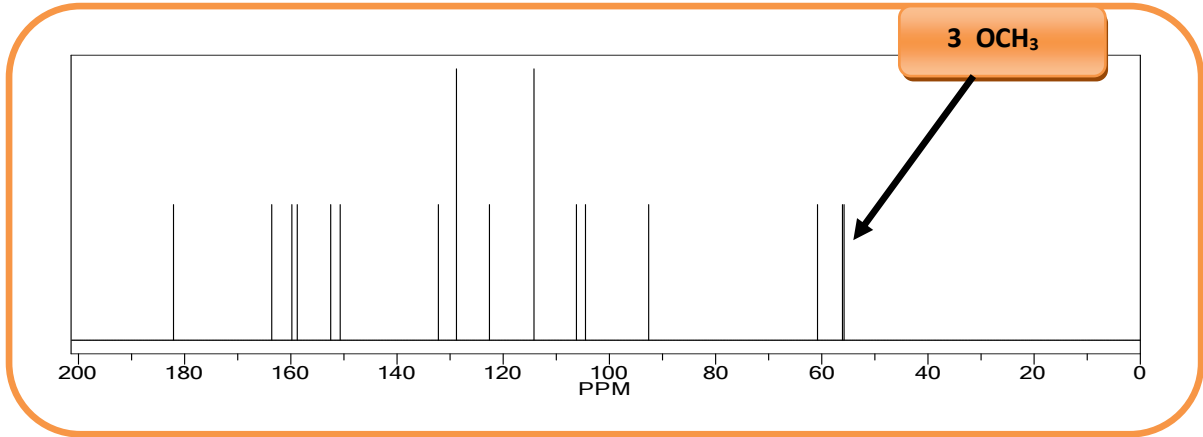
(3): FLAVONE , 3-H , 5-OH , 6-O(H,R,Sucre)

2/ تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (3):

من خلال نتائج طيف ¹³C RMN الجدول (III.10)، نلاحظ وجود 18 ذرة كربون. من بين

هذه الذرات 15 ذرة تخص الهيكل الفلافونيدي (Flavone)، إضافة إلى وجود ثلاث ذرات كربون

لكل منها إزاحة كيميائية عند 56ppm. وهي مميزة لكربون مجموعة الميتوكسيل.



الشكل (III. 7): طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (3)

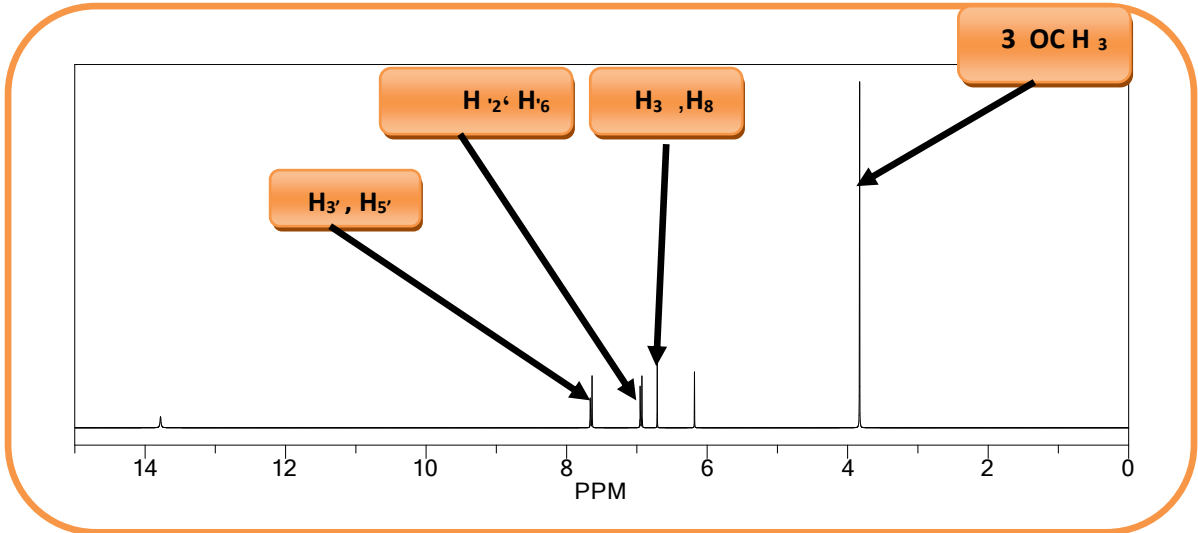
الجدول (III. 10) : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (3).

C ₉	C ₈	C ₇	C ₆	C ₅	C ₄	C ₃	C ₂	C
105	91.5	159	132	152	182	103	164	δ (ppm)
C ₁₇	C ₁₆	C ₁₅	C ₁₄	C ₁₃	C ₁₂	C ₁₁	C ₁₀	C
C ₁₈	(6')	(5')	(4')	(3')	(2')	(1')		
C ₁₉								
56.	103	154	162	115	128	123	153	δ (ppm)

3/تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ¹H RMN للمركب(3):

لمعرفة باقي مستبدلات المركب (3) ، 6 ، 7 ، 8 ، ' 2 ، ' 3 ، ' 4 ، ' 5 ، ' 6 ، نقوم بمناقشة

نتائج طيف ¹H RMN التي دونت نتائجه في الجدول (III . 11) .



الشكل (8.III): طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (3)

وجود قمة أحادية عند 6.52 ppm ذات التكامل 1H ، وهذا يشير إلى بروتون الموضع 8،

نظرا لاحتواء الموضع 6 على مجموعة أوكسيجينية.

وجود قمة أحادية عند 6.57 ppm تكاملها 1H وهذا يشير إلى بروتون الموضع 3 .

وجود قمة مضاعفة عند 6.99 ppm وتكاملها 2H وذات ثابت تزاوج 8.4 Hz ومنه فان

هذين البروتونين هما H_2 ، H_6 .

وجود قمة مضاعفة عند 7.82 ppm ذات التكامل 2H وثابت تزاوج 8.4Hz وحسب نتائج

مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (وجود مجموعة أوكسيجينية على مستوى الكربون 4) وطيف الرنين

النووي المغناطيسي للكربون (الإزاحات الكيميائية للكربون 3'، 4'، 5') نستنتج أن هذين البروتونين

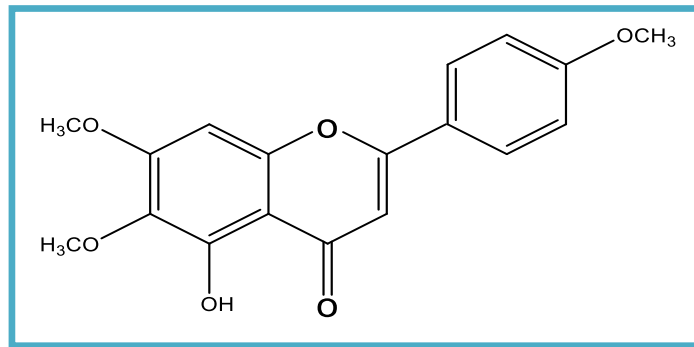
هما H_3 ، H_5 .

وجود ثلاث قمم أحادية عند 3.89 ، 3.90 و 3.95 على التوالي لكل منها تكامل 3H ، وهذا ما يميز مجموعة الميتوكسيل . ومنه فان مستبدلات المواضع 4 ، 6 و 7 هي عبارة عن مجموعات الميتوكسيل.

الجدول (11.III) : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (3)

الازاحة الكيميائية (ppm)	التعددية	التكامل	ثابت تزواج (Hz)	التعيينات الكيميائية
3.89 3.90 3.95	S	3H	/	OCH ₃
6.52	S	1H	/	H ₈
6.57	S	1H	/	H ₃
6.99	D	2H	8.4	H ₂ ' , H ₆ '
7.82	d	2H	8.4	H ₃ ' , H ₅ '

من خلال هذه الدراسة نستنتج أن صيغة المركب 3 (C₁₈H₁₆O₆) كالآتي:



الشكل (III.9) : صيغة المركب Salvigenin

5-hydroxy 6,7,4'-trimethoxyflavone (Salvigenin)

III - 4 - 4-التعيين البنيوي للمركب (4) :

1/تحليل نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV للمركب (4):

من خلال نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية للمركب 4، نلاحظ أن قيم عصابتي امتصاص المركب في الوسط الميثانولي I و II، 320 و 262 (nm) على التوالي، وهذا مايميز الهيكل الفلافونيدي لل Isoflavone .

