

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

قسم الكيمياء

كلية العلوم الدقيقة

رقم الترتيب: .....

رقم التسلسل: .....

رسالة

مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم  
تخصص كيمياء عضوية  
شعبة كيمياء النبات  
تحت عنوان:

تحديد مركبات الأيض الثانوي والدراسة البيولوجية لنباتات عطرية  
من جنسي  
*Salvia* و *Stachys*

تحت إشراف الأستاذ : كعبوش أحمد

تقديم الطالب : لكحل هشام

أعضاء لجنة المناقشة:

رئيسة	أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة 1	د. كعبوش زهية
مقرر	أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة 1	د. كعبوش أحمد
ممتحن	أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة 1	د. عكال صالح
ممتحن	أستاذ بجامعة عنابة	د. عوف نور الدين
ممتحن	أستاذ بجامعة أم البواقي	د. غراف نور الدين
ممتحن	أستاذ بجامعة أم البواقي	د. زلاقي عمار

# الإهداء

إلى من كان خلقه القرآن ، سيدي وحبيبي وقرّة عيني ،

"رسول الله محمد صالح الله عليه وسلم"

إلى اللذين أخذنا بيدي ووفرا لي سبيل التعلم وكانا لي الوجه الطافع حبا

وحنانا،

"والداه الكرّيمين"

إلى من تقر بها عيني

"زوجتي"

إلى من تتلمذت علي أياضهم، وإلى من أمروني بنصائحهم، وتوجيهاتهم،

"أساتذتي"

إلى من كانوا لي حشدا لهمتي كلما رأوا ضجرا أو توان مني في بحثي ،

"إخوتي"

إلى كل أفراد مفعتي دون إستثناء ،

إلى كل هؤلاء أهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع .

# تشكرات

أحمد لله الذي علم بالقلم، علم الإنسان ما لم يعلم، و الصلاة و السلام على معلم البشر، و على أله و صحبه أجمعين.

أولا و قبل كل شيء أتقدم بأسمى عبارات الشكر و الإمتنان و التقدير إلى من يعجز لساني عن إيجاد العبارات المناسبة لشكره، إلى من سدر خطاي و أثار طريقي، إلى واهبي الحياة، إلى ربي، رب العزة جلّ جلاله.

و أتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ العالي كعبوش أحمد، الذي لم يبخل علي بتوجيهاته و نصائحه القيمة و الثمينة طوال مراحل إنجازنا لهذا العمل.

كما أتوجه بجزيل الشكر إلى الأستاذة الغالية كعبوش زهيت التي كان لها الفضل في توفير كل الإمكانيات التي نحتاجها في بحثنا هذا.

و أتقدم بكل معاني الشكر و الإحترام إلى الأستاذة *laurence voutquenne* و الأستاذ عبد المجيد على ما بذلاه من مجهودات أثناء فترة تربي بصي بمختبر Pharmacognosie مدينته (France) Reims

كذلك أتوجه بشكري إلى الأساتذة الكرام عكال صالح، عوف نور الدين، زلاقي عمار و غراف نور الدين على قبولهما المشاركة في بحثنا المناقشت.

كما أتوجه بالشكر الخاص إلى الأستاذ كعبوش كمال الذي لم يبخل علينا بجهد الكبير الذي يتمثل في جلب النباتات المراد دراستها رغم صعوبتها جراه الله عنا كل خير.

كما أتقدم بالشكر الكالص إلى جميع أفراد مختبر L.O.S.T على ما قدموه لي من نصائح و مساعدات، خاصة نعيمة، فيروز، أسيا، نجوى، طارق، عباس، هشام دون أن أنسى الذين

أعتبرهم بمثابة اخوتي و اخواتي الاعزاء أفراد رفعتي و أتمنى لهم جميعا كل التوفيق و النجاح.

كما لا أنسى كل من ساعدني من قريب أو بعيد.

## الفهرس

1..... مقدمة

4..... المراجع

### الجزء الأول: الدراسة البيبلوغرافية

#### الفصل الأول: عموميات حول التربينات و الفلافونويدات

##### أولاً: التربينات

5..... I - تعريف

6..... II - تصنيف التربينات

##### III - التربينات الثلاثية

9..... 1- تعريف

9..... 2- أهمية التربينات الثلاثية

9..... 3- الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية

12..... 4- أنواع الهياكل الرئيسية للتربينات الثلاثية

##### ثانياً: الفلافونويدات

15..... I- تعريف

16..... II- خواص والفعالية البيولوجية للفلافونويدات

17..... III- الإصطناع الحيوي للفلافونويدات

19..... IV- أقسام الفلافونويدات

22..... المراجع

#### الفصل الثاني: دراسة بيبلوغرافية حول جنس *Salvia*

23..... 1- توزيع التربينات الثلاثية عند الجنس *Salvia*

34..... 2- توزيع البولي فينولات عند الجنس *Salvia*

48..... المراجع

## الفهرس

### الفصل الثالث: دراسة الزيوت الأساسية

1. مدخل..... 54
2. مكونات الزيوت الأساسية..... 54
3. طرق إستخلاص الزيوت الأساسية..... 57
4. طرق تحديد مكونات الزيوت الأساسية..... 58
- المراجع..... 59

### الفصل الرابع : عموميات على الفعالية المضادة للجذور الحرة و البكتيرية

#### I- الفعالية المضادة للجذور الحرة

1. مقدمة..... 61
2. الجذور الحرة..... 61
3. النظام المضاد للجذور الحرة..... 62
4. الفلافونيدات و الفعالية المضادة للجذور الحرة..... 62
5. الإختبارات المستعملة لتحديد الفعالية المضادة للجذور الحرة..... 63

#### II- الفعالية المضادة للبكتيريا

1. مقدمة..... 64
2. خصائص و مميزات السلالات البكتيرية المدروسة..... 64
3. التركيز الأدنى المثبط (CMI)..... 66
- المراجع..... 67

### الفصل الخامس: الوصف النباتي

#### I- الوصف النباتي لنبتة *Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab.

1. المادة النباتية..... 69
2. وصف النبتة..... 69
3. التصنيف النظامي..... 70

#### II- الوصف النباتي لنبتة *Salvia officinalis* L.

1. المادة النباتية..... 70
2. وصف النبتة..... 71
3. التصنيف النظامي..... 72

## الفهرس

### III- الوصف النباتي لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.

1. المادة النباتية ..... 72  
2. وصف النبتة ..... 73  
3. التصنيف النظامي ..... 74  
المراجع ..... 75

### الجزء الثاني: الأعمال المنجزة على النباتات المختارة

#### I- الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab.

1. الإستخلاص ..... 76  
2. الفصل وَ التنقية  
1. دراسة مستخلص الـ Exsudat ..... 79  
2. مستخلص البوتانولي BuOH ..... 84

#### II- الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.

1. الإستخلاص ..... 87  
2. التحليل الكروماتوغرافي بواسطة جهاز الـ HPLC ..... 89

#### III- دراسة مكونات الزيت الأساسي لنبتة *Salvia officinalis* L.

1. الإستخلاص ..... 90  
2. التحليل باستعمال جهاز كروماتوغرافيا الطور الغازي (تقنية GC و GC/MS) ..... 90

#### IV- طريقة تقدير الفعالية البيولوجية

1. تقدير الفعالية المضادة للجذور الحرة  
1.1 طريقة DPPH ..... 91  
1.2 طريقة  $\beta$ -carotene ..... 92  
2. تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا ..... 93  
المراجع ..... 97

## الفهرس

### الجزء الثالث: مناقشة النتائج

#### الفصل الأول: التعيين البنوي للمركبات المعزولة

<b>I- التعيين البنوي لمركبات <i>Salvia argentea</i> var. <i>aurasiaca</i> (Pomel) Batt. et Trab.</b>	
98.....	E <sub>1</sub> التعيين البنوي للمركب
101.....	E <sub>2</sub> التعيين البنوي للمركب
113.....	E <sub>3</sub> التعيين البنوي للمركب
117.....	E <sub>4</sub> التعيين البنوي للمركب
121.....	E <sub>5</sub> التعيين البنوي للمركب
127.....	E <sub>6</sub> التعيين البنوي للمركب
133.....	E <sub>7</sub> التعيين البنوي للمركب
139.....	E <sub>8</sub> التعيين البنوي للمركب
144.....	E <sub>9</sub> التعيين البنوي للمركب
150.....	E <sub>10</sub> التعيين البنوي للمركب
157.....	E <sub>11</sub> التعيين البنوي للمركب
161.....	E <sub>12</sub> التعيين البنوي للمركب
168.....	E <sub>13</sub> التعيين البنوي للمركب
172.....	B <sub>1</sub> التعيين البنوي للمركب
181.....	B <sub>2</sub> التعيين البنوي للمركب
188.....	B <sub>3</sub> التعيين البنوي للمركب
195.....	B <sub>4</sub> التعيين البنوي للمركب
203.....	B <sub>5</sub> التعيين البنوي للمركب
212.....	B <sub>6</sub> التعيين البنوي للمركب
<b>II- التعيين البنوي لمركبات نبتة <i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq.</b>	
221.....	1. التعيين البنوي للمركب H <sub>1</sub>

## الفهرس

222 ..... 2. التعيين البنيوي للمركب H<sub>2</sub>

224..... III- التركيب الكيمائي للزيت الأساسي لنبته *Salvia officinalis* L.

226..... المراجع

### الفصل الثاني: تقدير الفعالية البيولوجية

1. تقدير الفعالية المضادة للجذور الحرة لمستخلص البوتانولي لنبته *Stachys ocymastrum* Briq.  
228.....(L.)

230..... 2. تقدير الفعالية المضادة للجذور الحرة للزيت الأساسي لنبته *Salvia officinalis* L.

231..... 3. تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي لنبته *Salvia officinalis* L.

233..... المراجع

234..... الخاتمة



## فهرس الأشكال

الصفحة	العنوان
<b>الجزء الأول: الدراسة البيولوجرافية</b>	
<b>الفصل الأول: عموميات حول التربينات و الفلافونويدات</b>	
06	شكل -1- : نسب تواجد مختلف مركبات الأيض الثانوي في الطبيعة
06	شكل-2-: مكونات الهيكل التربييني من وحدات الأيزوبرين
06	شكل رقم -3- : مخطط الإصطناع الحيوي لمختلف التربينات إنطلاقا من وحدة الإيزوبرين
08	شكل رقم -4- : البنى الكيميائية لبعض أصناف التربينات
10	شكل رقم -5-: الإصطناع الحيوي للسكوالين
11	شكل رقم -6-: حلقة 2,3-epoxysqualene
12	شكل رقم -7-: الإصطناع الحيوي لبعض هياكل التربينات الثلاثية رباعية و خماسية الحلقات إنطلاقا من 2,3-epoxysqualene
13	شكل -8-: بعض هياكل التربينات الثلاثية رباعية الحلقة
14	شكل -9-: بعض هياكل التربينات الثلاثية خماسية الحلقة
18	شكل رقم-10-: مخطط الإصطناع الحيوي للفلافونويدات
19	شكل رقم -11-: بعض الهياكل الفلافونيدات
20	شكل رقم -12-: بعض هياكل الفلافونيدات
21	شكل رقم -13-: بعض هياكل أخرى للفلافونيدات
<b>الفصل الثالث: دراسة الزيوت الأساسية</b>	
56	شكل -14- : بعض الصيغ الكيميائية للتربينات الأحادية و السيسكويتربينات
<b>الفصل الرابع : عموميات على الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيرية</b>	
63	شكل -15-: الصيغة الجذرية لـ DPPH و تفاعله مع الفينول
<b>الجزء الثاني: الأعمال المنجزة على النباتات المختارة</b>	
80	شكل رقم -16- : إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للكسور المتحصل عليها بطريقة الـ VLC بعد رشها بـ $H_2SO_4$ (50%)
82	شكل رقم -17- : إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لحصيلة جمع الكسور لعملية الفصل تحت الكسر $F_{14-23}$ بعد رشها بـ $H_2SO_4$ (50%)
85	شكل رقم -18- : إختبار الطبقة الرقيقة لحصيلة جمع الكسور لعملية الفصل للمستخلص البيوتانولي بعد رشها بـ $H_2SO_4$ (50%)
<b>الجزء الثالث: مناقشة النتائج</b>	
<b>الفصل الأول: التعيين البنوي للمركبات المعزولة</b>	
100	شكل رقم-19-: طيف الـ $^1H$ RMN للمركب $E_1$
100	شكل رقم-20-: طيف الـ $^{13}C$ RMN $J$ -modulé للمركب $E_1$
101	شكل رقم -21-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب $E_2$
108	شكل رقم-22-: طيف الـ $^1H$ RMN للمركب $E_2$

## فهرس الأشكال

108	شكل رقم-23- : طيف $J$ -modulé $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $\text{E}_2$
109	شكل رقم-24- : طيف الـ HSQC للمركب $\text{E}_2$
110	شكل رقم -25- : طيف الـ HMBC للهيكال التربين الثالثي للمركب $\text{E}_2$
111	شكل رقم-26- : طيف الـ COSY للمركب $\text{E}_2$
112	شكل رقم-27- : طيف الـ NOESY للمركب $\text{E}_2$
102	شكل رقم -28- : مختلف تعالقات $^2J_{\text{H-C}}$ و $^3J_{\text{H-C}}$ لبروتونات H-23 و H-24 لهيكال المركب $\text{E}_2$
103	شكل رقم -29- : مختلف تعالقات $^2J_{\text{H-C}}$ و $^3J_{\text{H-C}}$ لبروتونات H-25 لهيكال المركب $\text{E}_2$
103	شكل رقم -30- : مختلف تعالقات JH-C2 و JH-C3 لبروتونات H-26 و H-27 لهيكال المركب $\text{E}_2$
105	شكل رقم-31- : تعالقات الـ COSY للحلقة D للمركب $\text{E}_2$
105	شكل رقم -32- : مختلف تعالقات JH-C2 و JH-C3 لبروتونات H-28 و H-29 و H-30 لهيكال المركب $\text{E}_2$
106	شكل رقم -33- : تعالقات الـ COSY و الـ HMBC للحلقة C للمركب $\text{E}_2$
106	شكل رقم -34- : تعالقات الـ NOESY للمركب $\text{E}_2$
113	شكل رقم -35- : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب $\text{E}_3$
115	شكل رقم-36- : طيف $^1\text{H}$ RMN للمركب $\text{E}_3$
115	شكل رقم-37- : طيف $J$ -modulé $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $\text{E}_3$
116	شكل رقم -38- : طيف HMBC في المجال 1.25-0.65 ppm للمركب $\text{E}_3$
117	شكل رقم -39- : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب $\text{E}_4$
119	شكل رقم-40- : طيف الـ $^1\text{H}$ للمركب $\text{E}_4$
119	شكل رقم-41- : طيف $J$ -modulé $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $\text{E}_4$
120	شكل رقم -42- : طيف الـ HMBC في المجال 2.1-0.7 ppm للمركب $\text{E}_4$
121	شكل رقم -43- : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب $\text{E}_5$
123	شكل رقم-44- : طيف $^1\text{H}$ RMN للمركب $\text{E}_5$
124	شكل رقم-45- : طيف $J$ -modulé $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $\text{E}_5$
125	شكل رقم -46- : طيف HMBC في المجال 2.2-0.7 ppm للمركب $\text{E}_5$
126	شكل رقم-47- : طيف الـ NOESY للمركب $\text{E}_5$
127	شكل رقم -48- : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب $\text{E}_6$
129	شكل رقم-49- : طيف $^1\text{H}$ RMN للمركب $\text{E}_6$
129	شكل رقم-50- : طيف $J$ -modulé $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $\text{E}_6$
130	شكل رقم -51 <sub>a</sub> - : طيف HMBC في المجال 1.15-0.77 ppm للمركب $\text{E}_6$
131	شكل رقم -51 <sub>b</sub> - : طيف HMBC في المجال 9.6-8.9 ppm للمركب $\text{E}_6$
132	شكل رقم-52- : الـ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY للمركب $\text{E}_6$
132	شكل رقم-53- : طيف الـ NOESY للمركب $\text{E}_6$
133	شكل رقم -54- : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب $\text{E}_7$
135	شكل رقم-55- : طيف $^1\text{H}$ RMN للمركب $\text{E}_7$
135	شكل رقم-56- : طيف $J$ -modulé $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $\text{E}_7$
136	شكل رقم -57 <sub>a</sub> - : طيف HMBC في المجال 1.25-0.75 ppm للمركب $\text{E}_7$

## فهرس الأشكال

137	شكل رقم -57 <sub>b</sub> : طيف HMBC في المجال 5.4-3.2 ppm للمركب E <sub>7</sub>
138	شكل رقم-58 : طيف الـ NOESY للمركب E <sub>7</sub>
139	شكل رقم -59 : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E <sub>8</sub>
141	شكل رقم-60 : طيف RMN <sup>1</sup> H للمركب E <sub>8</sub>
141	شكل رقم-61 : طيف RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé للمركب E <sub>8</sub>
142	شكل رقم -62 : طيف HMBC في المجال 1.25-0.80 ppm للمركب E <sub>8</sub>
143	شكل رقم-63 : طيف الـ NOESY للمركب E <sub>8</sub>
144	شكل رقم -64 : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E <sub>9</sub>
147	شكل رقم-65 : طيف RMN <sup>1</sup> H للمركب E <sub>9</sub>
147	شكل رقم-66 : طيف RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé للمركب E <sub>9</sub>
148	شكل رقم -67 : طيف HMBC في المجال 1.15-0.70 ppm للمركب E <sub>9</sub>
149	شكل رقم-68 : طيف الـ NOESY للمركب E <sub>9</sub>
150	شكل رقم -69 : طيف الكتلة عالي الدقة بتقنية HRESIMS للمركب E <sub>10</sub>
153	شكل رقم-70 : طيف RMN <sup>1</sup> H للمركب E <sub>10</sub>
153	شكل رقم-71 : طيف RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé للمركب E <sub>10</sub>
154	شكل رقم -72 <sub>a</sub> : طيف HMBC في المجال 1.20-0.78 ppm للمركب E <sub>10</sub>
155	شكل رقم -72 <sub>b</sub> : طيف HMBC في المجال 5.4-3 ppm للمركب E <sub>10</sub>
156	شكل رقم-73 : طيف الـ NOESY للمركب E <sub>10</sub>
157	شكل رقم -74 : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E <sub>11</sub>
159	شكل رقم-75 : طيف الـ RMN <sup>1</sup> H للمركب E <sub>11</sub>
159	شكل رقم-76 : طيف RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé للمركب E <sub>11</sub>
160	شكل رقم -77 : طيف HMBC في المجال 4.3-0.80 ppm للمركب E <sub>11</sub>
161	شكل رقم -78 : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E <sub>12</sub>
164	شكل رقم-79 : طيف RMN <sup>1</sup> H للمركب E <sub>12</sub>
164	شكل رقم-80 : طيف RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé للمركب E <sub>12</sub>
165	شكل رقم-81 : طيف الـ COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H للمركب E <sub>12</sub>
166	شكل رقم -82 : طيف HMBC في المجال 5.2-0.66 ppm للمركب E <sub>12</sub>
166	شكل رقم-83 <sub>a</sub> : طيف الـ NOESY للمركب E <sub>12</sub>
167	شكل رقم-83 <sub>b</sub> : طيف الـ NOESY للمركب E <sub>12</sub>
168	شكل رقم -84 : طيف الكتلة للمركب E <sub>13</sub>
170	شكل رقم-85 : طيف البروتون <sup>1</sup> H للمركب E <sub>13</sub>
170	شكل رقم-86 : طيف RMN <sup>13</sup> C <i>J</i> -modulé للمركب E <sub>13</sub>
171	شكل رقم -87 : شكل يبين مختلف تعالقات الـ HMBC للمركب E <sub>13</sub>
172	شكل رقم رقم-88 : طيف الكتلة HRESIMS للمركب B <sub>1</sub>
173	شكل رقم -89 : طيف الـ <sup>13</sup> C بتقنية <i>J</i> <sub>mod</sub> للمركب B <sub>1</sub>

## فهرس الأشكال

175	شكل رقم 90- : طيف الـ $^1\text{H}$ RMN للمركب $B_1$
174	شكل رقم 91- : حلقة الفينيل ثلاثية الإستبدال
176	شكل رقم 92- : طيف الـ COSY للمركب $B_1$
176	شكل رقم 93- : تعالقات الـ COSY للمركب $B_1$
177	شكل رقم 94- : طيف الـ HSQC للمركب $B_1$
179	شكل رقم 95- : طيف الـ HMBC للمركب $B_1$
178	شكل رقم 96- : تعالقات الـ HMBC لـ H-3 في البنية الأولية للمركب $B_1$
181	شكل رقم 97- : طيف الكتلة بطريقة الإلكتروسبراي الموجبة للمركب $B_2$
182	شكل رقم 98- : طيف البروتون $^1\text{H}$ RMN للمركب $B_2$
184	شكل رقم 99- : طيف الـ HSQC للمركب $B_2$
185	شكل رقم 100- : طيف الـ $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $B_2$
186	شكل رقم 101- : طيف الـ HMBC للمركب $B_2$
188	شكل رقم رقم 102- : طيف الكتلة HRESIMS للمركب $B_3$
189	شكل رقم 103- : طيف الـ $^1\text{H}$ RMN للمركب $B_3$
190	شكل رقم 104- : طيف الـ COSY للمركب $B_3$
189	شكل رقم 105- : شكل يبين مواضع الإستبدال للحلقتين (A) و (B)
191	شكل رقم 106- : طيف الـ $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $B_3$
192	شكل رقم 107- : طيف الـ HMBC للمركب $B_3$
193	شكل رقم 108- : جزء من المركب مكون من ثلاثة كربونات أوكسجينية
193	شكل رقم 109- : طيف الـ HSQC للمركب $B_3$
194	شكل رقم 110- : تعالقات الـ HMBC للمركب $B_3$
195	شكل رقم رقم 111- : طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب $B_4$
196	شكل رقم 112- : طيف الـ $^1\text{H}$ RMN للمركب $B_4$
197	شكل رقم 113- : طيف الـ HSQC للمركب $B_4$
198	شكل رقم 114- : طيف الكربون الـ $^{13}\text{C}$ للمركب $B_4$
198	شكل رقم 115- : طيف الـ HMBC للمركب $B_4$
200	شكل رقم 116- : طيف الـ ROESY للمركب $B_4$
201	شكل رقم 117- : طيف الـ HMBC للمركب $B_4$
202	شكل رقم 118- : طيف الـ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY للمركب $B_4$
203	شكل رقم 119- : طيف الكتلة عالية الدقة بتقنية HRESIMS للمركب $B_5$
205	شكل رقم 120- : طيف البروتون $^1\text{H}$ للمركب $B_5$
204	شكل رقم 121- : حمض الـ (E)-caféique (المركب A) و hydroxytyrosol (المركب B)
207	شكل رقم 122- : طيف الـ COSY للمركب $B_5$
208	شكل رقم 123- : طيف الـ HMBC للمركب $B_5$
209	شكل رقم 124- : طيف الـ $^{13}\text{C}$ RMN للمركب $B_5$

## فهرس الأشكال

209	شكل رقم-125:- طيف الـ HSQC للمركب B <sub>5</sub>
212	شكل رقم -126:- طيف الكتلة HRESIMS للمركب B <sub>6</sub>
213	شكل رقم-127:- طيف الـ <sup>1</sup> H RMN للمركب B <sub>6</sub>
214	شكل رقم-128:- طيف الـ COSY للمركب B <sub>6</sub>
213	شكل رقم -129:- الجزء الأول للمركب B <sub>6</sub>
215	شكل رقم -130:- الجزء الثاني للمركب B <sub>6</sub>
215	شكل رقم -131:- الجزء الثالث للمركب B <sub>6</sub>
217	شكل رقم-132:- طيف الـ HSQC للمركب B <sub>6</sub>
216	شكل رقم -133:- الجزء الرابع للمركب B <sub>6</sub>
218	شكل رقم-134:- طيف الـ HMBC للمركب B <sub>6</sub>
219	شكل رقم-135:- طيف الـ <sup>13</sup> C RMN للمركب B <sub>6</sub>
220	شكل رقم -136:- كروماتوغرام المستخلص البوتانولي لنبته <i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq.
221	شكل رقم -137:- مقارنة كروماتوغرام المستخلص البوتانولي لنبته <i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq. مع الشاهد lutéoline-7-O-β-D-glucoside
222	شكل رقم -138:- مقارنة كروماتوغرام المستخلص البوتانولي لنبته <i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq. مع الشاهد apigénine-7- O-β-D-glucoside

## فهرس الجداول

الصفحة	العنوان
<b>الجزء الأول: الدراسة البيبليوغرافية</b>	
<b>الفصل الأول: عموميات حول التربيينات و الفلافونويدات</b>	
07	جدول رقم -1- : أقسام التربيينات
<b>الفصل الثاني: دراسة بيبليوغرافية حول جنس <i>Salvia</i></b>	
23	جدول رقم -2- : توزيع التربيينات الثلاثية عند جنس <i>Salvia</i>
34	جدول رقم -3- : توزيع البولي فينولات و مركبات أخرى عند جنس <i>Salvia</i>
<b>الجزء الثاني: الأعمال المنجزة على النباتات المختارة</b>	
80	جدول رقم -4- : نسب الـ MeOH و الـ H <sub>2</sub> O في عملية تمليص الكسور المجموعة F <sub>14-23</sub> لمستخلص الـ Exsudat
81	جدول رقم -5- : حصيلة جمع الكسور لعملية فصل لتحت الكسر F <sub>14-23</sub>
84	جدول رقم -6- : نسب الـ MeOH و الـ Toluène في عملية تمليص المستخلص البيوتانولي
85	جدول رقم -7- : حصيلة جمع كسور عملية الفصل للمستخلص البيوتانولي
89	جدول رقم-8- : برنامج الفصل للمستخلص البيوتانولي بواسطة جهاز الـ HPLC
<b>الجزء الثالث: مناقشة النتائج</b>	
<b>الفصل الأول: التعيين البنوي للمركبات المعزولة</b>	
99	جدول رقم -9- : الإزاحات الكيميائية للمركب E <sub>1</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CD <sub>3</sub> OD

فهرس الجداول

107	جدول رقم -10- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>2</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CDCl <sub>3</sub>
114	جدول رقم -11- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>3</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ MeOD
118	جدول رقم -12- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>4</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CDCl <sub>3</sub>
122	جدول رقم -13- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>5</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CD <sub>3</sub> OD
128	جدول رقم -14- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>6</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CDCl <sub>3</sub>
134	جدول رقم -15- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>7</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CDCl <sub>3</sub>
140	جدول رقم -16- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>8</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CDCl <sub>3</sub>
146	جدول رقم -17- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>9</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CDCl <sub>3</sub>
152	جدول رقم -18- : الإزاحات الكميائية للمركب E <sub>10</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CDCl <sub>3</sub>

فهرس الجداول

158	جدول رقم -19- : الإزاحات الكيميائية للمركب E <sub>11</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CD <sub>3</sub> OD
163	جدول رقم -20- : الإزاحات الكيميائية للمركب E <sub>12</sub> في تجارب RMN <sup>1</sup> H ( 500 MHz, δ <sub>H</sub> , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, δ <sub>C</sub> ) في الـ CD <sub>3</sub> OD
169	جدول رقم -21- : الإزاحات الكيميائية للمركب E <sub>13</sub> (500 MHz, δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ CDCl <sub>3</sub>
172	جدول -22- : الخصائص الكروماتوغرافية للمركب B <sub>1</sub>
180	جدول رقم -23- : الإزاحات الكيميائية للمركب B <sub>1</sub> (500 MHz, δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ DMSO
181	جدول رقم -24- : الخصائص الكروماتوغرافية للمركب B <sub>2</sub>
183	جدول رقم -24- : الإزاحات الكيميائية للمركب B <sub>2</sub> (500 MHz, δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ DMSO
192	جدول رقم -25- : الإزاحات الكيميائية للمركب B <sub>3</sub> (500 MHz, δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ CD <sub>3</sub> OD
200	جدول رقم -26- : الإزاحات الكيميائية للمركب B <sub>4</sub> (500 MHz, δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ CD <sub>3</sub> OD
210	جدول رقم -27- : الإزاحات الكيميائية للمركب B <sub>5</sub> (500 MHz, δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ CD <sub>3</sub> OD



فهرس الجداول

220	جدول رقم -28- : الإزاحات الكيمائية للمركب B <sub>6</sub> (500 MHz, $\delta$ , $J$ en Hz ; 125 MHz, $\delta$ ) في الـ CD <sub>3</sub> OD
224	جدول -29- : مكونات الزيت الأساسي للنبتة <i>Salvia officinalis</i> L.
226	جدول-30- : نسبة الإرجاع للمستخلص البوتانولي للنبتة ( <i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq بدلالة مختلف تراكيز المستخلص DPPH لجذر
228	جدول رقم -31- : قدرة تأثير الأسر لجذر DPPH لبعض مستخلصات النباتية المنتمية لجنس <i>Stachys</i>
229	جدول رقم -32- : الفعالية المضادة للأكسدة لزيوت أساسية لبعض نباتات جنس <i>Salvia</i> حسب طريقة $\beta$ -carotene Bleaching method
230	جدول رقم-33- : الفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي للنبتة <i>Salvia officinalis</i> L. ( أفطار مناطق التنشيط قيم الـ CMI )

## فهرس المخططات

الصفحة	العنوان
<b>الجزء الثاني: الأعمال المنجزة على النباتات المختارة</b>	
76	مخطط -1- : مخطط إستخلاص نبتة <i>Salvia argentea</i> var. <i>aurasiaca</i> (Pomel) Batt. et Trab. بعد تجفيفها
78	مخطط رقم -2- : مخطط إستخلاص نبتة <i>Salvia argentea</i> var (Pomel) Batt. et Trab. <i>aurasiaca</i> وهي غضة
79	مخطط رقم -3- : مخطط عملية الفصل الأولية بإستعمال طريقة الـ VLC لنبتة <i>Salvia argentea</i> var. <i>aurasiaca</i> (Pomel) Batt. et Trab.
83	مخطط رقم -4- : خطوات فصل المركبات النقية من الكسر F <sub>14-23</sub>
86	مخطط رقم -5- : خطوات فصل المركبات النقية للمستخلص البيوتانولي
88	مخطط رقم -6- : مخطط إستخلاص نبتة <i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq

## الإختصارات

---

<b>AcAc</b>	Acétylacetone
<b>AcOEt</b>	Acétate d' éthyle
<b>MEC</b>	Méthyléthylcétone
<b>AcOH</b>	Acide Acétique
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	chloroforme deutéré
<b>DMSO-d<sub>6</sub></b>	diméthylsulfoxyde deutéré
<b>CC</b>	Chromatographie sur Colonne.
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche Mince
<b>C<sub>18</sub></b>	Silice greffée
<b>VLC</b>	vacuum liquid chromatography
<b><i>d</i></b>	doublet.
<b><i>dd</i></b>	doublet de doublet.
<b><i>dl</i></b>	doublet large
<b>UV</b>	Spectrophotométrie UV-Visible
<b>HRESIMS</b>	High Resolution Electron Spray Ionisation Mass Spectrometry
<b><i>m/z</i></b>	rapport masse/charge électronique
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Resonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
<b><i>Jmod</i></b>	expérience de RMN du <sup>13</sup> C « <i>J</i> -modulée », de type APT
<b>COSY</b>	COrrrelation SpectroscopY
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
<b>HMQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Coherence
<b>ROESY</b>	ROtating Overhauser Effect SpectroscopY
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Cromatography
<b>GC</b>	Gas Chromatography
<b>GC-MS</b>	Gas chromatography coupled to mass spectrometry
<b>Hz</b>	Hertz.
<b><i>J</i></b>	constante de Couplage
<b>ppm</b>	partie par million
<b>IR</b>	Indice de rétention
<b>R<sub>f</sub></b>	Rapport Frontal
<b>Tol</b>	Toluene
<b>DPPH</b>	1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl

<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>SH</b>	Souche hospitalière
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>CCC</b>	all-pre-chair
<b>CBC</b>	pre-chair-boat-chair
<b>PAL</b>	phényalanine ammoniac-lyase
<b>C4H</b>	<i>para</i> -coumarate 4-hydroxylase
<b>4CL</b>	4-coumarate CoA ligase
<b>CHS</b>	chalcone synthase
<b>CHI</b>	chalcone flavanone isomerase
<b>F3H</b>	flavanone hydroxylase
<b>F3'H</b>	flavonoïde-3'-hydroxylase
<b>F3'5'H</b>	flavonoïde-3',5'-hydroxylase
<b>FNS</b>	flavone synthase
<b>DFR</b>	dihydroflavonol-4-reductase
<b>ANS</b>	anthocyanidine synthase
<b>IC<sub>50</sub></b>	La concentration inhibitrice médiane

# مقدمة



عرف الإنسان منذ فجر التاريخ الأعشاب الطبية و فوائدها العلاجية المختلفة، فمن خلال المشاهدة و التجربة و البحث عبر آلاف و مئات السنين ازدادت المعارف عن النباتات الطبية و خصائصها العلاجية إذ انتشر علم التداوي بالأعشاب في العصور الإسلامية، و ظهرت خلال ذلك الزمن الكثير من الكتب و المخطوطات التي تشرح بصورة واضحة أنواع الأعشاب الطبية المختلفة و طرق استخدامها و أنواع الأمراض المختلفة التي تستخدم فيها مثل هذه العقاقير الطبية. يعود الفضل لعلماء عرب مسلمين في تعميق المعارف حول الخصائص العلاجية للنباتات، منهم

- الرازي
- ابن سينا
- ابن البيطار، فهو من شرح المنهج الذي اتبعه في أبحاثه فيقول:

... "ما صحَّ عندي بالمشاهدة والنظر، وثبت لدي بالمخبر لا بالخبر أخذتُ به، وما كان مخالفاً في القوى والكيفية والمشاهدة الحسية والماهية للصواب نبذته ولم أعمل به" ..

و غيرهم من العلماء الأكفاء الذين كانت تدرس كتبهم لعدة قرون في المعاهد العلمية الأوروبية.

فبالرغم من التطور الكبير و تصنيع أعداد هائلة من الأدوية في شتى مجالات العلاج خاصة خلال القرن المنعدم، فإن الحقبة الماضية شهدت عودة إلى استخدام الأعشاب الطبية كوحدة من أهم فروع الطب البديل، و تتنوع طرق استخدام الأعشاب الطبية من استخدام منقوع أو مغلي النبات الكامل إلى استخلاص المواد الفعالة و استخدامها في صور تراكيب صيدلانية مختلفة.

و لإستمرارية هذا النوع من العلوم و تطويره، انصب اهتمامنا على النباتات الطبية التي تتسم معظمها بفعالية بيولوجية عالية و تنتمي إلى العائلة الشفوية.

تتميز الفصيلة الشفوية بنباتاتها العطرة المزودة بخلايا مفرزة عطرية خاصة بالأنواع، و بسوقها الفتية المربعة، و أوراقها المتقابلة المتصالية، و تويجها الثنائي الشفة. نوراتها سنمية، ثنائية الجانب، متفاوتة درجة الانكماش، معظم أزهارها حشرية التأبير. تضم قرابة 220 جنس و 4000 نوع واسعة الانتشار في منطقة حوض البحر المتوسط. من أبرز أجناسها و التي قمنا بدراستها في مخبرنا هي [1، 2]:

- السالفيا *Salvia*: واسعة الانتشار في حوض المتوسط وأمريكا الشمالية. من أكثر الأجناس غنى  
بالأنواع إذ تضم أكثر من 1000 نوع تقريباً. أبرز أنواعها الطبية: المريمية المخزنية *Salvia officinalis*.  
موادها : الأستروجين، الزيوت العطرية، السينول، العفصية،  
المرّة، السالفين. تستعمل مطهّرة لكل أنواع التهابات الحلق الجرثومية والفطرية والفيروسية، وتنشط  
عمليات الهضم، تنقص كمية سكر الدم، وتطرد الديدان، وتخفف الحرارة، وتقطع  
الإسهال، ويعتقد، المريمية منشطة لعمل الهرمون الأنثوي  
«الاستروجين» يبرر استعمالها اليأس، على التكيّف  
مع التغيرات الهرمونية الحاصلة. كما تستعمل الأوراق الجافة في الطبخ لتحسين طعم العديد من  
أنواعها . ن العربي: السالفيا الأفانينية *Salvia fruticosa* المعروفة  
بالمريمية [1 2 3].

*Stachys*: " لعلاجها الجروح القطعية و"بطونيقا" اشتقاقاً من اسمها  
بالإنجليزية (Betony) هي نبات خضري يسمى لدى البعض بنعناع الماء حيث يكثر على طراف  
الأنهار وهو مميز ، طعم النعناع يؤكل طازجا أو يابساً ومطحوناً . كذلك  
يضاف فيضفي عليه نكهة مميزة.

يضم جنس *Stachys* 300 في جميع أنحاء العالم مع في شمال  
والبحر الأبيض المتوسط.

تستخدم بعض هاته الأنواع في الطب الشعبي حيث تستعمل نباتي *Stachys palustris* L.  
*Stachys sylvatica* L. كمطهرة، مضادة للتشنج و معالجة الجروح، كما تستعمل الأجزاء الهوائية  
*Stachys inflata* Benth. في معالجة العدوى، الربو، الروماتيزم و بعض الإلتهابات الأ  
[4 5].

تعود كل هذه الفعاليات كما ذكرنا سابقاً إلى غنى هذه النباتات بالمركبات الطبيعية  
نذكر منها التربينات المركبات المتعددة الفينول الأيض الثانوي و  
الفعالبي البيولوجية محور لإهتمامنا في هذا البحث [6 7 8 9].

قد إنصب إهتمامنا في هذا البحث الشفوية إبتنان منها وهما

*Salvia officinalis* L. *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab  
اللذان تنتميان إلى الجنس *Salvia* و الثالثة كانت كتكملة لدراسة أجريت سابقاً في رسالة الماجستير و هي  
*Stachys* *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.

و قد قمنا بعرض الرسالة في ثلاث أجزاء و هي:

- : قد خصص للدراسة البيولوجرافية حيث قسم إلى  
الأول منها عموميات حول التربينات و الفلافونويدات يليه الفصل الثاني دراسة بيولوجرافية  
الزيوت الأساسية **Salvia**  
عموميات على الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيرية و أخيرا الفصل الخ
  
- : عرض خلاله الأعمال المنجزة على النباتات المختارة من الدراسة الفيتوكيميائية  
لنبنتين **Stachys Salvia argentea var. aursiaca (Pomel) Batt. et Trab**  
**ocymastrum (L.) Briq.** الزيت الأساسي لنبنة **Salvia officinalis**  
L. و أخيرا طريقة تقدير الفعالية البيولوجرافية للنباتات المدروسة .
- : تمّ فيه المتحصل عليها، حيث قسم إلى فصلين، الفصل الأول إحتوى  
على التعيين البنوي للمركبات المعزولة و كذلك التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبنة **Salvia**  
**officinalis L.** ، أمّا الفصل الثاني فكان حول تقدير الفعالية البيولوجرافية



## المراجع

- [1] Fernandez-Alonso, J. L., Vega, N., Filgueira, J. J., Perez, G. Biochem.(2003). Lectin prospecting in Colombian Labiatae. A systematic-ecological approach. Syst. Ecol ; 31, 617.
- [2] García Vallejo, M. C., Moujir, L., Burillo, J., León Guerra, L., González, M., Díaz Peñate, R., San Andrés, L., Gutiérrez Luis, J., López Blanco, F., Ruiz de Galarreta, C. M.(2006). Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Salvia canariensis*. Flavour Frag. J., 21, 72.
- [3] العربية، المجلد الحادي عشر، العلوم البحتة، صفحة رقم 728 2010، سوريا.
- [4] Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C., et al. (2000). PDR for herbal Medicines, 2nd ed. Medical Economics Company, Montvale, NJ, p.832.
- [5] Maleki, N., Garjani, A., Nazemiyah, H., Nilfouroushan, N., Eftekhar Sadat, A.T., Allameh, Z., Hasannia, N. (2001). Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rats. Journal of Ethnopharmacology 75, 213–218.
- [6] Kotsos, M.P ., Aligiannis, N., Mitakou, S., Skaltsounis, A.L., Charvala, C. (2001). Chemistry of plants from Crete: stachyspinoside, a new flavonoid glycoside and iridoids from *Stachys spinosa*. Nat. Prod. Lett. 15, 377–386.
- [7] Basaran, A. A., Calis, I., Anklin, C., Nishibe, S., Sticher, O. (1988). Lavandulifolioside: a new phenylpropanoid glycoside from *Stachys lavandulifolia*. Helv Chimi Acta, 71(6), 1483-90.
- [8] Topcu, G. (2006). Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. J. Nat. Prod., 69, 482–487
- [9] Lu, Y.R., Foo, L.Y. (2002). Polyphenolic constituents of blackcurrant seed residue. Phytochemistry., 59, 117–140.

الجزء الأول

---

الدراسة السيليوغرافية

# الفصل الأول

---

عموميات حول التريينات و الفلافونويدات

## أولاً: التربينات

### I - تعريف

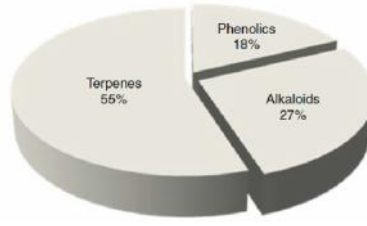
أطلق مصطلح " تربين " للمركبات المعزولة من "التربنتين" (باللاتينية بلسم التربنتين balsamum terebinthinae)، وهو سائل طيار يعزل من أشجار الصنوبر. التربنتين يحتوي على "أحماض الراتنج " وبعض الهيدروكربونات . مصطلح " تيربين " والتي صيغت في الأصل لوصف خليط من ايزوميرات الهيدروكربونات النباتية ذات الصيغة الجزيئية  $C_{10}H_{16}$  التي تحدث في الزيوت الأساسية.

تسمى التربينات أحيانا بالـ **isoprenoids** وهي فئة فرعية من مركبات الـ **prenylipids** (terpenes, prenylquinones, sterols) وهي تمثل أقدم مجموعة من المنتجات الجزيئية الصغيرة التي يتم تصنيعها من قبل النباتات. يمكن وصف التربينويدات بالتربينات المعدلة، حيث يتم استبدال مجموعات الميثيل أو إزالتها، إضافة أو إزالة ذرات الأكسجين (hydrogenated/dehydrogenated) ، أو تعديل الهيكل الكربوني عن طريق الأكسدة أو إعادة الترتيب. وبالتالي فإن كثيرا من المؤلفين يستخدمون مصطلح " تربين " على نطاق أوسع ليشمل بذلك التربينويدات (terpenoids)[1].

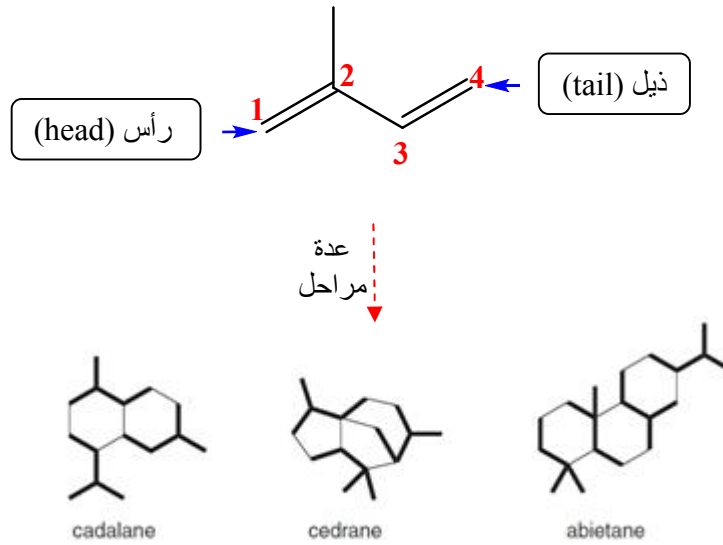
التربينات هي مركبات الأيض الثانوي الأكثر عددا وتنوعا من حيث البناء الهيكلي بين مختلف المنتجات الطبيعية الأخرى [شكل رقم:1]، أكثر من 55000 تربين تمّ عزله و هذا العدد يتضاعف في كل عقد من الزمن[1].

تعتبر وحدة الايزوبرين ( $C_5$ ) الجزيئة الأساسية في تكوين مختلف الهياكل التربينية و التي ترتبط في الغالب، مع بعضها البعض عن طريق موضع الرأس مع موضع الذيل في وحدة أخرى [شكل رقم:2،3] لتشكل بذلك مختلف الهياكل التربينية [2،1].

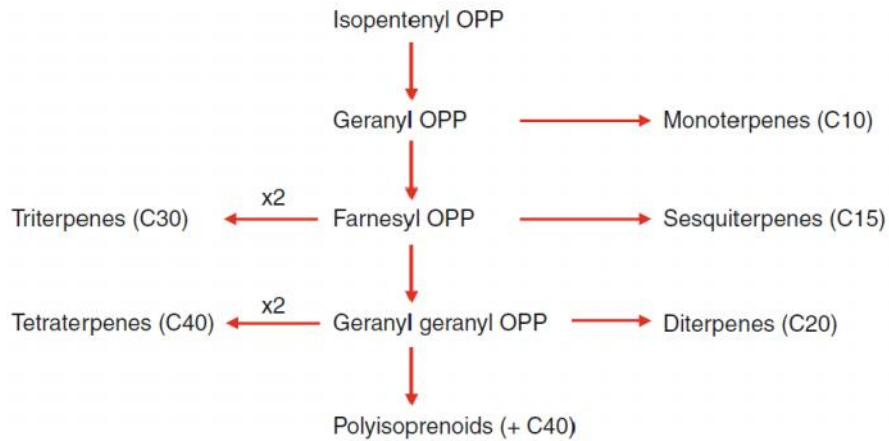
تتميّز العديد من النباتات و الأشجار (شجرة الكينا، الصنوبر، الحمضيات، الفواكه، القرفة، القرنفل، النعناع، الورد، الزنجبيل و الخزامى،.... ) بروائحها العطرة، الطعم الحار، قدرتها العلاجية بسبب وجود المركبات التربينية في الأجزاء المختلفة منها [شكل رقم:4].



شكل -1- : نسب تواجد مختلف مركبات الأيض الثانوي في الطبيعة



شكل-2- : مكونات الهيكل التربينى من وحدات الأيزوبرين



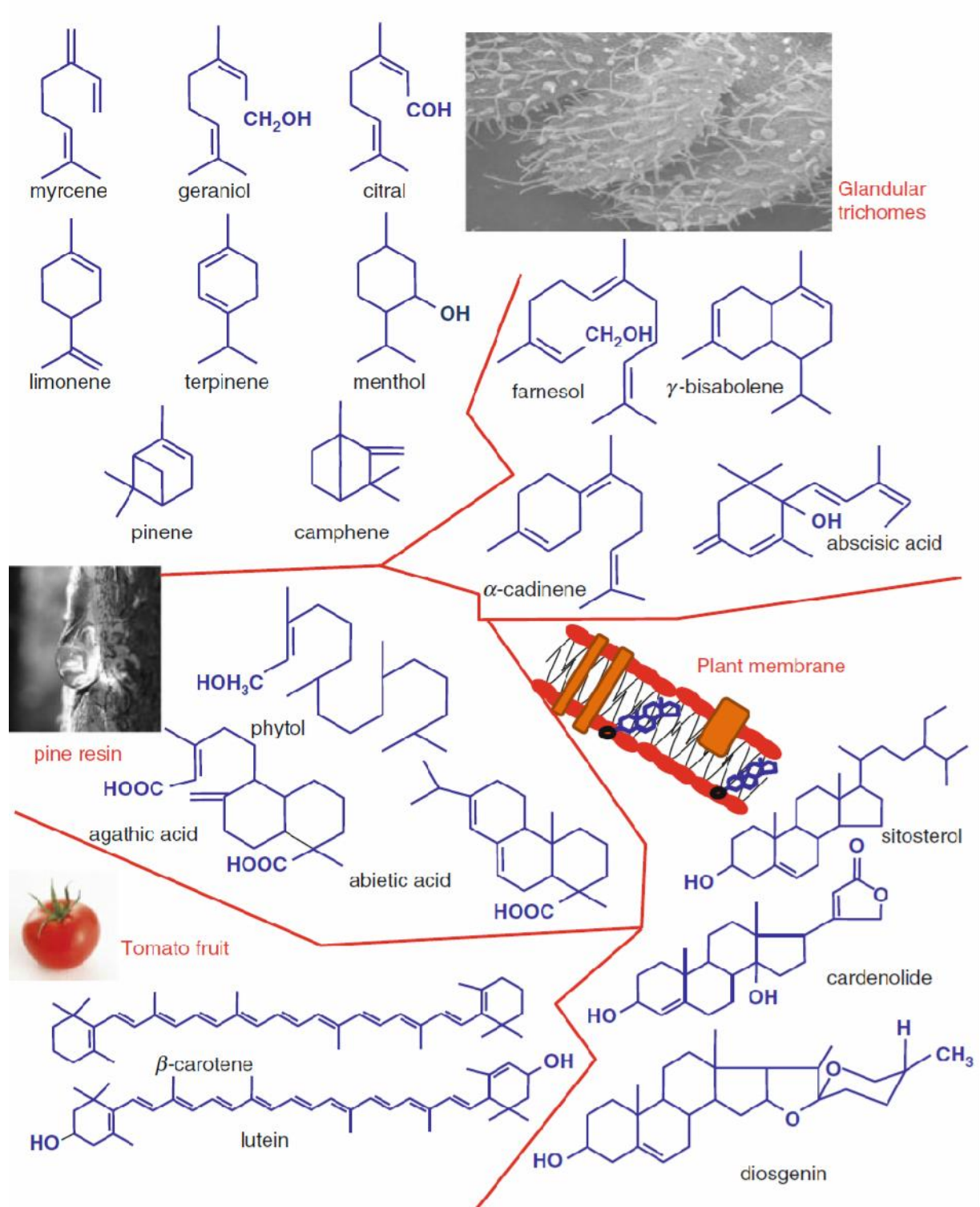
شكل رقم - 3- : مخطط الإصطناع الحيوي لمختلف التربينات إنطلاقاً من وحدة الأيزوبرين

## II- تصنيف التربينات

تصنف التربينات إلى 7 مجموعات و ذلك تبعا لإحتواءها على عدد وحدات الأيزوبرين المتشكلة منها حسب ما يوضحه الجدول رقم - 1 - التالي :

نوع التربين	عدد ذرات الكربون	عدد وحدات الأيزوبرين	مثال
احادية Monoterpenes	10	2	Geraniol Myrcene, Carvone
سيسكو تربيينات Sesquiterpenes	15	3	Farnesol Zinziperene, Cadinene
تربيينات ثنائية Diterpenes	20	4	Phytol, Vitamin A
sesterpenes	25	5	Scalarolide, sesterstatin
تربيينات ثلاثية Triterpenes	30	6	Lanosterol, Bruceantin
تربيينات رباعية Tetraterpenes	40	8	$\beta$ -carotene
Polymeric terpenoids	> 500	> 100	المطاط

جدول رقم - 1 - : أقسام التربيينات



شكل رقم -4: : البنى الكيميائية لبعض أصناف التربينات

### III- التربينات الثلاثية :

#### III-1- تعريف

تعد التربينات الثلاثية الأكثر إنتشارا في الطبيعة ، فهي مركبات صلبة ، بيضاء ، أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية ، و هي مواد فعالة ضوئيا ( متعددة مراكز الكيرالية ) ، موجودة في الطبيعة في صورة حرة أو ايتيروزيدية ، و يدخل في التركيب البنائي لهذه التربينات غالبا أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمس حلقات في بنائها هي الأكثر وفرة في الطبيعة. و يعرف حتى الوقت الحاضر حوالي 40 هيكلًا بنائيا [4].

#### III-2- أهمية التربينات الثلاثية:

إن الأهمية العلاجية و الإستعمال الصناعي للتربينات الثلاثية يجعل منها منتجات الأيض الثانوي ذات أهمية كبرى تبرز فيما يلي :

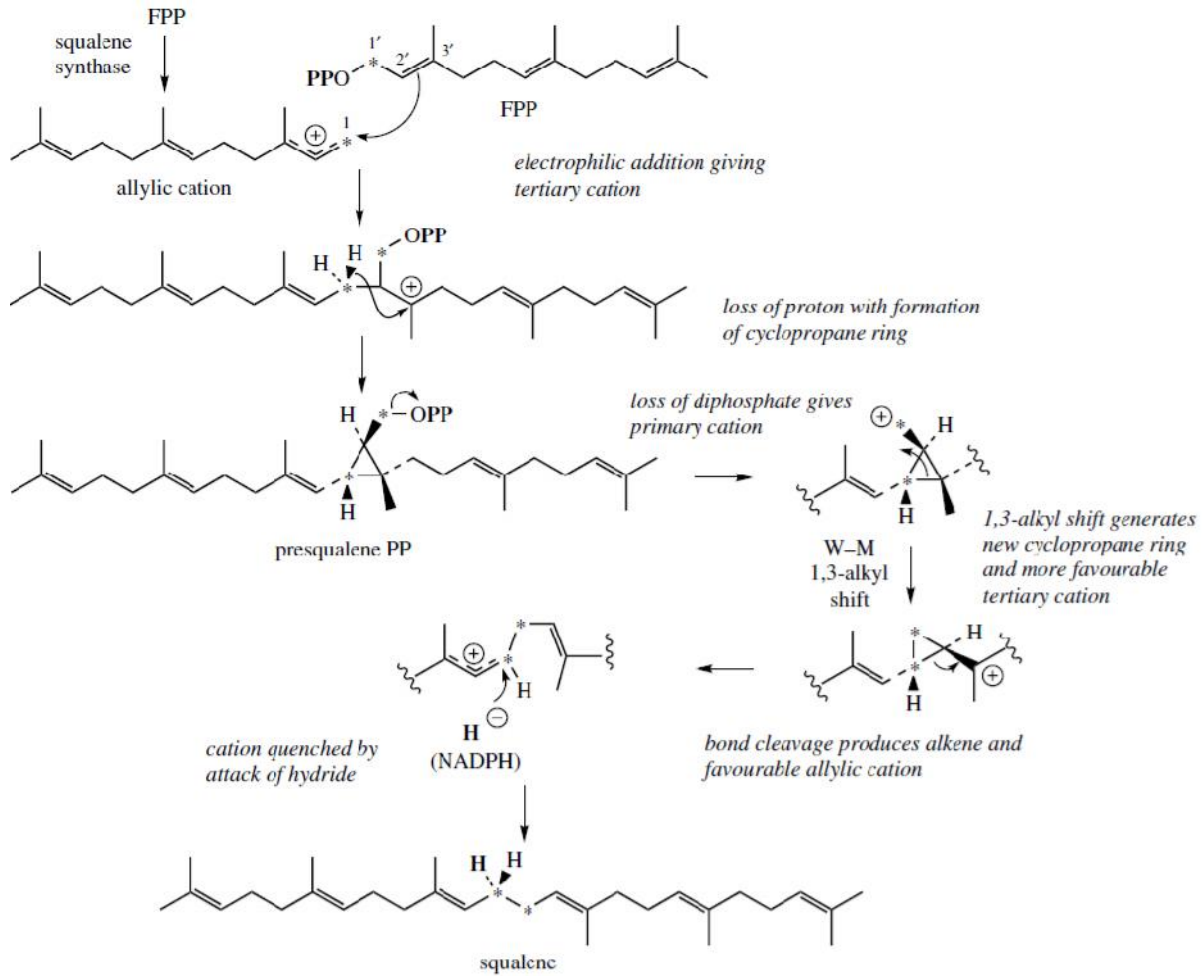
أهمية المقويات القلبية الايتيروزيدية و التي لم يعوضها أي من المنتجات الاصطناعية حتى الآن. كما تمتلك إمكانات علاجية كامنة في مجالات مختلفة مثل : كموقفات للتكاثر الخلوي [6]، مضادات للالتهاب [8] ، مبيدات حشرية ، مبيدات رخوية ، مؤثرات على نمو النبات [4] ، مسكنات للألم [4] ، كما أن للعديد منها فعالية ضد الأورام و كذلك السرطان [9].

و تتميز بعض التربينات الثلاثية بخواصها المذاقية البارزة بالأخص مرارتها الحادة فاللمونين Limonine هو الأساس المر لثمار الحمضيات ينتمي إلى سلاسل التربينات الثلاثية خماسية الحلقة ذات الطعم المر [10].

#### III-3- الاصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية :

يعتبر السكوالين squalene المصدر الأساسي للتربينات الثلاثية ، حيث يتألف منه التركيب البنائي لجميع التربينات الثلاثية. حيث يؤدي ترابط ثلاث وحدات Isopentenyl pyrophosphate (IPP) رأس – ذيل ، إلى تكوين ( Farnesylpyrophosphate ( FPP ، و يحدث لهذا الأخير ( ديمرة ) ذيل – ذيل إلى تكوين مركب السكوالين [شكل رقم:5] [3].



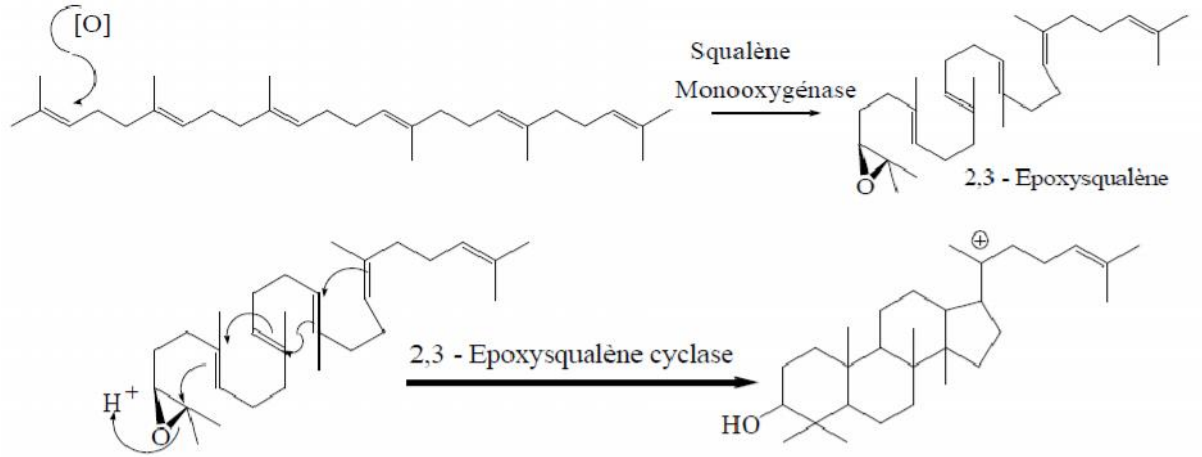


شكل رقم 5-: الإصطناع الحيوي للسكوالين [3]

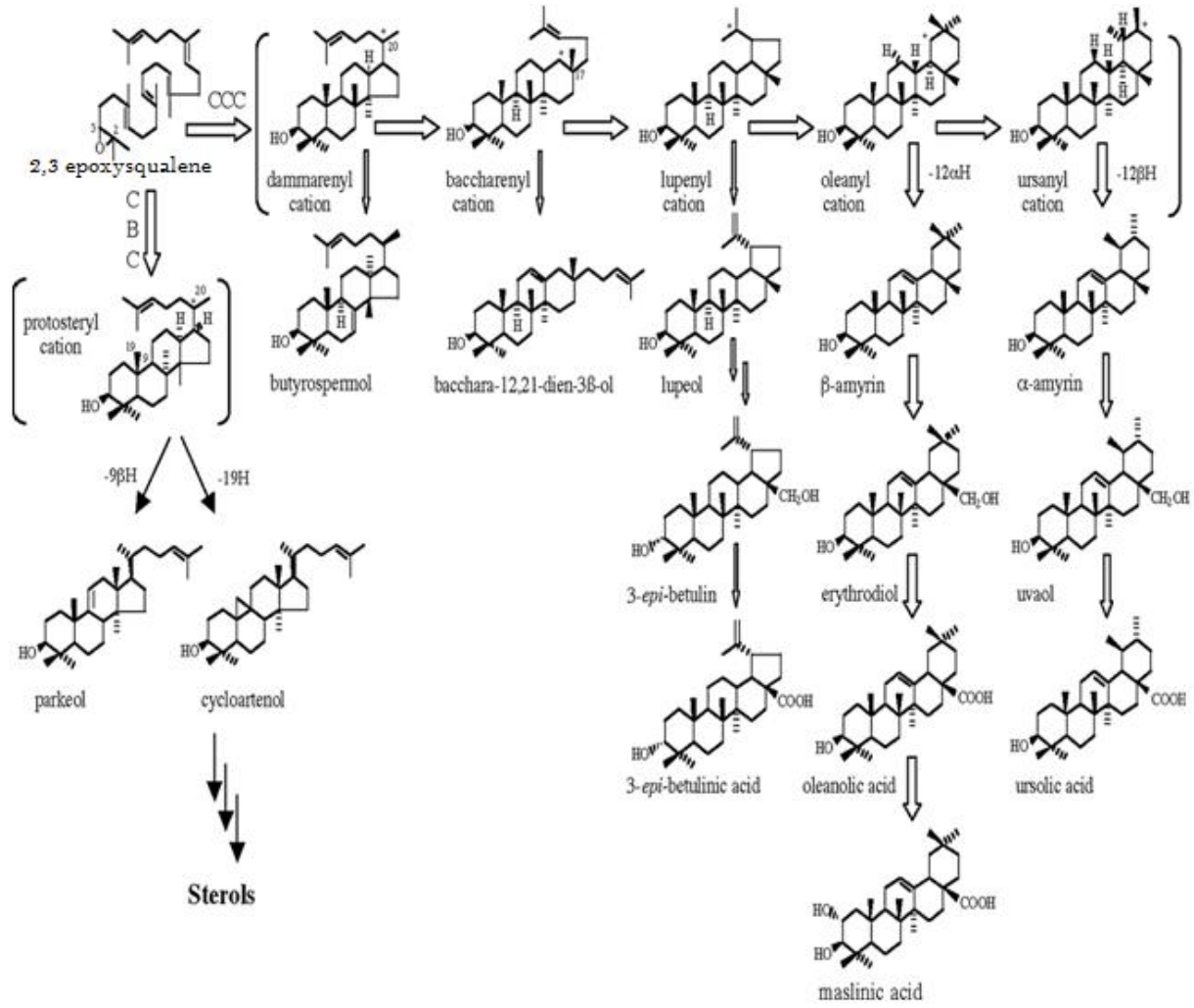
### III-1-3 الإصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية بدءاً من السكوالين:

بإمكان الأعضاء النباتية أن تحدث حلقة للـ **squalene** ( مادة وسيطية في الإصطناع الحيوي ) تقود بوجه خاص إلى تربينات ثلاثية حرة رباعية الحلقة ذات الهيكل المعروف perhydrocyclopentanophenanthre كما عند Euphorbiaceae أو إلى صابونوزيدات ( saponosides ) ذات تربين ثلاثي خماسي الحلقة أو إلى تربينات ثلاثية معدلة كما عند Rutaceae [شكل رقم:6]، و يؤدي فتح الإبوksيد الذي تهيئه الحلقة ، و لكي يتم ذلك ينبغي على إنزيم الحلقة أن يثبت على هيئة **Polyisopentenyl** بحيث تكون محبذة لقدرة السكوالين أن يتخذ تشكيلا فراغيا تتوفر فيه الاحتياجات الالكترونية الفراغية كي تتم عملية متضادة في جميع أجزائها ، فيتحدد بالتالي توجيه الإصطناع الحيوي تبعا للهيئة الابتدائية التي يكون عليها **2,3-epoxysqualene** على سطح الإنزيم و

ذلك نحو الستيرويدات أو نحو التربينات الثلاثية بالمعنى الدقيق من جهة ثانية و من ثم تنغلق الجزيئة بإضافات متعاقبة للروابط الثنائية إلى الكربوكاتيون الناتج من خطوات سابقة لنتحصل على مختلف التربينات الثلاثية حسب ما يبيئه لنا الشكل رقم [شكل رقم:7] [3،11].



شكل رقم 6-: حلقة 2,3-epoxysqualene



شكل رقم 7-: الإصطناع الحيوي لبعض هياكل التربينات الثلاثية رباعية و خماسية الحلقات

إنطلاقاً من 2,3-epoxysqualene

### III-4- أنواع الهياكل الرئيسية للتربينات الثلاثية :

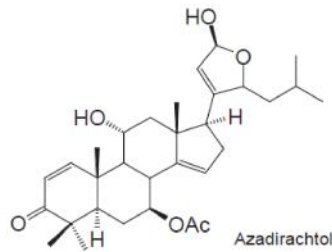
إنّ غالبية التربينات الثلاثية حلقة و لكن يوجد القليل منها على شكل خطي ، تتميز التربينات الثلاثية بهياكل بنائية مختلفة مما يؤدي إلى تنوعها وهذه بعض أهم هياكل التربينات الثلاثية الأكثر انتشاراً في المملكة النباتية مبنية أداها و مقسمة على حسب عدد الحلقات كما في الشكل 8- و 9- [5] .

و يمثل كل هيكل عشرات المركبات التربينية ، و المجموعات الموجودة في بناء هذه الهياكل هي في الغالب مجاميع هيدروكسيلية، كربوكسيلية ، ألدهيدية أو قد تتعدد هذه المجاميع في البناء الواحد. و هناك من صنف التربينات الثلاثية إلى عدة مجموعات جزئية [6]: تربينات ثلاثية حقيقية ، ستيرويدات ، قلويدات ستيرويدية ( alcalamines stéroïdiques ) صابونيات و قلويدات قلبية ( glycosides )

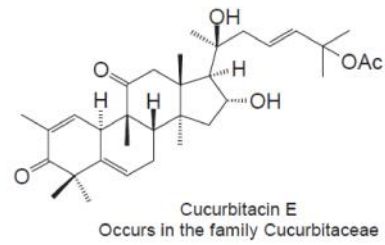
( cardiotoniques و المجموعتان الأخيرتان هما أساسا إما تربينات ثلاثية حقيقية أو ستيرويدات موجودة في صورة جليكوزيدية .

وبمقارنة أولية يمكن أن نعتبر أن ليس هناك اختلافات أساسية بين التربينات الثلاثية الحقيقية و الستيرويدات ، حيث يمكن اعتبار هذه الأخيرة تربينات ثلاثية رباعية الحلقة فقدت على الأقل ثلاث مجموعات مثيلية ، إضافة إلى ذلك يستخدم في الأصل وجود مثيلات المواقع 14،4،4، لتمييز الستيرويدات عن التربينات الثلاثية [4] .

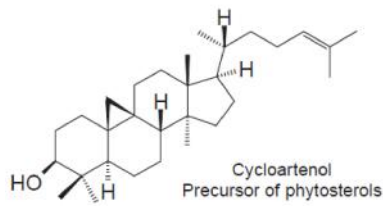
Apotirucallane



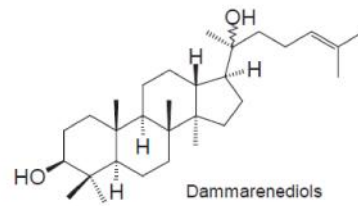
Cucurbitane



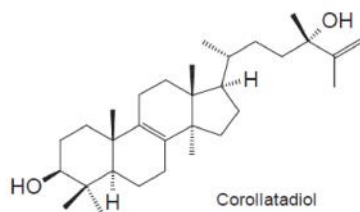
Cycloartane



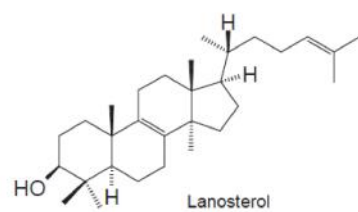
Dammarane



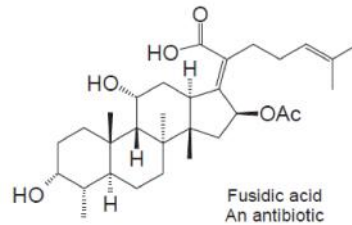
Euphane



Lanostane

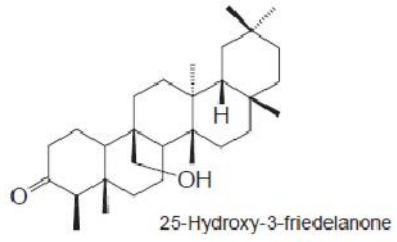


Prostane and fusidane

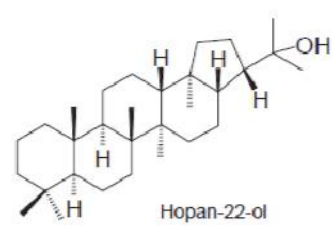


شكل-8: بعض هياكل التربينات الثلاثية رباعية الحلقة

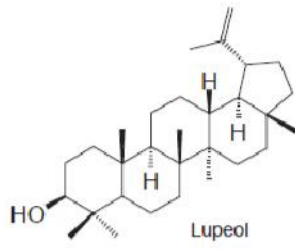
Friedelane



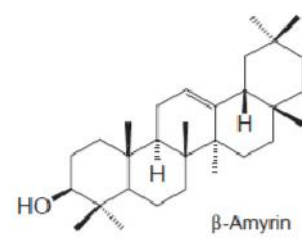
Hopane



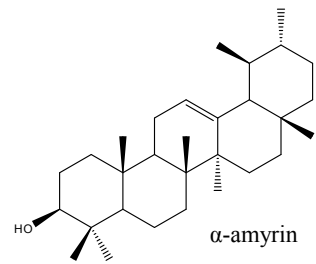
Lupane



Oleanane



Ursan

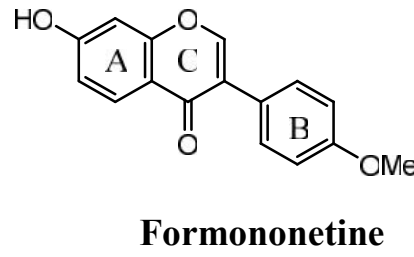
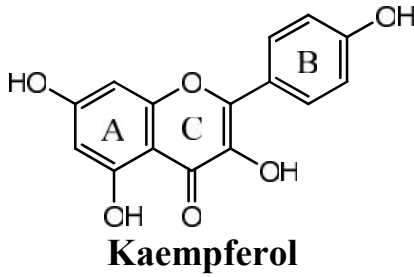


شكل-9: بعض هياكل التربينات الثلاثية خماسية الحلقة

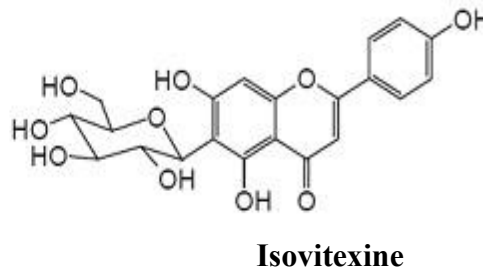
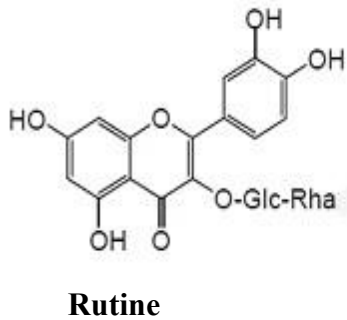
## ثانياً: الفلافونويدات

### I-تعريف:

الفلافونويدات هي مشتقات **4, 2', 4', 6'-tetrahydroxychalcone** , وهي تنتشر في الطبيعة بشكل كبير , واسعة الإنتشار عند النباتات الراقية لكن تكون ضئيلة عند الطحالب. معظم الفلافونويدات مركبات صفراء اللون حيث تساهم في اللون الأصفر للأزهار والفاكهة, فهي توجد في العادة على شكل جليكوزيدات التي قد تكون على هيئة سكر أحادي أو ثنائي , أو ربما يدخل في بناء السكر أكثر من وحدتي سكر أحادي. لحد الآن يوجد أكثر من 2000 جليكوزيد ( فلافونات , فلافونولات ) تم عزله , كما أن هناك منتجات طبيعية وثيقة الصلة بالتركيب البنائي للفلافونات وهي الإيزوفلافونات مثل : (Formononetine) كما في الشكل أدناه , و فلافونويدات سلفاتية وهي عبارة عن مركبات إستر سولفاتي للعديد من هيدروكسيالات الفلافون أو الفلافونول مثل (kaempferol) أو مثيلاتهم الإيثيرية , وهي أقل إنتشاراً في الطبيعة بخلاف الفلافونات و الفلافونولات المنتشرة على نطاق واسع [2] .



قد تكون وحدة السكر مرتبطة إلى ذرة أكسجين لمجموعة الهيدروكسيل مثل مركب الـ **rutine** أو مرتبطة مباشرة بإحدى ذرات كربون الحلقة العطرية مثل مركب الـ **isovitexine**. وأغلب السكريات الأحادية المتواجدة في بناء الفلافونويدات هي الجلوكوز والجالكتوز والأرابينوز و الزيلوز و الرامنوز.



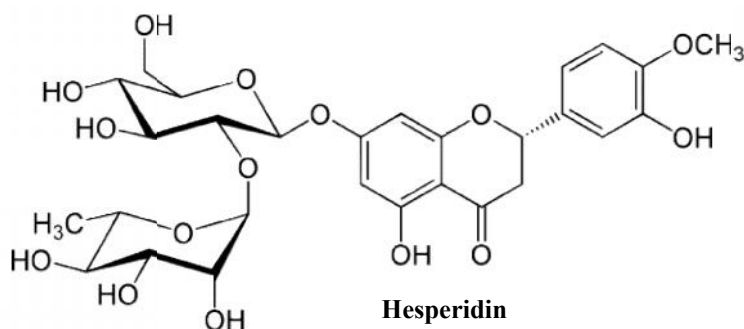
## II- خواص والفعالية البيولوجية للفلافونويدات

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

تمتلك الفلافونويدات عدة خصائص فعالة, من بينها الخصائص التالية [2] :

- ✓ مضادات للأكسدة.
- ✓ مضادات للإلتهاب .
- ✓ مضادات للفيروسات .
- ✓ مضادات لتسمم الكبد.
- ✓ مضادات للبيكتيريا.

فالعديد من الأدوية التقليدية والنباتات الطبية تحتوي على الفلافونويدات كمركبات فعالة بيولوجيا. فالخصائص المضادة للأكسدة للفلافونويدات تكون موجودة في الفواكه الطازجة و الخضار, حيث يعتقد بأنه يساهم في الوقاية من السرطان وأمراض القلب. الـ Rutine مركب فلافونويدي جليكوزيدي يوجد في العديد من النباتات مثل *Sophora japonica* و *Fagopyrum esculentum* و *Ruta graveolens* و *Fagopyrum esculentum*, فهو من المحتمل أن يكون المركب الأكثر دراسة من بين كل الفلافونويدات , إذ يدخل في تركيب مختلف متعددات الفيتامين (multivitamin) , فلافونويد آخر هو الـ Hesperidin والمستخلص من النباتات الحمضية (*Citrus*) يدخل في تركيب المضافات الغذائية وكذلك يستعمل في معالجة النزيف الشعري [2] .



### III الإصطناع الحيوي للفلافونويدات

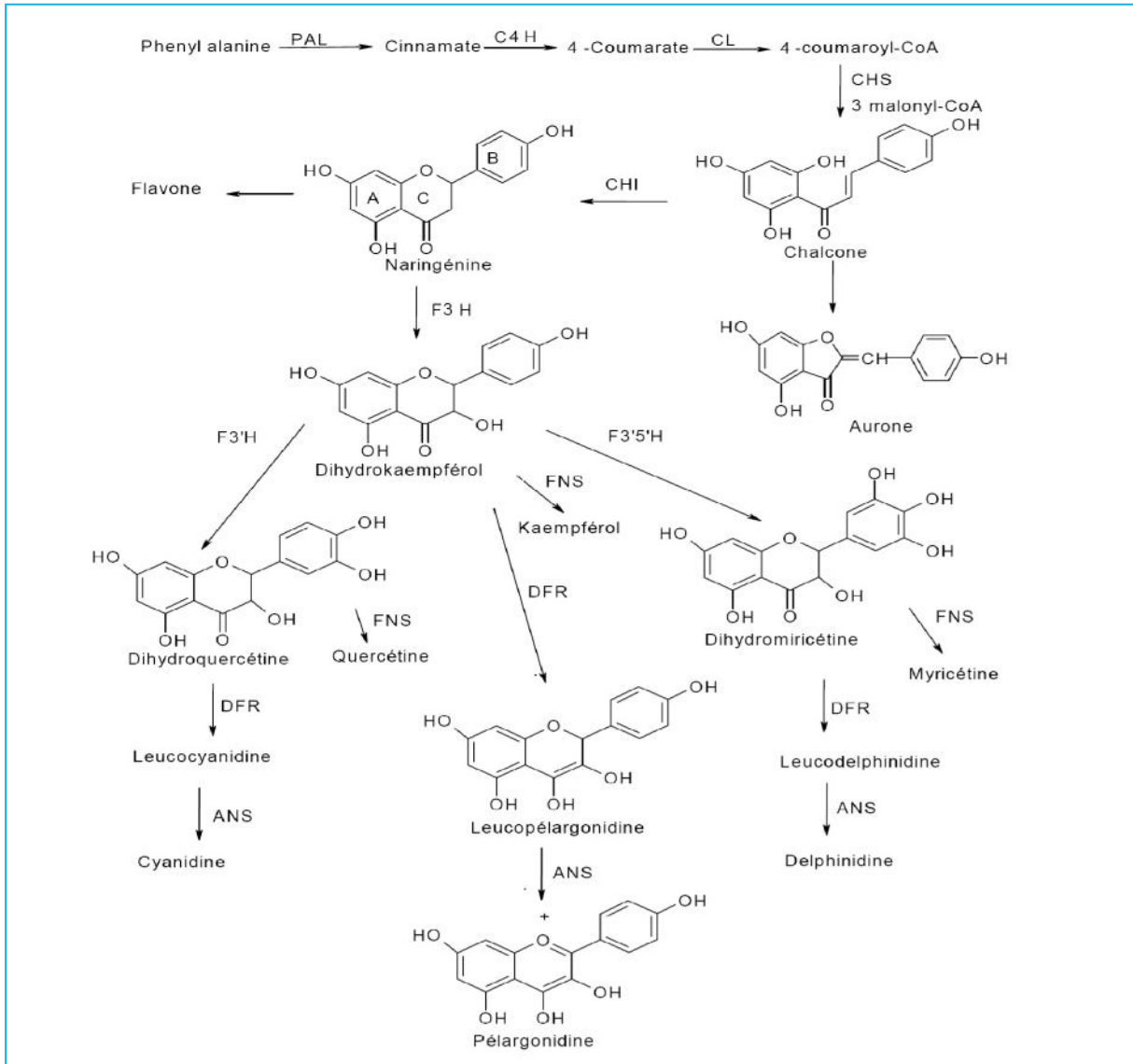
نظرا لأهمية الفلافونويدات وإنتشارها الواسع , فقد أثارت إهتمام الباحثين من كيميائيين , بيولوجيين وحتى علماء الوراثة وقاموا بتوجيه أبحاثهم لمعرفة أصل التطور الوراثي لهذه المركبات , أي كيف يتم تصنيعها داخل النبات . فالإصطناع الحيوي للفلافونويدات يتبع عدة مسالك لتكوين النظام الحلقي داخل النباتات الراقية , ومن أهم تلك المسالك هي [4]:

✓ مسلك **shikimate**

✓ مسلك **malonate**

ويتم الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونيدية إنطلاقا من الشالكون حسب ما يبيّنه لنا الشكل [شكل رقم:10] :





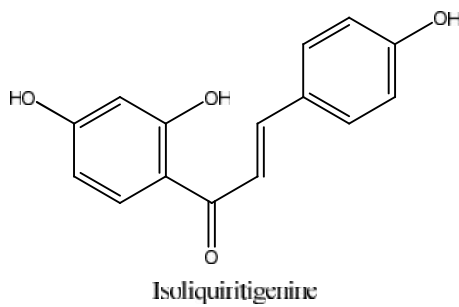
شكل رقم 10:- مخطط الإصطناع الحيوي للفلافونويدات [12]

الإنزيمات الداخلة في التصنيع

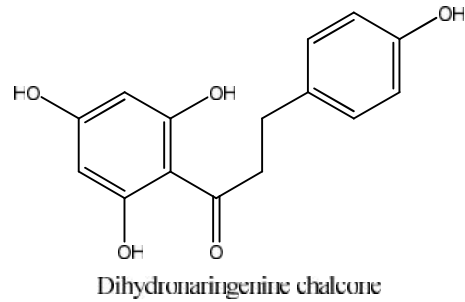
PAL : phényalanine ammoniac-lyase ; C4H : *para*-coumarate 4-hydroxylase ; 4CL : 4-coumarate CoA ligase ; CHS : chalcone synthase ; CHI : chalcone flavanone isomerase ; F3H : flavanone hydroxylase ; F3'H : flavonoïde-3'-hydroxylase ; F3'5'H : flavonoïde-3',5'-hydroxylase ; FNS : flavone synthase ; DFR : dihydroflavonol-4-reductase ; ANS : anthocyanidine synthase.

## IV أقسام الفلافونويدات

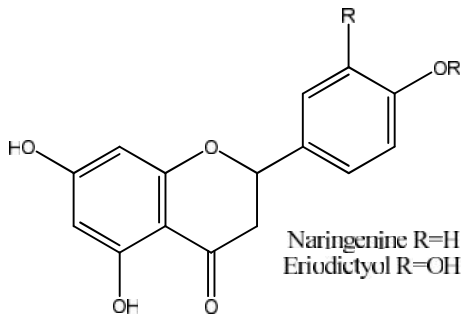
نستطيع أن نقسم الفلافونويدات إنطلاقاً من الإصطناع الحيوي لها، فبعضها يعتبر وسائط ومركبات نهائية في الإصطناع الحيوي مثل الشالكونات، الفلافانو-3-أول، فلافان-3,4-ديول و بعضها الآخر تعرف فقط بالمركبات النهائية في الإصطناع الحيوي كأنثوسيانينات، الفلافانونات، الفلافونولات. معظم الفلافونويدات ملخصة في الهياكل التالية [شكل رقم: 11، 12، 13] [2]:



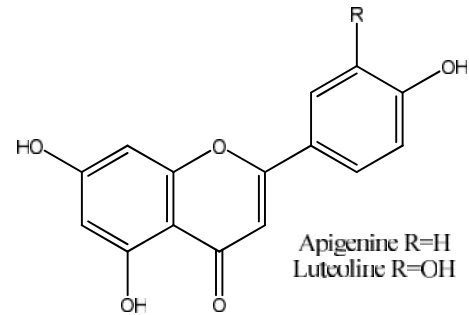
**Chalcone**



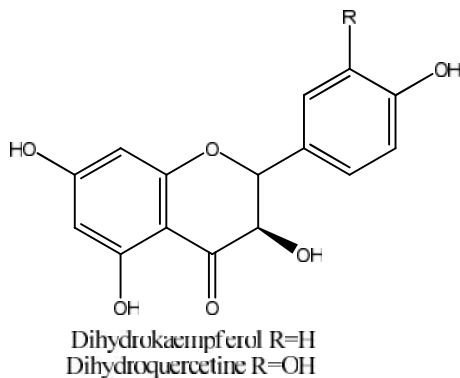
**Dihydrochalcone**



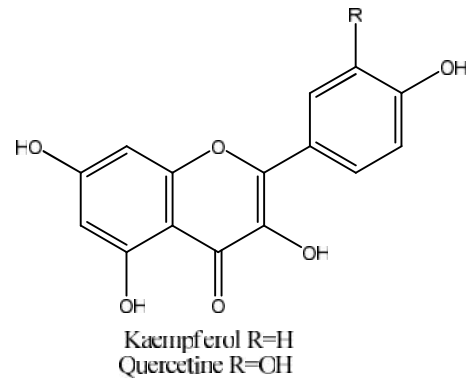
**Flavanone**



**Flavone**

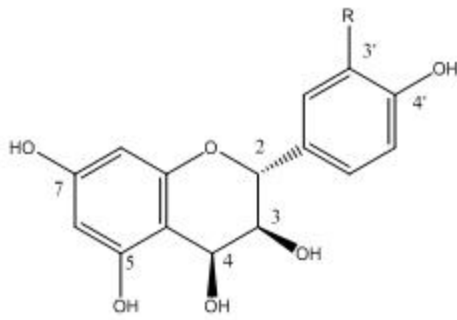


**Flavanon-3-ol**



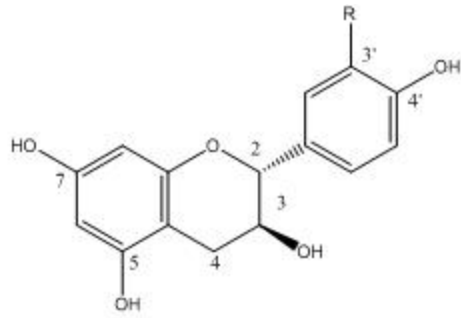
**Flavanol**

شكل رقم -11:- بعض الهياكل الفلافونويدات



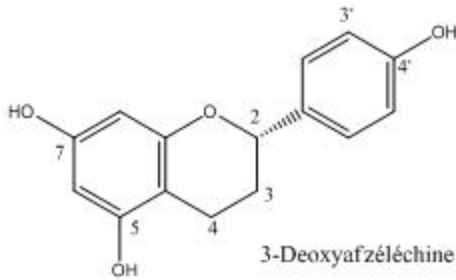
Leucopelargonidine R=H  
Leucocyanidine R=OH

**Flavan-3,4-diol**



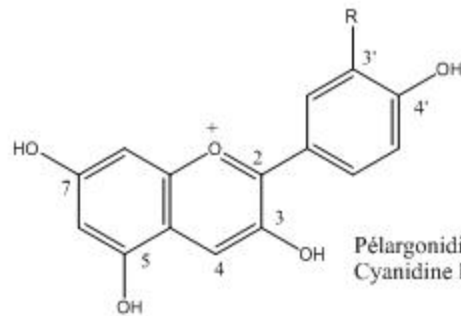
Afzaléchine R=H  
(+)-Catéchine R=OH

**Flavan-3-ol**



3-Deoxyafzaléchine

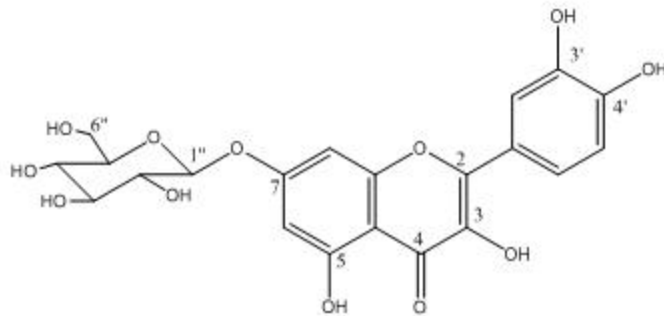
**Flavane**



Pelargonidine R=H  
Cyanidine R=OH

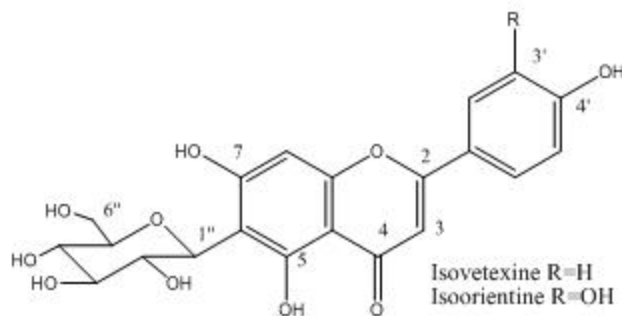
**Anthocyanidine**

**Flavonoide O-glycoside**



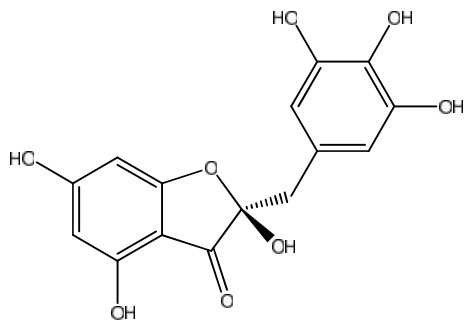
Quercetin 7-O-β-D-glucopyranoside

**Flavonoide C-glycoside**

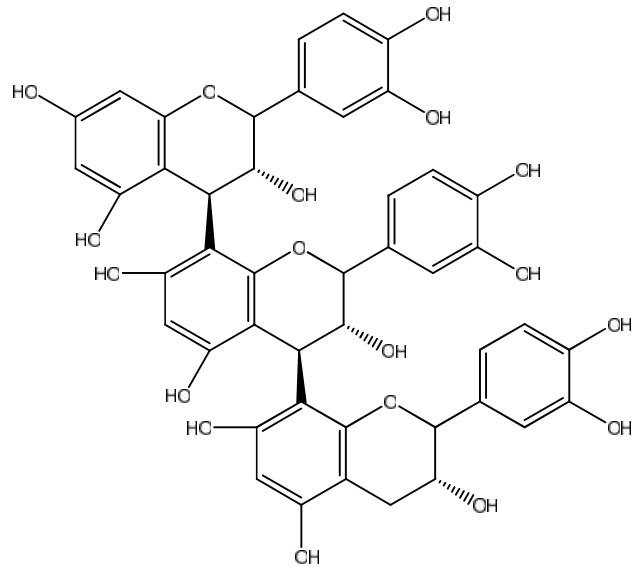


Isovetexine R=H  
Isoorientine R=OH

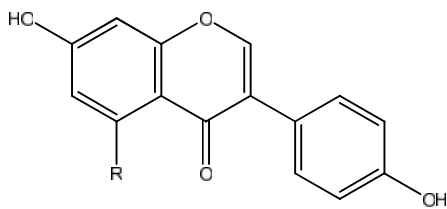
شكل رقم -12-: بعض هياكل الفلافونيدات



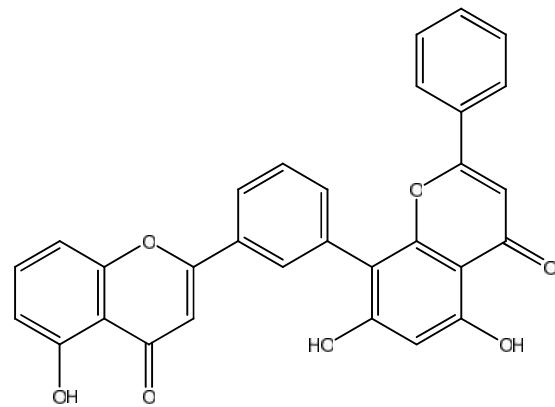
Amaronol A  
**Aurone**



trimère Epicatechine  
Tannin condensé  
**Proanthocyanidine**



Daidzeine R=H  
Genisténine R=OH  
**Isoflavonoïde**



Amentoflavone  
**Biflavonoïde**

شكل رقم 13-: بعض هياكل أخرى للفلافونيدات

## المراجع

- [1] Kishan G.R., Mérillon J. (2013). Natural Products, Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes, pp. 2763-2792.
- [2] Satyajit, D. (2007). Chemistry for Pharmacy Students, John Wiley & Sons, pp. 347-349.
- [3] Dewick, P.M. (2002). Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach, 2<sup>ème</sup> ed. England. pp. 214.
- [4] Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> ed. Tec & Doc. pp. 277.
- [5] List P.H., Horhammer L. (1979). Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Springer.
- [6] Harborne, J.B. (1973). Phytochemical Methods. Chapman and Hall, pp. 109.
- [7] Klyne, W.; Tame, N. D. (1966). La chimie des stéroïdes, pp. 13.
- [8] Fourie, T.G. and snyckers, F.O. (1989). Apentacyclic triterpene with anti-inflammatory and analgesic activity from the roots of *Commiphora merkeri*. J. N. Prod; 52, 1129.
- [9] Tokuyama, C.T.; Hayashi, Y., Nishizawa, M., Tokaka, S., Chariul, S.M. and Hayashi, Y. (1991). Applanoxidic acids A, B, C and D, biologically active tetracyclic triterpenes from *Ganoderma applanatum*. Phytochemistry; 30, 4105.
- [10] الدكتور حسان قبيلي، ( 2002 )، معجم الأعشاب و النباتات الطبية. دار الكتب العلمية. بيروت، 279.
- [11] Stiti, Naïm., Triki, Saïda, Hartmann, M.A. (2007). Formation of Triterpenoids throughout *Olea europaea* Fruit Ontogeny, Lipids, 42, 1, pp. 55-67.
- [12] Jensen, S.R., Franzyk, H. Wallander, W. (2002). Chemotaxonomy of the Oleaceae: iridoids as taxonomic markers. Phytochemistry, 60, 213-231.

## الفصل الثاني

---

# دراسة بيئية جغرافية حول جنس *Salvia*

## نواتج الأيض الأساسي لجنس *Salvia* :

يتميز جنس *Salvia* بكونه غني بالمركبات الطبيعية، منها التربينات الثلاثية وكذا المركبات المتعددة الفينول هذا حسب ما بينته الدراسة البيبليوغرافية [جدول رقم: 2،3] و بصفة خاصة التربينات الثنائية منها [1].

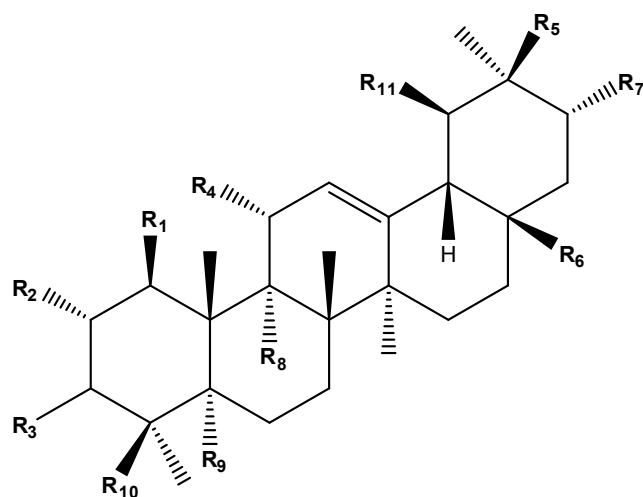
### جدول رقم -2: توزيع التربينات الثلاثية عند جنس *Salvia*

بنية المركب	المركب	الأصناف	المراجع
1	maslinic acid (= 2 $\alpha$ -hydroxyoleanolic acid)	<i>S. canariensis</i> L.	2
2	oleanolic acid	<i>S. officinalis</i> L. <i>S. amplexicaulis</i> Lam. <i>S. ballotaeflora</i> <i>S. longystyla</i>	3 4 5 6
3	3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,21 $\alpha$ -trihydroxyurs-12-ene (=salvistamineol)	<i>S. staminea</i> Montbr.	7
4	1 $\beta$ ,2 $\alpha$ -dihydroxy-3 $\beta$ -acetoxy-11-oxours-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	8
5	1 $\beta$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -tetrahydroxyurs-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	9
6	3 $\alpha$ -acetoxyurs-12-ene-1 $\beta$ ,11 $\alpha$ -diol	<i>S. kronenburgii</i>	9
7	1 $\beta$ ,3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -trihydroxyurs-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	9
8	2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -trihydroxyurs-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	9
9	3 $\beta$ -acetoxy-urs-12-ene-2 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -diol	<i>S. argentea</i> L.	10
10	3 $\beta$ -acetoxy-urs-12-ene-1 $\beta$ ,2 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -triol	<i>S. argentea</i> L.	10
11	3 $\beta$ -acetoxy-urs-12-ene-1 $\beta$ ,2 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,20 $\beta$ -tetraol	<i>S. argentea</i> L.	10
12	3 $\beta$ -acetoxy-urs-12-ene-2 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,20 $\beta$ -triol	<i>S. argentea</i> L.	10
13	3-oxours-12-ene-1 $\beta$ ,11 $\alpha$ -diol	<i>S. haenkei</i>	11
14	3-epi-ursolic acid	<i>S. lanata</i>	12
15	santolinoic acid	<i>S. santolinifolia</i>	13
16	2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (=salvin A)	<i>S. santolinifolia</i>	14
17	3,11-dioxours-12-ene	<i>S. mellifera</i> Greene	15
18	urs-12-ene-3 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -diol	<i>S. willeana</i>	16
19	3 $\alpha$ ,24-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid	<i>S. nicolsoniana</i>	17
20	3 $\alpha$ ,24-dihydroxyolean-12-en-28,30-dioic acid	<i>S. nicolsoniana</i>	17
21	2 $\alpha$ -acetoxyurs-5,12-diene-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -diol	<i>S. kronenburgii</i>	9

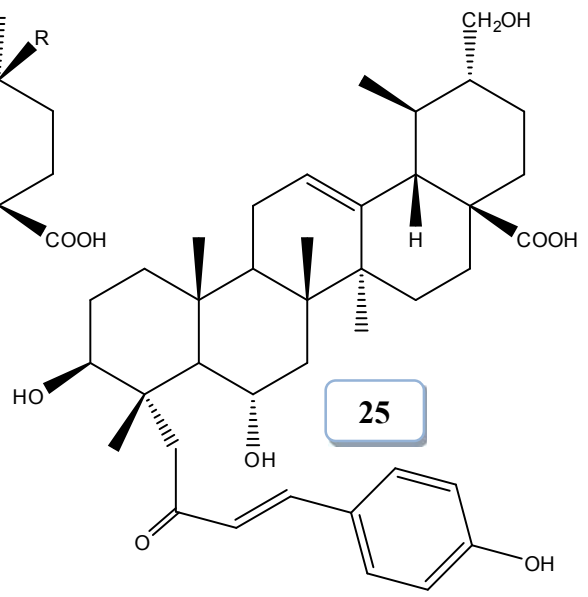
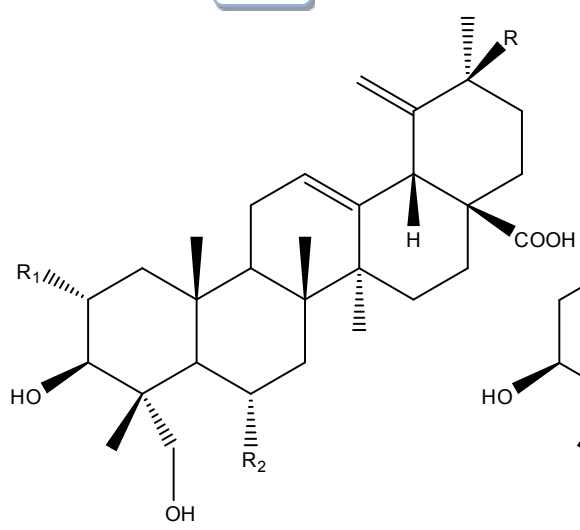
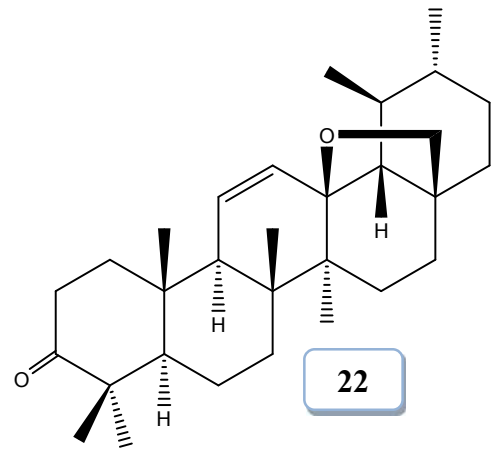
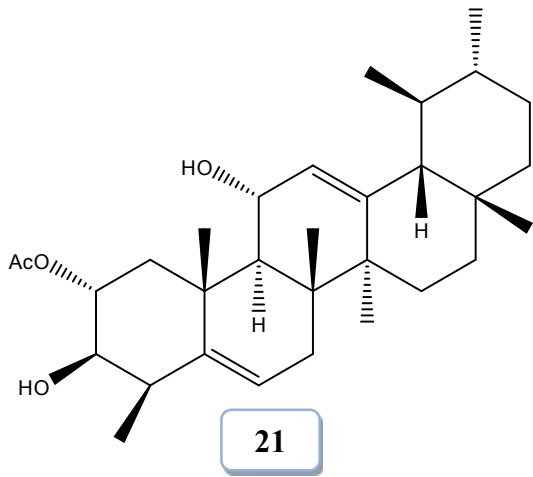
22	3-oxo-13(28)-epoxyurs-11-ene	<i>S. mellifera</i> Greene	15
23	3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,23-trihydroxyurs-12,19(29)-dien-28-oic acid	<i>S. hierosolymitana</i> Boiss.	18
24	2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,20 $\beta$ ,23-tetrahydroxyurs-12,19 (29)-dien-28-oic acid	<i>S. chinensis</i>	19
25	23-(trans-p-coumaroyloxy)-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,30-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid	<i>S. hierosolymitana</i> Boiss.	20
26	2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxyolean-28-oic acid	<i>S. hierosolymitana</i> Boiss.	20
27	1 $\beta$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -tetrahydroxyolean-12-ene	<i>S. kronenburgii</i>	9
28	3 $\beta$ -acetoxyolean-12-ene-2 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -diol	<i>S. argentea</i> L.	10
29	3 $\beta$ -acetoxyolean-12-ene-1 $\beta$ ,2 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -triol	<i>S. argentea</i> L.	10
30	3 $\beta$ -hydroxy-1-oxoolean-12-en-28-oic acid (=virgatic acid)	<i>S. virgata</i> Jacq.	21
31	3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,24-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid(= salvin B)	<i>S. santolinifolia</i>	22
32	salvinemorol	<i>S. nemorosa</i> L.	23
33	24-nor-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxyolean-4(23),12-ene	<i>S. hierosolymitana</i> Boiss.	18
34	2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxy-24-nor-4(23),12-oleanadien-28-oic acid	<i>S. carduacea</i>	23
35	2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -trihydroxy-24-nor-4(23),12-oleandien-28-oic acid	<i>S. palaestina</i> Benth.	24
36	przewanoic acid B	<i>S. przewalskii</i> Maxim.	25
37	przewanoic acid A	<i>S. przewalskii</i> Maxim.	25
38	1 $\beta$ ,11 $\alpha$ -dihydroxyolean-18-en-3-one	<i>S. deserta</i> Schangin	26
39	23-hydroxygermanicone	<i>S. pomifera</i> L.	27
40	olean-13(18)-ene-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -triol	<i>S. pinnata</i> L.	28
41	olean-(13)18-ene-2 $\beta$ ,3 $\beta$ -diol	<i>S. horminum</i>	29
42	3 $\beta$ -hydroxyoleanan-13 $\beta$ →28 lactone	<i>S. lanigera</i>	30
43	2 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxy-3 $\beta$ -acetoxyurs-9(11),12-diene	<i>S. kronenburgii</i>	9
44	1 $\beta$ ,2 $\alpha$ -dihydroxy-3 $\beta$ -acetoxyurs-9(11),12-diene	<i>S. kronenburgii</i>	9
45	deacetyloxysessein-7 $\alpha$ -(3 $\beta$ -hydroxyolean-12-en-28-oate) (= reglin)	<i>S. regla</i> Cav.	31
46	Lupeol	<i>S. palaestina</i> Benth.	32
47	lup-20(29)-ene-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diol	<i>S. palaestina</i> Benth.	32
48	lup-20(29)-ene-3 $\beta$ ,23-diols	<i>S. palaestina</i> Benth.	32
49	2 $\alpha$ -methoxylup-20(29)-en-3 $\beta$ -ol	<i>S. palaestina</i> Benth.	32



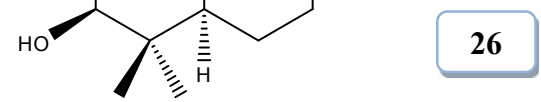
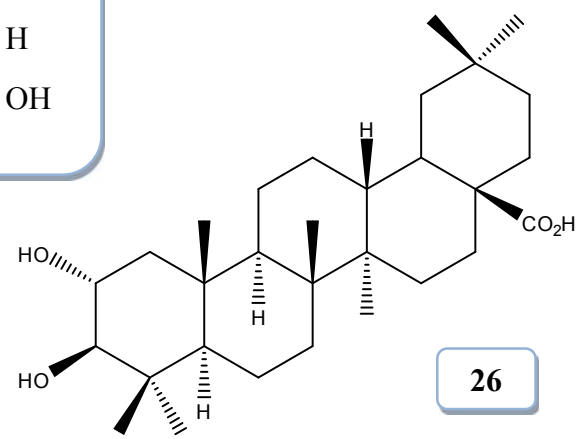
50	palestinol	<i>S. triloba</i>	33
51	7 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-3-one	<i>S. pratensis</i> L.	34
52	1 $\beta$ ,11 $\alpha$ -dihydroxylup-20(29)-en-3-one	<i>S. deserta</i> Schangin	26
53	(1 $\beta$ ,3 $\beta$ )-lup-20(29)-ene-1,3,30-triol	<i>S. sclareoides</i>	35
54	3 $\alpha$ -O-acetyl-20(29)-lupen-2 $\alpha$ -ol	<i>S. trijuga</i>	36
55	1 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,20-trihydroxylupan-3-one	<i>S. deserta</i> Schangin	26
56	lupane-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,20-triol	<i>S. phlomoides</i> Asso	37
57	3 $\beta$ -acetoxylupane-11 $\alpha$ ,20-diol	<i>S. phlomoides</i> Asso	37
58	11 $\alpha$ ,20-dihydroxylupan-3-one	<i>S. phlomoides</i> Asso	37
59	monogynol A	<i>S. macrochlamys</i>	38
60	3 $\alpha$ -hydroxy-20-oxo-30-norlupane	<i>S. nubicola</i>	39
61	3 $\beta$ -O-trans-p-coumaroylmonogynol A	<i>S. montbretii</i>	40
62	3 $\beta$ -O-cis-p-coumaroylmonogynol A	<i>S. montbretii</i>	40
63	santolin B	<i>S. santolinifolia</i>	41
64	santolin A	<i>S. santolinifolia</i>	41
65	santolin C	<i>S. santolinifolia</i>	41
66	20S,24R-epoxydammar-12 $\beta$ ,25-diol-3-one	<i>S. bicolor</i>	42
67	7 $\beta$ ,25-dihydroxy-(20S,24R)-epoxydammaran-3-one (= salvilymitone)	<i>S. hierosolymitana</i> Boiss.	43
68	(20S,24R)-epoxydammarane-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,25-triol (= salvilymitol)	<i>S. hierosolymitana</i> Boiss.	43
69	salvadiol	<i>S. bucharica</i>	44
70	salvadione A	<i>S. bucharica</i>	45
71	salvadione B	<i>S. bucharica</i>	45
72	brassicasterone	<i>S. multicaulis</i>	46
73	1-oxo-7 $\alpha$ -hydroxysitosterol	<i>S. glutinosa</i> L.	47
74	stigmast-4-en-3-one	<i>S. amplexicaulis</i> Lam.	48
75	20(S),24(R)-epoxydammarane-3 $\beta$ ,12 $\beta$ ,25-triol (=pyxinol)	<i>Salvia barrelieri</i>	49

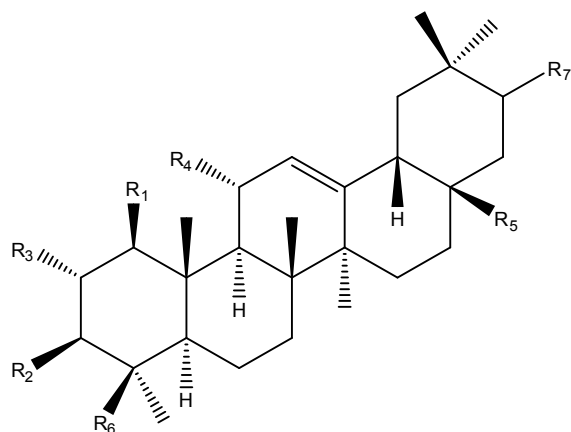


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>9</sub>	R <sub>10</sub>	R <sub>11</sub>
1	H	OH	βOH	H	CH <sub>3</sub>	CO <sub>2</sub> H	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
2	H	H	βOH	H	CH <sub>3</sub>	CO <sub>2</sub> H	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
3	H	H	βOH	OH	H	CH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	CH <sub>3</sub>
4	OH	OH	βOAc	O	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
5	OH	OH	βOH	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
6	OH	H	αOAc	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
7	OH	H	αOH	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
8	H	OH	βOH	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
9	H	OH	βOAc	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
10	OH	OH	βOAc	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
11	OH	OH	βOAc	OH	OH	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
12	H	OH	βOAc	OH	OH	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
13	OH	H	O	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
14	H	H	αOH	H	H	CO <sub>2</sub> H	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
15	H	OH	βOH	H	H	CO <sub>2</sub> H	H	OH	H	H	CH <sub>3</sub>
16	H	OH	βOH	H	H	CO <sub>2</sub> H	H	H	OH	H	CH <sub>3</sub>
17	H	H	O	O	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
18	H	H	αOH	OH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
19	H	H	αOH	H	CH <sub>3</sub>	CO <sub>2</sub> H	H	H	H	CH <sub>2</sub> OH	H
20	H	H	αOH	H	CO <sub>2</sub> H	CO <sub>2</sub> H	H	H	H	CH <sub>2</sub> OH	H

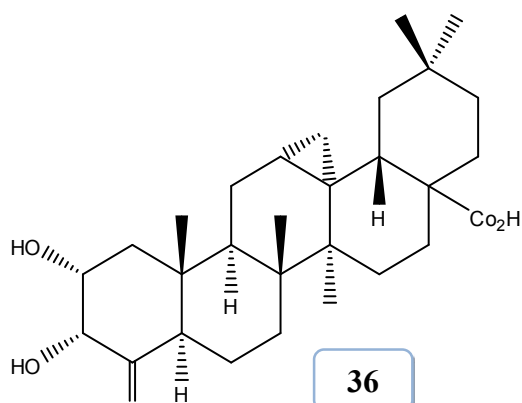
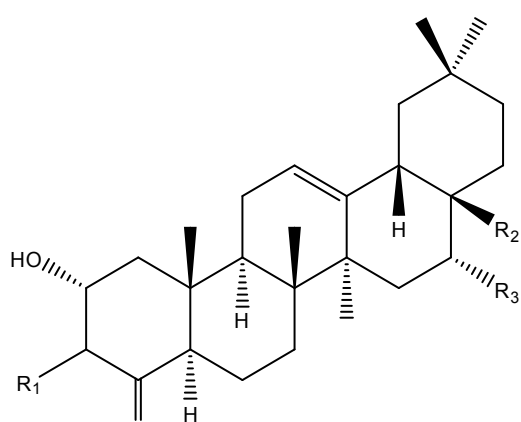


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
23	H	OH	H
24	OH	H	OH



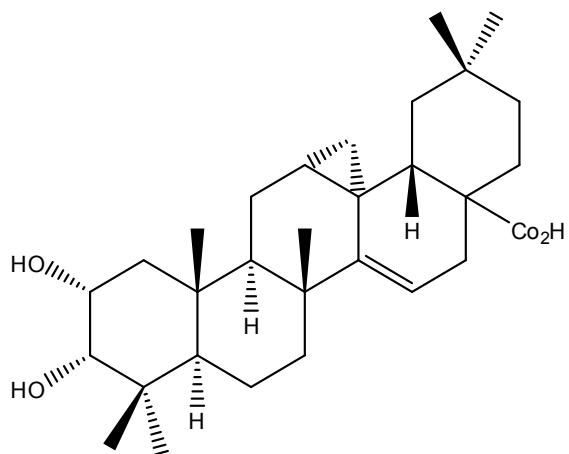


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>	<b>R<sub>7</sub></b>
<b>27</b>	OH	OH	$\beta$ OH	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
<b>28</b>	H	OH	$\beta$ OAc	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
<b>29</b>	OH	OH	$\beta$ OAc	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
<b>30</b>	O	H	$\beta$ OH	H	CO <sub>2</sub> H	CH <sub>3</sub>	H
<b>31</b>	H	H	$\alpha$ OH	H	CO <sub>2</sub> H	CH <sub>2</sub> OH	H
<b>32</b>	H	H	$\beta$ OH	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	$\beta$ OH

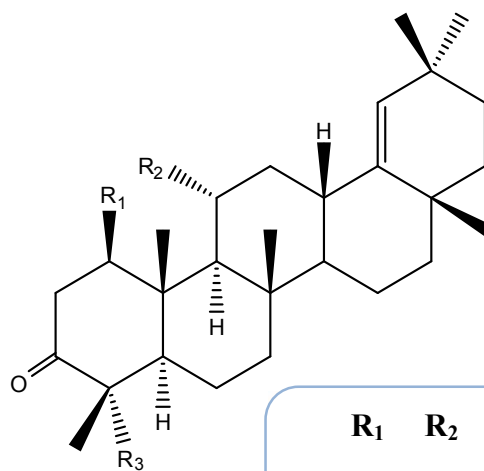


**36**

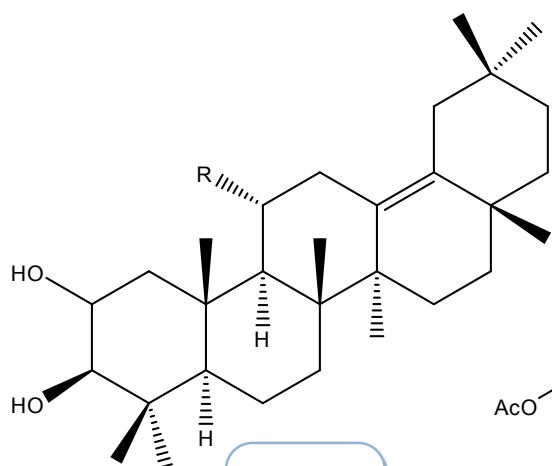
	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>
<b>33</b>	$\beta$ OH	CH <sub>3</sub>	H
<b>34</b>	$\alpha$ OH	COOH	H
<b>35</b>	$\alpha$ OH	COOH	OH



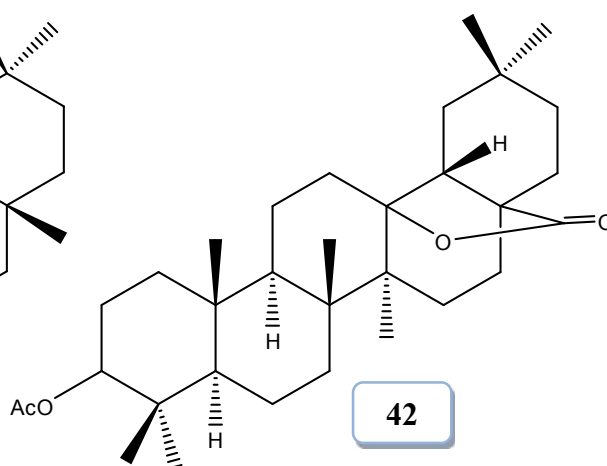
37



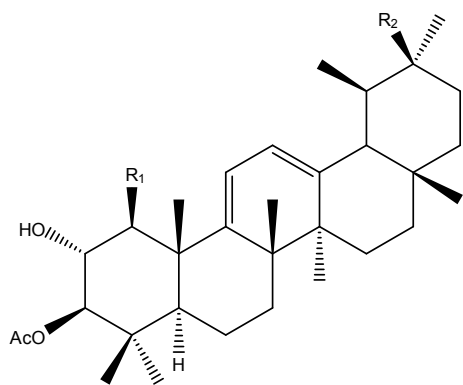
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
38	OH	OH	CH <sub>3</sub>
39	H	H	CH <sub>2</sub> OH



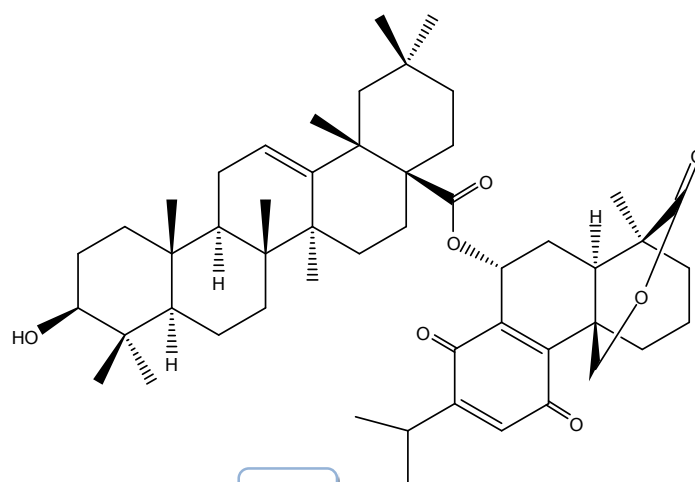
	R
40	OH
41	H



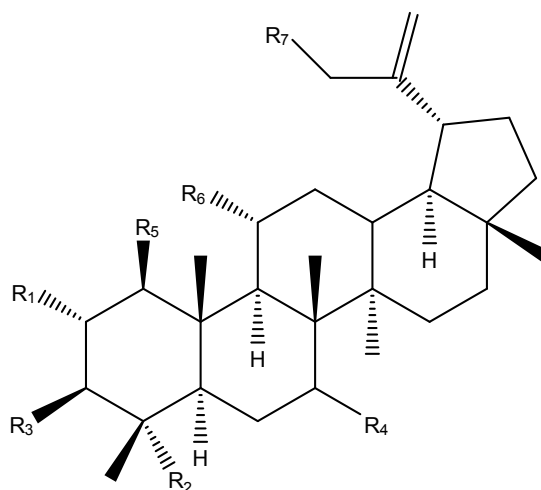
42



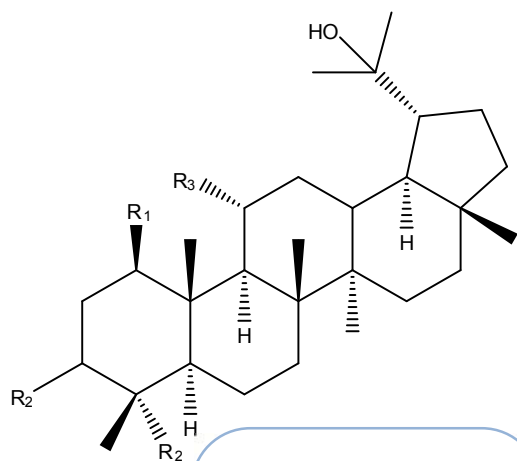
	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
<b>43</b>	H	OH
<b>44</b>	OH	H



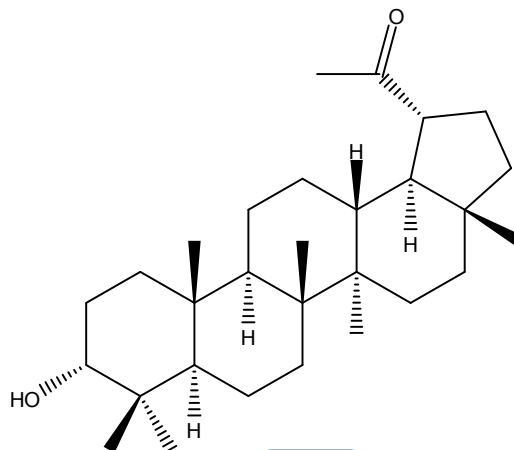
**45**



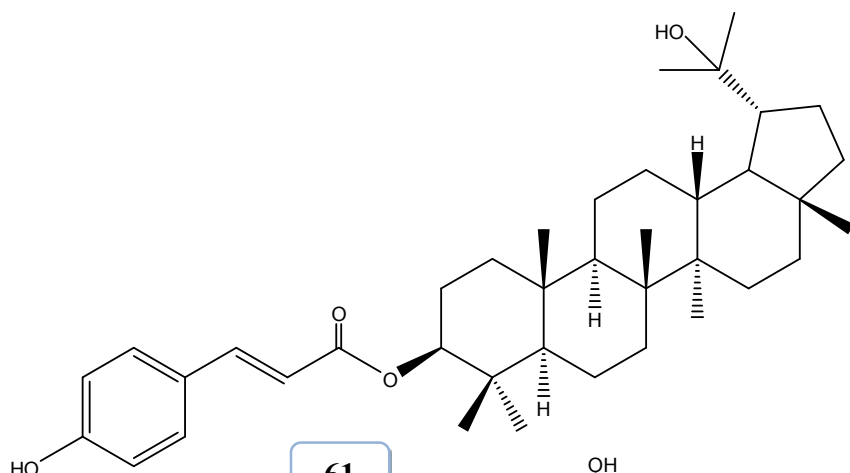
	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>	<b>R<sub>7</sub></b>
<b>46</b>	H	CH <sub>3</sub>	βOH	H	H	H	H
<b>47</b>	OH	CH <sub>3</sub>	βOH	H	H	H	H
<b>48</b>	H	CH <sub>2</sub> OH	βOH	H	H	H	H
<b>49</b>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	βOH	H	H	H	H
<b>50</b>	OH	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	H
<b>51</b>	H	CH <sub>3</sub>	O	βOH	H	H	H
<b>52</b>	H	CH <sub>3</sub>	O	H	OH	OH	H
<b>53</b>	H	CH <sub>3</sub>	βOH	H	OH	H	OH
<b>54</b>	OH	CH <sub>3</sub>	αOAc	H	H	H	H



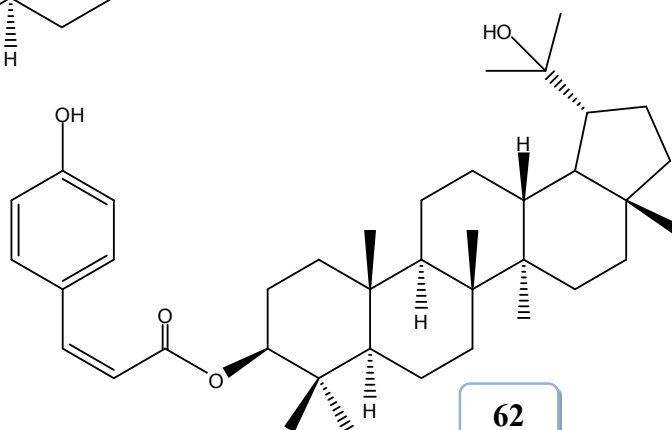
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
55	OH	O	OH
56	H	βOH	OH
57	H	βOAc	OH
58	H	O	OH
59	H	βOH	H



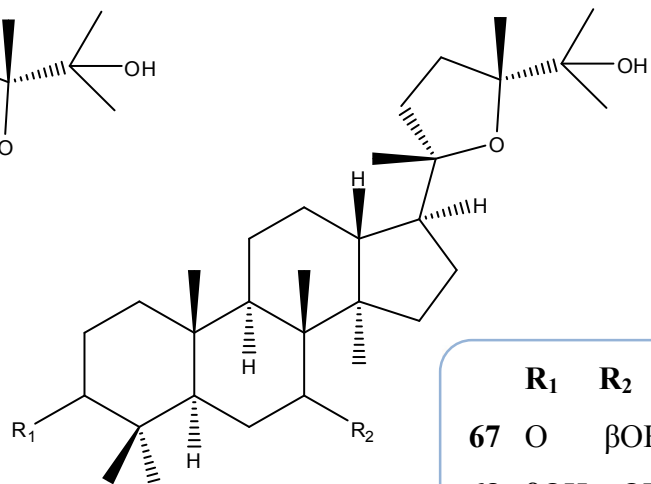
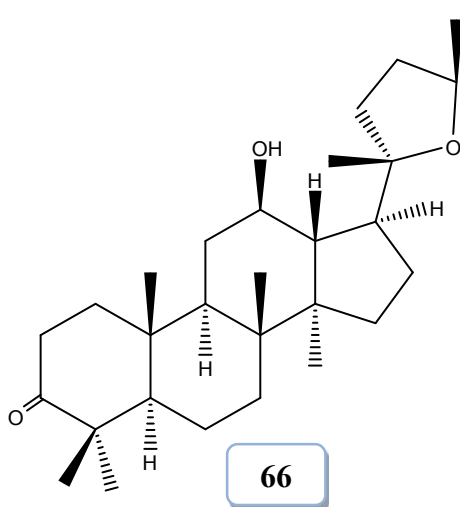
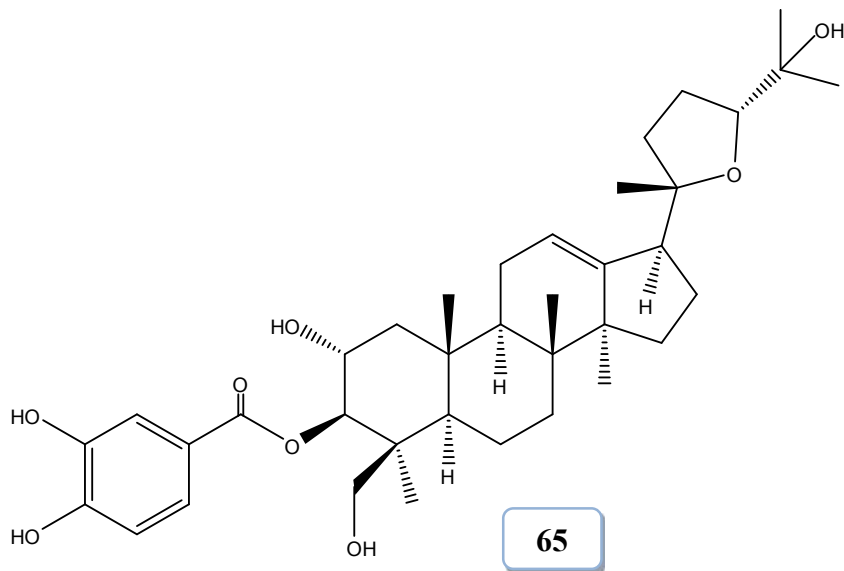
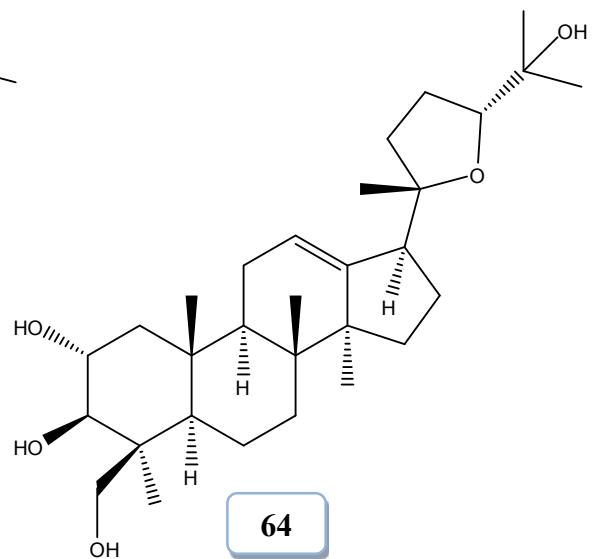
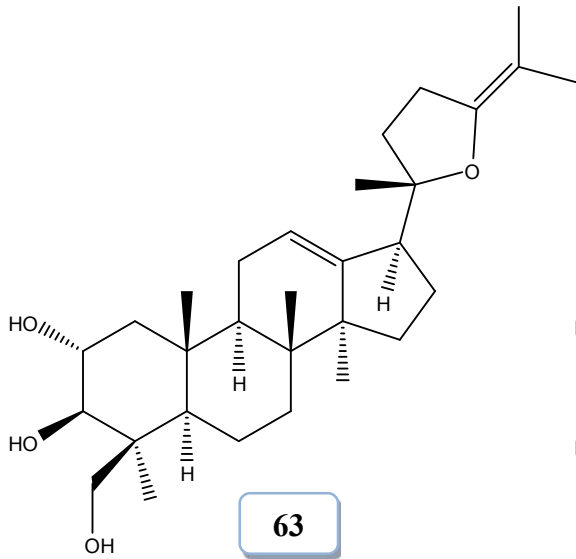
60



61

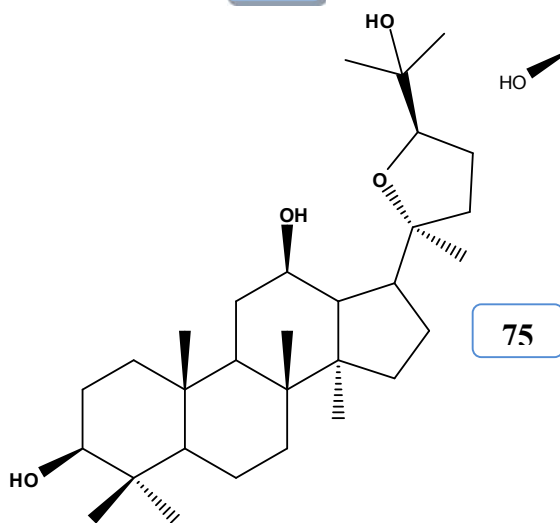
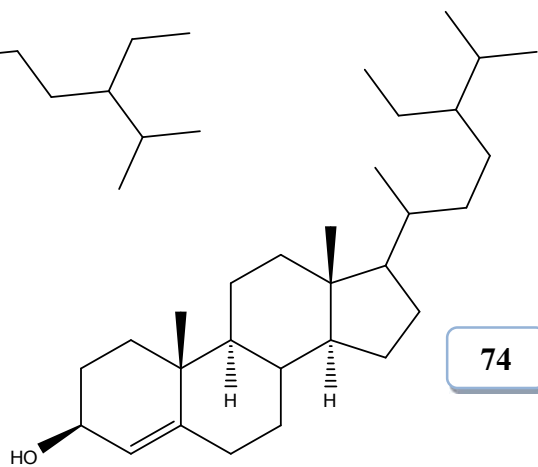
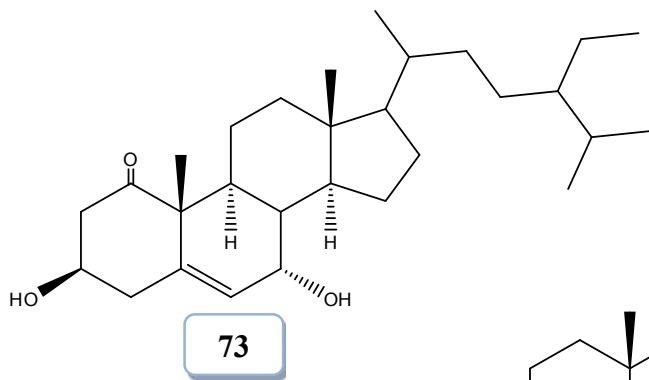
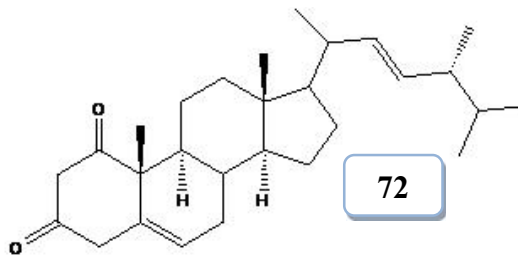
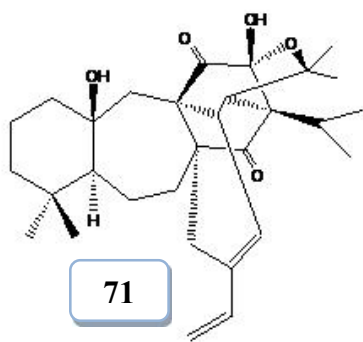
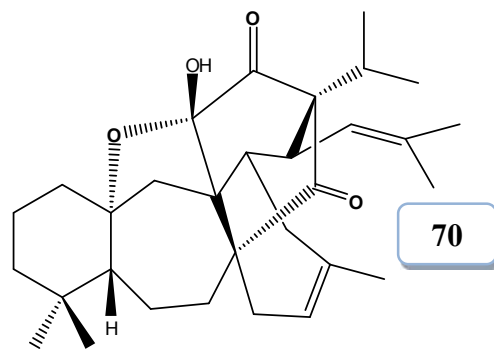
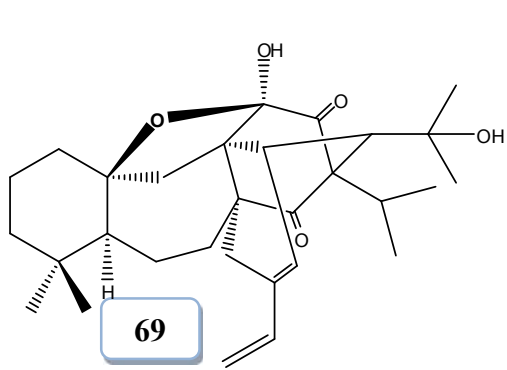


62



	$R_1$	$R_2$
<b>67</b>	O	$\beta$ OH
<b>68</b>	$\beta$ OH	$\alpha$ OH





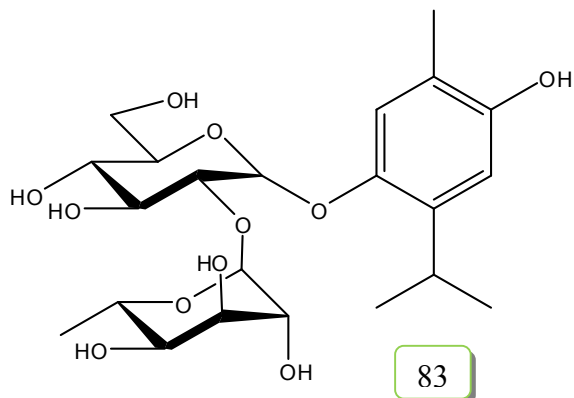
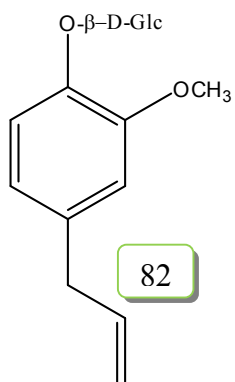
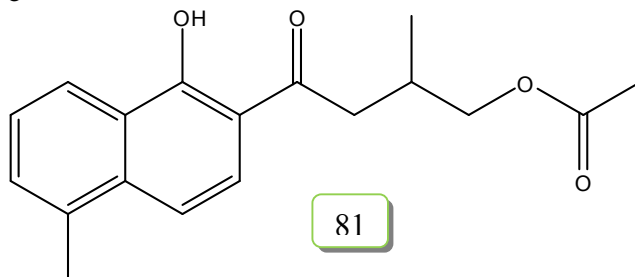
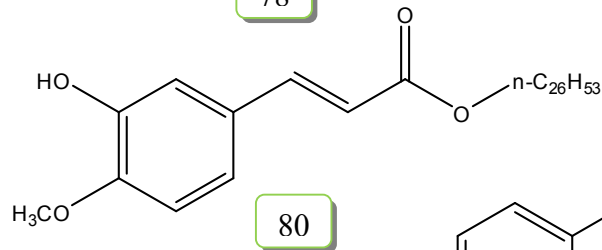
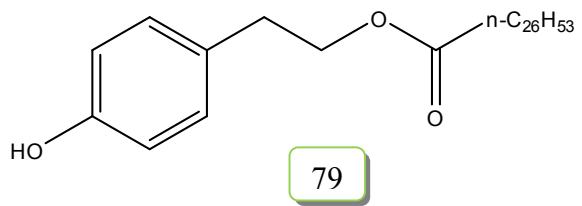
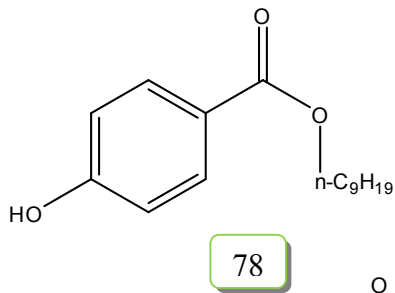
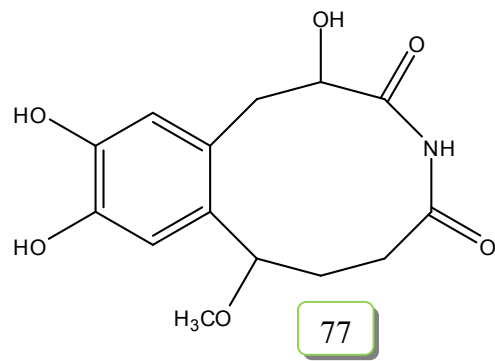
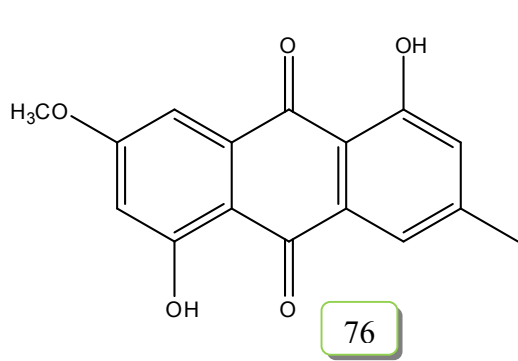
جدول رقم 3-: توزيع البولي فينولات و مركبات أخرى عند جنس *Salvia*

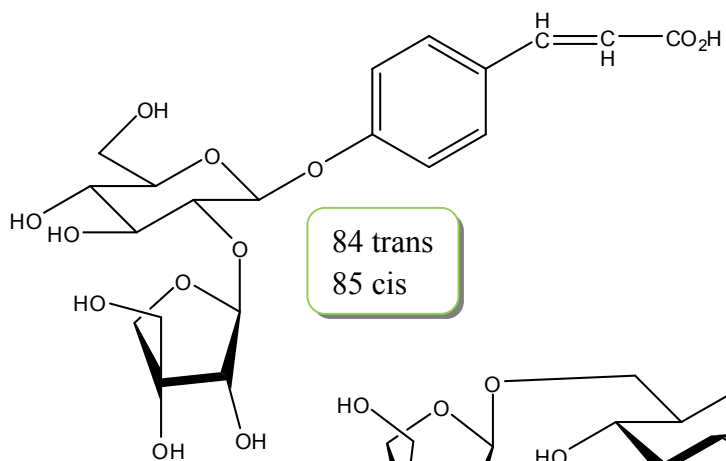
رقم المركب	المركب	الأصناف	المراجع
76	przewalskinone B	<i>S. przewalskii</i> Maxim.	50
77	2,10,11-trihydroxy-8-methoxy-1,6,7,8-tetrahydro-2H-benzo[e]azecine-3,5-dione	<i>S. multiorrhiza</i> Bunge	51
78	nonyl 4-hydroxybenzoate	<i>S. moorcroftiana</i> Bunge	52
79	eicosaheptanoic acid 2-(p-hydroxyphenyl)ethyl ester	<i>S. microphylla</i> Kunth	53
80	hexacosylferulate	<i>S. microphylla</i> Kunth	53
81	4-(1-hydroxy-5-methylnaphthalen-2-yl)-2-methyl-4-oxobutyl acetate (= salvianonol)	<i>S. multiorrhiza</i> Bunge	54
82	eugenylglucoside	<i>S. officinalis</i> L.	55
83	4-hydroxy-2-isopropyl-5-methylphenyl O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>S. moorcroftiana</i>	52
84	trans- <i>p</i> -coumaric acid 4-O-(2'-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	56
85	cis- <i>p</i> -coumaric acid 4-O-(2'-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	56
86	4-hydroxyacetophenone 4-O-(6'-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	56
87	6-O-caffeoyl- $\beta$ -D-fructofuranosyl-(2 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	57
88	1-O-caffeoyl- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	57
89	1-O- <i>p</i> -hydroxybenzoyl- $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	57
90	1-O-(2,3,4-trihydroxy-3-methyl)butyl-6-O-feruloyl- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	58
91	octanol ester of cis-O-methyl caffeic acid dimer	<i>S. forskahlei</i> L.	59
92	octanol ester of trans-O-methyl caffeic acid dimer	<i>S. forskahlei</i> L.	59
93	4,4'-bis-benzoic acid heptyl ester	<i>S. multicaulis</i>	47
94	di(4,4'-hexyloxycarbonylphenyl) ether	<i>S. heldrichiana</i>	60
95	melitric acid A	<i>S. officinalis</i> L.	61
96	salvianolic acid I	<i>S. cavaleriei</i>	62

97	methyl melitrate A	<i>S. officinalis</i> L.	61
98	salvianolic acid D	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	63
99	salvianolic acid E	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	63
100	prionitide A	<i>S. prionitis</i>	64
101	prionitide B	<i>S. prionitis</i>	64
102	salvianolic acid J	<i>S. flava</i>	65
103	4-{4-O-[6-(4-hydroxybenzoyl)-O-β-D-glucopyranosyl]-3-hydroxyphenyl} butan-2-one (= <b>salviaplebeiaside</b> )	<i>S. plebeia</i> R. Br.	66
104	7,8-dihydroxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-1,2-dihydronaphthalene-1,3-dicarboxylic acid di(1-carboxy-2-(3,4 dihydroxyphenyl)) ethyl ester (= <b>salvianolic acid L</b> )	<i>S. officinalis</i> L.	68
105	lithospermate B	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	69
106	salvianolic acid B	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	70
107	dimethyl heptamethylsalvianolate B	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	71
108	salvianolic acid C	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	70
109	yunnaneic acid A	<i>S. yunnanensis</i>	71
110	yunnaneic acid B	<i>S. yunnanensis</i>	71
111	yunnaneic acid D	<i>S. yunnanensis</i>	71
112	yunnaneic acid C	<i>S. yunnanensis</i>	71
113	sagerinic acid	<i>S. officinalis</i> L.	72
114	nubatin	<i>S. nubicola</i>	73
115	6,8-di-C-glucosylapigenin (= <b>vicenin-2</b> )	<i>S. officinalis</i> L.	56-74
116	luteolin 7-O-β-D-glucoside	<i>S. officinalis</i> L.	56-74
117	luteolin 7-O-glucuronide	<i>S. officinalis</i> L.	56-74
118	luteolin 3'-O-glucuronide	<i>S. officinalis</i> L.	56-74
119	6-hydroxyluteolin 7-O-glucoside	<i>S. officinalis</i> L.	56-74
120	6-methoxyluteolin 7-O-glucoside	<i>S. tomentosa</i>	75
121	6-hydroxyluteolin 5-O-glucoside	<i>S. tomentosa</i>	76
122	6-hydroxyluteolin 7-O-glucuronide	<i>S. verticillata</i> L. <i>S. officinalis</i> L.	77 56

123	apigenin 7-O-β-D-glucopyranosyl-(1"→4")-β-D-glucopyranoside(apigenin 7-O-cellobioside)	<i>S. uliginosa</i>	78
124	apigenin 7,4'-O,O-di-β-D-glucopyranoside (apigenin 7,4'-O,O-diglucoside)	<i>S. uliginosa</i>	78
125	delphinidin 3-O-[6-O-(p-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside]-5-O-[4-O-acetyl-6-O-malonyl-β-D-glucopyranoside]	<i>S. uliginosa</i>	79
126	genkwanin 4'-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranoside	<i>S. moorcroftiana</i>	80
127	genkwanin 4'-O-{α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)]-β-D-galactopyranoside}	<i>S. moorcroftiana</i>	80
128	genkwanin 4'-[O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-galactopyranoside]	<i>S. moorcroftiana</i>	52
129	genkwanin 4'-[O-α-L-arabinopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranoside]	<i>S. moorcroftiana</i>	52
130	8-methoxygenistein 7-O-α-L-rhamnoside 4'-O-β-D-glucoside	<i>S. triloba</i>	81
131	salvionoside A	<i>S. nemorosa</i> L.	82
132	salvionoside B	<i>S. nemorosa</i> L.	82
133	salvionoside C	<i>S. nemorosa</i> L.	82
134	(6R,9R)-3-oxo-α-ionol β-D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	83
135	(6R,9S)-3-oxo-α-ionol β-D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	83
136	(E)-4-[5-(hydroxymethyl)furan-2-yl]but-3-en-2-one	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	84
137	5-(methoxymethyl)-1H-pyrrole-2-carbaldehyde	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge	85
138	salvianolic acid N	<i>S. yunnanensis</i> <i>S. chinensis</i> <i>S. prionitis</i>	86 87 88
139	5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-2-(3'-methoxy-4'-hydroxyphenyl)-3-benzo[b]furancarbaldehyde	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge <i>S. yunnanensis</i> <i>S. flava</i> <i>S. prionitis</i>	89 90 91 92
140	salvianolic acid A	<i>S. yunnanensis</i>	90
141	methyl salvianolate A	<i>S. yunnanensis</i>	90
142	ethyl salvianolate A	<i>S. yunnanensis</i>	90
143	lithospermic acid	<i>S. yunnanensis</i>	90

144	cis-lithospermic acid	<i>S. yunnanensis</i>	90
145	lignan secoisolariciresinol diester	<i>S. plebeia</i> R. Br.	93-94
146	Seco-isolariciresinol branched fatty diester	<i>S. plebeia</i> R. Br.	94
147	sagecoumarin	<i>S. miltiorrhiza</i> Bunge <i>S. officinalis</i> L.	95 96
148	(1S,2R,4R)-1,8-epoxy-p-menthan-2-yl-O-β-D-glucopyranoside	<i>S. officinalis</i> L.	55
149	ethyl O-β-D-glucopyranosyl tuberonate	<i>S. officinalis</i> L.	58
150	lololide	<i>S. divinorum</i> Epling & Játiva	97





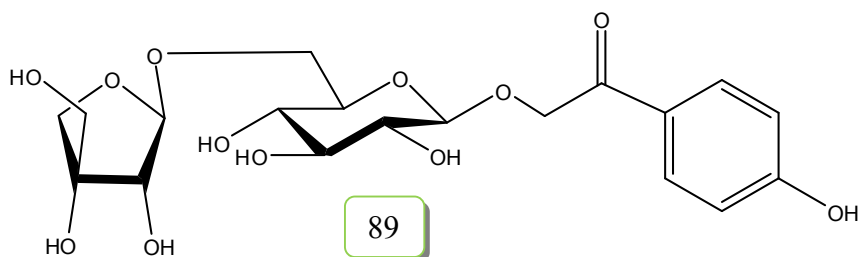
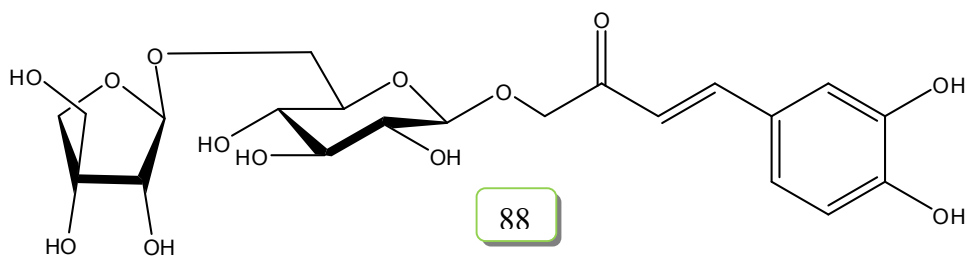
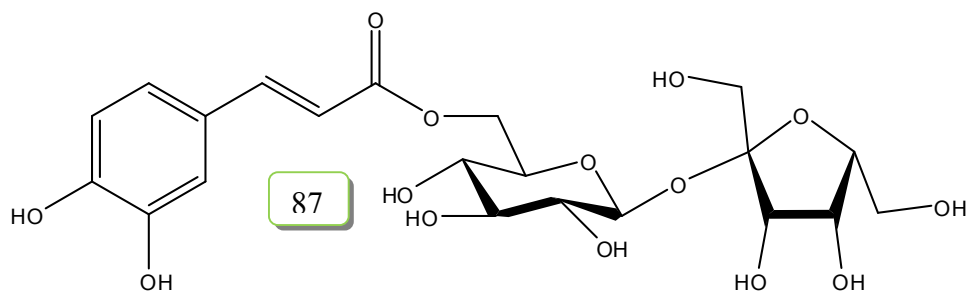
85 cis

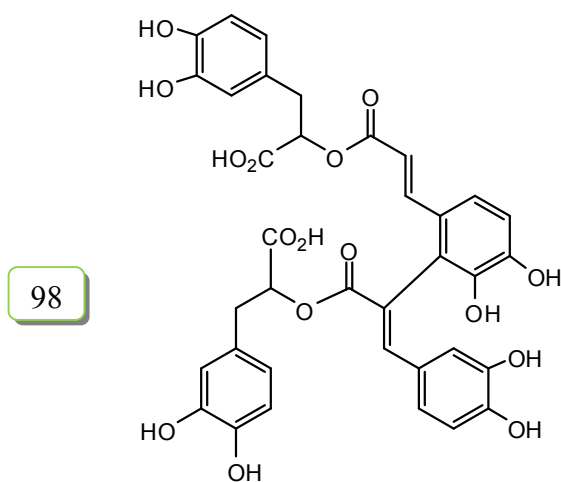
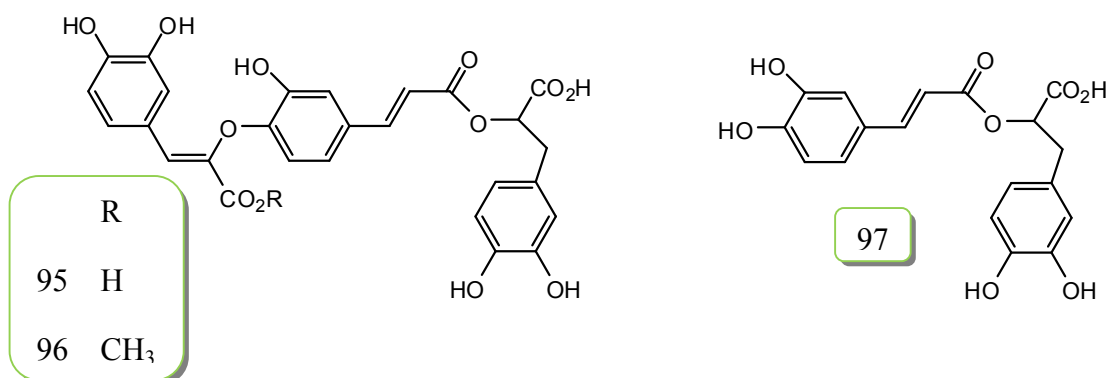
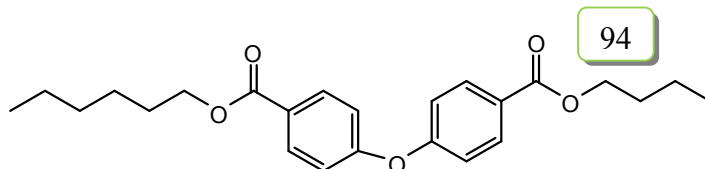
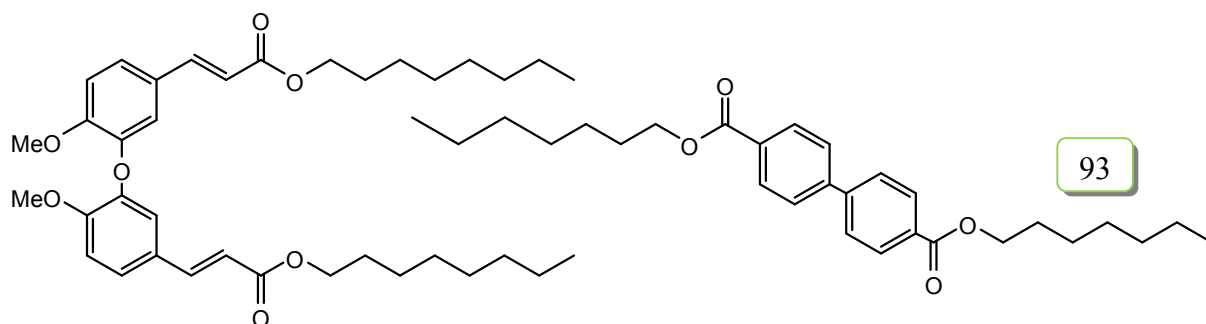
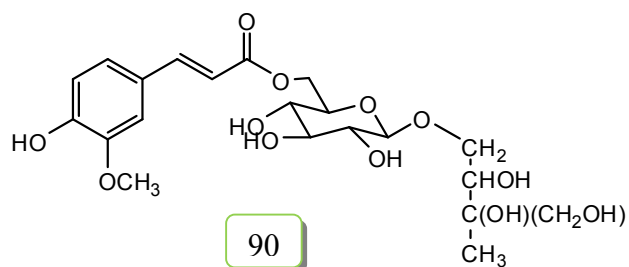
86

87

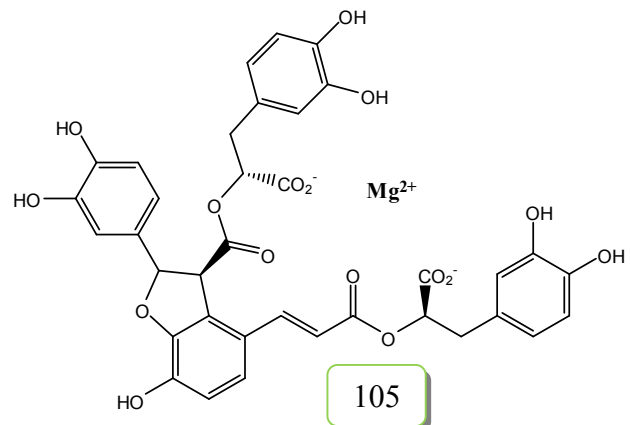
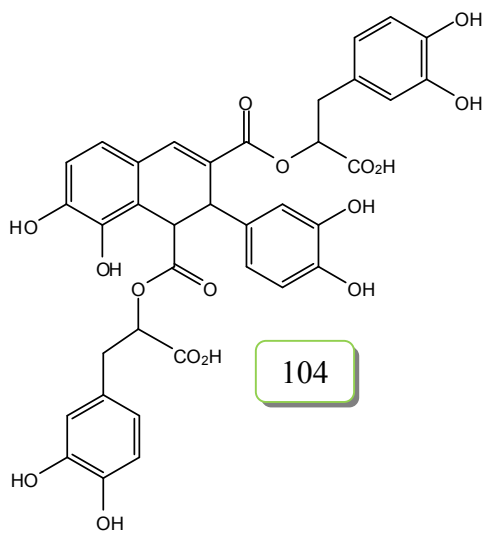
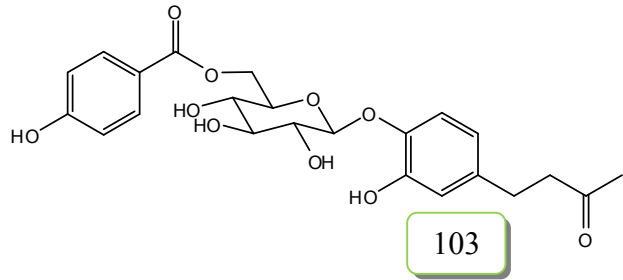
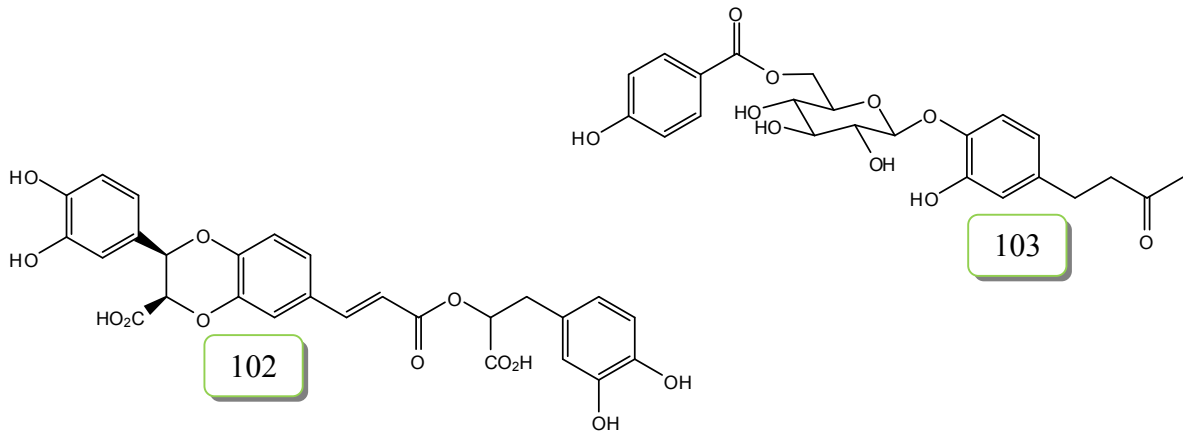
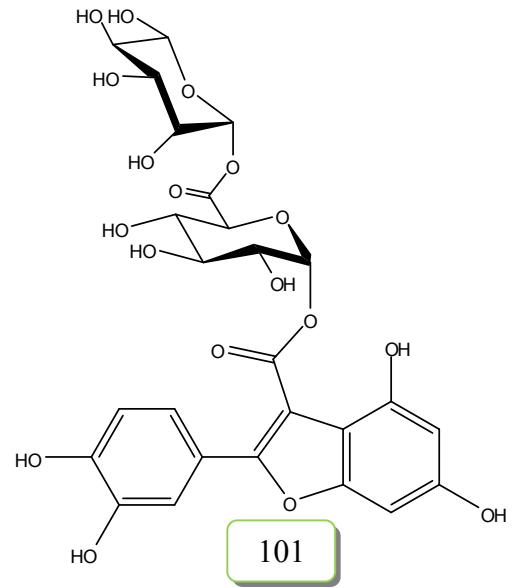
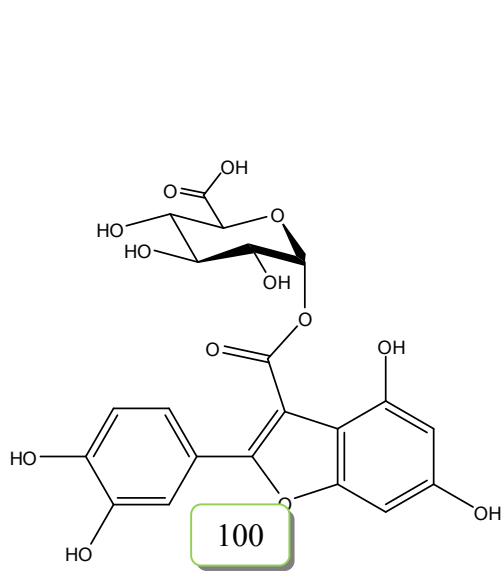
88

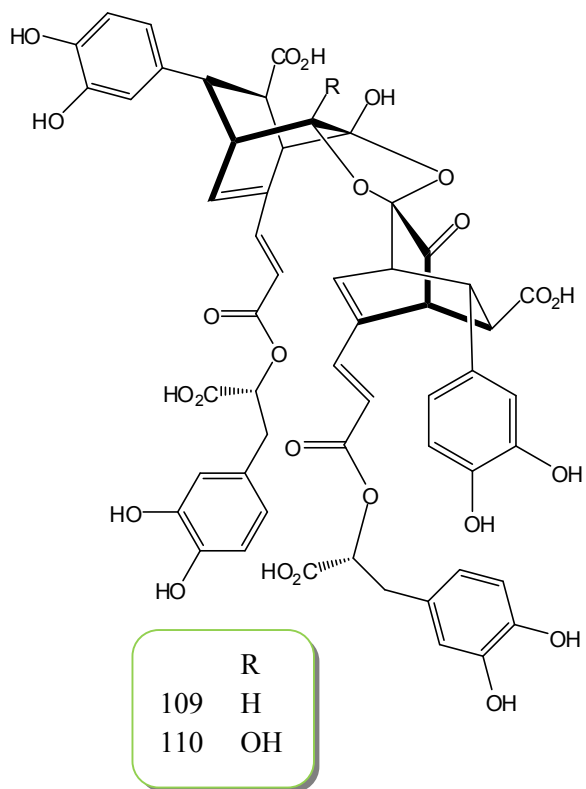
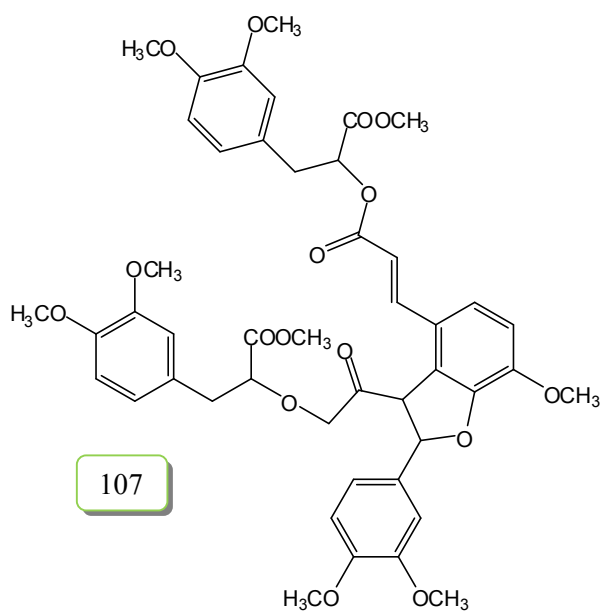
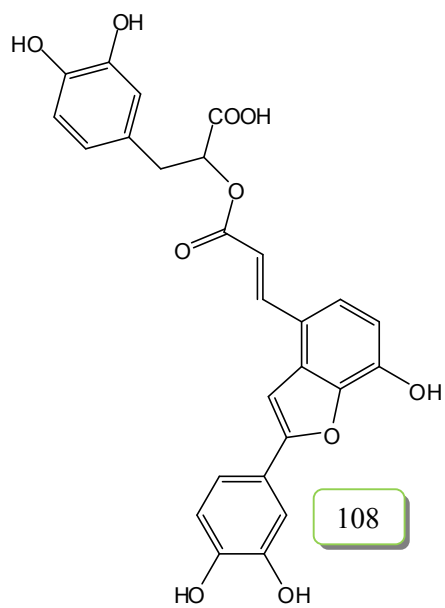
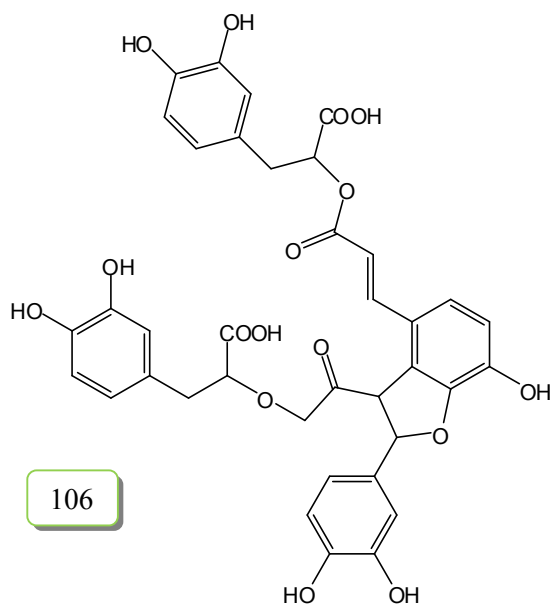
89

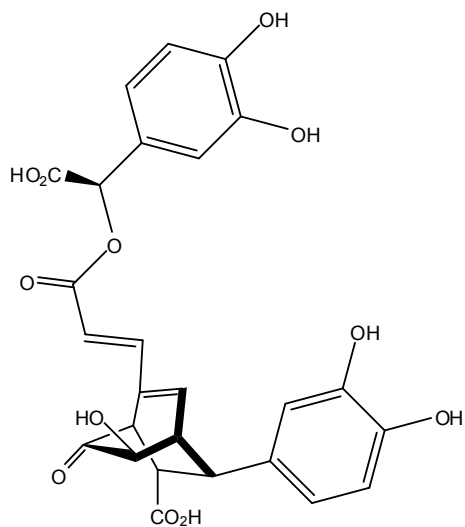




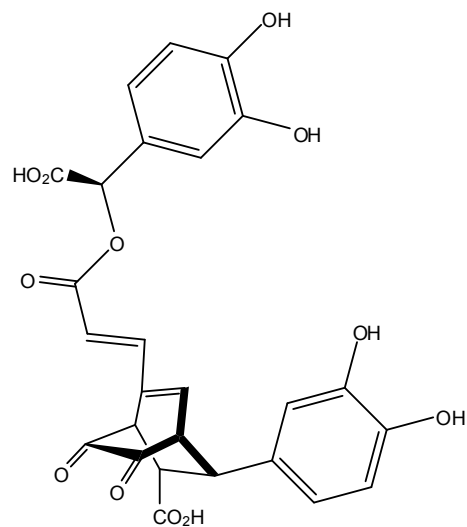




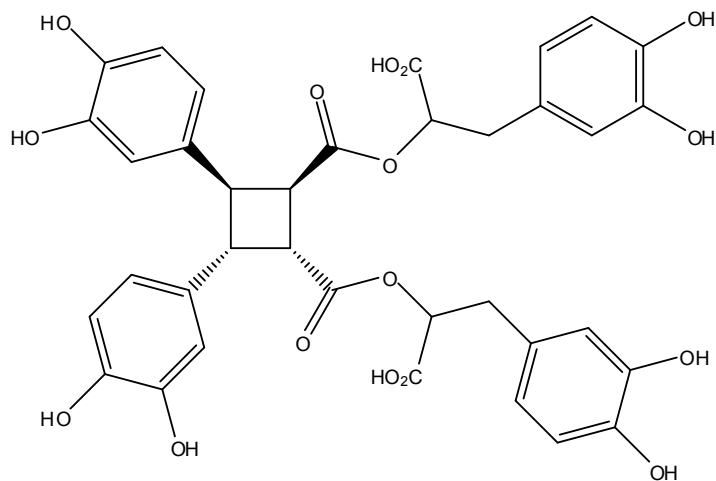




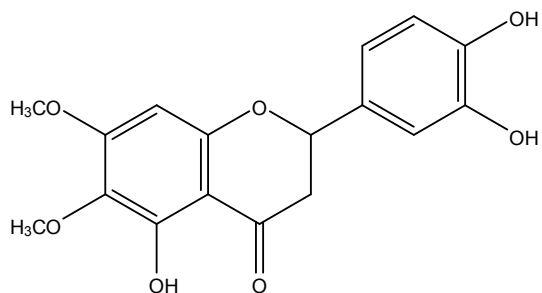
111



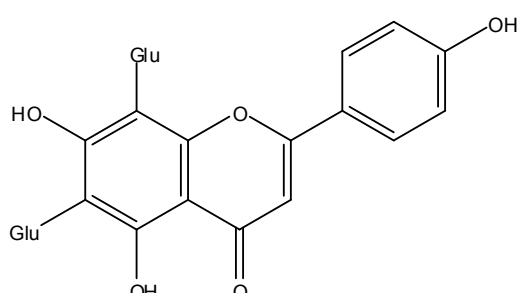
112



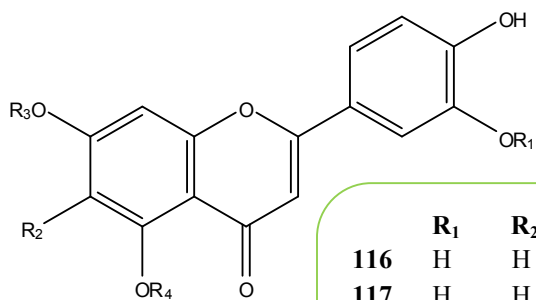
113



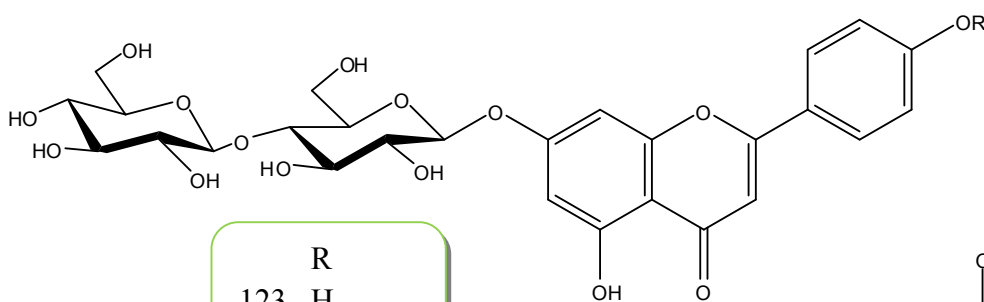
114



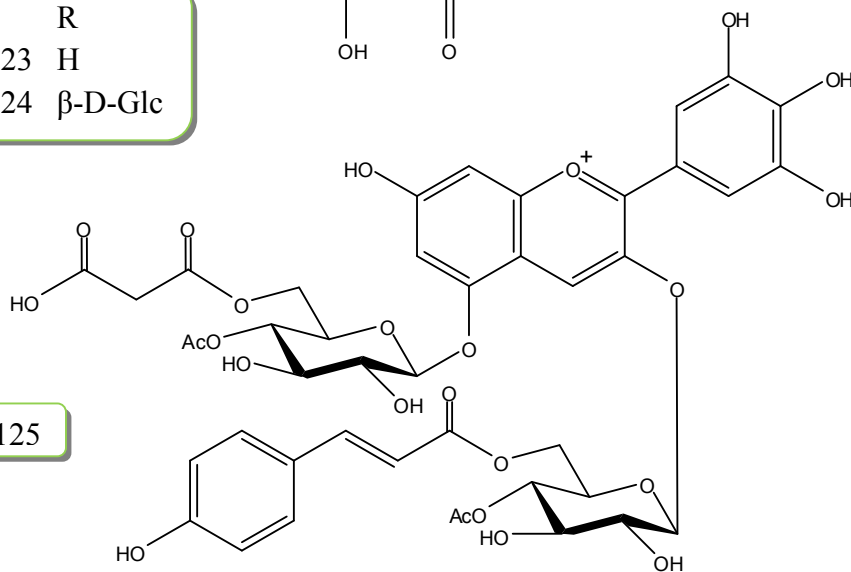
115



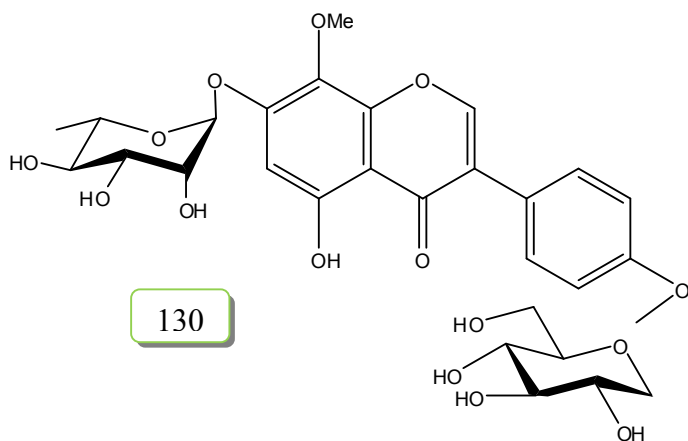
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>116</b>	H	H	Glc	H
<b>117</b>	H	H	Glucu	H
<b>118</b>	Glucu	H	H	H
<b>119</b>	H	OH	Glc	H
<b>120</b>	H	OCH <sub>3</sub>	Glc	H
<b>121</b>	H	OH	H	Glc
<b>122</b>	H	OH	Glucu	H



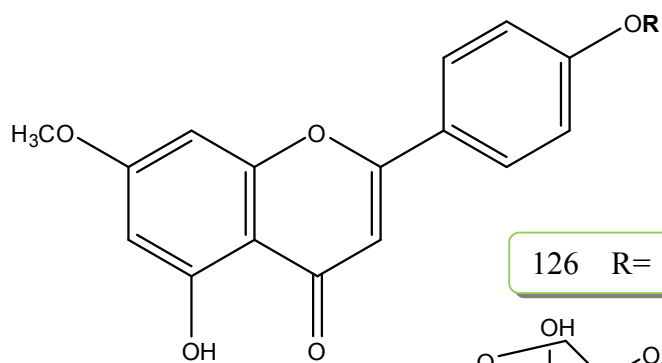
R
<b>123</b> H
<b>124</b> β-D-Glc



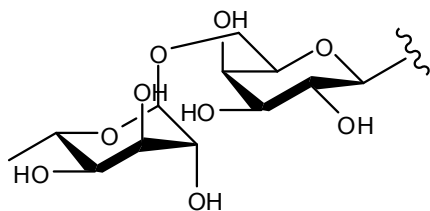
**125**



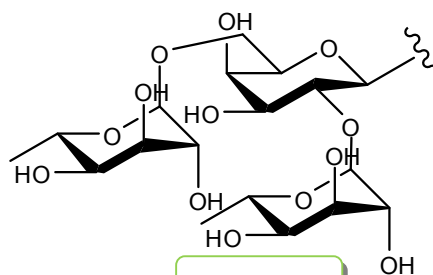
**130**



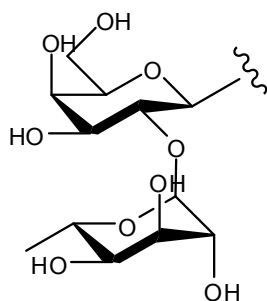
126 R=



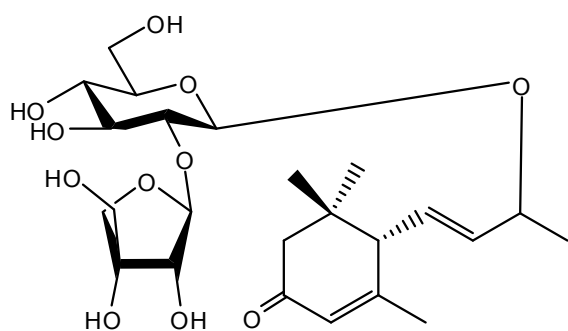
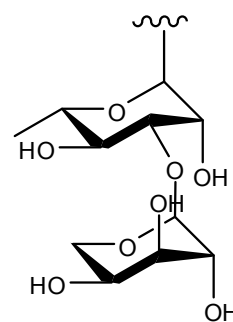
127 R=



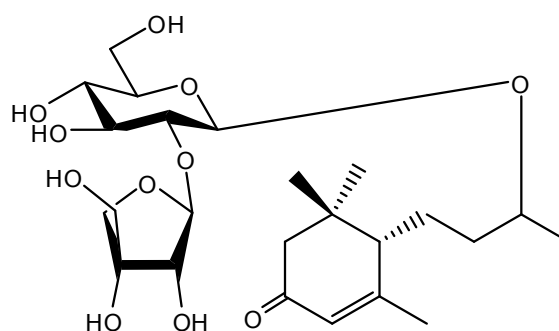
128 R=



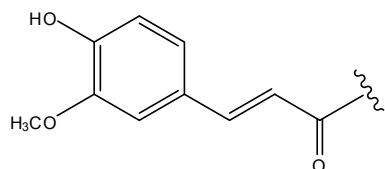
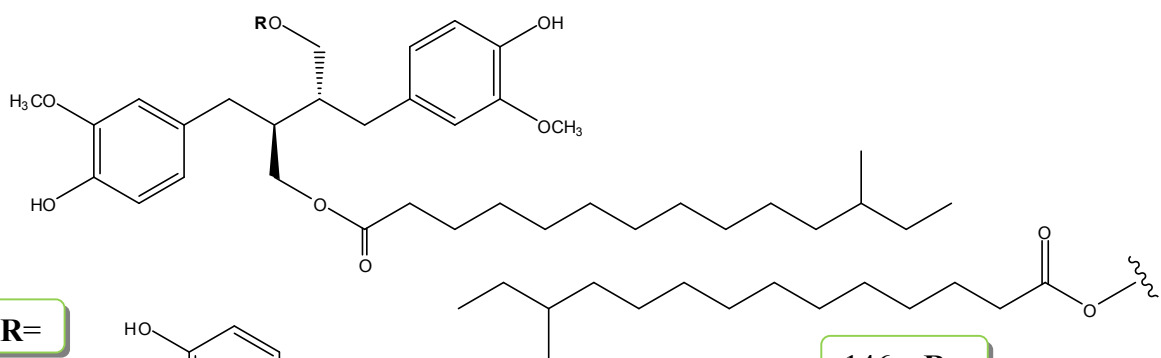
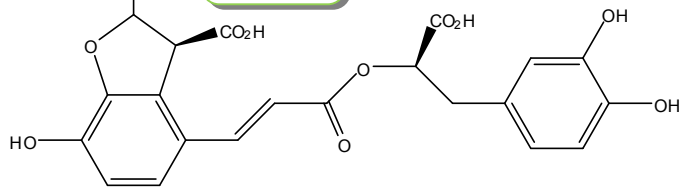
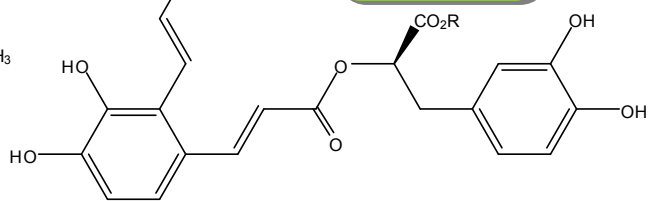
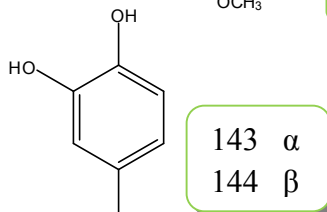
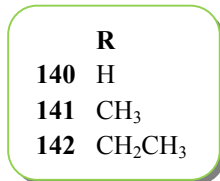
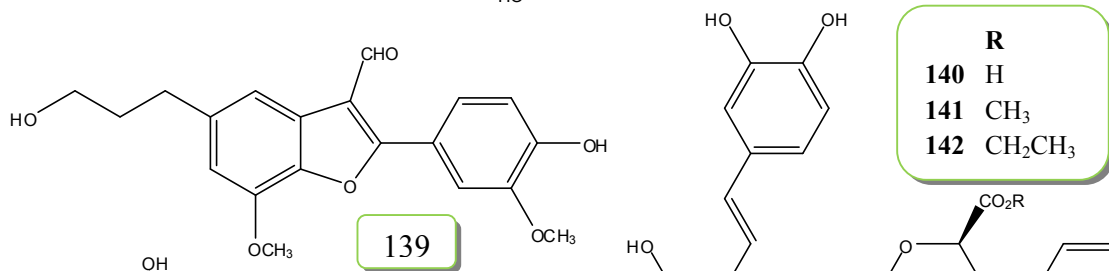
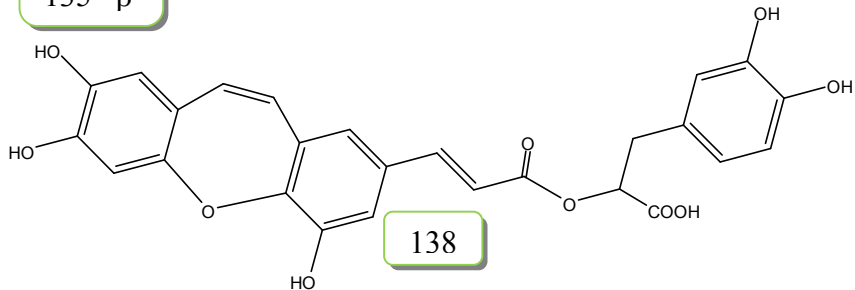
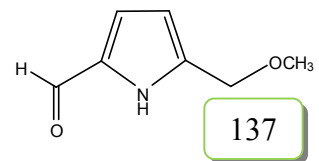
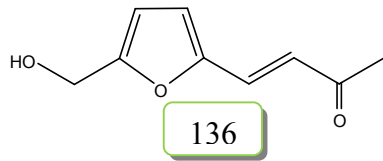
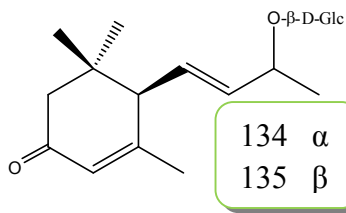
129 R=

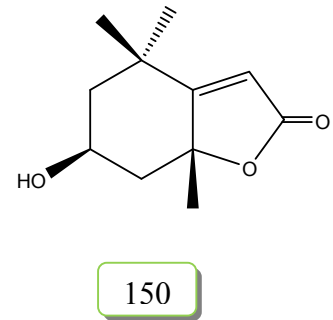
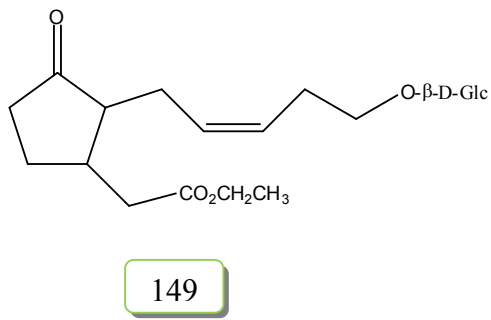
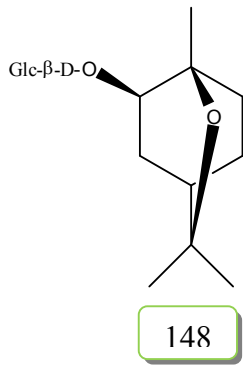
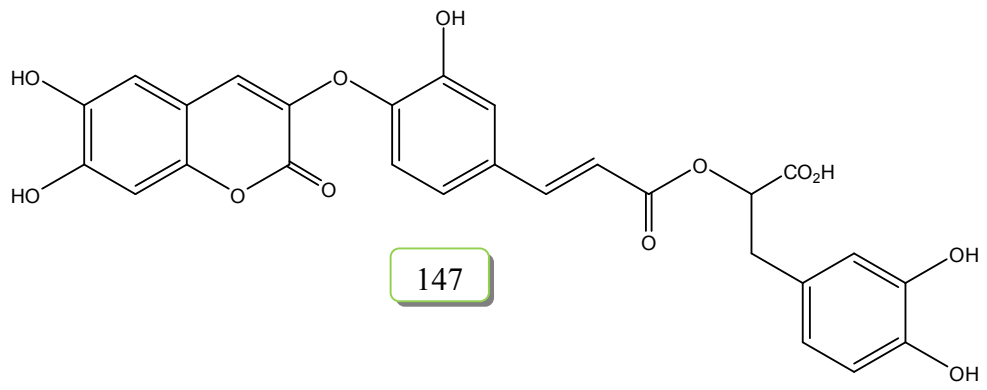


131  $\alpha$   
132  $\beta$



133





## المراجع

- [1] A. Kabouche, Z. Kabouche, Bioactives diterpenoids of *Salvia* species. (2008). *Studies in Natural Products Chemistry*, 35, 753-833. Edited by Atta-u-Rahman, Elsevier.
- [2] Savona, G., Bruno, M. (1983). Terpenoids of Cultivated *Salvia canariensis*. *J. Nat. Prod*, 46, 593.
- [3] Li, L. N., Tan, R., Chen, W. M. (1984). Salvianolic acid A, a new depside from roots of *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Med*, 1984 50, 227.
- [4] Ulubelen, A., Brieskorn, C. H. (1977). Chemical study of the herba of *Salvia amplexicaulis*. *Planta Med*, 31, 80.
- [5] Domínguez, X. A., Gonzalez, H. F. (1972). Extractives from *Salvia bellotaeflora*. *Phytochemistry*, 11, 2641.
- [6] Delgado, G.; Ríos, M. (1990). Triterpenoids of *Salvia longystyla*. *Planta Med*, 56, 243.
- [7] Topçu, G., Altiner, E. N., Gozcu, S.; Halfon, B., Aydogmus, Z., Pezzuto, J. M., Zhou, B. N., Kingston, D. G. I. (2003). Studies on di- and triterpenoids from *Salvia staminea* with cytotoxic activity. *Planta Med*, 69, 464.
- [8] Topçu, G., Türkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, J. K., Kingston, D. G. I. (2004). *Triterpenoids from Salvia pinnata*. *J. Nat. Prod*, 67, 118.
- [9] Topçu, G., Ulubelen, A. (1999). Triterpenoids from *Salvia kronenburgii*. *J. Nat. Prod*, 62, 1605.
- [10] Bruno, M., Savona, G., Hueso-Rodríguez, J. A., Pascual, C., Rodríguez, B. (1987). Ursane and oleanane triterpenoids from *Salvia argentea*. *Phytochemistry*, 26, 497.
- [11] Almanza, G., Balderrama Cecilia, L. (1997). Clerodane diterpenoids and an ursane triterpenoid from *Salvia haenkei*. *Tetrahedron*, 53, 14719.
- [12] Mukherjee, K. S., Bhattacharya, M. K., Ghosh, P. K. (1982). A triterpene acid constituent of *Salvia lanata*. *Phytochemistry*, 21, 2416.
- [13] Ahmad, Z., Mehmood, S., Ifzal, R., Malik, A., Afza, N., Ashraf, M., Jahan, E. (2007). ursane-type triterpenoid from *Salvia santolinifolia*. *Turk. J. Chem*, 31, 495.
- [14] Mehmood, S., Riaz, N., Nawaz, S. A., Afza, N., Malik, A., Choudhary, M. I. (2006). Slavins A (1) and B (2), the new amyrin type triterpenes, have been isolated from the chloroform soluble fraction of *Salvia*. *Arch. Pharm. Res*, 29, 195.
- [15] Gonzalez, A. G., Andres, L. S., Ravelo, A. G., Luis, J. G., Bazzocchi, I. L., West, J. (1990). Terpenoids from *Salvia mellifera*. *Phytochemistry*, 29, 1691.
- [16] De la Torre, M. C., Bruno, M., Piozzi, F., Savona, G., Rodriguez, B., Arnold, N. A. (1990). Terpenoids from *Salvia willeana* and *S. Virgata*. *Phytochemistry*, 29, 668.



- [17] Pereda-Miranda, R., Delgado, G., de Vivar, A. R. (1986). Flavonoids from *Salvia nicolsoniana*. *J. Nat. Prod*, 49, 225.
- [18] De Felice, A., Bader, A., Leone, A., Sosa, S., Loggia, R. D., Tubaro, A., De Tommasi, N. (2006). New polyhydroxylated triterpenes and anti-inflammatory activity of *Salvia hierosolymitana*. *Planta Med.*, 72, 643.
- [19] Wang, Y. L., Song, D. D., Li, Z. L., Yuan, T., Zhang, H. L., Pei, Y. H., Jing, Y. K., Hua, H. M. (2009). Triterpenoids isolated from the aerial parts of *Salvia chinensis*. *Phytochemistry Lett*, 2, 81.
- [20] Ulubelen, A., Ayanolu, E. (1976). Vergatic acid, a new pentacyclic triterpene from *Salvia virgata*. *Phytochemistry*, 15, 309.
- [21] Mehmood, S., Riaz, N., Nawaz, S. A., Afza, N., Malik, A., Choudhary, M. I. (2006). New butyrylcholinesterase inhibitory triterpenes from *Salvia santolinifolia*. *Arch. Pharm. Res*, 29, 195.
- [22] Ulubelen, A., Topçu, G., Sönmez, U., Eris, C. (1994). Terpenoids from *Salvia nemorosa*. *Phytochemistry*, 35, 1065.
- [23] Ballesta-Acosta, M. C., Pascual-Villalobos, M. J., Rodríguez, B. (2002). A new 24-nor-oleanane triterpenoid from *Salvia carduacea*. *J. Nat. Prod*, 65, 1513.
- [24] Cioffi, G., Bader, A., Malafronte, A., Dal Piaz, F., De Tommasi, N. (2008). Secondary metabolites from the aerial parts of *Salvia palaestina* Benth. *Phytochemistry*, 69, 1005.
- [25] Wang, N., Niwa, M., Luo, H. W. (1988). Triterpenoids from *Salvia przewalskii*. *Phytochemistry*, 27, 299.
- [26] Savona, G., Bruno, M., Rodríguez, B. (1987). Triterpenoids from *Salvia deserta*. *Phytochemistry*, 26, 3305.
- [27] Topçu, G., Ulubelen, A., Eris, C. (1994). Di- and triterpenoids of *Salvia pomifera*. *Phytochemistry*, 36, 743.
- [28] Ulubelen, A., Topçu, G. (1984). Triterpenoids from *Salvia pinnata*. *Phytochemistry*, 23, 133.
- [29] Ulubelen, A., Brieskorn, C. H., Zdemir, N. (1977). Triterpenoids of *Salvia horminum*, constitution of a new diol. *Phytochemistry*, 16, 790.
- [30] Al-Hazimi, H. M. G., Miana, G. A., Deep, M. S. H. (1987). Terpenoids from *Salvia lanigera*. *Phytochemistry*, 26, 1091.
- [31] Ortega, A., Cárdenas, J., Gage, D. A., Maldonado, E. (1995). Abietane and clerodane diterpenes from *Salvia regla*. *Phytochemistry*, 39, 931.
- [32] Hussein, A. A., de la Torre, M. C., Rodríguez, B., Hammouda, F. M., Hussiney, H. A. (1997). Modified abietane diterpenoids and a methoxylupane derivative from *Salvia palaestina*. *Phytochemistry*, 45, 1663.

- [33] Firdous, S., Dardass, A. K. Y., Khan, K. M., Usmani, S. B., Ahmad, V. U. (1999). A new triterpenoid from the leaves of *Salvia triloba*. *Fitoterapia*, 70, 326.
- [34] Anaya, J., Caballero, M. C., Grande, M., Navarro, J. J., Tapia, I., Almeida, J. F. (1989). A lupeol derivative from *Salvia pratensis*. *Phytochemistry*, 28, 2206.
- [35] Rauter, A., Branco, I., Lopes, R., Justino, J., Silva, F., Noronha, J., Cabrita, E., Brouard, I., Bermejo, J. (2007). A new lupene triterpenetriol and anticholinesterase activity of *Salvia sclareoides*. *Fitoterapia*, 78, 474.
- [36] Pan, Z. H., Wang, Y. Y., Li, M. M., Xu, G., Peng, L. Y., He, J., Zhao, Y., Li, Y., Zhao, Q. S. (2010). Terpenoids from *Salvia trijuga*. *J. Nat. Prod.*, 73, 1146.
- [37] García-Alvarez, M. C., Savonat, G., Rodríguez, B. (1981). Triterpenoids from *Salvia phlomoides*, three new lupane derivatives. *Phytochemistry*, 20, 481.
- [38] Topçu, G., Ertas, A., Kolak, U., Ozturk, M., Ulubelen, A. (2007). Antioxidant Activity Tests On Novel Triterpenoids From *Salvia Macrochlamys*. *Arkivoc*, 7, 195.
- [39] Ali, M. S., Ahmed, S., Ibrahim, S. A., Tareen, R. B. Chem. (2005). Characterization and bioscreening of a new triterpenoid and a flavanone isolated from *Salvia nubicola*. *Biodiversity*, 2, 910.
- [34] Ulubelen, A., Topçu, G., Lotter, H., Wagner, H., Eri, C. (1994). Triterpenoids from the aerial parts of *Salvia montbretii*. *Phytochemistry*, 36, 413.
- [41] Ahmad, Z., Fatima, I., Mehmood, S., Ifzal, R., Malik, A., Afza, N. (2008). New Epoxydammarane Triterpenes from *Salvia santolinifolia*. *Helv. Chim. Acta*, 91, 73.
- [42] Valverde, S., Escudero, J., Cristóbal López, J., Ma Rabanal, R. (1985). Two terpenoids from *salvia bicolor*. *Phytochemistry*, 24, 111.
- [43] Pedreros, S., Rodríguez, B., De La Torre, M. C., Bruno, M., Savona, G., Perales, A., Torres, M. R. (1990). Dammarane triterpenes of *Salvia hierosolymitana*. *Phytochemistry*, 29, 919.
- [44] Ahmad, V. U., Zahid, M., Ali, M. S., Choudhary, M. I., Akhtar, F., Ali, Z., Iqbal, M. Z. (1999). Salvadiol-A novel triterpenoid from *Salvia bucharica*. *Tetrahedron Lett*, 40, 7561.
- [45] Ahmad, V. U., Zahid, M., Ali, M. S., Ali, Z., Jassbi, A. R., Abbas, M., Clardy, J., Lobkovsky, E., Tareen, R. B., Iqbal, M. Z. (1999). Salvadiones-A and -B: Two terpenoids having novel carbon skeleta from *Salvia bucharica*. *J. Org. Chem*, 64, 8465.
- [46] Ulubelen, A., Tan, N., Sönmez, U., Topçu, G. (1998). Diterpenoids and triterpenoids from *Salvia multicaulis*. *Phytochemistry*, 47, 899.
- [47] Topçu, G., Tan, N., Kökdil, G., Ulubelen, A. (1997). Terpenoids from *Salvia glutinosa*. *Phytochemistry*, 45, 1293.