بمقارنة الطيف المسجل في الوسط NaOH بالطيف المسجل في الوسط MeOH، لا نجد أي تغيير للعصابتين.

بمقارنة الطيف المسجل في $AlCl_3$ بالطيف المسجل في $AlCl_3 + HCl$ لا نجد أي ازاحة دلالة على عدم وجود أي أورثو ثنائي هيدروكسيل على مستوى الحلقتين العطريتين A و B.

بمقارنة الطيف المسجل في $(AlCl_3 + HCl)$ مع الطيف المسجل في الوسط MeOH، نجد أن هناك إزاحة باتوكرومية للعصابة I (+ 40 nm) وهذا يشير الى وجود OH في الوضع 5 إضافة إلى عدم وجود مجموعة أوكسجينية في الموضع 6 .

الطيف المسجل في حالة NaOAc يشير الى وجود OH في الموضع 7، وهذا اعتمادا على الإزاحة الباتوكرومية للعصابة II (+ 7 nm) .

كذلك الطيف المسجل في حالة $(NaOAc + H_3BO_3)$ يشير إلى عدم وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على مستوى الحلقتين A و B وهي نفس الملاحظة المأخوذة من الطيف في $AlCl_3$.

الجدول (12.III) : نتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب (4)

الكواشف	العصابة I (n m)	العصابة II (nm)	عصابة جديدة (nm)	التعيينات الكيميائية
MeOH	320	262	/	Isoflavone
+NaOH	320	262	/	/
+AlCl ₃	360	265	/	/
+AlCl ₃ + HCl	360	273	/	OH في الموقع 5 وغياب مجموعة أوكسجينية في الموضع 6.
+NaOAc	320	269	325	OH في الموقع 7
+NaOAc+ H ₃ BO ₃	321	264	325	/

من خلال النتائج المستتجة من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية تقود إلى الصيغة المحتملة

للمركب (4):

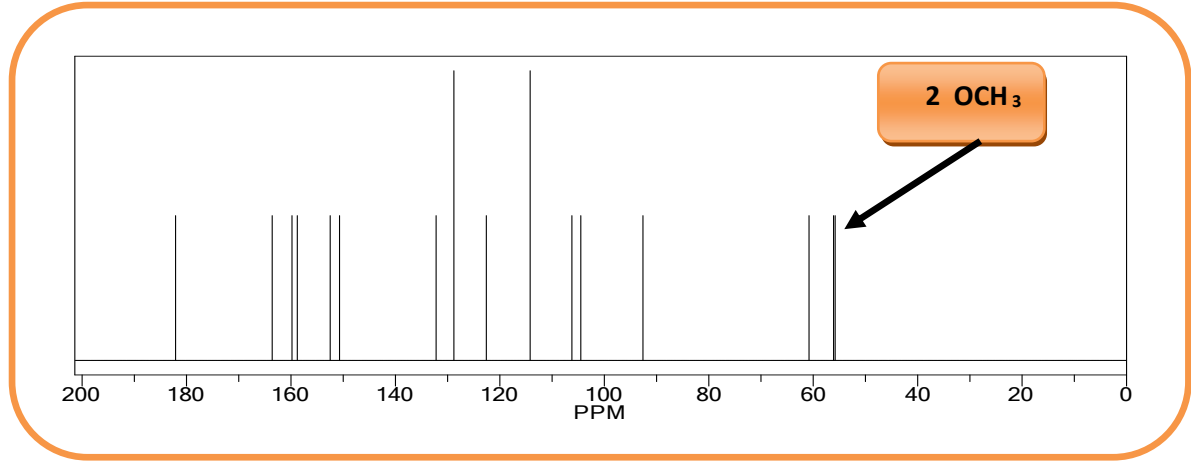
Isoflavone , 3-H , 5-OH , 7-OH .

2/تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (4):

من خلال نتائج طيف ¹³C RMN الجدول (13.III) ، نلاحظ وجود 17 ذرة كربون. من بين هذه

الذرات 15 ذرة تخص الهيكل الفلافونيدي (Isoflavone) ، إضافة إلى وجود ذرتي كربون لكل منها

إزاحة كيميائية عند 56ppm. وهي مميزة لكربون مجموعة الميتوكسيل.



الشكل (11.III): طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN

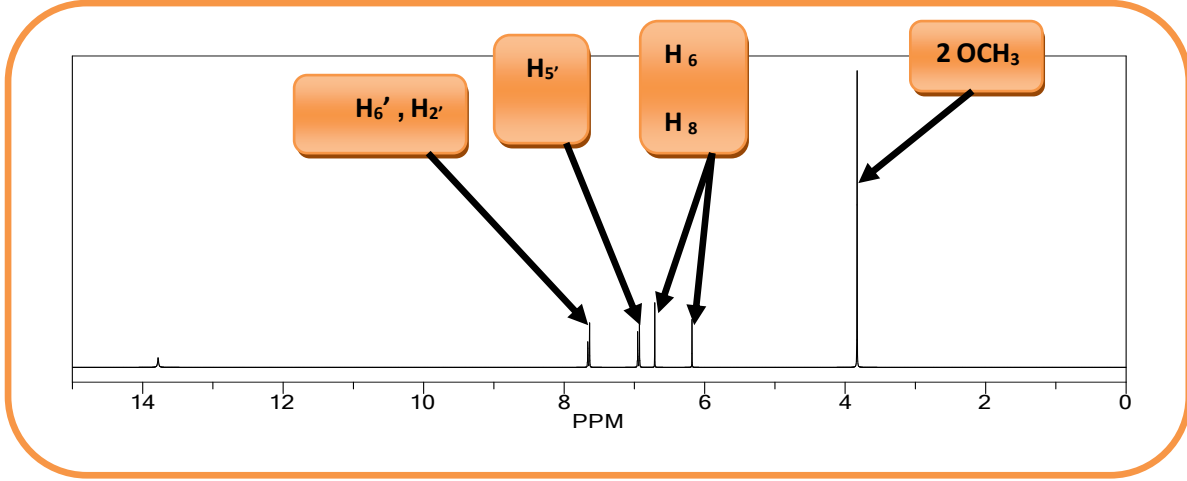
الجدول (13.III) : نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون ¹³C RMN للمركب (4).

C ₉	C ₈	C ₇	C ₆	C ₅	C ₄	C ₃	C ₂	C
103	94	157	99	148	182	103	163	δ (ppm)
C ₁₇	C ₁₆	C ₁₅	C ₁₄	C ₁₃	C ₁₂	C ₁₁	C ₁₀	C
C ₁₈	(6')	(5')	(4')	(3')	(2')	(1')		
56	129	114	162	162.1	130	122	151	δ

3/ تحليل نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ¹H RMN للمركب (4):

لمعرفة باقي مستبدلات المركب (4) 2 ، 6، 8 ، 2' ، 3 ، 4' ، 5 ، 6' ، نقوم بمناقشة

نتائج طيف ¹H RMN التي دونت نتائجه في الجدول (III 14).



الشكل (III. 11): طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN

وجود قمة أحادية عند 6.21ppm ذات التكامل 1H وثابت تزاوج 1.7 Hz وهذا يشير إلى بروتون الموضع 6 .

وجود قمة أحادية عند 6.39ppm وذات التكامل 1H وثابت تزاوج 1.7 Hz وهذا يشير إلى بروتون الموضع 8 .

وجود قمة مضاعفة 6.88 تكاملها 1H وثابت تزاوج $J=8.2\text{ Hz}$ وهذا يشير إلى البروتون H_5'

وجود قميتين أحاديتين عند 7.47 ppm و 7.50 ، لكل قمة تكامل 1H وثابت تزاوج 1.9 Hz وهذا يشير إلى البروتونين H_6' و H_2' على الترتيب .