- [48] Kolak, U., Ari, S., Birman, H., Hasancebi, S., Ulubelen, A. (2001). Cardioactive diterpenoids from the roots of *Salvia amplexicaulis*. *Planta Med*, 67, 761.
- [49] U. Kolak, A. Kabouche, M. Ozturk, Z. Kabouche, G. Topçu, A. Ulubelen. Antioxidant diterpenoids from the roots of *Salvia barrelieri*. *Phytochemical analysis* (2009), 20, 320-327
- [50] Lu, X.Z., Xi, W.H., Shen, J.X., Naoki, H., (1991). Przewalskinic acid A, a new phenolic acid from *Salvia przewalskii* Maxim. *Chinese Chemical Letters* 2, 301–302.
- [51] Choi, J. S., Kang, H. S., Jung, H. A., Jung, J. H., Kang, S. S. (2001). A new cyclic phenyllactamide from *Salvia miltiorrhiza*. *Fitoterapia*, 72, 30.
- [52] Zahid, M.; Saeed, M.; Asim, M.; Ishrud, O.; Wu, S.; Ahmad, V. U.; Pan, Y. (2003). New glycosides from *Salvia moorcroftiana* (Lamiaceae). *Helvetica Chimica Acta* , 86, 2021.
- [53] Aydoğmuş, Z., Yeşilyurt, V., Topçu, G. (2006). Constituents of *Salvia microphylla*. *Nat. Prod. Res* , 20,775.
- [54] Don, M., Shen, C., Syu, W., Ding, Y., Sun, C. (2006). Cytotoxic and aromatic constituents from *Salvia miltiorrhiza*. *Phytochemistry*, 67, 497.
- [55] Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., La Voie, E.J., Huang, T.-C., Ho, C.-T., (1998). Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4869–4873.
- [56] Lu, Y., Yeap Foo, L., (2000). Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 55, 263.
- [57] Wang, M., Shao, Y., Li, J., Zhu, N., Rangarajan, M., LaVoie, E. J., Ho, C. T. (1999). Antioxidative phenolic glycosides from sage (*Salvia officinalis*). *J. Nat. Prod*, 62, 454.
- [58] Wang, M.; Kikuzaki, H.; Zhu, N.; Sang, S.; Nakatani, N.; Ho, C. T. (2000). Isolation and structural elucidation of two new glycosides from sage (*Salvia officinalis* L.). *J. Agric. Food Chem*; 48, 235.
- [59] Ulubelen, A., Sönmez, U., Topçu, G., Johansson, C. B. (1996). An abietane diterpene and two phenolics from *Salvia forskahlei*. *Phytochemistry*, 42, 145.
- [60] Ulubelen, A., Topçu, G. (1995). Diterpenoids from *Salvia heldrichiana*. *Phytochemistry*, 40, 1473.
- [61] Lu, Y., Foo, L. Y., Wong, H. (1999). Sagecoumarin, a novel caffeic acid trimer from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 52, 1149.
- [62] Zhang, H. J., Li, L. N. (1994). Salvianolic Acid I: A New Depside from *Salvia cavaleriei*. *Planta Med*, 60, 70.
- [63] Ai, C., Li, L. (1992). Salvianolic Acids D and E: Two New Depsides from *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Med*, 58, 197.
- [64] Zhao, L. M., Liang, X. T., Li, L. N. (1996). Prionitisides A and B, two phenolic glycosides from *Salvia prionitis*. *Phytochemistry*, 42, 899.

- [65] Ai, C. B., Deng, Q. H., Song, W. Z., Li, L. N. (1994). Salvianolic acid J, a depside from *Salvia flava*. *Phytochemistry*, 37, 907.
- [66] Jin, Q. (2009). A New Phenylbutanone Glucoside from *Salvia plebeia*. *Nat. Prod. Sci*, 15, 106.
- [67] Lu, Y., Foo, L. Y. (2001). Salvianolic acid L, a potent phenolic antioxidant from *Salvia officinalis*. *Tetrahedron Lett*, 42, 8223.
- [68] Zhang, Y., Akao, T., Nakamura, N., Duan, C. L., Hattori, M., Yang, X. W., Liu, J. X. (2004). Extremely low bioavailability of magnesium lithosperate B, an active component from *Salvia miltiorrhiza*, in rat. *Planta Med*, 70, 138.
- [69] Tanaka, T., Nishimura, A., Kouno, I., Nonaka, G., Young, T. J. (1996). Isolation and characterization of yunnanic acids a-d, 4 novel caffeic acid metabolites from *Salvia yunnanensis*. *J. Nat. Prod*, 59, 843.
- [70] Lu, Y., Foo, L. Y. (1999). Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 51, 91.
- [71] Ali, M. S., Ahmed, S., Ibrahim, S. A., Tareen, R. B. (2005). Characterization and bioscreening of a new triterpenoid and a flavanone isolated from *Salvia nubicola*. *Chem. Biodiversity*, 2, 910.
- [72] Lu, Y., Yeap Foo, L. (2000). Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 55, 263.
- [73] Lu, Y., Yeap Foo, L. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chem*, 75, 197.
- [74] Abdalla, M. F., Saleh, N. A. M., Gabr, S., Abu-Eyta, A. M., El-Said, H. (1983). Flavone glycosides of *Salvia triloba*. *Phytochemistry*, 22, 2057.
- [75] Ulubelen, A., Miski, M., Neuman, P., Mabry, T. J. (1979). Flavonoids of *Salvia tomentosa* (Labiatae). *J. Nat. Prod*, 42, 261.
- [76] Ulubelen, A., Topçu, G. (1984). Flavonoids and Triterpenoids from *Salvia verticillata* and *S. pinnata*. *J. Nat. Prod*, 47, 1068.
- [77] Ulubelen, A., Miski, M., Mabry, T. J. (1981). Further Flavones and Triterpenes and the New 6-Hydroxyluteolin 5- $\beta$ -D-Glucoside From *Salvia tomentosa*. *J. Nat. Prod*, 44, 586.
- [78] Veitch, N. C., Grayer, R. J., Irwin, J. L., Takeda, K. (1998). Flavonoid cellobiosides from *Salvia uliginosa*. *Phytochemistry*, 48, 389.
- [79] Ishikawa, T., Kondo, T., Kinoshita, T., Haruyama, H., Inaba, S., Takeda, K., Grayer, R. J., Veitch, N. C. (1999). An acetylated anthocyanin from the blue petals of *Salvia uliginosa*. *Phytochemistry*, 52, 517.
- [80] Zahid, M., Ishrud, O., Pan, Y., Asim, M., Riaz, M., Uddin Ahmad, V. (2002). Flavonoid glycosides from *Salvia moorcroftiana* wall. *Carbohydr. Res*, 337, 403.

- [81] El-Sayed, N. H., Khalifa, T. I., Ibrahim, M. T., Mabry, T. J. (2001). Antiinflammatory and ulcerogenic activities of *Salvia triloba* extracts. *Fitoterapia*, 72, 850.
- [82] Takeda, Y., Zhang, H., Matsumoto, T., Otsuka, H., Oosio, Y., Honda, G., Tabata, M., Fujita, T., Sun, H., Sezik, E. (1997). Megastigmane glycosides from *Salvia nemorosa*. *Phytochemistry*, 44, 117.
- [83] Wang, M., Shao, Y., Huang, T. C., Wei, G. J., Ho, C. T. (1998). Isolation and structural elucidation of aroma constituents bound as glycosides from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem*, 46, 2509.
- [84] Don, M., Shen, C., Syu, W., Ding, Y., Sun, C. (2006). Cytotoxic and aromatic constituents from *Salvia miltiorrhiza*. *Phytochemistry*, 67, 497.
- [85] Don, M. J., Shen, C. C., Lin, Y. L., Syu, W. J., Ding, Y. H., Sun, C. M. (2005). Nitrogen-containing compounds from *Salvia miltiorrhiza*. *J. Nat. Prod*, 68, 1066.
- [86] Zhang, Z. F., Chen, H. S., Peng, Z. G., Li, Z. R., Jiang, J. D. (2008). A potent anti-HIV polyphenol from *Salvia yunnanensis*. *J. Asian Nat. Prod. Res*, 10, 252.
- [87] Qian, T. X., Li, L. N. (1992). Isosalvianolic acid C, a depside possessing a dibenzooxepin skeleton. *Phytochemistry*, 31, 1068.
- [88] Zhao, L. M., Liang, X. T., Li, L. N. (1996). Prionitisides A and B, two phenolic glycosides from *Salvia prionitis*. *Phytochemistry*, 42, 899.
- [89] Li, L. N., Tan, R., Chen, W. M. (1984). Salvianolic acid A, a new depside from roots of *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Med*, 50, 227.
- [90] Zhang, Z. F., Peng, Z. G., Gao, L., Dong, B., Li, J. R., Li, Z. Y., Chen, H. S. (2008). Three new derivatives of anti-HIV-1 polyphenols isolated from *Salvia yunnanensis*. *J. Asian Nat. Prod. Res*, 10, 391.
- [91] Ai, C. B., Deng, Q. H., Song, W. Z., Li, L. N. (1994). Salvianolic acid J, a depside from *Salvia flava*. *Phytochemistry*, 37, 907.
- [92] Zhao, L. M., Liang, X. T., Li, L. N. (1996). Prionitisides A and B, two phenolic glycosides from *Salvia prionitis*. *Phytochemistry*, 42, 899.
- [93] Powell, R. G., Plattner, R. D. (1976). Structure of a secoisolariciresinol diester from *Salvia plebeia* seed. *Phytochemistry*, 15, 1963.
- [94] Plattner, R. D., Powell, R. G. (1978). A secoisolariciresinol branched fatty diester from *Salvia plebeia* seed. *Phytochemistry*, 17, 149.
- [95] Huang, Y. T., Lee, T. Y., Lin, H. C., Chou, T. Y., Yang, Y. Y., Hong, C. Y. (2001). Hemodynamic effects of *Salvia miltiorrhiza* on cirrhotic rats. *J. Physiol. Pharmacol*, 79, 566.
- [96] Lu, Y., Foo, L. Y., Wong, H. (1999). Sagecoumarin, a novel caffeic acid trimer from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, 52, 1149.
- [97] Valdes, L. J., (1986). Loliolide from *Salvia divinorum*. *J. Nat. Prod*, 49, 171.

## الفصل الثالث

---

# دراسة الزيوت الأساسية

## 1. مدخل:

الزيوت الأساسية هي عبارة عن مزيج معقد من المواد المتطايرة [1-2] لها رائحة عطرية، تنتجها بعض النباتات و تستخرج منها على شكل سائل لا تحتوي على الدهون مثل الزيوت النباتية تتواجد بتراكيز منخفضة في النباتات العطرية، تستخدم في العديد من المجالات منها: الطب، الصيدلة، العطور، مستحضرات التجميل، الغذاء [3] حيث تعتبر صناعات كل من مستحضرات التجميل، العطور، النكهات هي المستهلك الرئيسي للزيوت الأساسية. فهي تستخدم كمعززات للنكهة في مختلف المنتجات ( البن، الشاي، الوجبات الجاهزة...إلخ)، كذلك تستعمل في تعطير مستحضرات التجميل (الصابون، الشامبو...) كما تستخدم في مجال المنتجات المنزلية (منظفات و مساحيق للغسيل...) إضافة إلى استعمالها في إخفاء الروائح الكريهة من بعض المنتجات النقية. تستعمل الزيوت الأساسية على نطاق واسع في ميدان طب الأعشاب حيث تستعمل في معالجة عدة أمراض، فمن المعروف منذ القدم و الزيوت الأساسية تمثل فعالية مطهرة غير مهملة ففي الطب التقليدي تستخدم عادة في المساعدة على شفاء و تطهير الجروح أو العلاج من الصدمات، في ميدان طب الأسنان أعطت الزيوت الأساسية نتائج جد مرضية في العلاج و الوقاية من التسوس [4,5]، كما أظهرت الدراسات الحديثة أن مركب géranol و الذي يعتبر واحدا من بين مكونات هذه الزيوت له تأثير على خلايا سرطان القولون [6] بالإضافة إلى النشاط المضاد للإلتهاب [7].

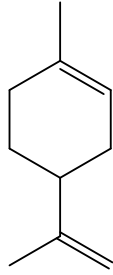
## 2. مكونات الزيوت الأساسية:

أكثر المركبات التي نصادفها في هذه الزيوت هي التربينات و التي تتكون من إتحاد لعدة وحدات من مركب Isoprène ، فإذا اتحدت وحدتي Isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) يتكون ما نسميه بالتربينات الأحادية (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>) أما إذا اتحدت ثلاث وحدات من نفس المركب فيتكون نوع آخر من التربينات و هو السيسكويتربينات (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>) وناذرا ما نجد التربينات الثنائية (C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>) [8-10] و التي تتكون من إتحاد لأربع وحدات من Isoprène. التربينات التي نصادفها في الزيوت هي التي لها درجة تبخر صغيرة يعني كتلتها الجزيئية صغيرة مثل التربينات الأحادية والسيسكويتربينات. وإذا ما نظرنا إلى مكونات الزيوت الأساسية نجد تواجد مركبات أخرى إضافة إلى التي ذكرناها سابقا.

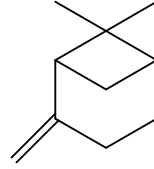
بعض الصيغ الكيميائية لهذه المركبات ممثلة في الشكل 14:

## التربينات الأحادية

### الهيدروكربونات

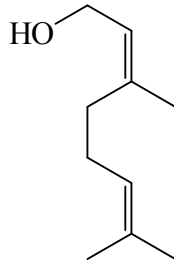


Limonène

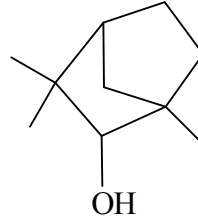


α-pinène

### الكحولات

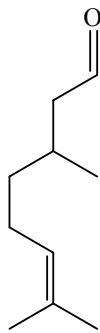


Nérol

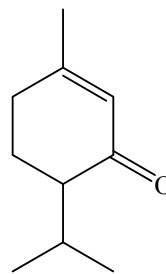


Endo-fenchol

### الألدهيدات و السيتونات



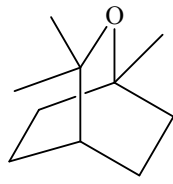
Citronellal



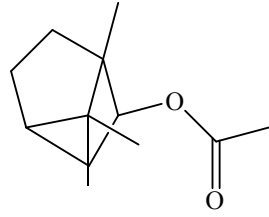
Pipéritone

### الإسترات، الإيثرات و المركبات الفينولية

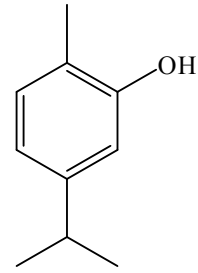




1,8-cinéole



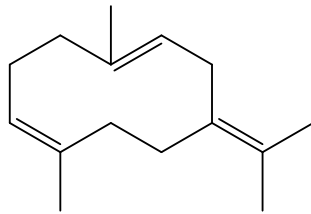
Acétate de Bornyle



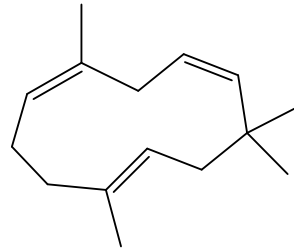
Carvacrol

## السيكويتربينات

### الهيدروكاربونات

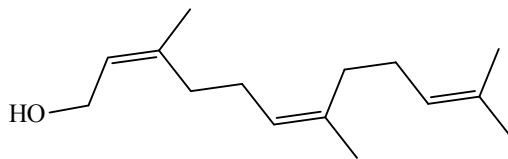


Germacrène B

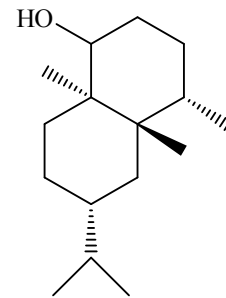


$\alpha$ -Humulène

### الكحولات



Cis-Cis-Farnésol



Eudesmol

شكل -14- : بعض الصيغ الكيميائية للتربينات الأحادية و السيكويتربينات

تتميز هذه المركبات بفعالية بيولوجية متنوعة منها مضادة للبكتيريا [11]، مضادة للأكسدة [12]...

### 3. طرق استخلاص الزيوت الأساسية:

هناك عدة طرق تستعمل لهذا الغرض نذكر منها:

- استخلاص بواسطة مذيب عضوي متطاير (Extraction par solvant organique volatil) [13].
- استخلاص بواسطة ماء جد ساخن (Extraction à l'eau surchauffée) [13].
- استخلاص بواسطة CO<sub>2</sub> فوق الحرج (Extraction par CO<sub>2</sub> super critique) [13].
- استخلاص باستعمال الميكروويف (Extraction par micro-ondes) [14].
- استخلاص باستعمال الموجات فوق الصوتية (Extraction par ultrasons) [13].
- استخلاص باستعمال التقطير المائي (hydrodistillation) [13].
- استخلاص باستعمال بخار التقطير (distillation par entraînement à la vapeur d'eau) [13].

من بين هذه الطرق تعتبر الطريقتين الأخيرتين الأكثر استعمالاً في المجال الصناعي لإنتاج الزيوت الأساسية [15]:

#### ➤ استخلاص باستعمال التقطير المائي:

تعتبر الطريقة الأسهل كما أنها لا تتطلب إمكانيات كبيرة حيث تتم بوضع المادة النباتية في دورق مملوء بالماء مع التسخين لدرجة الغليان، الأبخرة غير المتجانسة تتكاثف في الثلجة لينفصل الزيت عن الماء بسبب اختلاف كثافة كل منهما، الزيت الأساسي أخف من الماء إلا في بعض الحالات الخاصة حيث يسبح الزيت فوق الماء [13].

#### ➤ استخلاص باستعمال بخار التقطير:

في هذا النوع من الاستخلاص لا تعرض النبتة إلى النقع المباشر في الماء حيث توضع على شبكة مثقوبة تسمح لبخار الماء بالمرور عبر النبتة، بخار الماء يقوم بتخريب الخلايا النباتية ليسمح بتحرير المركبات المتطايرة التي تتكاثف بمرورها عبر المكثف، هذه الطريقة تؤدي إلى التحسين في نوعية الزيت الأساسي حيث أن المادة النباتية لا تنقع مباشرة في الماء المغلي [16].

تعتبر هذه الطريقة الأكثر استعمالاً في المجال الصناعي لاستخلاص الزيت الأساسي لنبتة إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) للحصول على مردود جيد إضافة إلى التقليل من وقت الاستخلاص [17].

#### 4. طرق تحديد مكونات الزيوت الأساسية:

تشخيص مكونات الزيوت الأساسية عملية دقيقة تحتاج إلى عدة تقنيات [18]، الطريقة التي غالبا ما تستعمل هي تزاوج لكروماتوغرافيا الطور الغازي (GC) و مطيافية الكتلة (MS) حيث تسمح بتحديد طبيعة هذه المكونات بالمقارنة مع المعطيات الطيفية للمركبات التي تكون مخزنة في مكتبات خاصة بها.

## المراجع

- [1] Association française de Normalisation, Huiles essentielles. (2000). Tome1- Echantillonnage et méthode d'analyse, Tome 2-Vol.1 et 2, Monographies relatives aux huiles essentielles, 6<sup>ème</sup> édition.
- [2] Garnero, J.(1996). Les huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, K 345, Paris.
- [3] Schwob, I. Bessière, J. M. Dherbomez, M. Viano, J. (2002). C. R. Biologies, 325, 781.
- [4] Kato, T., Lijima, H., Ishihara, K., Kanek, T., Hirai, K., Naito, Y., Okuda, K. (1990). Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. Bull. Tokyo. Dent. Coll, 31, 301.
- [5] Sourai, P.G. (1989). Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry: a review Odontostomatol. Prodos. 43, 399.
- [6] Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Duranton, B., Gosse, F., Seiler, N.Raul, F. (2001). Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. J. Phamacol. Exp. Ther., 298, 197.
- [7] Siani, A.C., Ramos, M.F.S., Menezes-de-Lima, Jr., Ribeiro-dos-Santos, R., Fernadez Ferreira, E., Soares, R.O.A., Rosas, E.C., Susunaga, G.S., Guimaraes, A.C., Zoghbi, M.G.B.; Henriques, M.G.M.O. (1999). Evaluation of anti-inflammatory- related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. J. Ethnopharmacol., 66 ,57.
- [8] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. (2008). Review MI-Biological effects of essential oils-A Review Food. Chemical. Toxicol., 46, 446.
- [9] Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. Phytother. Res., 18, 435.
- [10] Vila, R., Mundina, M., Tomif, Fursan, R., Zacchino, S., Casanova, J., Canigural S. (2008). Composition and antifungal activity of the essential oil of *Solidago chilensis*. Planta Med., 68, 164.
- [11] Dorman, H. J. D., et Deans, S. G. (2000). Antimicrobiol agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. J. App. Microbio., 88, 308.
- [12] Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Polission, M., Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of *Tymus sipyleus* subsp. *sipyleus* Var. *rosulans*. J. Food Engineer., 66, 447.
- [13] Bruneton, J. (1999). pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, monoterpènes et sesquiterpènes, TEC-DOC, 3 , 484.

- [14] Lucchesi, M. E., Smadja, J., Baradshaw, S., Louw, W., Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *J. Food. Engineer.*, 79, 1079.
- [15] Way, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chem.*; 106, 408.
- [16] Franchomme, P., Péroël, D. (1990). Matière médicale aromatique fondamentale- L'aromathérapie exactement, Roger Jallois éditeur, Lilmoges, 4, 317.
- [17] Marzoug, Z., Neffai, A., Marzoug, B., Chraif, I., Khemiss, F., Chekirghedira, L., Boukef, K. (2006). Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. *J. Food Agric. Envir.*, 4, 61.
- [18] Cavalli, J.F. (2002). Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de doctorat en chimie organique et analytique université de Corse Pascal Paoli.

## الفصل الرابع

---

عموميات على الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيرية

## I الفعالية المضادة للجذور الحرة:

### I-1- مقدمة:

يعتبر الأكسجين ( $O_2$ ) غاز ضروري لاستمرارية الحياة إذ يتحول عادة عبر السلسلة التنفسية إلى ماء وذلك من أجل إنتاج الطاقة على شكل (ATP) الضرورية لكافة أنشطة الخلية. غير أن عمل الميتوكوندريا ليس على الدوام مثالياً لأنه من 2 إلى 5% من الأكسجين المتنفس يتحول إلى ما يسمى بالأنواع الأكسجينية النشطة (ROS ( reactive oxygene species). ففي الحالات العادية يكون إنتاج ROS تحت رقابة خلوية بأنظمتها المضادة للأكسدة و عندما تعجز هذه الأنظمة عن تعديل نشاط هذه الأنواع الجذرية يحدث ما يسمى بالإجهاد التأكسدي الذي يكون السبب في تفاقم العديد من الحالات المرضية. فالإجهاد التأكسدي عبارة عن خلل في التوازن بين النظام الدفاعي المضاد للأكسدة و إنتاج الجذور الحرة الأكسجينية [1].

### I-2- الجذور الحرة:

هي عبارة عن ذرات أو جزيئات تبدي إلكترون أو عدة إلكترونات في مدارها الخارجي [2,1]، هذه الجذور الحرة تكون مشتقات أكسجينية (ROS ( reactive oxygene species،  
(superoxide anion radical)  $O_2^{\cdot-}$  ، (hydroxyl radical)  $\cdot OH$  [3] أو مشتقات لذرات أخرى كالأزوت أكسجينية (radical nitrogen species) RNS، كما أنه هناك أنواع أخرى مشتقة من الأكسجين تسمى بأنواع أكسجينية نشطة مثل الأكسجين المنفرد  $O_2^1$  وثاني أكسيد الهيدروجين  $H_2O_2$  [2] أو ثاني أكسيد الأزوت  $ONOOH$ ، هذه الأنواع الأخيرة ليست بجذور حرة لكنها يمكن أن تكون بواحد للجذور الحرة [4] - [6].

للجذور الحرة مصدرين أما الأول فهو مصدر خارجي حيث يمكن لها أن تتكون نتيجة عوامل بيئية، كتلوث الهواء الذي يكون سببه التدخين و العديد من المنتجات الكيميائية، الأشعة فوق البنفسجية أو نتيجة التلوث بالمعادن الثقيلة أو عوز غذائي [7،8] و الثاني عبارة عن مصدر خلوي فيمكن للجذور الحرة أن تنتج تحت تأثير عامل فيزيائي مثل الأشعة أو تفاعلات كيميائية خاصة إنزيمية حيث أن كل تفاعل يدخل فيه الأكسجين و يكون هناك نظام مرجع قادر على نقل الإلكترونات يمكن أن يحرر جذور حرة [9].  
تؤدي الزيادة في الجذور الحرة إلى تلف الجزيئات الكبرى البيولوجية مثل البروتينات، الليبيدات و

.ADN

### I-3- النظام المضاد للجذور الحرة:

يتميز الجسم بنظام دفاعي ضد الإنتاج المفرط للجذور الحرة الأكسجينية و الأنواع النيتروجينية النشطة، يمكن تمييز نظامين إحداهما إنزيمي و الآخر لا إنزيمي:

النظام الإنزيمي: يتكون من عدة إنزيمات مثل (SOD (superoxide dismutase، catalase و peroxidase لها قدرة القضاء على الجذور الحرة و عدة أنواع أكسجينية أخرى.

النظام غير الإنزيمي: حيث يعتبر العديد من الأغذية مصادر طبيعية لمضادات الأكسدة و هي إما معدنية مثل السيلينيوم و الزنك أو فيتامينية مثل الفيتامين C... أو متعددة الفينولات [10] مثل الفلافونيدات.

### I-4- الفلافونيدات و الفعالية المضادة للجذور الحرة:

ترجع الخاصية المضادة للأكسدة للفلافونيدات إلى قدرتها على حماية الليوبروتينات من الجذور الحرة و قدرتها على إقتناص أيونات المعادن الناقلة للإلكترونات [11]، فمركب الـ Quercetine واحد من المركبات الفلافونيدية له خاصية مضادة للأكسدة ترجع إلى تواجد مجموعة الهيدروكسيل في الموقع 5 و 3 والموقع 3 و 4 من الحلقة B [12،13].

الفلافونيدات يمكن لها اقتناص الجذور الأكسجينية النشطة لكل من  $OH^*$  و  $O_2^*$  بإعطائها ذرة هيدروجين أو إلكترون، فالنشاط المضاد للأكسدة يعتمد على درجة الحموضة [14] لأن مجاميع الهيدروكسيل تنفصل عن مركباتها عند إرتفاع قيمة الـ pH و يزداد مع انفصالها القدرة على إعطاء الإلكترون للجذر الحر. بهذه الطريقة تقوم الفلافونيدات بتثبيط عملية فوق الأكسدة الليبيدية باقتناص جذر lipid peroxy ( $LOO^*$ ) [13،14].

تعتمد الخاصية المضادة للأكسدة على عدد ذرات الهيدروجين في الحلقة الفينولية و مدى استقرار الفلافونيد بعد فقد البروتون و تحوله إلى جذر حر لذلك تم اقتراح ارتباط الخاصية المضادة للأكسدة للفلافونيدات بوجود كل من:

- مجموعة أرثو ثنائي هيدروكسيل '3'، '4' على الحلقة B إذ تشكل مواقع مستهدفة من قبل الجذور الحرة.
- الرابطة غير المشبعة بين الموقعين ( $C_2-C_3$ ) على الحلقة C.
- الوظيفة السيتونية في الموقع 4.
- مجموعة الهيدروكسيل في الموقع 3 للحلقة C.
- مجموعة الهيدروكسيل في الموقع 5 للحلقة A من أجل قدرة اقتناص عالية للجذور الحرة [15،16].



## I-5- الإختبارات المستعملة لتحديد الفعالية المضادة للجذور الحرة:

هناك عدة إختبارات تستعمل لهذا الغرض نذكر منها الأكثر إستعمالاً: [17]

✓ إختبار **ABTS** (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) acide

✓ إختبار **FRAP** (ferric reducing antioxidant power)

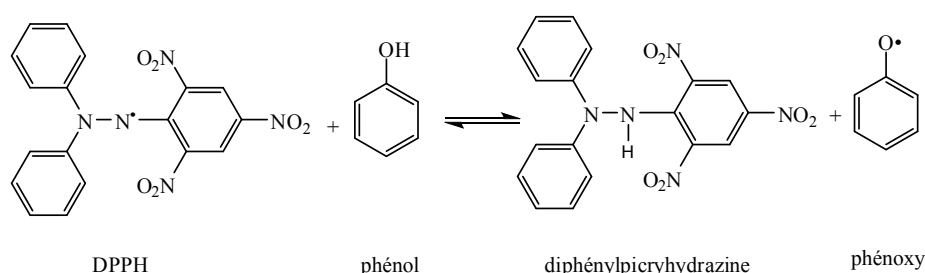
✓ إختبار **DPPH** (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

✓ إختبار  **$\beta$ -carotene**

قمنا باختيار الإختبارين الأخيرين حيث يسمح بتقييم قدرة المستخلص البوتانولي على أسر والتقاط الجذور الحرة بالطريقة اللونية [18].

### I-5-1 إختبار الـ DPPH :

يعتمد هذا التفاعل على أساس إرجاع جذر الـ DPPH بالجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين للمستخلص البوتانولي ( الجزيئات المضادة للأكسدة )، حيث يتم إرجاع جذر DPPH باقتناصه لذرة هيدروجين إلى مركب DPPH-H ويصاحب ذلك تغير في اللون من البنفسجي إلى الأصفر، يترجم هذا التغير بنقص في الامتصاص بدلالة الزمن عند طول موجة 517 nm. وهذا حسب التفاعل التالي [شكل رقم:15]:



شكل -15-: الصيغة الجذرية لـ DPPH وتفاعله مع الفينول

### I-5-2 إختبار الـ $\beta$ -carotene :

الطريقة و صفت لأول مرة من طرف (Marco., 1968) وَ الذي يعتبر مرجع للعديد من التعديلات التي جاءت من بعده لتبسيط الطريقة (Miller, 1971) أو بنقل العملية إلى جهاز microplate (Koleva et al., 2002). تجرى الطريقة في مستحلب مائي من حمض الـ linoleic وَ الـ  $\beta$ -carotene عند درجة حرارة  $45^{\circ}\text{C}$  حيث تفقد هذه الأخيرة لونها من طرف الجذور الحرة الناتجة من أكسدة الأحماض الدهنية (Huang et al., 2005) وَ القراءة تكون عند طول الموجة 470 nm. وقد عدلت الطريقة مؤخراً من طرف (Prieto et al., 2012) [19].

## II - الفعالية المضادة للبكتيريا:

### II - 1- مقدمة:

علم البكتيريا يحوى عدد كبير من الأجناس البكتيرية، و تعتبر البكتيريا كائنات دقيقة (Micro-organismes) وحيدة الخلية تنتمي إلى بدائيات النواة (Prokaryotes)، بعضها ممرض (Pathogènes) و البعض الآخر يعيش متعايشا مع كائنات أخرى ويمكن أن تسبب أمراض لدى الإنسان.

الهدف من دراستنا هذه هو تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي لنبته طبية *Salvia officinalis* L. على سلالات بكتيرية متنوعة (موجبة الغرام (+) Gram و سالبة الغرام (-) Gram) وقد تم اختيار هذه السلالات باعتبارها مسؤولة عن عدد كبير من الأمراض التي تصيب الإنسان خلال فترة تواجده بالمستشفى (Les infections nosocomiales)

### II - 2- خصائص ومميزات السلالات البكتيرية المدروسة:

#### II - 2- 1- جنس *Staphylococcus*:

جنس *Staphylococcus* ينتمي إلى عائلة *Micrococcaceae* ، أطلق Ogston اسم staphylocoque المنقسم إلى شطرين:

Kokkos: حبوب متجمعة على شكل كومة غير منتظمة .  
Staphylos: عنقود عنب.

تظهر بكتيريا الستافيلوكوك تحت المجهر على شكل مكورات موجبة الغرام غير متحركة يتراوح قطرها من 0.8 إلى 1 ميكرومتر تجتمع في ثنائيات (diplocoque) أو على شكل عنقود عنب صغير (grappes de raisin) عادة ما تكون بدون محفظة (sans capsule) تتواجد بشكل شبه دائم في سداة الأنف الداخلية، على الجلد، في الغدد الجلدية وعلى كثير من المواد الغذائية، كذلك وجدت في العجان (المسافة بين عضو التناسل و الشرج) ، النوع المثالي *S. aureus* [20،21]. لها القدرة على تحليل كريات الدم الحمراء، يمكنها إفراز سموم بجسم العائل أو في بيئة النمو، فهي سلالات ممرضة، كما قد تحدث تسهما غذائيا، كذلك تفرز هذه البكتيريا مجموعة من السموم الداخلية [21].

#### II - 2- 2- جنس *Streptococcus*:

إسم *Streptococcus* مشتق من *Streptus* بمعنى مرن و *Coccus* بمعنى حبيبات و هي تعرف على أنها كرويات تتوضع في ثنائيات كما تكون على الشكل السبحي [21].

يضم هذا الجنس مجموعة من الأنواع البكتيرية تشترك في مجموعة من الخصائص المرفولوجية والميتابولزمية، هي بكتيريا كروية موجبة الغرام، تنمو في وسط خاص يحوى 5% من دم الحصان أي أنها بكتيريا متطلبة، لوحظت لأول مرة من قبل Ehrlich و Bilroth سنة 1874 على جروح متعفنة [21].

## **II -2-3- Escherichia coli:**

تنتمي بكتيريا هذا النوع إلى عائلة *Enterobacteriaceae* و تمثل أكبر قسم من الكائنات الدقيقة التي تعيش في الأنبوب الهضمي لكنها ممرضة للجهاز البولي [20] تتميز بأنها عصوية متحركة بأسواط جسمية (*Ciliature péritriche*) ، سالبة الغرام، كذلك تعتبر واحد من أهم أسباب الإسهال الحاد في العالم و هي تحدث عدد كبير من القتلى في الدول النامية وهذا راجع لإنتاجها سموم داخلية (*entérotoxine*) [20]. طولها 6 ميكرومتر و عرضها من 0.3 إلى 1 ميكرومتر، تنمو بسرعة في أوساط مثالية بعد 24 ساعة من الحضانة في درجة حرارة 37°م.

## **II -2-4- جنس Klebsiella:**

خاصة *Klebsiella pneumonia* ينتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae* تعتبر من بين البكتيريا البيئية (تتواجد في الماء، تربة، هواء،...)، كذلك تتواجد في براز الإنسان بشكل طبيعي و غالبا ما تعتبر من بين بكتيريا الجلد و المخاطية، و لكن تتواجد بكمية قليلة في الجهاز الهضمي و الجهاز التنفسي و التربة [20،22] ، و هي عبارة عن عصويات سالبة الغرام غير متحركة تتميز بشكلها الدائري محدبة، قطرها من 3 إلى 4 مم.

## **II -2-5- جنس Entérobacter:**

ينتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae* و هي عصويات سالبة الغرام تتواجد طبيعيا علي الجلد و في السوائل المخاطية لكن تتواجد بكمية قليلة بالخصوص في الجهاز الهضمي، الجهاز التنفسي و الشرج، و هي تعتبر جد خطيرة وهذا راجع لإفرازها لإنزيمات خارجية. من الخصائص المميزة لهذا الجنس هو كثرة الحركة و هذا راجع لامتلاكها لأسواط جسمية و عدم احتواءها علي كبسولة باستثناء بعض الأنواع مثل: *E. aerogenes* ، كذلك إنتاجها لصبغات صفراء مثل النوع: *E. cloacae* [20].

## **II -2-6- جنس Pseudomonas aeruginosa:**

ينتمي هذا الجنس إلى عائلة *Pseudomonadaceae*، و يعتبر النوع *P.aeruginosa* المشتق من الاسم اللاتيني *Aeruginosa=couvert de rouille* الأكثر انتشارا، يسمى بالعصويات بيوسيانيك (*Pyocyanique*) و هو عبارة عن عصويات سالبة الغرام يتراوح طولها من 1.5 إلى 3 ميكرومتر و عرضها من 0.5 إلى 0.8 ميكرومتر كثيرة الحركة و هذا راجع لامتلاكها لسوط واحد قطبي (*monotriche*) [20]، وهي مسؤولة عن التعفنات الخطيرة الملاحظة بعد العمليات الجراحية، تنمو بسهولة على كل الأوساط الهوائية في درجة حرارة 37 °م أو 30°م [20]، تطرح رائحة عطرية مميزة راجعة إلى إنتاج المركب أرتو أمينو أسيتو

فينون [20] ، تنتشر بالتربة و المياه وفي السوائل المخاطية للأنف و المجاري التناسلية والبولية وكذلك في القيح، وهي المسؤولة على إحداث الإصابات التعفنفة الخطيرة.

### **II -3- التركيز الأدنى المثبط (CMI):**

يعرف CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) [23] على أنه أدنى تركيز ممكن من المضاد الحيوي الذي يؤدي إلى تثبيط كل نمو بكتيري مرئي بعد 18 إلى 24 ساعة من الحضانة في درجة حرارة 37°م.

## المراجع

- [1] Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *The Lancet*, 344, 721.
- [2] Gutman, J. (2001). Glutathione aide essentielle à une bonne santé. Gutman & Schettini Inc., Montréal, Canada, 1.
- [3] Buak Çimen, M., Y. (2008). Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin. Chim. Acta.*, 390, 1.
- [4] Favier, A. (2003). Mécanismes biochimiques Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique*, 108.
- [5] Fontaine, E. (2009). Production et élimination des radicaux libres oxygénés parentérale, département de médecine aiguë spécialisée, Hôpital Albert Michallon, Grenoble.
- [6] Pryor, W. A., Houk, K.N., Foote, Ch.S., Fukuto, J.M., Ignarro, L.J., Squadrito, G.L., Davies, K.J.A. (2006). Free radical biology and medicine: it's a gas, man! *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291, R491.
- [7] Allergan, Inc., Irvine, (2005). Antioxidant backgrounder. CA 92612. <sup>TM</sup> Marks owned by Allergan, Inc.
- [8] Anne, N. S., Robert, S. (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*, 12, 433.
- [9] Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine /sciences*, 22, 266.
- [10] Best, B. (2002). General antioxidant actions. *The chemistry and biochemistry of free radicals-and antioxidant enzymes*, 11.
- [11] Surai, P. F., Spinnler Benadé, A.J., Speake, B.K. (2007). Natural Antioxidants in Land- and Marine-Based Wild-Type Food Risk Reduction. From: *Wild-Type Food in Health Promotion and Disease Prevention* Edited by: F. De Meester and R. R. Watson. Humana Press Inc., Totowa, 357.
- [12] Terao j. (1990). Dietary flavonoids as plasma antioxidants on lipid peroxidation significance of metabolic conversion; antioxidant Food Supplements in Human Health *Japan* 770.
- [13] Piergiorgio P., Paolo S., ITBA C.N.R (1999). Dietary flavonoids and interaction with Physiologic Antioxidants University of Milan.

- [14] Rice-Evans, C. (1999). Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant activity  
guy's, King's St. Thomas'International Antioxidant Research Centre and School of  
Biomedical Sciences London SE1 9RT, United Kingdom.
- [15] Mathiesen, L. (1996). C-Methylated dihydrochalcones and chalcones from the fruit  
*Myrica gale* L. : antioxidant, radical scavenging and uncoupling activities .school of  
pharmacy, department of pharmacology , university of Oslo .these, 1.
- [16] Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry,  
metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13,  
572.
- [17] Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels des végétaux. *Review*.11,1.
- [18] Koleva, V.T.A., Linssen, J.P.H. (2002). Extracts for antioxidant activity : a comparative  
study on three testing methods. *Phytochem. Analysis*, 15, 8.
- [19] Miguel, Á. L., Miguel, A. M. G., José, A.V. Á ., Yvonne, A., Thomas. P. C.(2013). A  
new microplate procedure for simultaneous assessment of lipophilic and hydrophilic  
antioxidants and pro-oxidants, using crocin and  $\beta$ -carotene bleaching methods in a single  
combined assay: Tea extracts as a case study, *Food Research International*, 53, 836–846
- [20] Berche, P., Gaillard, J.L., Simont, M. (1989). *Bactériologie: les bactérie des infections  
humaines*, Flammarion (1<sup>ère</sup> edition), Paris.
- [21] Renato, D., Bernard, D., Herman, N. E., Horold, S. G. (1990). *Microbiologie*, Fourth  
edition J. B lippincott company (New York), 231.
- [22] Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., Vargas, R. (1987). *Bactériologie  
médicale*, Techniques usuelles. SIMEP. Paris.
- [23] Le Minor, L., Véron, V. (1989). *Bactériologie médicale*. Edition Flammarion. Paris.

## الفصل الخامس

---

# الدراسة النباتية

## الدراسة النباتية لـ *Salvia argentea var.aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab

### I-الدراسة النباتية :

#### I -1- المادة النباتية:

تم قطف و جمع النبتة في أواخر شهر ماي من سنة 2009 من طرف الأستاذ كعبوش كمال من منطقة عين الباي بقسنطينة, وقد تعرف عليها البروفسور Gérard de Bélair (جامعة عنابة) .

#### I -2- وصف النبتة:



**صورة فوتوغرافية لنبتة *Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab**

نبتة برية ذات زهور بيضاء أو وردية ، السيقان والنورات لزجة ، النورات منتشرة و متشعبة للغاية ،

ذات أوراق خاصة تقع في قاعدة النبتة ، كأس بأسنان شائكة تقريبا [1].



### I-3- التصنيف النظامي للنبتة:

Royaume	Plantes	المملكة
Sous royaume	Tracheobiontes	تحت المملكة
Embranchement	Spermatophytes	الفرع
Division	Magnoliophytes	القسم
Classe	Magnoliopsides	الصف
Sous classe	Asteridae	تحت الصف
Ordre	Lamiales	الرتبة
Famille	Lamiaceae	العائلة
Genre	<i>Salvia</i>	الجنس
Espèce	<b><i>Salvia argentea</i> var. <i>aurasiaca</i> (Pomel) Batt. et Trab</b>	النوع

### الدراسة النباتية لـ *Salvia officinalis* L.:

#### I-الدراسة النباتية:

#### I-1- المادة النباتية:

قطفت النبتة في شهر ماي سنة 2013 من من ولاية باتنة ، حيث تم التعرف عليها من قبل الأستاذ

Gérard De Bélair من جامعة باجي مختار بعنابة. عينة من هذه النبتة أودعت بمخبر LOST، كلية

العلوم الدقيقة، جامعة قسنطينة 1 تحت رمز (LOSTSo /05/13).



صورة فوتوغرافية لنبتة *Salvia officinalis* L.

القويسة المخزنية ، أسفاقس، وعندنا تسمى: سواك النبي، مفاسة، خياط الجراح، ناعمة، سالمة، حبيقة الصدر. وبالأمازيغية: تازورت ، أقورين، إمكساون. وعند ابن البيطار : الأسفاقس .

شجيرة برية وتزيينية من فصيلة الشفويات، علوّها يتراوح بين المتر و نصف متر. ساقها مخشوشبة ، فرعاء مربعة الزوايا ، مزغبة ، بيضاء اللون. أوراقها متقابلة ، إهليلجية النصل، حرشاء، معنقة ، مسننة الأطراف، أذينية القاعدة لينة الملمس، مجمدة ، مائلة إلى البياض ، طيبة الرائحة. أزهارها حلقية الإنتشاب أنبوبية السبلات الثلاثية الفصوص وأذلك البتلالات البنفسجية اللون. ثمرتها تحوي ثلاث بزور بيضوية الشكل. وشجيرة المريمية قلما كانت برية بل كثيرا ما غرست كسياجات في الحدائق للتجميل وتعطير المحيط لما لها من رائحة زكية، ومنظر جميل.

تستعمل في المساعدة على الهضم، منقصة للسكر، مضادة للتعرق ، مفتحة لسدد الكبد، مطمئة، مضادة للربو، ملحمة للجروح، منظفة .

### I-3- التصنيف النظامي للنباتة:

Royaume	Plantes	المملكة
Sous royaume	Tracheobiontes	تحت المملكة
Embranchement	Spermatophytes	الفرع
Division	Magnoliophytes	القسم
Classe	Magnoliopsides	الصف
Sous classe	Asteridae	تحت الصف
Ordre	Lamiales	الرتبة
Famille	Lamiaceae	العائلة
Genre	<i>Salvia</i>	الجنس
Espèce	<i>Salvia officinalis L.</i>	النوع

### الدراسة النباتية لـ *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.:

#### I-الدراسة النباتية :

#### I-1- المادة النباتية:

تم قطف و جمع النبتة في أواخر شهر ماي من سنة 2005 من طرف الأستاذ كعبوش كمال من منطقة بكيرة بقسنطينة, وقد تعرف عليها البروفسور Gérard de Bélair (جامعة عنابة) ، أجريت لها عملية التجفيف بوضعها في أماكن خاصة تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة، بعد ذلك طحنت فكانت الكتلة المتحصل عليها 890 غ .

## I - 2- وصف النبتة:



**صورة فوتوغرافية لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.**

فهي نبتة برية , بجذور نحيفة وطويلة , ذات تويج بشفة علوية مهمشة أكثر صغرا (10-15 مم ) , مائلة إلى فرة مذببة بسمرة على العنق , كأس مثمر طوله يتراوح بين 9-10 مم بأسنان حادة .  
بيضوية غالبا ما تكون عقدية في القاعدة , أزهار متتالية بطول يتراوح بين 1.5-1.7 مم , تتواجد في كل

[1]

**I-3- التصنيف النظامي للنباتة:**

Royaume	Plantes	
Sous royaume	Tracheobiontes	
Embranchement	Spermatophytes	
Division	Magnoliophytes	
Classe	Magnoliopsides	
Sous classe	Asteridae	
Ordre	Lamiales	
Famille	Lamiaceae	
Genre	<i>Stachys</i>	
Espèce	<b><i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq.</b>	

[1] Quezel, P. and Sanata, S. (1963). Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques et Méridionales, Tome II, CNRS, Paris.

## الجزء الثاني

---

الأعمال المنجزة على النباتات المختارة

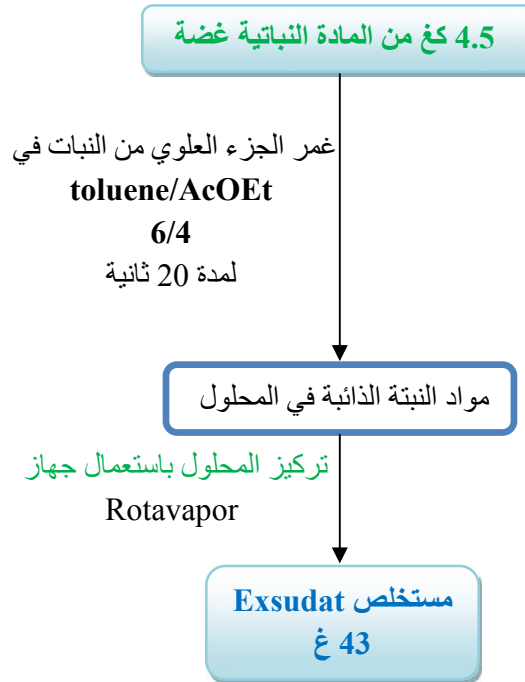
## I- الدراسة الفيتوكيميائية لنبته *Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab.

### I-1- إستخلاص النبتة:

تمّ إستخلاص النبتة بطريقتين مختلفتين ، الأولى بإستعمال المادة النباتية غضة و طرية و الثانية بإستعمال المادة النباتية بعد تجفيفها.

### I-1-1 الطريقة الأولى:

تغمر الأجزاء النباتية و هي غضة و طرية ( 4.5 كغ ) في محلول يتكوّن من خليط من (toluene/AcOEt) بنسبة 6/4 لمدة زمنية تصل إلى 20 ثانية ، يرشح و يركز المحلول تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة لا تتجاوز 45 درجة مئوية و المخطط رقم 1-1- يبيّن مختلف مراحل الإستخلاص [1].



مخطط 1-1 : مخطط إستخلاص نبتة *Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab. و هي غضة



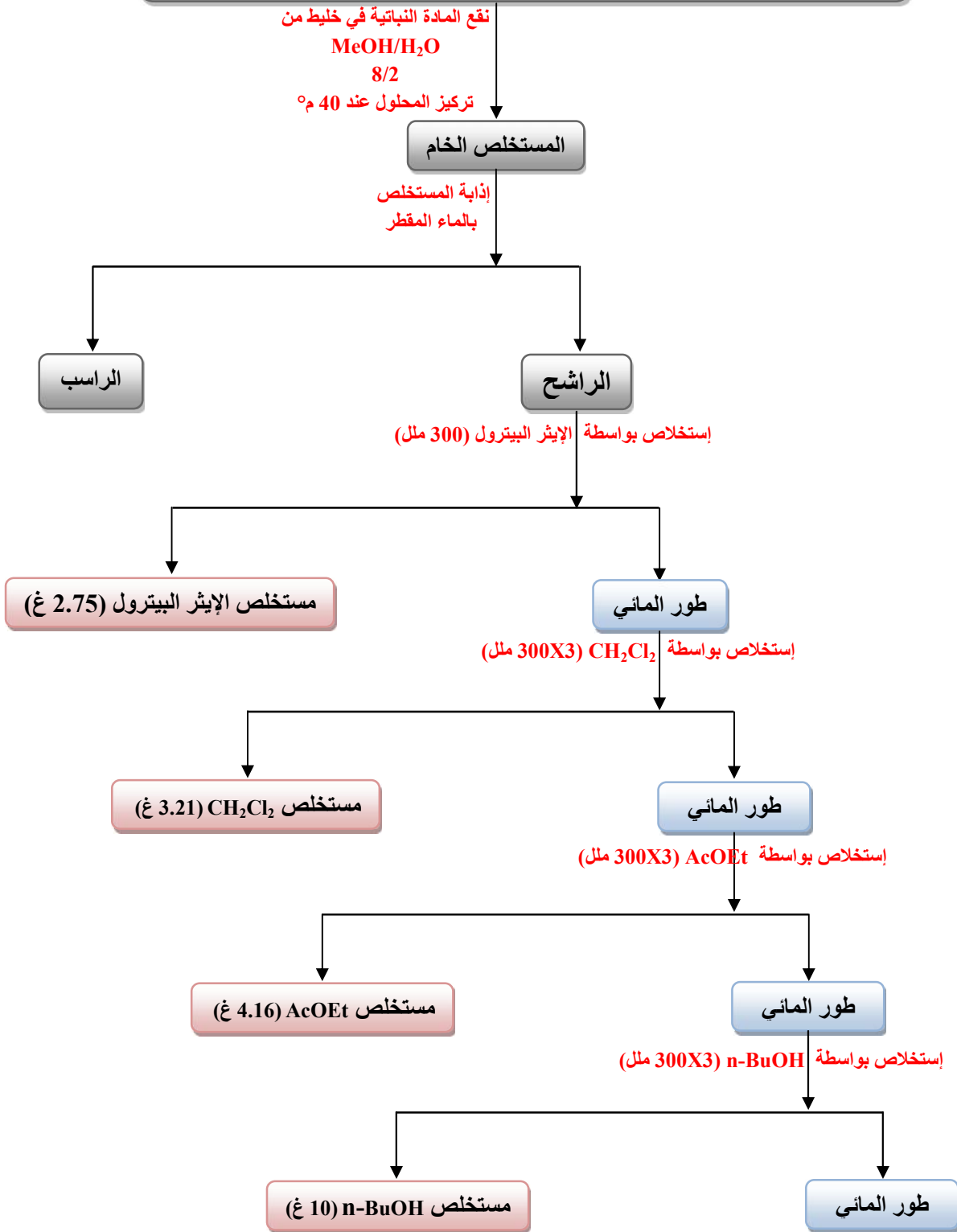
## I-1-2 الطريقة الثانية:

بعد قطع وطحن الأجزاء النباتية الجافة (860 غ)، نقعت في خليط من الميثانول و الماء (7:3) ثم تركت لمدة 24 ساعة، رشح و ركز المحلول تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة لا تتجاوز 40 درجة مئوية. أعيدت هذه العملية 3 مرات مع تجديد المذيب كل 24 ساعة.

الخلاصة المتحصل عليها تم إذابتها بالماء المقطر (1000 مل) وترشيحه للتخلص من الشوائب و الأتربة . قمنا بعد ذلك باستخلاص من نوع سائل- سائل في قمع فصل باستعمال مذيبات متفاوتة القطبية: إيثير البيترول، ديكلوروميثان، خلات الإيثيل، البيوتانول.

و المخطط -2- يمثل مختلف خطوات الاستخلاص حسب الطريقة الثانية:

*Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab مسحوق نبتة (غ 860)

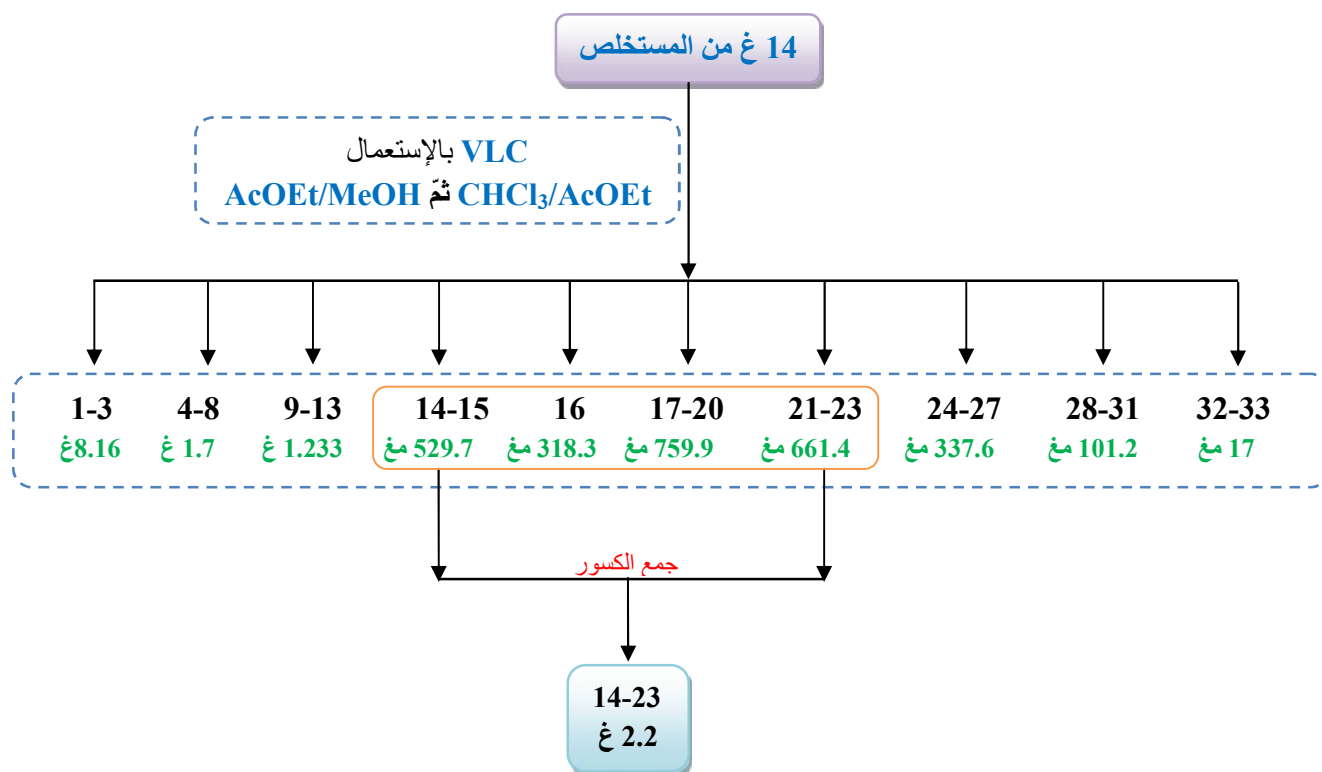


مخطط رقم 2- : مخطط إستخلاص نبتة *Salvia argentea* var *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab بعد تجفيفها

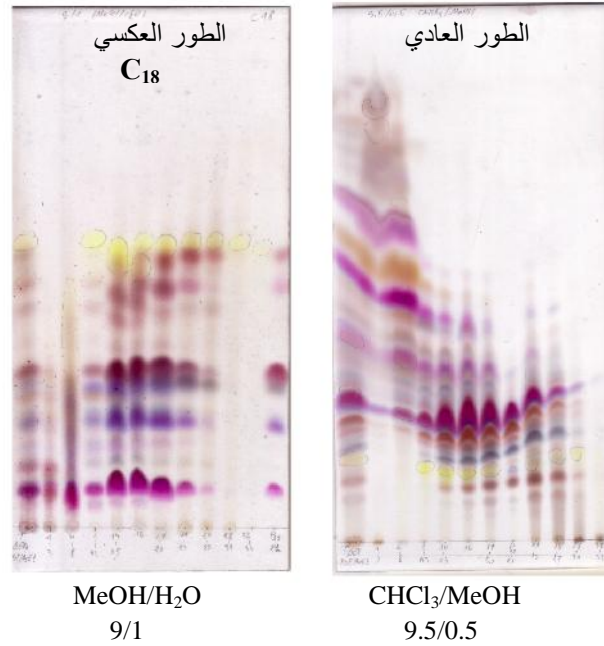
## 2-I الفصل والتنقية

### 1-2-I مستخلص الـ Exsudat

أخذنا 14 غ من مستخلص الـ Exsudat و قمنا بعملية الفصل بإستعمال طريقة الـ VLC حيث كانت الدعامة الثابتة هي الـ gel de Silice العادي (mesh 200-63) والمملص كان في المرحلة الأولى بإستعمال  $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$  ثم  $\text{AcOEt}/\text{MeOH}$  في المرحلة الثانية كما بيّنه المخطط رقم 3- ، حيث تحصلنا على الكسور المذكورة في المخطط رقم 3- و ذلك بعد جمع الكسور المتشابهة منها من خلال إختبار الطبقة الرقيقة CCM شكل رقم 16-.



مخطط رقم 3- : مخطط عملية الفصل الأولية بإستعمال طريقة الـ VLC لمستخلص الـ Exsudat لنبتة *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab.



شكل رقم -16- : إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ( الطور العادي والعكسي ) للكسور المتحصل عليها بطريقة الـ VLC بعد رشها بـ  $H_2SO_4$  (50%)

تبعاً لإختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (gel de Silice phase normal, gel de Silice greffée  $C_{18}$ ) شكل رقم -16- للكسور المتحصل عليها بطريقة الـ VLC لمستخلص الـ Exsudat تمّ جمع الكسور من  $f_{14}$  حتى الكسر  $f_{23}$  حيث كانت الكتلة الإجمالية هي  $2.2$  غ، بعد ذلك تمّ إجراء عملية فصل أخرى على الكسور المجموعة  $F_{14-23}$  وهذا بإستعمال العمود الكروماتوغرافي حيث كانت الدعامة الثابتة مكون من  $gel$  de Silice greffée  $C_{18}$  و المملص هو مزيج من الـ MeOH و الـ  $H_2O$  بزيادة نسبة الـ MeOH بالتدرّج و هذا حسب -4- .

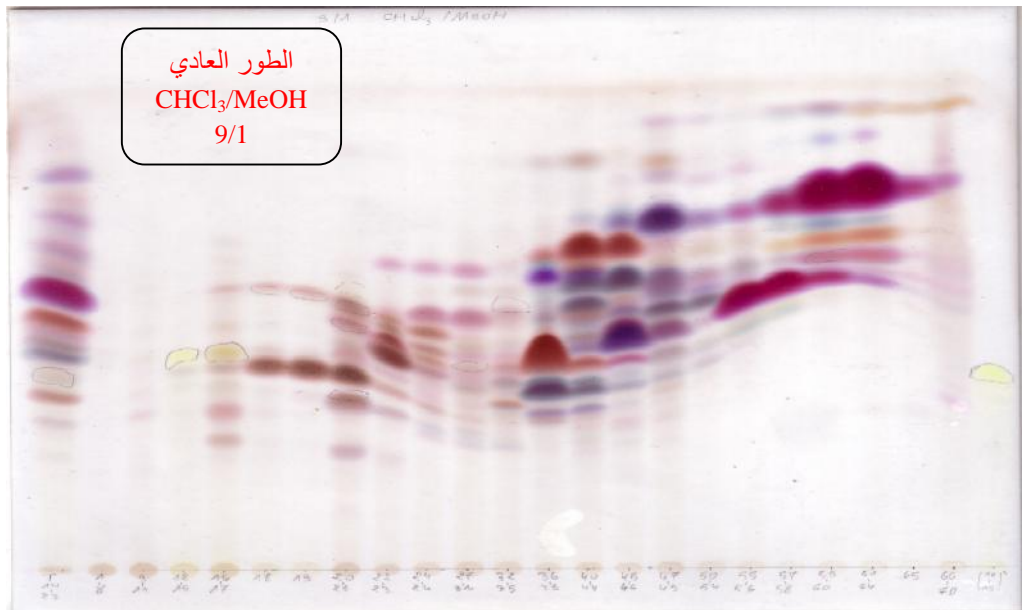
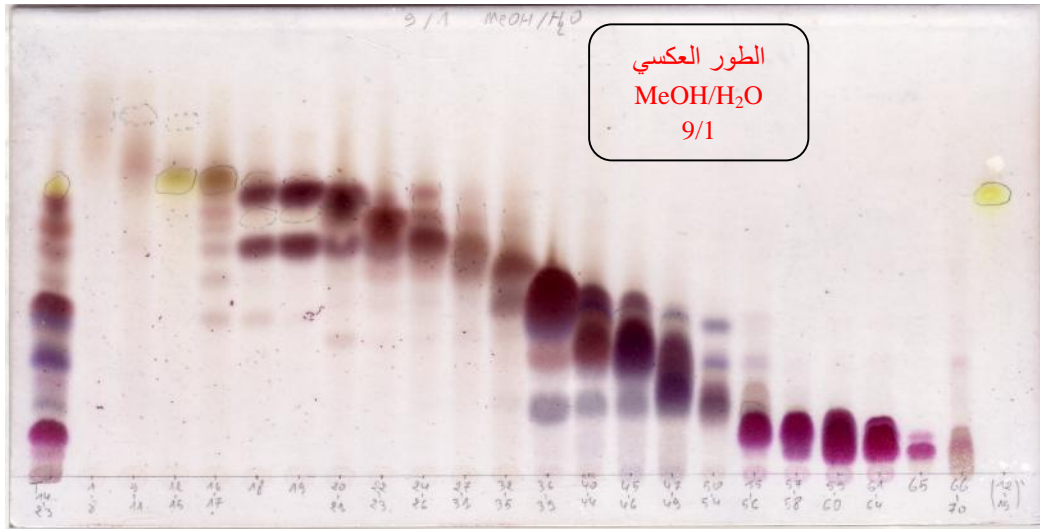
نسبة الـ $H_2O$ (%)	نسبة الـ MeOH (%)	الكسور المحصل عليها
50	50	7 -1
40	60	18 -8
30	70	31-19
20	80	43 -32
10	90	53 -44
05	95	64 -54
00	100	70 -65

جدول رقم -4- : نسب الـ MeOH و الـ  $H_2O$  في عملية تملّص الكسور المجموعة  $F_{14-23}$  لمستخلص الـ Exsudat

عملية الكسور المتشابهة و كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة  
 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, MeOH/H<sub>2</sub>O)، فكانت حصيله عمليه الفصل مدونه في الجدول رقم 5-  
 باختبار الطبقة الرقيقه  
 -17-.

الكتلة (مغ)	تحت الكسور	الكتلة (مغ)	تحت الكسور	الكتلة (مغ)	تحت الكسور
128.7	<b>58-57</b>	25.7	<b>31-27</b>	27.1	<b>8-1</b>
159.2	<b>60-59</b>	42.1	<b>35-32</b>	7.6	<b>9-11</b>
170.8	<b>64-61</b>	200.5	<b>39-36</b>	38.5	<b>15-12</b>
14.7	<b>65</b>	100.8	<b>44-40</b>	6.7	<b>17-16</b>
191.9	<b>70-66</b>	132.9	<b>46-45</b>	21.6	<b>19-18</b>
		89.2	<b>49-47</b>	67	<b>21-20</b>
		79.4	<b>54-50</b>	111.8	<b>23-22</b>
		133.7	<b>56-55</b>	47.4	<b>26-24</b>

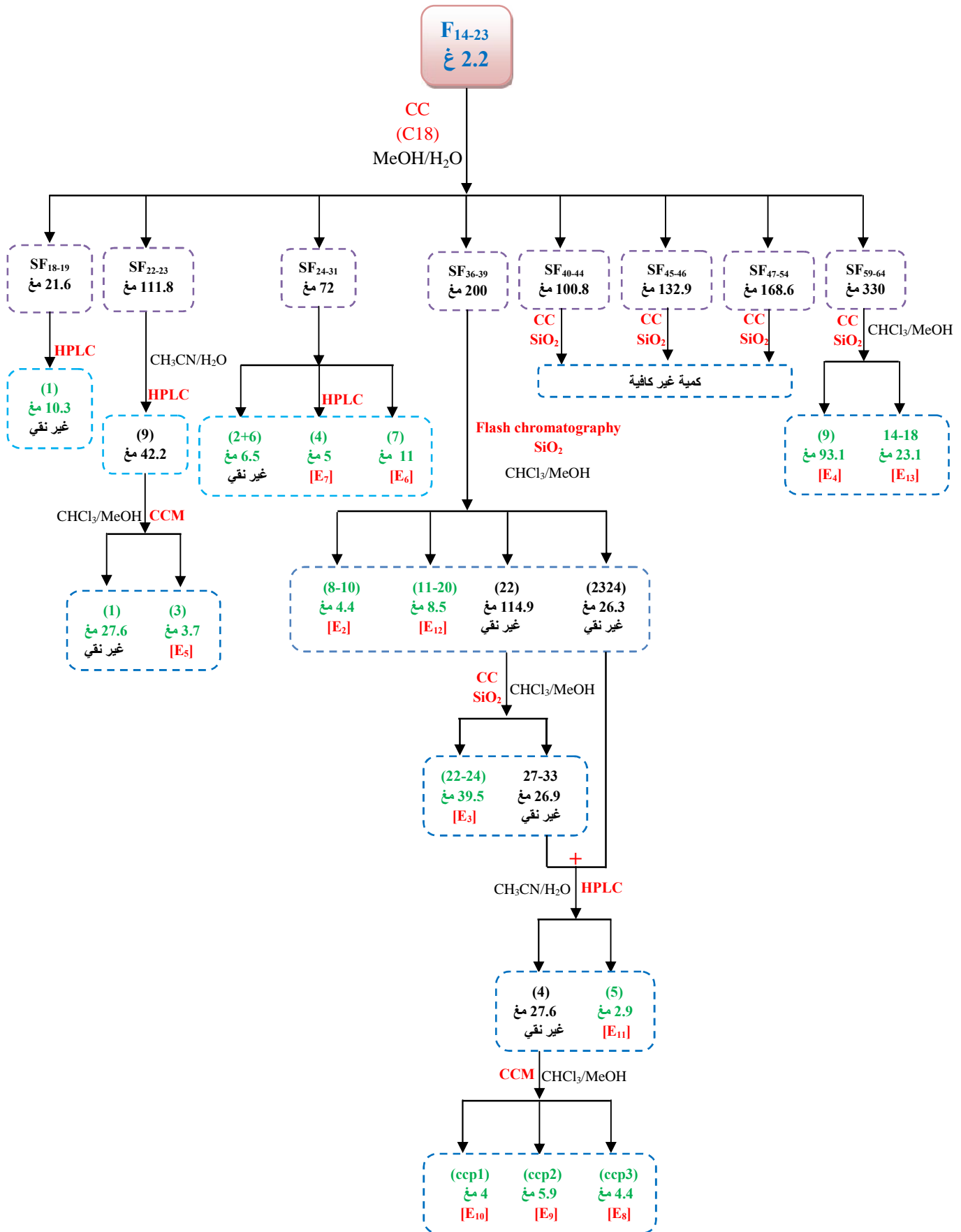
جدول رقم 5- : حصيله جمع الكسور لعمليه فصل لتحت الكسر F<sub>14-23</sub>



شكل رقم 17- : إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لحصيلة جمع الكسور لعملية الفصل تحت الكسر F<sub>14-23</sub> بعد رشها بـ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50%)

خلال عملية الفصل تحصلنا على راسب من الكسر F<sub>12-15</sub> حيث قمنا بعملية غسله بدفعات متتالية من الـ MeOH (E<sub>1</sub>) على شكله النقي حيث تم إجراء عليه تحاليل طيف الرنين النووي المغناطيسي .

بمتابعة عملية الفصل و التنقية لمختلف تحت الكسور الخاصة بتحت الكسر F<sub>14-23</sub> في شكلها النقي كما هو موضح في المخطط رقم 4-



مخطط رقم 4-: خطوات فصل المركبات النقية من الكسر F<sub>14-23</sub>

## 2-2-I دراسة المستخلص البيوتانولي BuOH

تم إختيارنا للمستخلص البيوتانولي من بين المستخلصات ربعة المتحصل عليها (الإيثر البيترول ،  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ، AcOEt ، n-But ) وذلك لعاملين أساسيين هما كتلته المعتبرة هذامن جهة و من جهة أخرى نوع المركبات الموجودة فيه خاصة السكرية منها ( Exsudat ) و التي تكون أقل قطبية.

عملية فصل كروماتوغرافيا العمود على المستخلص البيوتانولي (10 غ ) ، حيث إستعملنا في ذلك متعدد الأميد ( SC6 ) Toluène مع تشبيعه تدريجيا بالـ MeOH في عملية التمليص -6-.

نسبة الـ MeOH (%)	نسبة الـ Toluène (%)	الكسور المحصل عليها
05	95	9-1
10	90	15-10
15	85	26-16
20	80	30-27
25	75	40-31
30	70	44-41
35	65	57-45
40	60	69-58
45	55	77-70
50	50	83-78
55	45	91-84
60	40	98-92
65	35	108-99
70	30	114-109
80	20	123-115
90	10	132-124
95	05	159-133
100	00	176-160

جدول رقم -6- : نسب الـ MeOH و الـ Toluène في عملية تمليص المستخلص البيوتانولي

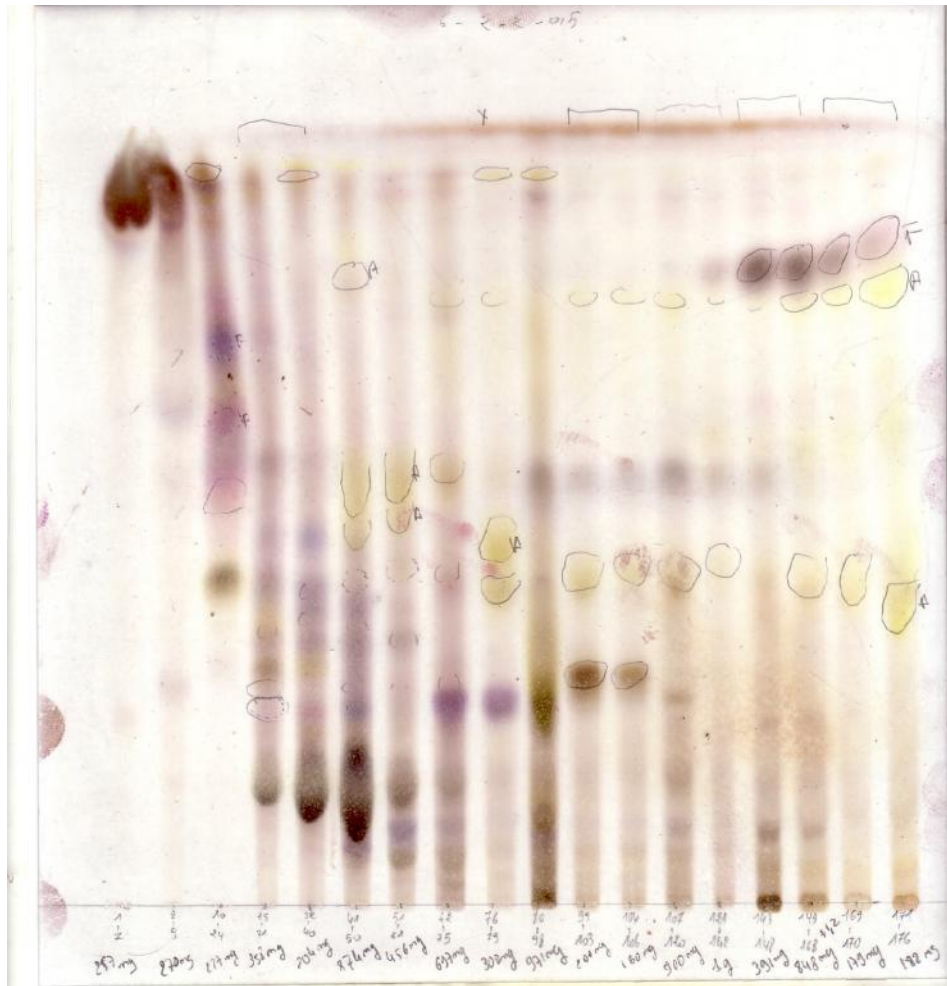
حيث تم جمع الكسور المتشابهة مع بعضها بعد إجراء إختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة حسب الجدول كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لحصيلة الكسور المتحصل عليها -7-

-18-



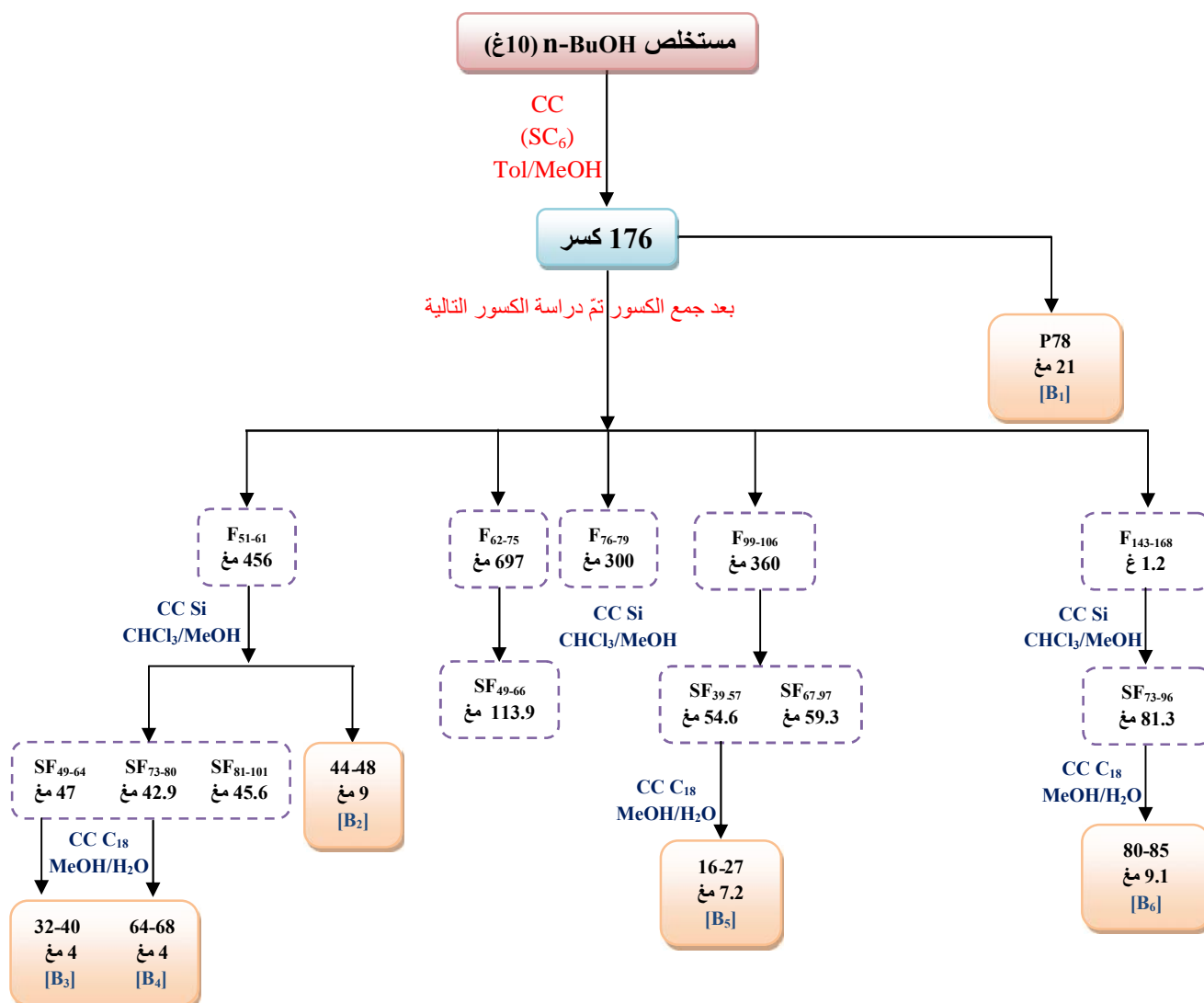
الكتلة (مغ)	الكسور	الكتلة (مغ)	الكسور	الكتلة (مغ)	الكسور
900	107-120	456	51-61	257	1-7
1000	121-142	697	62-75	270	8-9
391	143-148	300	76-79	227	10-24
848	149-168	971	80-98	358	25-31
179	169-170	200	99-103	204	32-40
182	171-176	160	104-106	874	41-50

جدول رقم 7- : حصيللة جمع كسور عملية الفصل للمستخلص البيوتانولي



شكل رقم 18- : إختبار الطبقة الرقيقة لحصيللة جمع الكسور عملية الفصل للمستخلص البيوتانولي بعد رشها بـ  $H_2SO_4$  (50%)

من خلال الكسور المتحصل عليها في عملية الفصل الأولى قمنا بعد ذلك بدراسة الكسور حسب المخطط  
-5-



مخطط رقم 5- : خطوات فصل المركبات النقية للمستخلص البوتانولي  
لنبته *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab.

## II- الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. :

### II-1 إستخلاص النبتة:

بعد قطع وطحن الأجزاء النباتية الجافة (890 )، نقعت في خليط من الميثانول و الماء (7:3)

40

24

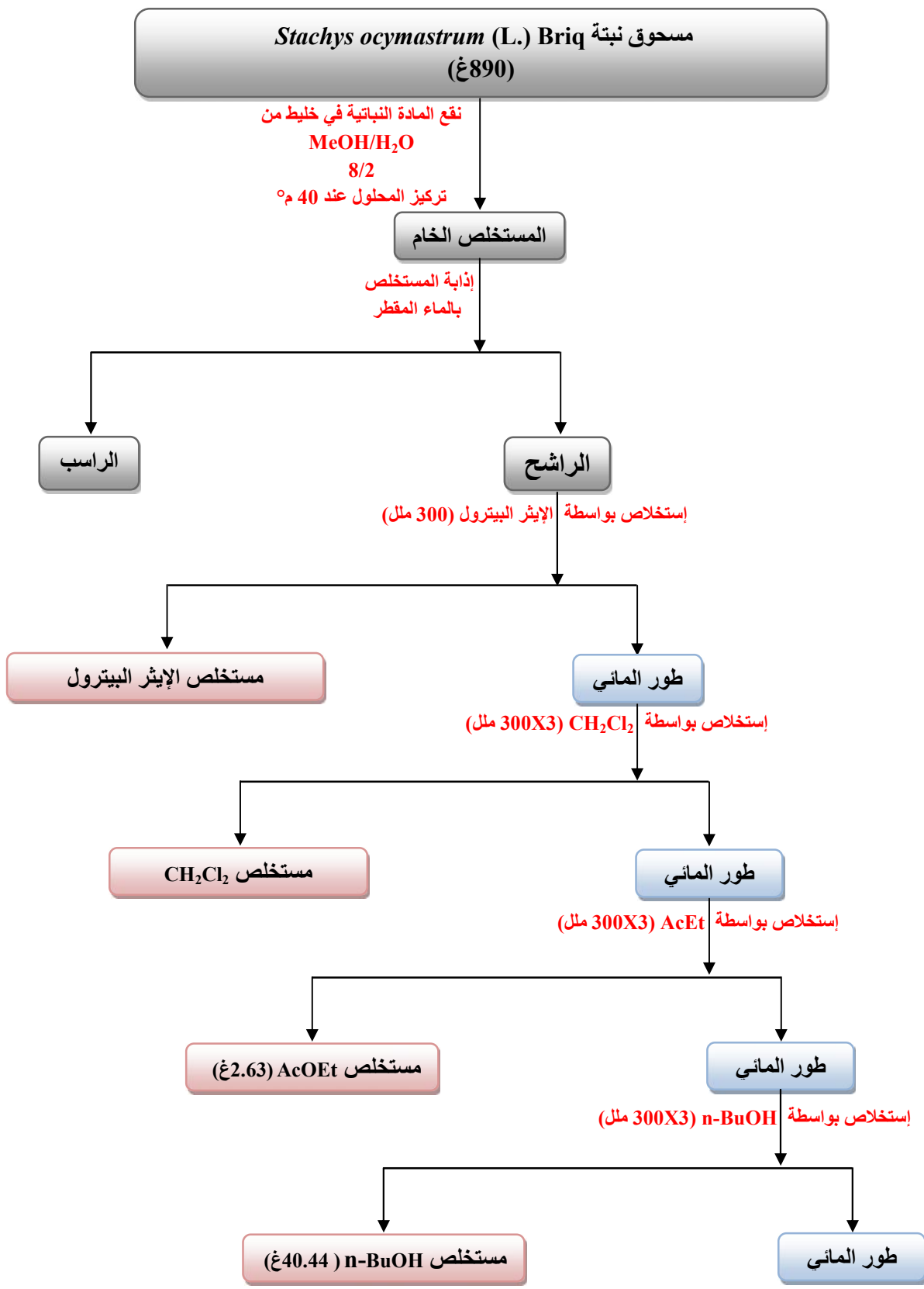
مئوية. أعيدت هذه العملية 3 مرات مع تجديد المذيب كل 24 .

الخلاصة المتحصل عليها تم إذابتها بالماء المقطر(1100 ) وترشيحه للتخلص من الشوائب و الأتربة .

- سائل في قمع فصل باستعمال مذيبات متفاوتة القطبية: إيثير

البيترول، ديكلوروميثان، خلات الإيثيل، البيوتانول.

-6- يمثل مختلف خطوات :



مخطط رقم -6- : مخطط إستخلاص نبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq

## 2-II التحليل الكروماتوغرافي بواسطة جهاز الـ HPLC :

تحضير رسالة الماجستير حيث تمكنا من عزل و التعرف

على أربع مركبات فلافونويدية هي كالتالي:

- 7-O- -D- (6''-E-p-coumaryl)glucopyranoside apigénine .
- 4', 5, 7-trihydroxyflavone (apigénine) .
- 7,5,3',4'-tetrahydroxyflavone ( lutéoline ) .
- 7-O- -D-allopyranosyl-(1 2)-glucopyranoside isoscutellareine.

و في دراسة مكملة قمنا بتحليل المستخلص البوتانولي بواسطة جهاز الـ HPLC ، حيث كان الـ

H<sub>2</sub>O CH<sub>3</sub>CN مزيج من (Hypersil ODS (C<sub>18</sub>) column, 250x4.6 mm, 5Åµm)

CH<sub>3</sub>CN تركيز H<sub>2</sub>O H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (pH = 2.5) مع زيادة في نسبة تركيز

8 :

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

جدول رقم-8: برنامج الفصل للمستخلص البوتانولي بواسطة جهاز الـ HPLC

### III- دراسة مكونات الزيت الأساسي لنبتة *Salvia officinalis* L.

#### III-1 الإستخلاص

باستعمال طريقة التقطير المائي تم استخلاص الزيوت الأساسية من النبتة و ذلك بأخذ 100 الهوائي لها ووضعه في جهاز خاص يدعى Clevenger 3 . الزيت المتحصل عليه كان (w/w) 2.1% ذو لون أصفر و للتخلص من قطرات الماء العالقة به تم إضافة كمية من مركب كبريتات الصوديوم اللامائي لامتصاصها، بعدها ترك تحت درجة +4 °م بعيدا عن الرطوبة لحين دراسته.

#### III-2 التحليل باستعمال جهاز كروماتوغرافيا الطور الغازي (تقنية GC و GC/MS):

##### أ- تقنية GC:

تمت عملية التحليل باستعمال Shimadzu GC17A، مجهزة بعمود من DB5-MS (40 × 0.88 سمك الفيلم هو 0.18 µm). حيث في البداية تبرمج درجة حرارة الفرن عند 60 °م 5 بعدها 275 °م كل دقيقة و ذلك لمدة 5 . و يستعمل الهيليوم كناقل للغاز بمعدل 1 / دقيقة.

##### ب- تقنية GC/MS:

GC/MS Shimadzu QP5050. ظروف التشغيل كانت مماثلة لعملية التحليل بتقنية GC. أما معايير تشغيل مطيافية الكتلة :  
- كمون التأين 70 ev.  
- تيار التأين 2 A.  
- درجة حرارة منبع الأيونات 200 °م

#### IV- طريقة تقدير الفعالية البيولوجية

##### 1-IV الفعالية المضادة للأكسدة

##### 1-1-IV طريقة العمل DPPH:

من أجل تقدير الفعالية المضادة للأكسدة يتم أولاً تحضير المحلول الميثانولي لجذر DPPH

(C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, M=394.33 g/mol) بتركيز 0.2 mM ليتم بعدها تحضير محلول الميثانولي ذو تركيز

1 mg/ml للمستخلص البوتانولي المراد تقدير فعاليته ، وانطلاقاً من هذا الأخير ( )

سلسلة من التخفيفات ذات التراكيز من 1 µg/ml إلى 500µg/ml.

يتم مزج حجم معين من كل تركيز من محلول المستخلص البوتانولي مع نفس الحجم من محلول جذر

DPPH المحضر سابقاً، ليوضع بعدها في الظلام لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة المخبر. بعد إنتهاء 30

دقيقة يتم قياس الكثافة الضوئية عند طول الموجة 517 nm، مقابل الشاهد المحضر في نفس الشروط

التجريبية لكن باستعمال الميثانول بدلاً من محلول المستخلص.

لتقييم النشاط المضاد للأكسدة ، تحدد قدرة المستخلص البوتانولي على أسر و التقاط الجذور الحرة

بالنسبة المئوية لإرجاع الجذر الحر الثابت DPPH حيث هذه بالعلاقة التالية [2]:

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\text{blanc} - \text{sample}}{\text{blanc}} \times 100$$

حيث :

blanc : الكثافة الضوئية لـ DPPH الميثانول

sample : الكثافة الضوئية لـ DPPH

## IV-1-2 طريقة العمل $\beta$ -carotene :

دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي بإستعمال نظام مكون من  $\beta$ -carotene–linoleic acid

و حيث يحضر بوضع 0.5 mg  $\beta$ -carotene 1 mL  $\text{CHCl}_3$  ثم نضيف له 25  $\mu\text{L}$

linoleic 200 mg Tween 40. بعد تبخير الـ  $\text{CHCl}_3$  100 mL

المقطر المشبع بالأوكسجين. 4000  $\mu\text{L}$  من الخليط ونضعها في أنابيب تحتوي على تراكيز مختلفة

من العينة، ثم نقوم بقياس الكثافة الضوئية عند طول الموجة 470 nm بعد وضع المزيج

في حمام مائي لمدة ساعتين عند  $50^\circ\text{C}$ .

تحدد قيمة R  $\beta$ -carotene من العلاقة التالية [3]:

$$R = \ln (a/b)/t$$

حيث

ln : اللوغارتم الطبيعي

a : الكثافة الضوئية عند الزمن 0

b : الكثافة الضوئية عند الزمن 120

t :

تحدد قيمة الفعالية المضادة للأكسدة (AA) من العلاقة التالية:

$$AA (\%) = [(R_{\text{control}} - R_{\text{sample}}/R_{\text{control}}] \times 100$$



## 2-IV الفعالية المضادة للبكتيريا

### 1-2-IV طريقة العمل

■ تحضير السلالات البكتيرية حيث يتم تجديد عملية الزرع بداية كل أسبوع إذ يتم زرع كل نوع بكتيري على الوسط الملائم له، فنزرع *S. aureus* (Chapman) Streptocoque (5%+ Mueller-Hinton) chocolat (Héktoen).

■ (3) 6 مم بوضعها في أنبوب اختبار زجاجي يحوي 10 من الماء المقطر في جهاز (Autoclave) 20 دقيقة على 120 ° عدها يتم التخلص من الماء ثم توضع الأقراص في الحاضنة حتى تجف.

■ من أجل تقدير الفعالية أو النشاط المضاد للبكتيريا أنجز الأنتيبيوغرام بواسطة طريقة الانتشار على وسط جيلوزي [4 5 6] إذ تعتبر هذه الطريقة غير مكلفة مقارنة بالطرق الأخرى إضافة إلى أنها تسمح بتحديد حساسية البكتيريا للمركبات المضادة لها، وتحديدنا قمنا بتطبيق تقنية (NCCLS) :

#### National Committee for Clinical Laboratory Standards

ويختلف تطبيق هذه التقنية حسب نوع البكتيريا إذا كانت متطلبة لشروط خاصة (exigeante) أو غير متطلبة لهذه الشروط.

وأهم الخطوات المتبعة لتحقيق الأنتيبيوغرام حسب تقنية (NCCLS) مع البكتيريا التي لا تتطلب لشروط خاصة هي:

#### ✓ الوسط

يسكب الجيلوز Mueller-Hinton في علب بيتري بحيث يكون ارتفاعه 4 مم ثم يترك ليحفظ قبل

#### ✓ اللقاح البكتيري Inoculum

1- يتم كشط خمس مستعمرات متباعدة عن بعضها البعض ومتشابهة من مزرعة بكتيرية عمرها 18

بواسطة إبرة تليفح بلاتينية (anse de platine).

2- تغمر إبرة التلقيح في أنبوب به 10 مل من الماء المقطر ويرج الأنبوب جيدا للحصول على معلق بكتيري.

### ✓ L'ensemencement

1- 15 دقيقة على تحضير اللقاح البكتيري تغمر ممسحة (écouvillon) على المعلق البكتيري.

2- يمسح كامل سطح علبة بيثري المحضرة سابقا في اتجاه واحد من الأعلى للأسفل تكرر العملية مرتين بحيث تدار العلبة بزاوية 60° .

3- توضع الأقراص الحاوي (تركيز المستخلص).

4- 15 دقيقة في درجة حرارة عادية ثم توضع بعدها في الحاضنة لمدة 18 35 °.

### ✓ القراءة

18 تتم القراءة بقياس مناطق التثبيط (Zone d'inhibition) .

### ملاحظة:

بالنسبة للبكتيريا المتطلبة لشروط خاصة (exigeantes)

النمو إذ يتم استعمال الوسط Mueller-Hinton +5% .

أما عن اللقاح البكتيري فيحضر انطلاقا من مزرعة عمرها من 20 24 .

### 2-2-IV الطريقة العملية لتحديد CMI

- تحضر مجموعة من تراكيز مختلفة للمستخلص [7] 20

10 مل من الإيثانول، يسمى المحلول المحصل عليه بالمحلول الأم وانطلاقا من هذا الأخير يتم

تحضير سلسلة من التراكيز المتناقصة.

- يتم تحضير مزارع بكتيرية في الطور

- يؤخذ حجم قدره (0.1 مل من العصويات السالبة الغرام، 0.3 *P. aeruginosa S. aureus*

0.6 (*Streptocoque*) من هذه المزرعة وتوضع في أنبوب اختبار يحوي 10

.Mueller-Hinton

- يتم وضع الأنابيب في حمام مائي درجة حرارته 37 ° لمدة تتراوح ما بين 3 5

لحين بداية ظهور تعكر طفيف، هذا التعكر يدل على أن كل أنبوب يحوي حوالي  $10^7 \times 5$  بكتيريا/ .

- يؤخذ 1 مل من كل أنبوب ويوضع في أنبوب آخر يحوي 10 Mueller-Hinton

حرارته 37 °.

- تؤخذ علب بيتري فارغة ليوضع في كل علبه 2 مل من تركيز معين من التراكيز المحضرة سابقا ثم

يضاف إلى كل علبه 18 Mueller-Hinton ذائب درجة حرارته 45 °.

- تحرك العلب جيدا لأجل ضمان الانتشار الجيد للمستخلص في كامل العلبه، ثم تترك لتجمد وتجف لمدة

30 دقيقة في الحاضنة درجة حرارتها 37 °.

- تؤخذ علب كشاهد تحوي 18 Mueller-Hinton 2 2

- بعد أن تصبح العلب جاهزة تتم عملية الزرع على كل علبه بشكل (Strie) بواسطة إبرة التلقيح

البلاتينية.

- في اليوم الثاني تتم قراءة نتائج العلب ومن ثم تحديد أصغر تركيز مثبط للبكتيريا CMI [8].

## ملاحظة:

- 1- إضافة إلى تعويض الوسط (M.H) (Chocolat) بالنسبة للبكتيريا المتطلبة لشروط، تمت عملية الحضانة في حاضنة خاصة تحتوي على  $CO_2$ .
- 2- أجل ضمان الحصول على نتائج متناهية الدقة فقد كنا نحرص على إعادة كل تجربة من 3 4

## المراجع

- [1] A. Bisio, D. Fraternali, M. Giacomini, E. Giacomelli, S. Pivetti, E. Russo, G. Caviglioli, G. Romussi.; D. Ricci, N. De Tommasi.( 2010). Phytotoxicity of *Salvia* spp. Exudates. *Crop Protection* , 29, 1434-1446.
- [2] T. Hatano, H. Kagawa, T. Yasuhara, and T. Okuda.(1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2090-2097.
- [3] L. M. Cheung , P. C. K. Ooi, V. E. C. Cheung.(2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.*, 81, 249-255.
- [4] Barry, A. (1986). Procedure for testing anti microbial agents in agar media, 2<sup>nd</sup> edition.
- [5] Bauer, A.W., Kirby, W., Sherris, I., Turk, M. (1986). Antibiotic susceptibilit standardized single disc methods. *Am. J. clin. Pathol.*, 45, 493.
- [6] Ericsson, H. M., Sherris, J.C. (1971). *Acta Pathol, microbiolscan, Sect. B, suppl.*, 217,1.
- [7] Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A.(1987). *Bactériologie médicale, Techniques usuelles*. SIMEP. Paris.
- [8] NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, 6th ed. Approved standard. M2-A6, Wayne, PA.