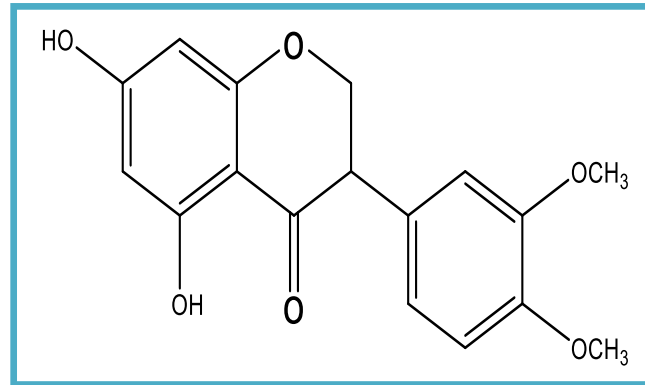
وجود قمة أحادية عند 8.17ppm وتكاملها 1H ، ومنه فإن هذا البروتون هو بروتون الموضع 2.

وجود قميتين أحاديتين عند 3.88 ppm و 3.96 لكل قمة تكامل 3H . وهذا ما يميز مجموعة الميتوكسيل. ومنه فإن هذين المستبدلين موجودين على مستوى الكربونين '3' و'4'.

الجدول (III. 14): نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^1H RMN للمركب (4).

الازاحة الكيميائية (ppm)	التعددية	التكامل	ثابت تزاوج (Hz)	التعيينات الكيميائية
3.88			/	OCH ₃
3.96	S	3H		
6.21	S	1H	1.7	H ₆
6.39	S	1H	1.7	H ₈
6.88	d	1H	8.2	H _{5'}
7.47	S	1H	1.9	H _{2'}
7.50	d	1H	1.9	H _{6'}
8.17	S	1H	/	H ₂

من خلال هذه الدراسة نستنتج أن صيغة المركب (4) (C₁₇H₁₄O₆) هي:



الشكل (III. 12): صيغة المركب 3'-O- Methylpratensein

5,7-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavone (3'-O- Methylpratensein)

الفصل الرابع:

الفعالية المضادة للأكسدة

IV-1- تمهيد:

يعتبر الأكسجين (O_2) العنصر الأساسي للحياة ، فهو المسؤول عن الأداء الطبيعي للنظام الهوائي بأكمله، ومن ناحية أخرى نجد الجذر ($O_2\cdot$) العنصر المسؤول عن عمليات الأكسدة ، وبهذا يصبح قادرا على أكسدة الجزيئات المجاورة أو ما يعرف بالاجهاد التأكسدي. مؤديا لظهور بعض الأمراض: القلب، الشيخوخة المبكرة، السرطان ... والسبب في ذلك وجود مجموعات وسيطية في الجسم أو ما تعرف بالجذور الحرة [42].

تستمد أنواع الجذور الحرة من ثلاث عناصر، الأكسجين، النيتروجين و الكبريت وبالتالي تنتج الأنواع التفاعلية التالية وهي (ROS) النوع الأكسجيني التفاعلي، (RNS) النوع النيتروجيني التفاعلي و (RSS) النوع الكبريتي التفاعلي.

ويعتبر النوع الأكسجيني التفاعلي (ROS) الأهم بالنسبة للإنسان ، حيث في جميع الأنظمة الهوائية الحية ، عادة ما يتم إنتاج هذه الأنواع أثناء عملية التمثيل الغذائي الخلوي، أيضا في حالة وجود خلل في الميتوكوندريا وتورم الغدة الصعترية ، كما للظروف الخارجية نتيجة التعرض للإشعاع ، الأشعة البنفسجية ، التدخين ، المذيبات العضوية ... حيث يؤدي تراكم هذه الجذور الى تدمير مكونات الخلايا محدثة أضرارا بالغة في مادتها الوراثية ووظائفها الحيوية [43].

حيث كانت تستعمل في الصناعات الغذائية مضادات أكسدة كيميائية على نطاق واسع لكونها

فعالة وأقل تكلفة مثل (BHA) butylhydroxyanisole ، (BHT) butylhydroxytoluène ، (gallate)

(PG) propylée ، (TBHQ) tetrabutylhydroquinone ، إلفي السنوات الأخيرة اهتم الباحثين

بالدراسات العلمية المتعلقة بالمضادات الطبيعية للأكسدة ، وخصائصها العلاجية . حيث شهدنا

اهتماما كبيرا بالمنتجات الطبيعية وتطوير المستخلصات النباتية واستخدامها كمضادات أكسدة

طبيعية التي لها فعالية بيولوجية يمكن أن تسهم في الحد من بعض الأمراض [42،44] .

IV-2- المركبات الفينولية والفعالية المضادة للأكسدة:

مضادات الأكسدة عبارة عن مواد تمنع التدهور أو الأضرار الناتجة عن عملية الأكسدة ، فهي قادرة على إبطال فعالية الجذور الحرة ، إزالة الأيونات المعدنية التي تؤدي الى تكوين الأشكال النشطة للأكسجين (ROS) أو حث الدفاع الداخلي المضاد للأكسدة ، ومن بين هذه المركبات نذكر المركبات الفينولية (الفلافونيدات ، الأحماض الفينولية ، والتانينات) .

تعتمد الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية على ذرات الهيدروجين في الحلقة الفينولية ومدى استقرار الهيكل الفينولي، فهذه المركبات لها قدرة على أسر الجذور الحرة ومخلبة الشوارد المعدنية بالإضافة إلى حماية الأنظمة الداخلية المضادة للأكسدة [29] .

IV-3- طرق تحليلية واختبارات لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة:

عندما تكون كمية إنتاج الجذور الحرة من طرف الجسم تفوق قدرته على حذفها ندخل في مرحلة التوتر أو ما يعرف بالإجهاد التأكسدي. الأمر الذي أدى بالباحثين الى دراسة الأضرار الناجمة عن هذه الأنواع ، والتطرق للبحث عن مركبات لها قدرة اقتناص الجذور الحرة أو ما يعرف بمضادات للأكسدة. وذلك باستعمال تقنيات واختبارات للحصول على معلومات تخص هذه الفاعلية. ومن بين هذه الاختبارات نذكر: اختبار β -carotene ، DPPH ، $ABTS^{+}$... [29].

سننظر في هذا الفصل إلى مقارنة نتائج: التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات، و تقدير النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين اختبار النشاطية تجاه الجذر DPPH و اتجاه الجذر $ABTS^{+}$ وهذا حسب المرجع [18] و [19] .

IV-3-1- التقدير الكمي للفينولات الكلية:

*المبدأ:

يتم تحديد كمية متعدد الفينول من خلال الكاشف اللوني Folin-ciocalteu حسب طريقة

(Obiang-Obounou, 2013)، وهو حمض أصفر اللون يتكون من خليط من حمض الفوسفوتنغنستيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض الفوسفومولبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) حيث يتم إرجاعها خلال أكسدة الفينولات معطية بذلك خليط من الأكاسيد الزرقاء من التنغستين (W_8O_{23}) والمولبدين (Mo_8O_{23}).

إن اللون الناتج له امتصاص أعظمي عند 720 nm نانومتر يتناسب مع كمية متعدد الفينول الموجود في المستخلصات النباتية ، والفينول المستعمل كمرجع هو حمض الغاليك [43] .

***طريقة العمل :**

- نحضر محلول الغاليك بتركيز تتراوح بين 0.03 - 0.3 g/L .
- نأخذ 1.5m/L من المحاليل الممددة ونضيف لها 1.5mL من محلول ال **Folin** (10 %) و نتركها لمدة 5 دقائق .
- نضيف لها 1.5 mL من محلول كربونات الصوديوم $Na_2 CO_3$ (6%)، ونتركها في الظلام لمدة 90min في درجة حرارة الغرفة .
- نقرأ الامتصاص عند 725nm .
- نرسم المنحنى القياسي: الإمتصاص بدلالة التركيز .
- نخفف المستخلصات العضوية إلى تراكيز مختلفة ثم نعاملها بنفس الطريقة التي عومل بها حمض الغاليك .
- نسقط قيم الإمتصاص المحصل عليها على منحنى القياسي لحمض الغاليك، حيث أن النتائج المحصل عليها تعطى بوحدة (mg/g) من كتلة المستخلص المكافئة لحمض الغاليك [28].

IV-3-2- التقدير الكمي للفلافونيدات :

*المبدأ: يتم تحديد محتوى الفلافونويد للمستخلصات العضوية حسب طريقة (Wang,2008)،

حيث يشكل ثلاثي كلوريد الألمنيوم مع الفلافونويد معقد اصفر يمتص عند طول موجي

430 nm . و الفلافونويد المستعمل كمرجع هو الكرسيتين [43] .