# الفصل الأول

---

التعيين البنيوي للمركبات المعزولة

الجزء الثالث

---

مناقشة النتائج

## I-التحليل البنوي لمركبات مستخلص Exsudat

### 1-التحليل البنوي للمركب E<sub>1</sub>

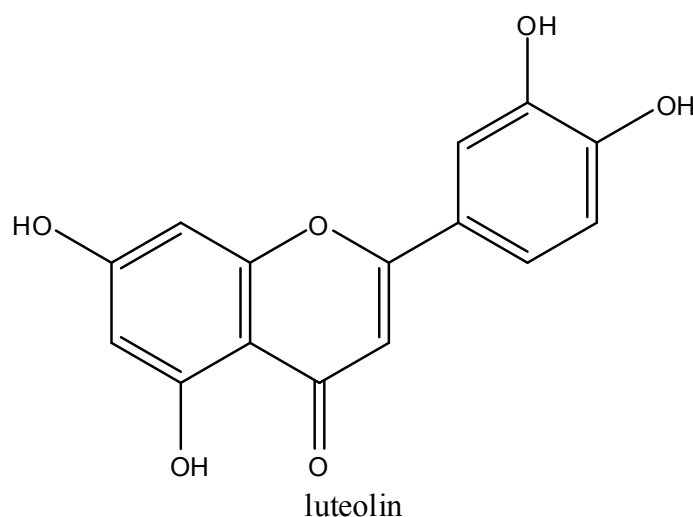
يظهر طيف البروتون [شكل رقم:19] 6 إشارات بتكامل 1H لكل إشارة وذلك في منطقة البروتونات العطرية المتواجدة في المجال 6ppm - 8 ppm حيث نلاحظ على طيف البروتون:

- إشارتين ثنائيتين عند  $\delta = 6.23 \text{ ppm}$  و  $\delta = 6.45 \text{ ppm}$  بثابت تزاوج  $2.0 \text{ Hz}$  تشير إلى تزاوج من نوع ميتا حيث نسبت الإشارة الأولى إلى البروتون H<sub>6</sub> والثانية إلى البرتون H<sub>8</sub>.

- إشارة أحادية عند  $\delta = 6.53 \text{ ppm}$  والتي نسبت إلى البروتون H<sub>3</sub> وهذا ما يؤكد اللون الإستشعاعي البنفسجي للمركب تحت الأشعة فوق بنفسجية.

- وجود نظام من نوع ABX والذي أعطانا إشارة ثنائية عند  $\delta = 6.91 \text{ ppm}$  بثابت تزاوج  $8.9 \text{ Hz}$  والتي نسبت إلى البروتون H<sub>5</sub> والإشارة الثنائية عند  $\delta = 7.37 \text{ ppm}$  بثابت تزاوج  $2.0 \text{ Hz}$  والتي نسبت إلى البروتون H<sub>2</sub> وأخيرا الإشارة الثنائية-الثنائية عند  $\delta = 7.38 \text{ ppm}$  بثابتي تزاوج  $8.9 \text{ Hz}$  و  $2.0 \text{ Hz}$  والتي نسبت إلى البروتون H<sub>6</sub>.

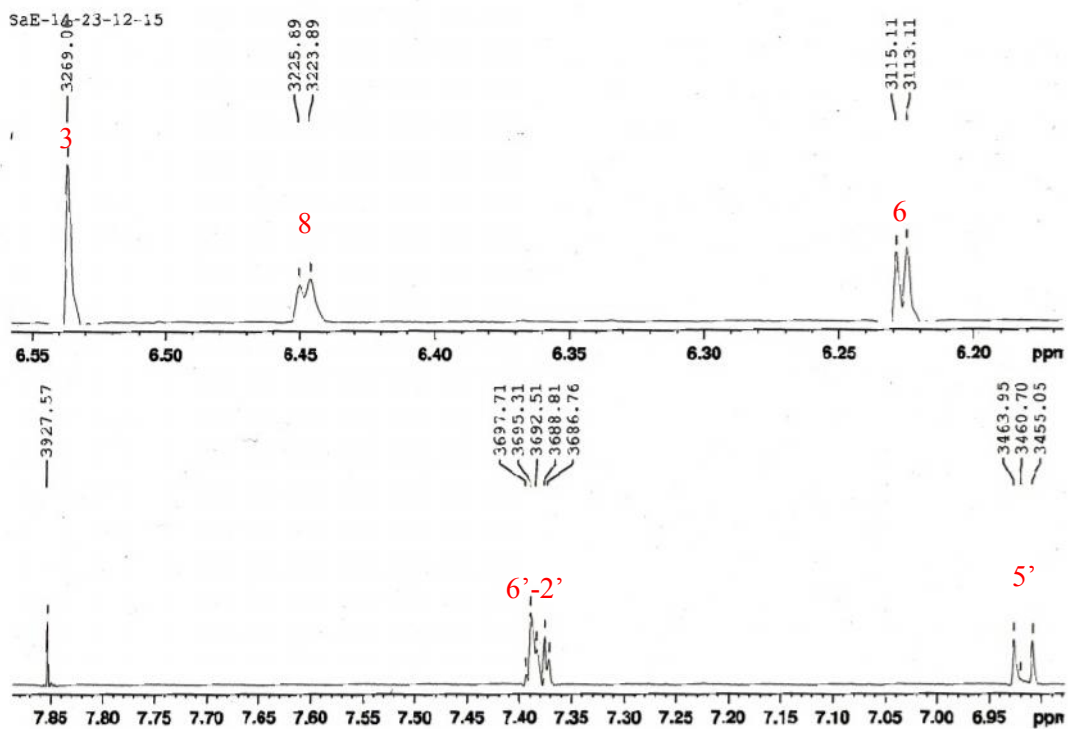
وبمقارنة الإزاحات الكيميائية للكربون <sup>13</sup>C [شكل رقم: 20] الخاصة بالمركب E<sub>1</sub> جدول رقم 9- مع المراجع البليوغرافية [3،2،1] تبين لنا أن المركب (1) هو الـ luteolin.



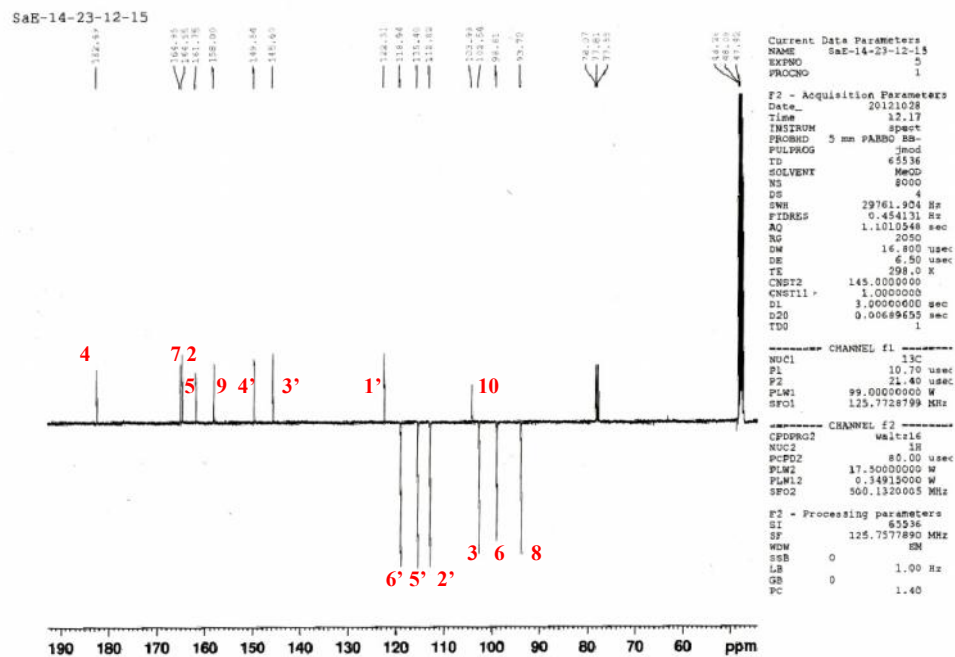


جدول رقم 9- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>1</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H ( 500 MHz, δ<sub>H</sub>, J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, δ<sub>C</sub>)  
 في الـ CD<sub>3</sub>OD

المركب E <sub>1</sub>		
الموضع	δ <sub>H</sub> (J en Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm
2	-	164.6
3	6.53, <i>s</i>	102.5
4	-	182.5
5	-	161.8
6	6.23, <i>d</i> ( 2 )	98.8
7	-	165.0
8	6.45, <i>d</i> ( 2 )	93.7
9	-	158.0
10	-	104.0
1'	-	122.3
2'	7.37, <i>d</i> ( 2 )	112.8
3'	-	145.6
4'	-	149.5
5'	6.91, <i>d</i> ( 8.9 )	115.4
6'	7.38, <i>dd</i> ( 2, 8.9 )	118.9



شكل رقم-19:- طيف الـ  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_1$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ , J en Hz)



شكل رقم-20:- طيف الـ  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_1$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )

## 2- التحليل البنوي للمركب E<sub>2</sub>

تحصلنا على المركب E<sub>2</sub> على شكل مسحوق أبيض، الصيغة المجملة له هي C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم: 21] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 511.3774$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى الكتلة الجزيئية  $M = 488$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب.

### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

1471 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

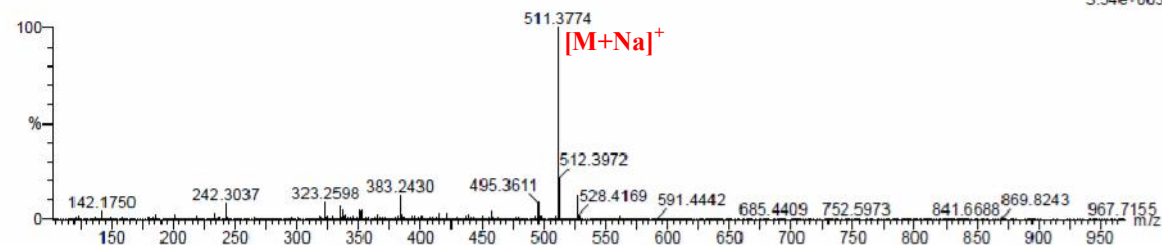
Elements Used:

C: 31-31 H: 0-1000 N: 0-5 O: 0-15 <sup>23</sup>Na: 0-1 <sup>56</sup>Fe: 0-1 <sup>90</sup>Zr: 0-1 I: 0-1

Hichem 1

<sup>13</sup>HR137 86 (5.976) AM (Top,4, Ar,5000,0.472,69,1.00,LS 10); Sm (Mn, 2x1.00); Sb (1,40.00); Cm (86:107)

1: TOF MS ES+  
3.54e+003



Minimum:

Maximum: 5.0 5.0 -1.5

Mass Calc. Mass mDa PPM DBE i-FIT Formula

511.3774 511.3763 1.1 2.2 5.5 111.5 C<sub>31</sub> H<sub>52</sub> O<sub>4</sub> <sup>23</sup>Na

شكل رقم -21-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>2</sub>

بملاحظة طيفا الرنين النووي المغناطيسي للبروتون <sup>1</sup>H [شكل رقم: 22] و للكربون <sup>13</sup>C بتقنية  $J_{mod}$  [شكل رقم: 23] يتبين لنا على أنّ بنية المركب E<sub>2</sub> هي لهيكل تربين ثلاثي ويؤكد ذلك الإشارات الخاصة بالهيكل التربين الثلاثي، حيث نلاحظ من خلال طيفا الـ <sup>13</sup>C بتقنية  $J_{mod}$  [شكل رقم: 23] و الـ HSQC [شكل رقم: 24] للمركب E<sub>2</sub> وجود

- ثمانية إشارات خاصة بمجموعات الـ CH<sub>3</sub> تظهر في مجال قيم الإزاحات الكيميائية المحصورة بين  $\delta_H = 0.8$  ppm و  $\delta_H = 1.2$  ppm حيث نلاحظ ستة من هذه الإشارات تظهر بتعددية أحادية عند القيم التالية:

$\delta_{H-25} = 1.09$  ppm ،  $\delta_{H-23} = 1.01$  ppm ،  $\delta_{H-28} = 0.88$  ppm ،  $\delta_{H-24} = 0.82$  ppm  
 $\delta_{H-27} = 1.20$  ppm ،  $\delta_{H-26} = 1.13$  ppm  
 و إشارتين ثنائيتين عند قيم الإزاحتين الكيميائيتين:  
 $\delta_{H-30} = 0.97$  ppm و  $\delta_{H-29} = 0.94$  ppm

- إشارة أحادية أخرى خاصة بمجموعة ال-CH<sub>3</sub> تظهر عند قيمة الإزاحة الكيميائية  $\delta_{CH_3} = 3.41 \text{ ppm}$  وقيمته الكبيرة تدل على أنها مرتبطة بذرة أوكسجيني.

تظهران قيمة الإزاحتين CH<sub>3</sub>

يمكن إتخاذها كمرجع في طيف ال-<sup>13</sup>C HMBC  $\delta_{H-24} = 0.82 \text{ ppm}$   $\delta_{H-23} = 1.01 \text{ ppm}$

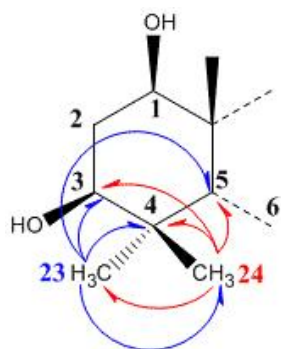
[ 25 : ] لإظهارهما C-3 يرن

الكربونين C-4 C-5 لسهولة معرفة هذين الأخيرين حيث  $\delta_{C-3} = 76.0 \text{ ppm}$

يظهر الأول على شكل كربون رباعي (C-4) عند قيمة الإزاحة الكيميائية  $\delta_{C-4} = 39.0 \text{ ppm}$

مثنى (C-H) (C-5) عند القيمة  $\delta_{C-5} = 52.0 \text{ ppm}$  [ 28 : ] طيف

<sup>13</sup>C بتقنية  $J_{mod}$  [ 23: ]



شكل رقم -28- : مختلف تعالقات  $J_{H-C}^2$  و  $J_{H-C}^3$  لبروتونات H-24 و H-23 لهيكل المركب E<sub>2</sub>

هذه C-5

قيمة الإزاحة الكيميائية  $\delta_{H-25} = 1.09 \text{ ppm}$  C-25 CH<sub>3</sub>

خلالها يمكن معرفة المجاورة لها C-1 C-9 C-10 [ ] :

[29] حيث الأولتان C-H كبرونين قيمتي الإزاحتين

الأخيرة تدل على  $\delta_{C-9} = 52.4 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{C-1} = 76.7 \text{ ppm}$

قيمة  $\delta_{C-10} = 44.7 \text{ ppm}$  .

طيف HSQC يمكن تحديد H-1 H-3 H-9

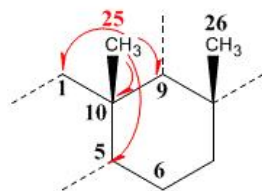
C-1 C-3 C-9 و الذين يرنون على شكل ثنائي عند  $\delta_H = 1.81 \text{ ppm}$   $J = 8.5 \text{ Hz}$

$\delta_H = 3.32 \text{ ppm}$   $J = 12.3 \text{ Hz}$   $J = 4.4 \text{ Hz}$

$\delta_H = 3.43 \text{ ppm}$   $J = 10.4 \text{ Hz}$   $J = 4.4 \text{ Hz}$

قيم الإنزياح وثوابت التزاوج ل- H-1 H-3 على وجود مجموعتي هيدروكسيل في الموضعين C-1

$\beta$  C-3 و يؤكد طيف الـ NOESY [ 26 : ] التشكيل الفراغي  $\beta$   
 H-1/H-9 H-3/H-5 H-3/H-23 OH



شكل رقم -29- : مختلف تعالقات  $J_{H-C}^2$  و  $J_{H-C}^3$  لبروتونات H-25 لهيكل المركب  $E_2$

C-9 للكربون الذي يرن  $\delta_C = 52.4$

$\delta_{H-26} =$  CH<sub>3</sub> C-26 والتي تظهر إشارة بروتوناته عند قيمة  
 1.13 ppm وذلك من خلال بقعة تعالقتها في طيف الـ HMBC [ 25:

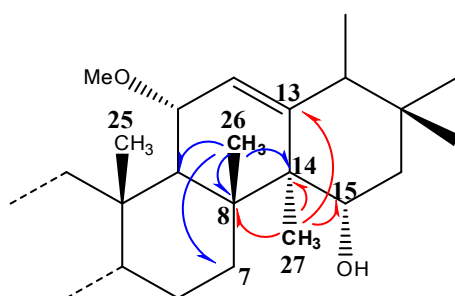
CH<sub>3</sub> C-26 تمكنا من معرفة إشارات الكربونات المجاورة لها ]

C-7 و الذي يرن عند قيمة الإزاحة  $\delta_{C-7} = 36.2$  ppm [ 25: 30

يظهر على شكل مجموعة CH<sub>2</sub> حسب طيف الـ  $^{13}C$  بتقنية  $J_{mod}$  [ 23:

C-14 ، C-8 هما عبارة عن كربونات رباعية ل يظهر عند قيمة الإزاحة الكيميائية  $\delta_{C-8} = 45.1$

.  $\delta_{C-14} = 47.5$  ppm ppm



شكل رقم -30- : مختلف تعالقات  $J_{H-C}^2$  و  $J_{H-C}^3$  لبروتونات H-26 و H-27 لهيكل المركب  $E_2$

C-27 CH<sub>3</sub> إزاحتي الكربونين C-14 ، C-8

[ 30 : ] و التي ترن عند قيمة الإزاحة  $\delta_{H-27} = 1.20$  ppm وهذه الأخيرة بدورها تظهر

C-13 رابطة الثنائية يرن عند الإزاحة  $\delta_{C-13} = 146.6$  ppm

CH C-15 يرن عند  $\delta_{C-15} = 68.0$  ppm. وهذه القيمة تدل على أنّ الكربون

C-15 حامل لذرة أوكسجين و يمكن بواسطة طيف الـ HSQC معرفة الإزاحة الكيميائية لـ H-15

$$\delta_{H-15} = 4.17 \text{ ppm}$$

من طيف الـ COSY [ 27: ] [ 31: ] نلاحظ إشارة تعالق بين بروتون

H-15 الذي يظهر على شكل إشارة ثنائية ثنائية  $J = 12.4 \text{ Hz}$   $J = 5.91 \text{ Hz}$

مع بروتونين آخرين للكربون C-16 والذان يرنان عند قيمة الإزاحتين  $\delta_{H-16a} = 1.99 \text{ ppm}$  و  $\delta_{H-16b}$

$1.19 \text{ ppm} =$  و من خلال قيمتي الإزاحتين للبروتونين نستنتج قيمة الإزاحة الكيميائية للكربون C-16

من طيف الـ HSQC [ 24: ] حيث يظهر عند القيمة  $\delta_{C-16} = 38.9 \text{ ppm}$  و هذه

CH<sub>3</sub> C-28 [ 32 : ] حيث نلاحظ نقطة تعالقتها

من خلال طيف الـ HMBC [ 25: ] CH<sub>3</sub> C-28

و التي ترن عند قيمة الإزاحة  $\delta_{H-28} = 0.88 \text{ ppm}$  ، يمكن قيم

C-28 [ 32 : ] و هما C-17 C-18 ، C-22

يظهرون عند قيم الإزاحات الكيميائية  $\delta_{C-17} = 33.9 \text{ ppm}$   $\delta_{C-18} = 58.8 \text{ ppm}$   $\delta_{C-22} =$

40.9 ppm

C-13 حسب طيف الـ HMBC [ 25 : ] يظهر لنا بقعة تعالق مع بروتون

C-18 و الذي يرن عند الإزاحة  $\delta_{H-18} = 1.44 \text{ ppm}$  .

من طيف الـ COSY [شكل رقم: 27] البروتون H-18 يظهر نقطة تعالق مع البروتون

H-19 الذي يرن عند  $\delta_{H-19} = 1.35 \text{ ppm}$  و الذي بدوره يظهر لنا بقعة تعالق مع

البروتون H-20 الذي يرن عند  $\delta_{H-20} = 0.95 \text{ ppm}$  حيث نـ كربوني هذان البروتونين

وَالذان يرنان عند الإزاحتين  $\delta_{C-19} = 38.9 \text{ ppm}$  و  $\delta_{C-20} = 39.2 \text{ ppm}$  يظهران لنا

CH<sub>3</sub> C-29 C-30

طيف الـ HMBC [ 25 : ] و كما بيّنه [ 32 : ] ذين يـ

$\delta_{H-29} = 0.94 \text{ ppm}$   $\delta_{H-30} = 0.97 \text{ ppm}$  و من خلال هذه الإزاحة لمجموعة CH<sub>3</sub>

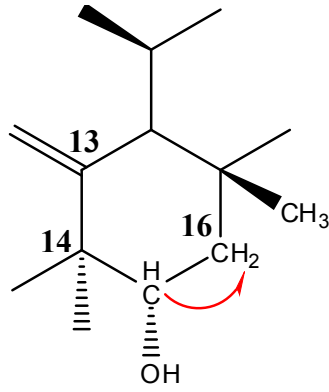
C-30 الكيميائية C-21 يرن  $\delta_{C-21} = 30.8 \text{ ppm}$

طيف الـ HMBC [ 25 : ] CH<sub>3</sub> C-30

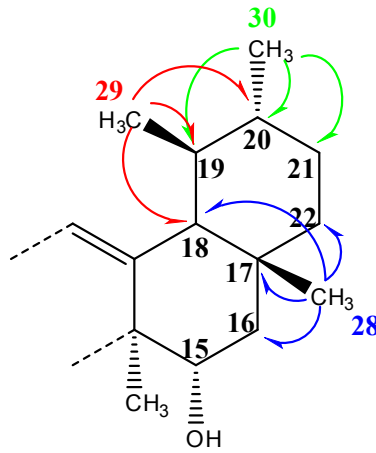
C-21 اللذان يرنان عند  $\delta_{H-21} = 1.46 \text{ ppm}$  جهة [ 25 : ]

بروتونين آخرين يظهران  $\delta_{H-21} = 1.30 \text{ ppm}$  يظهران عند C-22 يرنان عند

طيف الـ COSY [ 26 : ]  $\delta_{H-22} = 1.28 \text{ ppm}$   $\delta_{H-22} = 1.49 \text{ ppm}$

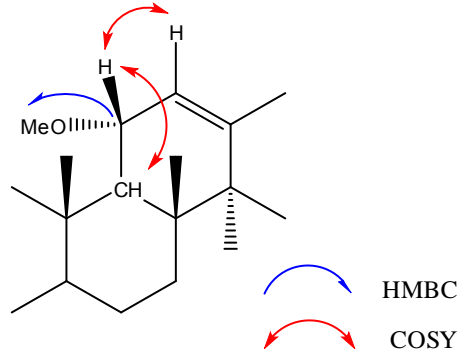


شكل رقم-31 : تعالقات الـ COSY للحلقة D للمركب E<sub>2</sub>



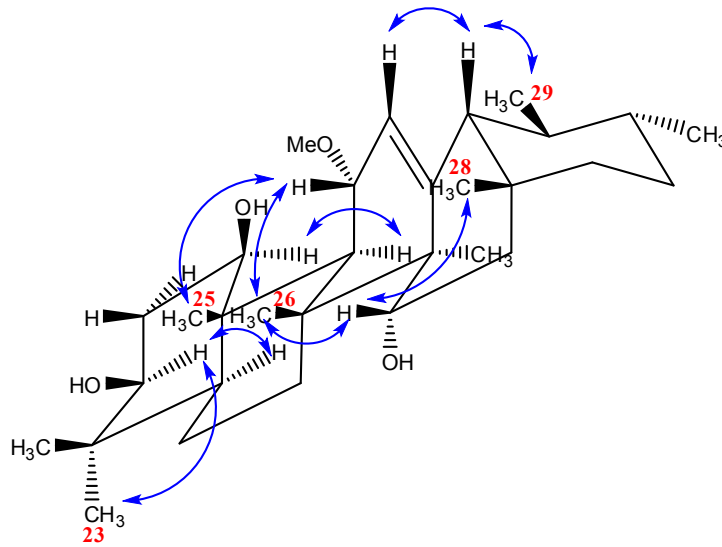
شكل رقم -32- : مختلف تعالقات  $J_{H-C}^2$  و  $J_{H-C}^3$  لبروتونات H-28 و H-29 و H-30 لهيكل المركب E<sub>2</sub>

الأوليفيني	بين	[27 :	طيف COSY
يظهر			يظهر
			$\delta_{H-12} = 5.51 \text{ ppm (d, } J = 3.5 \text{ Hz)}$
	يظهر		$\delta_{H-9} = 1.81 \text{ ppm (d, } J = 8.5 \text{ Hz)}$
			$\delta_{H-11} = 4.11 \text{ ppm (1H, dd, } J = 8.5 - 3.5 \text{ Hz)}$
الميتوكسي			$\delta_{C-11} = 75.6 \text{ ppm}$ يظهر
			$\delta_H = 3.41 \text{ ppm}$ التي تظهر عند الإزاحة الكيميائية وهذا من خلال طيف ا
		[25:	]HMBC
		[33:	]



شكل رقم -33- : تعالقات الـ COSY و الـ HMBC للحلقة C للمركب E<sub>2</sub>

تأثيرات NOE طيف NOESY [26: ] يمكننا من إستنتاج البنية الفراغية للمركب E<sub>2</sub> [34 : ] و التي تيرر مختلف التعالقات للبروتونات التالية H-11/Me25 H-11/Me26 β لهذه البروتونات β H-15 H-15/Me28 H-15/Me26 و هذا يدل على أن الهيدروكسي في الموضع C-15 α و الميثوكسي المرتبط بـ C-11 . α



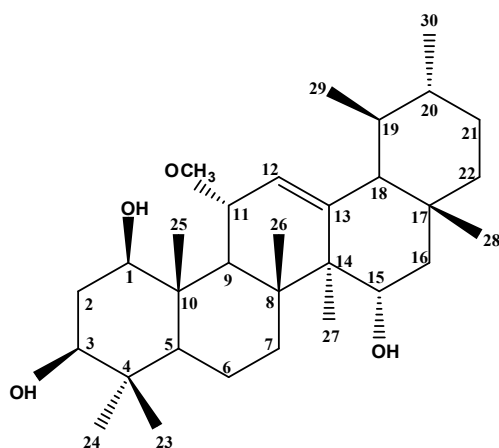
شكل رقم -34- : تعالقات الـ NOESY للمركب E<sub>2</sub>

-10- تسمح لنا بإقتراح البنية الجديدة التالية :

كل هذه المعطيات

11α-methoxyurs-12-ene-1β, 3β, 15α-triol

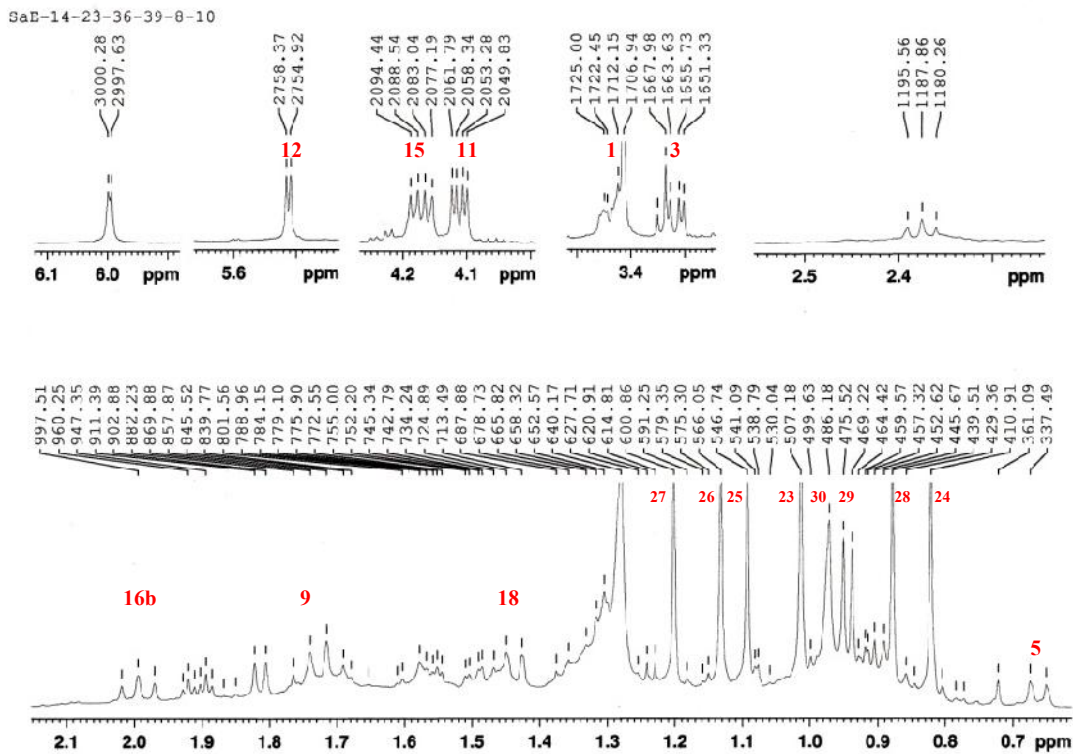




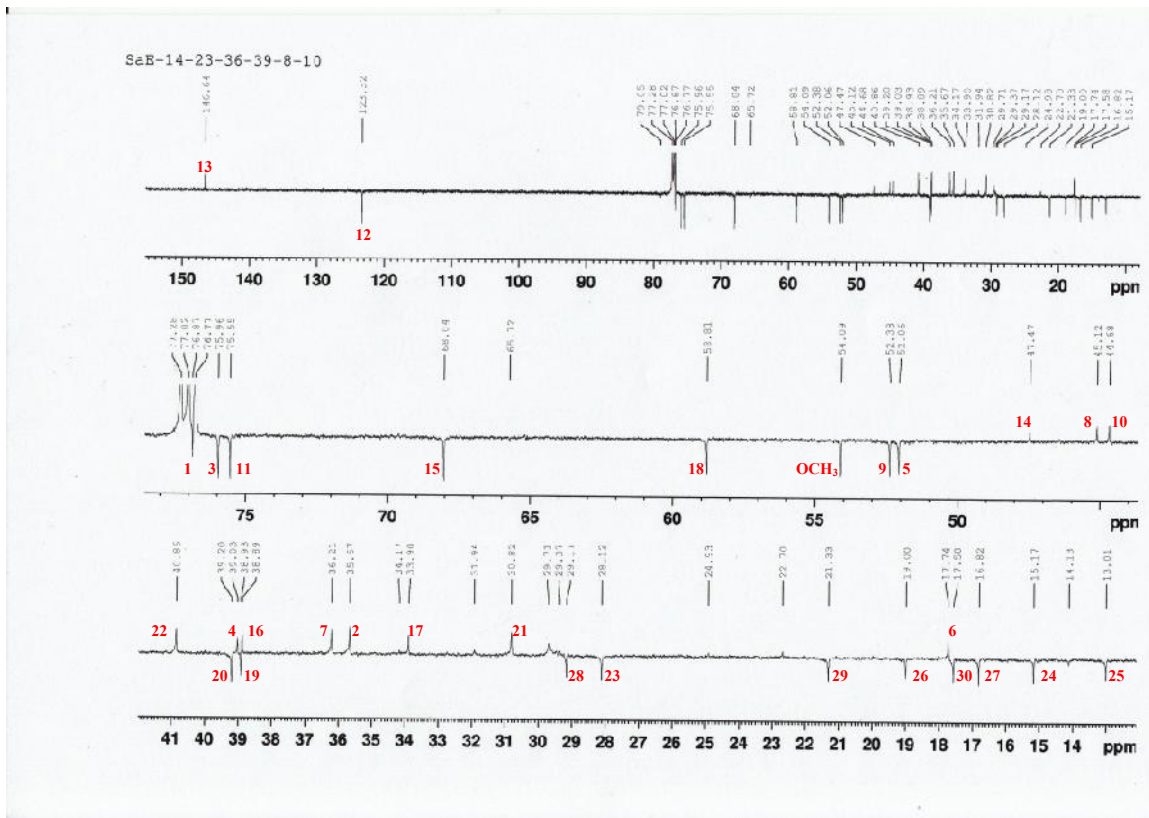
**11 $\alpha$ -methoxyurs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$ -triol**

-10- : الإزاحات الكيميائية للمركب  $E_2$   
 RMN  $^1H$  (500 MHz,  $H$ ,  $J$  en Hz) ; RMN  $^{13}C$  (125 MHz,  $C$ )  
 $CDCl_3$

المركب $E_2$					
الموضع	$\delta_H$ (J en Hz) ppm	$\delta_c$ ppm	الموضع	$\delta_H$ (J Hz) ppm	$\delta_c$ ppm
1	3.43, <i>dd</i> (10.4, 4.0)	76.7	16	1.99, <i>t</i> (12.1) 1.19, <i>m</i>	38.9
2	1.73, <i>m</i> 1.91, <i>dt</i> (12.9, 5.3)	35.7	17	-	33.9
3	3.32, <i>dd</i> (12.3, 4.4)	76.0	18	1.44, <i>d</i> (11.4)	58.8
4	-	39.0	19	1.35	38.9
5	0.66, <i>dm</i> (12.1)	52.1	20	0.95	39.2
6	1.57, <i>m</i> 1.73, <i>m</i>	17.7	21	1.46, <i>m</i> 1.30, <i>m</i>	30.8
7	1.56, <i>m</i>	36.2	22	1.49, <i>td</i> (9.7, 2.8) 1.28, <i>m</i>	40.9
8	-	45.1	23	1.01, <i>s</i>	28.1
9	1.81, <i>d</i> (8.5)	52.4	24	0.82, <i>s</i>	15.2
10	-	44.7	25	1.09, <i>s</i>	13.0
11	4.11, <i>dd</i> (8.5, 3.5)	75.6	26	1.13, <i>s</i>	19.0
12	5.51, <i>d</i> (3.5)	123.3	27	1.2, <i>s</i>	16.8
13	-	146.6	28	0.88, <i>s</i>	29.2
14	-	47.5	29	0.94, <i>d</i> (6.3)	17.6
15	4.17, <i>dd</i> (11.4, 5.9)	68.0	30	0.97, ( <i>d</i> -like)	21.3
			O-CH <sub>3</sub>	3.41, <i>s</i>	54.1

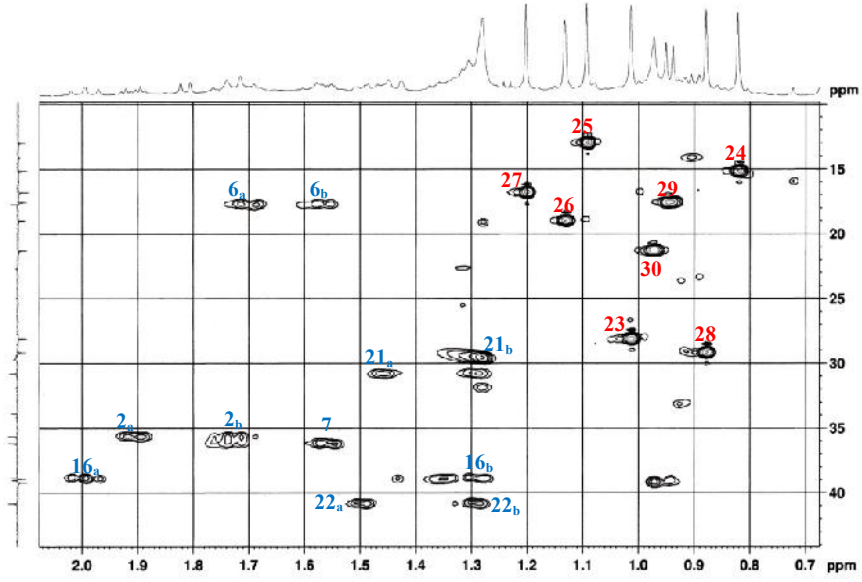


(500 MHz,  $H_2O$ ,  $J$  en Hz)  $E_2$  RMN  $^1H$  طيف :-22-

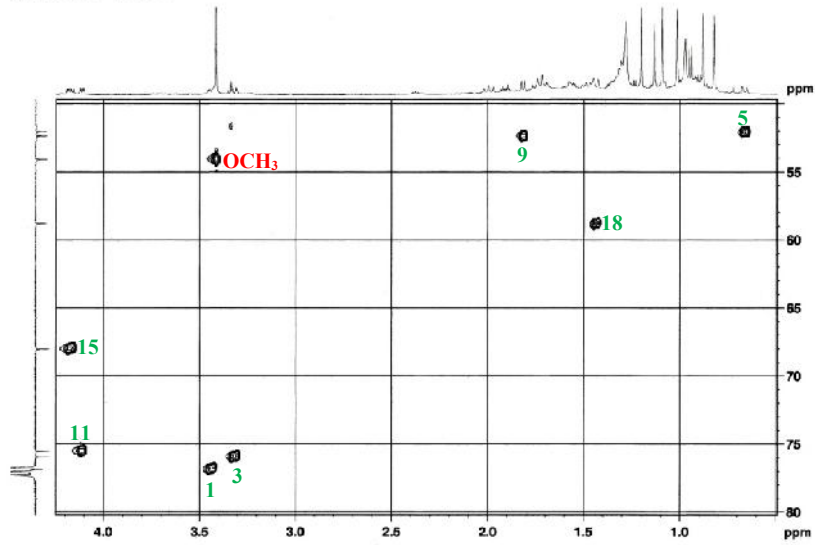


(125 MHz,  $C_2H_5CO$ )  $E_2$  RMN  $^{13}C$   $J$ -modulé طيف :-23-

SaE-14-23-36-39-8-10

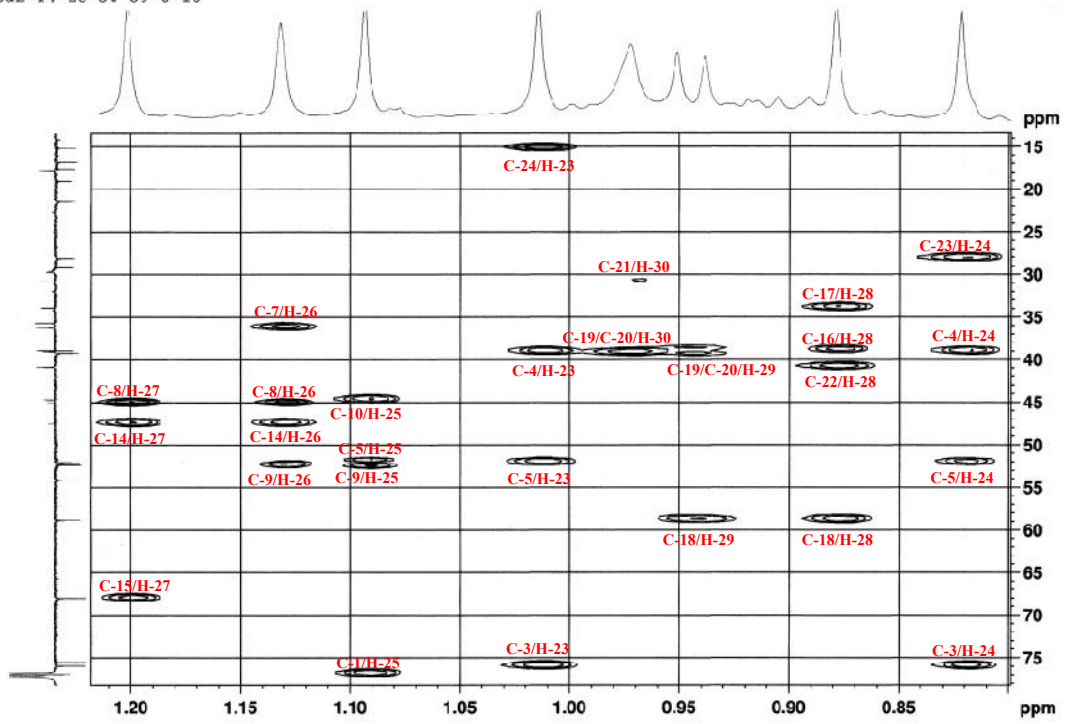


SE E 14-23-36-39-8-10

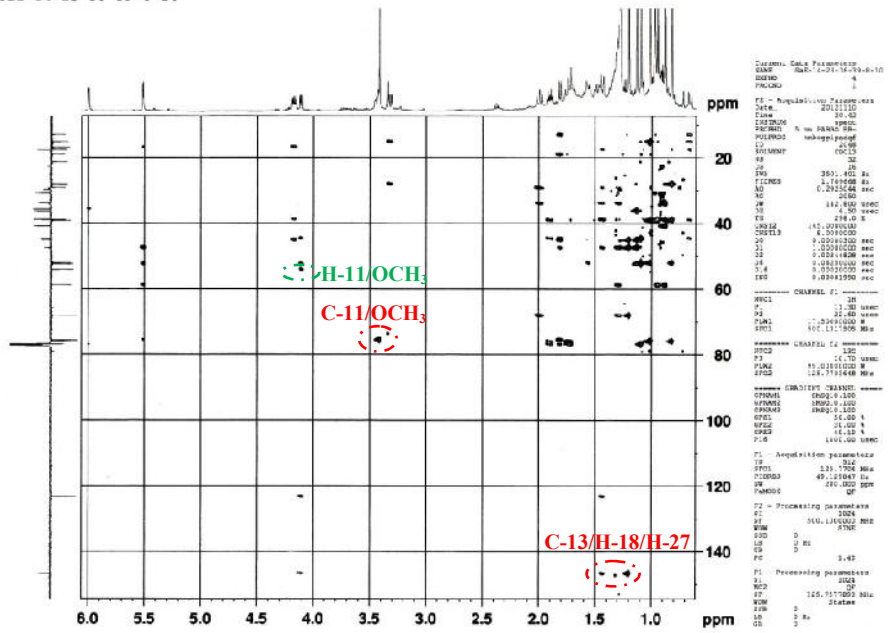


E<sub>2</sub> -24- : طيف الـ HSQC

Sab-14-23-36-39-8-10

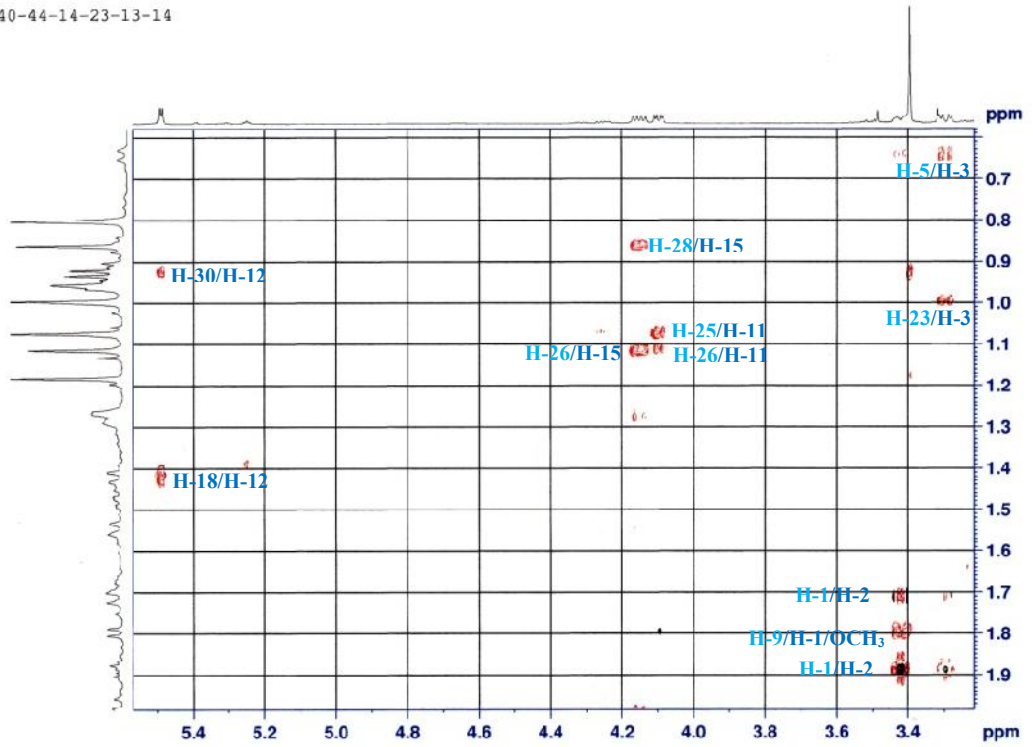


Sab-14-23-36-39-8-10



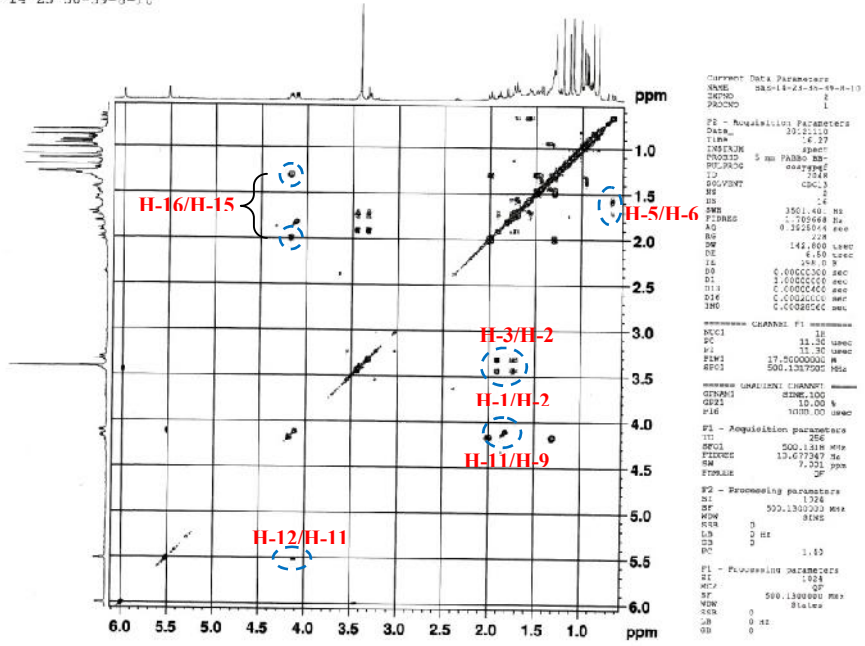
شكل رقم -25- : طيف ال- HMBC للهيكال التربين الثلاثي للمركب E<sub>2</sub>

SaE-40-44-14-23-13-14

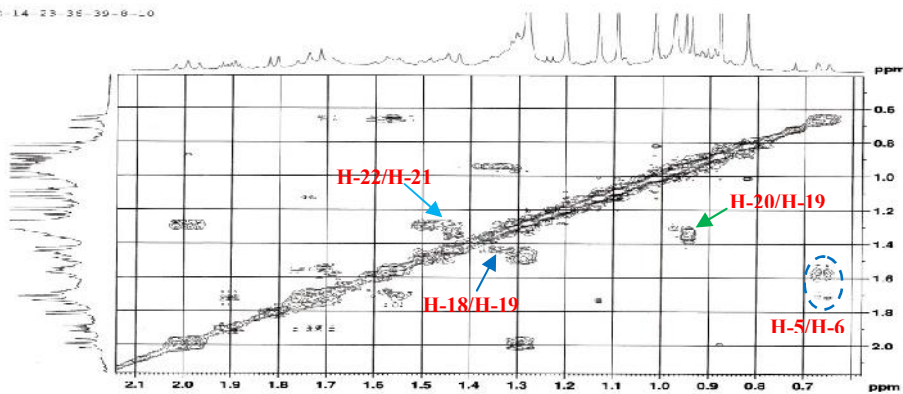


E<sub>2</sub> -26- : طيف الـ NOESY

8aE-14-23-36-39-8-10



8aE-14-23-36-39-8-10



E<sub>2</sub> COSY طيف :-27-

### 3- التحليل البنوي للمركب E<sub>3</sub>

المركب E<sub>3</sub> تحصلنا عليه على شكل مسحوق أبيض، الصيغة المجملة له هي C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم: 35] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 497.3615$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 474$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب، كما نلاحظ نقصان في الكتلة بـ 14 uma مقارنة مع المركب E<sub>2</sub> و الذي قد يعود إلى فقدان مجموعة CH<sub>3</sub> .

#### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

1455 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

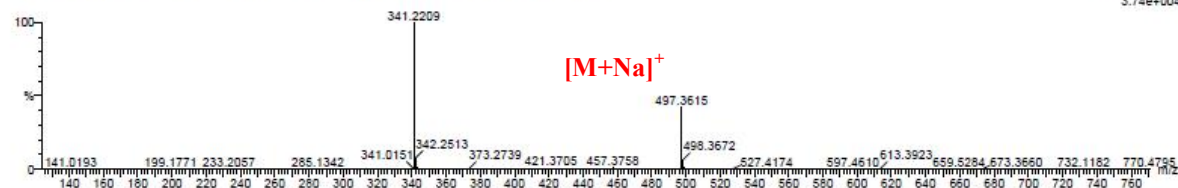
Elements Used:

C: 30-30 H: 0-1000 N: 0-5 O: 0-15 23Na: 0-1 56Fe: 0-1 90Zr: 0-1 I: 0-1

HiChem 3

13HR139 85 (5.906) AM (Top4, Ar,5000.0,472.70,1.00,LS 10); Sm (Mn, 2x1.00); Sb (1,40.00); Cm (76:85)

1: TOF MS ES+  
3.74e+004



Minimum:	5.0	5.0	-1.5			
Maximum:			50.0			
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	Formula
497.3615	497.3607	0.8	1.6	5.5	1708.0	C30 H50 O4 23Na

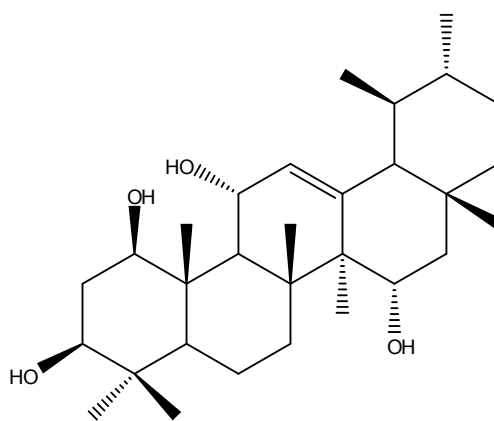
شكل رقم -35-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>3</sub>

من خلال أطيف الرنين النووي المغناطيسي لـ  $^1H$  [شكل رقم: 36] و الـ  $^{13}C$  بتقنية  $J_{mod}$  [شكل رقم 37]: و كذلك طيف الـ  $HMBC$  [شكل رقم: 38] للمركب E<sub>3</sub> نلاحظ تشابه كبير مع المركب E<sub>2</sub> السابق حيث يكمن الاختلاف في الإنزياح الكيميائي إلى الحقل المرتفع لإشارة C-11 عند  $\delta_{C-11} = 67.4$  ppm و إلى الحقل المنخفض لإشارتي الكربونين C-9 و C-12 عند  $\delta_{C-9} = 56.9$  ppm و  $\delta_{C-12} = 129.6$  ppm على التوالي و هذا يدل على غياب تأثير للميتوكسي أو بعبارة أخرى توجد مجموعة الهيدروكسيل (OH) في مكان مجموعة الميتوكسي (OCH<sub>3</sub>) و الجدول رقم -11- يبيّن مختلف الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>3</sub>.

جدول رقم -11- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>3</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, δ<sub>H</sub>, J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, δ<sub>C</sub>)  
 في الـ MeOD

المركب E <sub>3</sub>					
الموضع	δ <sub>H</sub> (J en Hz)	δ <sub>C</sub>	الموضع	δ <sub>H</sub> (J Hz)	δ <sub>C</sub>
1	3.51, <i>dd</i> (11.3, 4.8)	78.3	16	1.19, <i>dd</i> (12.7, 6.8) 2.08, <i>t</i> (12.2)	39.8
2	1.82, <i>dt</i> (12.5, 4.5) 1.76, <i>m</i>	36.3	17	-	34.8
3	3.25, <i>dd</i> (11.9, 4.6)	76.5	18	1.4	59.6
4	-	40.0	19	1.4	40.5
5	0.68, <i>dm</i> (11.0)	53.4	20	0.93, <i>m</i>	40.7
6	1.60 1.67, <i>m</i>	19.0	21	1.33 1.45, <i>m</i>	32.0
7	1.61 1.76	37.2	22	1.33 1.49, <i>m</i>	42.2
8	-	46.1	23	1.00, <i>s</i>	28.6
9	1.7, <i>d</i> (8.6)	56.9	24	0.81, <i>s</i>	15.8
10	-	45.4	25	1.1, <i>s</i>	13.5
11	4.24, <i>dd</i> (8.5, 3.4)	67.4	26	1.37, <i>s</i>	19.3
12	5.33, <i>d</i> (3.4)	129.6	27	1.21, <i>s</i>	18.0
13	-	144.7	28	0.89, <i>s</i>	29.8
14	-	48.6	29	0.99, <i>d</i> (4.3)	18.1
15	4.13, <i>dd</i> (11.5, 5.8)	68.5	30	0.99, <i>d</i> (4.3)	21.8

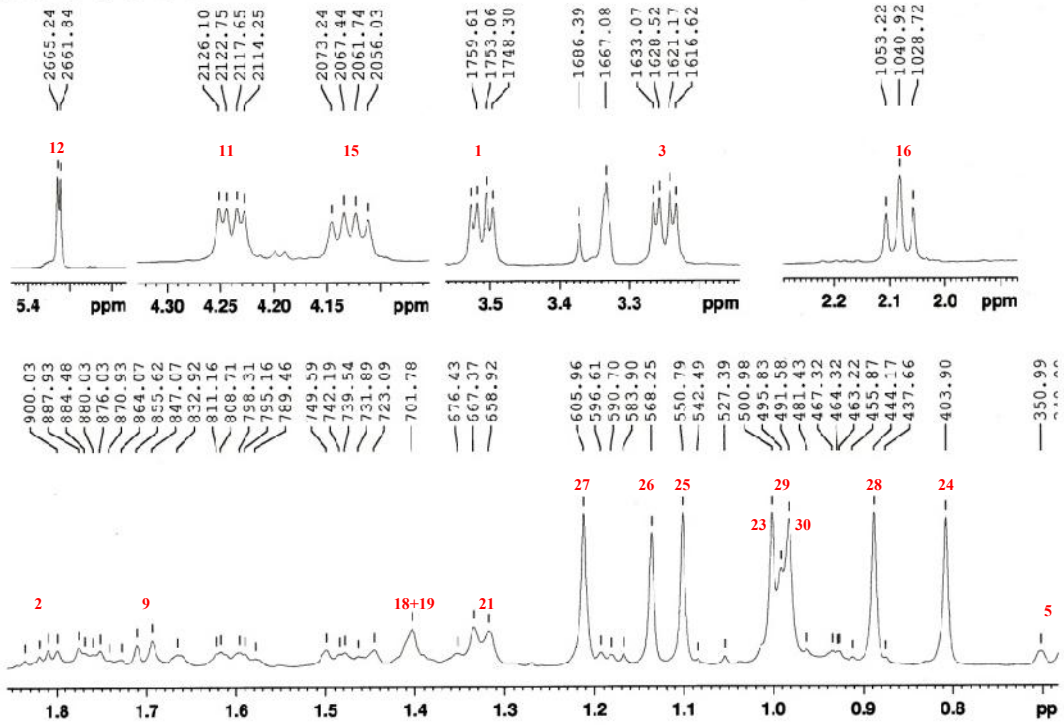
و منه البنية الكيميائية للمركب E<sub>3</sub> تكون كالتالي:



**Urs-12-ene-1β, 3β, 11α, 15α-tetraol**

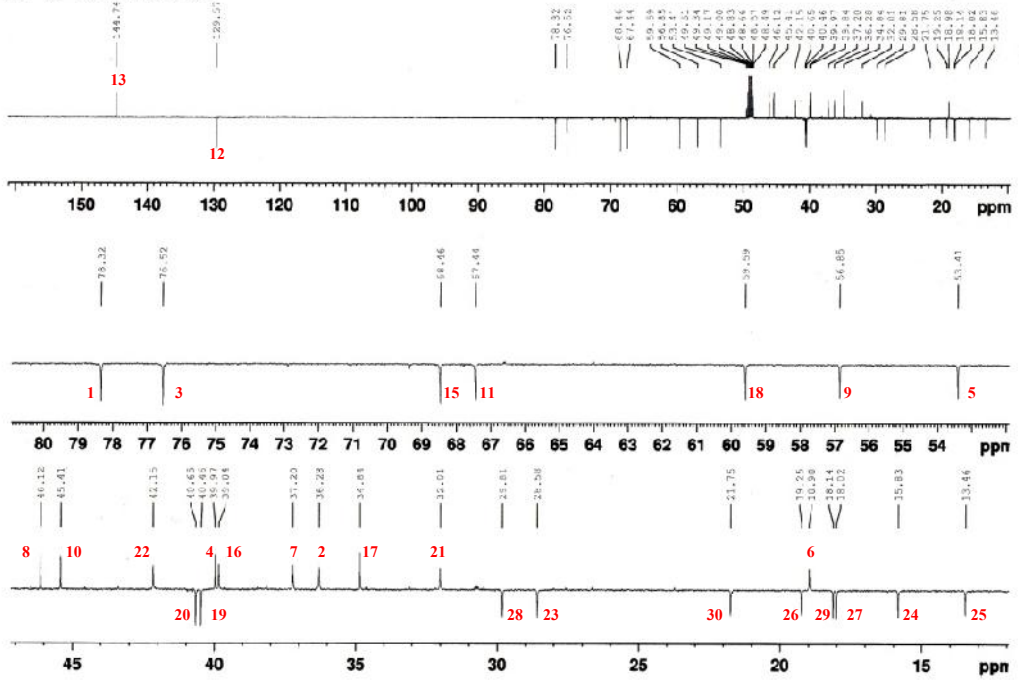


SaE-36-39-14-23-23-22



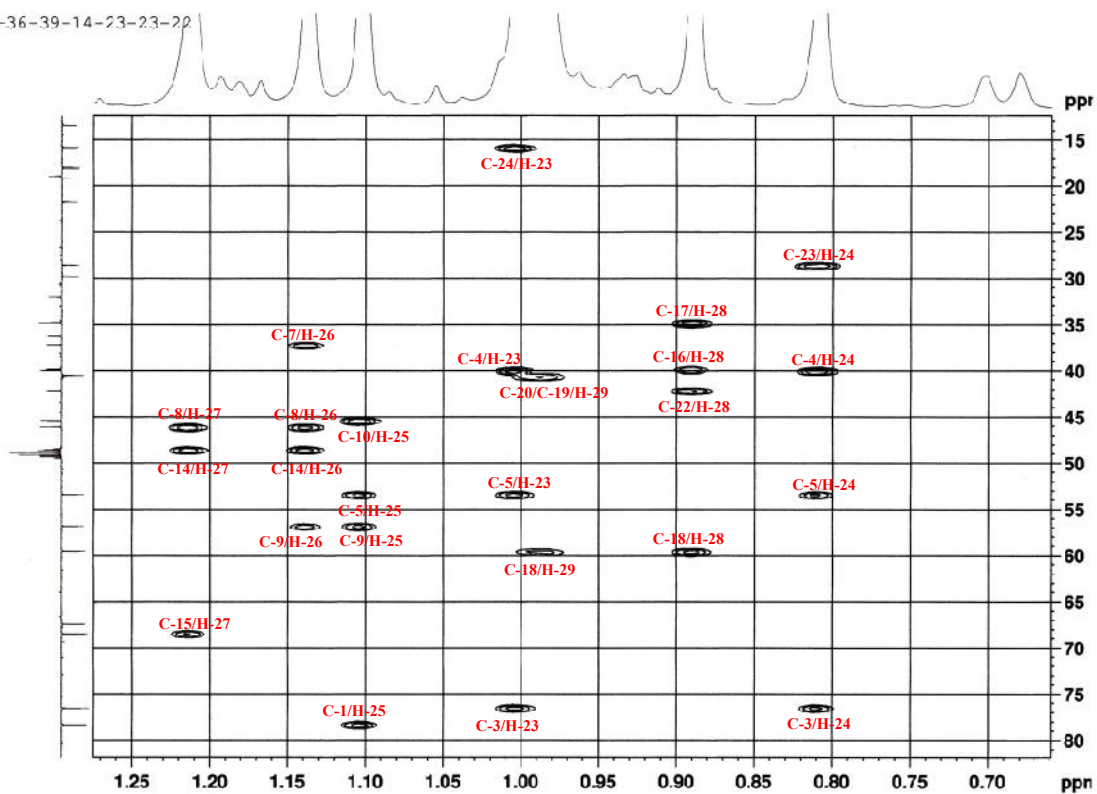
شكل رقم-36: طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_3$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)

SaE-36-39-14-23-23-22



شكل رقم-37: طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_3$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )

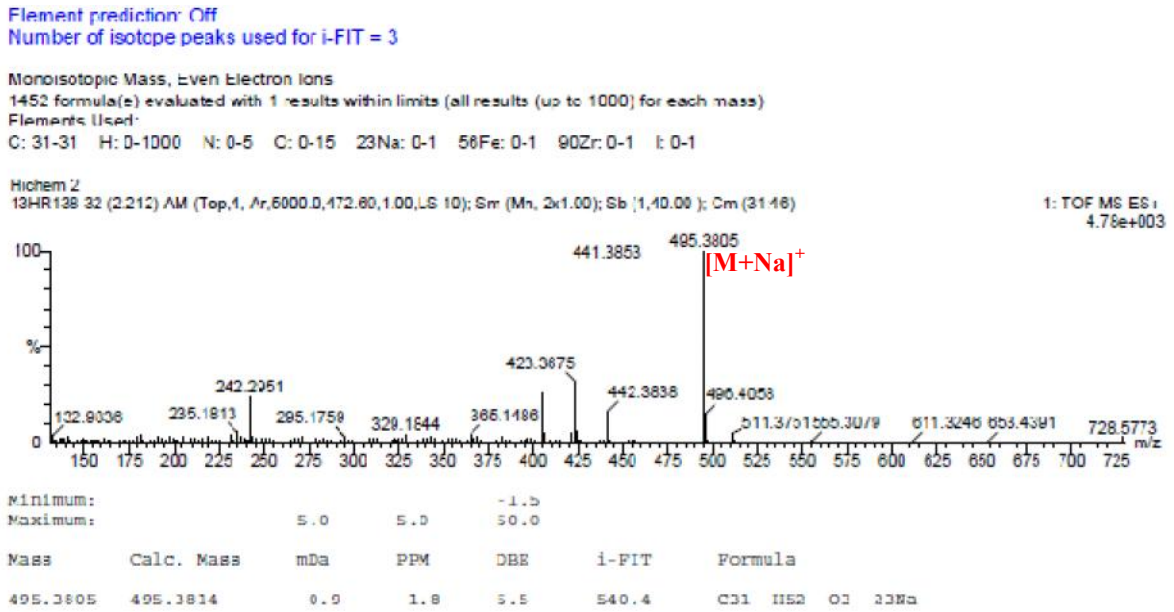
SaR-36-39-14-23-23-22



شكل رقم -38- : طيف HMBC في المجال 1.25-0.65 ppm للمركب E<sub>3</sub>

#### 4- التحليل البنوي للمركب E<sub>4</sub>

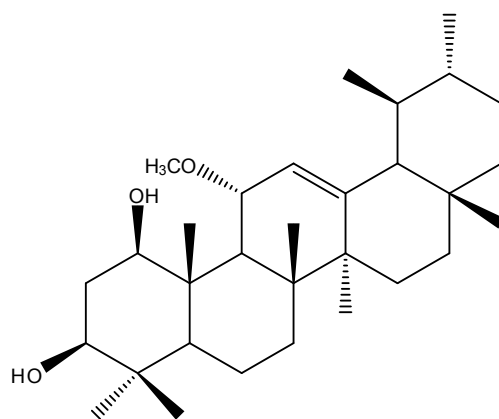
المركب E<sub>4</sub> تحصلنا عليه على شكل مسحوق أبيض، الصيغة المجهلة له هي C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم: 39] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 495.3805$  توافق  $[M+Na]^+$ ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 472$  والتي توافق الصيغة المجهلة للمركب. تبين مقارنة طيفي الكتلة للمركبين E<sub>2</sub> و E<sub>4</sub> نقصان في الكتلة الجزيئية بـ 16 uma بالنسبة للمركب الأخير مما يدل على فقدانه لمجموعة هيدروكسيل.



شكل رقم 39-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>4</sub>

من خلال أطياف الرنين المغناطيسي لـ <sup>1</sup>H [شكل رقم: 40] و لـ <sup>13</sup>C بتقنية J<sub>mod</sub> [شكل رقم: 41] و الـ HMBC [شكل رقم: 42] للمركب E<sub>4</sub> نلاحظ تشابه كبير مع المركب E<sub>2</sub> السابق حيث يوجد فرق بسيط يتمثل في إختفاء إشارات الوظيفة الكحولية الثنائية في الوضعية C-15 و ظهور في مكانها إشارتي البروتونين عند الإزاحتين  $\delta_{H-15} = 1.75$  ppm و  $\delta_{H-15} = 1.1$  ppm و الجدول رقم - 12 يبين مختلف الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>4</sub> و منه نستنتج بنية المركب E<sub>4</sub> تكون على الشكل

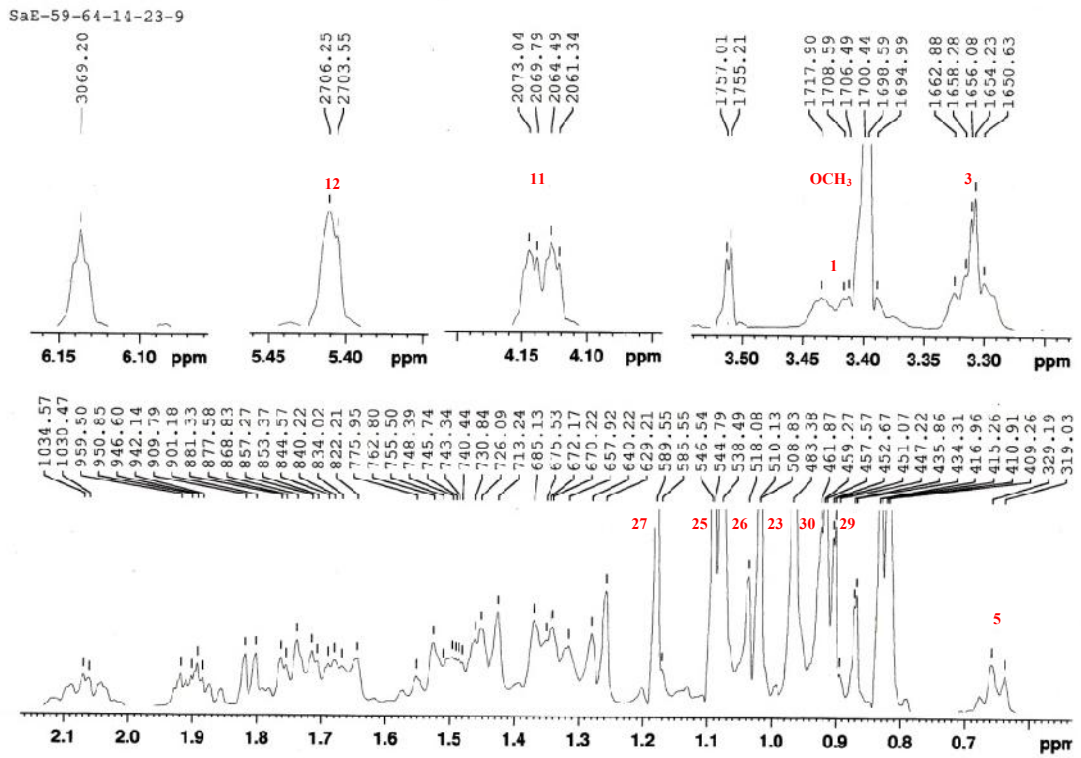
التالي:



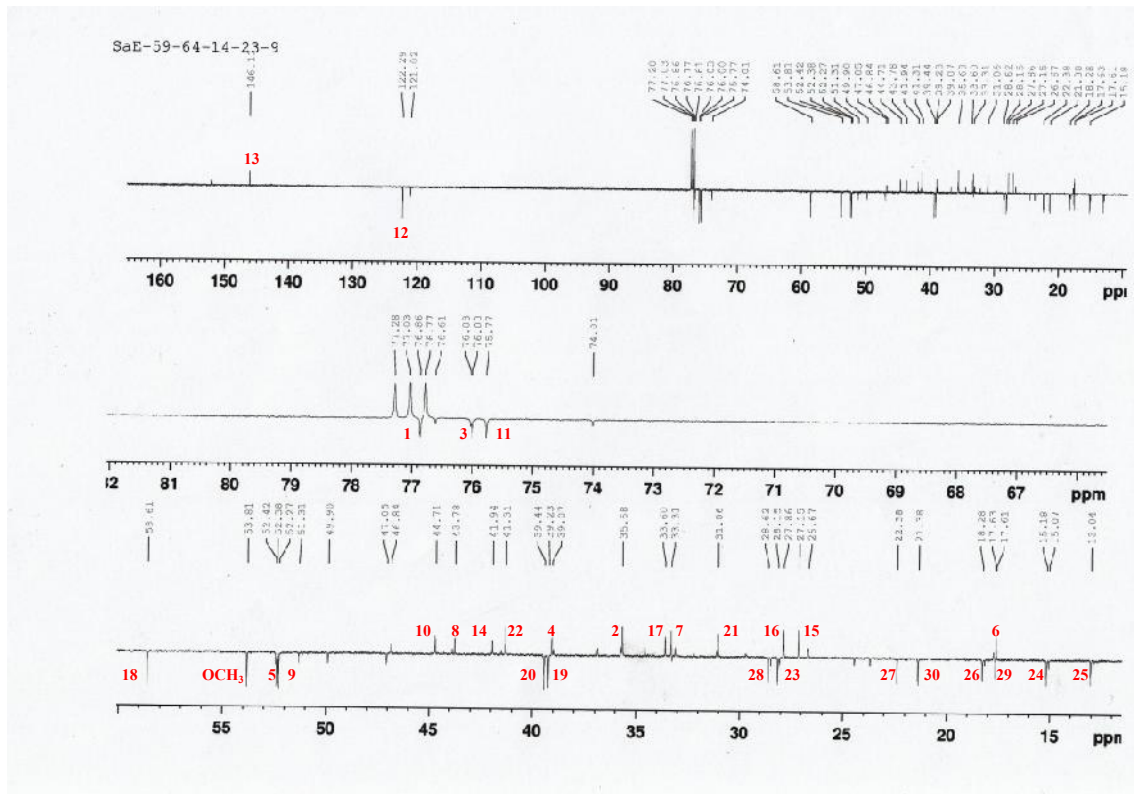
**11  $\alpha$ -methoxyurs-12-ene 1 $\beta$ ,3 $\beta$  diol**

جدول رقم -12- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>4</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz,  $\delta_H$ , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz,  $\delta_C$ )  
 في الـ CDCl<sub>3</sub>

المركب E <sub>4</sub>					
الموضع	$\delta_H$ (J en Hz) ppm	$\delta_C$ ppm	الموضع	$\delta_H$ (J Hz) ppm	$\delta_C$ ppm
1	3.42, <i>m</i>	76.9	16	2.06, <i>t</i> (12.9) 0.94	27.9
2	1.72 1.90, <i>dt</i> (12.9, 4.5)	35.7	17	-	33.6
3	3.31, <i>d</i> (1.9)	76.0	18	1.44, <i>d</i> (12.9)	58.6
4	-	39.0	19	1.35	39.2
5	0.65, <i>d</i> (10.2)	52.4	20	0.95, <i>m</i>	39.4
6	1.54 1.66, <i>m</i>	17.6	21	1.32 1.44	31.1
7	1.35 1.51	33.3	22	1.33 1.47	41.3
8	-	43.8	23	1.02, <i>s</i>	28.2
9	1.81, <i>d</i> (8.6)	52.3	24	0.82, <i>s</i>	15.2
10	-	44.7	25	1.09, <i>s</i>	13.0
11	4.13, <i>dd</i> (8.6, 3.3)	75.8	26	1.07, <i>s</i>	18.3
12	5.41, <i>d</i> (2.7)	122.3	27	1.18, <i>s</i>	22.4
13	-	146.1	28	0.83, <i>s</i>	28.6
14	-	41.9	29	0.91, <i>d</i> (6.5)	17.6
15	1.1 1.75, <i>m</i>	27.2	30	0.97, <i>d</i> (d-like)	21.4
			O-CH <sub>3</sub>	3.4	58.8

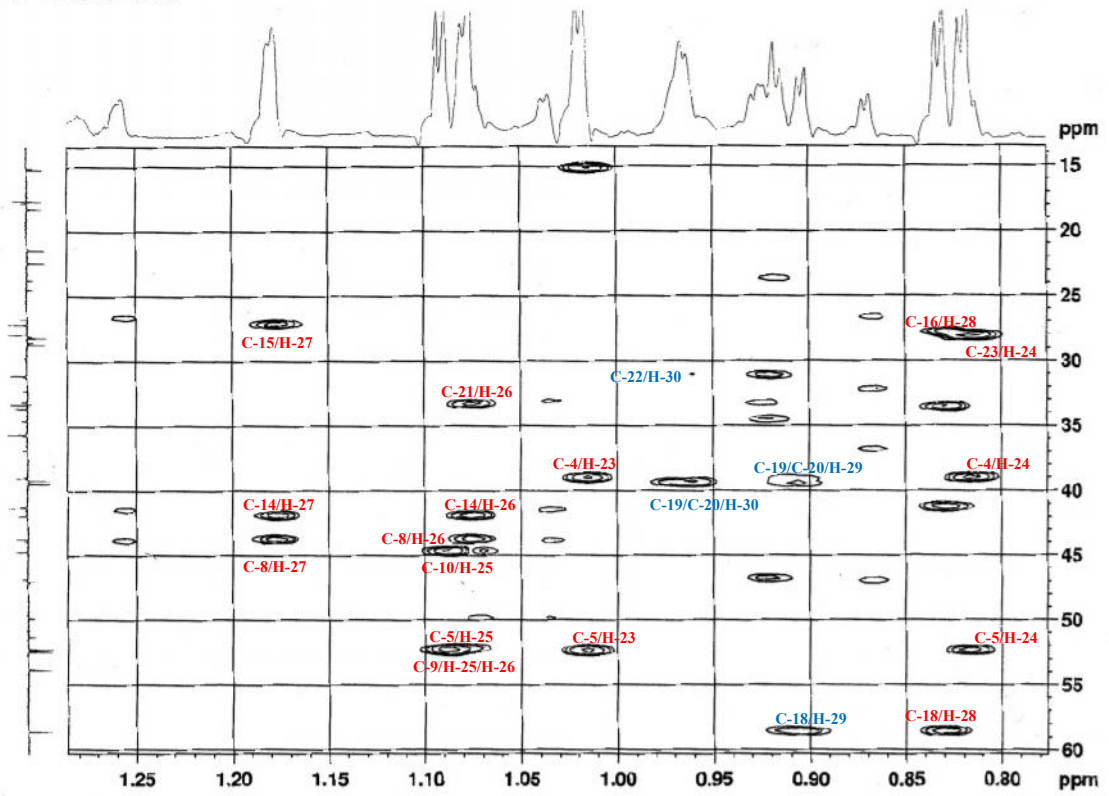


شكل رقم 40: طيف ال- $^1\text{H}$  للمركب  $\text{E}_4$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)

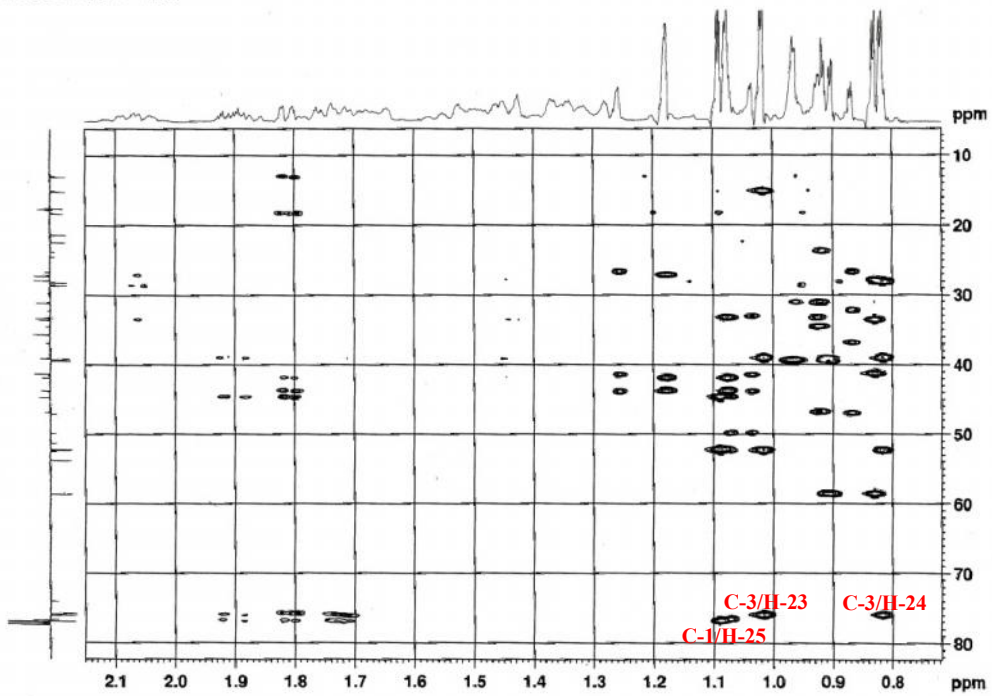


شكل رقم 41: طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_4$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )

SaE-59-64-14-23-9 HMBC



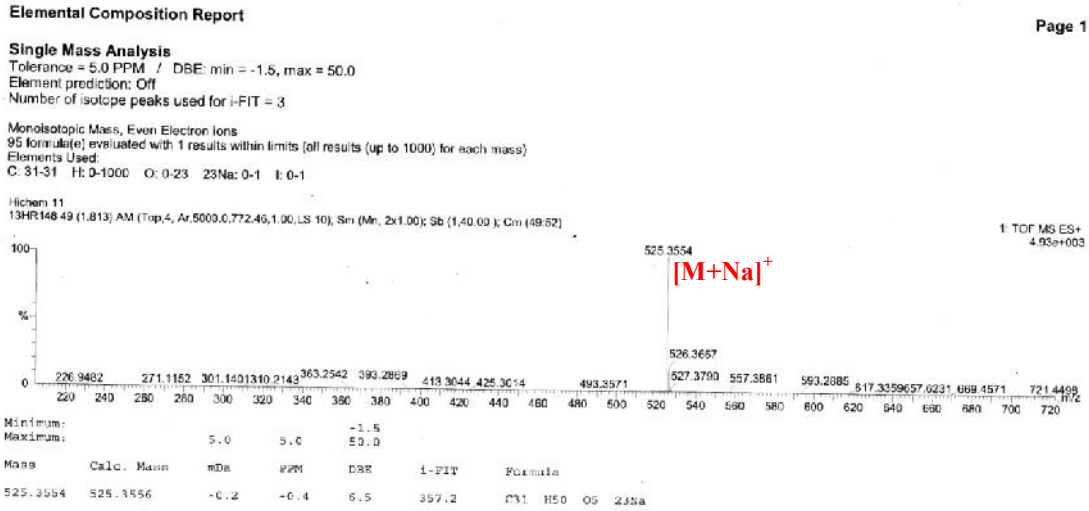
SaE-59-64-14-23-9 HMBC



شكل رقم 42- : طيف الـ HMBC في المجال 2.1-0.7 ppm للمركب E<sub>4</sub>

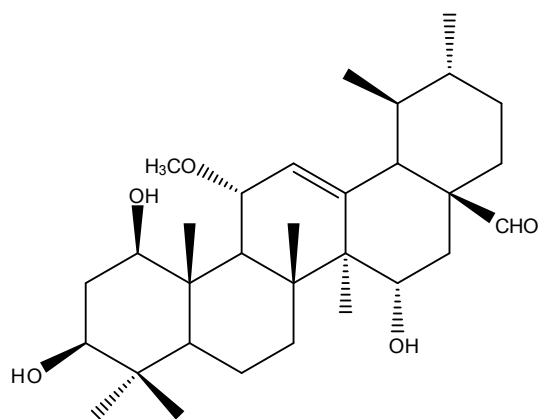
## 5- التحليل البنوي للمركب E<sub>5</sub>

الصيغة المجرلة للمركب E<sub>5</sub> هي C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>5</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم: 43] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 525.3554$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 502$  والتي توافق الصيغة المجرلة للمركب.



### شكل رقم -43-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>5</sub>

أطياف الـ RMN [شكل رقم: 44، 45، 46، 47] للمركب E<sub>5</sub> تشير بوضوح إلى وجود إختلاف بسيط مع المركب E<sub>2</sub> من خلال إستبدال مجموعة الميثيل Me-28 بوظيفة ألديهيدية و التي تتميز بإشارة البروتون الذي يظهر عند الإزاحة الكيميائية  $\delta_{H-28} = 9.32 \text{ ppm}$ . ويؤكد موقع الوظيفة ألديهيدية تعالقات طيف الـ HMBC [شكل رقم: 46] لكاربون الوظيفة ألديهيدية و الذي يرن عند الإزاحة الكيميائية  $\delta_{C-28} = 207.9 \text{ ppm}$  مع البروتونات المجاورة لها و التي ترن عند الإزاحات  $\delta_{H-18} = 2.16 \text{ ppm}$ ،  $\delta_{H-16} = 2.06 \text{ ppm}$ ،  $\delta_{H-22} = 1.5 \text{ ppm}$ . بالإضافة إلى ذلك طيف الـ NOESY [شكل رقم: 47] يبيّن لنا إشارة تعالق بين البروتون  $\delta_{H-28} = 9.32 \text{ ppm}$  و البروتون  $\delta_{H-18} = 2.16 \text{ ppm}$  و هذا يدل على أنّ الإتجاه من نوع  $\beta$  للوظيفة ألديهيدية. و من هذه المعطيات التي دونت في الجدول رقم -13- و منه بنية المركب E<sub>5</sub> تكون على الشكل التالي :

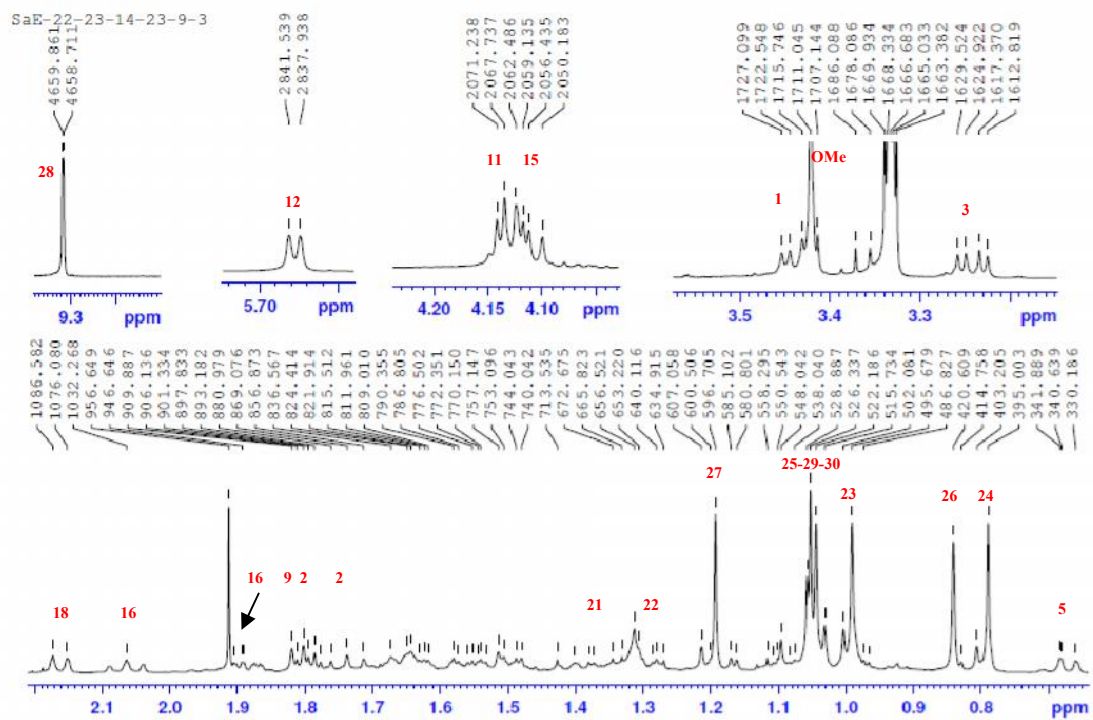


**1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$  trihydroxy-11 $\alpha$ -methoxyurs-12-en-28-al**

جدول رقم 13- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>5</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz,  $\delta_H$ , *J* en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz,  $\delta_C$ )  
 في الـ CD<sub>3</sub>OD

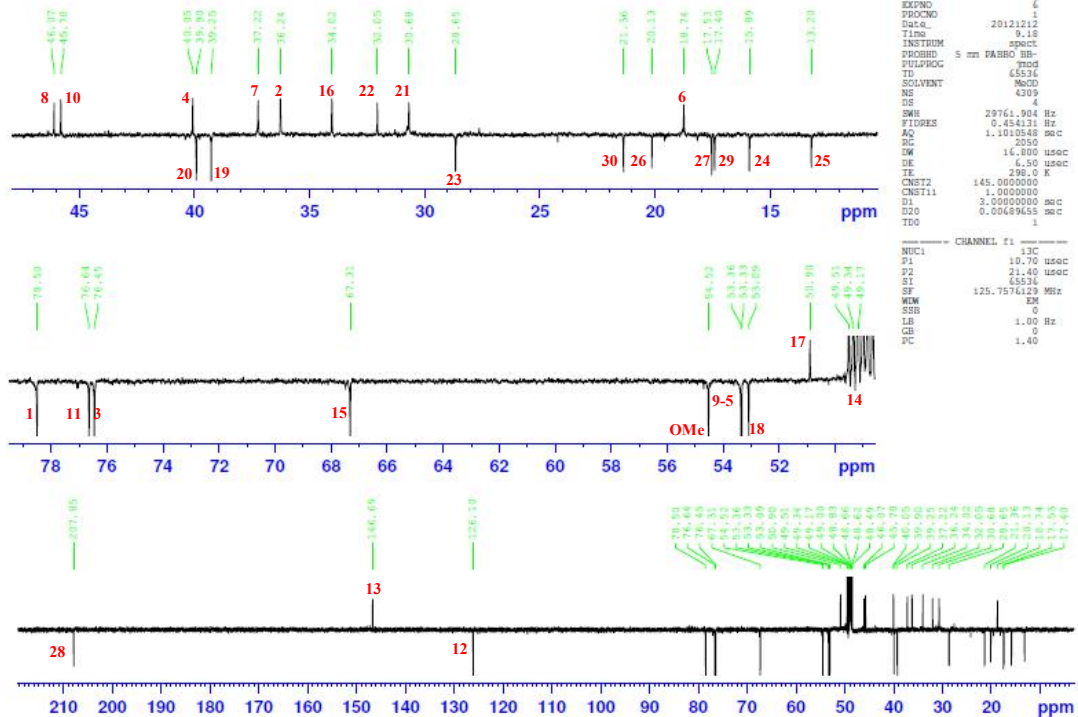
المركب E <sub>5</sub>					
الموضع	$\delta_H$ ( <i>J</i> en Hz) ppm	$\delta_C$ ppm	الموضع	$\delta_H$ ( <i>J</i> Hz) ppm	$\delta_C$ ppm
1	3.44, <i>dd</i> (11.4, 4.6)	78.5	16	2.06, <i>t</i> (12.5) 1.88, <i>dd</i> (12.5, 6.3)	34.0
2	1.80, <i>dt</i> (12.9, 4.6) 1.75, <i>q</i> (12.2)	36.2	17	-	50.2
3	3.24, <i>dd</i> (12.1, 14.6)	76.5	18	2.16, <i>d</i> (10.5)	53.1
4	-	40.1	19	1.48	39.3
5	0.67, <i>dd</i> (11.7, 1.3)	53.3	20	1.09	39.8
6	1.64 1.52	18.7	21	1.61 1.32	30.7
7	1.66 1.56	37.2	22	1.5 1.28	32.1
8	-	46.1	23	0.99, <i>s</i>	28.7
9	1.81, <i>d</i> (8.6)	53.4	24	0.79, <i>s</i>	15.9
10	-	45.8	25	1.05, <i>s</i>	13.2
11	4.13, <i>dd</i> (8.6, 3.5)	76.6	26	0.84, <i>s</i>	20.1
12	5.68, <i>d</i> (3.6)	126.1	27	1.19, <i>s</i>	17.5
13	-	146.7	28	9.32, <i>s</i>	207.9
14	-	49.1	29	1.05, <i>d</i> (6.7)	17.4
15	4.12, <i>dd</i> (11.3, 6.2)	67.3	30	1.04, <i>d</i> (6.5)	21.4
			O-CH <sub>3</sub>	3.42, <i>s</i>	54.5



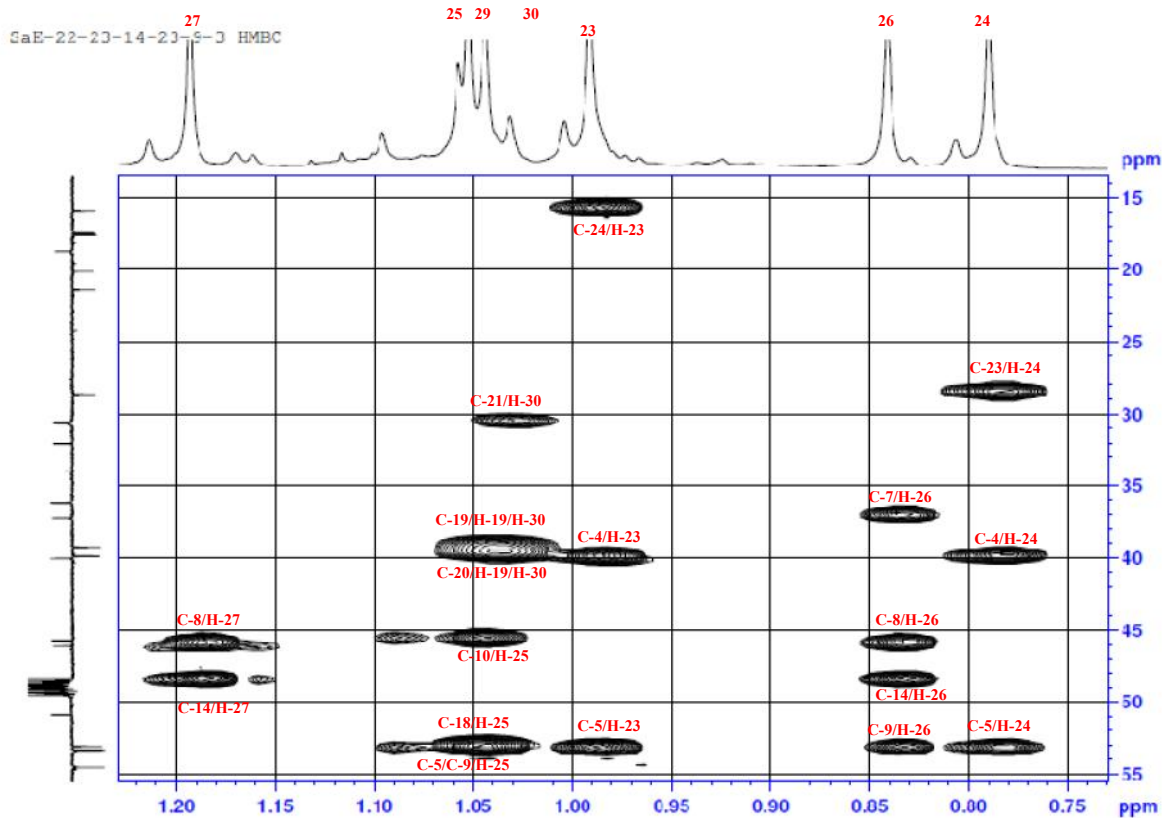


شكل رقم 44: طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_5$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)

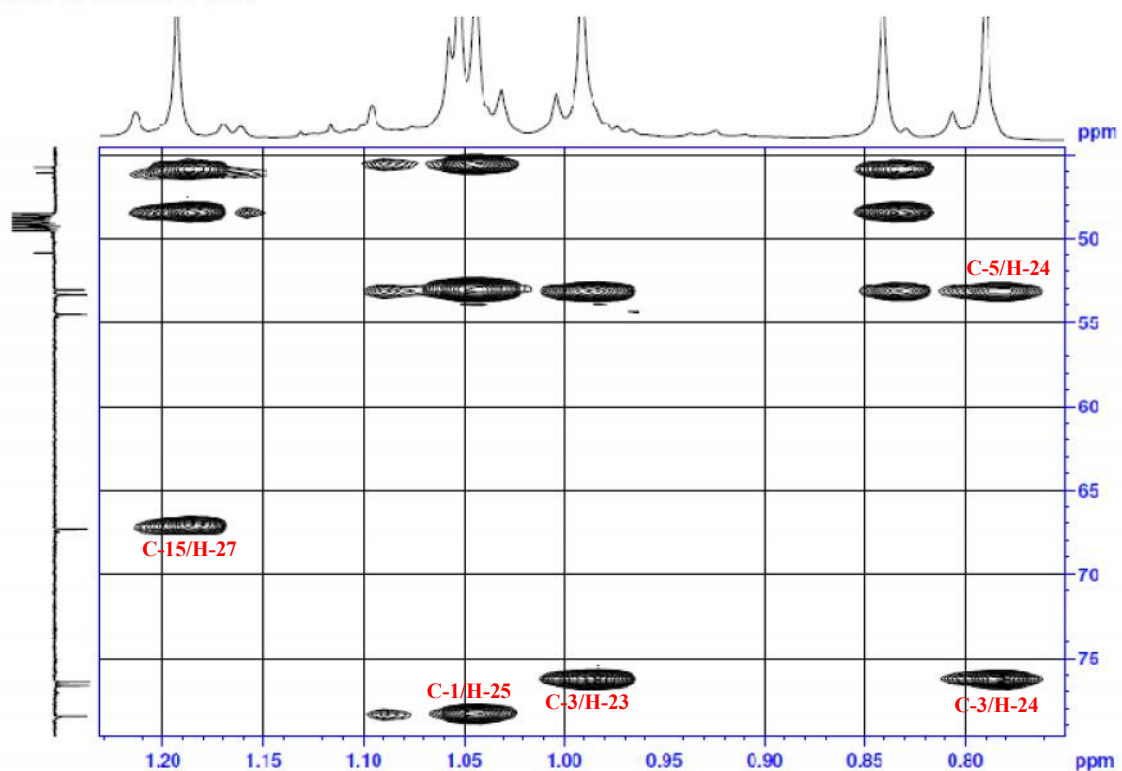
SaE-22-23-14-23-9-3 J mod



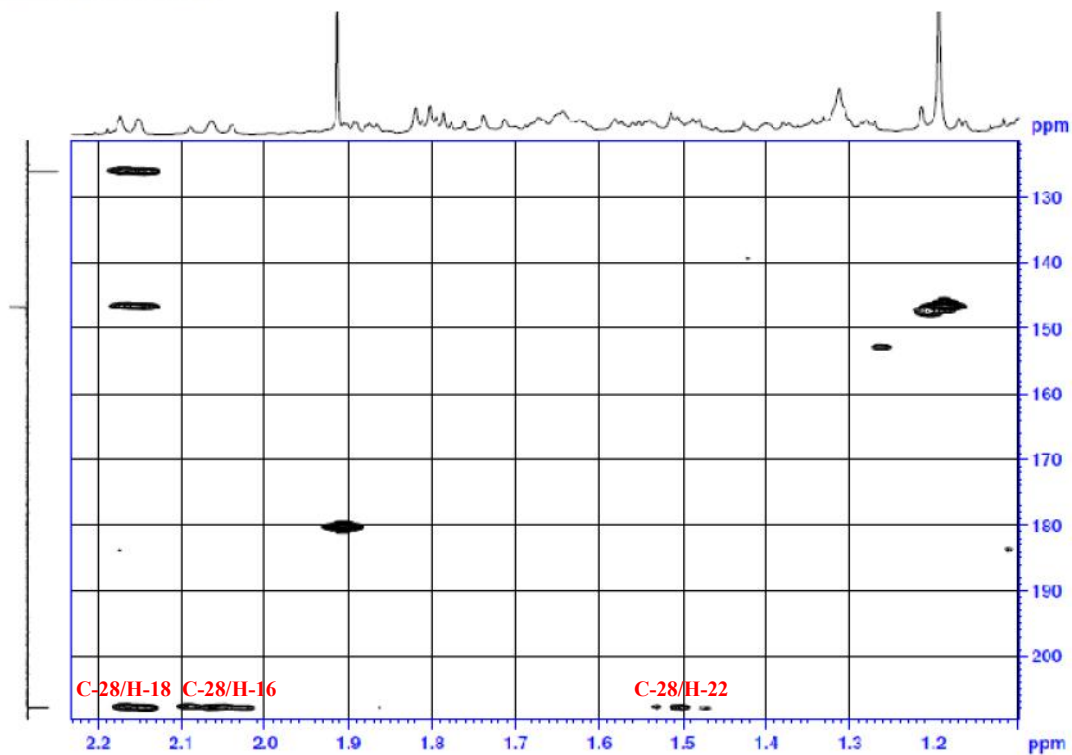
شكل رقم-45: طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_5$  ( $125 \text{ MHz}, \delta_{\text{C}}$ )



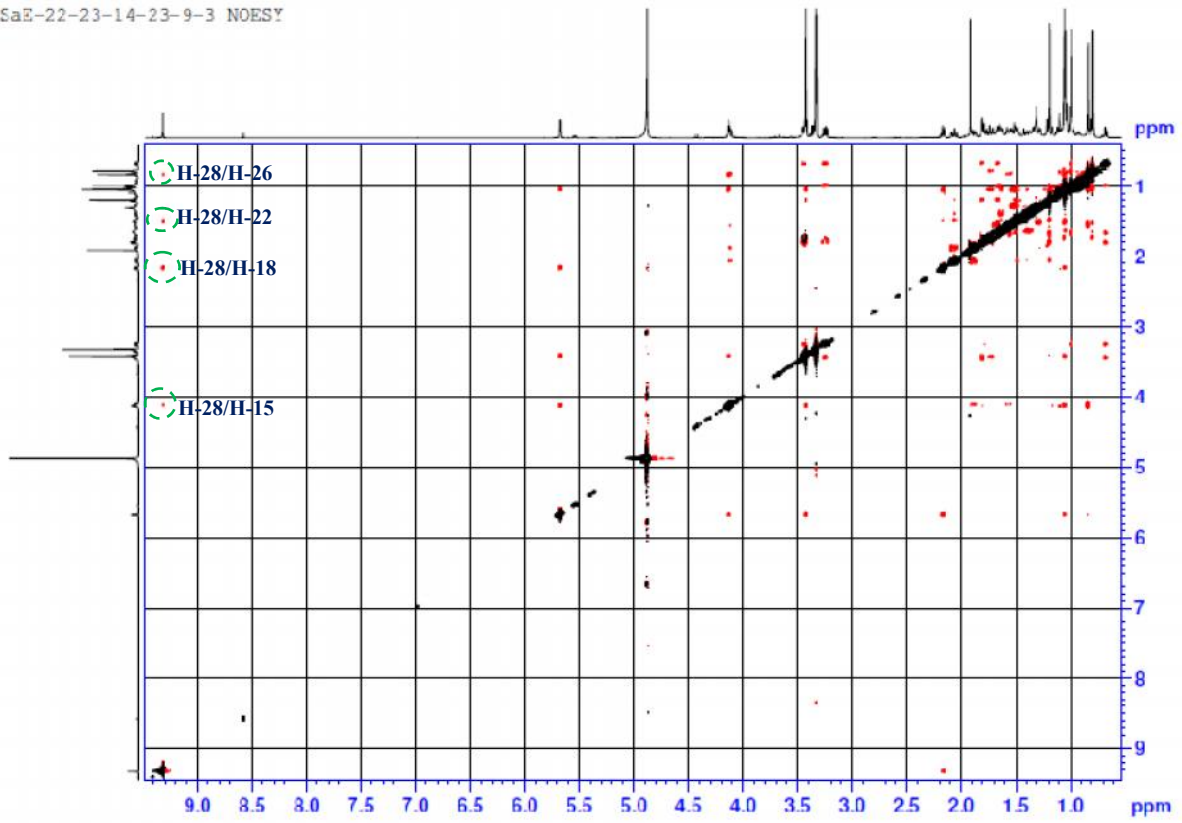
SaE-22-23-14-23-9-3 HMBC



SaE-22-23-14-23-9-3 HMBC



شكل رقم 46- : طيف HMBC في المجال 2.2-0.7 ppm للمركب E<sub>5</sub>



شكل رقم 47 : طيف الـ NOESY للمركب E<sub>5</sub>

## 6- التحليل البنوي للمركب E<sub>6</sub>

الصيغة المجملة للمركب E<sub>6</sub> هي C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم : 48] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 495.3440$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي نقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 472$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب.

### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass: Ever Electron Ions

250 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

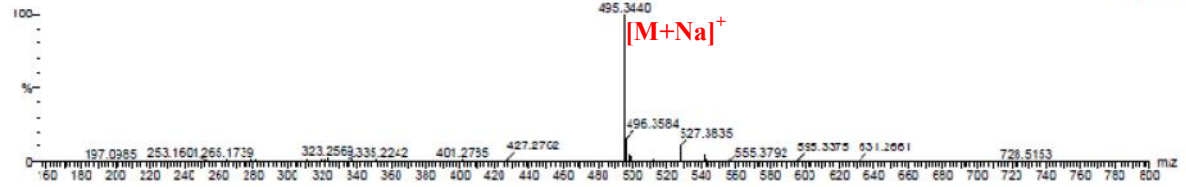
Elements Used:

C: 30-30 H: 0-1000 O: 0-15 23Na: 0-1 56Fe: 0-1 90Zr: 0-1 I: 0-1

Highm 10

13HR14647 (1.725) AM (Top, 4, Ar, 5000.0, 772.46, 1.00, LS 10); Sm (Mn, 2x1.00); Sb (1.40, 0.0); Cm (44:48)

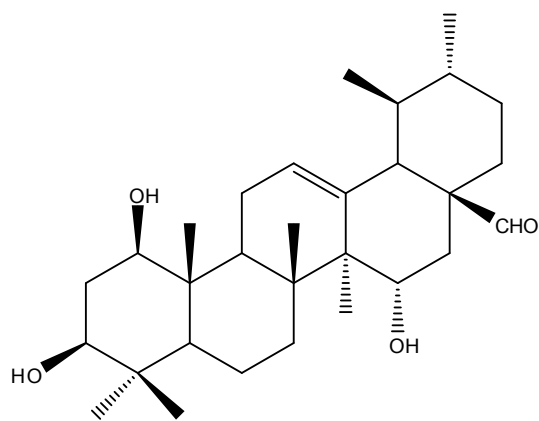
1: TOF MS ES+  
4.60e+003



Minimum:	Maximum:	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	Formula	
		495.3440	495.3450	-1.0	-2.0	6.5	292.3	C30 H48 O4 23Na

### شكل رقم -48-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>6</sub>

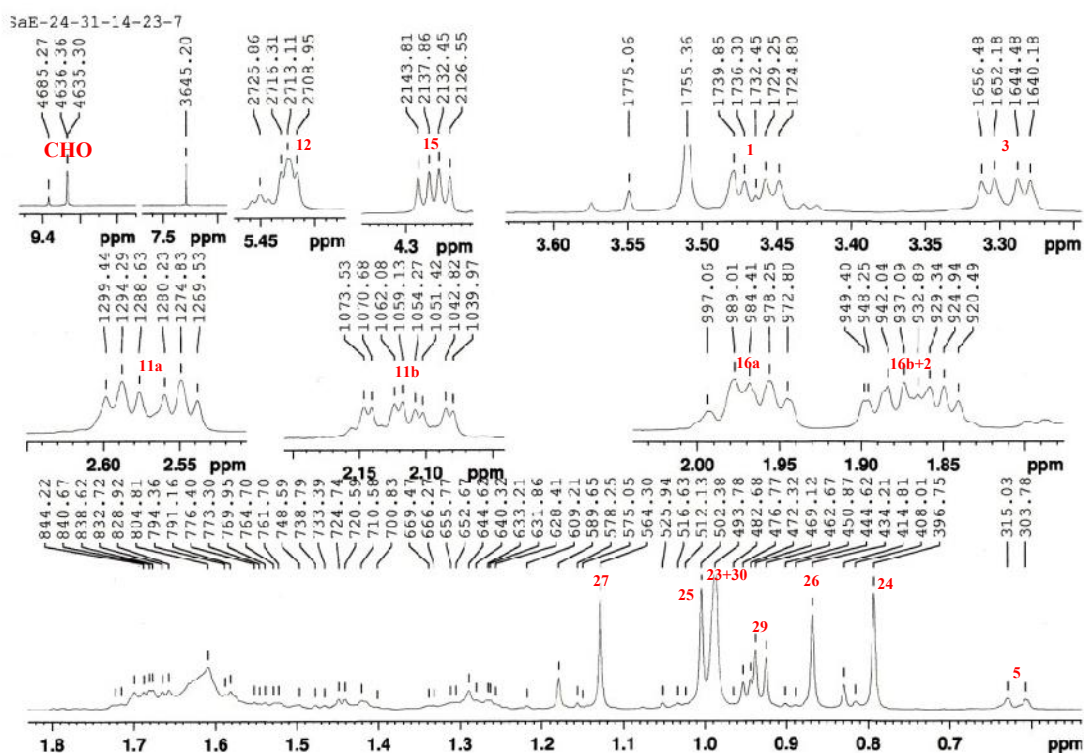
الإشارات الطيفية للمركب E<sub>6</sub> [شكل رقم: 49، 50، 51، 52، 53] متشابهة مع إشارات المركب E<sub>5</sub> ما عدا التي تخص الحلقة C بسبب غياب مجموعة الميتوكسي في هذه الحلقة، و من أجل ذلك فإن إشارات بروتونات الميثيلين methylene للكربون C-11 أزيحت إلى مجال الحقل المرتفع عند  $\delta_{H-11} = 2.14$  ppm و  $\delta_{H-11} = 2.56$  ppm حيث تظهر لنا بقع تعالق في طيف الـ COSY [شكل رقم: 52] مع البروتون الذي يرن عند الإزاحة  $\delta_{H-12} = 5.43$  ppm و التي أسندت إلى البروتون H-12 حيث يظهر على شكل إشارة ثلاثية (t, J = 3.2 Hz). أما طيف الـ NOESY [شكل رقم: 53] يبين لنا على أنّ الوظيفة الألدهيدية بتوجيه من نوع  $\beta$  و ذلك من خلال بقع تعالق البروتونات H-28/H-18 و H-28/H-26 ، والمعطيات الطيفية للمركب E<sub>6</sub> قد أسندت في الجدول رقم -14- و بالتالي فإنّ بنية المركب E<sub>6</sub> هي على الشكل التالي:



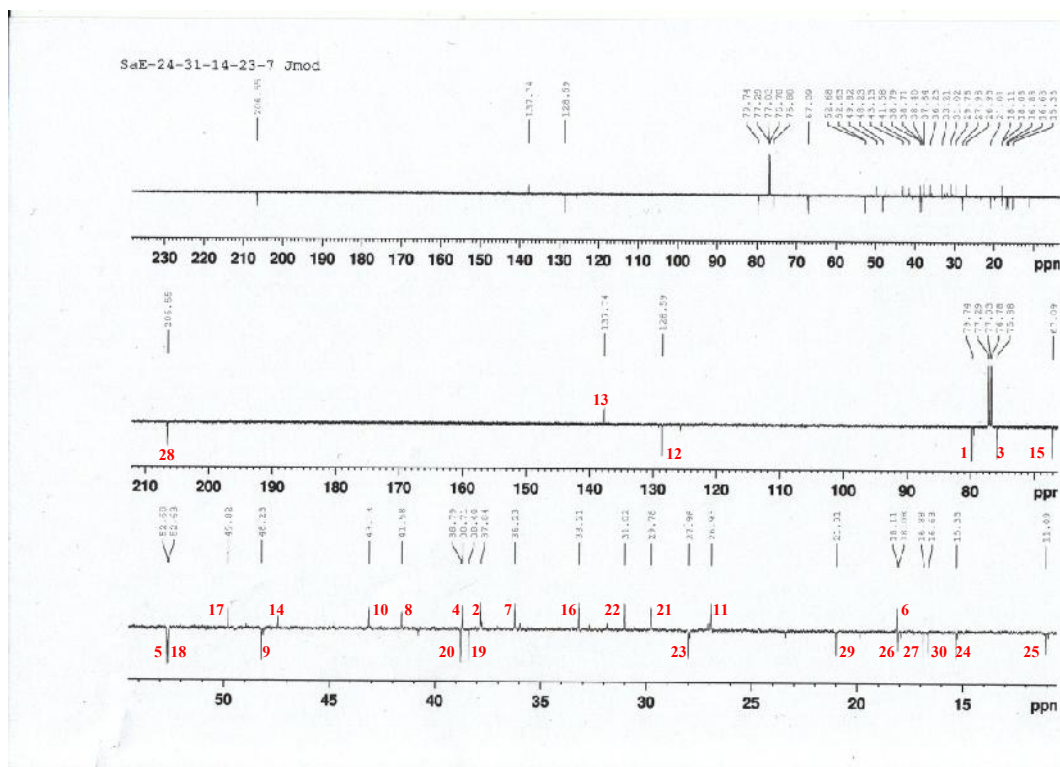
**1β, 3β, 15α-trihydroxyurs-12-en-28-al**

جدول رقم -14- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>6</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, δ<sub>H</sub>, J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, δ<sub>C</sub>)  
 في الـ CDCl<sub>3</sub>

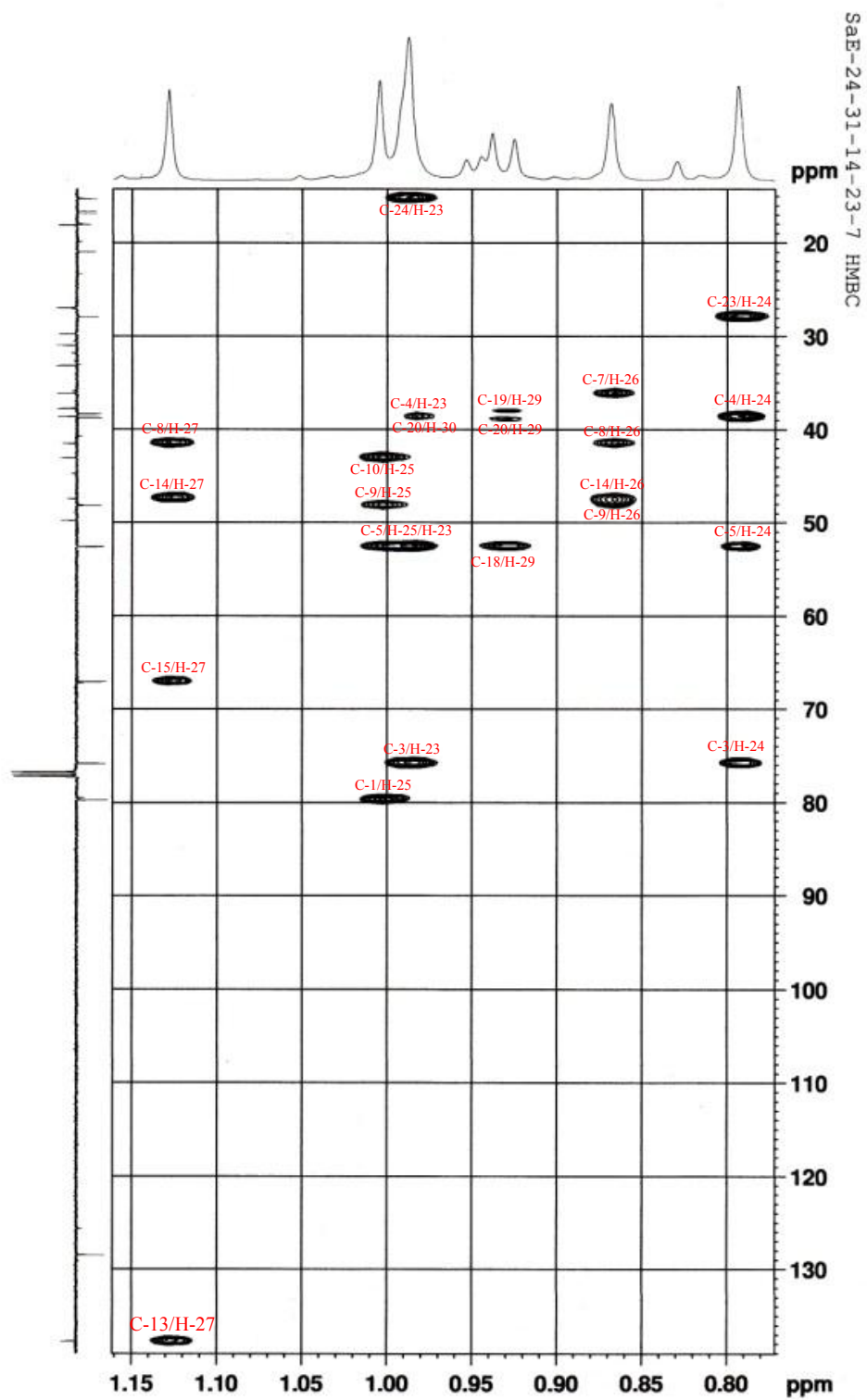
E <sub>6</sub> المركب					
الموضع	δ <sub>H</sub> (J en Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm	الموضع	δ <sub>H</sub> (J Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm
<b>1</b>	3.46, <i>dd</i> (11.5, 4.5)	<b>79.7</b>	<b>16</b>	1.88, <i>ddd</i> (12.3, 6.2, 1.2) 1.97, <i>t</i> (12.7)	<b>33.2</b>
<b>2</b>	1.66 1.86, <i>dt</i> (12.3, 4.4)	<b>37.8</b>	<b>17</b>	-	<b>49.8</b>
<b>3</b>	3.30, <i>dd</i> (4.3, 12.0)	<b>75.9</b>	<b>18</b>	1.97, <i>d</i> (10.8)	<b>52.6</b>
<b>4</b>	-	<b>38.7</b>	<b>19</b>	1.43	<b>38.4</b>
<b>5</b>	0.62, <i>d</i> (11.3)	<b>52.6</b>	<b>20</b>	0.99, <i>m</i>	<b>38.8</b>
<b>6</b>	1.52, <i>m</i> 1.62	<b>18.1</b>	<b>21</b>	1.59 1.29	<b>29.8</b>
<b>7</b>	1.69 1.58	<b>36.2</b>	<b>22</b>	1.44, <i>td</i> (14.1, 4.2) 1.27	<b>31.0</b>
<b>8</b>	-	<b>41.6</b>	<b>23</b>	0.99, <i>s</i>	<b>28.0</b>
<b>9</b>	1.68, <i>m</i>	<b>48.2</b>	<b>24</b>	0.79, <i>s</i>	<b>15.3</b>
<b>10</b>	-	<b>43.1</b>	<b>25</b>	1.00	<b>11.1</b>
<b>11</b>	2.11, <i>ddd</i> (19.3, 11.5, 2.9) 2.57, <i>dt</i> (19.3, 5.40)	<b>26.9</b>	<b>26</b>	0.87, <i>s</i>	<b>18.1</b>
<b>12</b>	5.43, <i>t</i> (3.2)	<b>128.6</b>	<b>27</b>	1.13, <i>s</i>	<b>16.9</b>
<b>13</b>	-	<b>137.7</b>	<b>28</b>	9.27, <i>d</i> (1.1)	<b>206.6</b>
<b>14</b>	-	<b>47.4</b>	<b>29</b>	0.93, <i>d</i> (6.5)	<b>16.6</b>
<b>15</b>	4.27, <i>dd</i> (5.9, 11.4)	<b>67.1</b>	<b>30</b>	0.99	<b>21.0</b>



شكل رقم-49: طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_6$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)

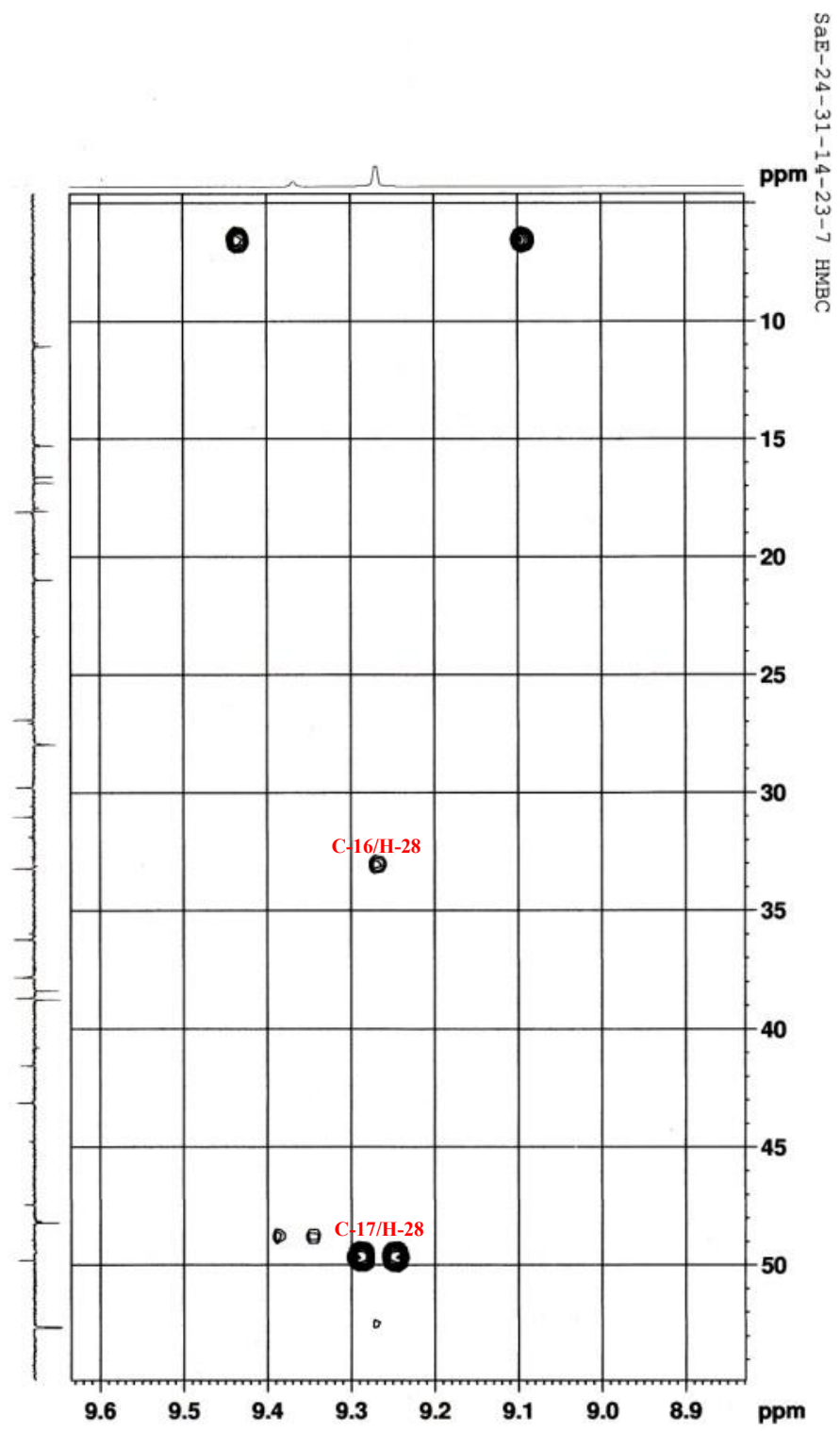


شكل رقم-50: طيف  $^{13}\text{C}$  RMN للمركب  $\text{E}_6$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ ,  $J$ -modulé)

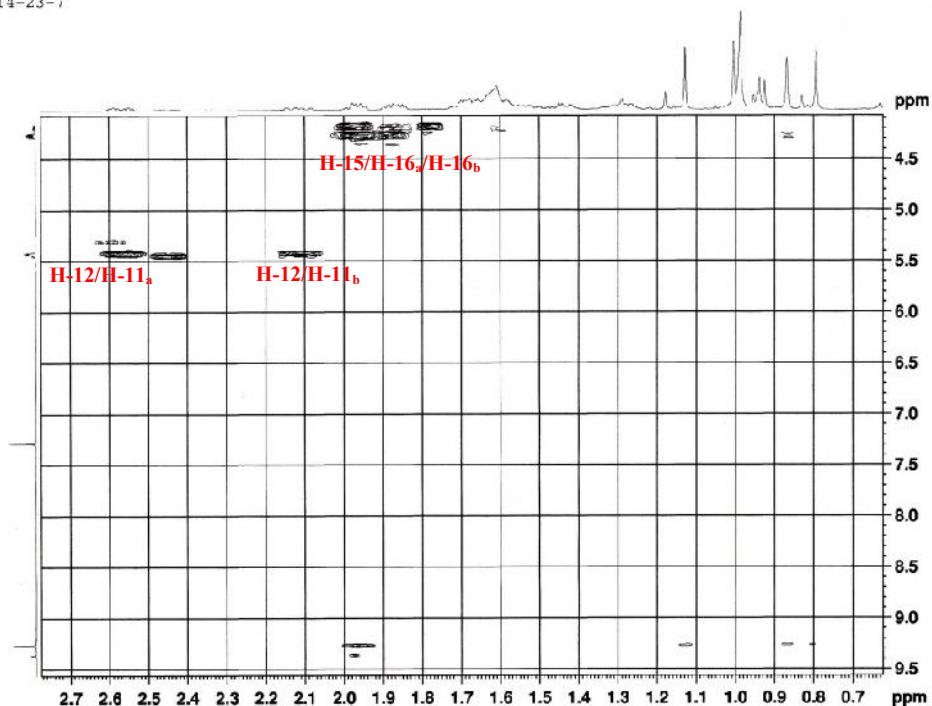


شكل رقم -51<sub>a</sub> : طيف HMBC في المجال 1.15-0.77 ppm للمركب E<sub>6</sub>

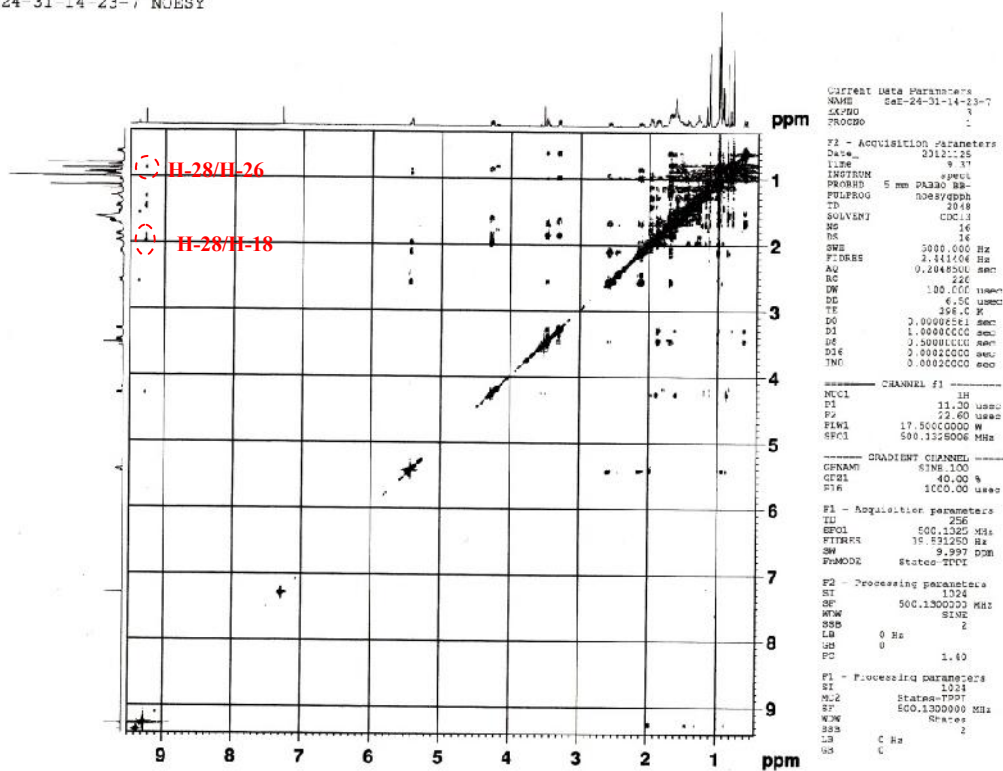




شكل رقم -51<sub>b</sub> : طيف HMBC في المجال 9.6-8.9 ppm للمركب E<sub>6</sub>



شكل رقم-52 : الـ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY للمركب  $\text{E}_6$



شكل رقم-53 : طيف الـ NOESY للمركب  $\text{E}_6$

## 7- التحليل البنوي للمركب E<sub>7</sub>

الصيغة المجملة للمركب E<sub>7</sub> هي C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم : 54] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 497.3600$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 474$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب.

### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 FPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: C1F

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

250 formula(e) evaluated with 1 results with limits (all results (up to 1000) for each mass)

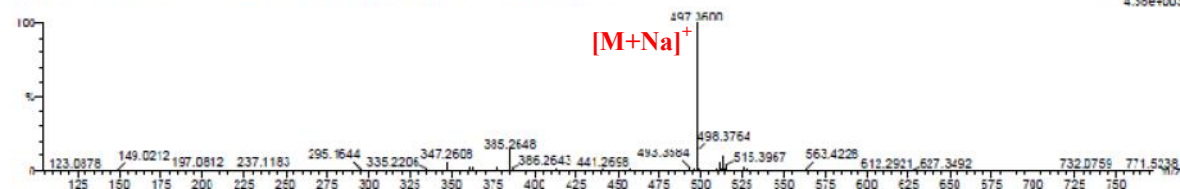
Elements Used:

C: 30-30 H: 0-1000 O: 0-15 <sup>23</sup>Na: 0-1 <sup>56</sup>Fe: 0-1 <sup>80</sup>Zr: 0-1 I: 0-1

Minimum:

13HR145 69 (2.545) AM (Top4, Ar5000.0,772.45,1.00,L6 10) Sm (Mn 2x1.00); Sb (1,40.00); Cr (67.69)

1: TOF MS EQ+  
4.38e+003



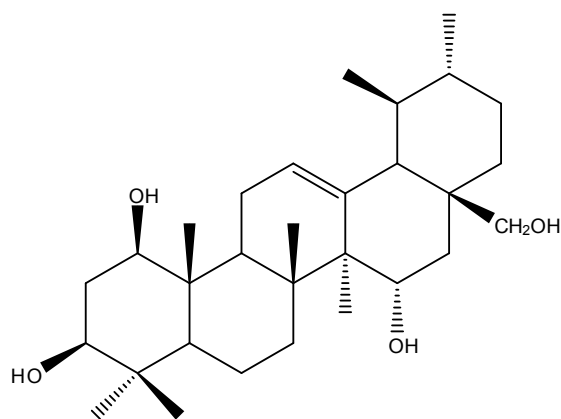
Maximum:

5.0 5.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Formula
497.3600	497.3607	-0.7	-1.4	5.5	491.9	C30 H50 O4 23Na

شكل رقم -54-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>7</sub>

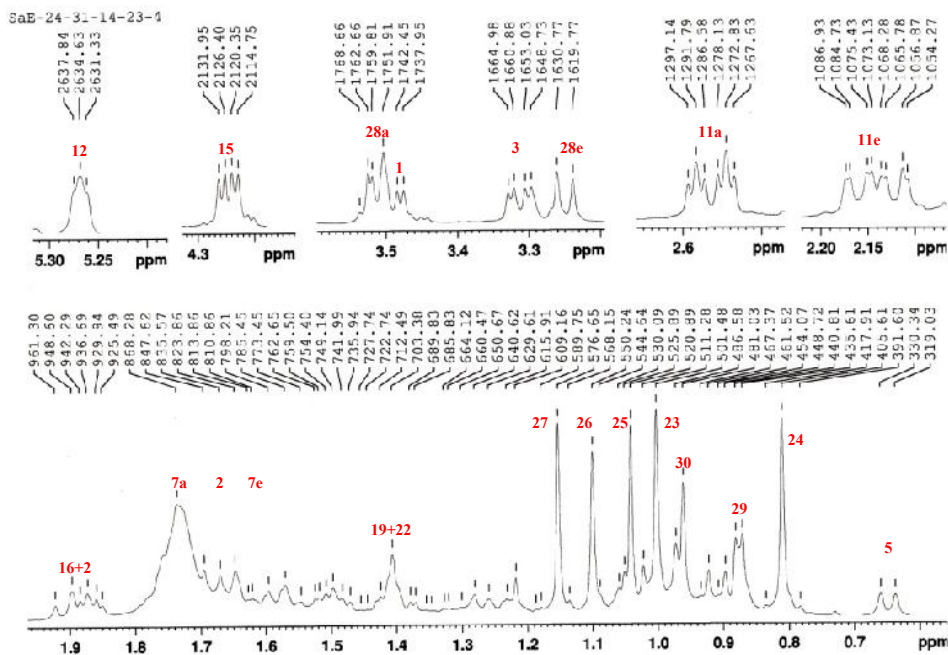
البيانات الطيفية للمركب E<sub>7</sub> [شكل رقم: 55، 56، 57، 58] مشابهة لحد كبير مع البيانات الطيفية للمركب E<sub>6</sub> ، و لكن الفرق الوحيد هو عدم وجود إشارة الوظيفة الألدية وظهر بدلا منها إشارات أخرى خاصة بوظيفة المجموعة الكحولية ، حيث يظهر بروتونا الوظيفة الكحولية بنظام من نوع AB و ذلك عند الإزاحة  $\delta_H = 3.52 \text{ ppm (d, } J = 10.8 \text{ Hz)}$  و  $\delta_H = 3.25 \text{ ppm (d, } J = 11.0 \text{ Hz)}$  كما أنّها تظهر من خلال طيف الـ NOESY [شكل رقم: 58] إشارة تعالق مع بروتونات مجموعة الـ Me-26 و البروتون H-18 ممّا يدل على أنّ التوجيه الفراغي من نوع  $\beta$  للوظيفة الكحولية، كل الإزاحات الكيميائية للبروتونات و الكربونات قد أسندت في الجدول رقم -15- كما نستنتج من هذه المعلومات بنية المركب E<sub>7</sub> التي تكون على الشكل التالي:



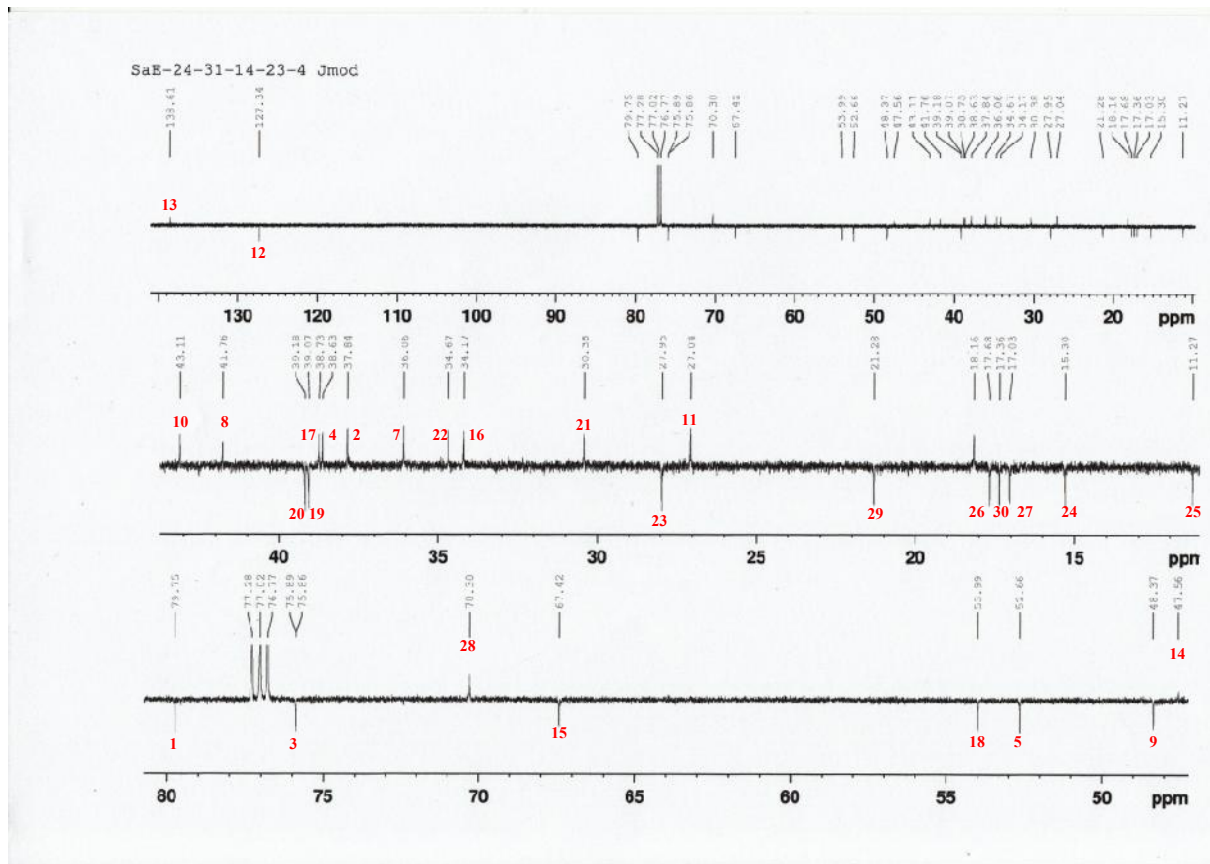
**Urs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 28 $\beta$ -tetraol**

جدول رقم -15- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>7</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz,  $\delta_H$ , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz,  $\delta_C$ )  
 في الـ CDCl<sub>3</sub>

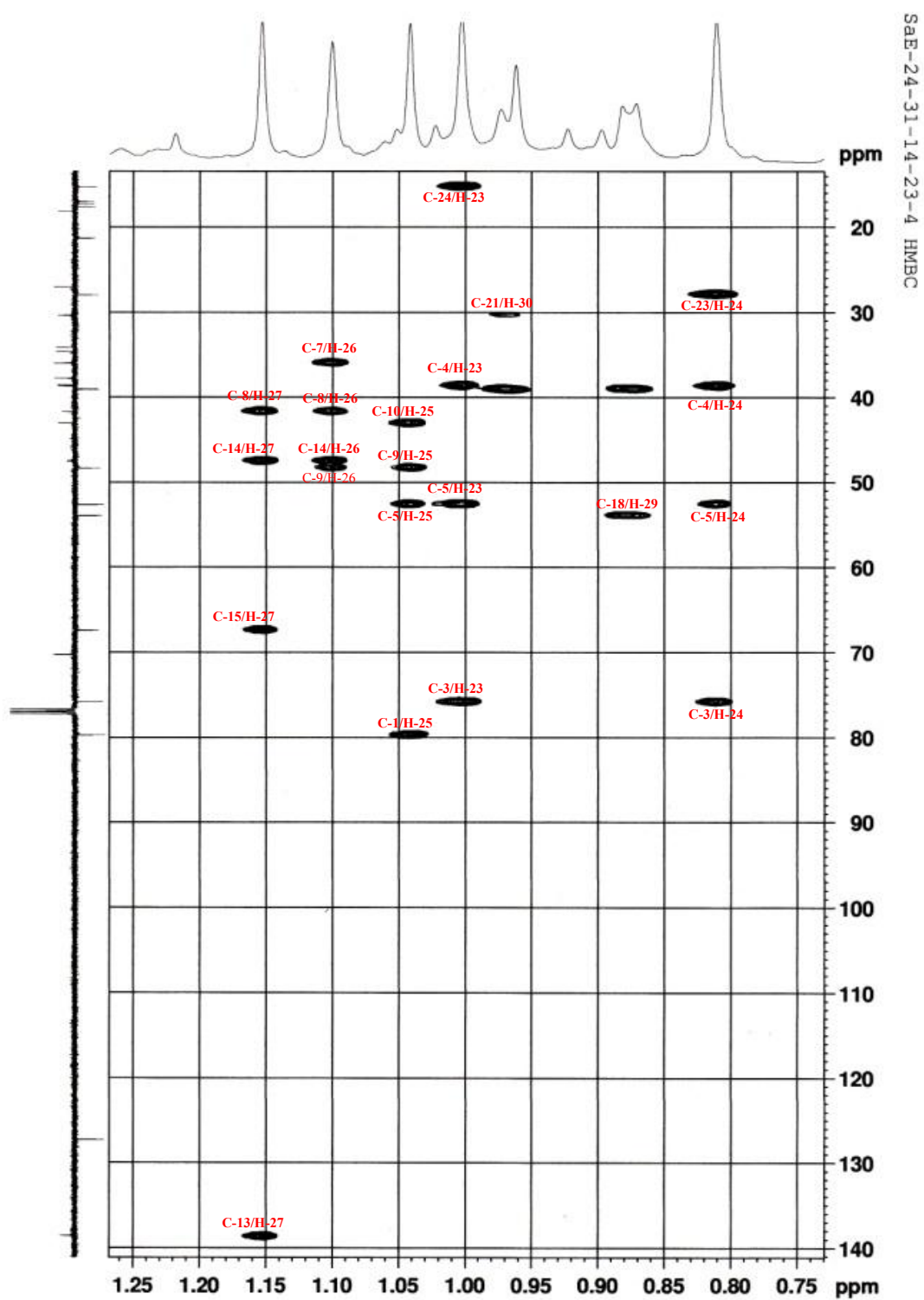
المركب E <sub>7</sub>					
الموضع	$\delta_H$ (J en Hz) ppm	$\delta_C$ ppm	الموضع	$\delta_H$ (J Hz) ppm	$\delta_C$ ppm
1	3.49, <i>dd</i> (9.5, 4.5)	79.8	16	1.90, <i>t</i> (12.7) 1.48, <i>dd</i> (13.2, 6.1)	34.2
2	1.87, <i>dt</i> (12.4, 4.5) 1.68	37.8	17	-	38.7
3	3.31, <i>dd</i> (12.0, 4.4)	75.9	18	1.4	54.0
4	-	38.6	19	1.41	39.2
5	0.65, <i>dm</i> (11.3)	52.7	20	0.92	39.1
6	1.66, <i>m</i> 1.57, <i>m</i>	18.2	21	1.51, <i>m</i> 1.24, <i>m</i>	30.4
7	1.76 1.63, <i>m</i>	36.1	22	1.40 1.58	34.7
8	-	41.8	23	1.00, <i>s</i>	28.0
9	1.75	48.4	24	0.81, <i>s</i>	15.3
10	-	43.1	25	1.04, <i>s</i>	11.3
11	2.56, <i>dt</i> (19.0, 5.2) 2.14, <i>ddd</i> (19.0, 11.5, 2.6)	27.0	26	1.10, <i>s</i>	17.7
12	5.27, <i>t</i> (3.2)	127.3	27	1.15, <i>s</i>	17.0
13	-	138.6	28	3.52, <i>d</i> (10.8) 3.25, <i>d</i> (11)	70.3
14	-	47.6	29	0.88, <i>d</i> (5.2)	17.4
15	4.24, <i>dd</i> (11.7, 5.6)	67.4	30	0.97, <i>d</i> (5.6)	21.3



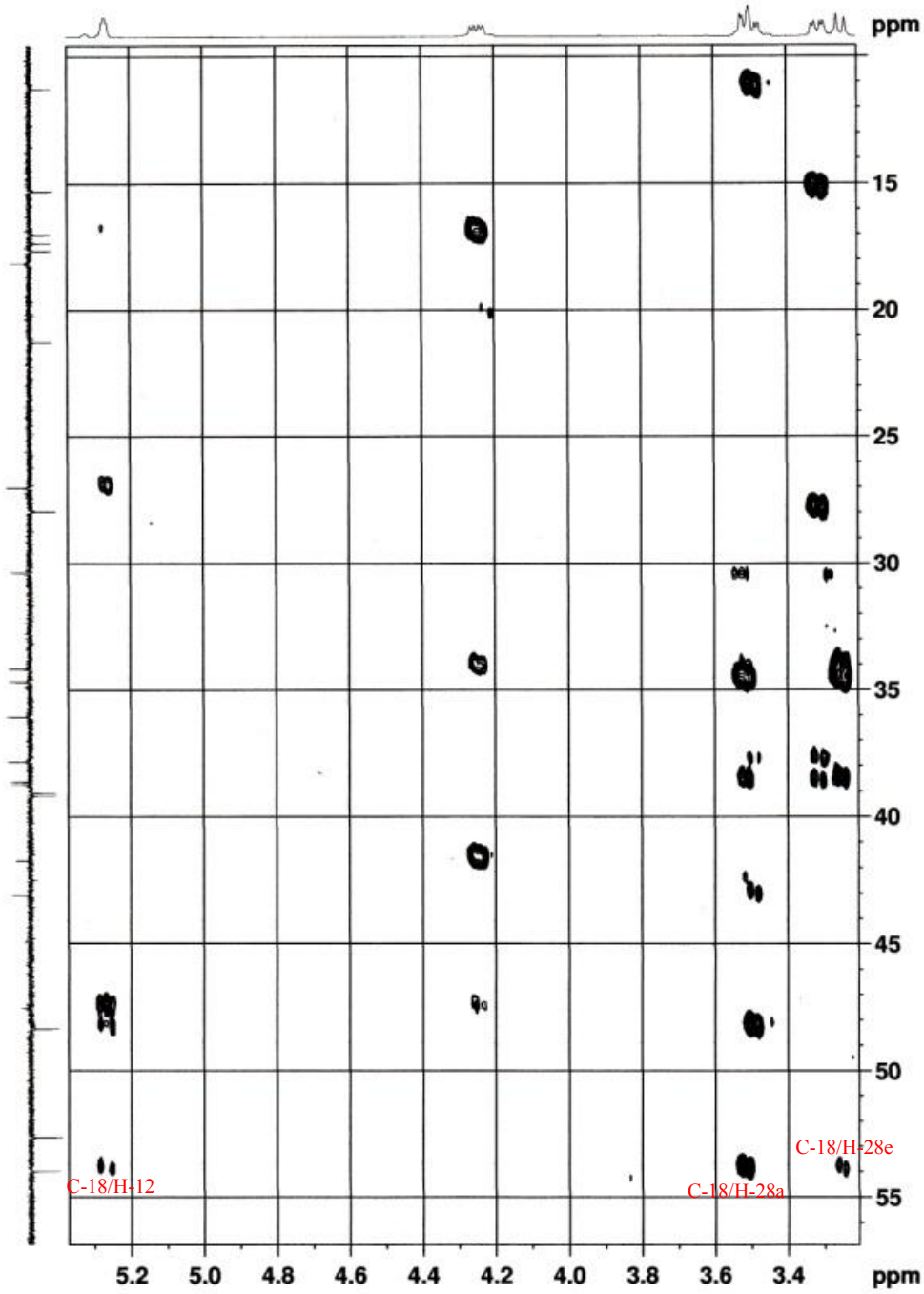
شكل رقم-55: طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_7$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)



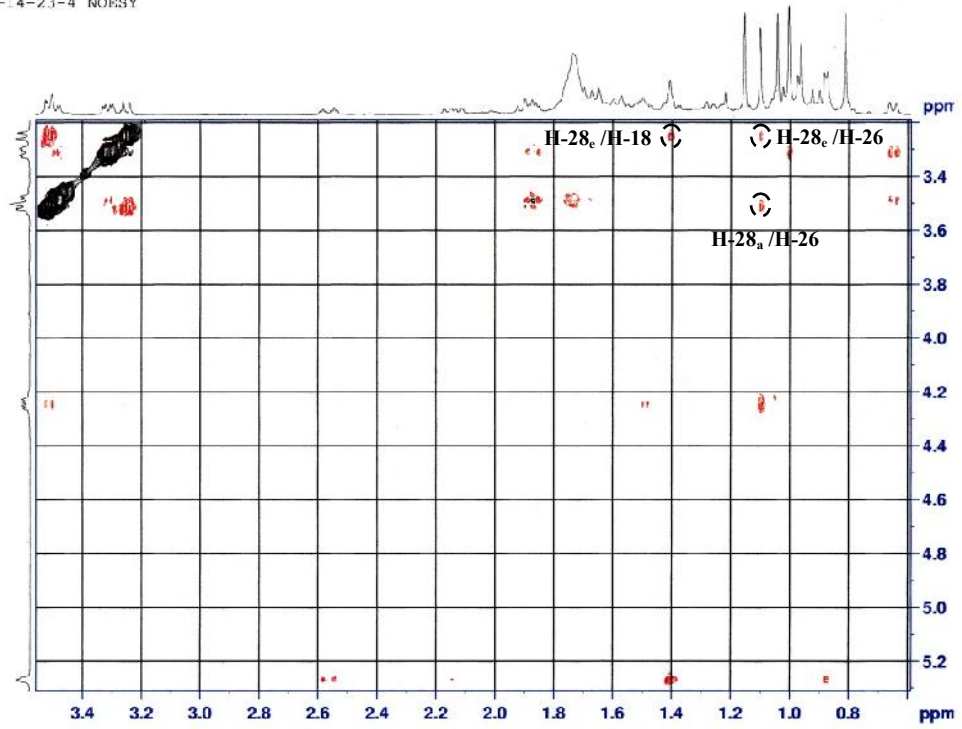
شكل رقم-56: طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_7$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )



شكل رقم -57<sub>a</sub> : طيف HMBC في المجال 1.25-0.75 ppm للمركب E<sub>7</sub>



شكل رقم -57<sub>b</sub> : طيف HMBC في المجال 5.4-3.2 ppm للمركب E<sub>7</sub>



شكل رقم 58- : طيف الـ NOESY للمركب E<sub>7</sub>



## 8- التحليل البنوي للمركب E<sub>8</sub>

الصيغة المجملة للمركب E<sub>8</sub> هي C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم: 59] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 511.3879$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 488$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب. وَ تقدر الزيادة في الكتلة الجزيئية بـ 16 uma مقارنة مع المركب E<sub>4</sub>.

### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 10000.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for I-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

12 formula(e) evaluated with 4 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

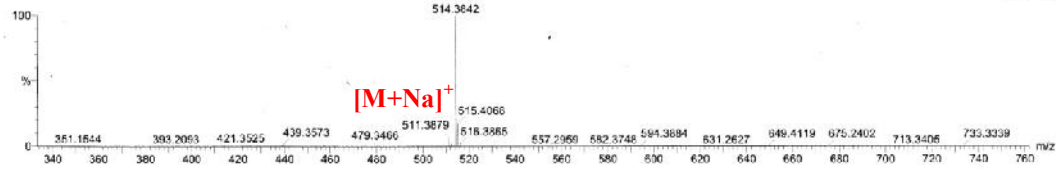
Elements Used:

C: 30-31 H: 0-1000 N: 1-1 O: 0-4 23Na: 0-1

Hicham 8

13HR14: 65 (2.395) AM (Top4, Ar:5000.0,772.46,1.00,LS:10), Sm (Mn, 2x1.00), Sb (1,40.00), Cm (65.71)

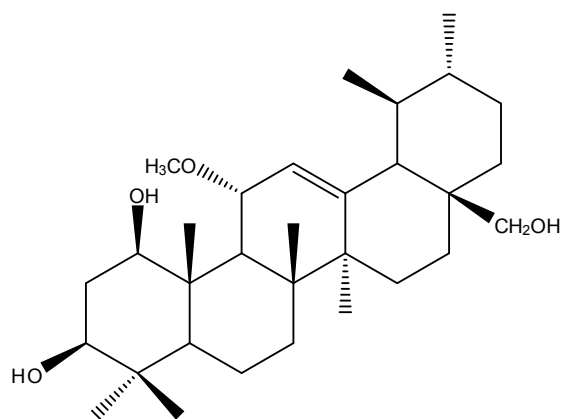
1: TOF MS E3+  
5.50e+03



Minimum:						
Maximum:	5.0	10000.0	-1.5	50.0		
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	I-FIT	Formula
514.3842	514.3872	-3.0	-5.8	4.5	294451.9	C30 H51 N 04 23Na
	514.4236	-39.4	-76.6	3.5	307297.3	C31 H57 N 03 23Na
	514.2933	99.5	176.7	11.5	263222.5	C31 H41 N 04 23Na
	514.4835	-99.3	-193.0	0.5	329484.1	C31 H64 N 04

شكل رقم -59-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>8</sub>

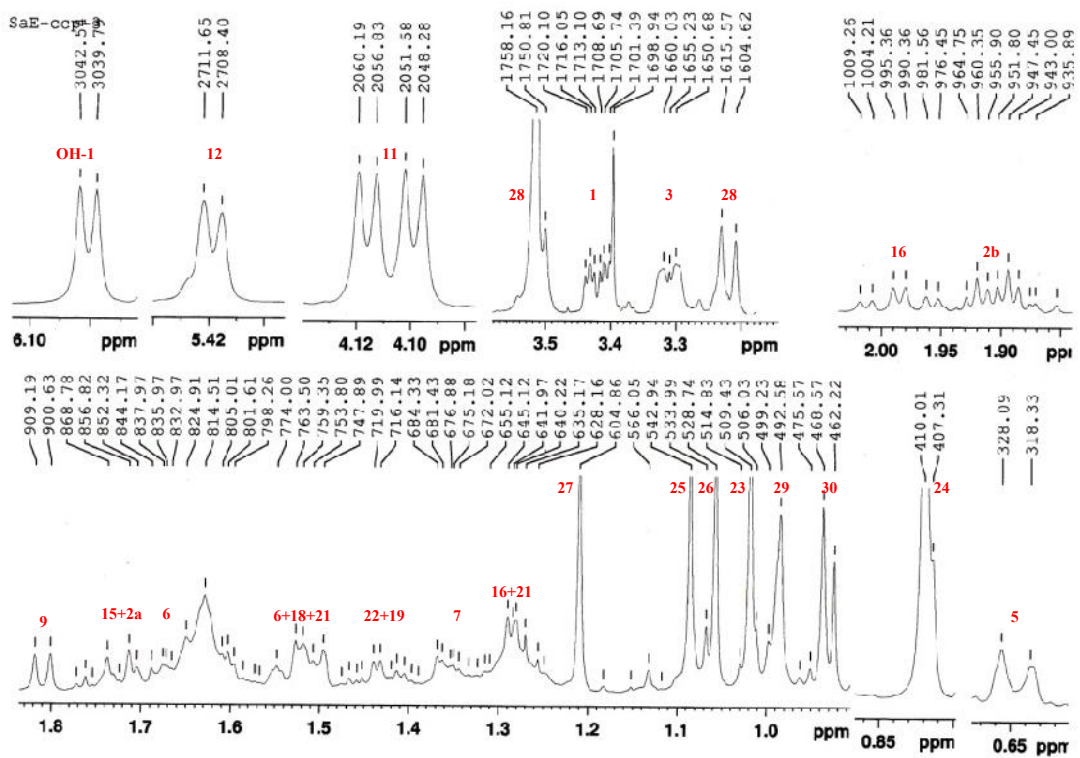
يظهر المركب E<sub>8</sub> نفس الخصائص الطيفية مع تلك الموجودة في أطياف المركب E<sub>4</sub> [شكل رقم: 60، 61، 62] وَ يكمن الاختلاف فقط في ظهور إشارة كربون حامل لوظيفة كحولية عند الإزاحة  $\delta_{C-28} = 69.7$  ppm بدلا عن مجموعة الميثيل التي يظهر فيها الكربون C-28 عند الإزاحة  $\delta_{C-28} = 28.6$  ppm وَ يؤكد تأثير الـ NOE [شكل رقم: 63] الملاحظ بين بروتوني H-28 لمجموعة هيدروكسي ميثيلين المستبدل في الموضع C-17 مع بروتونات مجموعة الـ Me-26 وَ بالتالي التوجيه دائما عبارة عن  $\beta$  وَ الجدول رقم -16- يبيّن مختلف الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>8</sub>. وَ منه فإنّ بنية المركب E<sub>8</sub> هي كالتالي:



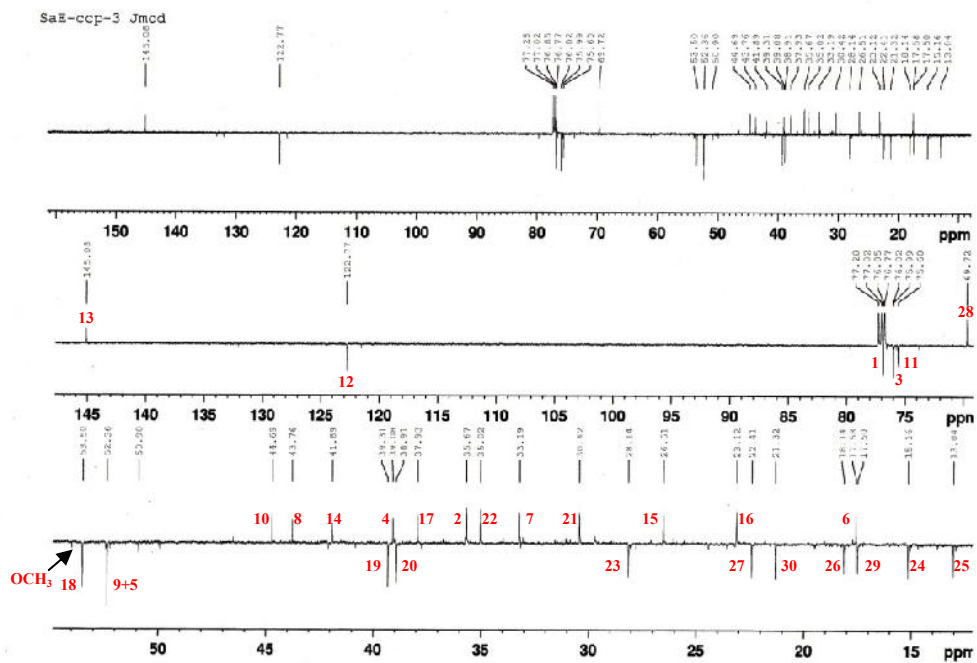
**11 $\alpha$ -Methoxyurs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 28 $\beta$ -triol**

جدول رقم 16- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>8</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz,  $\delta_H$ , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz,  $\delta_C$ )  
 في الـ CDCl<sub>3</sub>

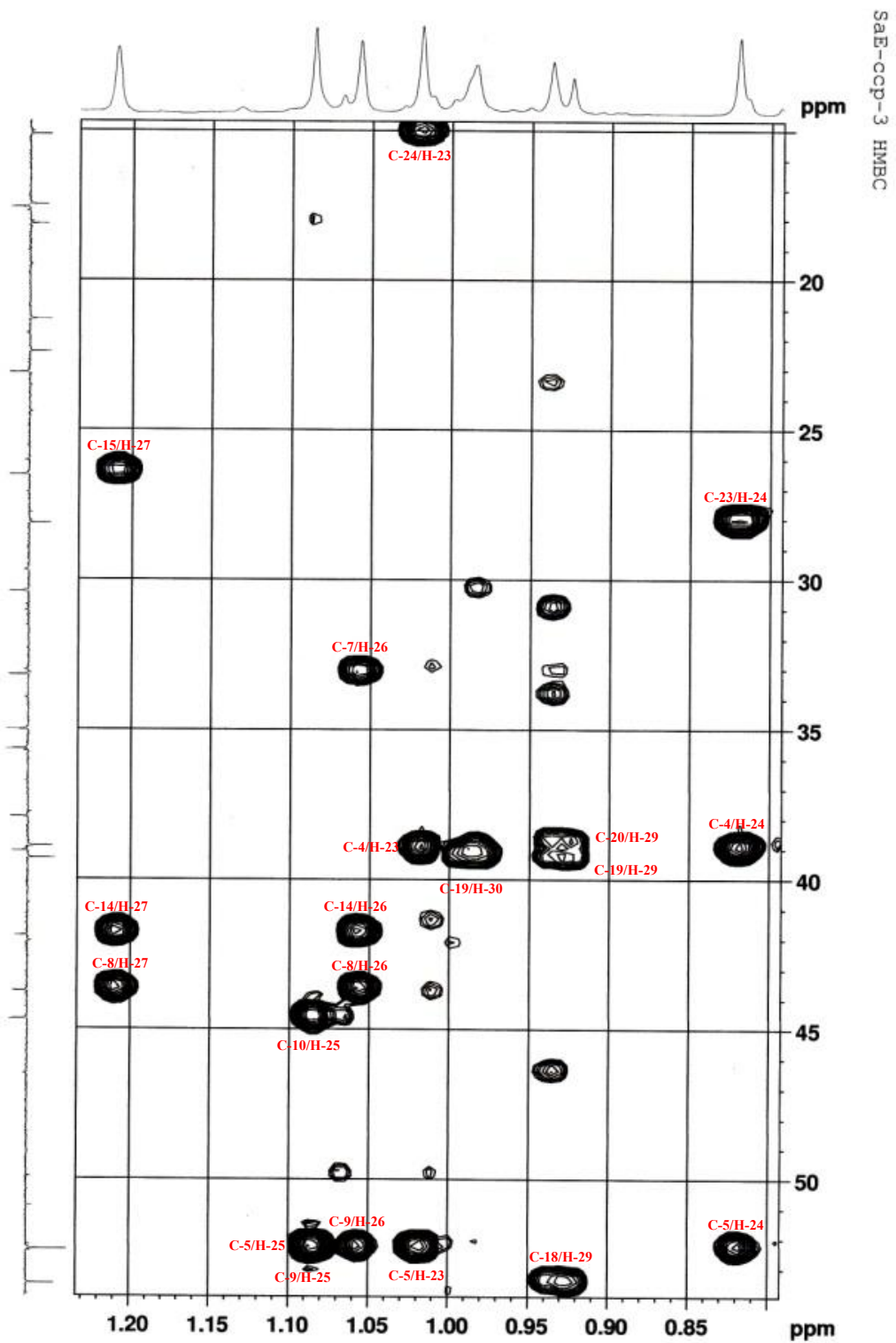
المركب E <sub>8</sub>					
الموضع	$\delta_H$ (J en Hz) ppm	$\delta_C$ ppm	الموضع	$\delta_H$ (J Hz) ppm	$\delta_C$ ppm
1	3.42, <i>dt</i> (10.3- 4.0)	76.9	16	1.98, <i>td</i> (13.9-5.1) 1.28, <i>m</i>	23.1
2	1.73, <i>q</i> (12.0) 1.91, <i>dt</i> (12.9-4.5)	35.7	17	-	37.9
3	3.31, <i>brd</i> (9.4)	76.0	18	1.5	53.5
4	-	39.1	19	1.32, <i>m</i>	38.9
5	0.65, <i>brd</i> (9.8)	52.4	20	0.97, <i>m</i>	39.3
6	1.53 1.66	17.6	21	1.28, <i>m</i> 153	30.4
7	1.35, <i>m</i> 1.51,	33.2	22	1.34 1.61	35.0
8	-	43.8	23	1.02, <i>s</i>	28.1
9	1.81, <i>d</i> (8.6)	52.4	24	0.82, <i>s</i>	15.2
10	-	44.7	25	1.09, <i>s</i>	13.0
11	4.11, <i>dd</i> (8.6, 3.3)	75.6	26	1.06, <i>s</i>	18.1
12	5.42, <i>d</i> (3.3)	122.8	27	1.21, <i>s</i>	22.4
13	-	145.1	28	3.22, <i>d</i> (11.0) 3.51, <i>d</i> (11.0)	69.7
14	-	41.9	29	0.93, <i>d</i> (6.4)	17.5
15	1.08, <i>m</i> 1.71, <i>m</i>	26.5	30	0.99, <i>d</i> (6.6)	21.3
			O-CH <sub>3</sub>	3.4, <i>s</i>	54.0



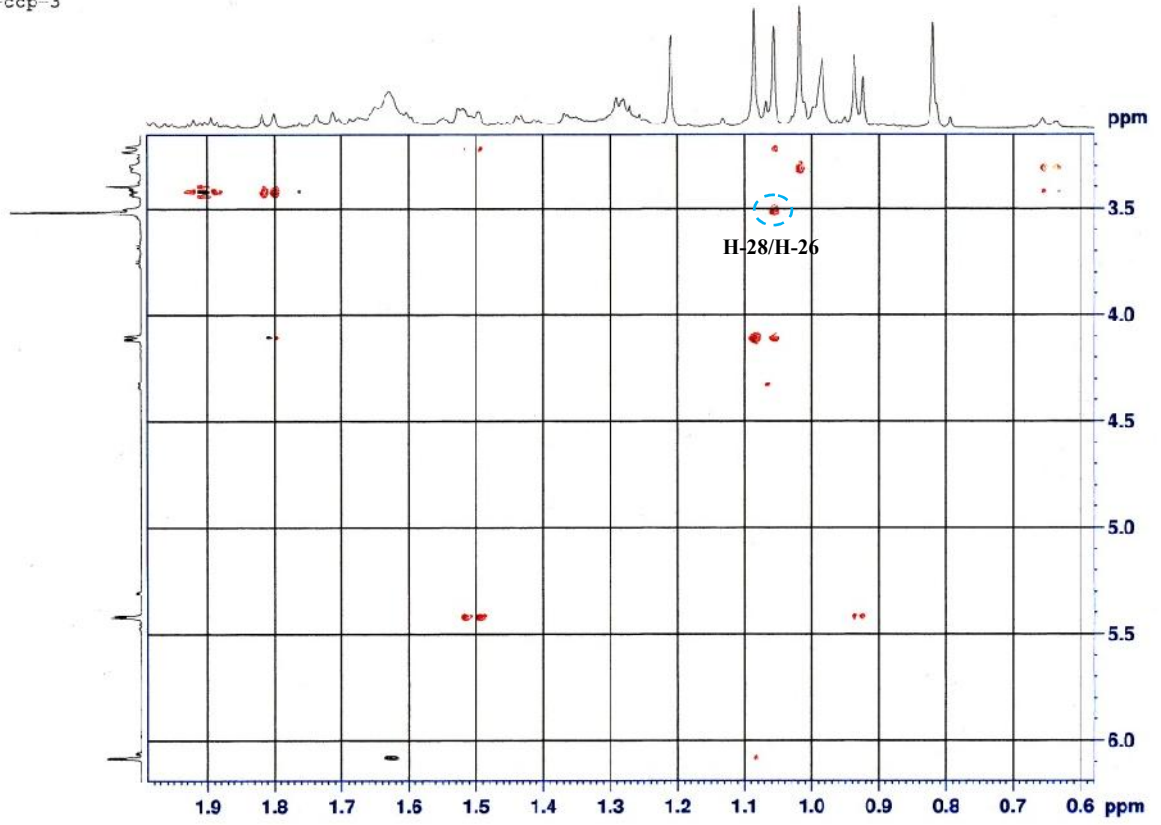
شكل رقم 60: طيف  $^1H$  RMN للمركب  $E_8$  (500 MHz,  $\delta_H$ , J en Hz)



شكل رقم 61: طيف  $^{13}C$  RMN J-modulé للمركب  $E_8$  (125 MHz,  $\delta_C$ )



شكل رقم -62- : طيف HMBC في المجال 1.25-0.80 ppm للمركب E<sub>8</sub>



شكل رقم 63- : طيف الـ NOESY للمركب E<sub>8</sub>

## 9- التحليل البنوي للمركب E<sub>9</sub>

الصيغة المجملة للمركب E<sub>9</sub> هي C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم: 64] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 479.3497$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 456$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب.

### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0  
Element prediction: Off  
Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

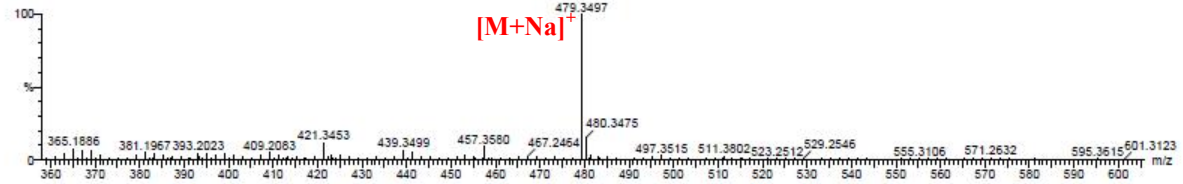
#### Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

247 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)  
Elements Used:  
C: 30-30 H: 0-1000 O: 0-15 <sup>23</sup>Na: 0-1 <sup>56</sup>Fe: 0-1 <sup>90</sup>Zr: 0-1 I: 0-1

Hichem 7

13HR143 101 (3.729) AM (Top,4, Ar,5000.0,622.57,1.00,LS 10); Sm (Mn, 2x1.00); Sb (1,40.00); Cm (93:106)

1: TOF MS ES+  
3.00e+003



Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Formula
479.3497	479.3501	-0.4	-0.8	6.5	279.5	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub> <sup>23</sup> Na

شكل رقم -64-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>9</sub>

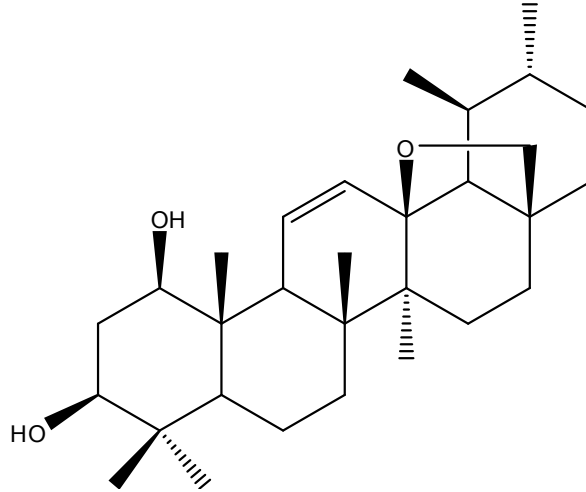
في طيف الـ  $^1\text{H}$  RMN [شكل رقم: 65] للمركب E<sub>9</sub> نلاحظ إشارتين لبروتونين فينيليين على شكل ثنائي ثنائي عند الإزاحتين:

$$\delta_{\text{H}} = 6.79 \text{ (dd, } J = 10.6\text{-}1.0 \text{ Hz)} \text{ و } \delta_{\text{H}} = 5.46 \text{ (dd, } J = 10.6, 3.0 \text{ Hz)}$$

كذلك نظام من الشكل AB لبروتونات الـ methylene مختلفا بذلك عن المركب E<sub>7</sub> الذي يحتوي على بروتون أوليفيني واحد، ممّا يدل على أنّ الرابطة الثنائية ليست في الموضع المعتاد (C-13-C-12) وكما تؤكد الإزاحات المختلفة للكربونين الأوليفيين والتي ترن إشاراتها عند  $\delta_{\text{C-11}} = 133.2 \text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{C-12}} = 132.1 \text{ ppm}$  في طيف الـ  $^{13}\text{C}$  RMN [شكل رقم: 66] يبيّن طيف الـ HMBC [شكل رقم: 67] أنّ هذين البروتونين متعالقين مع الكربون C-9 و مع كربون رباعي أكسجين عند الإزاحة  $\delta_{\text{C}} = 84.7 \text{ ppm}$  بالضرورة يسند إلى الكربون C-13 ممّا يسمح باستنتاج وضعية الرابطة الثنائية في الوضعية C-11. و نلاحظ نظام من الشكل AB لبروتونات مجموعة هيدروكسي مثيلين عند الإزاحتين:

$\delta_H = 3.68 \text{ ppm}$  (d,  $J = 6.7 \text{ Hz}$ ) و  $\delta_H = 3.23 \text{ ppm}$  (dd,  $J = 6.7-1.5 \text{ Hz}$ )

كما هو بالنسبة للمركب  $E_6$  و لكن هذه المرة إشارة الكربون الحامل للبروتونين يوجد في الحقل المنخفض عند  $\delta_C = 76.7 \text{ ppm}$  يوافقان المعطيات التي ذكرت في المرجع الببليوغرافي لهيكل ursan حامل لمجموعة epoxy [Gonzales et al., 1990] 13(28)، بالإضافة إلى ذلك طيفا البروتون الـ  $^1\text{H}$  RMN [شكل رقم: 65] و الـ  $^{13}\text{C}$  RMN [شكل رقم: 66] يظهر لنا ثلاث مجموعات هيدروكسيل و التي تتموضع عند C-1 و C-3 و C-15 مثل ما هو عليه في المركب  $E_2$ ، علاوة على ذلك فإن التشكيل الفراغي للبروتون H-28 يكون بتوجيه من نوع  $\beta$  إستنادا إلى طيف الـ NOESY [شكل رقم: 68] الذي يظهر بقع تعالق بين H-28a/H-18، و الجدول رقم -17- يبين مختلف الإزاحات للمركب  $E_9$ ، و بذلك من كل هذه المعطيات فإن بنية المركب  $E_9$  تكون على النحو التالي:

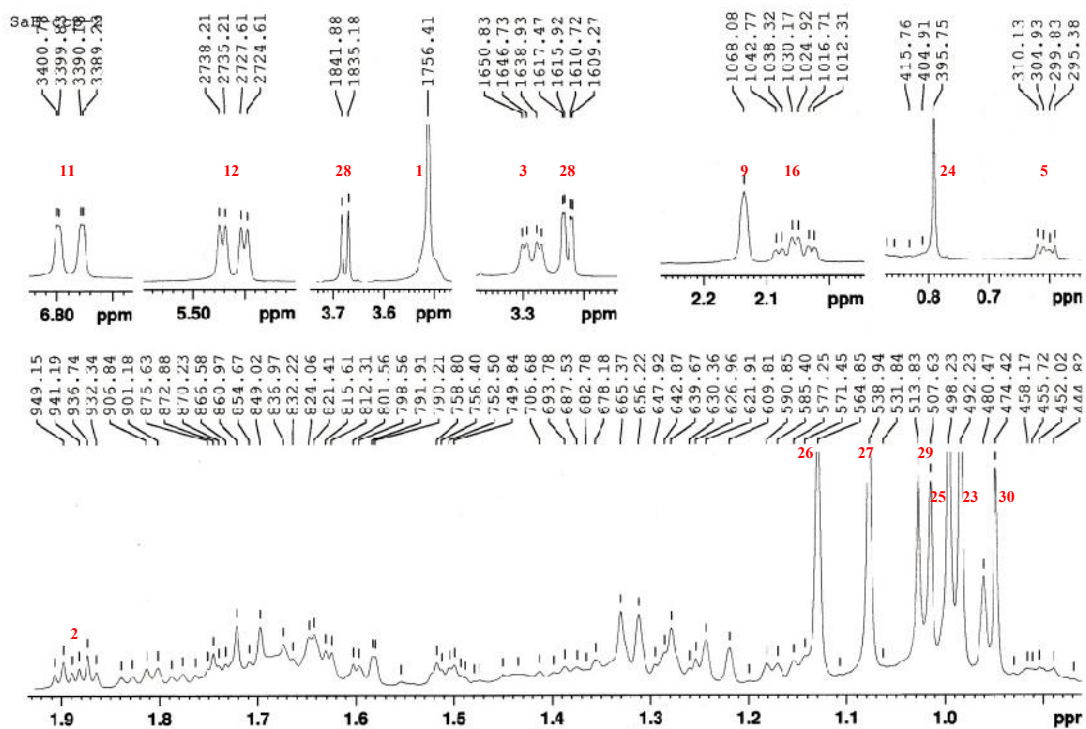


13 $\beta$ , 28 $\beta$ -Epoxy-urs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ -diol

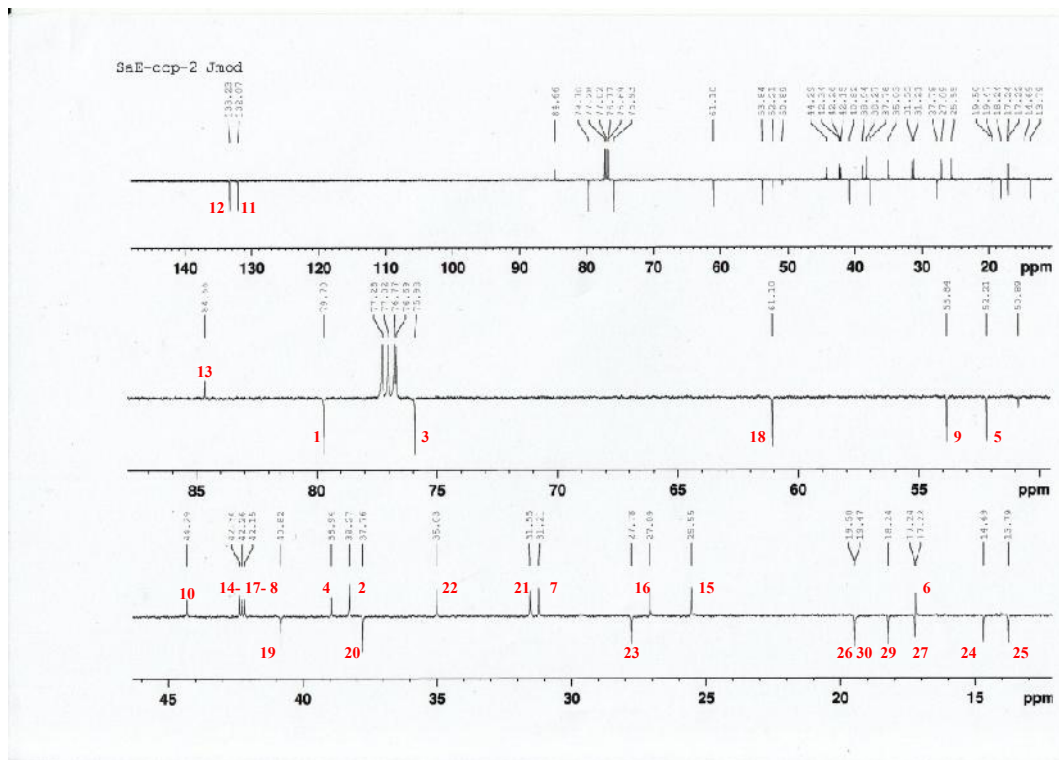
جدول رقم -17- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>9</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, δ<sub>H</sub>, J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, δ<sub>C</sub>)  
 في CDCl<sub>3</sub>

المركب E <sub>9</sub>					
الموضع	δ <sub>H</sub> (J en Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm	الموضع	δ <sub>H</sub> (J Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm
1	3.51	79.7	16	2.05, <i>td</i> (13.4, 4.5) 1.16, <i>dd</i> (13.6, 5.4)	27.1
2	1.89, <i>dt</i> (12.4, 4.4) 1.71, <i>q</i> (12.0)	38.3	17	-	42.3
3	3.28, <i>dd</i> (11.9, 4.1)	75.9	18	1.23, <i>d</i> (12.1)	61.1
4	-	38.9	19	1.73, <i>m</i>	37.8
5	0.60, <i>dd</i> (9.6, 5.2)	52.2	20	0.90, <i>m</i>	40.8
6	1.64 1.67	17.2	21	1.31 1.51, <i>m</i>	31.6
7	1.26 1.38, <i>m</i>	31.2	22	1.33 1.59, <i>m</i>	35.0
8	-	42.2	23	0.98, <i>s</i>	27.8
9	2.14, <i>br s</i>	53.8	24	0.79, <i>s</i>	14.7
10	-	42.2	25	1.00, <i>s</i>	13.8
11	6.79, <i>dd</i> (10.6, 1.0)	133.2	26	1.13, <i>s</i>	19.5
12	5.46, <i>dd</i> (10.6, 3.0)	132.1	27	1.08, <i>s</i>	17.2
13	-	84.7	28	3.68, <i>d</i> (6.7) 3.23, <i>dd</i> (6.7, 1.5)	76.7
14	-	45.0	29	1.02, <i>d</i> (6.2)	19.5
15	1.81, <i>td</i> (12.5, 5.7) 1.00	25.6	30	0.95, <i>d</i> (6.1)	18.2

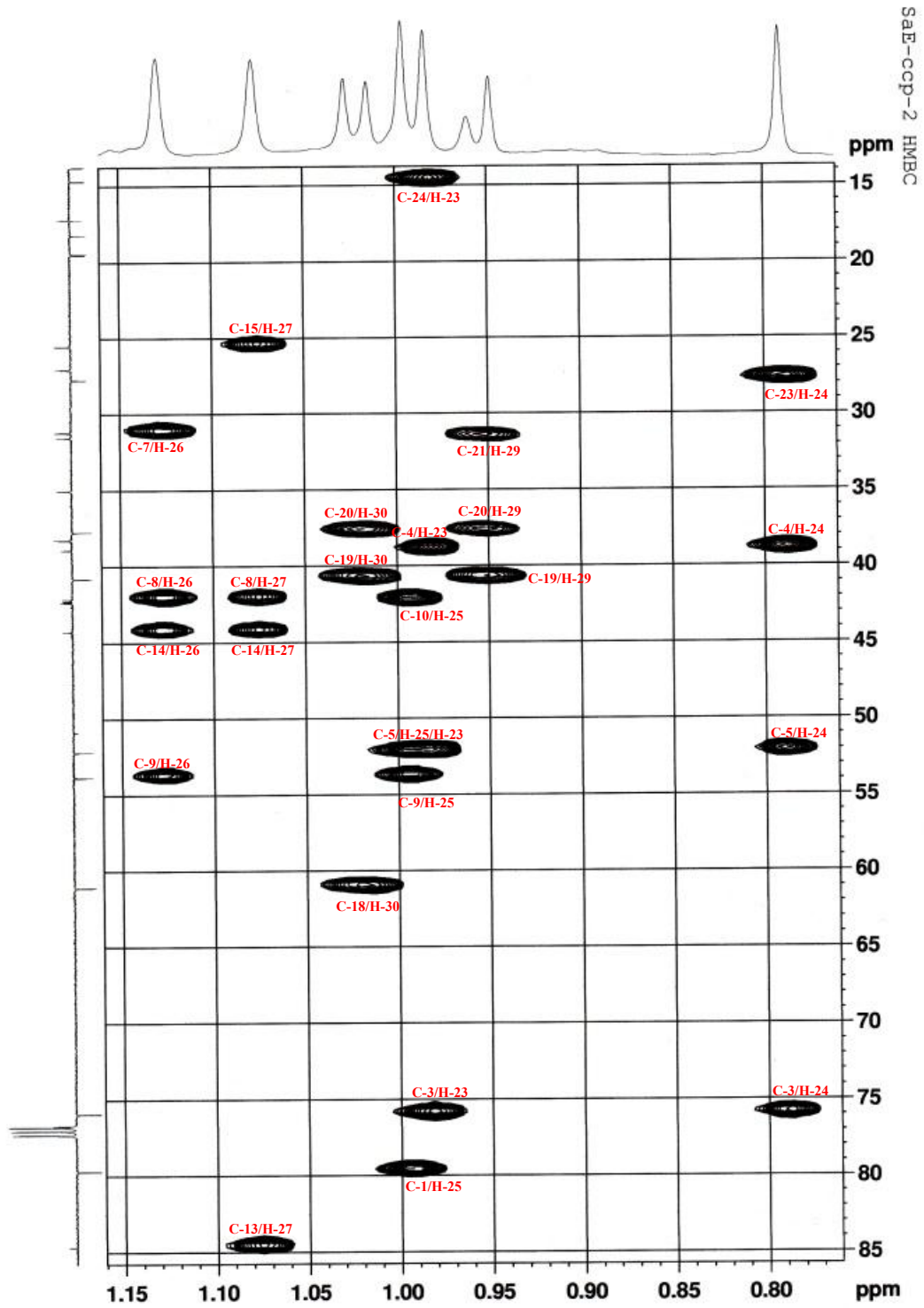




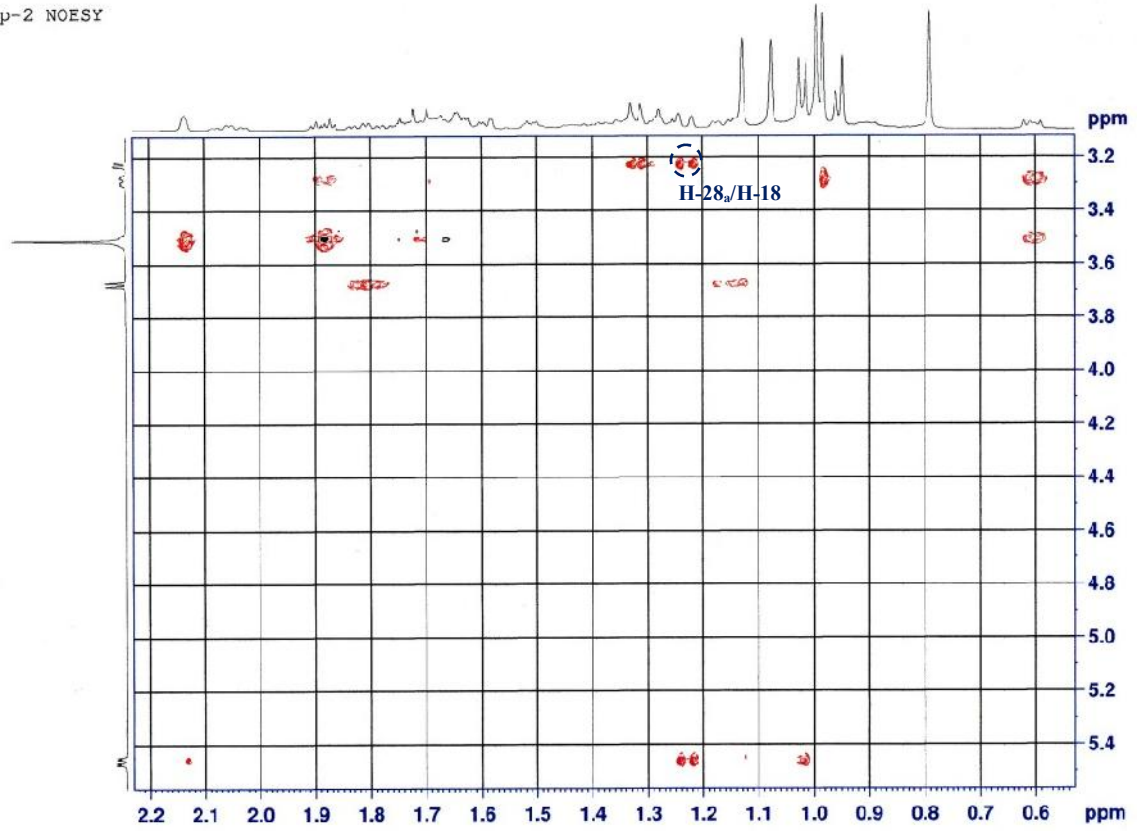
شكل رقم 65: طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $9\text{E}$  ( $500\text{ MHz}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)



شكل رقم 66: طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $9\text{E}$  ( $125\text{ MHz}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ )



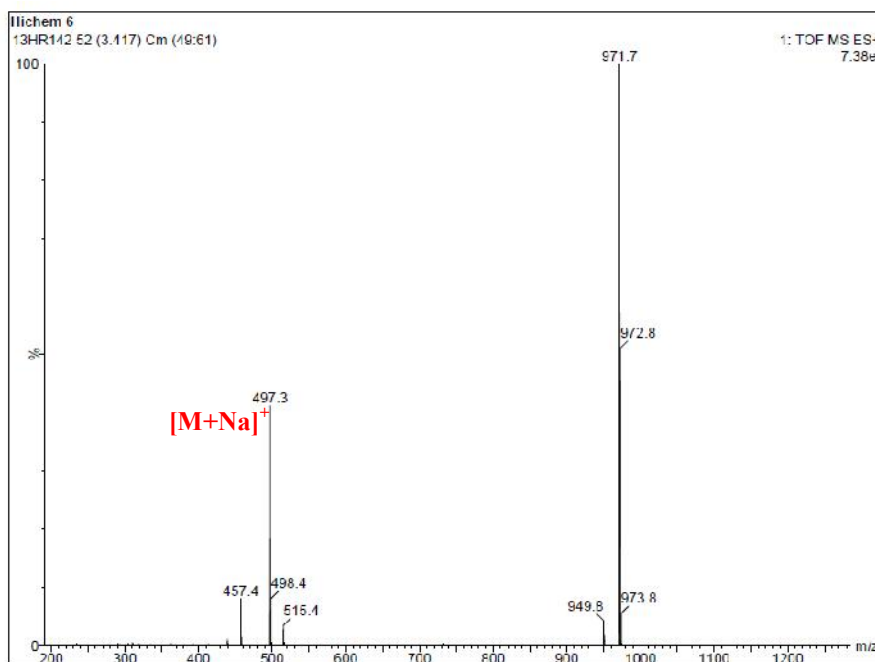
شكل رقم -67- : طيف HMBC في المجال 1.15-0.70 ppm للمركب E<sub>9</sub>



شكل رقم-68 : طيف الـ NOESY للمركب E<sub>9</sub>

## 10- التحليل البنوي للمركب E<sub>10</sub>

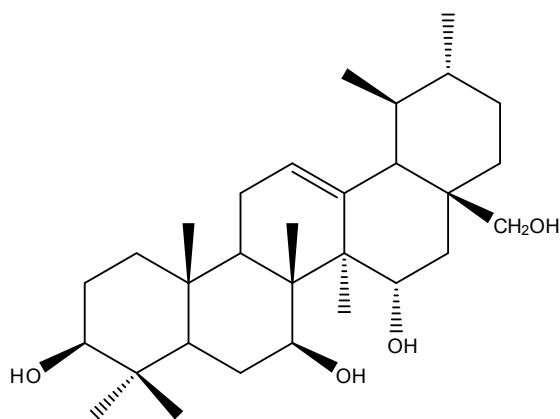
الصيغة المجملة للمركب E<sub>10</sub> هي C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم : 69] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 497.3605$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 474$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب.



شكل رقم -69-: طيف الكتلة عالي الدقة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>10</sub>

يظهر لنا طيفا الـ  $^1H$  RMN [شكل رقم : 70] و الـ  $^{13}C$  RMN [شكل رقم : 71] للمركب E<sub>10</sub> بوضوح إشارات خاصة بهيكل المركب urs-12-ene (Mahato and Kundo., 1994) (جدول رقم -1-). يبيّن لنا طيف الـ  $^1H$  RMN [شكل رقم : 70] على تماثل إشارات الحلقتين C و E للمركب E<sub>10</sub> مع تلك الموجودة في المركب (E<sub>7</sub>). طيف الـ  $^{13}C$  RMN [شكل رقم : 71] يظهر لنا وجود ثلاث مجموعات hydroxymethines و مجموعة hydroxymethylene حيث أنّ موضع مجموعتي الهيدروكسيل حددت من خلال بقع التعالق البعيدة المسافة في طيف الـ HMBC [شكل رقم : 72] أين نلاحظ بقع تعالق بين بروتونات مجموعة الـ Me-23 التي تظهر عند  $\delta_H = 1.02$  ppm و بروتونات مجموعة الـ Me-24 التي تظهر عند  $\delta_H = 0.83$  ppm مع الكربون C-3 الذي يظهر عند  $\delta_C = 78.7$  ppm وكذلك بين بروتونات مجموعة الـ Me-26 التي تظهر عند  $\delta_H = 1.06$  ppm مع الكربون C-7 الذي يظهر عند  $\delta_C = 72.0$  ppm وبالتالي فإنّ مجموعتي الهيدروكسيل تكون محمولتين على الكربونين C-7 و C-3. أما موضع مجموعات الهيدروكسيل المتبقية فهي مشابهة لتلك الموجودة في المركب E<sub>7</sub> أي محمولة على الكربون C-15.