*طريقة العمل :

- نحضر محلول الكرسيتين بتراكيز تتراوح بين 0.01 - 0.1 g/ L.
- نأخذ 0.5 mL من المحاليل المددة ونضيف لها 0.5mL من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم (2 %) ثم نضع المحاليل في الظلام لمدة ساعة عند درجة حرارة الغرفة .
- نقرا الامتصاص عند 514nm.
- نرسم المنحنى القياسي :الامتصاص بدلالة التركيز .
- نخفف المستخلصات العضوية إلى تراكيز مختلفة ثم نعاملها بنفس الطريقة التي عومل بها الكارستين .
- نسقط قيم الامتصاص المحصل عليها على منحنى القياسي للكارستين . حيث أن النتائج المحصل عليها تعطى بوحدة (mg /g) من كتلة المستخلص المكافئة للكرستين [28] .

IV-3-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

IV-3-4-أ- اختبار DPPH للمستخلصات العضوية :

*المبدأ: إن الجذر DPPH (1,1- Diphenyl-2-picryl-Hydrazyl) من أحد الجذور الحرة

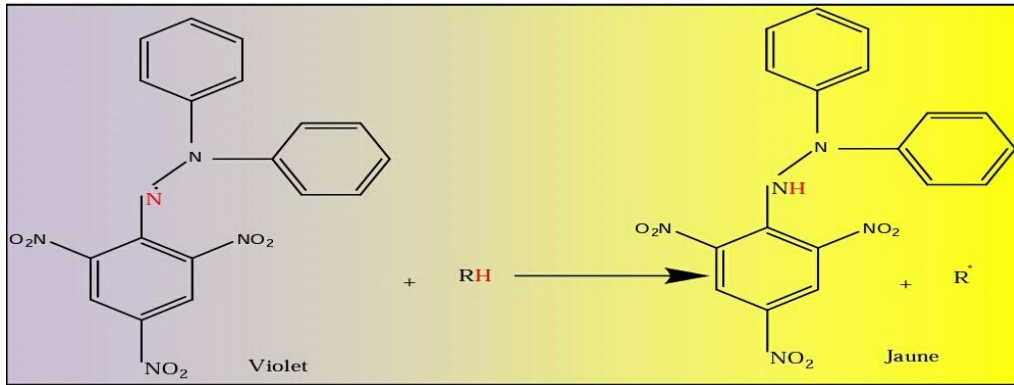
المستقرة و المستعملة لدراسة علاقة النشاط المضاد للأكسدة للمركبات الفينولية . هذا الجذر يحوي

على إلكترون منفرد على مستوى الجسر الأزوتي .

في حالة إذابة هذا الجذر (DPPH·)، نتحصل على الصيغة المؤكسدة له مما يؤدي الى عدم استقرار هذا المركب، الذي يتميز بلون بنفسجي عند طول موجي 518 - 515 nm.

حيث تقاس فعالية مضادات الأكسدة بقياس انخفاض في شدة اللون البنفسجي ونتحصل عندئذ

على الصيغة المرجعة لـ DPPH [43].



الشكل (1.IV) : آلية ارجاع الجذر DPPH في وجود عامل مضاد للأكسدة

*طريقة العمل :

لقياس النشاط المضاد للأكسدة ، نحضر محلول DPPH بتركيز 250µM في الميثانول، ثم نحضر محلول مرجعي من حمض الأسكوربيك بتركيز 0.04 g/L في الميثانول، وانطلاقاً منه نحضر محاليل ممددة تتراوح بين 0.04-0.004 g/L يتم التمديد بمحلول موقفي (pH 7.4) بتركيز 100mM . نأخذ 1.5 mL من كل محلول ونضيف له نفس الحجم من محلول الـ DPPH نقوم بالرج ثم نضع المحاليل في الظلام لمدة 30 Min وعند درجة حرارة الغرفة بعد ذلك نقرأ الامتصاص عند 517 nm .

بنفس الطريقة التي عومل بها حمض الأسكوربيك، نعامل بها المستخلصات العضوية ونقرأ الامتصاصية عند 517 nm . ونرسم المنحنيات البيانية للمستخلصات العضوية: نسبة التثييط (%) (إبدلالة التركيز (C) ، وانطلاقا من معادلة المنحني نحدد IC₅₀ .

$$I\% = (A_0 - A_e / A_0) 100 \text{ حيث :}$$

A₀ : قيمة الامتصاص في حالة غياب المستخلص العضوي

A_e: قيم الامتصاص في حالة وجود المستخلص العضوي

IV-3-4 - ب- اختبار ABTS (2,2'-azinobis(3éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique) acide :

*المبدأ:

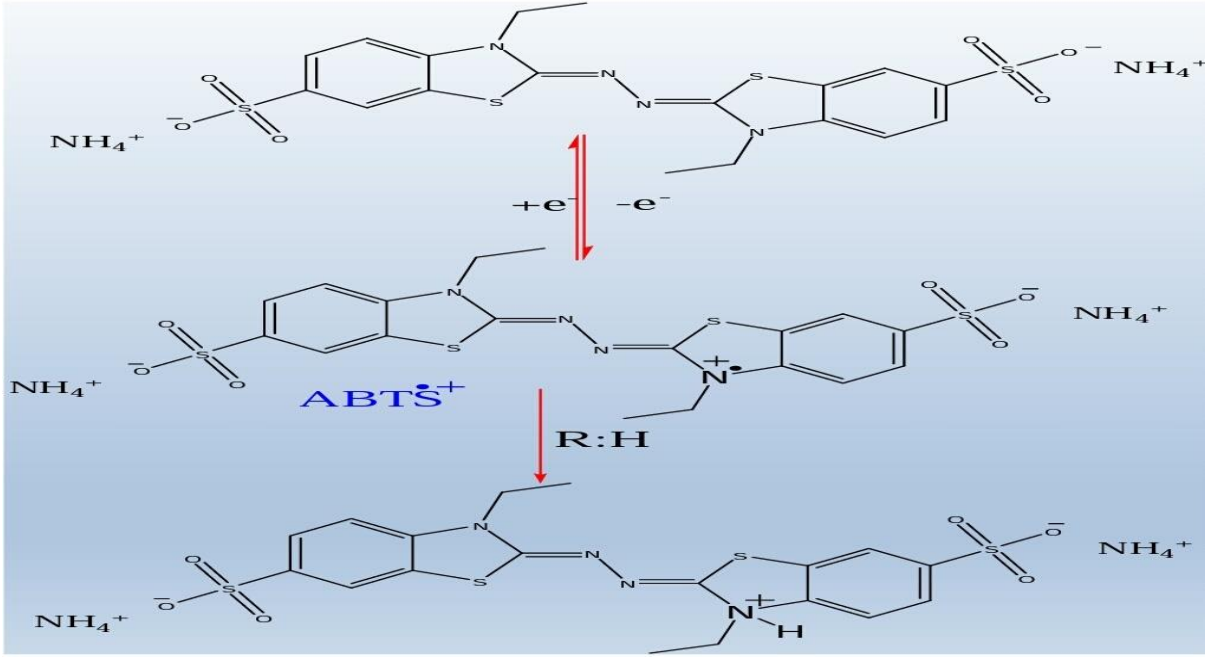
يعتمد هذا الاختبار على قدرة تثبييت الجذر الكاتيوني ABTS⁺، حيث في وجود المؤكسد

(K₂S₂O₈) يتم أكسدة ABTS إلى ABTS⁺ و في وجود مضاد للأكسدة الذي يمنح بروتونا

H[·]، يتم ارجاع ABTS⁺ الذي يتميز باللون ما بين الأزرق - أخضر إلى ABTS الذي يتميز بطول

موجي 734nm ،فيؤدي هذا الإرجاع إلى زوال هذا اللون نتيجة تفاعل الجذر ABTS⁺ مع البروتون]

[44].



الشكل (2.IV): آلية ارجاع الجذر $ABTS^{\bullet+}$ بواسطة عامل مضاد للأكسدة

*طريقة العمل :

اختبار الفعالية المضادة للأكسدة من خلال اختبار تثبيت الجذر $ABTS^{\bullet+}$ [45]:

نحضر محلول الأم $ABTS$ (2 mM) المذاب في 50ml من المحلول الموقى $salinphosphate$

(PBS) (تمت اذابة 8.8 g من $NaCl$ ، 0,27 g من KH_2PO_4 ، 1,42 g و 0,15 g من

Na_2HPO_4 و KCl في الماء النقي $pH = 7.4$) .

نقوم بمزج 50mL من $ABTS$ (2 mM) مع 200L μ من محلول $K_2S_2O_8$ (70mM) وتركه

للتفاعل لمدة 15-16 ساعة في الظلام للحصول على $ABTS^{\bullet+}$.

قبل قياس الامتصاص، نقوم بتخفيف محلول $ABTS^{\bullet+}$ بواسطة المحلول الموقى PBS إلى أن

يعطي امتصاصا عند 734 nm.

نقوم بإضافة $30 \mu\text{L}$ من المستخلص المذاب في الميثانول إلى 3 mL من محلول $\text{ABTS}^{+\cdot}$ ، ثم نتركه لمدة 30 Min في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة ثم نقيس الامتصاصية عند 734 nm . ونستعمل المحلول PBS كمحلول شاهد . ونقيس نسبة التثبيط % I من خلال:

$$I\% = [(A_B \times A_A) / A_B] \times 100$$

A_B : الامتصاص في حالة غياب المستخلص .

A_A : الامتصاص في وجود المستخلص.

IV-4- مقارنة نتائج الفعالية المضادة للأكسدة:

IV-4-1- مقارنة نتائج التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات الكلية:

حسب نتائج المرجع [18]، حيث سجلت أكبر كمية للتقدير الكمي للفينولات في مستخلص TOF (total oligomers flavonoids) extractenriched in total oligomers flavonoids قدرت ب 26.26 mg/g . أما في ما يخص التقدير الكمي للفلافونيدات فقد سجلت أكبر كمية في مستخلص خلات الايثيل قدرت ب 13.74 mg/g .

إلا أنه حسب نتائج المرجع [19] ، قدرت كمية الفينولات والفلافونيدات الكلية ب 92.5 mg/g

و 18.34 mg/g على التوالي، حيث سجلت أكبر كمية للتقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات في مستخلص الميثانول .

ويرجع الاختلاف في هذه النتائج، حسب منطقة جني النبتة و نسبة تواجد المركبات الفعالة فيها وكذا طريقة الاستخلاص.

IV-4-2- مقارنة نتائج اختبار DPPH:

الجدول (1. IV) : نتائج اختبار DPPH حسب المرجعين [18] و [19] .

المرجع	IC ₅₀ (µg/mL)	المرجع	IC ₅₀ (µg/mL)	العينات
[19]	355.5	[18]	2.25	MeOH
	870.7		>100	DCM/CHCl ₃
	171.9		100	EtOAc
	>1000		>100	n-Hex/Et-Pet
	2.00		3.1	المركب المرجعي
Ac-ascorbique/	α-Tocopherol			

اعتمادا على نتائج الجدول، كلما نقصت قيمة IC₅₀ زادت الفعالية المضادة للأكسدة وهذا

مقارنة بالمركب المرجعي .

نلاحظ حسب نتائج اختبار DPPH للمرجع [18]، أن لمستخلص الميثانول فعالية مضادة

للأكسدة أكبر من المركب المرجعي (α-Tocopherol)، حيث قدرت قيمة IC₅₀ للمستخلص الميثانول

ب (2.25 µg/mL)، أما (α-Tocopherol) قدرت قيمة IC₅₀ ب (3.1 µg/mL)، أما باقي

المستخلصات فقد أظهرت فعالية مضادة للأكسدة أقل من مستخلص الميثانول والمركب المرجعي.

كما نلاحظ حسب نتائج اختبار DPPH للمرجع [19]، أن كل المستخلصات المدروسة لها

فعالية مضادة للأكسدة أقل من المركب المرجعي (Ac-ascorbique) .

أكبر فعالية مضادة للأكسدة لهذه المستخلصات سجلت في مستخلص خلات الايثيل حيث قدرت قيمة

IC₅₀ ب (171 µg/mL)، وهي قيمة أقل من قيمة IC₅₀ للمركب المرجعي (Ac-ascorbique).

IV-4-3- نتائج اختبار ABTS [18] :

الجدول (2.IV) : نتائج اختبار ABTS حسب المرجع [18] .

العينات	IC ₅₀ (mg /ml)
Me-OH	1.4
EtOAc	2.2
CHCl ₃	0.9
Et-Pet	7
المركب المرجعي Trolox	0.76

حسب نتائج الجدول (2.IV) ، نلاحظ أن كل المستخلصات المدروسة لها فعالية مضادة للأكسدة

أقل من المركب المرجعي (Trolox) .

أكبر فعالية مضادة للأكسدة لهذه المستخلصات سجلت في مستخلص الكلوروفورم حيث قدرت قيمة

IC₅₀ بـ 0.9(mg/mL) ، وهي قيمة أقل من قيمة IC₅₀ للمركب المرجعي (Trolox) .

الجزء التطبيقي

الفصل الخامس:

الدراسة الفيتوكيميائية

V-1 - المادة النباتية:

تم الحصول على العينة النباتية (*Moricandia arvensis*(L.)DC) (الجزء الهوائي) في مرحلة الإزهار في شهر نوفمبر 2019 من منطقة المرموثية بتبسة (تقع شرق الهضاب العليا وشمال المناطق الصحراوية).

وقد تم التعرف على العينة في قسم البيولوجيا بجامعة ورقلة من طرف الاستاذ عيدود عمار أجريت عملية التجفيف للجزء الهوائي (لتقليل نسبة الماء في النبات والتقليل من التفاعلات الحيوية) في الظل وفي مكان جيد التهوية...ثم طحنها وتخزين المسحوق في عبوات زجاجية عاتمة الى حين استعماله.

V - 2- المواد و الأدوات والأجهزة المستعملة :

تم انجاز العمل التطبيقي في مخبر الكيمياء التحليلية، قسم الكيمياء بكلية الرياضيات وعلوم المادة جامعة قاصدي مرباح ورقلة. نذكر أهم المواد، الأدوات والأجهزة الرئيسية في عملنا.

الجدول (1.V):المواد والأدوات والأجهزة المستعملة

المواد الكيميائية	الأدوات والأجهزة
الماء المقطر	ميزان الكتروني
الايثانول (96 %)	جهاز التبخير الدوراني
الكلوروفورم (94_99 %)	جهاز الرج

مسخن ورق ترشيح	خلات الايثيل (99 %)
-------------------	-----------------------

V-3-الاختبارات الكيميائية الأولية:

قمنا بجملة من الاختبارات الكيميائية الأولية للمادة النباتية لمعرفة مدى احتوائها على المواد الفعالة.

تحضير المستخلصات :

نحضر مجموعة من المستخلصات : مستخلص مائي، مستخلص الكلوروفورم، مستخلص الايثانول أو الميثانول ، ومستخلص ايثر البترول .

نضع 3g من مسحوق النبتة ونضيف له 50 mL من المذيب، يغطى جيدا ويترك لمدة ساعتين مع الرج .

بعد الترشيح، نضيف لكل مستخلص سلسلة من الكواشف مع تتبع التغير اللوني للمستخلص وتسجيل الملاحظة.

*الفلافونيدات:

اختبار Shinoda:

1mL من كل مستخلص ، نضيف له القليل من Mg ثم نضيف له قطرات من HCl بحذر على جدار الأنبوب .

الملاحظة: ظهور اللون الأحمر يدل على وجود الفلافونيدات [46].

*التانينات:

0.5 mL من كل مستخلص نضيف له 1 mL من الماء المقطر، ثم نضيف قطرة أو قطرتين من

.FeCl₃

الملاحظة: ظهور اللون الأخضر يدل على وجود التانينات [47].

*الكومارينات :

2 mL من كل مستخلص نضيف له NaOH (10%).

الملاحظة: تغير لون المستخلص إلى اللون الأصفر دلالة على وجود الكومارينات [48].

*الستيروولات والتربينات الثلاثية:

اختبار Liebermann-Burchard:

1 mL من كل مستخلص نضيف له H₂SO₄ المركز ثم نضيف قطرة أو قطرتين من اللاماءات الأسيتيك

الملاحظة:

إذا ظهرت حلقة حمراء فهذا يدل على وجود التربينات الثلاثية. أما إذا تغير لون المستخلص الى

اللون الأخضر فهذا يدل على وجود الستيروولات [46] .