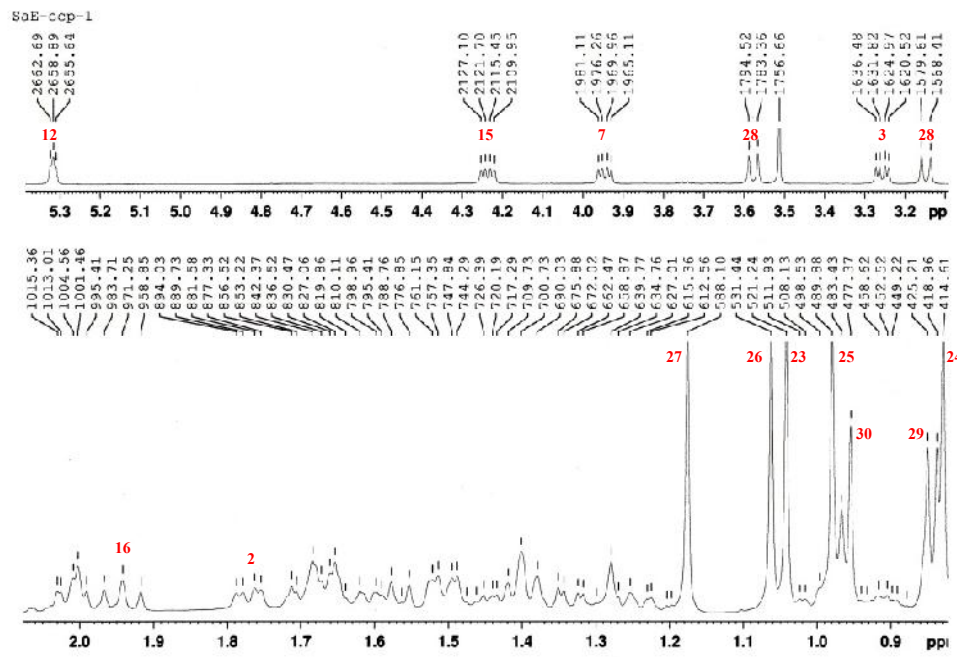
التوجيه الفراغي لـ **3 $\beta$  hydroxy** و **7 $\beta$  hydroxy** تمّ التعرف عليه من خلال طيف الـ **NOESY** [شكل رقم: 73] للمركب **E<sub>10</sub>** حيث نلاحظ بقع تعالق بين **H-7/H-5** و **H-7/H-27** مع ثابت التزاوج للبروتون (**H-7** (dd,  $J = 11.2, 4.9$  Hz) هذا من جهة و بين **H-3/H-5** و **H-3/H-23** مع ثابت تزاوج البروتون (**H-3** (dd,  $J = 11.3, 4.6$  Hz) من جهة أخرى ممّا يدل على التوجيه الفراغي  $\alpha$  لهذين البروتونين و بالتالي فإنّ بنية المركب **E<sub>10</sub>** هي كالتالي:



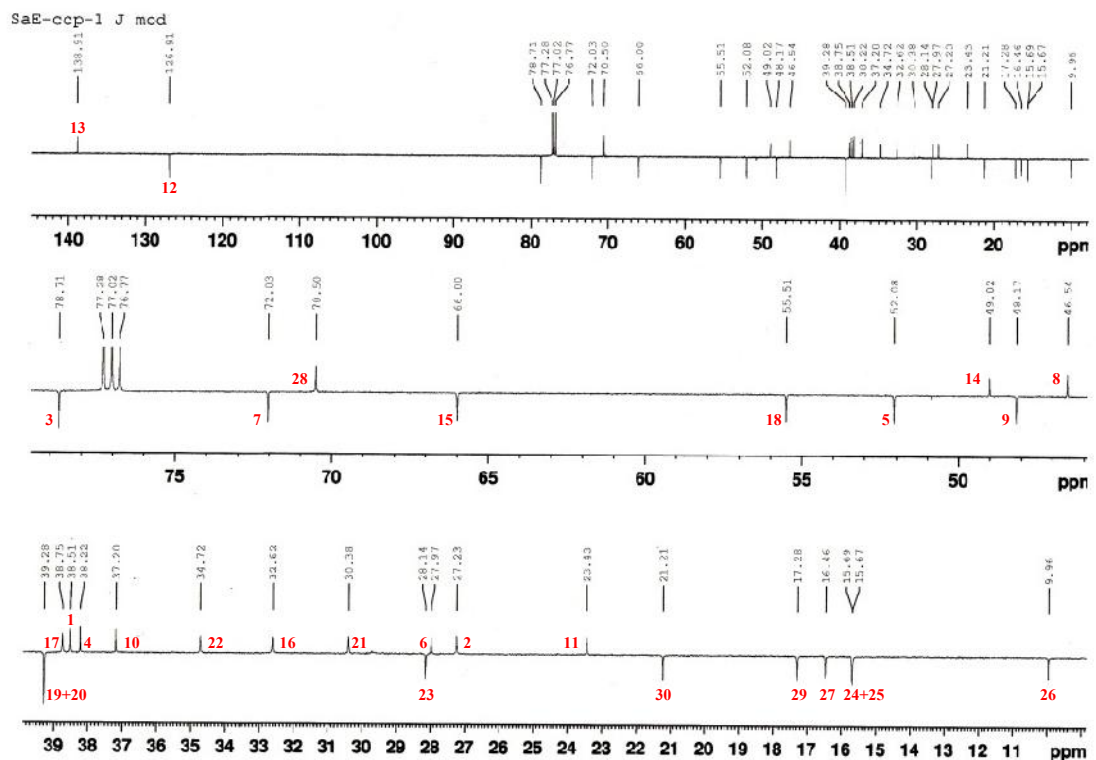
**Urs-12-ene-3 $\beta$ , 7 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 28 $\beta$ -tetraol**

جدول رقم 18- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>10</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, δ<sub>H</sub>, J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, δ<sub>C</sub>)  
 في الـ CDCl<sub>3</sub>

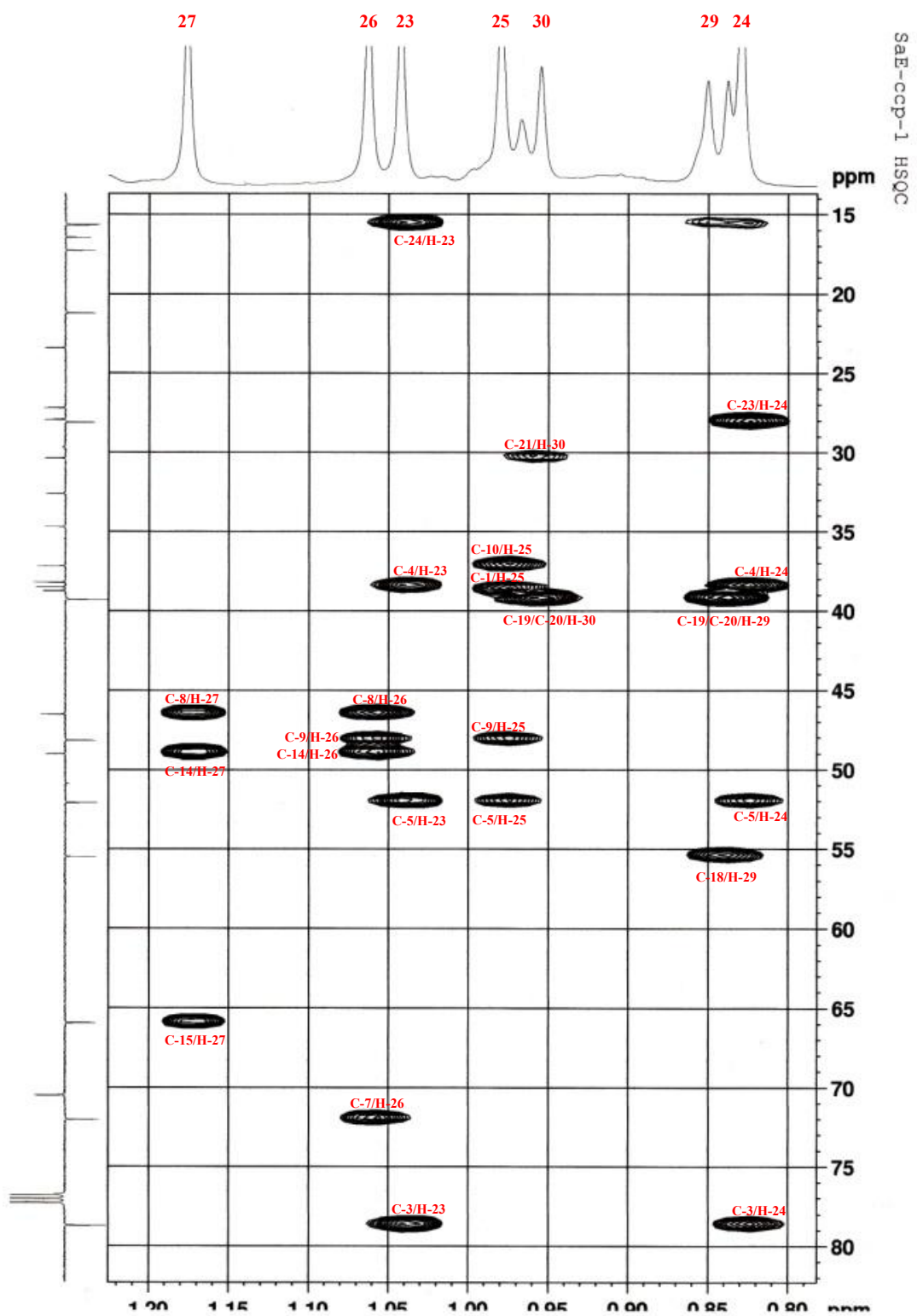
المركب E <sub>10</sub>					
الموضع	δ <sub>H</sub> (J en Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm	الموضع	δ <sub>H</sub> (J Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm
1	0.99 1.7, <i>dt</i> (12.5, 3.3)	38.5	16	1.51, <i>dd</i> (13.1, 3.8) 1.94, <i>t</i> (12.5)	32.6
2	1.65 1.61	27.2	17	-	38.2
3	3.26, <i>dd</i> (11.5, 4.6)	78.7	18	1.39, <i>d</i> (10.7)	55.5
4	-	38.2	19	1.45, <i>m</i>	39.3
5	0.84	52.1	20	0.91, <i>m</i>	39.3
6	1.57 1.77, <i>dd</i> (12.5, 4.3)	28.0	21	1.24, <i>m</i> 1.50, <i>dm</i> (13.3)	30.4
7	3.94, <i>dd</i> (11.2, 4.9)	72.0	22	1.67 1.35, <i>td</i> (13.2, 3.9)	34.7
8	-	46.5	23	1.02, <i>s</i>	28.1
9	1.41, <i>brd</i> (9.0)	48.2	24	0.83, <i>s</i>	15.7
10	-	37.2	25	0.98, <i>s</i>	15.7
11	2.03 2.00	23.4	26	1.06, <i>s</i>	10.0
12	5.32, <i>t</i> (3.3)	126.9	27	1.18, <i>s</i>	16.5
13	-	138.9	28	3.15, <i>d</i> (11.2) 3.58, <i>d</i> (11.2)	70.5
14	-	49.0	29	0.84, <i>d</i> (6.3)	17.3
15	4.24, <i>dd</i> (11.8, 5.4)	66.0	30	0.96, <i>d</i> (6.1)	21.2



شكل رقم-70:- طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_{10}$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)

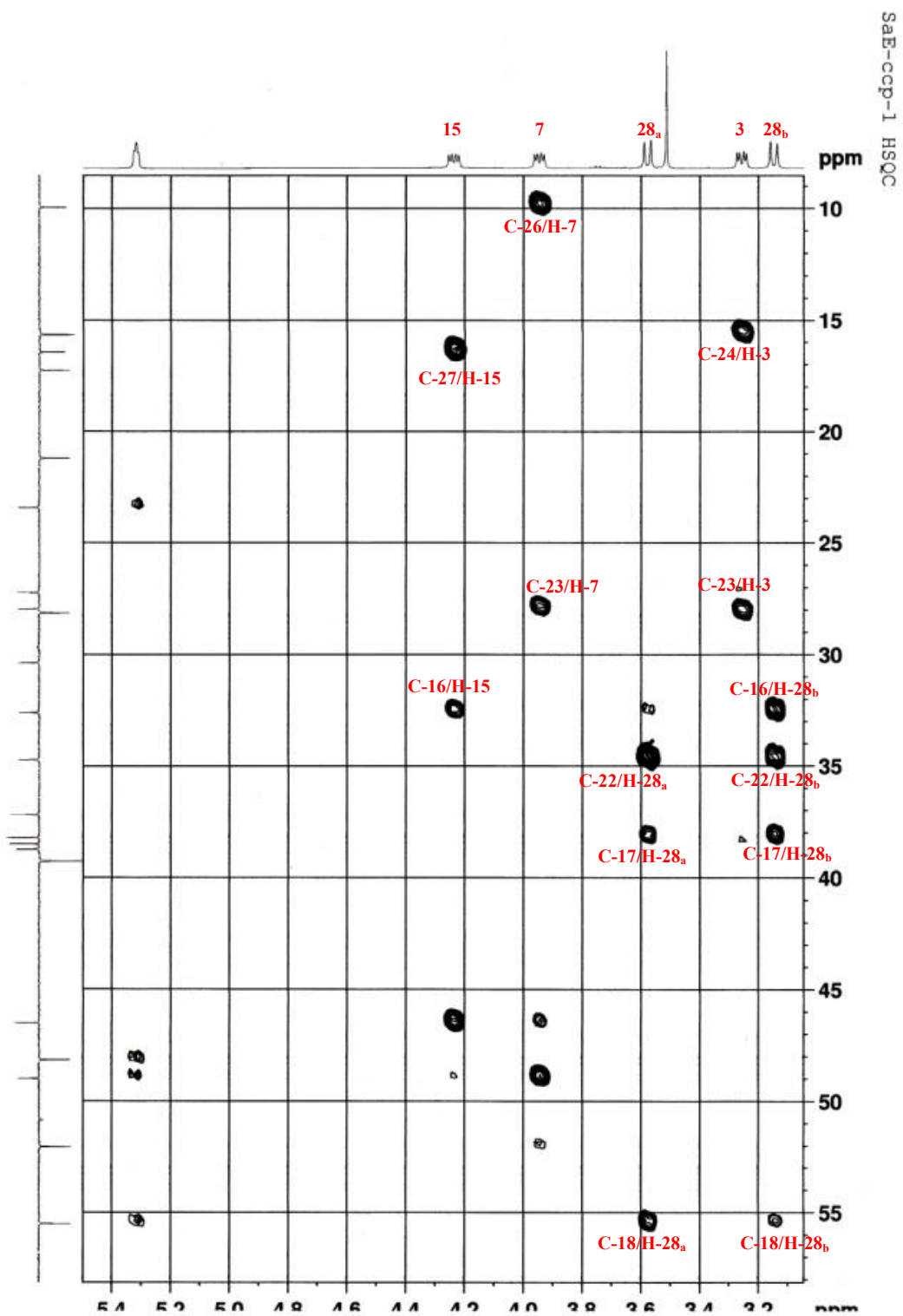


شكل رقم-71:- طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_{10}$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )

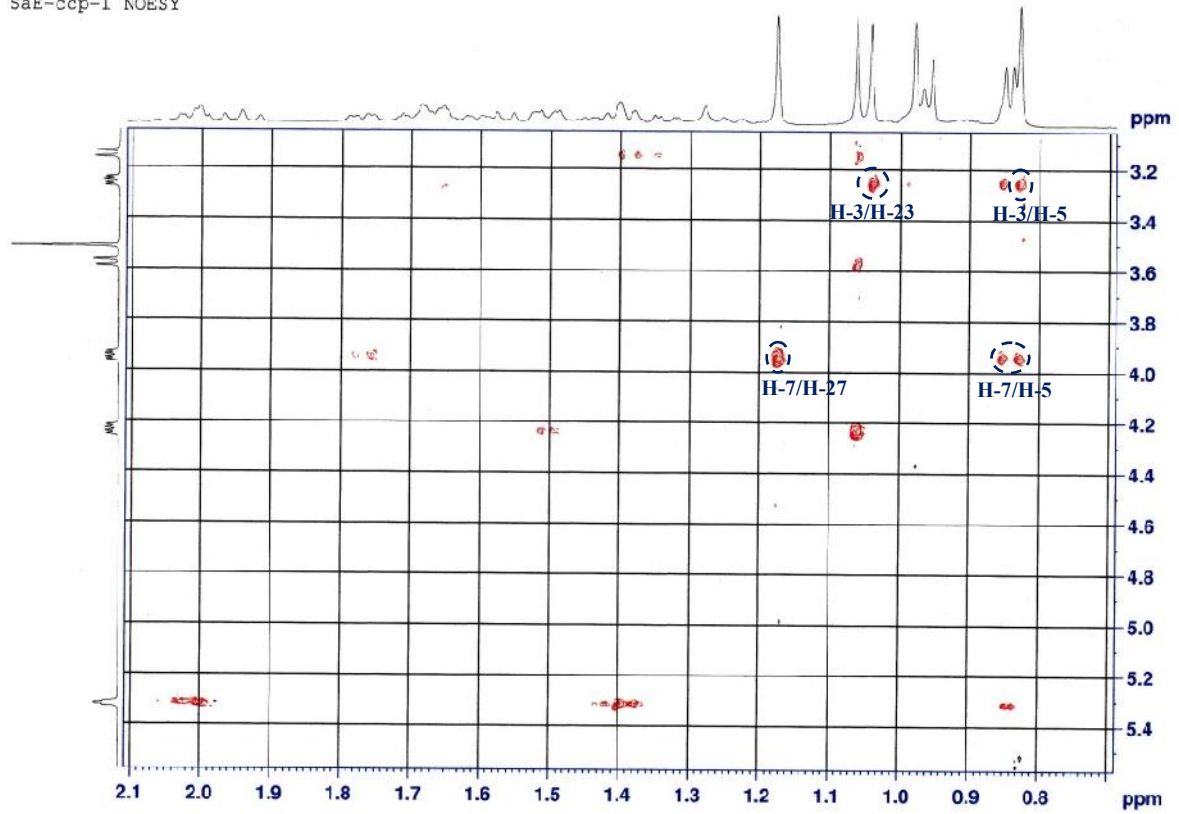


شكل رقم -72<sub>a</sub> : طيف HMBC في المجال 1.20-0.78 ppm للمركب E<sub>10</sub>





شكل رقم -72<sub>b</sub> : طيف HMBC في المجال 5.4-3 ppm للمركب E<sub>10</sub>



شكل رقم-73 : طيف الـ NOESY للمركب E<sub>10</sub>

## 11- التحليل البنيوي للمركب E<sub>11</sub>

الصيغة المجملة للمركب E<sub>11</sub> هي C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> و هذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم : 74] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 497.3605$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 474$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب.

### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

1455 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

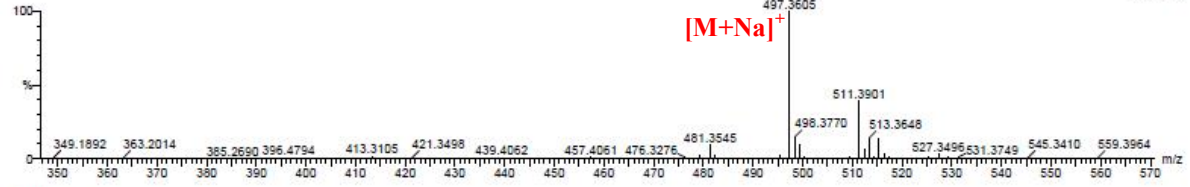
Elements Used:

C: 30-30 H: 0-1000 N: 0-5 O: 0-15 23Na: 0-1 56Fe: 0-1 90Zr: 0-1 I: 0-1

Hichem 5

13HR141 52 (3.424) AM (Top,4, Ar,5000,0,472,70,1,00,LS 10); Sm (Mn, 2x1.00); Sb (1,40.00); Cm (39:53)

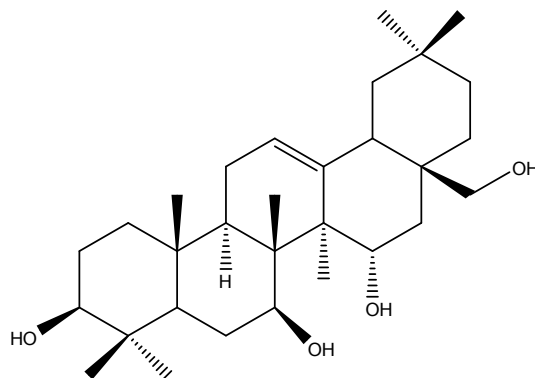
1: TOF MS ES+  
7.69e+003



Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	Formula
497.3605	497.3607	-0.2	-0.4	5.5	662.5	C30 H50 O4 23Na

### شكل رقم -74-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>11</sub>

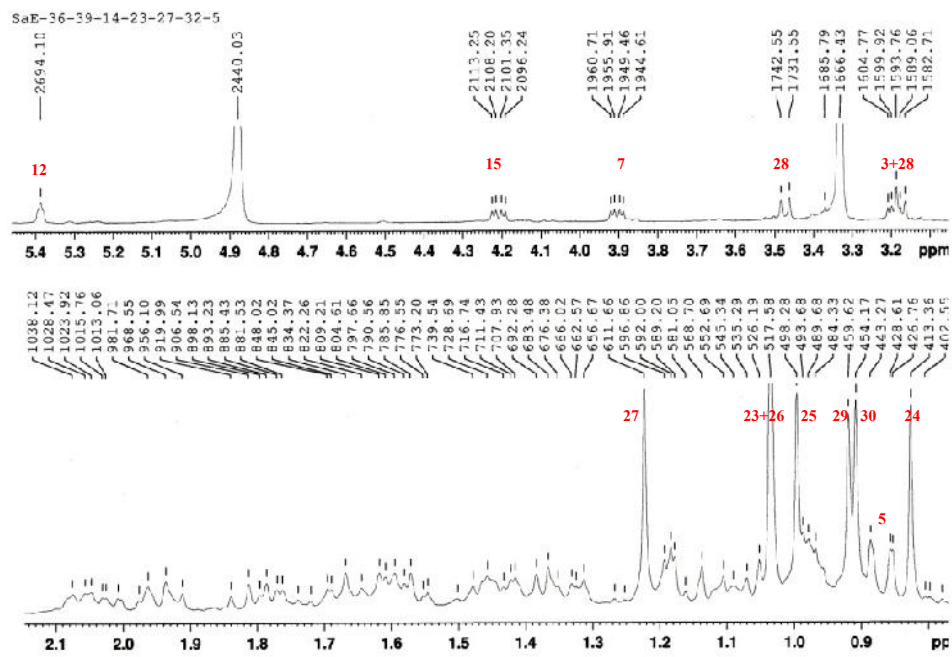
من الصيغة المجملة و كذلك المعطيات الطيفية [شكل رقم: 75، 76، 77] للمركب E<sub>11</sub> نلاحظ أنّ المركب يشبه المركب E<sub>10</sub> لحد كبير ويكمن الاختلاف في موضع ميثيل الحلقة E للمركب E<sub>11</sub> و بالتالي فإنه يحمل هيكل Olean ، إستنادا إلى بقع تعالق بروتونات الـ Me-29 و الـ Me-30 التي ترن عند الإزاحة  $\delta_{H-29} = 0.92 \text{ ppm}$  و  $\delta_{H-30} = 0.91 \text{ ppm}$  على شكل أحادي مع الكربونان C-19 و C-20 الذين يرنون على التوالي عند الإزاحات الكيميائية  $\delta_{C-21} = 35.2 \text{ ppm}$  و  $\delta_{C-20} = 31.8 \text{ ppm}$  و  $\delta_{C-19} = 47.4 \text{ ppm}$  في طيف الـ HMBC [شكل رقم: 77] ممّا يدل على أنّ الـ Me-29 و الـ Me-30 محمولان على الكربون C-20. إذن فإنّ البنية الكيميائية للمركب E<sub>11</sub> هي على الشكل التالي :



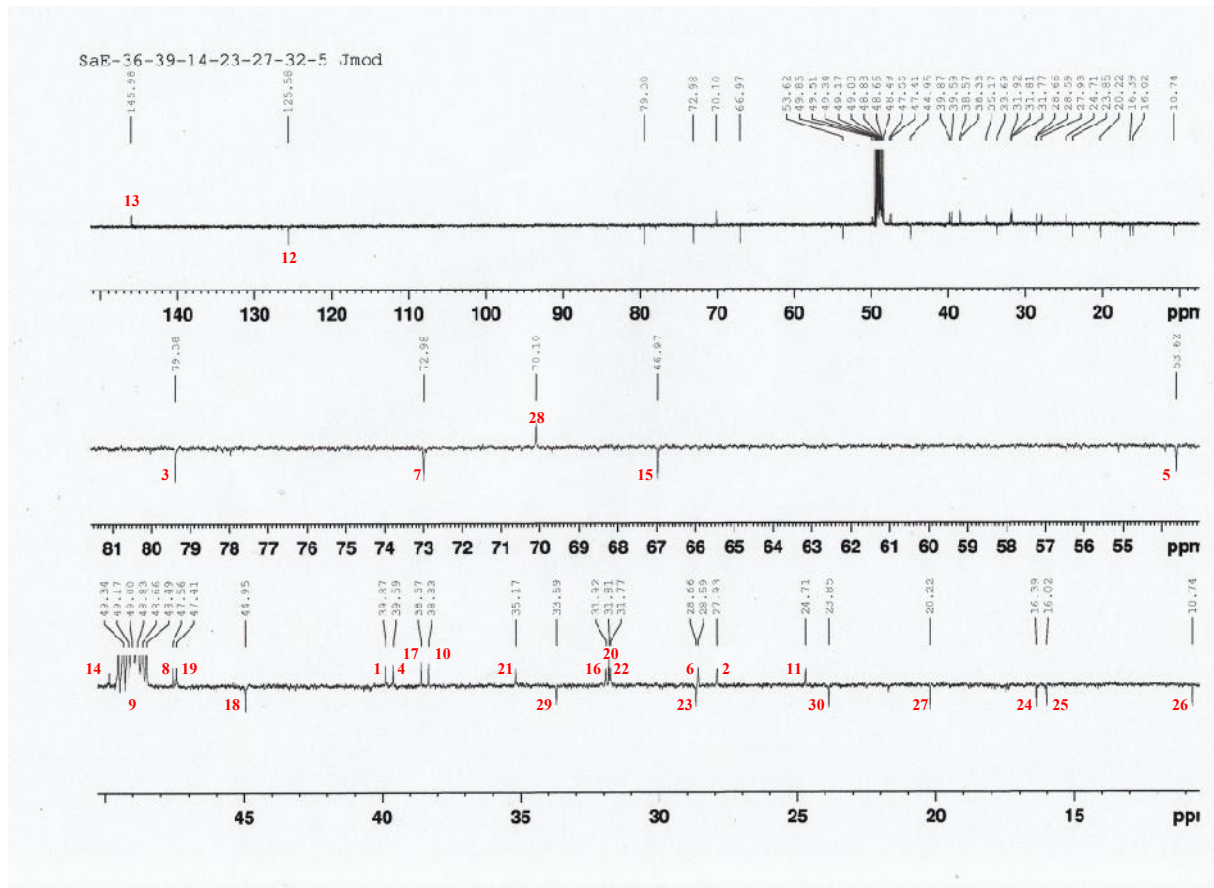
Olean-12-ene-3 $\beta$ , 7 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 28 $\beta$ -tetraol

جدول رقم -19- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>11</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz,  $\delta_H$ , J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz,  $\delta_C$ )  
 في الـ CD<sub>3</sub>OD

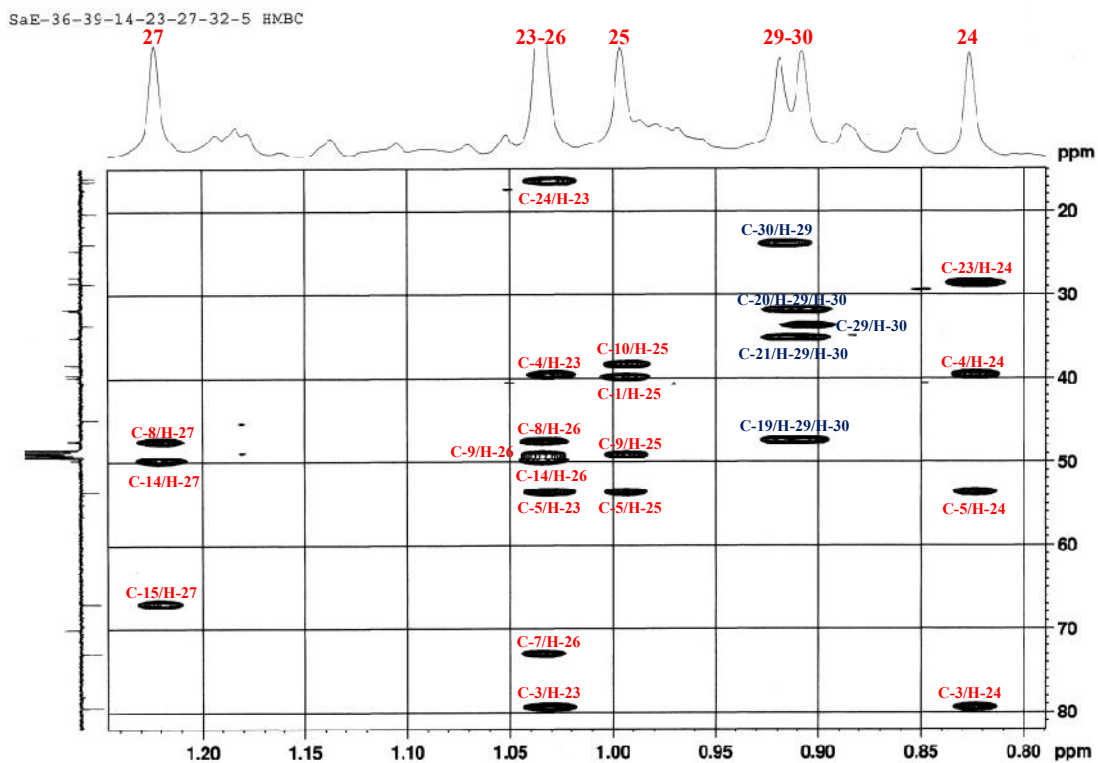
المركب E <sub>11</sub>					
الموضع	$\delta_H$ (J en Hz) ppm	$\delta_C$ ppm	الموضع	$\delta_H$ (J Hz) ppm	$\delta_C$ ppm
1	0.97, <i>m</i> 1.68 <i>m</i>	39.9	16	1.94( <i>t</i> , 12.4) 1.46	31.9
2	1.65 1.61, <i>m</i>	27.9	17	-	38.6
3	3.19, <i>dd</i> (11.0, 4.8)	79.4	18	2.07, <i>dd</i> (14.2, 4.5)	45.0
4	-	39.6	19	1.1, <i>m</i> 1.81, <i>t</i> (13.4) 1.1 <i>m</i>	47.4
5	0.86, <i>dd</i> (14.7, 1.9)	53.6	20	-	31.8
6	1.58 1.78, <i>dd</i> (12.7, 3.9)	28.6	21	1.21, <i>m</i> 1.36, <i>m</i>	35.2
7	3.9, <i>dd</i> (11.3, 4.8)	73.0	22	1.57 1.4	31.8
8	-	47.6	23	1.03, <i>s</i>	28.7
9	1.46	49.2	24	0.83, <i>s</i>	16.4
10	-	38.3	25	0.99, <i>s</i>	16.0
11	1.96 2.2	24.7	26	1.03, <i>s</i>	10.7
12	5.39, <i>br s</i>	125.6	27	1.22, <i>s</i>	20.2
13	-	146.0	28	3.47, <i>d</i> (11.0) 3.18, <i>d</i> (11.0)	70.1
14	-	49.8	29	0.92, <i>s</i>	33.7
15	4.21, <i>dd</i> (11.9, 5.1)	67.0	30	0.91, <i>s</i>	23.9



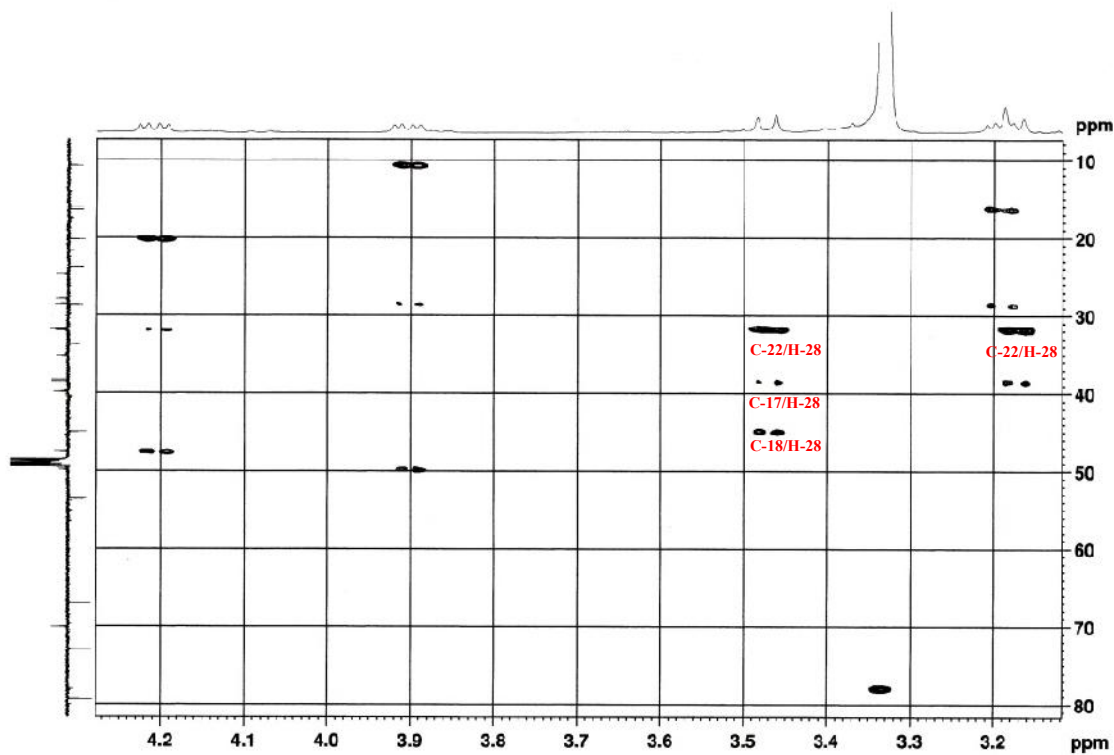
شكل رقم-75 :- طيف ال- $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_{11}$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)



شكل رقم-76 :- طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_{11}$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )



SaE-36-39-14-23-27-32-5 HMBC



شكل رقم -77- : طيف HMBC في المجال 4.3-0.80 ppm للمركب E<sub>11</sub>

## 12- التحليل البنوي للمركب E<sub>12</sub>

يظهر طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم: 78] للمركب E<sub>12</sub> إشارة عند  $m/z = 495.3461$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أن الكتلة الجزيئية هي  $M = 472$  والتي توافق الصيغة المجرىة  $C_{30}H_{48}O_4$  للمركب E<sub>12</sub> و من خلالها نستنتج وجود سبعة روابط ثنائية متكافئة.

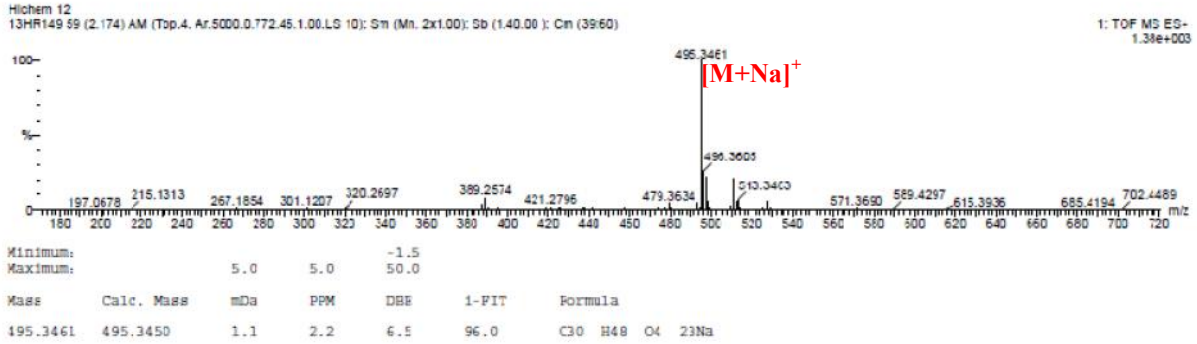
### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0  
Element prediction: UH  
Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass Even Electron Ions  
250 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)  
Elements Used:  
C: 30-30 H: 0-1000 O: 0-15 <sup>23</sup>Na: 0-1 <sup>56</sup>Fe: 0-1 <sup>90</sup>Zr: 0-1 I: 0-1



شكل رقم -78-: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب E<sub>12</sub>

يبين طيف الـ  $^1H$  RMN [شكل رقم: 79] للمركب E<sub>12</sub> ستة إشارات لمجموعة ميثيل عند الإزاحات التالية:

$\delta_H = 0.98$  ppm (overlapped) ،  $\delta_H = 0.94$  ppm (overlapped) ،  $\delta_H = 0.71$  ppm (3H, s)  
 $\delta_H = 1.27$  ppm (3H, s) ،  $\delta_H = 1.08$  ppm (3H, s) ،  $\delta_H = 1.00$  ppm (3H, s)  
كما يظهر إشارة لبروتون أوليفني عند  $\delta_H = 5.17$  ppm (1H, brs).

يكشف طيف الـ  $^{13}C$  بتقنية  $J_{mod}$  [شكل رقم: 80] للمركب E<sub>12</sub> عن وجود 30 إشارة كربونية منها 6 إشارات خاصة بمجموعة ميثيل تظهر عند قيم الإزاحات التالية:

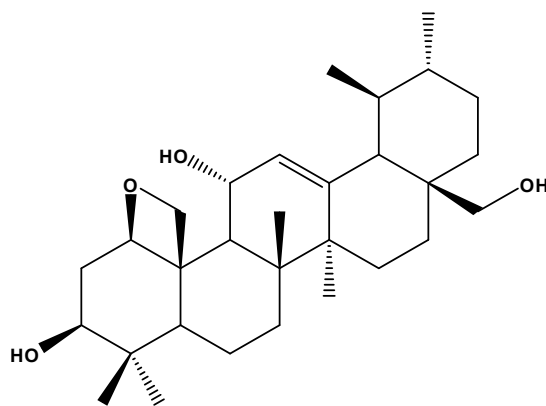
$\delta_C = 17.4$  ppm ،  $\delta_C = 17.3$  ppm ،  $\delta_C = 16.5$  ppm  
 $\delta_C = 27.3$  ppm ،  $\delta_C = 23.3$  ppm ،  $\delta_C = 21.7$  ppm

وَ إشارتين خاصة بكاربونين أولفيين عند قيمة الإزاحتين  $\delta_C = 128.1 \text{ ppm}$  وَ  $\delta_C = 143.3 \text{ ppm}$  . وَ يدل وجود إشارتين فقط لكربونين من نوع  $sp$  وَ  $sp^2$  على أنّ المركب  $E_{12}$  بالضرورة سداسي الحلقات.

تختلف المعطيات الطيفية للمركب  $E_{12}$  عن المركب ( $E_8$ ) إلا بالنسبة إلى التي أسندت للحلقة A وَ كذلك إستبدال مجموعة OH بمجموعة ميثيل في الموضع C-11 مبيّنة بذلك هيكل ursan كما بيّنه طيف الـ  $^1\text{H RMN}$  [شكل رقم: 79] للمركب  $E_{12}$  بإظهار إشارات بروتونية للمجموعتين oxymethine عند  $\delta_H = 3.72 \text{ ppm}$  (brd,  $J = 9.2 \text{ Hz}$ ) وَ  $\delta_H = 3.62 \text{ ppm}$  (dd,  $J = 11.4 - 6.0 \text{ Hz}$ ) فبروتون المجموعة الأولى يتزاوج مع البروتون الأوليفيني محددًا بذلك وضعيتها في الموقع C-11 أما بروتون المجموعة الثانية يظهر بقع تعالقات مع إشارات مجموعتي ميثيل C-23 وَ C-24 عند  $\delta_C = 27.3 \text{ ppm}$  وَ  $\delta_C = 16.5 \text{ ppm}$  وَ بالتالي يسند للبروتون H-3.

يظهر طيف الـ  $^1\text{H}-^1\text{H COSY}$  [شكل رقم: 81] عن وجود نظامين من نوع AB أسند الأول إلى البروتونين المحمولين على الكربون C-28 بنفس الكيفية عند المركب  $E_8$  ، أمّا الثاني فأسند إلى البروتونين المحمولين على الكربون C-25 بسبب إشارات تعالق الكربون C-25 الذي يرن عند  $\delta_C = 48.9 \text{ ppm}$  مع H-9 الذي يظهر عند  $\delta_H = 2.35 \text{ ppm}$  في طيف الـ HMBC [شكل رقم: 82]

وَ هذه الفرضية تدعمها التعالقات الأتية في طيف الـ NOESY [شكل رقم: 83] : H-25<sub>a</sub>/H-11 ، H-25<sub>a</sub>/H-26 ، H-25<sub>b</sub>/H-2 axial ، H-25<sub>b</sub>/H-24 ، H-25<sub>a</sub>/H-11 ، H-25<sub>a</sub>/H-26 التوجه  $\beta$  لـ H-25 وَ الحلقة السادسة بالضرورة تكون عبارة عن جسر إثيري بين المجموعة CH<sub>2</sub>-25 حيث أنّ كاربونها يرن عند  $\delta_C = 48.9 \text{ ppm}$  وَ الميثين CH-1 الذي يرن عند  $\delta_C = 44.3 \text{ ppm}$  . في حالة إذا ما كانت هذه الكربونات حاملة لمجموعات هيدروكسي فيكون إنزياحها الكيميائي أكبر من المتحصل عليها في هذا المركب وَ بالتالي فإنّ بنية المركب  $E_{12}$  تكون على النحو التالي:

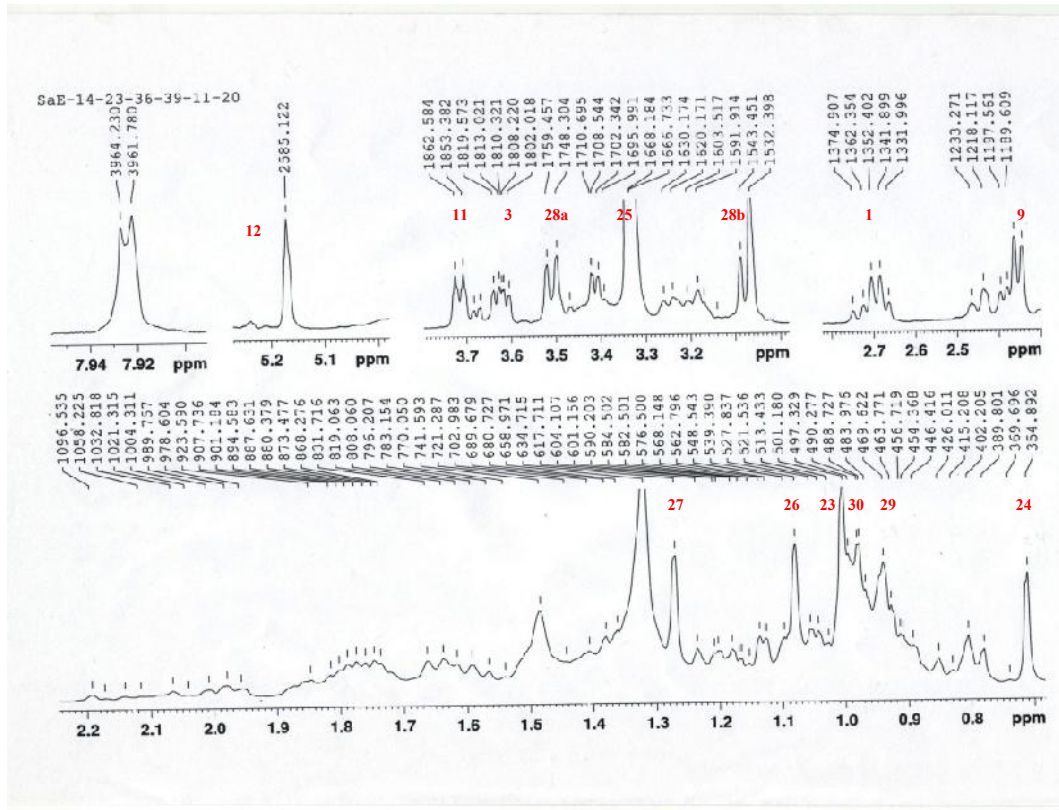


1 $\beta$ , 25 $\beta$ -epoxy-urs-12-ene-3 $\beta$ , 11 $\alpha$ , 28 $\beta$ -triol

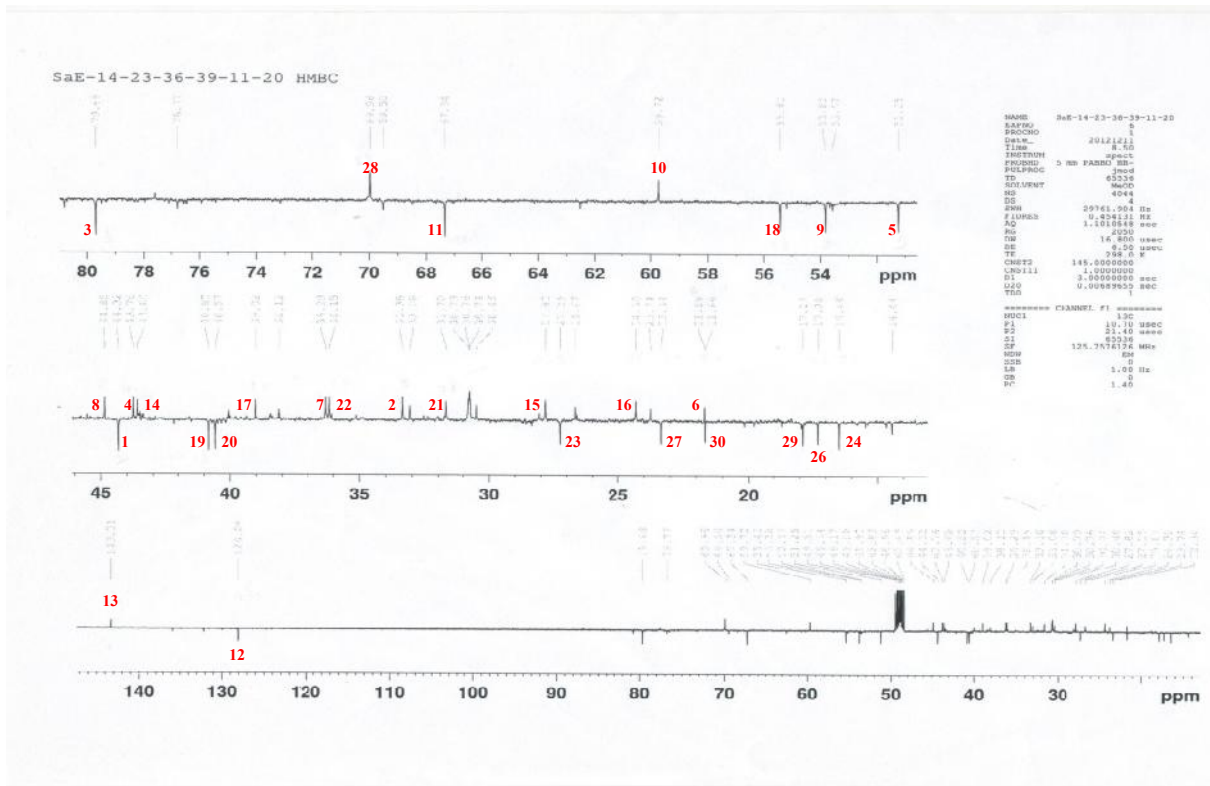


جدول رقم -20- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>12</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, δ<sub>H</sub>, J en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, δ<sub>C</sub>)  
 في الـ CD<sub>3</sub>OD

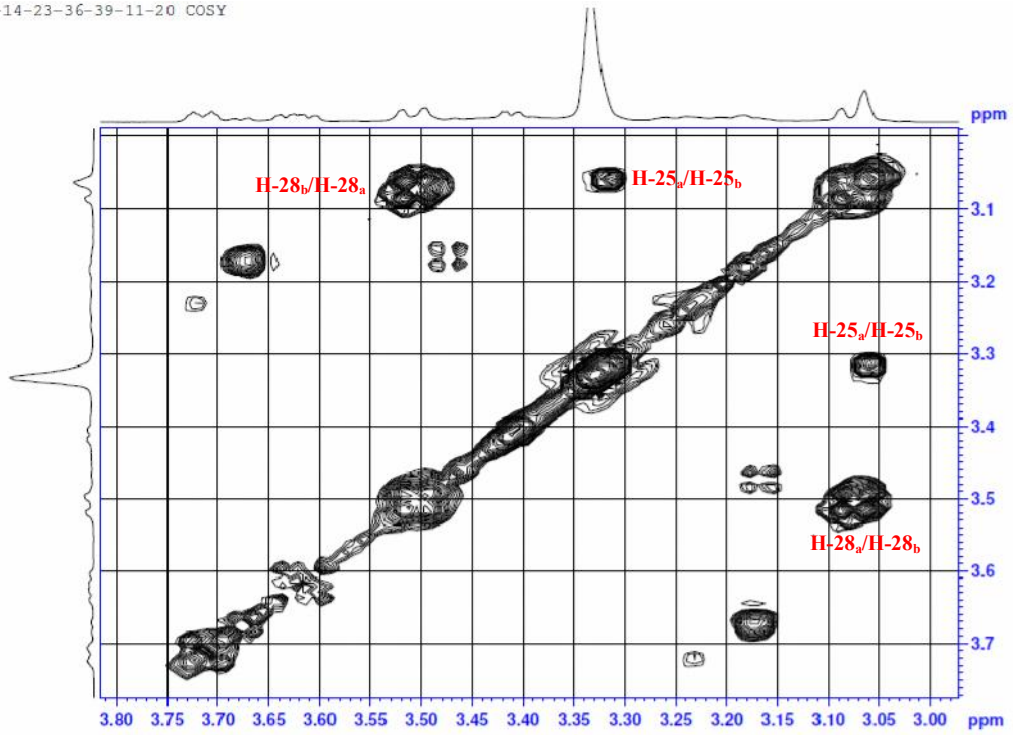
المركب E <sub>12</sub>					
الموضع	δ <sub>H</sub> (J en Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm	الموضع	δ <sub>H</sub> (J Hz) ppm	δ <sub>C</sub> ppm
1	2.69, <i>dd</i> (20.4, 9.9)	44.3	16	1.98, <i>m</i> 1.31	24.3
2	1.78 1.19	33.4	17	-	39.0
3	3.62, <i>dd</i> (11.4, 6.0)	79.7	18	1.48, <i>m</i>	55.4
4	-	43.8	19	1.48, <i>m</i>	40.8
5	1.74	51.3	20	0.95	40.6
6	1.47, <i>m</i> 1.40, <i>m</i>	21.7	21	1.50 1.31	31.7
7	1.75 1.63, <i>m</i>	36.3	22	1.60, <i>m</i> 1.41, <i>m</i>	36.2
8	-	44.9	23	1.00, <i>s</i>	27.3
9	2.35, <i>d</i> (10.0)	53.8	24	0.71, <i>s</i>	16.5
10		59.7	25	3.32 3.07, <i>br s</i>	48.9
11	3.72, <i>br d</i> (9.20)	67.3	26	1.08, <i>s</i>	17.3
12	5.17 <i>br s</i>	128.1	27	1.27	23.3
13	-	143.3	28	3.51, <i>d</i> (11.2) 3.08, <i>d</i> (11.1)	70.0
14	-	43.8	29	0.94	17.4
15	1.85, <i>m</i> 1.22, <i>m</i>	27.8	30	0.98	21.7



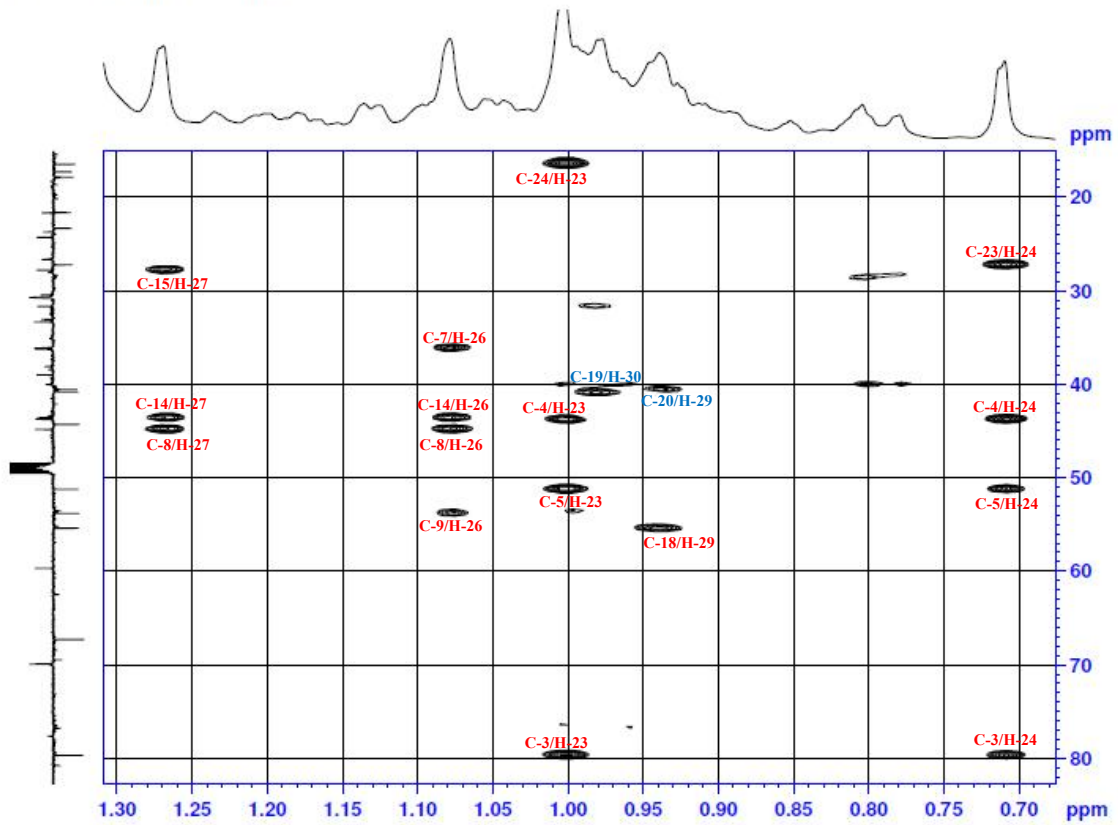
شكل رقم-79:- طيف  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{E}_{12}$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)



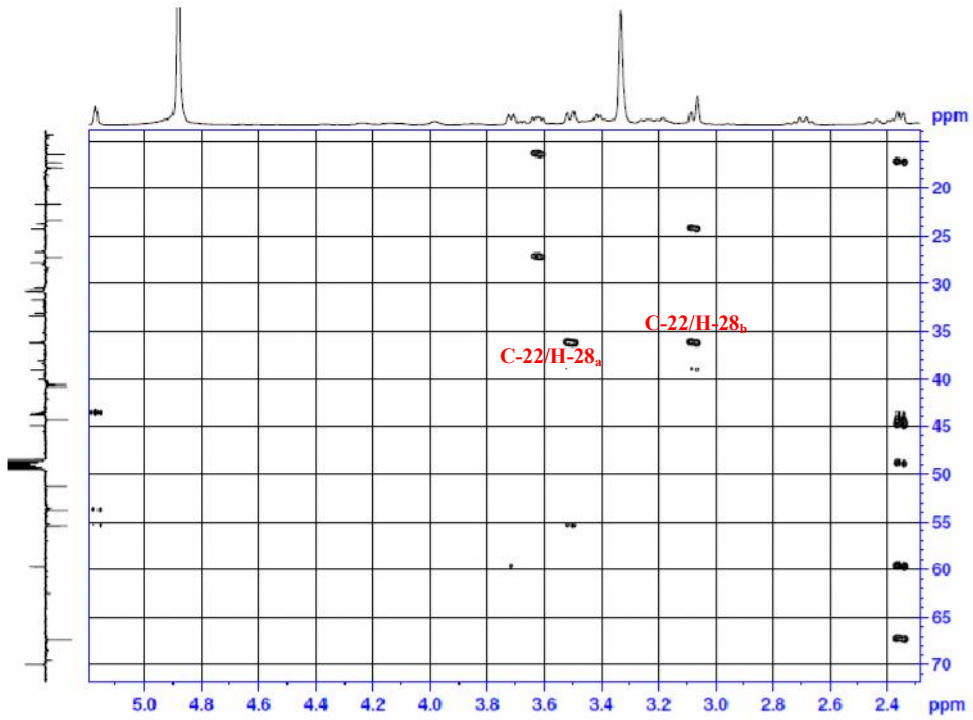
شكل رقم-80:- طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_{12}$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )



شكل رقم-81: طيف الـ <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY للمركب E<sub>12</sub>

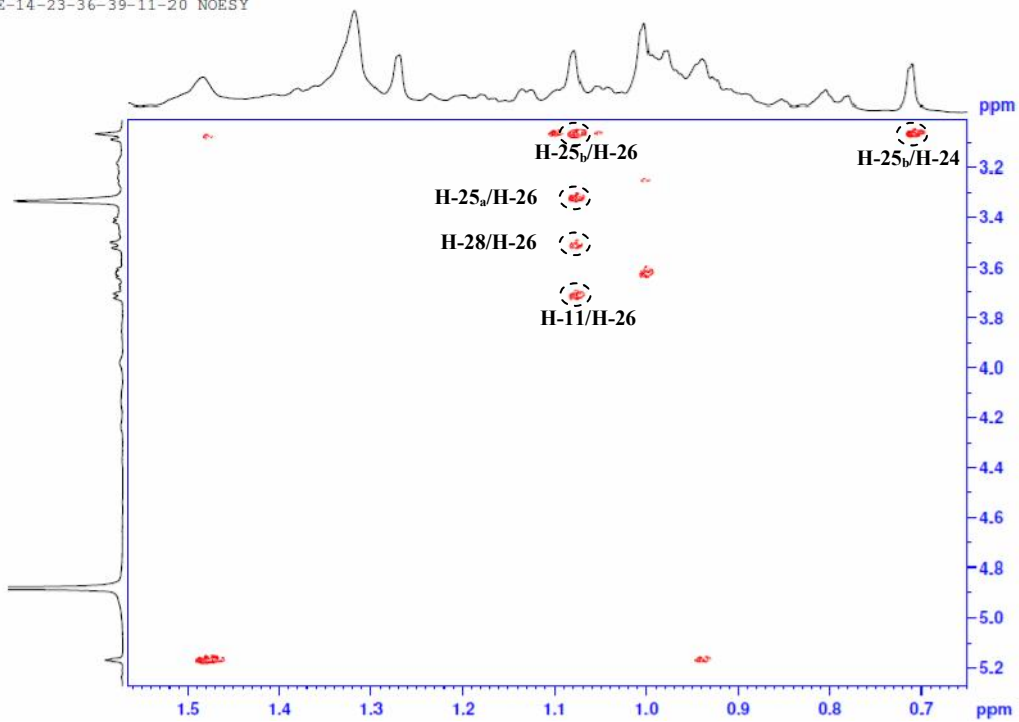


SaE-14-23-36-39-11-20 HMBC

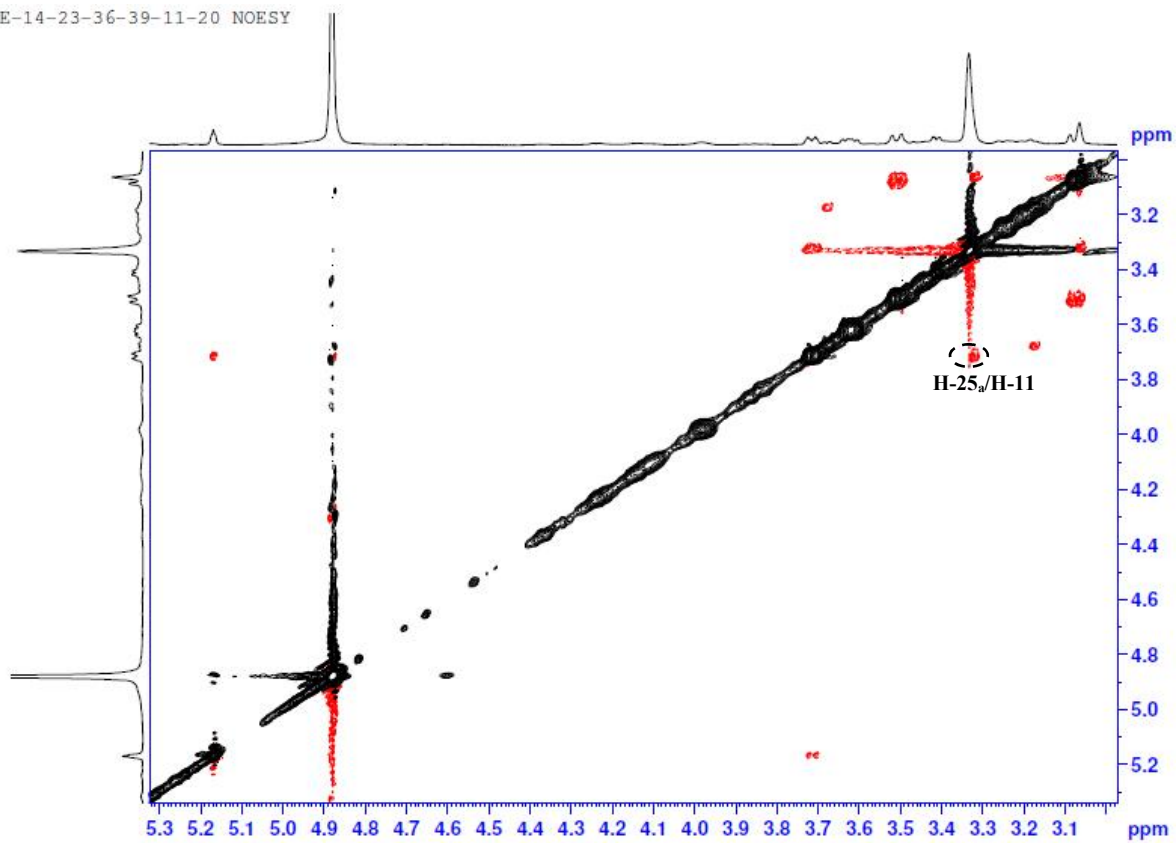


شكل رقم -82- : طيف HMBC في المجال 5.2-0.66 ppm للمركب E<sub>12</sub>

SaE-14-23-36-39-11-20 NOESY



شكل رقم -83<sub>a</sub>- : طيف الـ NOESY للمركب E<sub>12</sub>



شكل رقم-83<sub>b</sub> : طيف الـ NOESY للمركب E<sub>12</sub>

## 13- التحليل البنوي للمركب E<sub>13</sub>

المركب E<sub>13</sub> تحصلنا عليه على شكل مسحوق أبيض، الصيغة المجملة له هي C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub> وهذا بالإعتماد على طيف الكتلة عالية الدقة HRESIMS [شكل رقم : 84] حيث تظهر إشارة عند  $m/z = 481.3650$  توافق  $[M+Na]^+$  ، والتي تقودنا إلى القول أنّ الكتلة الجزيئية هي  $M = 458$  والتي توافق الصيغة المجملة للمركب.

### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

Tolerance = 0.0 PPM / DBE: min = -1.0, max = 0.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

1432 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

Elements Used:

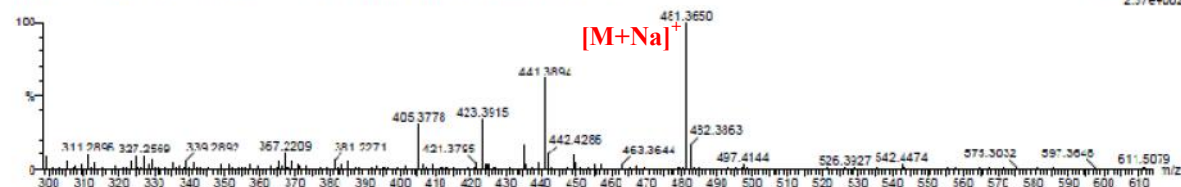
C: 30-30 H: 0-1000 N: 0-5 O: 0-15 <sup>23</sup>Na: 0-1 <sup>56</sup>Fe: 0-1 <sup>90</sup>Zr: 0-1 I: 0-1

Hichem 4

13HR140 46 (3.021) AM (Top4, Ar5000.0,472.70,1.00,LC 10) Sm (Mn 2x1.00); Sb (1,40.00); Cr (4651)

1: TOF MS ES+

2.57e+002



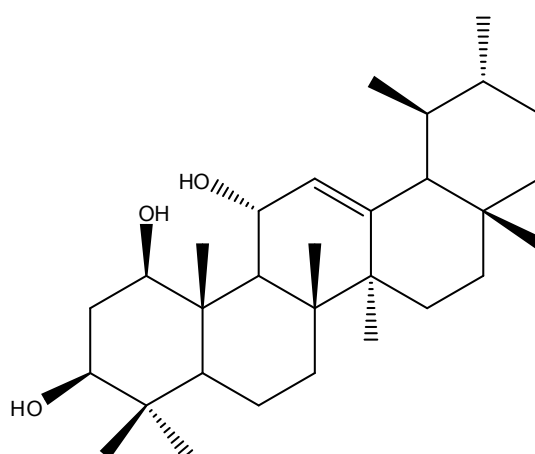
Minimum:

Maximum:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Formula
481.3650	481.3658	-0.8	-1.7	5.5	57.2	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>3</sub> <sup>23</sup> Na

شكل رقم -84- : طيف الكتلة للمركب E<sub>13</sub>

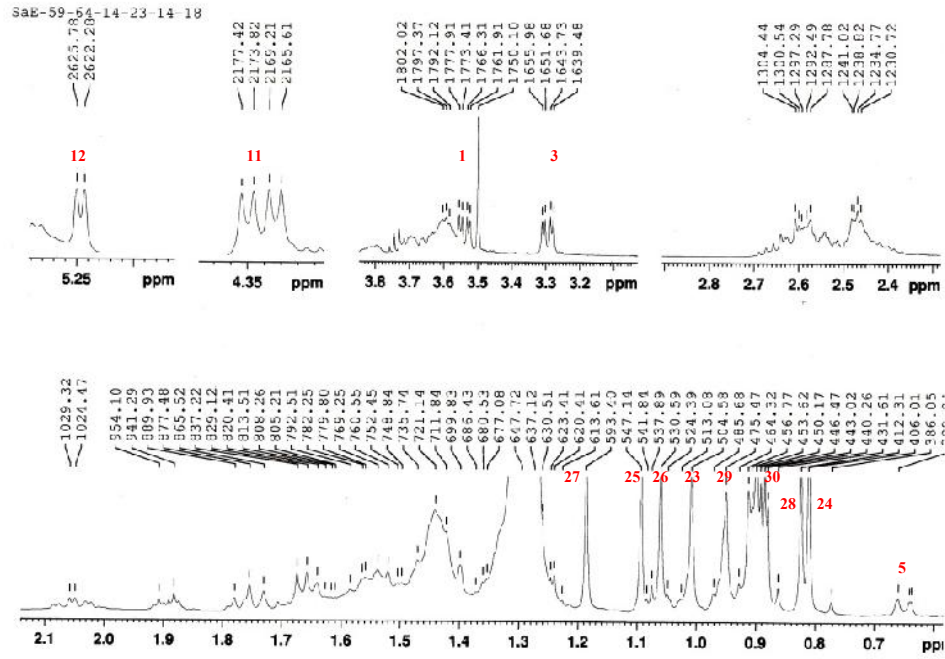
من خلال أطيف الرنين النووي المغناطيسي لـ  $^1\text{H}$  RMN [شكل رقم : 85] و  $^{13}\text{C}$  RMN بتقنية  $J_{\text{mod}}$  [شكل رقم : 86] و كذلك طيف الـ HMBC [شكل رقم : 87] للمركب E<sub>13</sub> نلاحظ تشابه كبير مع المركب E<sub>3</sub> السابق حيث يكمن الاختلاف في غياب مجموعة الهيدروكسي (OH) في الموضع C-15 و الجدول رقم -21- يبين مختلف الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>13</sub> ومنه فإنّ بنية المركب E<sub>13</sub> هي كالتالي:



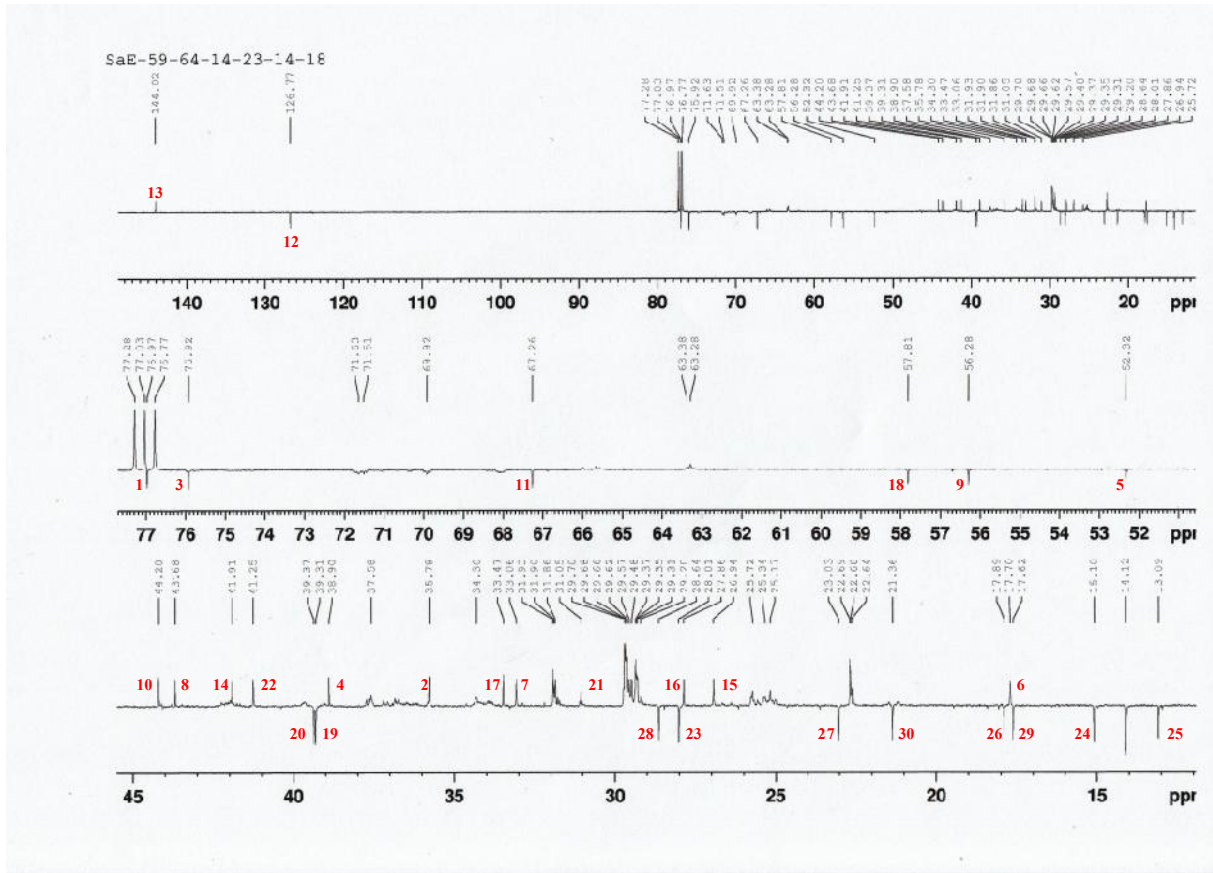
Urs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ -triol

جدول رقم -21- : الإزاحات الكيميائية للمركب E<sub>13</sub> في تجارب  
 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz,  $\delta_H$ ,  $J$  en Hz) ; RMN <sup>13</sup>C (125 MHz,  $\delta_C$ )  
 في الـ CDCl<sub>3</sub>

المركب E <sub>13</sub>					
الموضع	$\delta_H$ (J en Hz) ppm	$\delta_C$ ppm	الموضع	$\delta_H$ (J Hz) ppm	$\delta_C$ ppm
1	3.54 (dd, 11.5-4.5)	76.97	16	0.93 2.05 <i>m</i>	27.86
2	1.89, <i>dt</i> (, ) 1.74, <i>m</i>	35.78	17	-	33.47
3	3.3, <i>dd</i> (12.2-4.3)	75.92	18	1.41, <i>d</i> (12.01)	57.81
4	-	38.90	19	1.35	39.31
5	0.65, <i>d</i> (8.7)	52.32	20	0.93	39.37
6	1.55 1.65, <i>d</i> (8.7)	17.70	21	1.31, <i>m</i> 1.43, <i>m</i>	31.05
7	1.33-1.51 <i>m</i>	33.06	22	1.32, <i>m</i> 1.46, <i>m</i>	41.25
8	-	43.68	23	1.01 <i>s</i>	28.01
9	1.67, <i>d</i> (8.1)	56.28	24	0.81 <i>s</i>	15.10
10	-	44.20	25	1.09 <i>s</i>	13.09
11	4.34, <i>dd</i> (8.21-3.6)	67.26	26	1.06 <i>s</i>	17.89
12	5.25, <i>d</i> (3.5)	126.77	27	1.19 <i>s</i>	23.03
13	-	144.02	28	0.83 <i>s</i>	28.64
14	-	41.91	29	0.88 (d, 2.76)	17.62
15	1.03, <i>m</i> 1.75, <i>m</i>	26.94	30	0.95 <i>s</i>	21.36

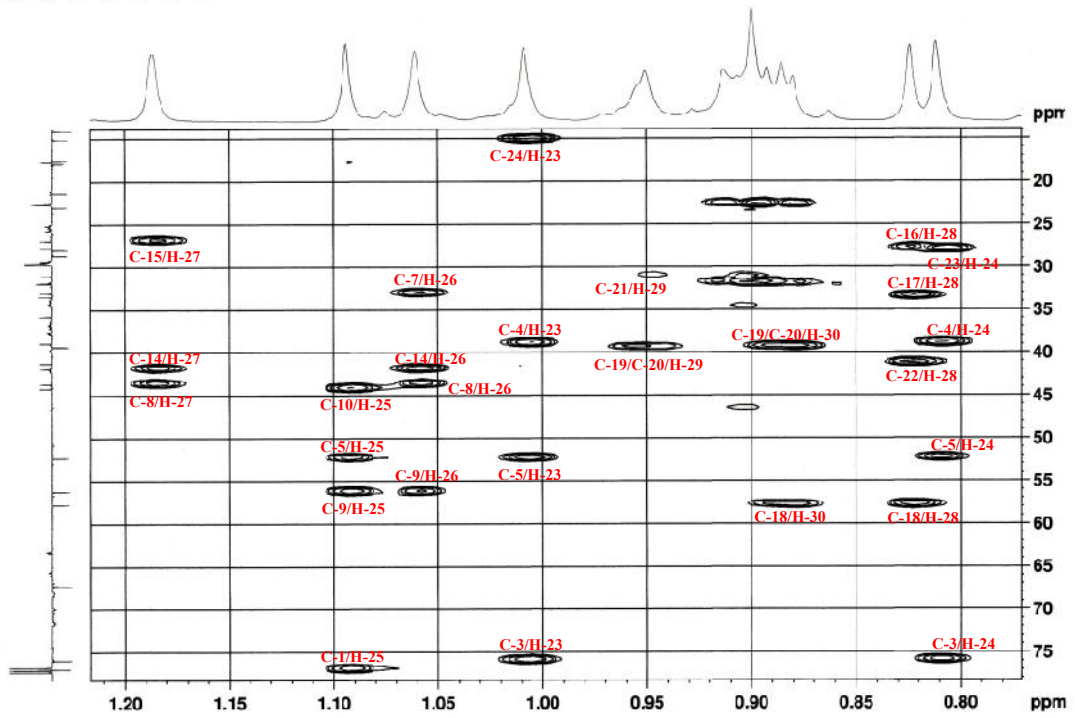


شكل رقم-85: طيف البروتون  $^1\text{H}$  للمركب  $\text{E}_{13}$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)



شكل رقم-86: طيف  $^{13}\text{C}$  RMN  $J$ -modulé للمركب  $\text{E}_{13}$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )





شكل رقم 87- : شكل يبين مختلف تعالقات الـ HMBC للمركب E<sub>13</sub>

## II - التحليل البنيوي لمركبات المستخلص البيوتانولي

### 1- التحليل البنيوي للمركب B<sub>1</sub>

#### الخصائص الكروماتوغرافية

جدول -22- : الخصائص الكروماتوغرافية للمركب B<sub>1</sub>

S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	الجملة
0.16	0.21	ثابت الإحتباس
بنفسجي		اللون الإستشعاعي

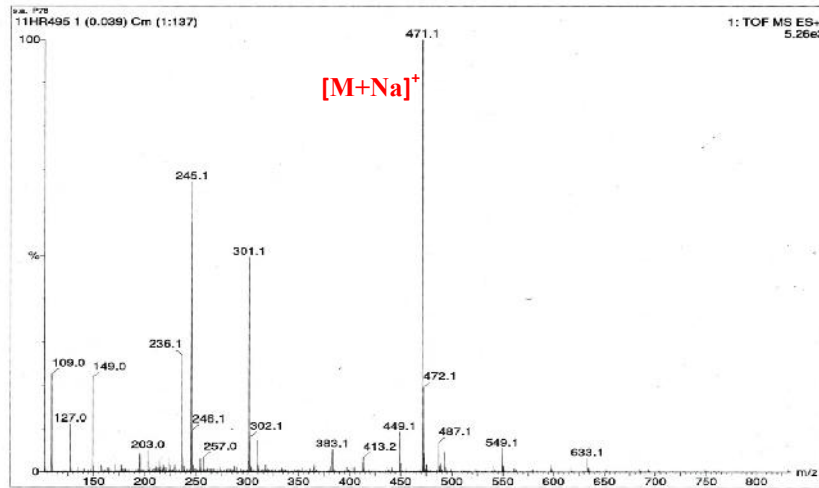
أنظمة المذيبات المستعملة:

S<sub>1</sub> =H<sub>2</sub>O / MeOH/ MEC / AcAc                      13 / 3 / 3 / 1

S<sub>2</sub> =Tol / MEC / MeOH                                4 / 3 / 3

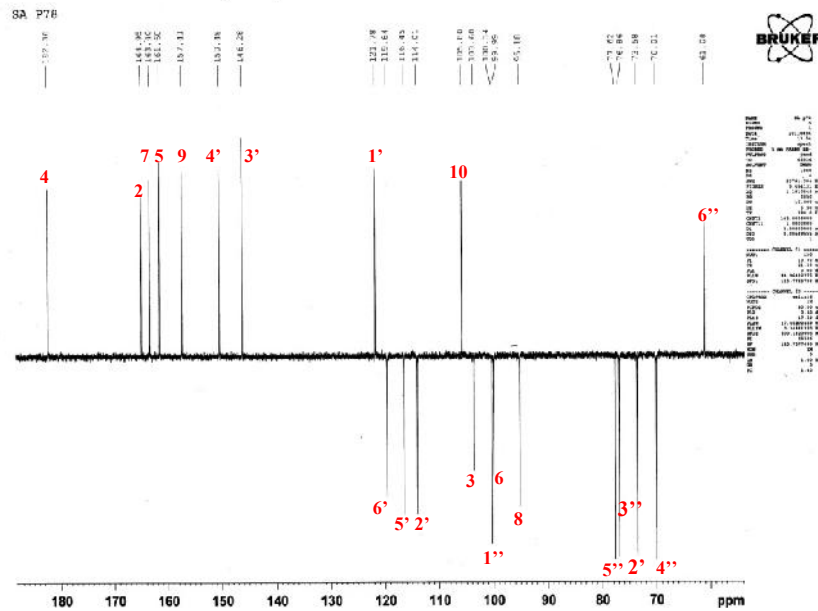
#### التحليل الطيفية

يظهر طيف الكتلة عالية الدقة (masse à haute résolution) بتقنية الإلكتروسبراي الموجبة HRESIMS [شكل رقم: 88] إشارة عند  $m/z = 471.1$  توافق  $[M+Na]^+$  , تسمح بإستنتاج الكتلة الجزيئية  $M = 448$  الموافقة للصيغة المجملة  $C_{21}H_{20}O_{11}$ .



شكل رقم 88-: طيف الكتلة HRESIMS للمركب B<sub>1</sub>

يظهر طيف الـ  $J_{\text{mod}}^{13}\text{C RMN}$  [شكل رقم: 89] إشارة موافقة لـ 21 كربون مؤكدا للصيغة المجملة المحصل عليها سابقا و هي مقسمة كما يلي مثلين واحد ( $\text{CH}_2$ ) ، 11 ميثين ( $\text{CH}$ ) و 9 كربونات رباعية كما تبين الإزاحات الكيميائية لبعض الإشارات وجود وحدة سكر هكسوز وتتمثل في الإزاحة عند  $\delta_c = 100.3 \text{ ppm}$  خاصة بالكربون الأنوميري و أربعة إزاحات كيميائية مابين  $\delta_c = 70.0 \text{ ppm}$  و  $\delta_c = 77.6 \text{ ppm}$  مرفقة إلى أربعة كربونات ( $\text{CH}$ ) بالإضافة إلى إشارة ( $\text{CH}_2$ ) عند  $\delta_c = 61.1 \text{ ppm}$  كما تظهر 14 إشارة لكربونات في مجال الإزاحات المنخفضة دلالة على وجود حلقات عطرية ، حيث أنّ من بين هذه الإشارات إشارة أرفقت إلى مجموعة الكربونيل والتي تظهر عند الإزاحة الكيميائية  $\delta_c = 182.4 \text{ ppm}$  .



شكل رقم -89- : طيف الـ  $^{13}\text{C}$  بتقنية  $J_{\text{mod}}$  للمركب  $\text{B}_1$  ( $125 \text{ MHz}$ ,  $\delta_c$ ) في الـ DMSO

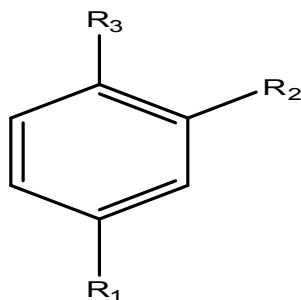
يبين طيف الـ  $^1\text{H RMN}$  [شكل رقم: 90] ستة إشارات في منطقة البروتونات العطرية ثلاثة منها تنتمي إلى نظام **ABX** و تتمثل في

- إشارة ثنائية بثابت تزاوج  $J = 8.3 \text{ Hz}$  عند  $\delta_{\text{H}} = 6.90 \text{ ppm}$

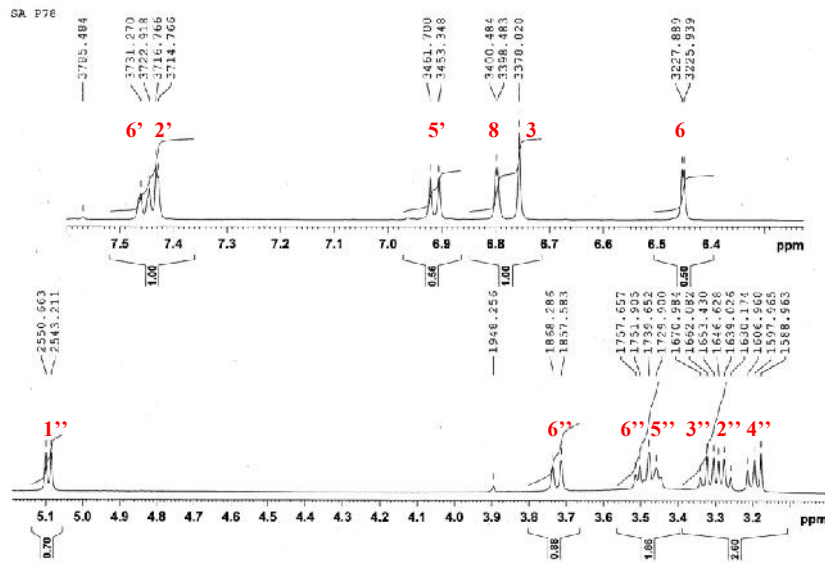
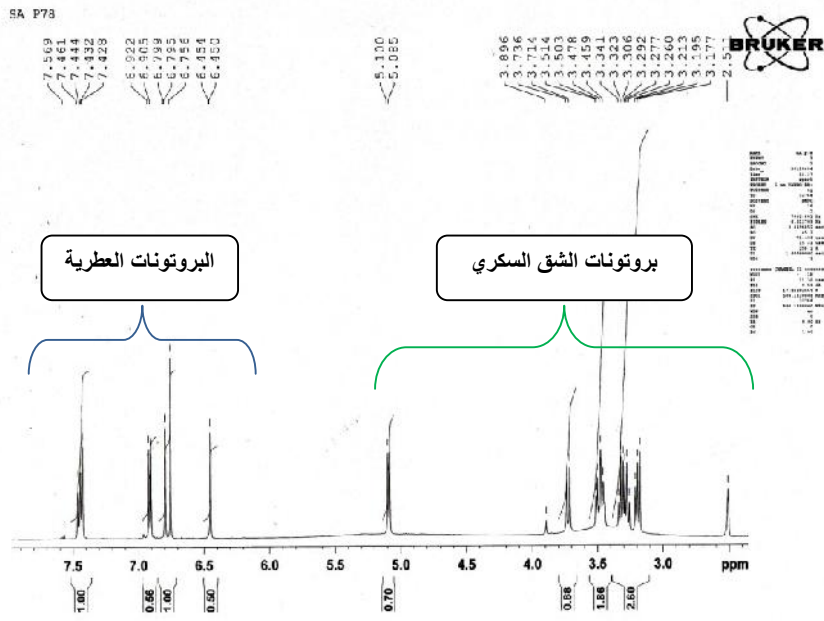
- إشارة ثنائية بثابت تزاوج  $J = 8.3 \text{ Hz}$  و  $J = 2.3 \text{ Hz}$  عند  $\delta_{\text{H}} = 7.46 \text{ ppm}$

- إشارة ثنائية بثابت تزاوج  $J = 2.3 \text{ Hz}$  عند  $\delta_{\text{H}} = 7.43 \text{ ppm}$

و من هذه المعطيات نستدل على وجود حلقة فينيل ثلاثية الاستبدال كما يوضحه الشكل [شكل رقم: 91].



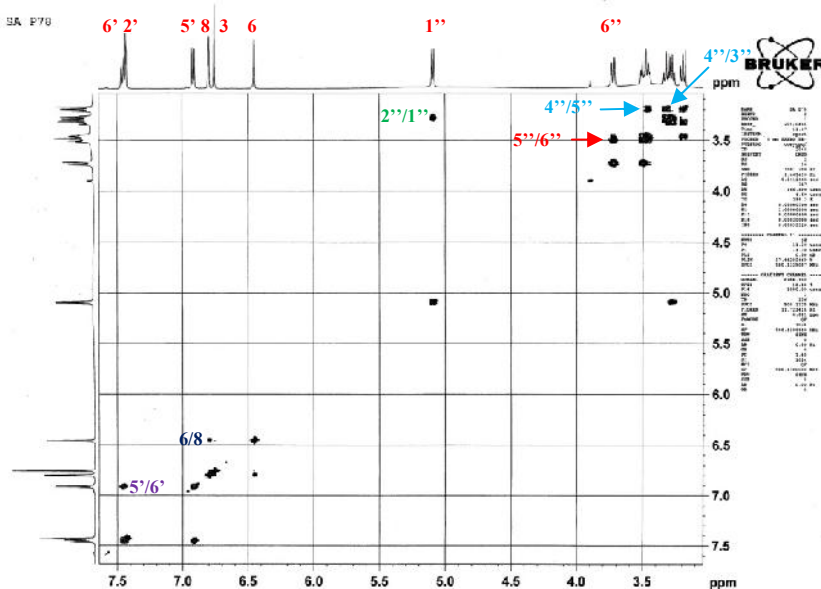
شكل رقم -91: حلقة الفينيل ثلاثية الاستبدال



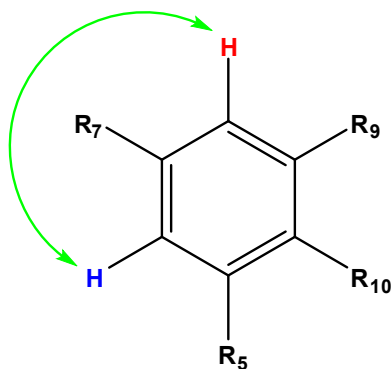
شكل رقم -90- : طيف ال- $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{B}_1$  ( $J$  en Hz,  $\delta_{\text{H}}$ , 500 MHz)

أما الإشارات المتبقية فإنها تظهران على شكل ثنائية لكل واحدة بنفس ثابت التزاوج  $J = 2.2 \text{ Hz}$  عند  $\delta_{\text{H}} = 6.45 \text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{H}} = 6.79 \text{ ppm}$  وهي تدل على بروتونات ميتا (méta) للحلقة عطرية ثنائية.

تقنية الـ COSY [شكل رقم: 92] تؤكد تزاوج البروتونات (couplage long distance) المرفقة لهذين الإشارتين وَ نستدل على ذلك على وجود فينيل رباعي الإستبدال [شكل رقم: 93] أما الإشارة المتبقية في هذا المجال فتظهر على شكل أحادي .



شكل رقم -92- : طيف الـ COSY للمركب B<sub>1</sub>

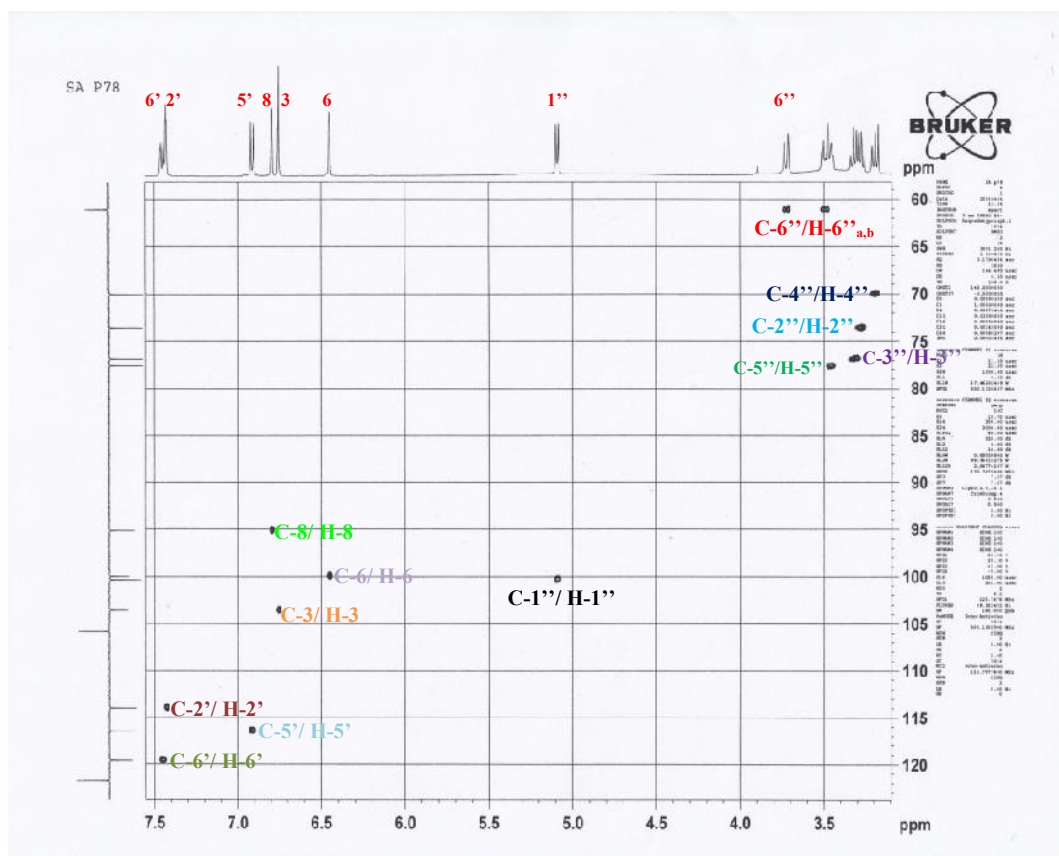


شكل رقم -93- : تعالقات الـ COSY للمركب B<sub>1</sub>

يسمح طيف الـ HSQC [شكل رقم: 94] بتحديد الكربونات المرتبطة بالبروتونات للحلقتين العطريتين الثلاثية وَ الرباعية الإستبدال كما نستخلص من طيف الـ HMBC [شكل رقم: 95] الكربونات المجاورة للبروتونات السالفة الذكر، أما بالنسبة للبروتون المرفق للإشارة الأحادية وَ الذي يرن عند  $\delta_H = 6.74 \text{ ppm}$  فهو متعلق حسب طيف الـ HMBC [شكل رقم: 95] مع الكربون الذي يظهر عند  $\delta_C = 105.8 \text{ ppm}$  وَ المنتمي إلى حلقة الفينيل الرباعية الإستبدال. بالإضافة إلى الكربون الذي يرن

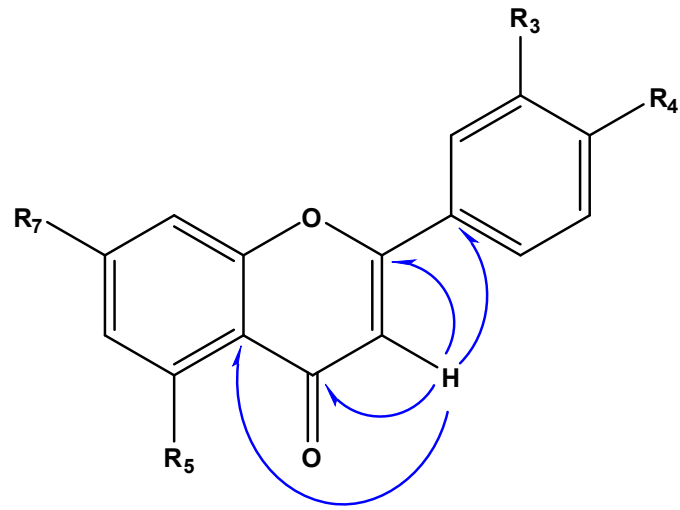
عند  $\delta_c = 121.7 \text{ ppm}$  و الذي ينتمي إلى حلقة الفينيل ثلاثية الإستبدال و مع الكربون الأوكسجيني في مجال الإزاحات الكبيرة و الذي يرن عند  $\delta_c = 165 \text{ ppm}$  و أخيرا مع مجموعة الكربونيل التي تظهر عند  $\delta_c = 182.3 \text{ ppm}$ .

و هذا يدل على أنّ هذا البروتون ينتمي إلى حلقة غير متجانسة تعد همزة وصل بين الحلقتين العطريتين ثلاثية و رباعية الإستبدال.



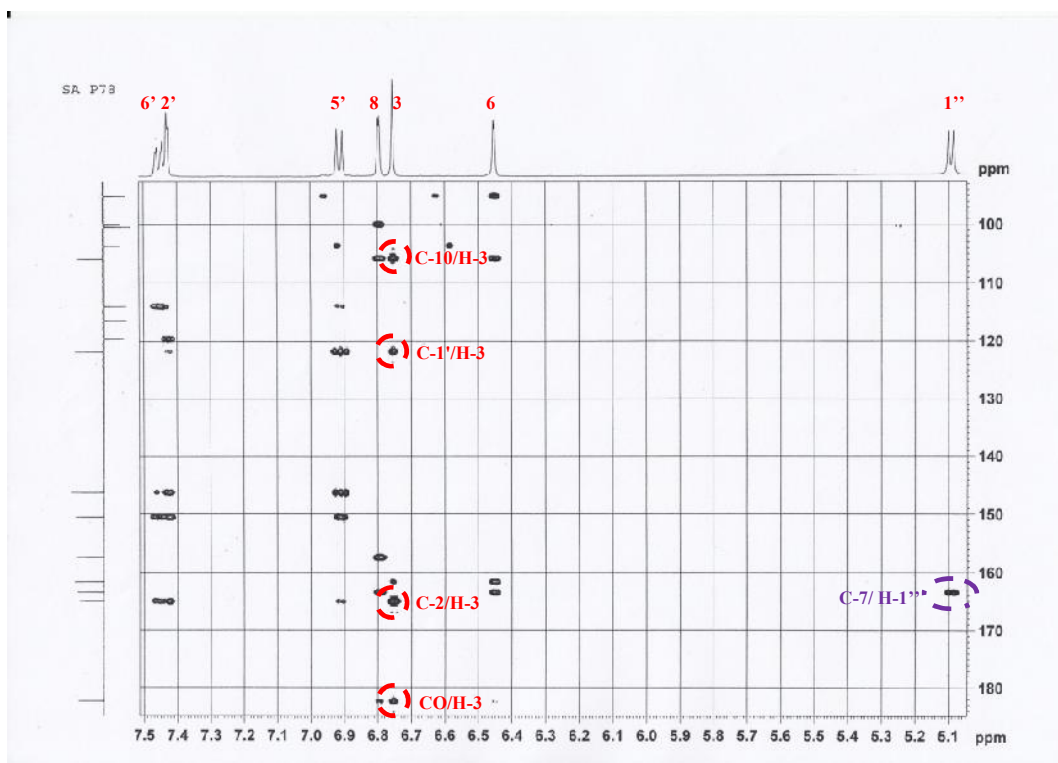
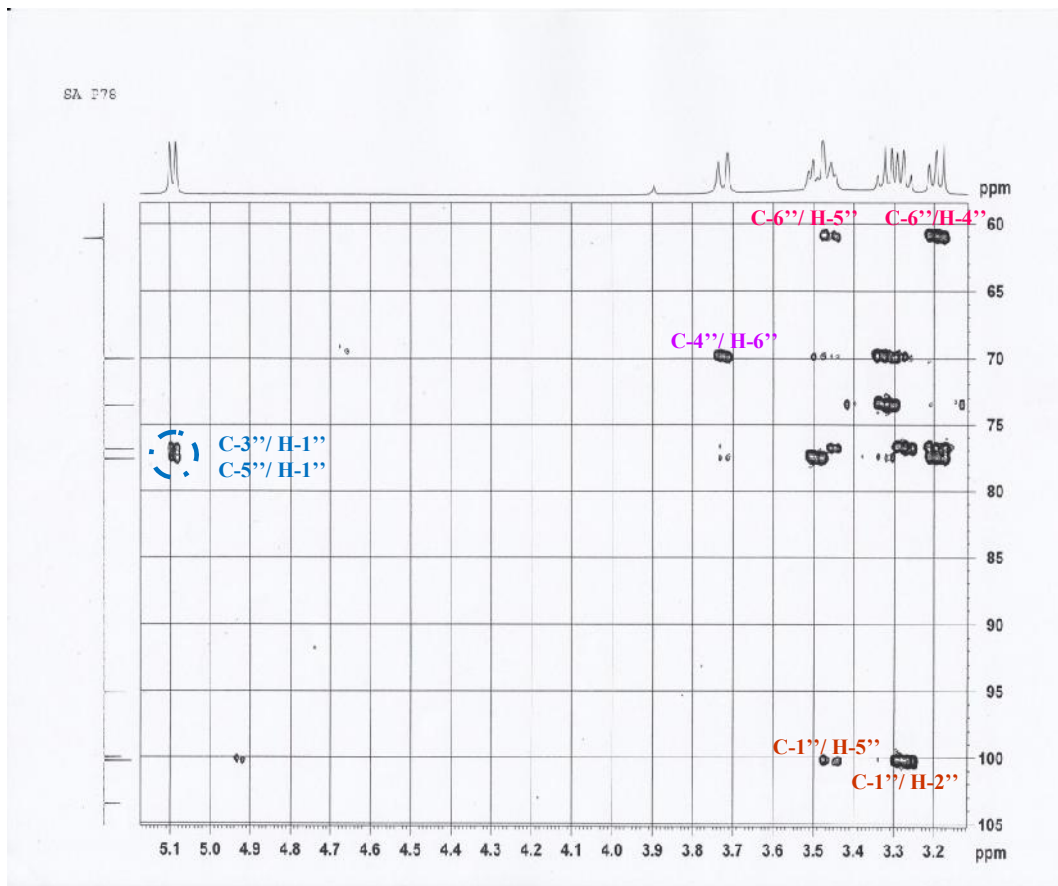
شكل رقم-94: طيف الـ HSQC للمركب B<sub>1</sub>

وهذا ما تؤكده قيمة درجة عدم التشبع  $I=12$  (le degré d'insaturation) مبينة وجود أربعة حلقات واحدة منها تشكل وحدة السكر إلى جانب 8 روابط ثنائية ومنه تصبح البنية الكيميائية الأولية للمركب هي كالتالي [شكل رقم: 96].



شكل رقم -96: تعالقات الـ HMBC لـ H-3 في البنية الأولية للمركب B<sub>1</sub>





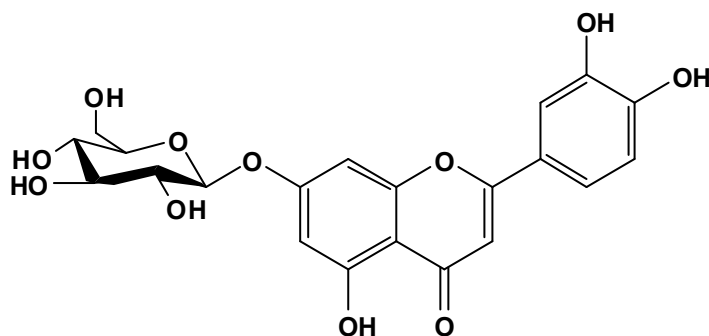
شكل رقم 95- : طيف الـ HMBC للمركب B<sub>1</sub>

نوعية السكر يمكن الإستدلال عليه بالإعتماد على مطيافية الـ **COSY** [شكل رقم: 92] وَ التي تسمح بإسناد 7 بروتونات متجاورة مؤكدة بأنّ السكر عبارة عن هكسوز أما قيم ثوابت التزاوج للبروتون الأنوميري وَ البروتونات الموالية وَ الأكبر من **7.5 Hz** [جدول رقم: 23] تدل على أنّ هذه البروتونات محورية وَ بالتالي فإنّ السكر عبارة عن الجلوكوز .

جدول رقم-23 : الإزاحات الكيميائية للمركب **B<sub>1</sub>** (500 MHz,  $\delta$ ,  $J$  en Hz ; 125 MHz,  $\delta$ ) في الـ DMSO

المركب <b>B<sub>1</sub></b>					
Lutéoline			Glucose		
الموضع	$\delta_H$ (ppm) / $J$ (Hz)	$\delta_C$ (ppm)	الموضع	$\delta_H$ (ppm) / $J$ (Hz)	$\delta_C$ (ppm)
2	-	165.0	1''	5.09 <i>d</i> ( $J= 7.5$ Hz, 1H)	100.4
3	6.74 <i>s</i> (1H)	103.6	2''	3.28 <i>t</i> ( $J= 8.9$ Hz)	73.6
4	-	182.3	3''	3.32 <i>t</i> ( $J= 8.9$ Hz)	76.9
5	-	161.6	4''	3.20 <i>t</i> ( $J= 9.0$ Hz)	70.0
6	6.45 <i>d</i> ( $J= 2.2$ Hz, 1H)	100.0	5''	3.47 <i>m</i>	77.6
7	-	163.4	6''	3.72 <i>dl</i> ( $J= 10.7$ Hz)	61.1
8	6.79 <i>d</i> ( $J= 2.2$ Hz, 1H)	95.2		3.49 <i>m</i>	
9	-	157.4			
10	-	105.8			
1'	-	121.7			
2'	7.43 <i>d</i> ( $J= 2.3$ Hz, 1H)	114.0			
3'	-	146.3			
4'	-	150.5			
5'	6.90 <i>d</i> ( $J= 8.3$ Hz, 1H)	116.4			
6'	7.46 <i>dd</i> ( $J= 8.3$ Hz, $J= 2.3$ Hz, 1H)	119.6			

أما عن وَضعية إرتباط السكر بالهيكل الفلافونيدي نستدل عليها من مطيافية الـ **HMBC** [شكل رقم : 95] وَ الذي يبيّن بقعة تعالق خاصة بالكربون **C-7** وَ البروتون الأنوميري **H-1''** وَ نظرا للصيغة المجملة حيث المستبدلات الأخرى عبارة عن مجموعات **OH** وَ بالتالي فالصيغة النهائية كما يلي :



**lutéoline-7-O- $\beta$ -D-glucoside**

## 2-التحليل البنيوي للمركب B<sub>2</sub>

### الخصائص الكروماتوغرافية

جدول رقم -24- : الخصائص الكروماتوغرافية للمركب B<sub>2</sub>

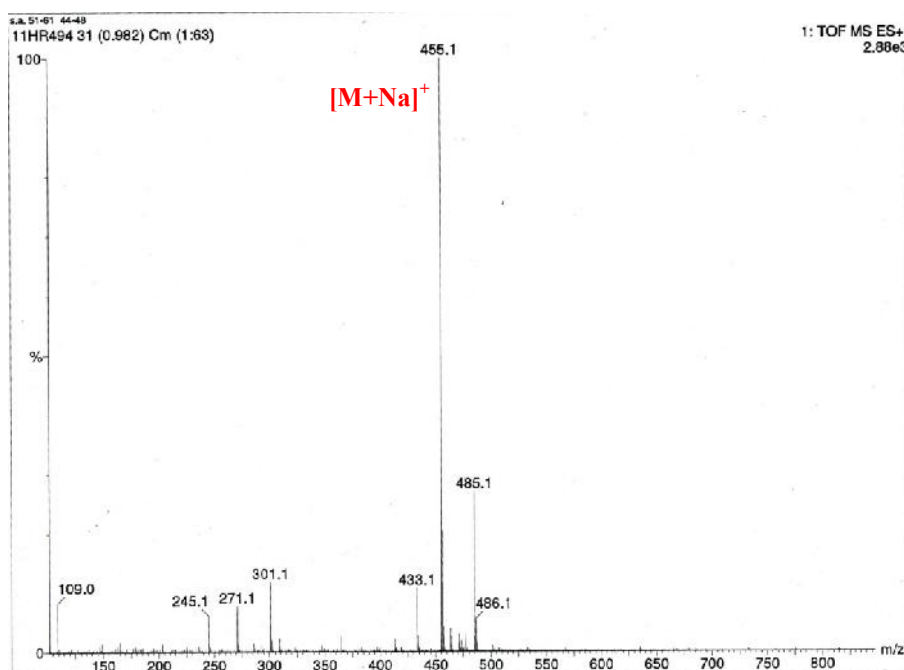
S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	الجملة
0.33	0.23	ثابت الإحتباس
		اللون الإستشعاعي
بنفسجي		

S<sub>1</sub> =H<sub>2</sub>O /MeOH/ MEC / AcAc                      13 / 3 / 3 /1

S<sub>2</sub> =Tol / MEC / MeOH                                4 / 3 / 3

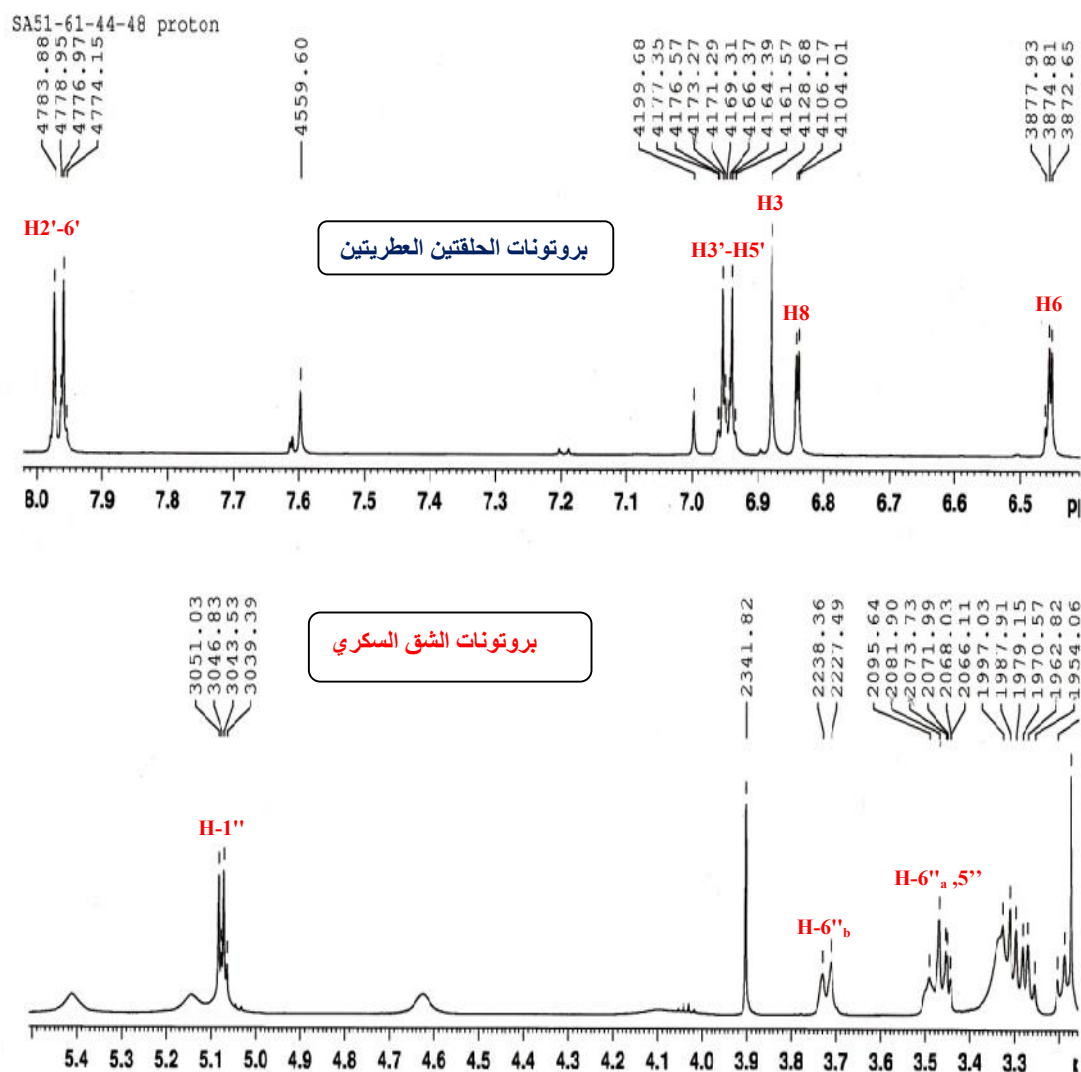
### التحاليل الطيفية

- يظهر طيف الكتلة عالية الدقة (masse à haute résolution) بتقنية الإلكتروسبراي الموجبة HRESIMS [شكل رقم:97] إشارة عند  $m/z=455.1$  توافق  $[M+Na]^+$  , والتي تقودنا إلى إستنتاج الكتلة الجزيئية هي  $M=432$  الموافقة للصيغة المجملة  $C_{21}H_{20}O_{10}$ .



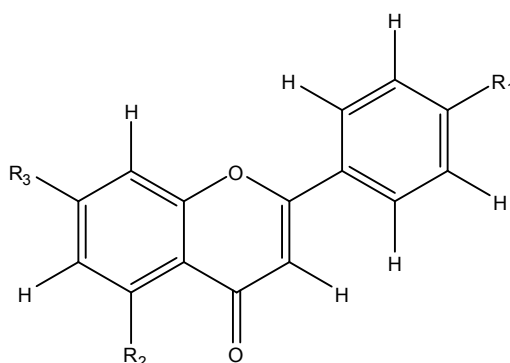
شكل رقم -97- : طيف الكتلة HRESIMS للمركب B<sub>2</sub>

طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون  $^1\text{H}$  RMN [شكل رقم: 98]، يسمح لنا بملاحظة إشارات موافقة لبنية الفلافون في مجال الإشارات العطرية، وإشارة ثنائية موافقة لبروتون الأنوميري للشق السكري، وتتمثل بالنسبة للأولى في إشارتين ثنائيتين عند  $\delta_{\text{H}} = 6,46\text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{H}} = 6,84\text{ ppm}$  متزاوجتان بثابت تزواج  $J = 2,2\text{ Hz}$  وبتكامل 1H لكل إشارة، موافقة لبروتوني الحلقة A وإشارتين ثنائيتين عند  $\delta_{\text{H}} = 6,95\text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{H}} = 7,97\text{ ppm}$  بثابت تزواج  $J = 6,9\text{ Hz}$  وبتكامل 2H لكل إشارة موافقة لبروتونات الحلقة B. و نلاحظ كذلك إشارة أحادية عند  $\delta_{\text{H}} = 6.88\text{ ppm}$  (s) تنسب للبروتون من الحلقة C.



شكل رقم-98: طيف البروتون  $^1\text{H}$  RMN للمركب B<sub>2</sub> (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ , J en Hz)

هذه النتائج الأولية تقودنا إلى إقتراح الهيكل العام للمركب B<sub>2</sub>



وجود مجموعة الشق السكري من نوع جلوكوز يبينها طيفا الـ HSQC [شكل رقم:99] و الـ  $^{13}\text{C}$  RMN [شكل رقم:100]، والذي يسمح لنا بإرفاق الإشارات التالية:

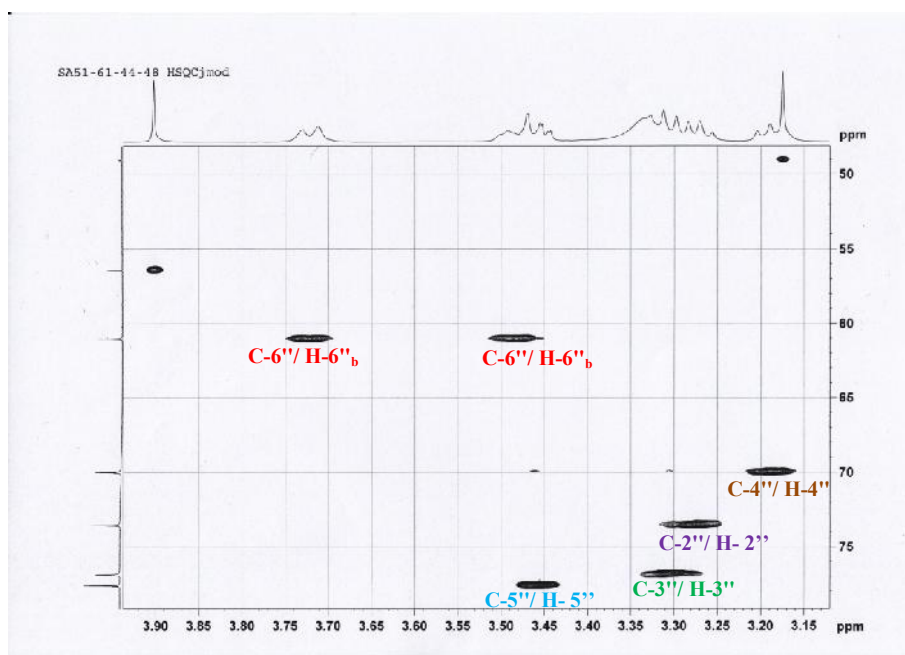
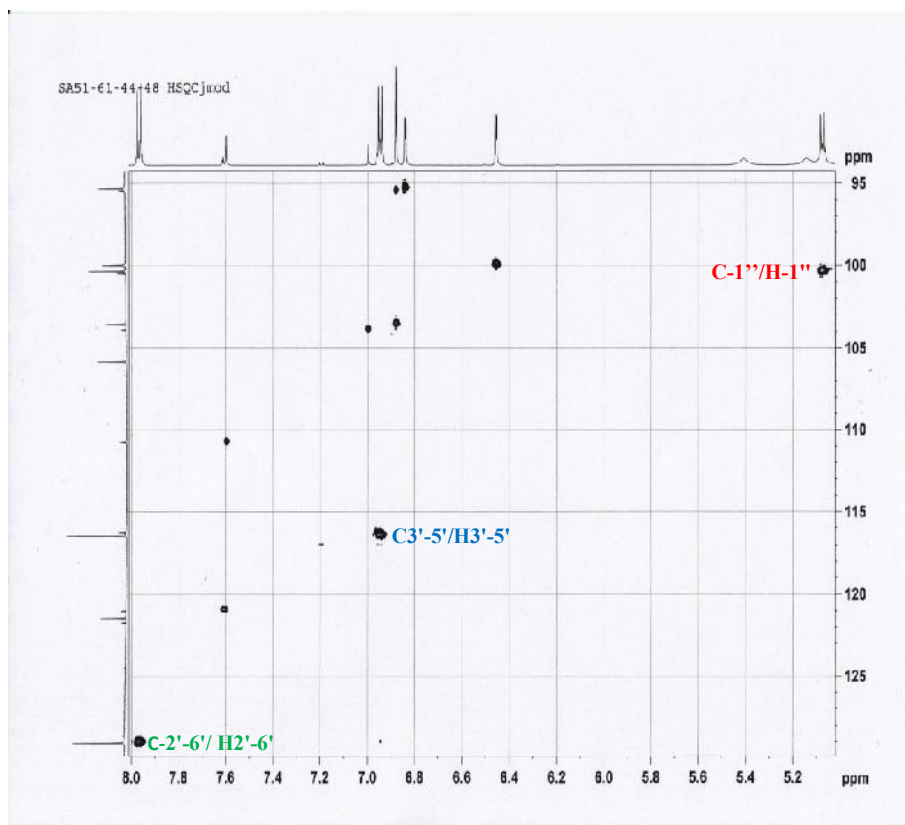
$\delta_{\text{C}}=73,55\text{ppm}$  (C-2'') ،  $\delta_{\text{C}}= 69,99\text{ppm}$  (C-4'') ،  $\delta_{\text{C}}= 61,05 \text{ ppm}$  (C-6'')

$\delta_{\text{C}}= 77,63 \text{ ppm}$  (C-5'') ،  $\delta_{\text{C}}= 76,89 \text{ ppm}$  (C-3'')

و البروتون الأنوميري عند  $\delta_{\text{C}} = 100,34 \text{ ppm}$  و هذه القيم تشبه تماما قيم إزاحات الجلوكوز المرتبط بالكربون C-7 للمركب السابق بالإضافة إلى الإشارات الخاصة بالكربونات الفلافونويدية والمدونة في الجدول رقم -24- .

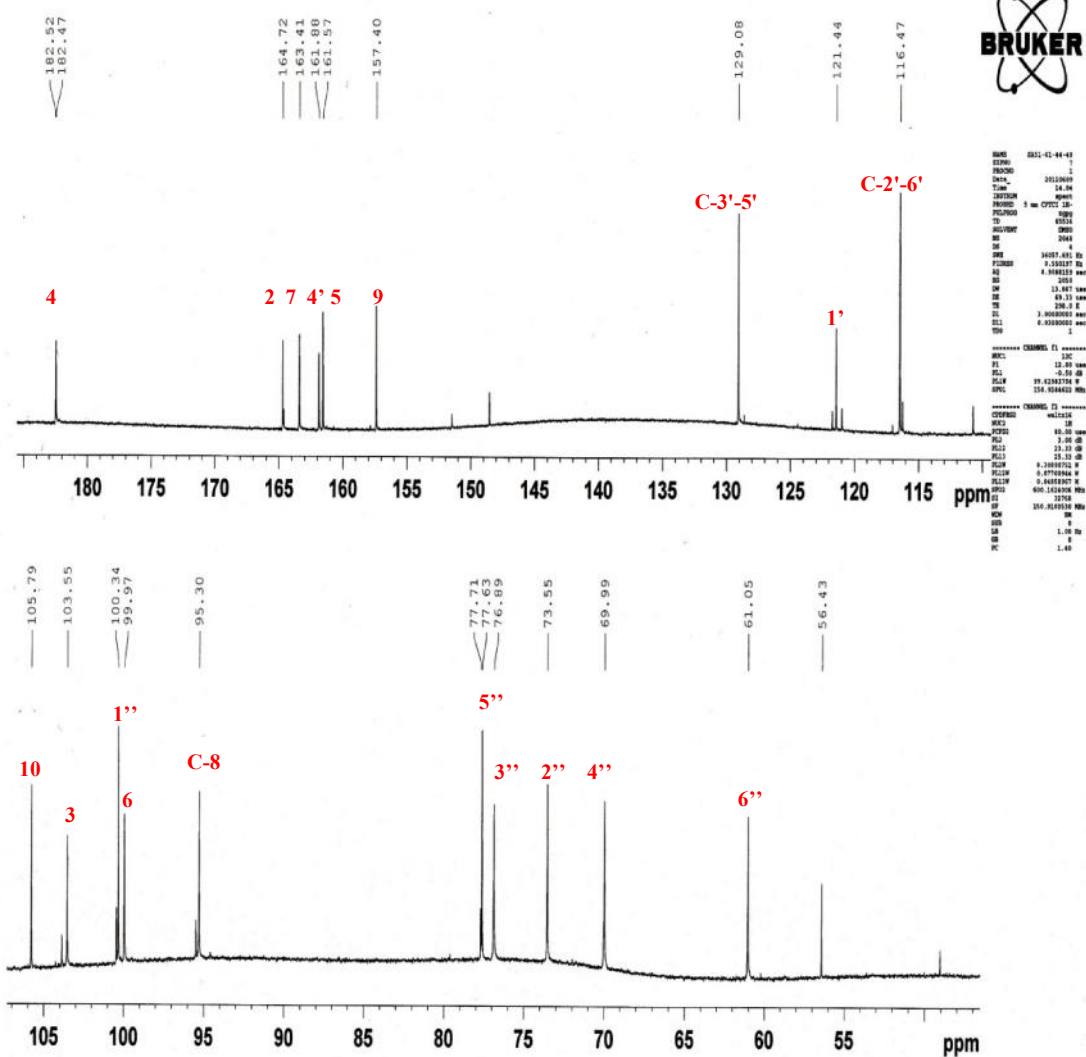
جدول رقم -24- : الإزاحات الكيميائية للمركب B<sub>2</sub> (500 MHz,  $\delta$ , J en Hz ; 125 MHz,  $\delta$ ) في الـ DMSO

المركب B <sub>2</sub>					
apigénine			Glucose		
الموضع	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) / J (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	الموضع	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) / J (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
2	-	164,7	1''	5,08 d (7,5Hz, 1H)	100,3
3	6,88 s (1H)	103,6	2''	3,27 t (8,8Hz)	73,6
4	-	182,5	3''	3,31 t (9Hz)	76,9
5	-	161,6	4''	3,20 t (3.19-9.0Hz)	70
6	6,46 d (2,16Hz, 1H)	100	5''	3,46 ddd (9.9-5.7-2.0Hz)	77,6
7	-	163,4	6''	3,48 m 3,72 d (10.9Hz)	61,1
8	6,84 d (2,16Hz, 1H)	95.0			
9	-	157,4			
10	-	105,8			
1'	-	121,4			
2'-6'	7,97 d (6,91Hz, 2H)	116,5			
3'-5'	6,95 d (6,9Hz, 2H)	129.1			
4'	-	161.9			



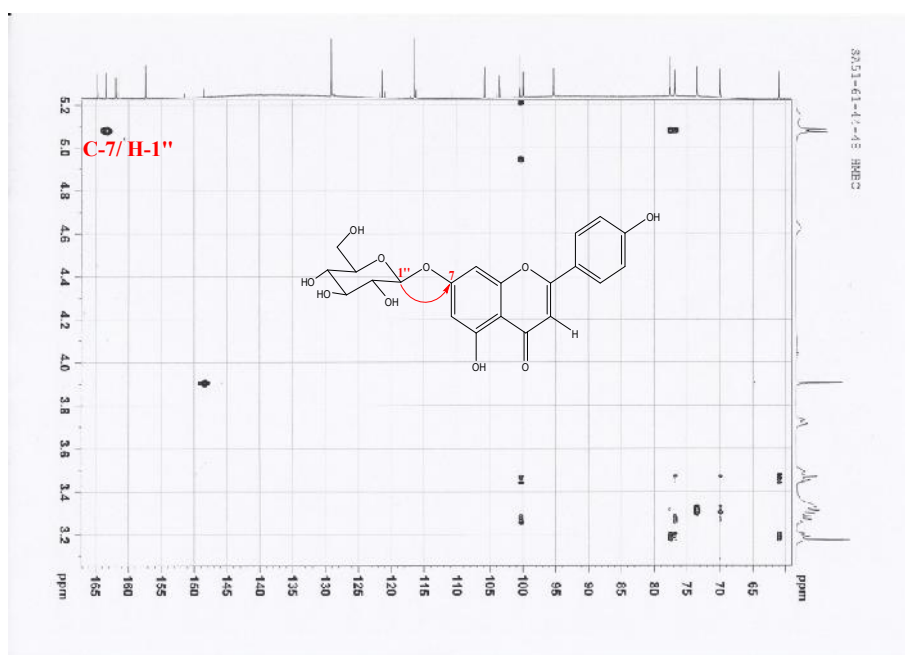
شكل رقم 99: طيف الـ HSQC للمركب B<sub>2</sub>

SA51-61-44-48 carbone



شكل رقم-100 :- طيف الـ  $^{13}\text{C}$  RMN للمركب  $\text{B}_2$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )

بإجراء تجربة الـ **HMBC** [شكل رقم:101] على المركب **B<sub>2</sub>** سمحت لنا بمعرفة موضع إرتباط ذرات الشقين الأجليكوني و السكري وذلك من خلال الإشارة عند  $\delta_H = 5,08 \text{ ppm}$  (H-1") للبروتون الأنوميري يبين لنا تعالق مع الكربون الذي يظهر عند الإشارة (C-7)  $\delta_C = 163,41 \text{ ppm}$  للشق الأجليكوني ،مما يدل على أنّ موضع الكربون **C-7** يحمل الشق السكري وبالتالي الجلوكوز مرتبط مع الكربون **C-7** لهيكل apigénine.



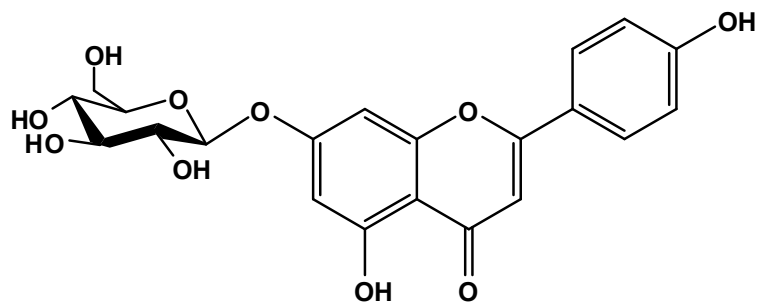
شكل رقم-101:- طيف الـ HMBC للمركب **B<sub>2</sub>**

من خلال النتائج المتحصل عليها بنية المركب **B<sub>2</sub>** هي كالتالي :

#### apigénine-7- O-β-D-glucoside

والذي تمّ عزله لأول مرة من نبتة *Cosmos bipinnatus* Cav (Asteraceae) من طرف (Nakaoki, 1935)[4]. والإزاحات الكيميائية للإشارات الملاحظة و المدونة في الجدول رقم -24- تمّ مقارنتها بالإشارات الموجودة في المراجع [5،6] .





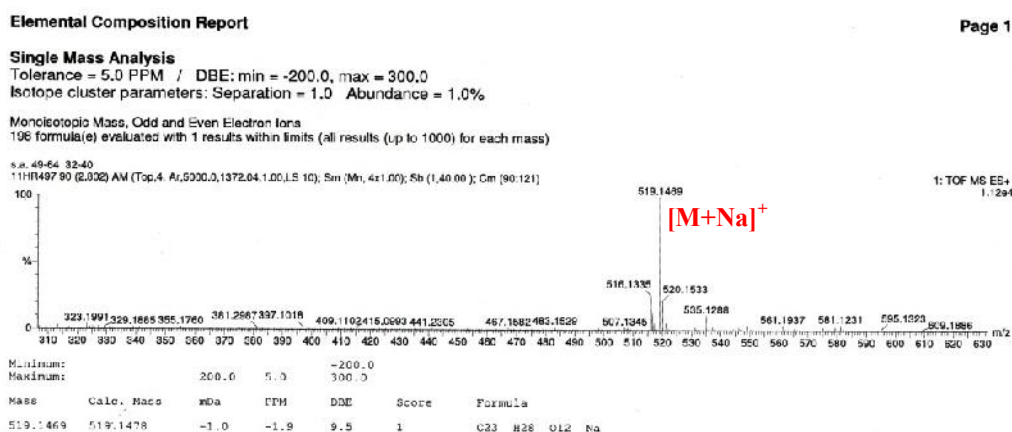
**apigénine-7- O-β-D-glucoside**

### 3- التحليل البنيوي للمركب B<sub>3</sub>

#### التحليل الطيفي

##### ■ مطيافية الكتلة

طيف الكتلة عالية الدقة (masse à haute résolution) بتقنية الإلكتروسبراي الموجبة HRESIM [شكل رقم: 102] تظهر إشارة عند  $m/z = 519.14$  توافق  $[M+Na]^+$ , والتي تقودنا إلى القول أن الكتلة الجزيئية هي  $M = 496$  الموافقة للصيغة المجملية  $C_{23}H_{28}O_{12}$ .



شكل رقم رقم-102: طيف الكتلة HRESIMS للمركب B<sub>3</sub>

##### ■ مطيافية الرنين النووي المغناطيسي

طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون [شكل رقم : 103] و الـ COSY [شكل رقم : 104] للمركب B<sub>3</sub> يظهر لنا تزاوج بين البروتونات لحقتين عطرية الأولى بنظام من الشكل ABX [شكل رقم : 105 - الحلقة A] و التي تظهر قيم إزاحاتها عند:

$$\delta_H = 6.99 \text{ ppm (1H, d, } J=1.8 \text{ Hz, H-2'') -}$$

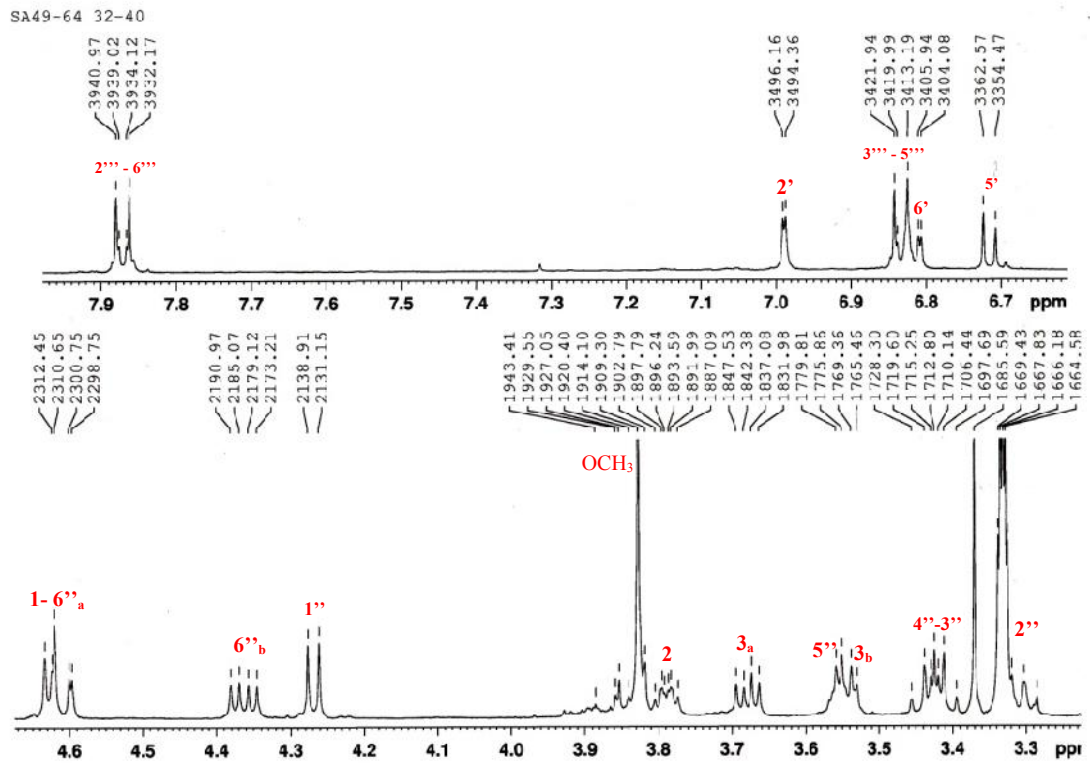
$$\delta_H = 6.72 \text{ ppm (1H, d, } J=8.1 \text{ Hz, H-5'') -}$$

$$\delta_H = 6.83 \text{ ppm (1H, dd, } J= 8.2 \text{ Hz; } J= 1.9 \text{ Hz, H-6'') -}$$

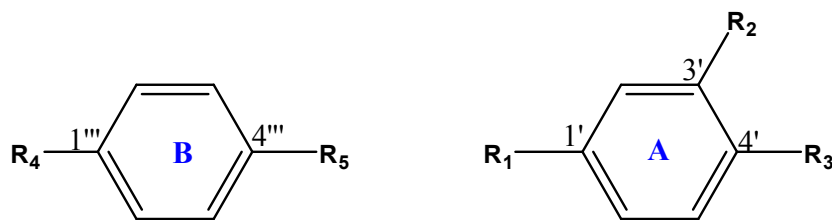
و الحلقة العطرية الثانية بنظام A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> [شكل رقم : 105 - الحلقة B] و التي تظهر قيم إزاحاتها الكيميائية عند:

$$\delta_H = 6.83 \text{ ppm (2H, d, } J=8.8 \text{ Hz, H-3'''-5''') -}$$

$$\delta_H = 7.87 \text{ ppm (2H, d, } J=8.8 \text{ Hz, H-2'''-6''') -}$$

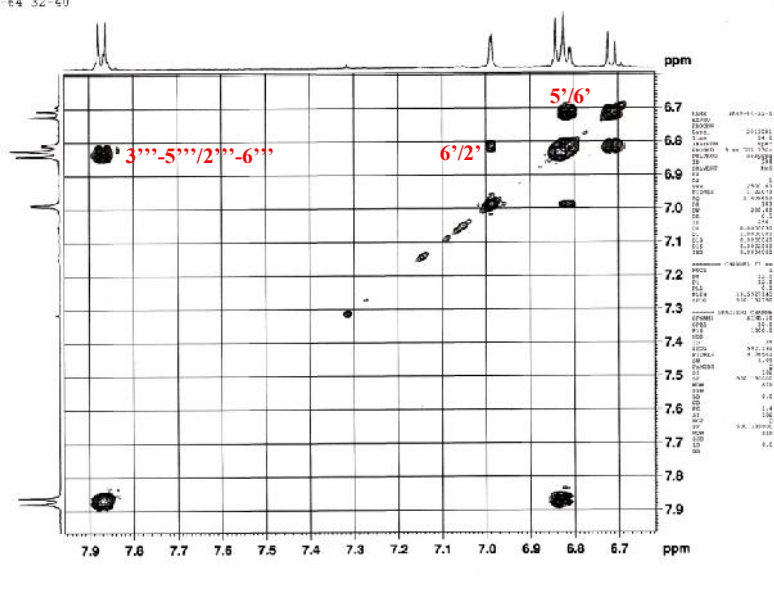


شكل رقم 103-: طيف الـ  $RMN^1H$  للمركب  $B_3$  (500 MHz,  $\delta_H$ ,  $J$  en Hz)

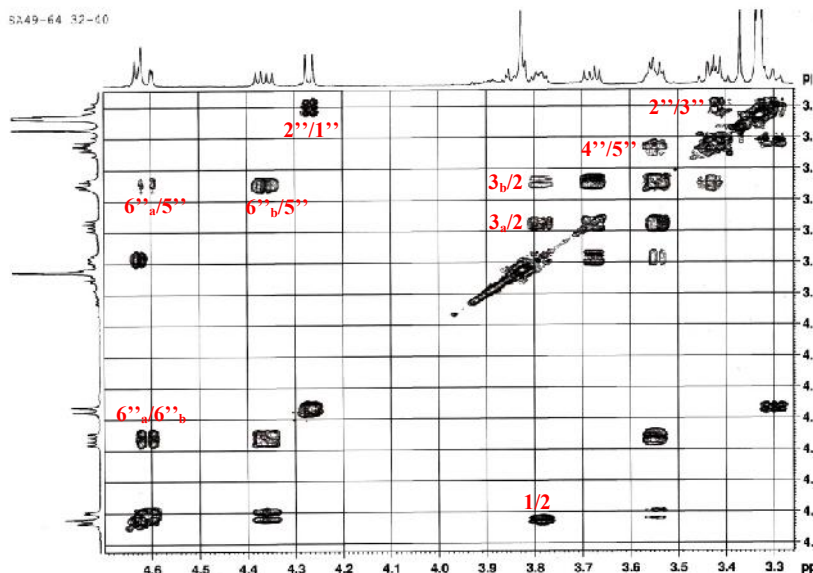


شكل رقم 105- : مواضع الإستبدال للحلقتين (A) و (B)

5A49-64 32-60



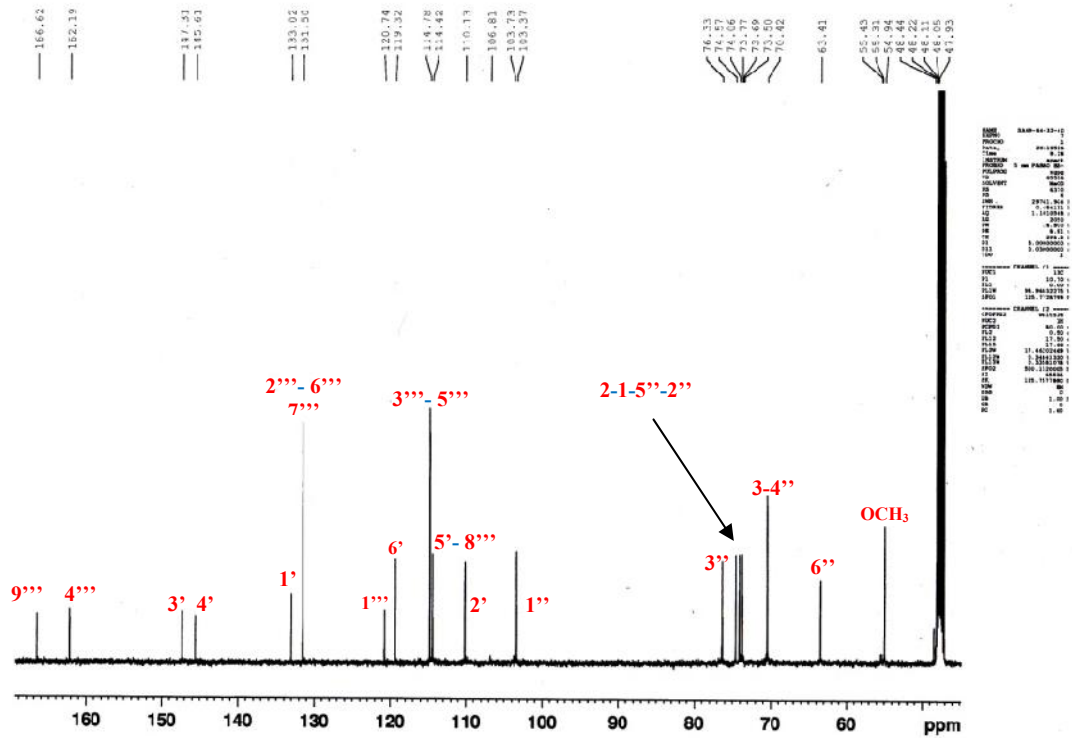
5A49-64 32-60



شكل رقم -104:- طيف الـ COSY للمركب B<sub>3</sub>

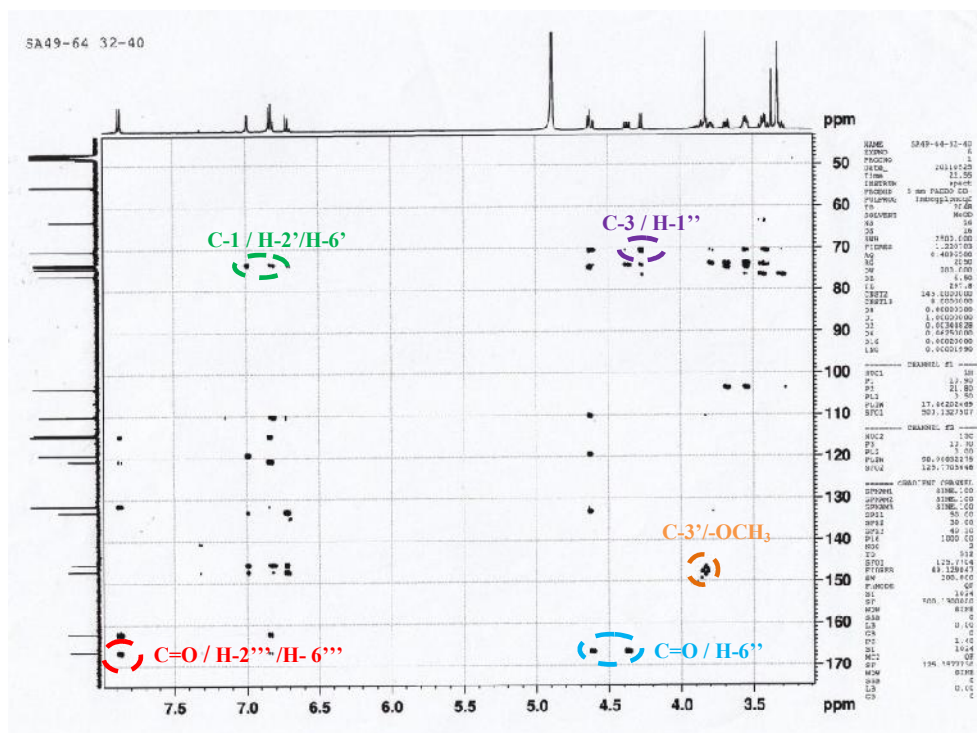
كما نلاحظ كذلك من طيفي الـ  $^1\text{H}$  RMN [شكل رقم : 103] و الـ  $^{13}\text{C}$  RMN [شكل رقم: 106] إشارة ترن عند القيمة  $\delta_{\text{H-1}''} = 4.27 \text{ ppm}$  وهي إشارة خاصة ببروتون أنوميري  $\text{H-1}''$  و يرن الكربون المرتبط به عند الإزاحة  $\delta_{\text{C-1}''} = 103.4 \text{ ppm}$  ، بالإضافة إلى خمسة إشارات لبروتونات أخرى [جدول رقم: 25] متزاوجة فيما بينها وهذا من خلال طيف الـ COSY [شكل رقم : 104] مما يدل على أنها بروتونات لسكر سداسي و بما أن ثابت التزاوج للبروتون الأنوميري هو  $J = 7.8 \text{ Hz}$  و ثابت التزاوج للبروتونات  $\text{H-2}''$  ،  $\text{H-3}''$  ،  $\text{H-4}''$  كلها أكبر من  $8 \text{ Hz}$  فإن السكر هو الجلوكوز.

SA49-64 32-40



شكل رقم-106: طيف الـ  $^{13}\text{C}$  RMN للمركب  $\text{B}_3$  ( $125 \text{ MHz}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ )

من طيف الـ **HMBC** [شكل رقم: 107] نلاحظ أنّ بروتوني الحلقة العطرية (B) اللذان يرنان عند القيمة  $\delta_{\text{H}} = 7.78 \text{ ppm}$  يظهران نقطة تعالق مع الكربون الذي يرن عند القيمة  $\delta_{\text{C}-7''} = 166.7 \text{ ppm}$  و هو كربون لمجموعة الكربونيل ، كما نلاحظ كذلك بقع تعالق بين مجموعة الكربونيل و بروتوني الكربون  $\text{C-6''}$  لسكر الجلوكوز مما يدل على أنّ الوظيفة الكحولية في الموضع  $6''$  مؤسّرة من طرف مشتق لحمض *parahydroxybenzoïque*.



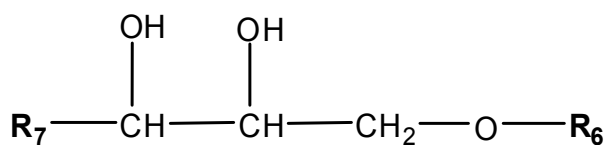
شكل رقم -107- : طيف الـ HMBC للمركب B<sub>3</sub>

جدول رقم -25- : الإزاحات الكيميائية للمركب B<sub>3</sub> (125 MHz, δ) في الـ CD<sub>3</sub>OD (500 MHz, δ, J en Hz)

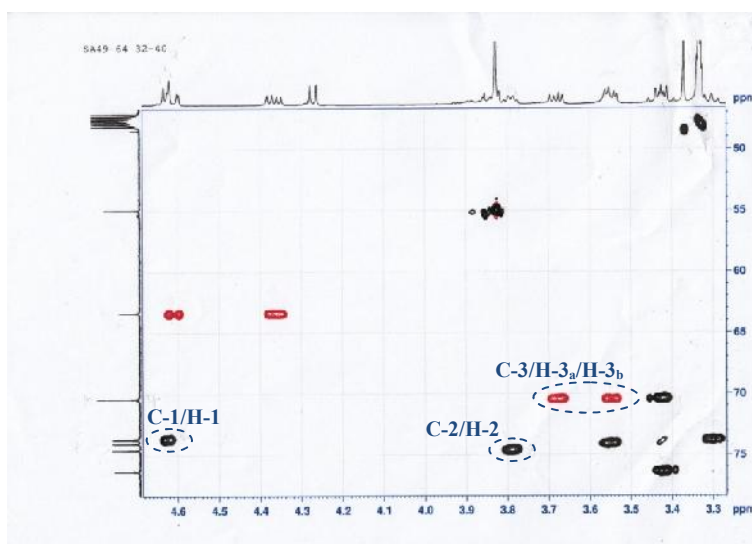
المركب B <sub>3</sub>					
الموضع	δ <sub>H</sub> (ppm) / J (Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)	الموضع	δ <sub>H</sub> (ppm) / J (Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)
1	4.63 (d, 6.9 Hz)	73.9	1''	4.27 (d, 7.8Hz)	103.4
2	3.79 m	74.6	2''	3.05 (t, 8.5Hz)	73.7
3	3.54 (dd, 3.9-10.4Hz) 3.68 (dd, 5.1-10.4Hz)	70.4	3''	3.41 (t, 8.8 Hz)	76.3
			4''	3.43 (t, 8.7 Hz)	70.4
1'	-	133.0	5''	3.55 m	74.1
2'	6.99 (d, 1.8Hz)	110.1	6''	4.36 (dd, 5.9-11.9Hz) 4.61(dd, 2-11.9Hz)	63.4
3'	-	147.3			
4'	-	145.6	1'''	-	120.7
5'	6.72 (d, 8.1Hz)	114.4	2'''	7.87 (d, 8.8Hz)	131.5
6'	6.82 (dd, 1.9-8.1Hz)	119.3	3'''	6.83 (d, 8.8Hz)	114.8
			4'''	-	162.9
3'-OMe	3.83 s	54.9	5'''	6.83 (d, 8.8Hz)	114.8
			6'''	7.87 (d, 8.8Hz)	131.5
			7'''(CO)	-	166.7

من طيف الـ COSY [شكل رقم: 104] نلاحظ تزاوج بروتوني لمجموعة -CH<sub>2</sub>- أوكسجينية اللذان يرنان عند القيمتين δ<sub>H-3a</sub> = 3.68 ppm و δ<sub>H-3b</sub> = 3.54 ppm مع البروتون الذي

يرن عند القيمة  $\delta_{H-2} = 3.79 \text{ ppm}$  و الذي بدوره يتزاوج مع البروتون الذي يرن عند القيمة  $\delta_{H-1} = 4.63 \text{ ppm}$  من جهة أخرى، و قيمتي الإزاحة الكيميائية الكبيرة تدل على أنّ كل من كربوني البروتونين يرتبط كل واحد منهما بذرة أوكسجين مشكلة بالتالي جزء مكون من ثلاثة كربونات 1، 2، 3 أوكسجينية كما يوضحه الشكل [شكل رقم: 108] و يسمح طيف الـ HSQC [شكل رقم: 109] بتحديد قيم الإزاحات الكيميائية لهذه الكربونات الأوكسجينية و هي على التوالي  $\delta_{C-1} = 73.9 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{C-2} = 74.6 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{C-3} = 70.4 \text{ ppm}$



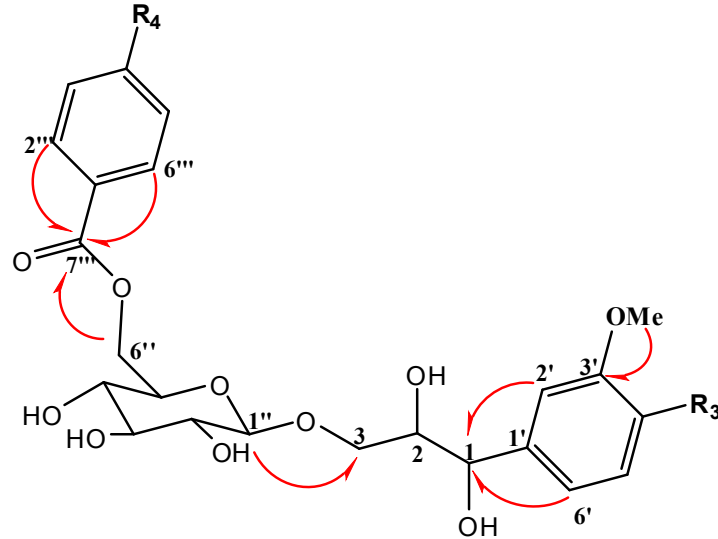
شكل رقم-108: جزء من المركب مكون من ثلاثة كربونات أوكسجينية



شكل رقم -109: طيف الـ HSQC للمركب B3

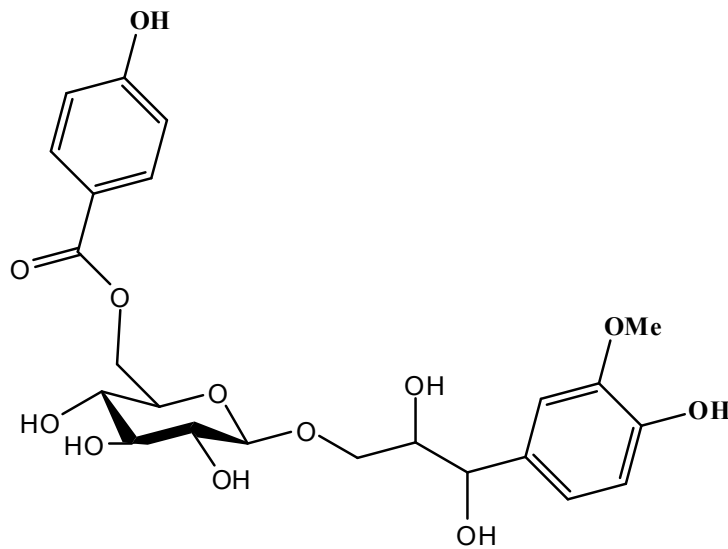
تسمح تجربة الـ HMBC [شكل رقم: 107، 110] من ربط هذا الجزء بالحلقة العطرية A و بالجزء السكري. حيث يبيّن طيف الـ HMBC [شكل رقم: 107] بقعة تعالق بين البروتون الأنوميري H-1'' مع كربون مجموعة -CH<sub>2</sub>- و الذي يرن عند القيمة  $\delta_{C-3} = 70.4 \text{ ppm}$  و من جهة أخرى بين بروتوني الحلقة (A) اللذان يرنان عند قيمة الإزاحتين  $\delta_{H-2'} = 6.99 \text{ ppm}$  و  $\delta_{H-6'} = 6.82 \text{ ppm}$  مع الكربون الذي يرن عند الإزاحة  $\delta_{C-1} = 73.9 \text{ ppm}$  كما يبيّنه الشكل [شكل رقم: 110].

من طيف الـ **HMBC** [شكل رقم: 107، 108] نلاحظ بقعة تعالق بين كربون الحلقة (A) الذي يرن عند قيمة الإزاحة الكيميائي  $\delta_{C-3'} = 147.3 \text{ ppm}$  و بروتونات مجموعة  $\text{OCH}_3$  التي يرن كربونها عند القيمة  $\delta_C = 54.9 \text{ ppm}$  كما يوضحه الشكل [شكل رقم: 110].



شكل رقم -110-: تعالقات الـ **HMBC** للمركب **B<sub>3</sub>**

وجود كربونين غير متناظرين في المركب يؤدي إلى إستنتاج التشكيلة الفراغية إما **Erythro** أو **Threo** و ترجع التشكيلة الثانية نتيجة القيمة الكبيرة لثابت التزاوج المقدر بـ  $6.9 \text{ Hz}$  لبروتون الكربون **C<sub>1</sub>** [8]. من خلال كل هذه المعطيات و باعتبار الصيغة المجملة للمركب **B<sub>3</sub>** تكون المستبدلات **R<sub>3</sub>** و **R<sub>4</sub>** عبارة عن مجموعتي **OH** و بالتالي يمكن إقتراح بنية المركب **B<sub>3</sub>** على التالي:



**Threo-guaiacylglycerol 3-O-(6-O-*p*-hydroxybenzoyl)-β-D-glucopyranoside**

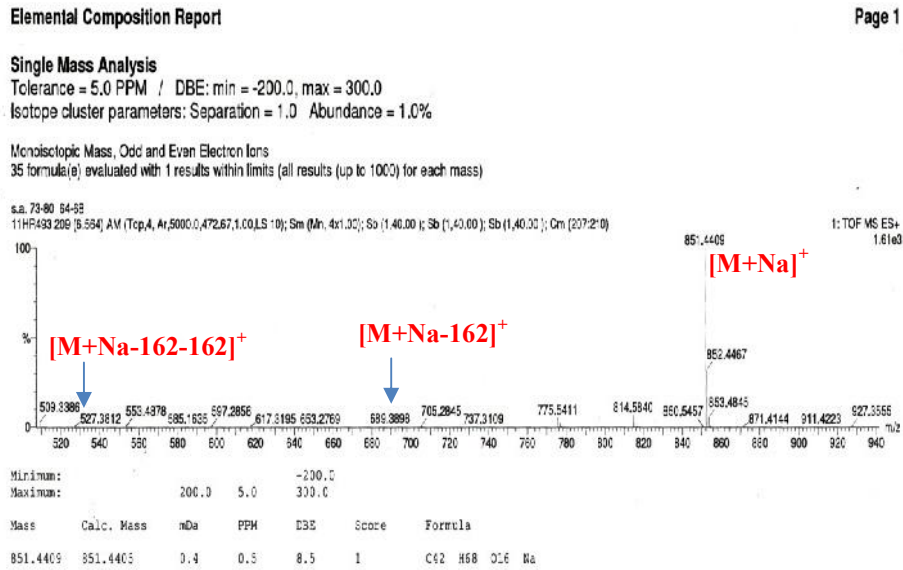


## 4- التحليل البنوي للمركب B<sub>4</sub>

### التحليل الطيفي

#### ■ مطيافية الكتلة

طيف الكتلة عالية الدقة (masse à haute résolution) بتقنية الإلكتروسبراي الموجبة HRESIMS [شكل رقم:111] تظهر إشارة عند  $m/z=851.44$  توافق  $[M+Na]^+$  , والتي تقودنا إلى القول أن الكتلة الجزيئية هي  $M=828$  الموافقة للصيغة المجرمة  $C_{42}H_{68}O_{16}$  . كما يظهر إشارتين لجزئ أيوني موجب الأولى عند  $m/z=689$  يوافق  $[M+Na-162]^+$  و الثانية عند  $m/z=527$  توافق  $[M+Na-162-162]^+$  تسندان إلى فقدان وحدتي سكر من نوع هكسوز.

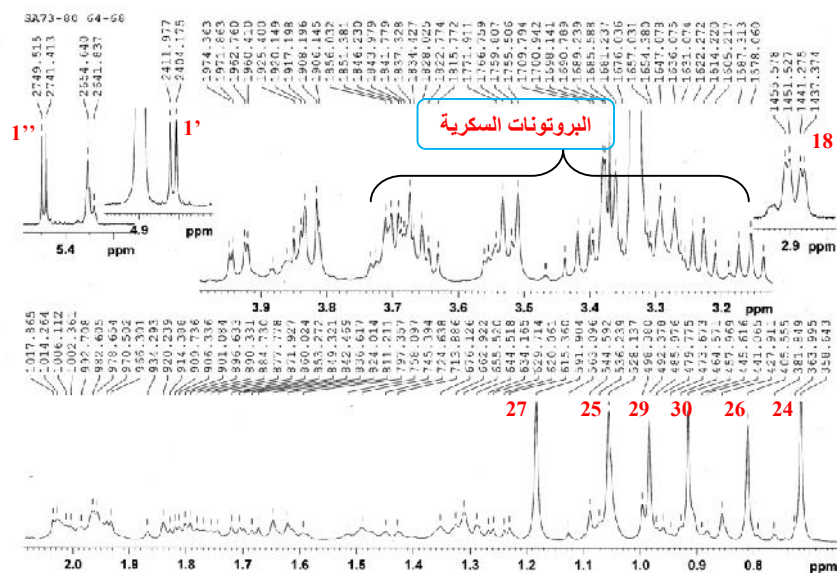


شكل رقم رقم-111: طيف الكتلة بتقنية HRESIMS للمركب B<sub>4</sub>

#### ■ مطيافية الرنين النووي المغناطيسي

يظهر طيف الـ  $^1H$  RMN [شكل رقم:112] للمركب B<sub>4</sub> إشارتين لبروتونين أنومريين عند الإزاحتين التاليتين  $\delta_H=4.81$  ppm (d,  $J=7.8$  Hz) و  $\delta_H=5.49$  ppm (d,  $J=8.1$  Hz) يرتبطان بالكربونين الأنومريين تظهر إشارتهما عند الإزاحة  $\delta_C=93.9$  ppm و  $\delta_C=103.8$  ppm على التوالي حسب طيف الـ HSQC [شكل رقم:113] تؤكد على وجود وحدتي سكر بتشكيل فراغي من نوع  $\beta$ . يظهر طيف الـ  $^{13}C$  RMN [شكل

رقم:114] 42 إشارة كربون إذا حذفنا الكربونات الخاصة بوحدي الهكسوز يبقى 30 كربون لأجليكون وهو عبارة عن تربيين ثلاثي.



شكل رقم -112-: طيف الـ  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{B}_4$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ , J en Hz)

يظهر طيف الـ  $^1\text{H}$  RMN [شكل رقم:112] للمركب  $\text{B}_4$  وجود ستة إشارات أحادية في مجال الإزاحات الضعيفة بين  $\delta_{\text{H}} = 0.70 \text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{H}} = 1.2 \text{ ppm}$  بتكامل 3 بروتونات و هي بالتالي تشير إلى وجود 6 مجموعات ميثيل حيث ترن عند الإزاحات التالية:

$\delta_{\text{H}} = 1.18 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{\text{H}} = 1.05 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{\text{H}} = 0.98 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{\text{H}} = 0.92 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{\text{H}} = 0.81 \text{ ppm}$  ،  $\delta_{\text{H}} = 0.72 \text{ ppm}$

بالإضافة إلى إشارة ثلاثية بثابت تزواج حوالي 2 Hz عند الإزاحة  $\delta_{\text{H}} = 5.3 \text{ ppm}$  تسند إلى بروتون أوليفيني حيث أنّ كربوني الرابطة الثنائية تظهر إشارتهما عند  $\delta_{\text{C}} = 144.2 \text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{C}} = 123.9 \text{ ppm}$  كما يبينه طيف الـ HSQC [شكل رقم:113] و طيف الـ  $^{13}\text{C}$  RMN [شكل رقم:114] و هذه المعطيات تقود إلى إستنتاج أنّ التربيين الثلاثي عبارة عن هيكل  $\Delta^{12}$ oleanene (Mahato and kundo,1994) [9] و هو حامل لعدة وظائف كحولية تكشف عنها إشارات بروتونات لثلاثة مجموعات ميثين أوكسجينة عند الإزاحات

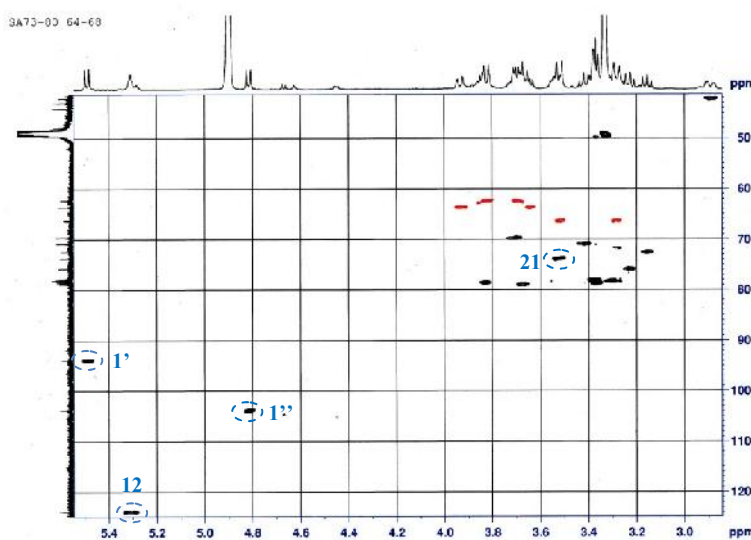
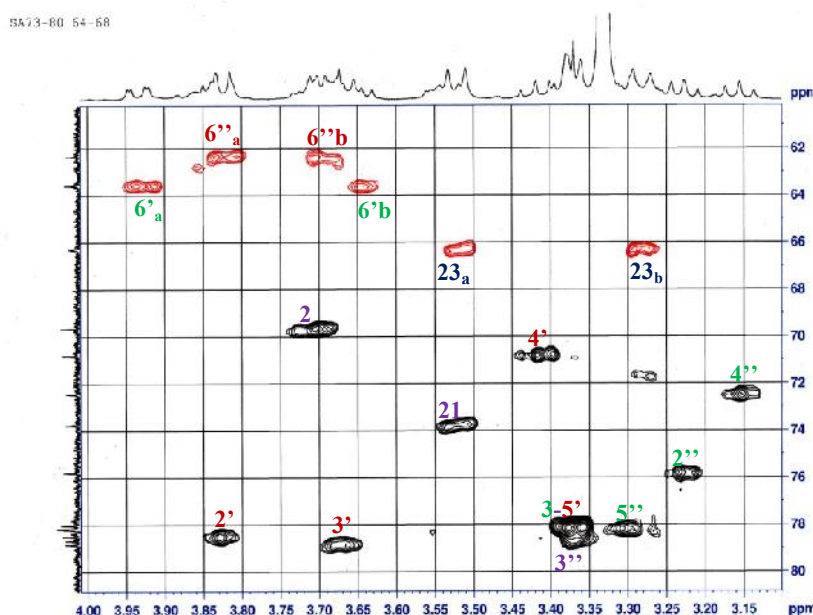
$\delta_{\text{H}} = 3.70 \text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{H}} = 3.52 \text{ ppm}$  (dd, 11.3-4.3 Hz) ،  $\delta_{\text{H}} = 3.39 \text{ ppm}$  (d, 10.2 Hz)

إشارتين لبروتونين من نظام AB يظهران عند الإزاحة  $\delta_{\text{H}} = 3.28 \text{ ppm}$  (d, 11 Hz) و

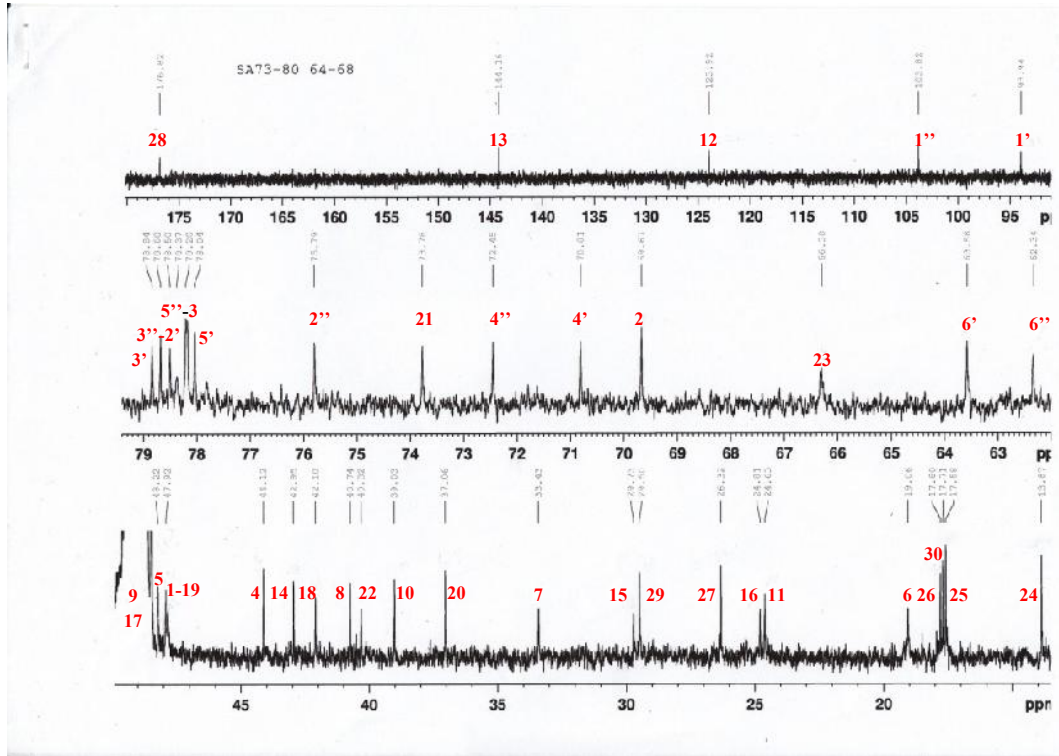
$\delta_{\text{H}} = 3.52 \text{ ppm}$  (d, 11.3 Hz) مرتبطة بكربون يرن عند  $\delta_{\text{C}} = 66.3 \text{ ppm}$  حسب طيف الـ HSQC [شكل

رقم:113] دالة بذلك على وجود مجموعة ميثيلين أوكسجيني ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) يمكن تحديد مواقع هذه الوظائف

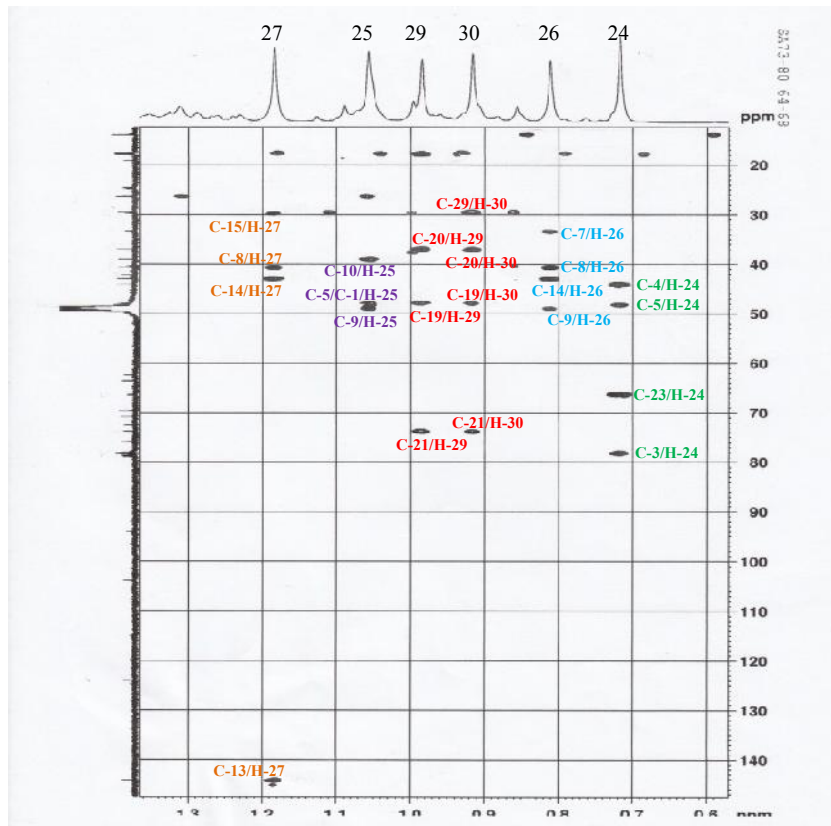
بالإستعانة بطيف الـ **HMBC** [شكل رقم:115] الذي يبيّن بضع تعالقات بين البروتون **H-24** الذي يرن عند  $\delta_{\text{H-24}} = 0.72 \text{ ppm}$  و الكربونين **C-4** و **C-5** اللذان يرنان على التوالي عند الإزاحتين  $\delta_{\text{C-5}} = 48.2 \text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{C-4}} = 44.1 \text{ ppm}$  و بين البروتون **H-24** و الكربون **C-23** الذي يرن عند  $\delta_{\text{C-23}} = 66.3 \text{ ppm}$  و البروتون **H-24** و الكربون **C-3** الذي يرن عند  $\delta_{\text{C-3}} = 78.2 \text{ ppm}$  وكذلك بين البروتون **H-3** الذي يرن على شكل ثنائي **(d,10.2)** عند  $\delta_{\text{H-3}} = 3.39 \text{ ppm}$  و الكربون **C-2** الذي يرن عند  $\delta_{\text{C-2}} = 69.7 \text{ ppm}$ .



شكل رقم -113-: طيف الـ HSQC للمركب **B<sub>4</sub>**



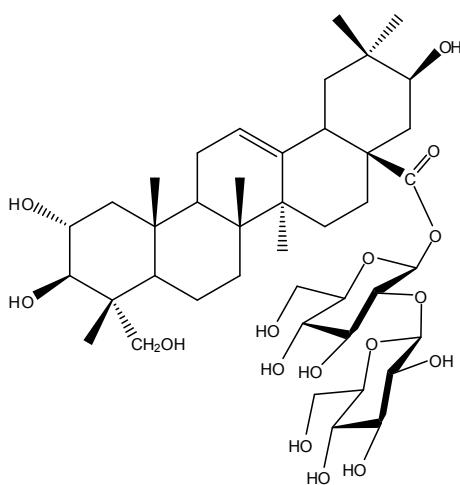
شكل رقم 114- : طيف الكربون الـ  $^{13}\text{C}$  للمركب  $\text{B}_4$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )



شكل رقم 115- : طيف الـ HMBC للمركب  $\text{B}_4$

يبيّن طيف الـ ROESY [شكل رقم: 116] التوجيه  $\beta$  للبروتون **H-2** ( $\delta_H = 3.70$  ppm) وذلك من خلال تعالقات **H-2/H-24** و **H-2/Me-25** و بالتالي تكون مجموعة الهيدروكسي المحمولة على الكربون **C-2** ذات توجه  $\alpha$  وكذلك يكون ميثيلين متواجد في الوضعية **C-23**. أما بالنسبة لتعالقات **H-5** و **H-3** فتحدد التوجه  $\alpha$  للبروتون **H-3**. أما بالنسبة لمجموعة الهيدوكسي ميثين المتبقية فتحدد وضعية كربونه **C-21** الذي يرن عند  $\delta_{C-21} = 73.8$  ppm حسب طيف الـ HSQC [شكل رقم: 113] من خلال تعالقه مع مجموعتي الميثيل **Me-29** و **Me-30** في طيف الـ HMBC [شكل رقم: 116] و ظهور بروتونه عند ( $\delta_{C-21} = 3.52$  ppm) على شكل ثنائي ثنائي يدل على أنّ الهيدوكسي محمول على الكربون **C-21** و التشكيل الفراغي من نوع  $\beta$  للهيدوكسي **OH-21** فيحدد من خلال تعالقات **H-21/H-19** و **H-21/Me-29** في طيف الـ ROESY [شكل رقم: 116] دالة بذلك على توجه  $\alpha$  لـ **H-21**. يبيّن طيف الـ HMBC [شكل رقم: 117] بقعة تعالق بين البروتون الأنوميري عند الإزاحة  $\delta_H = 5.49$  ppm و الكربون عند الإزاحة  $\delta_{C-28} = 176.8$  ppm و يدل على تشكل وظيفة إستر و بالتالي إرتباط السكر بالأجليكون بالضرورة يكون في الموضع **C-28** و الإزاحة الكيميائية عند  $\delta_C = 48.2$  ppm لـ **C-17** يؤكد أنّ الكربون **C-28** يحمل وظيفة السكر.

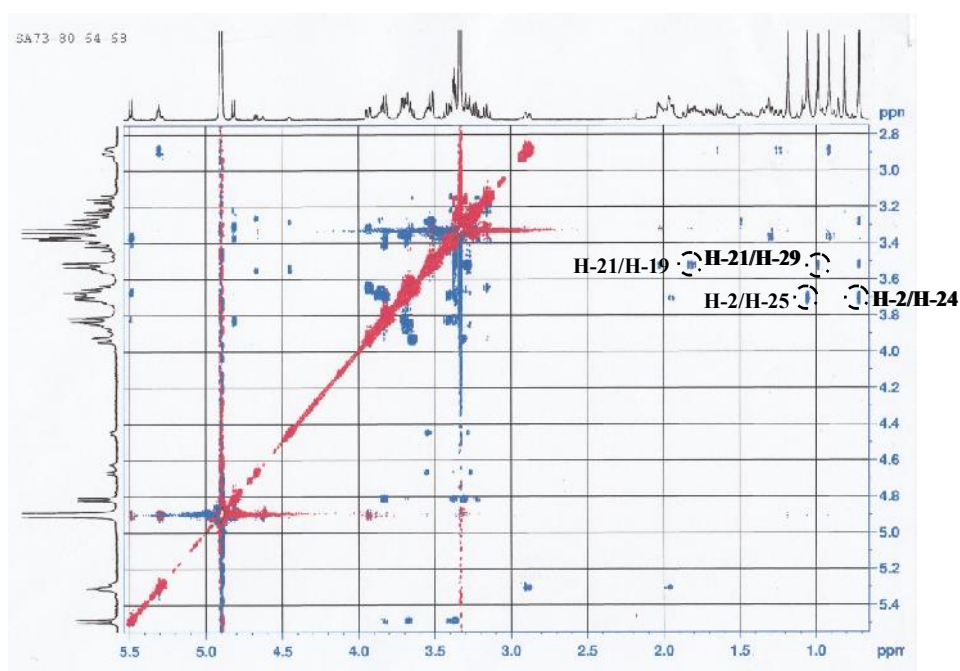
تمّ تحديد نوعية وحدتي السكر من خلال تزاوج البروتونات في طيف الـ COSY  $^1H-^1H$  [شكل رقم: 118] الذي يبيّن أنّ كل الإشارات تظهر على شكل ثلاثي أو ثنائي ثنائي بثابت تزاوج أكبر من  $7$  Hz و بالتالي فإنّ الوحدتين من نوع **glucopyranose** من تشكيل  $\beta$  و نستنتج من ذلك أنّ الجليكوز النهائي المرتبط بالأجليكون الأول مستبدل في الموضع **C-2'** بسبب الإنزياح الكيميائي إلى المجال المنخفض لهذا الكربون و هذا ما يؤكد طيف الـ HMBC [شكل رقم: 117] حيث نلاحظ بقعة تعالق **H-1'/H-2'** كما يظهر جليا إرتباط السكرين في هذا الموضع من خلال تعالقات **H-1'/H2'** في طيف الـ ROESY [شكل رقم: 116] و منه نستنتج البنية الكيميائية للصابونين هي:



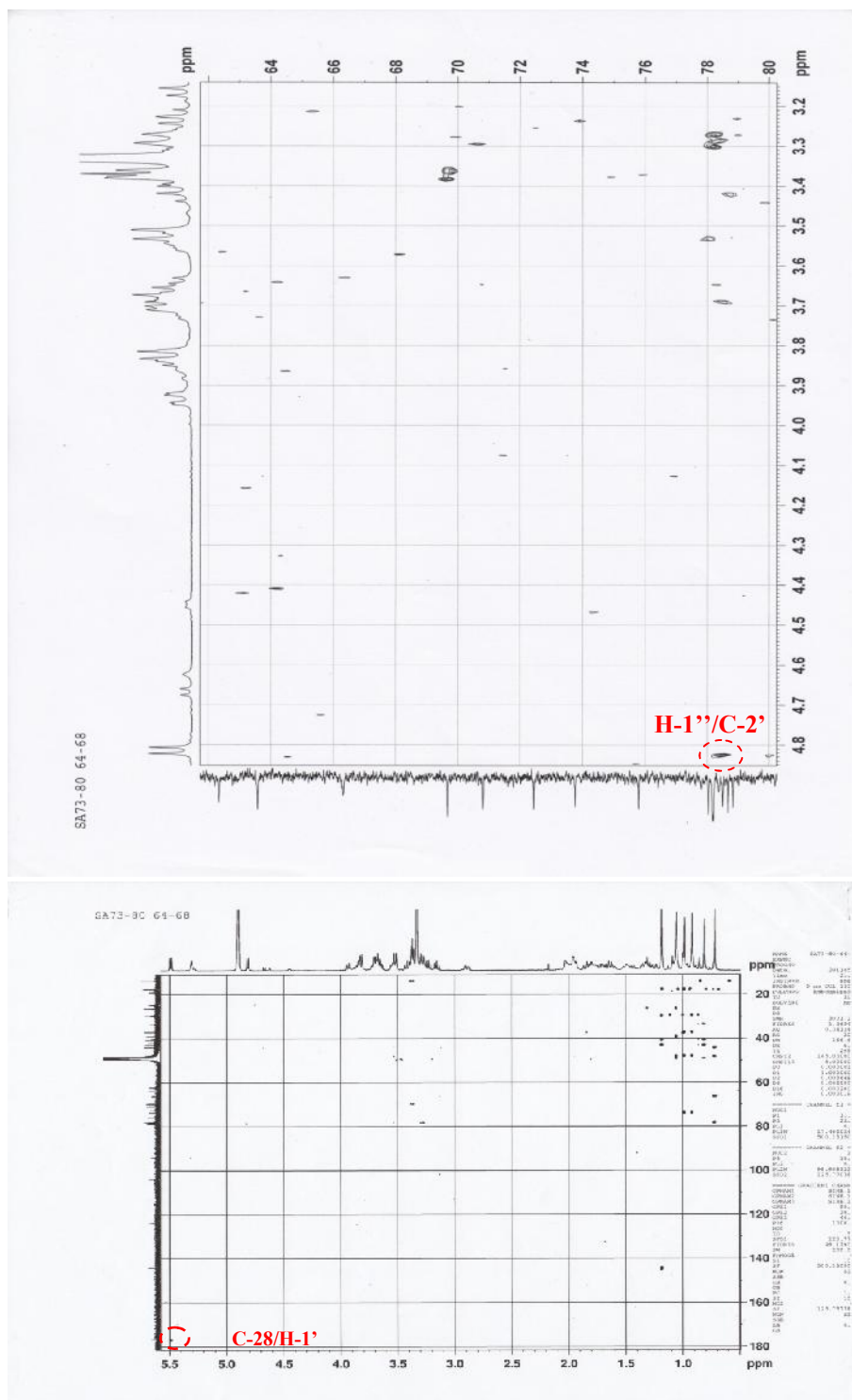
**2 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 21 $\beta$ , 23 $\alpha$  tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid-28-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl (1  $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl] ester**

جدول رقم -26- : الإزاحات الكيميائية للمركب B<sub>4</sub>  
(500 MHz,  $\delta$ ,  $J$  en Hz ; 125 MHz,  $\delta$ )  
في الـ CD<sub>3</sub>OD

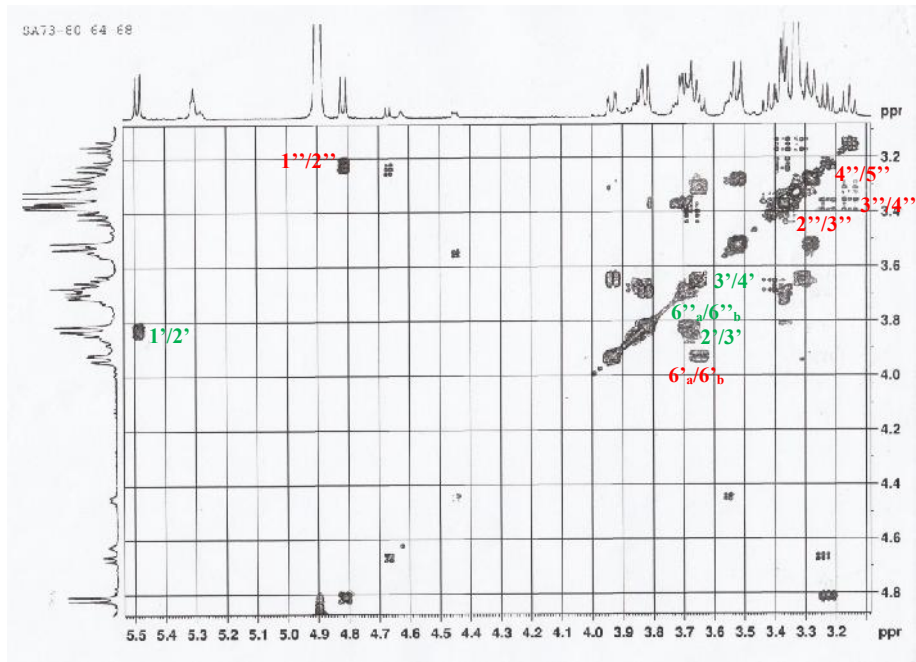
المركب B <sub>4</sub>					
الموضع	$\delta_H$ (ppm) / $J$ (Hz)	$\delta_C$ (ppm)	الموضع	$\delta_H$ (ppm) / $J$ (Hz)	$\delta_C$ (ppm)
1	1.94	47.9	23	3.28 ( <i>d</i> , 11)-3.52 ( <i>d</i> , 11.3)	66.3
2	3.70	69.7	24	0.72 <i>s</i>	13.9
3	3.39 ( <i>d</i> , 10.2)	78.2	25	1.05 <i>s</i>	17.8
4	-	44.1	26	0.81 <i>s</i>	17.6
5	1.30 ( <i>bd</i> , 11.0)	48.2	27	1.18 <i>s</i>	26.3
6	1.50 ( <i>bq</i> , 10.8)-1.44 ( <i>dm</i> , 12.7)	19.1	28	-	176.8
7	1.33-1.6	33.4	29	0.98 <i>s</i>	29.5
8	-	42.1	30	0.92 <i>s</i>	17.7
9	1.70 ( <i>dd</i> , 10.7 ; 6.8)	49.0	<b>Glc''</b>		
10	-	39.0	1''	4.81 ( <i>d</i> , 7.8)	103.8
11	1.96	24.6	2''	3.23( <i>t</i> , 9.0)	75.8
12	5.3 <i>m</i>	123.9	3''	3.38( <i>t</i> , 8.9)	78.0
13	-	144.2	4''	3.16( <i>t</i> , 9.3)	72.5
14	-	43.0	5''	3.31	78.2
15	1.75 <i>m</i> - 1.06	29.7	6''	3.65 ( <i>dd</i> 6.4-11.7) 3.93 ( <i>dd</i> , 2.5-11.60)	62.3
16	1.96	24.8	<b>Glc'</b>		
17	-	48.2	1'	5.49 ( <i>d</i> , 8.1)	93.9
18	2.89 ( <i>dd</i> , 14.2 ; 4.1)	42.1	2'	3.83( <i>t</i> ,8.2)	78.5
19	1.84( <i>t</i> , 14.1)-1.25( <i>dd</i> , 14.1 ;4.5)	47.9	3'	3.67( <i>t</i> , 9.3)	78.8
20	-	37.1	4'	3.42( <i>t</i> , 8.9)	70.8
21	3.52 ( <i>dd</i> 4.3-11.3)	73.8	5'	3.37	78.0
22	1.65-1.81	40.3	6'	3.70m-3.82 ( <i>dd</i> , 11.1-2.9)	63.6



شكل رقم-116- : طيف الـ ROESY للمركب B<sub>4</sub>



شكل رقم 117:- طيف الـ HMBC للمركب B<sub>4</sub>



شكل رقم 118:- طيف الـ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY للمركب  $\text{B}_4$



## 5-التحليل البنوي للمركب B<sub>5</sub>

### الخصائص الفيزيوكيميائية

- المركب على شكل زيتي
- لون الإستشعاعي تحت مصباح Wood أزرق مشع.
- معامل الإحتباس :

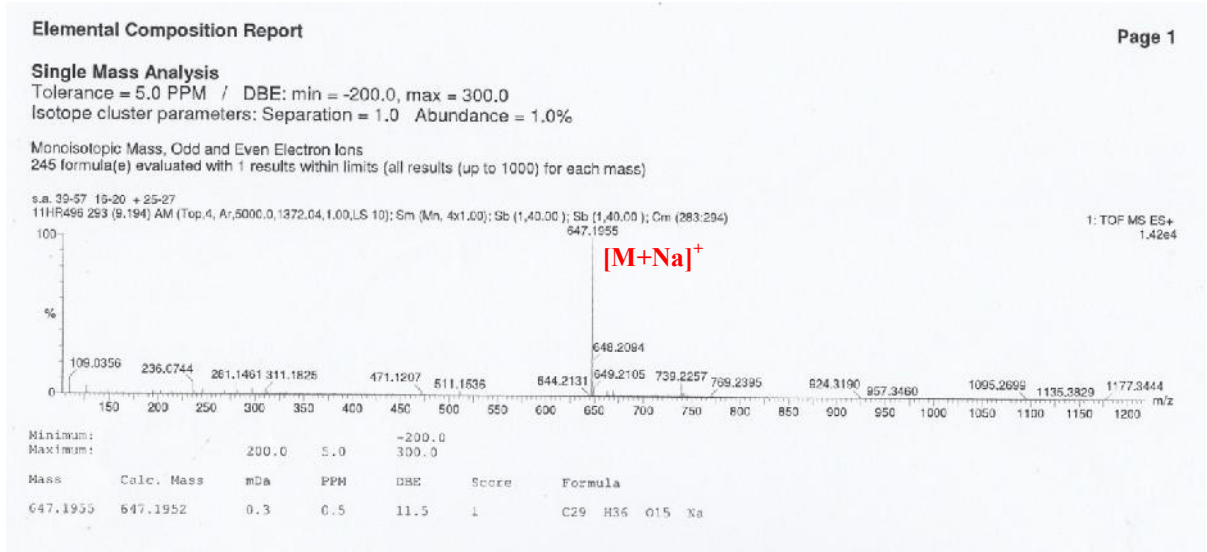
$$R_f = 0.18 \text{ (Toluène/MEC/MeOH 4:3:3)}$$

$$R_f = 0.45 \text{ (H}_2\text{O/MeOH/MEC/Acétylacétone 13:3:3:1)}$$

### التحليل الطيفي

#### ■ مطيافية الكتلة

طيف الكتلة عالية الدقة (masse à haute résolution) بتقنية الإلكتروسبراي الموجبة HRESIMS [شكل رقم:119] تظهر إشارة عند  $m/z = 647.1956$  توافق  $[M+Na]^+$  , و تسمح بإستنتاج الكتلة الجزيئية  $M = 624$  الموافقة للصيغة المجرىة  $C_{29}H_{36}O_{15}$  .