*الصابونيزيدات:

نحدد كمية وجود الصابونيزيدات عن طريق حساب مؤشر الرغوة . نقوم برج 5mL من المستخلص المائي لمدة ربع ساعة .

الملاحظة:تشكل رغوة ونحسب ارتفاعها [43].

4-V - نتائج الاختبارات الكيميائية الأولية لـ *Moricandiaarvensis(L.)DC* :

الجدول (1.V): نتائج الاختبارات الكيميائية الأولية لـ *Moricandiaarvensis(L.)DC*

المادة الفعالة المستخلص	الفلافونيدات	التانينات	الكومارينات	الستيرويدات والتربينات الثلاثية	الصابونيزيدات
ايثر البترول	-	-	-	+	(لون أخضر)
الكلوروفورم	-	+	-	+++	(لون أخضر)
الايثانول	++	+	++	+++	(لون أخضر)
ماء مقطر	++	-	++	+	(لون أحمر)



مستخلصات الكلوروفورم



مستخلصات الايثر البترولي



مستخلصات الايثانول

الصورة (1-V): نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية للمستخلصات بعد اضافة الكواشف

من خلال نتائج الاختبارات الأولية المحصل عليها نسجل مايلي:

وجود الفلافونيدات في مستخلصات الميثانول والماء المقطر. وغيابها في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم.

أما بالنسبة للتانينات، فنلاحظ وجودها في كل من مستخلصات الكلوروفورم والميثانول، وغيابها في مستخلصات الايثر البترولي والماء المقطر. كما نلاحظ وجود الكومارينات في كل من مستخلصات الميثانول والماء المقطر وغيابها في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم .

كما نلاحظ وجود اللون الأخضر في كل من مستخلصات الايثر البترولي، الكلوروفورم والميثانول وهذا يشير الى وجود الستيرولات. أما بالنسبة الى مستخلص الماء المقطر فقد ظهر اللون الأحمر وهذا يدل على وجود التربينات الثلاثية.

أما بالنسبة إلى اختبار الكشف على الصابونيزيدات، فقد ظهرت بنسبة معتبرة في المستخلص المائي. وبمقارنة هذه النتائج مع نتائج المرجع [17]، فإننا نلاحظ وجود نفس المواد الفعالة في كلا النباتين، أما حسب المرجع [8] فهناك اختلاف، ووجد غياب القلويدات والفلافونيدات مع وجود بقية المركبات.

5-V - الاستخلاص:

تم نقع المادة النباتية (350g) في خليط من ايثانول /ماء (30/70) لمدة 24 ساعة، رشح بعدها المحلول وأعيدت هذه العملية ثلاث مرات لاستنفاد النسيج النباتي. بعدها تم تبخير الرشاحة تحت ضغط منخفض.

المستخلص الخام أضيف له حوالي (200mL) من الماء الدافئ وترك ليلة كاملة ثم رشح. الرشاحة المتحصل عليها في الأخير يتم استخلاصها (استخلاص سائل/سائل) بواسطة مذيبات عضوية مختلفة

القطبية، وتبقى عملية الاستخلاص مقتصرة على عدد معين من المذيبات نظرا لمرعاة الجانب الصحي، الجانب البيئي إضافة إلى الجانب الاقتصادي، ونذكر المذيبات المستعملة في هذه العملية: ايثربترول ، الكلوروفورم، خلات الايثيل إضافة إلى البيتانول .

يضاف **éther de pétrole** للراشح لإزالة اليخضور والليبيدات ويكون حجم المذيب مساويا

لثالث حجم الراشح ،بعد الرج و التفريغ من الغاز نفصل الطور المائي عن الطور العضوي وتعاد

العملية ثلاث مرات للطور العضوي. أما بالنسبة للطور المائي فيضاف له Chloroforme لفصل

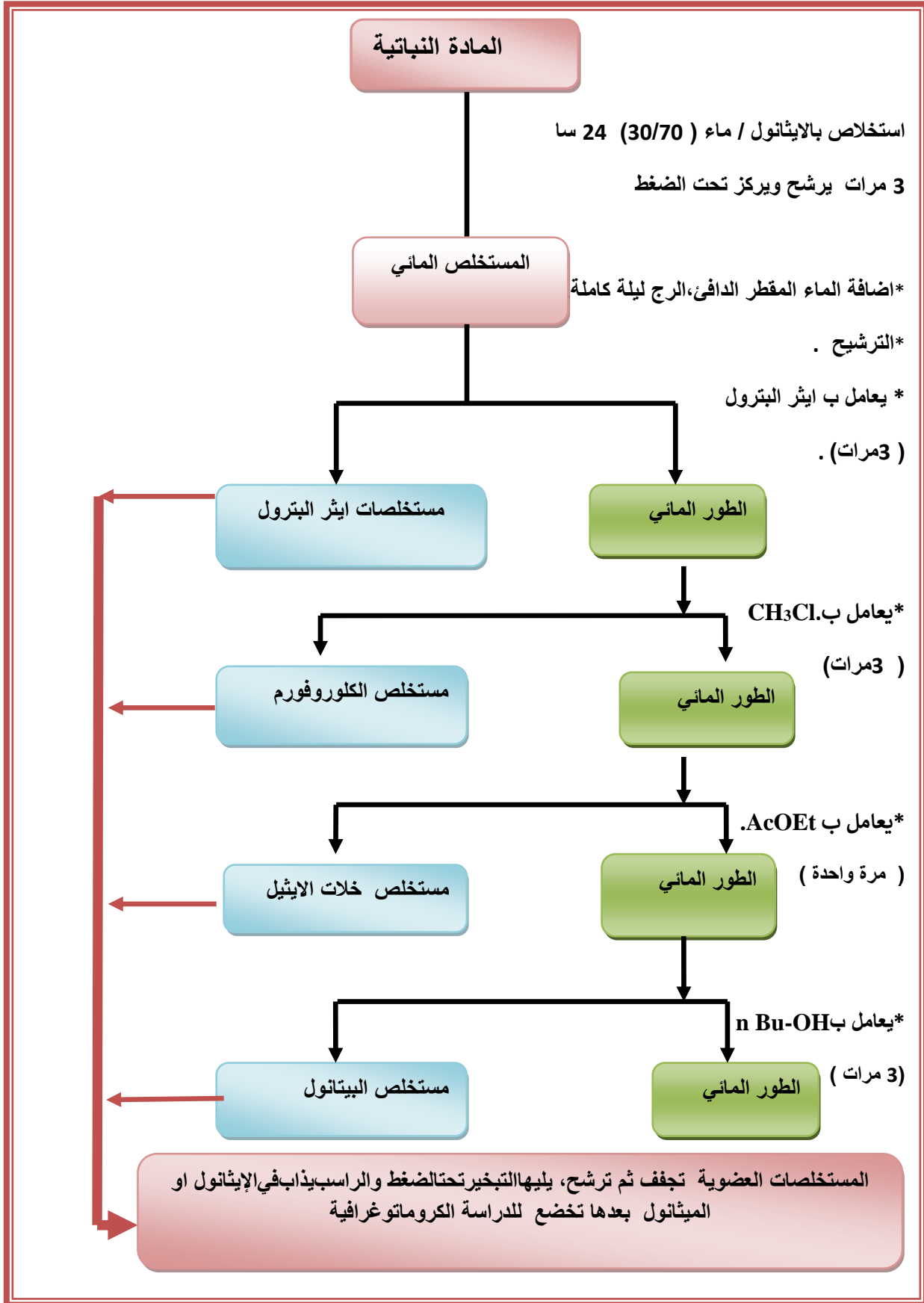
المركبات المتوسطة القطبية وبنفس الطريقة نفصل الطورين وتكرر العملية ثلاث مرات. يليها

الاستخلاص بواسطة **acetate d'éthyle** لفصل المركبات القطبية أحادية السكر ونقوم بهذه العملية

مرة واحدة وآخر مرحلة يضاف للطور المائي **n- butanol** لفصل المركبات القطبية متعددة السكر .

تجميع الاطوار العضوية تجفف بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائية، يرشح المحلول ثم يركز الراشح

تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة لا تتعدى 40 درجة مئوية.



مخطط (1.V): استخلاص الفلافونيدات من *Moricandia arvensis*(L.)DC

خلاصة عامة

الخلاصة:

ارتفعت مؤخرا الكثير من الأبحاث التي تركز على تحديد وفتح آفاق جديدة لخدمة المجال الطبي وفي إطار الكشف عن المواد الفعالة للنباتات الطبية في الجزائر، أدرجنا في بحثنا نبات طبي من العائلة الكرنبية الموجودة في بلادنا. ومن خلال الدراسة الفيتوكيميائية للنبته أثبتنا احتوائها على الفلافونيدات، القلويدات، الكومارينات، التربينات الثلاثية و الستيرويدات. وقد انصب اهتمامنا حول منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لما تحظى به من فعالية بيولوجية عظمى.

قمنا أولا ببحث ببليوغرافي عن النبتة وأهم استخداماتها العلاجية وأهم الدراسات السابقة عنها من فعالية بيولوجية و أهم المركبات المفصلة من مستخلصاتها العضوية وزيتها الأساسي. كما تطرقنا إلى بحث آخر عن الفلافونيدات وأهم طرق المستخدمة في فصلها وتنقيتها وكذا الطرق الفيزيائية لتحديد بنيتها.

ونظرا لتداعيات جائحة كورونا Covid19 التي اجتاحت العالم بأسره لم نكمل العمل التطبيقي للوصول الى فصل وتشخيص المركبات الفلافونيدية. ثم وجهنا اهتمامنا الى تحليل ومناقشة نتائج سابقة تخص الفصل الفلافونيدي حسب المرجع [17]، اتبعنا جملة من الخطوات ابتداء من الاستخلاص يليه الفصل الكروماتوغرافي والتنقية لأطوار الكلوروفورم وخلات الايثيل. واستنادا لنتائج مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ومطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون . تم اثبات صيغة البنى الكيميائية لأربعة مركبات فلافونيدية وهي:

. 3'-O-Methylpratensein، Hispidulin، Salvigenin، Hesperetin

ومن أجل تقييم هذه الدراسات، اهتمنا كذلك بالجانب البيولوجي في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات هذه النبتة من خلال مقارنة نتائج سابقة درست التقدير الكمي للفينولات

والفلافونويدات حسب المرجعين [18،19] ، و الفعالية المثبطة للجذرين DPPH^{\cdot} و $\text{ABTS}^{+\cdot}$. حيث أظهر المستخلص الميثانولي أكبر فعالية مثبطة للجذر DPPH^{\cdot} حيث قدرت قيمة IC_{50} ب ($\mu\text{g/mL}$) 2.25 [18]. كما وجد كذلك أن لمستخلص خلات الايثيل فعالية معتبرة مثبطة للجذر DPPH^{\cdot} و قدرت قيمة IC_{50} ب ($\mu\text{g/mL}$) 171 [19].

في دراسة الفعالية المثبطة للجذر $\text{ABTS}^{+\cdot}$ فأكبر فعالية مثبطة له سجلت في مستخلص الكلوروفورم و قدرت IC_{50} ب (mg/mL) 0.9 حسب المرجع [18]. ويرجع هذا الاختلاف في فعالية المستخلصات حسب منطقة جني النبتة ونسبة تواجد المركبات الفعالة فيها .

وعلى ضوء نتائج الدراسات السابقة المتحصل عليها، يمكننا القول بأن هذه النبتة من النباتات الطبية التي يجب تثمينها وتكثيف الدراسات المختلفة حولها وكذا في فصل نواتج الأيض الثانوي، كما نوجه البحث تجاه الفعالية البيولوجية خاصة منها الفعالية المضادة للبكتيريا والفطريات.



المراجع

المراجع بالعربية:

- [1]. د / عبد الباسط محمود الموسوعة الأم للعلاج بالنباتات الطبية، دار الفا للنشر، القاهرة، مصر(2004).
- [2]. د / صبحي شحادة موسوعة النباتات الشافية والمكملات الغذائية، دار الكندي للنشر اربد الاردن(2002).
- [3]. أ. ماهر حسن محمود الطب البديل دار الوفاء لدنيا الطباعة والنشر ،الاسكندرية،مصر(2007).
- [6]. زردومي سليمان . *Artemisia campestris L* في منطقة أريس ، دراسة تشريحية ودراسة النشاطية ضد البكتيرية والصد تأكسدية لزيته الأساسي. مذكرة ماجستير .سطيف . جامعة فرحات عباس . 2015. 74 ص.
- [28]. علاوي مسعودة . الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم الميكروبيولوجي لنبتين من الفصيلة اليرامية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي . رسالة دكتوراه .ورقلة .جامعة قاصدي مرباح . 2015 . 132 ص.
- [29]. احلام بوسطلة.دراسة نواتج الايض الثانوي لنبتين *Foeniculum vulgare Mill* و *Bunium incrasstum Boiss*، رسالة دكتوراه ،جامعة قسنطينة 1، 2014 ، 171 ص.
- [30]. زعيتر لحسن. تحديد المكونات الكيميائية لاطوار الكلوروفورم والزيوت الاساسية لانواع من العائلتين المركبة والسيستية . رسالة دكتوراه . قسنطينة . جامعة منتوري . 231 ص.
- [31]. باز مسعود .استخلاص ،فصل وتحديد بنيات منتج الايض الثانوي عند نبات جنس *C.SphaerocephalaL.Centaurea* . مذكرة ماجستير . قسنطينة جامعة منتوري . 2006. 87 ص.

- [33]. لموى رضوان . فصل وتحديد منتجات الايض الثانوي للمستخلص البيتانوليبيدات Chenopodiaceae. مذكرة ماجستير .قسنطينة . جامعة منتوري .2010. 122ص.
- [34]. شروانة سهيلة . فصل وتحديد منتجات الايض الثانوي الفلافونيدي للنبته lyceum arabicum .L. مذكرة ماجستير .قسنطينة. جامعة منتوري . 2007. 65 ص.

المراجع باللغة الأجنبية :

- [4].Medié-Sarié, M., Jasprica, I. Smoleié-Bubalo, A., Mornar, A. «Optimization of Chromatographic Conditions in Thin LayerChromatography of Flavonoids and Phenolic Acids», CroaticaChemica Acta, (2004) .77(1-2), 361-366.
- [5].Pereira R. C., P. Da Gama B. A., Teixeira V. L., Yoneshigue-valentinY. Y ., Ecological roles of natural products of the Brazilian red seaweed Laurenciaobtuse, Braz. J. Bio. (2003), 63, (4), 667-672.
- [7]AndreasFranzke , Martin A .and Oth . Cabbage family affairs : the evolutionary history of Brassicaceae. Trends in plant science .2011,vol 16,No 2.
- [8] .M.Dahane,Etude des effets nématocides et molluscicides des extrait de quelques plantes Sahariennes.Thèsedoctorat.Oran .ABB.2017 .272p.
- [9]. Jafri ,S.M.H, ..In :Ali and S .M.H Jafri . flora of Libya ,Al faateh University Faculty of science Department of Botany.1977.no.23.
- [10]. JahangirM ,Kim H.K,Choi Y.H.,Verpoorte R.Health –affecting compound in Brassicaceae.comprehensive Reviews in Food Chemistry .(2009),52:3389-3393.
- [11]Mizushina U. and Tsunoda Sh;1967 .Plant exploration in Brassica and allied genera .Journal Of Agricultural Research ,Tohoku,1967.17 (4): 249-277.
- [12]Jones and Luchsing, Plantand systematic . New York .1stEdition .1979.1981 p.
- [13] René T .J.Cappers ,ReinderNeef,RenéM.Bekker . Digital Atlas of Economic plants .1st .Barkhuis,2009,2035 P.
- [14]Maire R, ;La Flore de L’ Afrique du Nord .Encyclopédie1967 ,Vol 12 -13 .
- [15]. Tahir M.Watts R ; Moricandia .Wild Crop Relatives :Gennomic and Breeding Resources, (2011). 2(12) :191-198 .
- [16]. SeladjiMeriém ,Etude phytochimique ,activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huile essentielles .these

doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie. Tlemcen. Université AbouBekrBelkaid . 2015. 155 p.

[17] .A.Berregioua ,A.Cheriti and N .Belboukhari, Flavonoids from the antibacterial extract of *M.arvensis* L. growing in Algerian Sahara. Scholars Research Library .2016 ,8 (4) :45-49.

[18]. I. Skandrani, M. Ben Sghaier, A. Neffati, J. Boubaker, I. Bouhlel, S. Kilani, A. Mahmoud, K. Ghedira& L. Chekir-Ghedira ; Antigenotoxic and Free Radical Scavenging Activities of Extracts from *Moricandia arvensis*, Drug and Chemical Toxicology, (2007) ,30:4, 361-382.

[19].MariangelaMarrelli and Oth.Phytochemical and Biological profile of *M.arvensis* (L) DC. Molecules.2018. 23. 2829. 15.

[20].Braham H., Ben Janet H., Migh Z., Abreu P-M. ; Carbohydrates from *Moriandia Arvensis* growing in Tunisia. Journal de la Société Chimique de Tunisie(2007).., 9 : 109-113 .

[21].Belkhiri A. and Lokwood G. B., An indole derivative and glucosinolates from *Moricandia arvensis*, Phyrochemistry, Printed in Great Britain., 1990, 29 (4): 1315-1316.

[22].Zeraib A, Ramdani M ,Lograda T, ChalardP,Figueredo.Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *M.arvensis* L.(DC). Asian Journal of plant Science,Asian Journal of plant science .(2011)..,10(6):342-349.

[23].Hrnandez-Ceruelos, A., Madrigal-Bujaidar, E., de la Cruz, C., Toxicology Letters, (2002), 135.103-110.

[24].Stande, M. D., Connellan, P.A., Leach, D. N., Theinternational Journal of Aromatherapy., (2006), 16, 133-139.

[25].Ganzer, M., Schnelder, P., Stuppner, H, Life Sciences,(2006), 78, 856-861]

[26].Ribereau – Gayon, J. B les Composés Phénoliques des Végétaux, Dundo, Paris.(1968)

[27] .Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., Zarelli, A., Pinto, G., Pollio, A Plant polyphenols and their anti –cariogenic properties : A review. Molecules(2011), 16, 1486-1507.

[32] .Meclure . J .W .. physiology and function of flaonoids in the flavonoids .ed .Harborne .B.Marby T .J. Marby .H Chapmann and Hall.,London1975, 970-1055.

[35].Jurd, L, Spectral Propreities of Flavonoids Compounds in T. A, Geissmann, Bioch, Bioch. Acta.,, (1962), 151 – 154, 427 – 440

- [36]. Markham, K.R., Techniques of flavonoids identification. Academic press. London. (1982). 113 p.
- [37]. T.J. Mabry, Perspectives in phytochemistry. eds., J.B. Harborne. Academic Press (1963).
- [38]. Harborne, J. B. Swain, T. Perspectives in phytochemistry. Academic press. London. (1969).
- [39]. Bacon, J.D. and Mabry, T. A. "Rev. Latinoamer, Quim". UV Spectral procedures for distinguishing free and substituted 7-hydroxyl groups in flavones and flavanols.. (1976), 7,83-86.
- [40]. Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B., «The Systematic Identification of Flavonoid», 52, Springer –Verlag. Berlin.(1970)
- [41]. Markham, K. R., Mabry, T. J. «Ultraviolet Visible and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoids, in the flavonoids», ed. Harborne, J. B., Mabry, T. J., Mabry, H. Chapman and hall, London,. (1975), 45.
- [42]. M^{me} Boukaabache Rabia. Recherche et détermination des métabolites secondaires de plantes issues de la famille des fabacées. these doctorat. constantine. université des freresmentouri. 2015. 203p.
- [43]. Hamada Djamilia, Etude Structure Activité des Principes Actifs de la Plante *Anvillea radiata Asteraceae*, Thèse de Doctorat, Université Kasdi Merbah Ouargla, 2016, 133P.
- [44]. Guanarstirzitis k; gerzegorsbartosz. Determination of antiradical and antioxidant activity : basic principles and new insights. Paper in Press, No 1915. Vol. 57, 2010.
- [45]. Tarak Mekhelfi. séparation et détermination structurale de métabolites secondaires de deux plantes Algériennes –Activités biologiques. thèse doctorat. Constantine. université des freresmentouri. 2016. 220p.
- [46]. P. Archana, T. Samatha, B. Mahitha, N. Ramasway. Preliminary phytochemical screening from leaf and seed extracts of *Senna alata* L. Roxb-an Ethnomedicinal plant. Journal of pharmaceutical and biological research, 2012, Vol 3, pp82-85.
- [47]. G. Ayoola, H. Coker, S. Adesegun, A. Adepoju Bello, K. Obaweya, E. Ezennia T. Atangbayila. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal plant Used for Malaria Therapy in South Western Nigeria. Journal of pharmaceutical Research, 2008, Vol 7, pp1021.

[48].N.Savithramma ,M.Linga Rao and D.Suthrulatha . Screening of medicinal plants for Secondary metabolites . Journal of Scientific Research,2011, Vol 8,PP580-581.

المخلص:

يندرج هذا العمل ضمن برنامج البحث عن النباتات الطبية الجزائرية للجنس *Moricandia* الذي ينتمي للعائلة الكرنبية. بغرض تحديد نواتج الأيض الثانوي من نوع الفلافونيدات في نبات

Moricandiaarvensis (L.)DC

أظهرت نتائج الدراسة الفيتوكيميائية احتواء النبتة على نواتج الأيض الثانوي من بينها الفلافونيدات. وتم تحليل نتائج سابقة في فصل أربعة مركبات فلافونيدية وهذا استنادا لنتائج مطيافيتي الأشعة فوق البنفسجية والرنين النووي المغناطيسي للبروتون و للكربون [17].

3'-O-Methylpratensein ، Hispidulin ، Salvigenin ، Hesperetin

وعلى ضوء نتائج اختبارات الفعالية المضادة للأكسدة توصلنا الى وجود تباين في قيم التقدير الكلي للفينولات والفلافونيدات من مستخلص لآخر، كما سجلت أكبر قيمة مثبطة للجذر DPPH في كل من مستخلص الميثانول و خلاص الايثيل [18،19]. أما عن مستخلص الكلوروفورم فقد أظهر تثبيطا عاليا للجذر ABTS⁺ مقارنة بالمستخلصات العضوية الأخرى [18].

الكلمات المفتاحية: *Moricandiaarvensis* (L.)DC، الفلافونيدات، النشاط المضاد للأكسدة، التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات .

Résumé:

Ce travail s'inscrit dans le programme de recherche sur les plantes médicinales algériennes du genre *Moricandia* de la famille des Brassicacées, dans le but d'identifier les métabolites secondaires de la plante de *Moricandia arvensis* (L.) DC.

Les résultats de l'étude phytochimique ont montré que la plante contenait des métabolites secondaires, dont des flavonoïdes. Les résultats précédents de séparation de quatre flavonoïdes ont été analysés basés sur la spectroscopie UV et RMN¹H et RMN¹³C [17].

Hesperétine, Salvigénine, Hispiduline, 3'-O-méthylpratensine.

Compte tenu des essais de l'activité antioxydante des extraits organiques, on conclut qu'il y a une variation dans la quantification totale des phénols et des flavonoïdes d'un extrait à l'autre. Quant à l'activité antioxydante, les résultats

ont montré que l'extrait méthanolique et de l'acétate d'éthyle ont une forte inhibition radicalaire de DPPH[·] [18,19]. Quant à l'extrait chloroformique, il a montré une forte inhibition de radical ABTS^{·+} par rapport à d'autres extraits organiques [18].

Mots clés: *Moricandia arvensis* (L.) DC, flavonoïdes, activité antioxydante, quantification totale des

Abstract :

This work is part of the research program on Algerian medicinal plants of the genus *Moricandia* of the Brassicaceae family, with the aim of identifying the secondary metabolites of the *Moricandia arvensis* (L.) DC plant.

The results of the phytochemical study showed that the plant contained secondary metabolites, including flavonoids. The above results of separation of four flavonoids were analyzed based on the results of UV and RMN¹H and RMN¹³C spectroscopy [17].

Hesperetin, Salvigenin, Hispidulin, 3'-O-methylpratensine.

Based on testing of the antioxidant activity of organic extracts, it is concluded that there is variation in the total quantification of phenols and flavonoids from one extract to another, the results showed that methanolic extract and ethyl acetate have strong radical inhibition of DPPH[·] [18,19]. As for the chloroform extract, it showed a strong ABTS^{·+} radical inhibition compared to other organic extracts [18].

Key words: *Moricandia arvensis* (L.) DC, flavonoids, antioxidant activity, total quantification of phenols and flavonoids