شكل رقم -119:- طيف الكتلة عالية الدقة بتقنية HRESIMS للمركب B<sub>5</sub>

## ▪ مطيافية الرنين النووي المغناطيسي $^1\text{H}$ RMN

يسمح طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون [شكل رقم: 120] بملاحظة إشارتين ثنائيتين إثيلينيتين عند قيم الإزاحات الكيميائية :

$$\delta_{\text{H}} = 6.29 \text{ ppm (d, } J = 15.9 \text{ Hz) -}$$

$$\delta_{\text{H}} = 7.61 \text{ ppm (d, } J = 15.9 \text{ Hz) -}$$

و كذلك إشارات لبروتونات عطرية لنظام من شكل **ABX** و التي تظهر إشاراتها عند قيم الإزاحات الكيميائية :

$$\delta_{\text{H}} = 7.07 \text{ ppm (d, } J = 2.0 \text{ Hz) -}$$

$$\delta_{\text{H}} = 6.97 \text{ ppm (d large, } J = 8.2 \text{ Hz) -}$$

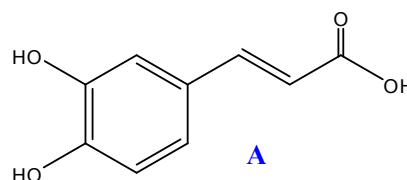
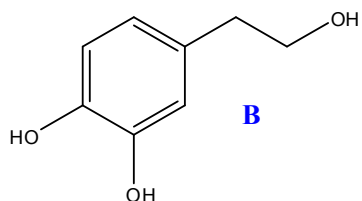
$$\delta_{\text{H}} = 6.79 \text{ ppm (d, } J = 8.2 \text{ Hz) -}$$

و التي توافق حمض *(E)*-caféique (acide 3',4'-dihydroxycinnamique) [شكل رقم: A-121] و من الجهة الأخرى نجد نظام من الشكل **ABX** لحلقة عطرية ثانية و التي تظهر إشاراتها عند القيم :

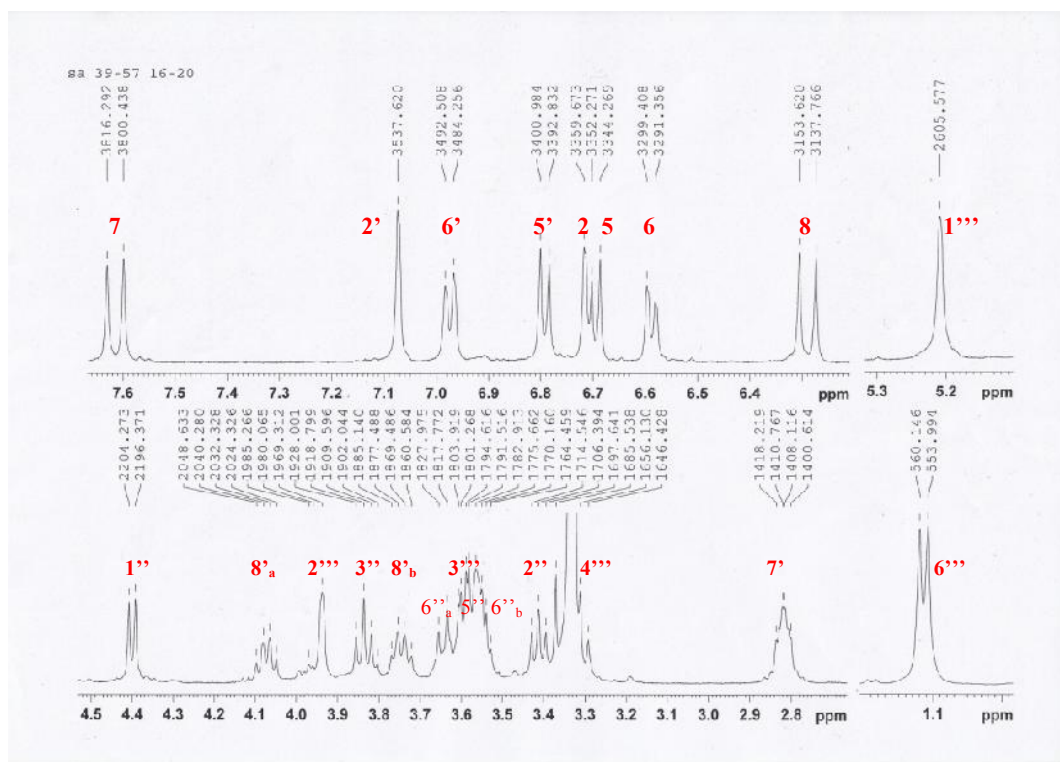
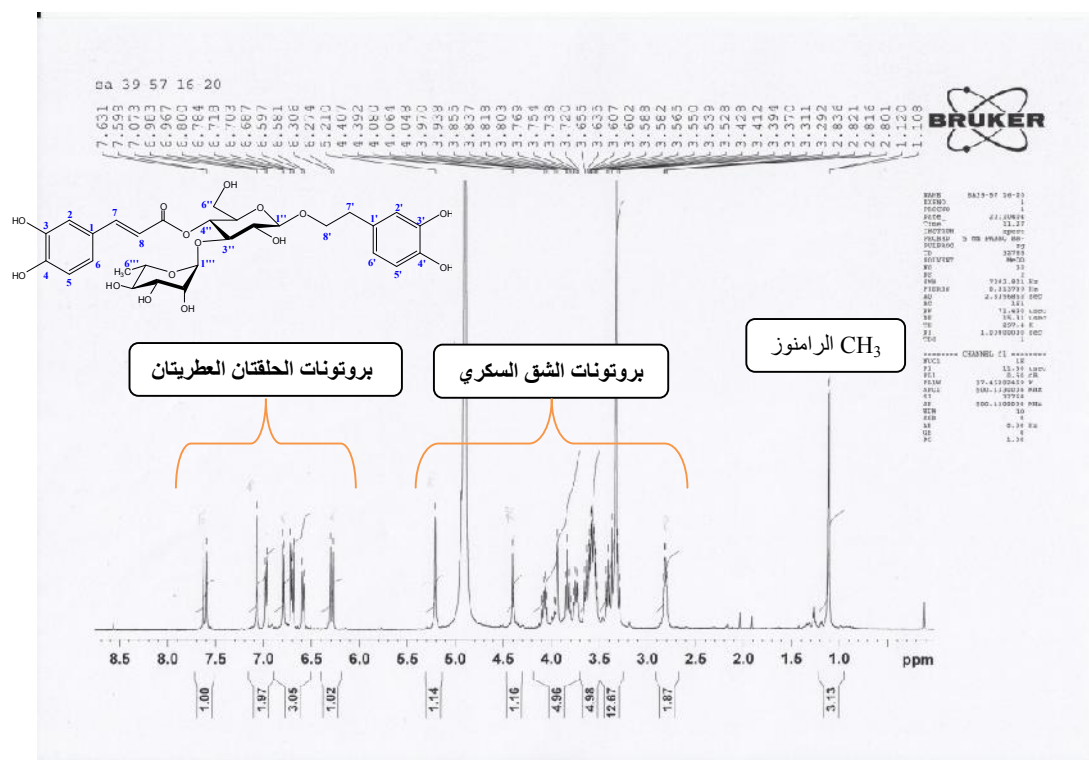
$$\delta_{\text{H}} = 6.79 \text{ ppm (d, } J = 8.0 \text{ Hz) -}$$

$$\delta_{\text{H}} = 6.71 \text{ ppm (d, } J = 2.0 \text{ Hz) -}$$

$$\delta_{\text{H}} = 6.59 \text{ ppm (d large, } J = 8.0 \text{ Hz) -}$$



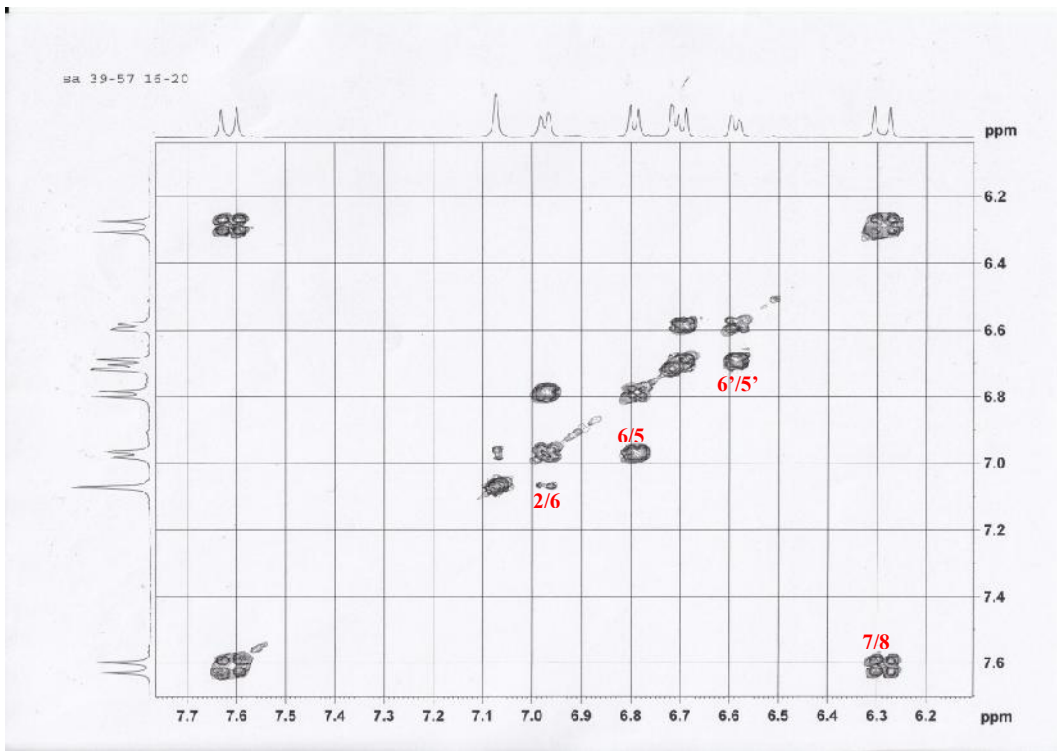
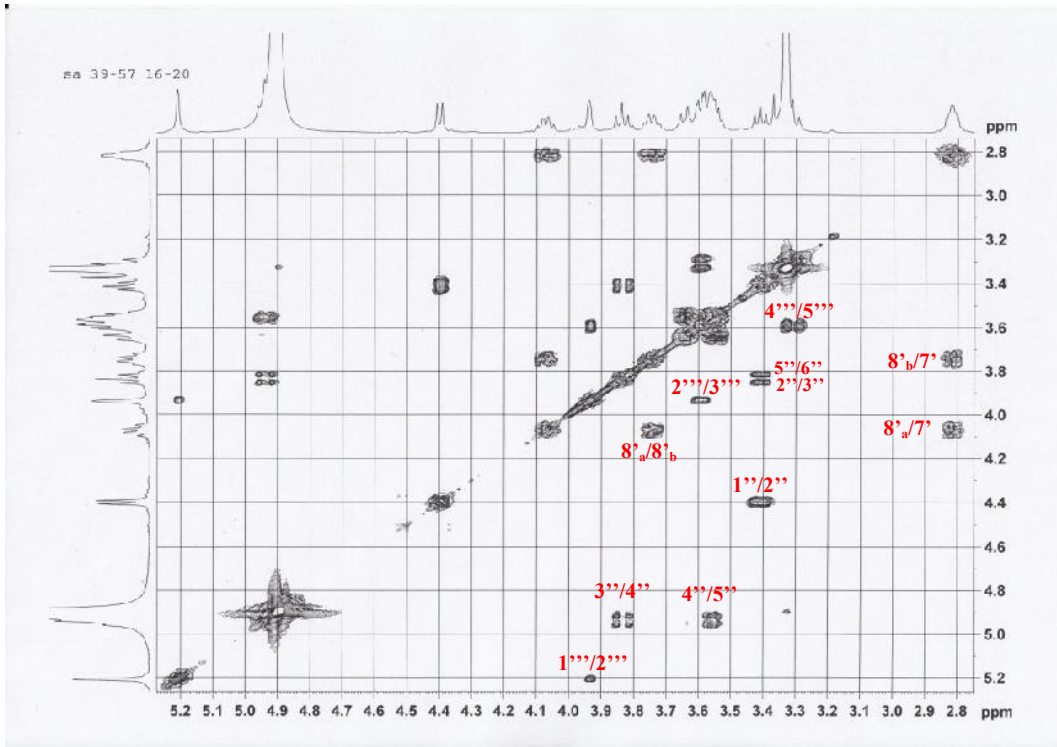
شكل رقم -121- : حمض الـ *(E)*-caféique (المركب A) و hydroxytyrosol (المركب B)



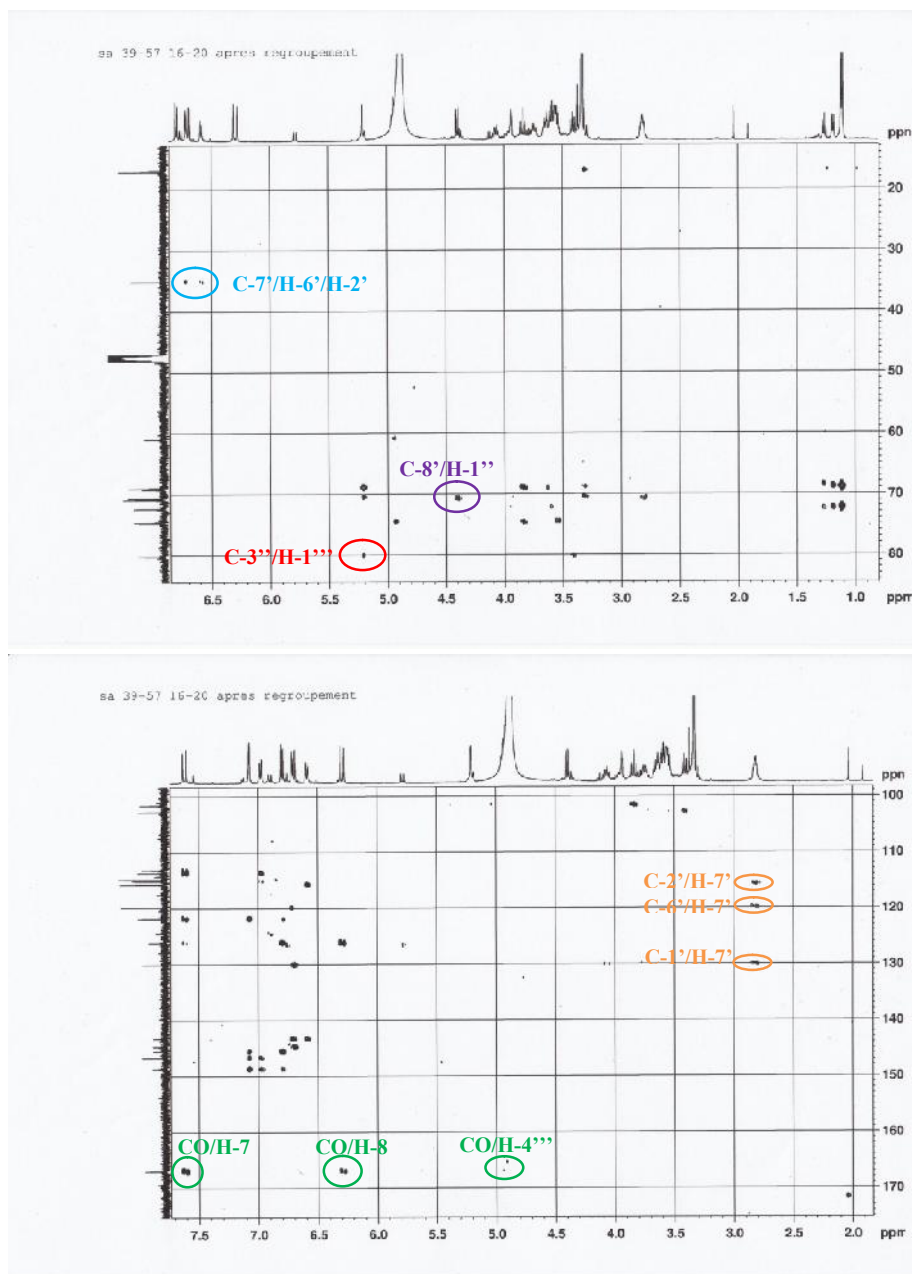
شكل رقم-120:- طيف البروتون <sup>1</sup>H للمركب B<sub>5</sub> (500 MHz, δ<sub>H</sub>, J en Hz)

يؤكد طيف الـ **COSY** [شكل رقم: 122] تزاوج البروتونات لنظامي **ABX** للحلقتين العطريتين كما يظهر تزاوج بروتونين مرتبطين بنفس الكربون الأوكسجيني ومع بروتونين للكربون الأليفاتي ويرتبط هذا الأخير بالحلقة العطرية و الذي يبيئه طيف الـ **HMBC** [شكل رقم: 123] من خلال بقع التعالق لبروتوني الكربون الأليفاتي و كربونات الحلقة العطرية الثانية . و منه نستنتج وجود هيكل **hydroxytyrosol** [شكل رقم: B-121] في المركب من جهة أخرى. كما يسمح لنا طيف الـ **COSY** [شكل رقم: 122] إنطلاقاً من الإشارة الثنائية للبروتون الأنوميري عند الإزاحة  $\delta_H = 4.4 \text{ ppm}$  ( $J = 7.9 \text{ Hz}$ ) بربطها بسبعة إشارات تدل على أنّ السكر عبارة عن الهيكسوز أما قيم ثوابت التزاوج لإشارات البروتونات الأربعة الأولى (**H-1''**,**H-2''**,**H-3''**,**H-4''**) المقدره بأكثر من 7 Hz تدل على أنّ السكر من نوع الجلوكوز [ $\beta$ -D glucose] بينما إشارة البروتون الأنوميري الذي يظهر عند  $\delta_H = 5.2 \text{ ppm}$  (sl) تسمح بإيجاد كل الإشارات سكر الراموز و الذي يتميز بالإشارة الثنائية لمجموعة الـ **CH<sub>3</sub>** في الموضع 6'' حيث تظهر عند الإزاحة  $\delta_H = 1.11 \text{ ppm}$  ( $J = 2.0 \text{ Hz}$ ) وتدل باقي الإزاحات الكيميائية للبروتونات على أنّ الراموز يوجد في وضعية نهائية حسب المراجع [5,4]، أما الإشارة الملاحظة عند الإزاحة الكبيرة  $\delta_H = 4.9 \text{ ppm}$  الموافقة للبروتون **H-4''** للجلوكوز تدل على أنّ الوظيفة الكحولية في الموضع 4'' مؤسترة من طرف حمض الـ **caféique**.

وإشارة الثلاثية التي تظهر عند  $\delta_H = 2.82 \text{ ppm}$  وهي إشارة أخرى تدل على وجود مركب **hydroxytyrosol** و التي توافق البروتونين المرتبطين بـ **C-7**.



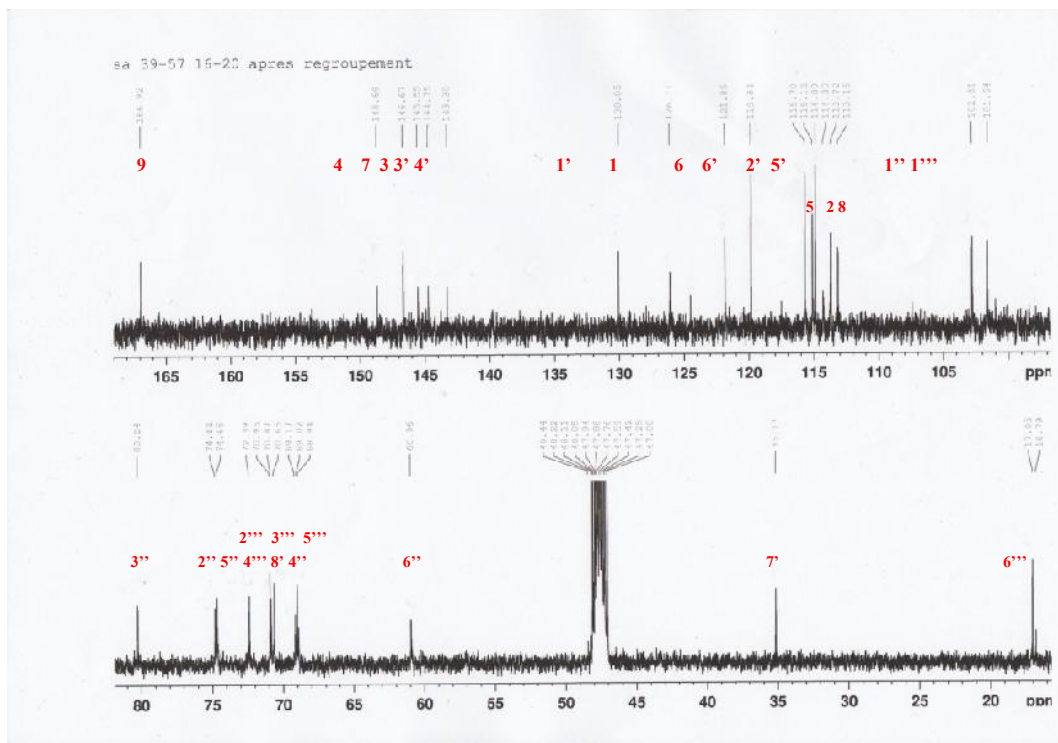
شكل رقم 122:- طيف الـ COSY للمركب B<sub>5</sub>



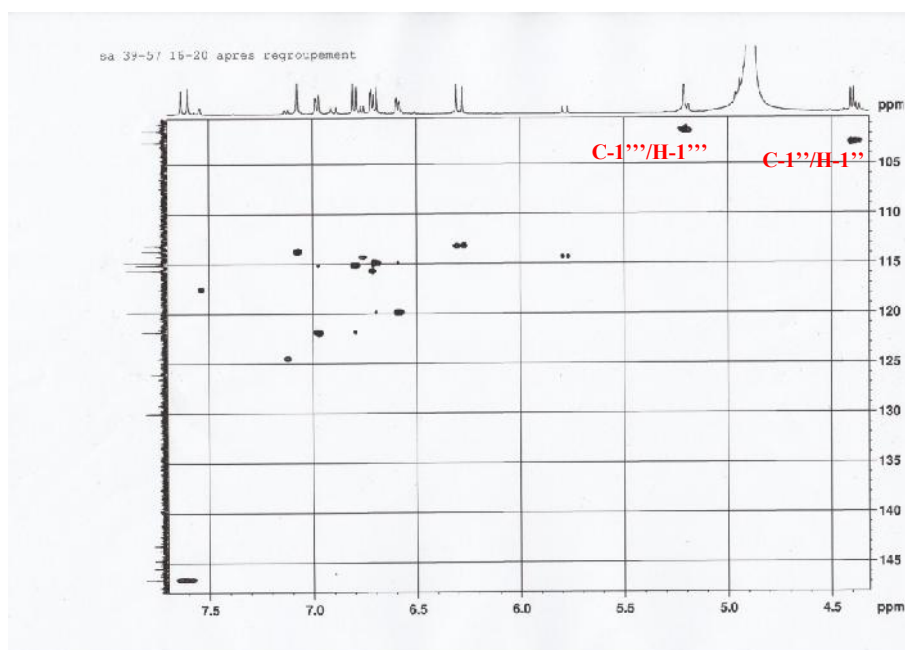
شكل رقم-123: طيف الـ HMBC للمركب B<sub>5</sub>

طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون  $^{13}\text{C}$  RMN [شكل رقم:124] يؤكد لنا وجود 29 كربون ، المعلومات التكميلية المستنبطة من تجربة الـ HSQC [شكل رقم:125] تسمح لنا بملاحظة الإشارتين عند  $\delta_{\text{C}} = 102,8 \text{ ppm}$  و  $\delta_{\text{C}} = 101,6 \text{ ppm}$  توافق البروتونين الأنومريين للجليكوز والرامنوز على التوالي [5،4]. الإشارة التي تظهر عند  $\delta_{\text{C}} = 17,1 \text{ ppm}$  توافق ميثيل سكر الرامنوز كما أنّ الإشارة التي تظهر عند  $\delta_{\text{C}} = 166,9 \text{ ppm}$  فهي تميّز مجموعة الكربونيل بالإضافة إلى الإشارات التي تظهر

عند  $\delta_C = 74,8 \text{ ppm (C-2'')}$  ،  $\delta_C = 80,2 \text{ ppm (C-3'')}$  تدل على أنّ الكربون C-3 للجليكوز مرتبط بجزء سكري الرامنوز، أمّا الإشارات التالية:  
 $\delta_C = 17,1 \text{ ppm (C-6''')}$  ،  $\delta_C = 69,0 \text{ ppm (C-5''')}$  ،  $\delta_C = 70,9 \text{ ppm (C-3''')}$   
تدل على أنّ الشق السكري عبارة عن  $\alpha$ -Rhamnose نهائي.



شكل رقم-124:- طيف الـ  $^{13}\text{C}$  RMN للمركب  $\text{B}_5$  ( $125 \text{ MHz}$ ,  $\delta_C$ )



شكل رقم-125:- طيف الـ HSQC للمركب  $\text{B}_5$

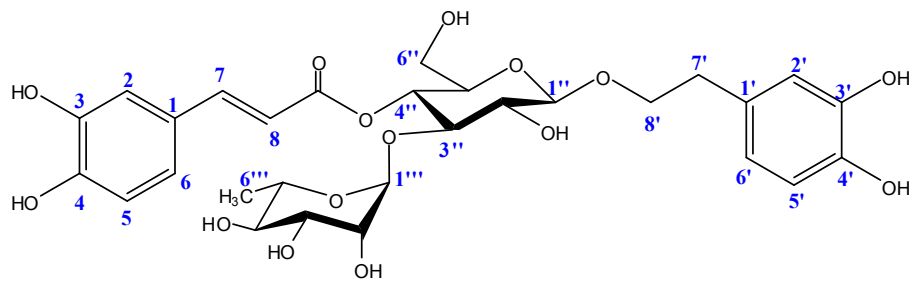
جدول رقم 27- : الإزاحات الكيميائية للمركب B<sub>5</sub> (δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ CD<sub>3</sub>OD

المركب B <sub>5</sub>					
الموضع	δ <sub>H</sub> (ppm) / J (Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)	الموضع	δ <sub>H</sub> (ppm) / J (Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)
Acide caféique			Glucose		
1	-	126.1	1''	4.4 d (7.9 Hz)	102.8
2	7.07	113.7	2''	3.41 t (8.2 Hz)	74.8
3	-	145.6	3''	3.84 t (9.2 Hz)	80.2
4	-	148.7	4''	4.93 t (10.0 Hz)	69.2
5	6.79 d (8.2 Hz)	115.1	5''	3.57 m	70.7
6	6.97 d (8.2 Hz)	121.9	6''	3.65 m – 3.55 m	61
7	7.61 d (15.9 Hz)	146.7	Rhamnose		
8	6.29 d (15.9 Hz)	113.2	1'''	5.21 s	101.6
CO	-	166.9	2'''	3.94 s	71.0
Hydroxytyrosol			3'''	3.58 m	70.7
1'	-	130.1	4'''	3.32 m	72.4
2'	6.71 s	115.7	5'''	4.92 m	69.0
3'	-	144.8	CH3 (Rha) 6'''	1.12 d (6.2 Hz)	17.1
4'	-	143.3			
5'	6.79 d (8.0 Hz)	114.9			
6'	6.59 d (8.0 Hz)	119.8			
7'	2.82 m	35.2			
8'	3.75	70.9			
	4.07 (q, 8 Hz)				

نظرا للكتلة الجزيئية للمركب B<sub>5</sub> و المعلومات المتحصل عليها من أطياف الـ <sup>1</sup>H RMN ، RMN <sup>13</sup>C ، HSQC ، HMBC ، يتبين أن المركب المعزول يتكون من شقين أغليكوني وهما حمض acide-caféique و hydroxytyrosol و شقين سكريين وهما α-L-rhamnose و β-D-glucose حيث أنّ الجليكوز مستبدل في الموضع 1 من طرف hydroxytyrosol و من الموضع 3 من طرف rhamnose أما الموضع 4 فيكون مستبدل من طرف حمض الـ caféique وكل هذا يؤكد تجريبه الـ HMBC [شكل رقم:123] والذي يدل على وجود تعلق بين البروتون الأنوميري H-1''' لسكر الراموز والذي يظهر عند δ<sub>H</sub> = 5.21 ppm و الكربون C-3''' للجليكوز، بالإضافة إلى بقعة تعلق للبروتون الأنوميري للجليكوز H-1'' و الكربون C-8' بالإضافة إلى بقعة تعلق للبروتون H-4'' للجليكوز و مجموعة الكربونيل لحمض الـ caféique.

البنية الجزيئية للمركب B<sub>5</sub> توافق إذن بنية actéoside وهو مركب معروف في المراجع البيبليوغرافية حيث تم مقارنة المعطيات الطيفية للمركب مع تلك الموجودة في المراجع [10] .





بنية المركب B<sub>5</sub> (acteoside)

## التحليل البنوي للمركب B<sub>6</sub>

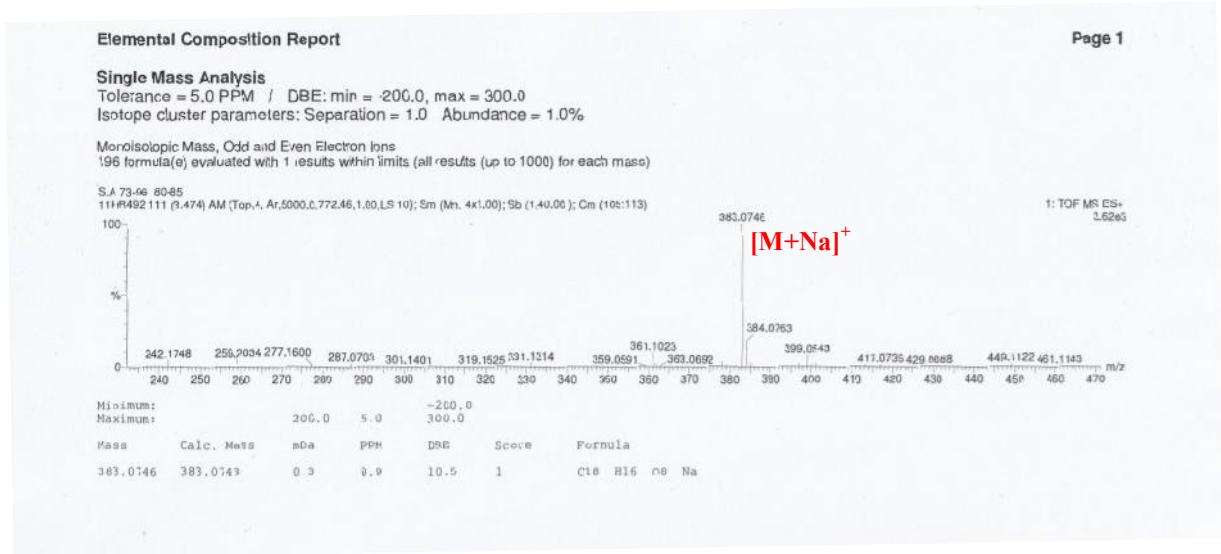
### الخصائص الفيزيوكيميائية

- المركب على شكل زيتي
- لون الإستشعاعي تحت مصباح Wood عند طول الموجة  $\lambda = 254 \text{ nm}$  أزرق مشع.
- معامل الإحتباس في النظامين التاليين :  
 $R_f = 0.18$  (Toluène/MEC/MeOH 4:3:3)  
 $R_f = 0.45$  (H<sub>2</sub>O/MeOH/MEC/Acétyletone 13:3:3:1)

### التحليل الطيفي

#### ■ مطيافية الكتلة

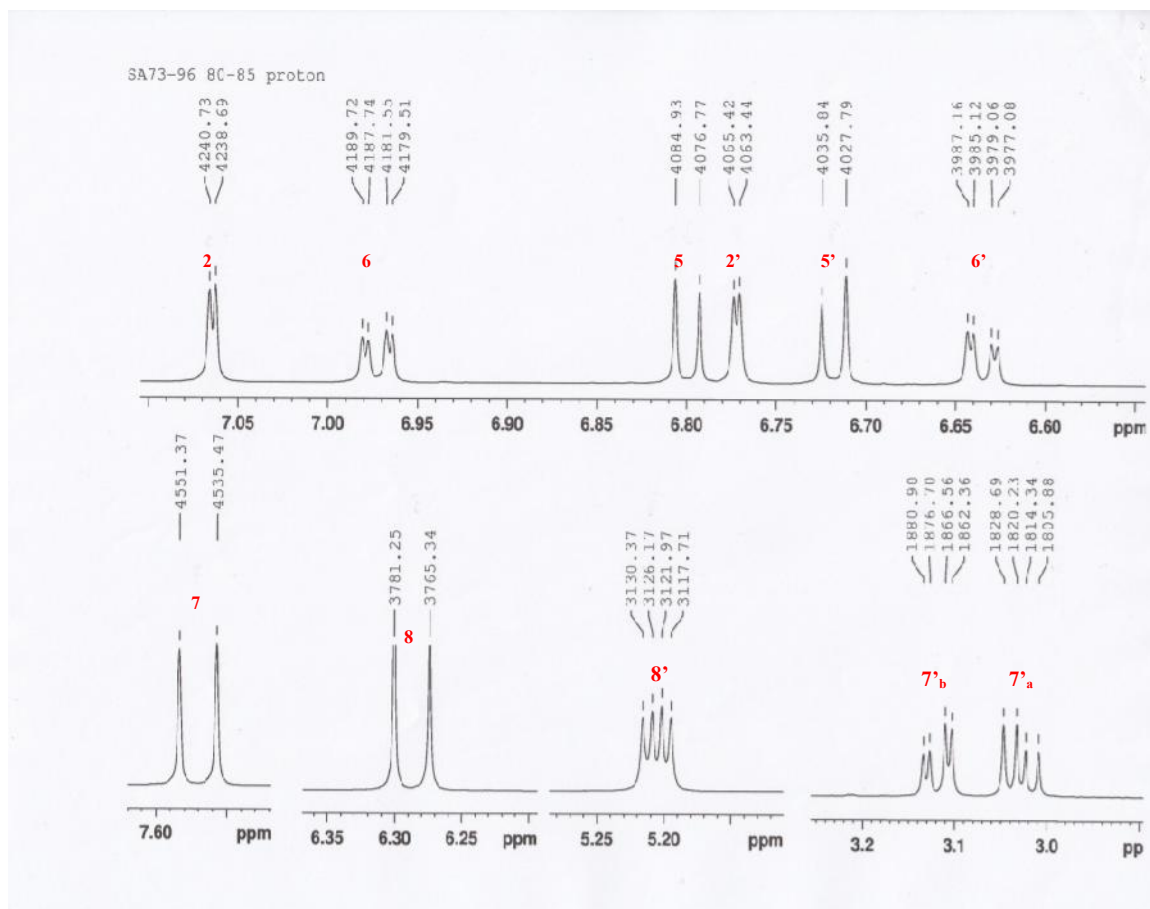
طيف الكتلة عالية الدقة (masse à haute résolution) بتقنية الإلكترونسبراي الموجبة HRESIMS [شكل رقم : 126] تظهر إشارة عند  $m/z = 383.0746$  توافق  $[M+Na]^+$  ، و تسمح بإستنتاج الكتلة الجزيئية  $M = 360$  الموافقة للصيغة المجملة  $C_{18}H_{16}O_8$ .



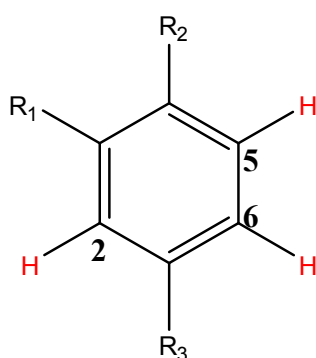
شكل رقم -126-: طيف الكتلة HRESIMS للمركب B<sub>6</sub>

#### ■ مطيافية الرنين النووي المغناطيسي

طيف ال-<sup>1</sup>H RMN [شكل رقم: 127] و طيف ال- COSY [شكل رقم: 128] يبيّنان بكل وضوح وجود نظامين من شكل ABX [شكل رقم: 129]



شكل رقم-127:- طيف الـ  $^1\text{H}$  RMN للمركب  $\text{B}_6$  (500 MHz,  $\delta_{\text{H}}$ ,  $J$  en Hz)

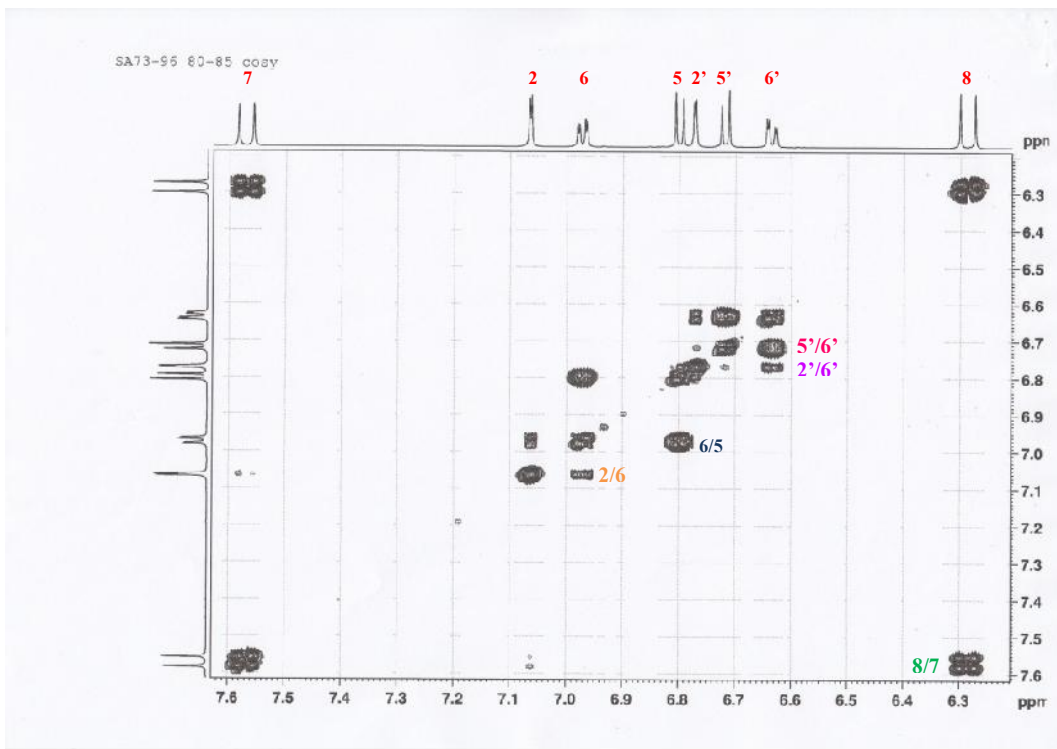
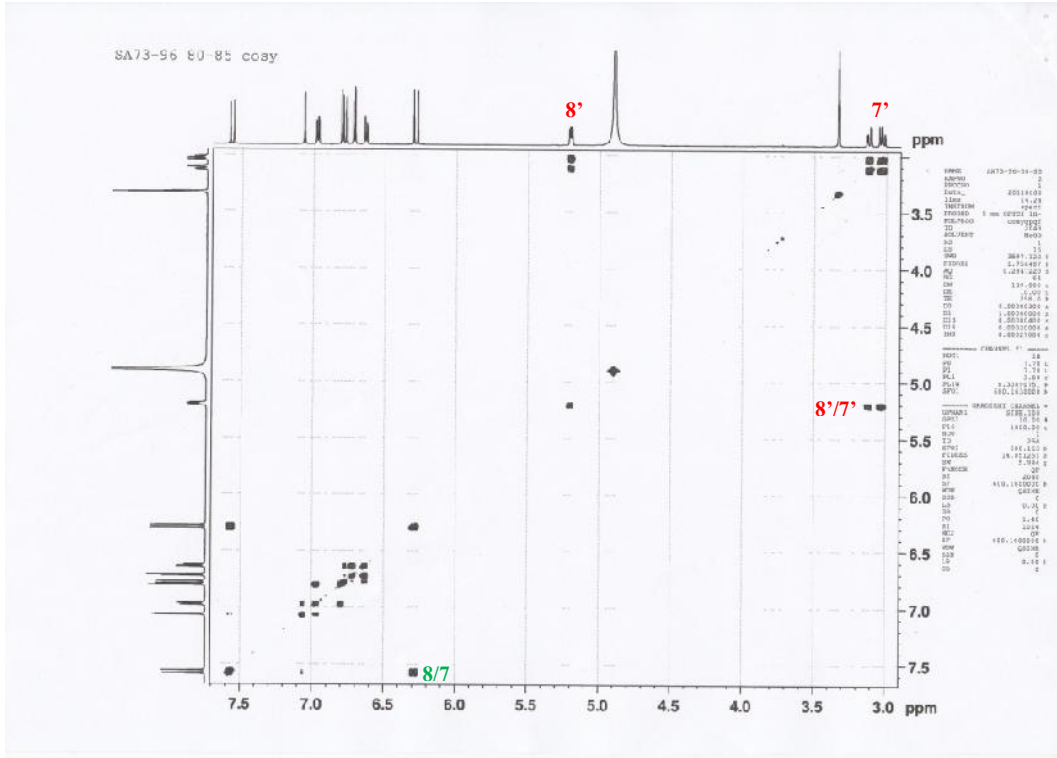


شكل رقم-129:- الجزء الأول للمركب  $\text{B}_6$

حيث تظهر قيم إشارات النظام الأول عند الإزاحات الكيميائية التالية :

$\delta_H = 6.97 \text{ ppm}$  (1H, dd,  $J = 8.2 \text{ Hz}$ ,  $J = 2 \text{ Hz}$ , H-6) ،  $\delta_H = 7.07 \text{ ppm}$  (1H, d,  $J = 2.0 \text{ Hz}$ , H-2)

و  $\delta_H = 6.80 \text{ ppm}$  (1H, d,  $J = 8.2 \text{ Hz}$ , H-5)

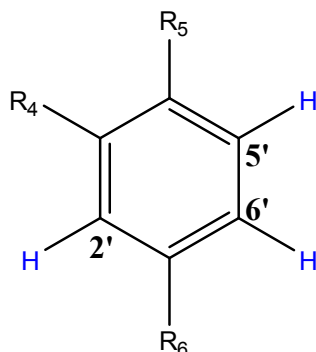


شكل رقم-128: طيف الـ COSY للمركب B<sub>6</sub>

وَ النظام الثاني [شكل رقم : 130] تظهر إشاراته عند قيم الإزاحات الكيميائية التالية :

وَ  $\delta_{\text{H}} = 6.72 \text{ ppm}$  (1H, d,  $J = 8.1 \text{ Hz}$ , H-5') ،  $\delta_{\text{H}} = 6.77 \text{ ppm}$  (1H, d,  $J = 2.0 \text{ Hz}$ , H-2')

.  $\delta_{\text{H}} = 6.64 \text{ ppm}$  (1H, dd,  $J = 8.1 \text{ Hz}$ ,  $J = 2.0 \text{ Hz}$ , H-6')

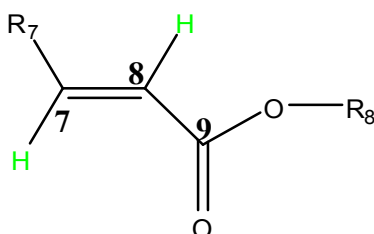


شكل رقم -130-: الجزء الثاني للمركب B<sub>6</sub>

وَ نلاحظ كذلك إشارتين ثنائيتين عند الإزاحتين الكيميائيتين

$\delta_{\text{H-8}} = 6.29 \text{ ppm}$  (1H, d,  $J = 15.9 \text{ Hz}$ ) وَ  $\delta_{\text{H-7}} = 7.57 \text{ ppm}$  (1H, d,  $J = 15.9 \text{ Hz}$ )

تشير إلى وجود بروتونين متجاورين لرابطة ثنائية بتمثيل فراغي **trans** حيث إزاحتهم الكيميائية تدل على أنّها مترافقة مع الرابطة الثنائية لمجموعة الكربونيل [131: ].



شكل رقم -131-: الجزء الثالث للمركب B<sub>6</sub>

أما بالنسبة للإشارات الثلاثة المتبقية لبروتونات متزاوجة مع بعضها البعض كما يبيّنه جليًا طيف الـ **COSY** [128: ]، منها بروتونين محمولين على نفس الكربون (géméné) حسب طيف الـ

**HSQC** [132: ] تظهران

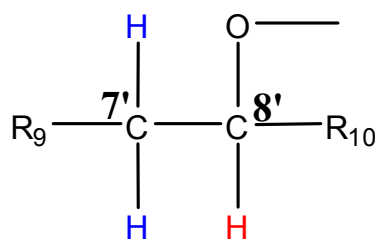
$\delta_{\text{H-7'a}} = 3.12 \text{ ppm}$  (1H, dd,  $J = 14.4-4.2 \text{ Hz}$ )       $\delta_{\text{H-7'b}} = 3.03 \text{ ppm}$  (1H, dd,  $J = 14.4-8.5 \text{ Hz}$ )

متزاوجة مع البروتون المتجاور الذي يرن عند  $\delta_{\text{H-8'}} = 5.21 \text{ ppm}$  (1H, dd,  $J = 8.4 \text{ Hz}$ ,  $J = 4.2 \text{ Hz}$ )

المتعلق مع كربون ذو الإزاحة الكيميائية  $\delta_{\text{C-8}} = 73.3 \text{ ppm}$  حسب طيف الـ **HSQC** [132: ]

وَ هذا يدل على أنّ هذا الكربون مرتبط بأوكسجين وَ منه نستنتج الجزء الأخير من هذا المركب

[133: ]



شكل رقم-133:- الجزء الرابع للمركب B<sub>6</sub>

يسمح طيف HMBC [134:

الكربونين C-6 C-2 H-7 C-7 يرن

$\delta_{C-7} = 146.3 \text{ ppm}$  البروتونين العطريين و اللذان تظهر إشارتيهما  $\delta_{H-2} = 7.07 \text{ ppm}$

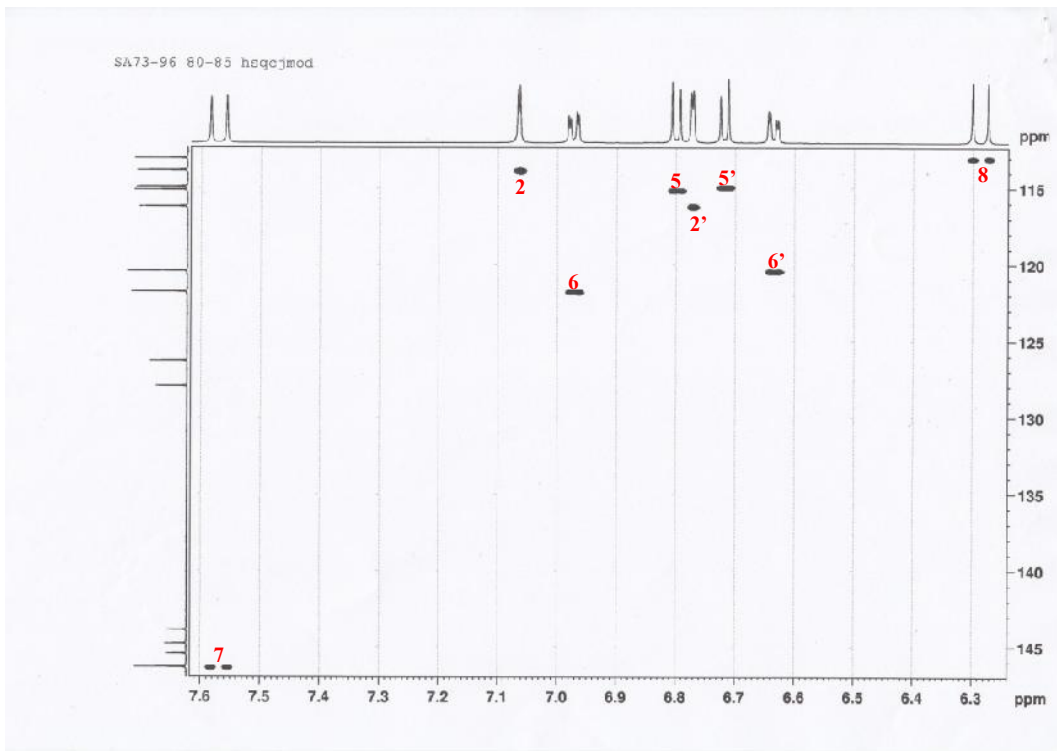
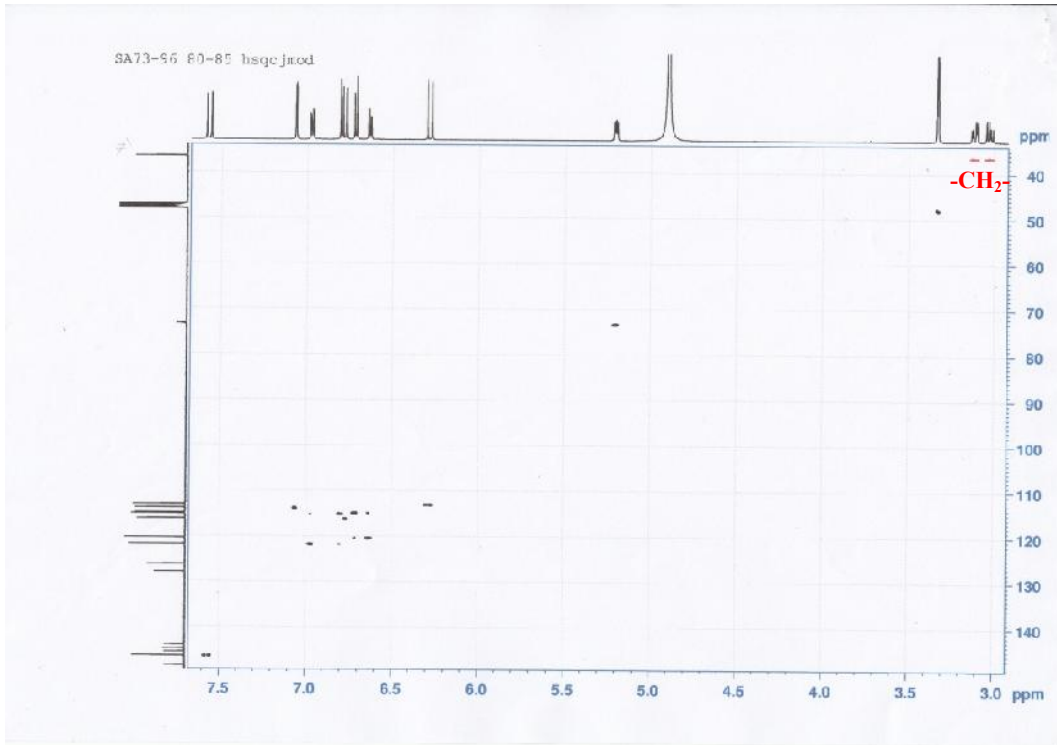
$\delta_{H-6} = 6.97 \text{ ppm}$ . من ناحية أخرى يمكن ربط الجزء و هذا من خلال نقاط تعالق

مجموعة الكربونيل C-9 و H-8' وأخيرا نستطيع ربط الجزء الرابع للمركب بالجزء الثاني و

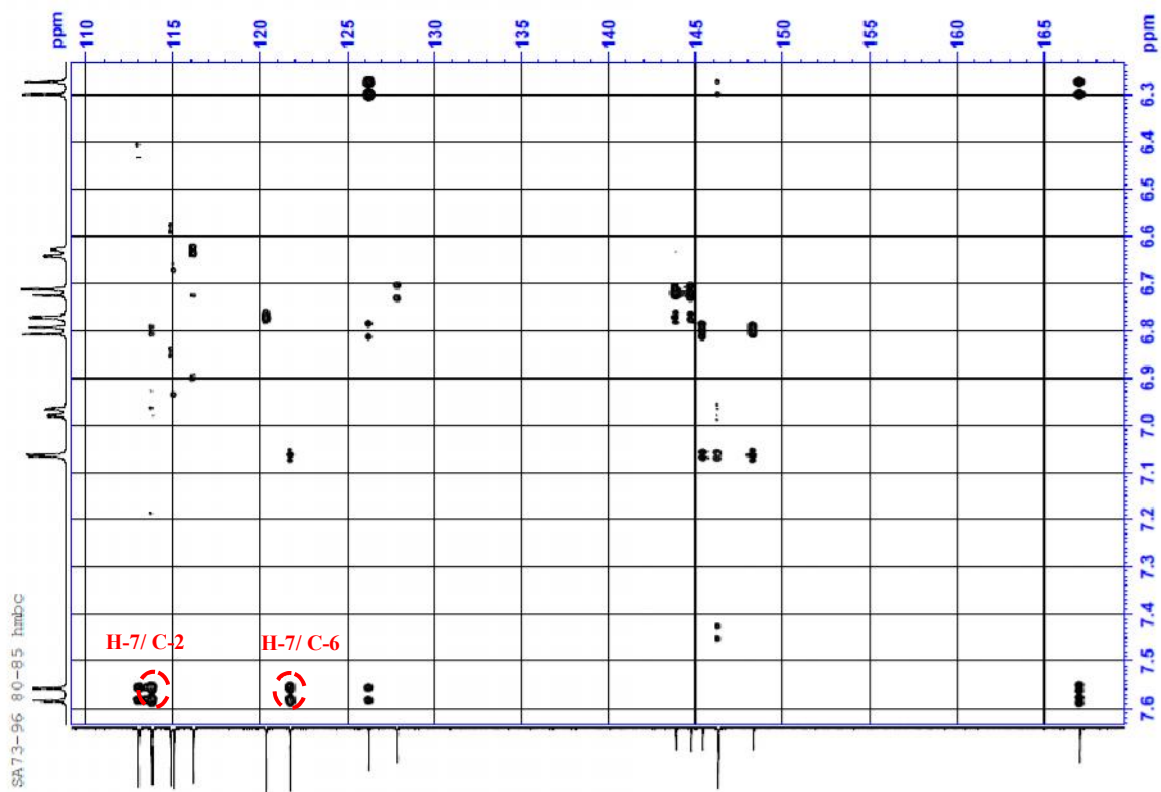
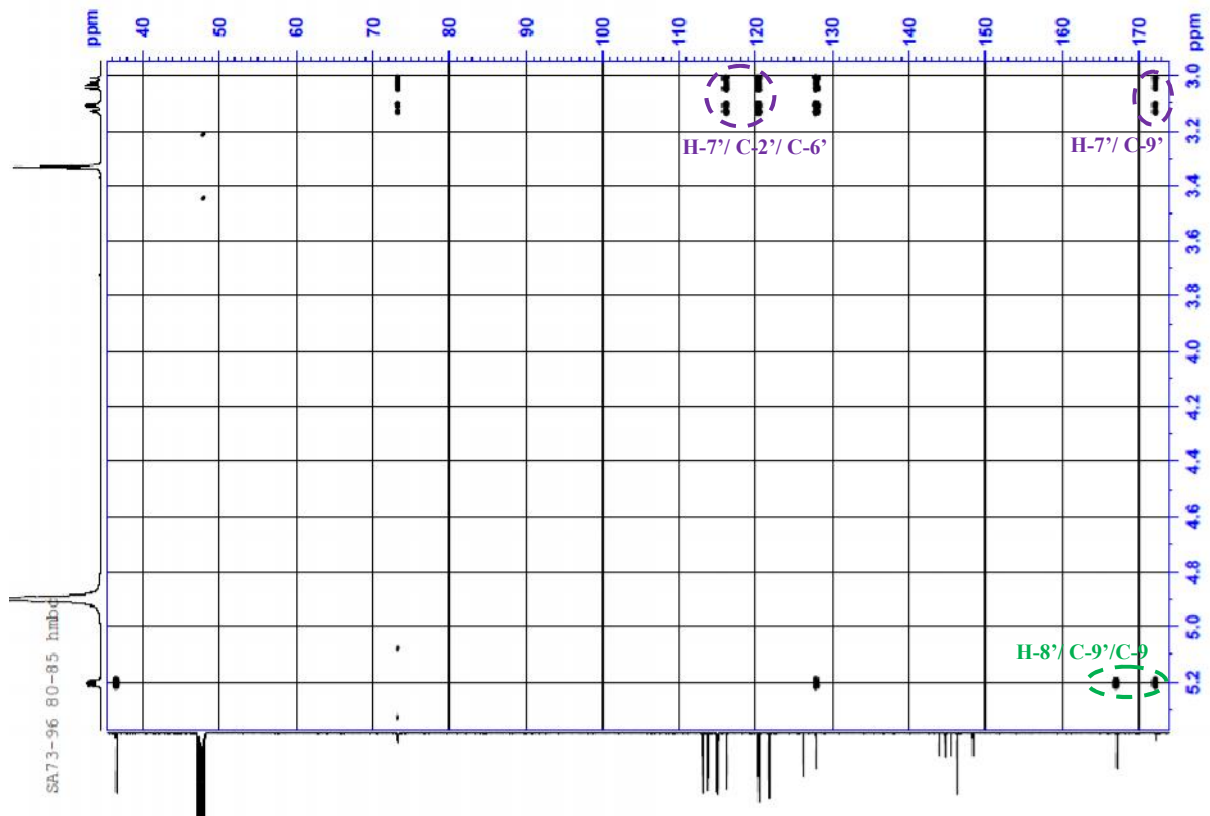
بمجموعة كربوكسيل و ذلك لوجود بقع تعالقات للبروتون H-7' C-2' C-6' C-9'

في طيف الـ HMBC [134: و من الصيغة المجملة نستنتج أن المستبدلات R<sub>1</sub> R<sub>2</sub> R<sub>4</sub>

R<sub>5</sub> عبارة عن مجموعات هيدروكسيل .



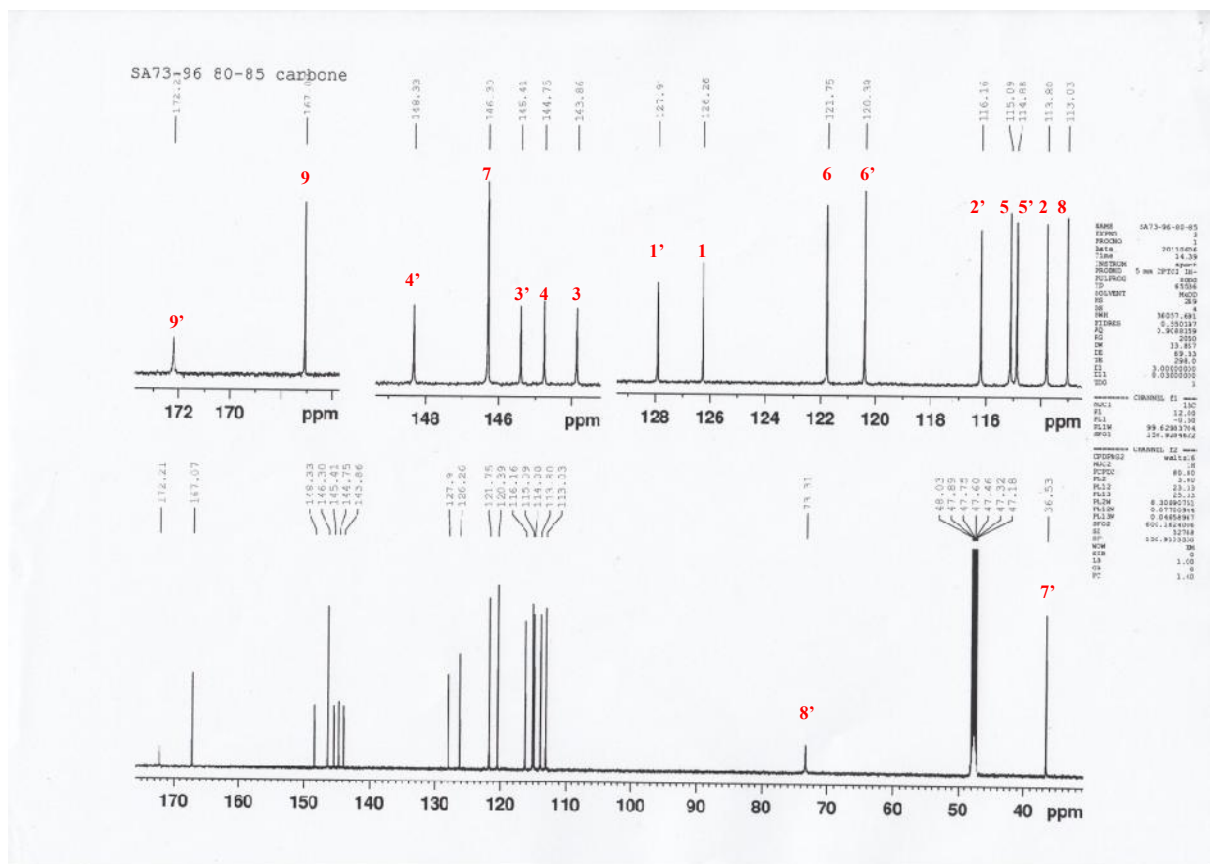
شكل رقم-132:- طيف الـ HSQC للمركب B<sub>6</sub>



شكل رقم-134:- طيف الـ HMBC للمركب B<sub>6</sub>



طيف  $^{13}\text{C}$  RMN [135: يوكد 18 يسمح  
 ثلاثية ثمانية الرباعية، حيث بين هذه  
 منها تظهر كميائية مميزة الأوكسجينية الفينولية  
 تظهر قيم الكيميائية التالية:  $\delta_{\text{C}} = 148.3$  ppm (C-4)  $\delta_{\text{C}} = 145.4$  ppm (C-3)  
 $\delta_{\text{C}} = 144.0$  ppm (C-4')  $\delta_{\text{C}} = 144.8$  ppm (C-3')  
 الكربونيل قيم الإزاحتين  $\delta_{\text{C}} = 170.8$  ppm (C-9')  $\delta_{\text{C}} = 167.0$  ppm (C-9) .  
 إشارتين لكربونين ألفيين تظهر قيمة  $\delta_{\text{C}} = 146.6$  ppm (C-7)  
 الثانية القيمة  $\delta_{\text{C}} = 113.9$  ppm هي غير قيمة  $\alpha$  يتعلق  
 الأليفينية وهذه بنية cafféoyle .



شكل رقم-135: : طيف الـ  $^{13}\text{C}$  RMN للمركب  $\text{B}_6$  (125 MHz,  $\delta_{\text{C}}$ )

مجموعة هذه النتائج تسمح لنا بإسناد بنية هذا الحمض الفينولي إلى بنية المركب

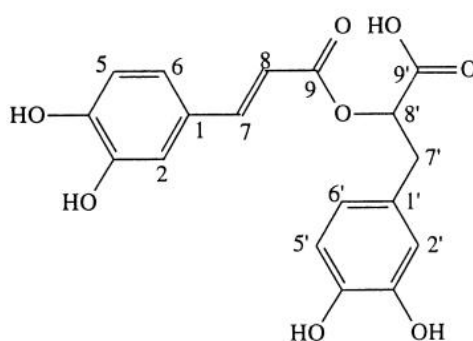
## rosmarinique

الإزاحات الكيميائية الملاحظة في طيف البروتون والكربون مدونة في الجدول -28-

الإزاحات المتحصل عليها في المراجع البيبليوغرافية [11،12].

جدول رقم -28- : الإزاحات الكيميائية للمركب B<sub>6</sub> (500 MHz, δ, J en Hz ; 125 MHz, δ) في الـ CD<sub>3</sub>OD

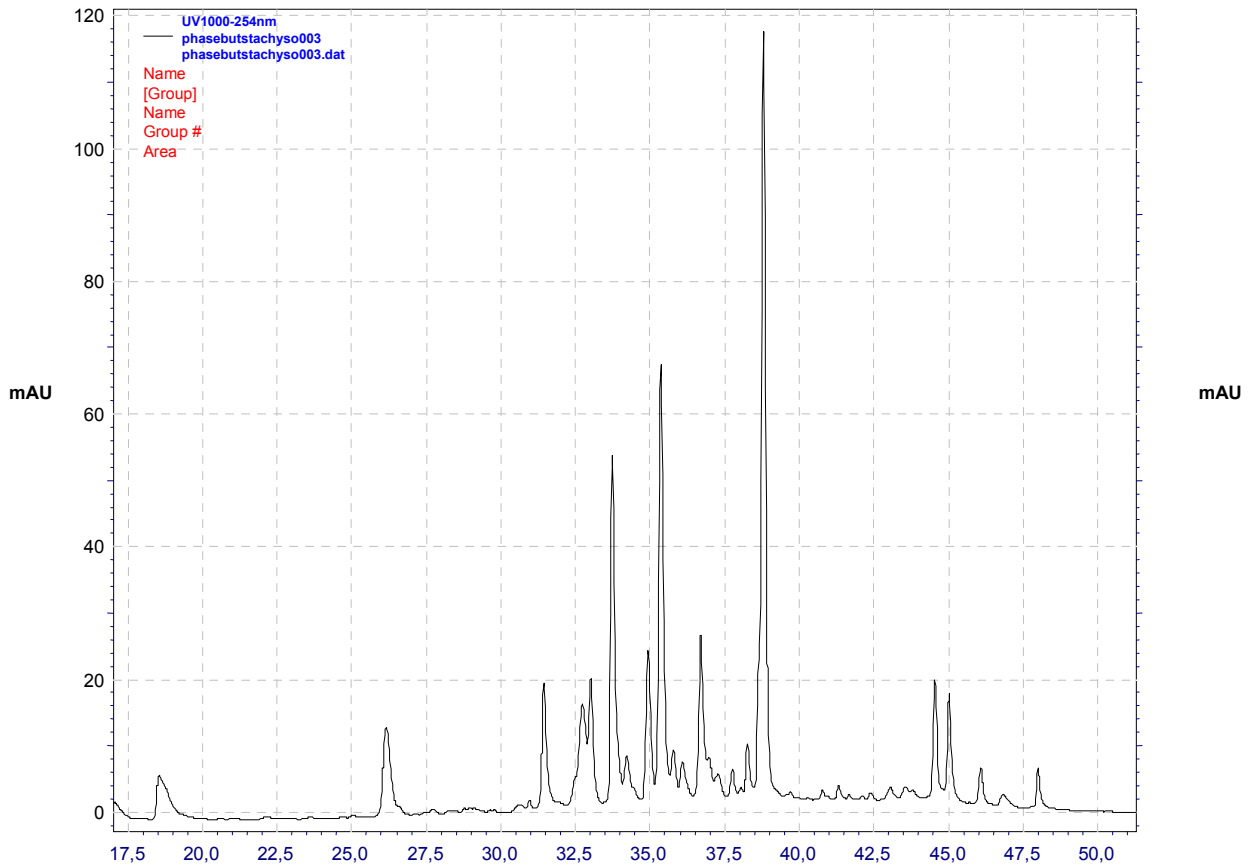
المركب B <sub>6</sub>		
الموضع	δ <sub>H</sub> (ppm) / J ( Hz)	δ <sub>C</sub> (ppm)
1	-	126.3
2	7.07 d (2.0)	113.8
3	-	145.4
4	-	148.3
5	6.80 d (8.2)	115.1
6	6.97 dd (8.2 - 2.0)	121.8
7	7.57 d (15.9)	146.3
8	6.29 d (15.9)	113.0
9	-	167.1
1'	-	127.9
2'	6.77 d (2.0)	116.2
3'	-	144.8
4'	-	143.9
5'	6.72 d (8.1)	114.9
6'	6.64 dd (8.1-2.04)	120.4
7'	3.03 dd (14.4-8.5) 3.12 dd (14.4-4.2)	36.5
8'	5.21 dd (8.4-4.2)	73.3
9'	-	172.2



Acide rosmarinique

## II- التعيين البنوي لمركبات نبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.

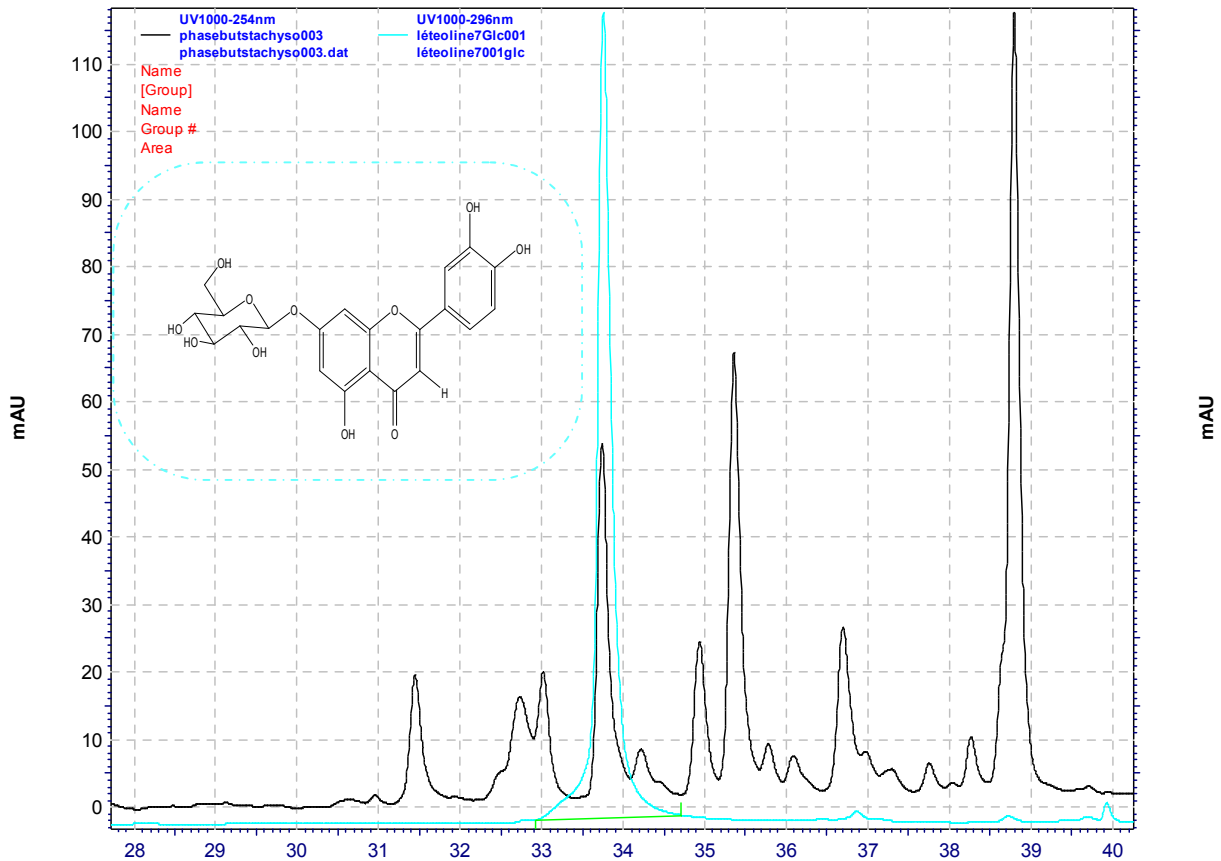
بعد التحليل الكروماتوغرافي بجهاز الـ HPLC للمستخلص البوتانولي حيث كان عمود الطور العكسي (Hypersil ODS (C<sub>18</sub>) column, 250x4.6 mm, 5Åµm) و المملص مزيج من CH<sub>3</sub>CN و H<sub>2</sub>O بإضافة H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> إلى H<sub>2</sub>O (pH = 2.5) مع زيادة في نسبة تركيز CH<sub>3</sub>CN، تحصلنا على كروماتوغرام [شكل رقم: 136] نلاحظ من خلاله وجود عدة قمم ممّا يدل على غنى المستخلص بالمركبات القطبية مثل البوليفينولات [13،14]، بعد مقارنة هذه القمم بعدة شواهد عندنا في المخبر والمنجزة في نفس الشروط تبين لنا أنّ المستخلص البوتانولي يحتوي على مركبين فلافونويدين آخرين غير تلك التي تمّ التعرف عليها في دراسة سابقة [15].



شكل رقم -136: كروماتوغرام المستخلص البوتانولي لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.

## 1-II التعيين البنيوي للمركب H<sub>1</sub>

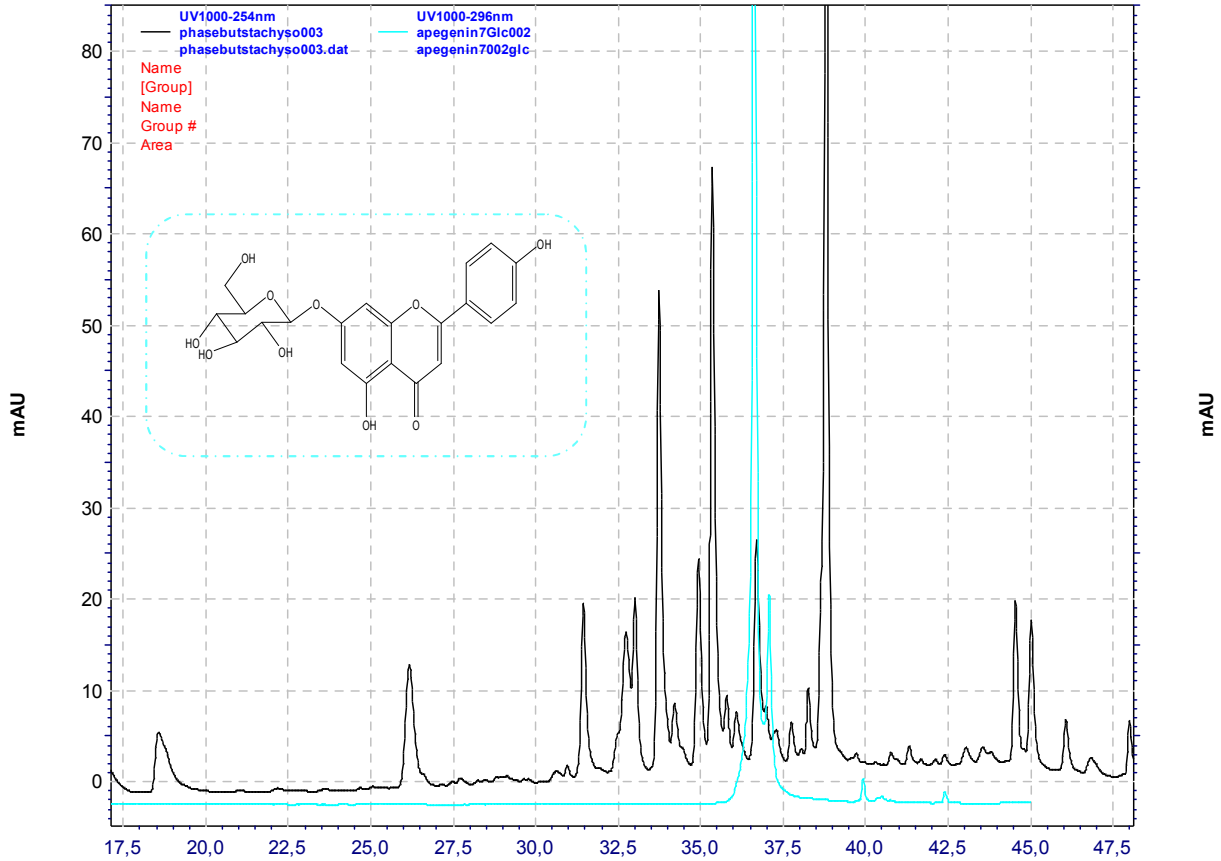
بعد مطابقة كروماتوغرام المستخلص البيوتانولي مع الشاهد [شكل رقم: 137] تبين لنا أن المركب H<sub>1</sub> الذي يظهر عند الزمن  $t_R = 33.74$  min هو المركب **lutéoline-7-O-β-D-glucoside**.



شكل رقم -137-: مقارنة كروماتوغرام المستخلص البيوتانولي لنبته *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. مع الشاهد **lutéoline-7-O-β-D-glucoside**

## 2-II التعيين البنيوي للمركب H<sub>2</sub>

بعد مطابقة كروماتوغرام المستخلص البيوتانولي مع الشاهد [شكل رقم: 138] تبين لنا أن المركب H<sub>2</sub> الذي يظهر عند الزمن  $t_R = 36.7$  min هو المركب **apigénine-7- O-β-D-glucoside**.



شكل رقم -138- : مقارنة كروماتوغرام المستخلص البيوتانولي لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. مع الشاهد **apigénine-7- O-β-D-glucoside**

### 1-III التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبته *Salvia officinalis* L.

بين التحليل الطيفي لكروماتوغرام عينة الزيت وجود 35 مركب [جدول رقم:29] تمثل نسبة 98.39% من مجمل المركبات المحتواة في هذا الزيت و التي تم التعرف عليها، حيث أظهرت النتائج وجود المركب  $\alpha$ -thujone (24.52%) و هو المركب الأكثر وفرة في عينة الزيت الأساسي لنبته *Salvia officinalis* L. تليه المركبات  $\beta$ -thujone (6.50%)، camphor (16.86%) ، 1,8-cineole (15.92%)، veridiflorol (6.35%) بتراكيز متواضعة نسبيا.

جدول -29:- مكونات الزيت الأساسي للنبته *Salvia officinalis* L.

النسبة (%)	IR (معامل الإحتباس)	المركب	النسبة (%)	IR (معامل الإحتباس)	المركب
0.37	1127	$\beta$ -Fenchyl alcohol	0.51	729	2,4-Dimethylhexane
0.10	1134	1-Terpinol	24.52	809	$\alpha$ - Thujone
16.86	1146	Camphor	1.88	838	4-Methylpentanol
1.89	1169	Borneol	3.72	930	$\alpha$ -Pinene
0.20	1172	(Z)- Pinocamphone	3.28	939	Camphene
1.64	1205	<i>p</i> -Cymene-9-ol	0.23	954	$\beta$ -Pinene
0.37	1289	Bornyl acetate	3.60	979	<i>p</i> -Cymene
0.94	1409	Z-Caryophyllene	1.09	990	Tert-butylbenzene
0.67	1420	E-Caryophyllene	1.60	1024	$\beta$ -Phellandrene
0.67	1455	$\alpha$ -Humulene	1.70	1025	Limonene
0.10	1583	$\beta$ -Cadinene	15.92	1029	1,8- Cineole
1.29	1593	Caryphyllene oxide	0.43	1060	$\gamma$ -Terpinene
6.35	1596	Viridiflorol	0.20	1070	<i>cis</i> - Sabinene hydrate
0.10	1608	Humulene epoxide	0.20	1089	Terpinolene
0.22	1651	$\beta$ -Eudesmol	0.20	1095	Linalool
0.54	2057	Manool	0.46	1097	<i>trans</i> - Sabinene hydrate
0.20	2105	Linolenic acid	6.50	1114	$\beta$ -Thujone
98.39	المجموع	المركبات التي تم تحديدها	0.2 1	1118	<i>o</i> -Isopropenyltoluene

### 2-III مقارنة مكونات الزيت الأساسي للنبته *Salvia officinalis* L. تنمو في مناطق مختلفة

بمقارنة التركيب الكيميائي للزيت المدروس من ناحية المركبات الغالبة مع التركيب الكيميائي لزيوت أخرى لنفس النوع و التي تنمو في مناطق مختلفة، تبين لنا من خلال الجدول [جدول رقم:30] على أنّ مركب  $\alpha$ - Thujone يتواجد تقريبا بصفة غالبة في جميع زيوت نبته *Salvia officinalis* L. و منه يمكن إعتباره كـ Chemotype ثم يأتي بعده المركبات camphor ، 1,8-cineole ،  $\beta$ -thujone ، Viridiflorol بنسب مختلفة على حسب المنطقة التي تنمو فيها النبتة.

جدول -30:- مقارنة مكونات الزيت الأساسي للنبته *Salvia officinalis* L. تنمو في مناطق مختلفة

منطقة تواجد نبته <i>Salvia officinalis</i> L.	المركبات الغالبة الموجودة في الزيت (%)				
	$\alpha$ - Thujone	Camphor	1,8- Cineole	$\beta$ -Thujone	Viridiflorol
باتنة	24.52	16.86	15.92	6.5	6.35
الجزائر العاصمة [16]	19.6	20.4	12.3	8.0	8.0
المغرب [17]	14.10	4.99	5.10	-	16.42
تونس [18]	7.41	14.19	16.29	17.76	4.63
صربيا [19]	37.52	13.78	14.43	4.67	1.37
كرواتيا [20]	57.0	29.1	0.9	15.0	14.2
بولونيا [21]	17.3	29.2	10.4	4.8	11.6

## المراجع

- [1] Lu, Y.H, Ji, Z., Qi, J.X., Du, C.P, Chen R.C., Wu SC. (1980). Synthesis of luteolin and kaempferol. *Acta Pharmaceut Sinica.*, 15, 447–481
- [2] Wawer I., Zielinska, A. (2001).  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magn. Reson. Chem.*, 39, 374–380
- [3] Woo ER, Piao MS. (2004). Antioxidative constituents from *Lycopus lucidus*. *Arch Pharm Res.*, 27., 173–176
- [4] Nakaoki, T. (1935). Glucoside of the flavone of the white flower. IV. Constituents of *Cosmos bipinnatus*, Cav. *Yakugaku Zasshi*, 55, 967-978.
- [5] Agrawal, P.K. (1989). Carbon-13 NMR of flavonoids. Central Institute of Medical and Aromatic Plants, India. Edition Elsevier, New York.
- [6] Oyama, K., Kondo, T. (2004). Total synthesis of 7, 4'-di-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, a component of blue flower pigment of *Salvia patens*, and seven chiral analogues. *Tetrahedron*, 60, 2025-2034.
- [7] Sarkhail, P., Monsef-Esfehani, H.R., Amin, G., Surmaghi, M.H.S., Shafiee, A. (2006). Phytochemical study of *Phlomis olivieri* Benth. and *Phlomis persica* Boiss. *Daru.*, 14(3), 115-121.
- [8] GAN, P., JING, F.Z., HAI, Y.Y., XIAO, D.Y., HONG, B.Z., LIANG, L. (2007). Arylglycerol glucosides from *Dracocephalum forrestii*. *Journal of Asian Natural Products Research.*, 9(5), 457-461.
- [9] Mahato, S.B., Kundu, A.P. (1994).  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – A compilation and some salient features. *Phytochemistry*, 37, 1517-1575.
- [10] Owen, R.W., Haubner, R., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. (2003). Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and Chem. Toxicol.*, 41, 703-717.
- [11] Wang, Z.J., Zhao, Y.Y., Wang, B., Min AI, T., CHEN, Y.Y. (2000). Depsides from *Prunella vulgaris*. *Chin. Chem. Lett.*, 11, 997–1000.
- [12] Woo, E.R., Piao, M.S. (2004). Antioxidative constituents from *Lycopus lucidus*. *Arch. Pharm. Res.*, 27, 173-176.
- [13] El-Ansari, M.A., Barron, D., Abdalla, M.F., Saleh, N.A.M., Le Quere, J.L. 1991. Flavonoid constituents of *Stachys aegyptiaca*. *Phytochemistry*, 30(4), 1169–1173.
- [14] Skaltsa, H., Georgakopoulos, P., Lazari, D., Karioti, A., Heilmann, J., Sticher, O., Constantinidis, T. 2006. Flavonoids as chemotaxonomic markers in the polymorphic *Stachys swainsonii* (Lamiaceae). *Biochem. Syst. Ecol.*, 01-04.
- [15] لكحل، هشام. (2008). رسالة الماجستير في الكيمياء العضوية، فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي لنبتة *Stachys ocymastrum* (L). Briq . جامعة قسنطينة 1.



- [16] Dob, T., Berramdane, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., Chelghoum, C. (2007). Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 34, 491-494.
- [17] Bouaziz, M., Yangui, T., Sayadi, S., Dhouib, A. (2009). Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2755–2760.
- [18] Bouajaj, S., Benyamna, A., Bouamama, H., Romane, A., Falconieri, D., Piras, A., Marongiu, B. (2012). Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Natural Product Research Ahead of Print*, 27, 1673.
- [19] Vuković-Gaćić, B., Nikčević, S., Berić-Bjedov, T., Knezević-Vukčević, J., Simić, D. (2006). Antimutagenic effect of essential oil of sage (*Salvia officinalis* L.) and its monoterpenes against UV-induced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chem Toxicol.*, 44, 1730.
- [20] Maksimović, M., Danijela, V., Mladen, M., Marija, E.S., Sabaheta, A., Sonja, S.Y. (2007). Effect of the environmental conditions on essential oil profile in two Dinaric *Salvia* species: *S. brachyodon* Vandas and *S. officinalis* L.. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 473-478.
- [21] Andrea, O., Andrea, C., Agnieszka, A., Massimo, E. M. (2013). 6- Comparative analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone in the essential oil and supercritical CO<sub>2</sub> extract of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 10, 1080.

## الفصل الثاني

---

# تقدير الفعالية البيولوجية

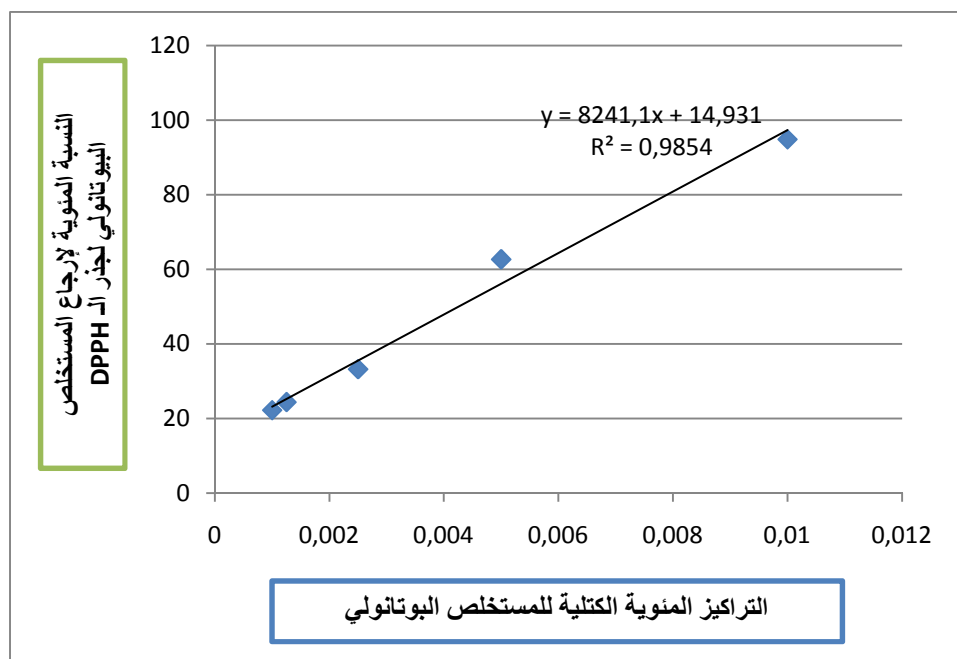
# 1- تقدير الفعالية المضادة للجذور الحرة لمستخلص البوتانولي لنبته *Stachys ocymastrum* (L.) Briq

تبيّن النتائج المحصل عليها و المدونة في الجدول -31- النسبة المئوية لإرجاع المستخلص البوتانولي للنبته *Stachys ocymastrum* (L.) Briq لجذر DPPH بدلالة تركيز المستخلص:

جدول-31:- نسبة الإرجاع للمستخلص البوتانولي للنبته *Stachys ocymastrum* (L.) Briq بدلالة مختلف تراكيز المستخلص DPPH لجذر

نسبة إرجاع DPPH (%)	تراكيز المستخلص البوتانولي للنبته <i>Stachys ocymastrum</i> (L.) Briq (mg/ml)
94,84	0,01
62,69	0,005
33,23	0,0025
24,41	0,00125
22.26	0,001

هذه القيم يمكن تمثيلها على المنحنى البياني التالي شكل -137- :



شكل -137- : النسبة المئوية لإرجاع المستخلص البوتانولي *Stachys ocymastrum* (L.) Briq لجذر DPPH بدلالة تركيز المستخلص

## ❖ تحديد قيمة IC<sub>50</sub>

من خلال المنحنى البياني تم حساب قيمة التركيز الموافق لـ 50% من نسبة الإرجاع اعتمادا على معادلة المنحنى التالية :

$$Y = 8241,1X + 14,931$$

إذا كانت Y نسبة الإرجاع المقدره بـ 50% تكون قيمة IC<sub>50</sub> كما يلي:

$$X = (50 - 14,931) / 8241,1 = 0.0043$$

و بهذا يكون تركيز المستخلص البوتانولي المؤدي إلى 50% من الإرجاع هو:

$$\text{IC}_{50} = 4.3 \mu\text{g/ml}$$

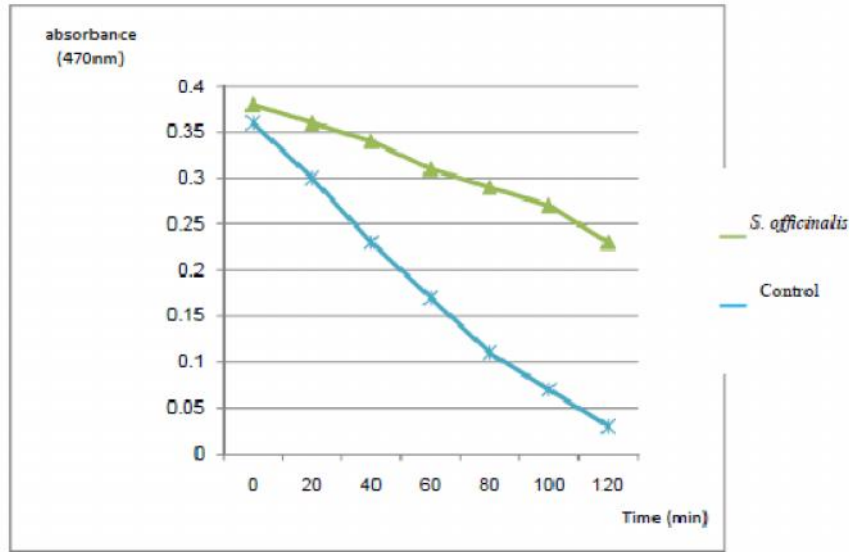
بينت النتائج المحصل عليها فعالية المستخلص البوتانولي للنبته *Stachys ocymastrum* (L.) Briq في أسر والتقاط الجذور الحرة، حيث قدر التأثير الأسر لجذر DPPH بـ 95.96% وهذا عند التركيز 0.05 mg/ml أما التركيز الأسر لـ 50% فقدر بـ 4.3 µg/ml وَ هو جيّد جدا مقارنة بالقيمة المرجعية لمركب الـ Rutin (3.01 µg/ml) وَ كذا القيم المتحصل عليها للمستخلص الميثانولي لبعض النباتات المنتمية لجنس *Stachys* [1] وَ المدونة في الجدول-32. من خلال هذه النتائج نستنتج على أنّ قدرة المستخلص البوتانولي لنبته *Stachys ocymastrum* (L.)Briq ترجع إلى غنى المستخلص بالمركبات الفلافونويدية التي لها القدرة على أسر الجذر الحر لمركب الـ DPPH.

جدول رقم -32:- قدرة تأثير الأسر لجذر DPPH لبعض مستخلصات النباتات المنتمية لجنس *Stachys*

IC <sub>50</sub> (µg/ml)	العينة
4.3	المستخلص البوتانولي لنبته <i>Stachys ocymastrum</i> (L.)Briq
16.1	المستخلص الميثانولي لنبته [1] <i>Stachys sylvatica</i>
10.7	المستخلص الميثانولي لنبته [1] <i>Stachys salviifolia</i>
5.97	المستخلص الميثانولي لنبته [1] <i>Stachys recta subsp. Subcrenata</i>
1.96	المستخلص الميثانولي لنبته [1] <i>Stachys recta subsp. Recta</i>
3.01	المركب المرجعي [1] Rutin الـ

## 2- تقدير الفعالية المضادة للجذور الحرة للزيت الأساسي لنبته *Salvia officinalis* L.

يظهر لنا المنحنى شكل -138- الخاص بالفعالية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي حسب طريقة  $\beta$ -carotene Bleaching methode على أنّ الزيت له فعالية جيدة عند التركيز 4 mg/ml حيث تكون قيمة أحسن تثبيط بنسبة % 55.46 . أمّا بمقارنة هذه النسبة مع نباتات أخرى من نفس الجنس جدول رقم -33- نلاحظ أنّ الفعالية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي لنبته *Salvia officinalis* L. ضعيفة و هذا راجع لمكونات الزيت الأساسي و كذا نسبة بعض مركباته مثل (15.92 %) 1,8-cineole ، (16.86 %) Camphor و (1.89 %) borneol [2].



شكل 138-: حركية تبيض  $\beta$ -carotene عند 470 nm بحضور وغياب الزيت الأساسي لـ *Salvia officinalis* L.

جدول رقم 33-: الفعالية المضادة للجذور الحرة لزيوت أساسية لبعض نباتات جنس *Salvia* حسب طريقة

#### $\beta$ -carotene Bleaching method

$\beta$ -carotene/linoleic acid inhibition (%)	النبته (الزيت الأساسي)
55.46	<i>Salvia officinalis</i> L.
87.6	<i>Salvia aucheri</i> var. <i>aucheri</i>
92.4	<i>Salvia aramiensis</i>
81.1	<i>Salvia pilifera</i>

#### 3- تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي للنبته *Salvia officinalis* L.

فكما ذكرنا سابقا تمت القراءة بعد مرور 18 ساعة بقياس مناطق التثبيط (Zone d'inhibition) بواسطة

مسطرة، النتائج المتحصل عليها مدونة في الجدول رقم 34-:

جدول رقم-34:- الفعالية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي للنبنة *Salvia officinalis* L. (أقطار مناطق التثبيط قيم الـ CMI)

قيم الـ CMI (µg/ml)	قطر التثبيط (mm)	السلالة البكتيرية
	المحلول الأم (20 µl/disque)	
80	20	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
80	21	<i>Escherichia coli</i> (SH)
-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SH)
-	-	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300
20	23	<i>Streptococcus homeolytic</i> (SH)
-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC
-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (SH)

أعطى الزيت الأساسي للنبنة *Salvia officinalis* فعالية مضادة للبكتيريا جيدة مع ثلاثة سلالات من بين ثمانية وهي *Escherichia coli* ATCC 25922 ، *Escherichia coli* (SH) ، *Streptococcus homeolytic* (SH) حيث قدرت أقطار مناطق التثبيط لهذه السلالات بـ 20 mm ، 21 mm و 23 mm على الترتيب و ترجع هذه الفعالية إلى وجود بعض المركبات في الزيت لها فعالية ضد هذه السلالات وبالأخص مركبي 1,8-cineole و Camphor [2]، كما أظهرت السلالات الأخرى المتبقية مقاومة كبيرة للزيت الأساسي لنبنة *Salvia officinalis* L. حيث لم يظهر له أي مفعول.

## المراجع

- [1] Vjera, B.V., Adelheid H. B., Misko, P. (2007). Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa. Food. Chemistry, 104, 1277-1281.
- [2] Mustafa, K., Bektas, T. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. Bioresource Technology, 99, 4096–4104.



## الخاتمة

لقد انصب اهتمام مخبر LOST منذ سنوات على دراسة النباتات الطبية الجزائرية، و كإمتداد لهذه الأبحاث قمنا باختيار ثلاثة أنواع نباتية تنتمي إلى عائلة Lamiaceae و التي تتميز بفعالية بيولوجية عالية و الخاضعة للدراسة و التنقيب بصفة مكثفة كما بيّنه البحث الببليوغرافي في الجزء الأول من هذه الرسالة فالنبتتين الأولى و الثانية تمّ قطفهما في نواحي قسنطينة (شرق الجزائر) و هما:

*Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab

*Stachys ocymastrum* (L.) Briq.

أمّا بالنسبة للنبتة الثالثة *Salvia officinalis* L. فهي جد معروفة، لأنها مستعملة في الطب التقليدي لكونها تمتلك خاصيات بيولوجية هامة و تستعمل ضد البكتيريا، ضد الأكسدة و مضادة للتشنج.

كان الهدف الأساسي هو فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي لكل من النبتتين

*Stachys ocymastrum* (L.)Briq. و *Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab

و فصل الزيت الأساسي للنبتة *Salvia officinalis* L.

و أخيرا دراسة الفعالية البيولوجية للزيت الأساسي المفصول و كذلك للمستخلص البيوتانولي لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq.

أدت الدراسة الفيتوكيميائية للنبتتين *Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab و *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. إلى فصل 21 مركب باستعمال مختلف التقنيات الكروماتوغرافية (كروماتوغرافيا العمود CC، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM، كروماتوغرافيا السائلة عالية الكفاءة (HPLC). و استخدمت مختلف الطرق الفيزيائية من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV، مطيافية الكتلة عالية الدقة بتقنية الإلكتروسبراي (HRESIMS) و مطيافية الرنين النووي المغناطيس ( $^1\text{H}$  RMN،  $^{13}\text{C}$  RMN، HMBC، COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ، HMQC، NOESY، ROESY) كل هذه التقنيات أدت إلى تحديد الصيغ المفصلة التالية:

➤ أولاً: بالنسبة للنبتة *Salvia argentea var. aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab

أ- من مستخلص الـ Exsudat تم فصل 12 مركب تربيين ثلاثي و فلافون واحد، حيث 11 فصلت لأول مرة في المملكة النباتية ماعدا التربيين الثلاثي (رقم 13) فقد فصل لأول مرة من الجنس و هي:

1- luteolin

2- 11 $\alpha$ -methoxyurs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$ -triol

3- urs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ , 15 $\alpha$ -tetraol

- 4- 11 $\alpha$ -methoxyurs-12-ene 1 $\beta$ ,3 $\beta$  diol
- 5- 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$  trihydroxy-11 $\alpha$ -methoxyurs-12-en-28-al
- 6- 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$ -trihydroxyurs-12-en-28-al
- 7- urs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 28 $\beta$ -tetraol
- 8- 11 $\alpha$ -methoxyurs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 28 $\beta$ -triol
- 9- 13 $\beta$ , 28 $\beta$ -epoxy-urs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 15 $\alpha$ -triol
- 10- urs-12-ene-3 $\beta$ ,7 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,28 $\beta$  tetraol
- 11- olean-12-ene-3 $\beta$ , 7 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 28 $\beta$ -tetraol
- 12- 1 $\beta$ , 25 $\beta$ -epoxy-urs-12-ene-3 $\beta$ , 11 $\alpha$ , 28 $\beta$ -triol
- 13- urs-12-ene-1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 11 $\alpha$ -triol

بـ من المستخلص البيوتانولي تمّ فصل 6 مركبات:

• فلافونويدين و هما:

1- lutéoline-7-O- $\beta$ -D-glucoside

2- apigénine-7-glucoside

• مشتق لفينول بسيط و هو

3- threo-guaiacylglycerol 3-O-(6-O-*p*-hydroxybenzoyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside

• صابونين لأول مرة حسب علمنا من المملكة النباتية و هو:

4- 2, 3, 21, 23 tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid-28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(2-1)- $\beta$ -D-glucopyranoside

• مشتق لإستر فينيل بروبانويد سكري و هو:

5- actéoside (verbascoside)

• و أخيرا مشتق لحمض السيناميك و هو:

6- acide rosmarinique

➤ ثانياً: من المستخلص البيوتانولي لنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. فقد تم التعرف على مركبين من نوع الفلافون جليكوزيلية وهما:

1- *lutéoline-7-O-β-D-glucoside*

2- *apigénine-7-O-β-D-glucoside*

و تشير أنّ هذه النبتة قد فصل منها 4 فلافونويدات أخرى خلال دراسة سابقة لنيل شهادة الماجستير.

مكننا تحليل GC و GC/MS للزيت الأساسي للنبتة *Salvia officinalis* L. من التعرف على 35 مركب، حيث تمثل هذه المركبات نسبة 98.39 % من مجمل المركبات المحتواة في هذا الزيت، المركبات التي ظهرت بنسبة أكبر من 5 % تتمثل في ( $\alpha$ -thujone (24.52%) ، camphor (16.86%) ، 1,8-cineole (15.92%) ،  $\beta$ -thujone (6.50%) ، veridiflorol (6.35%).

كما أظهر الزيت الأساسي للنبتة *Salvia officinalis* L. فعالية مضادة للبكتيريا جيدة خاصة مع السلالات المرجعية *Streptococcus homeolytic* ، *Escherichia coli* (HS) ، *Escherichia coli* ATCC 25922 (HS) حيث أعطى الزيت الأساسي أقطار مناطق تثبيط مقدر بـ 20 mm ، 21 mm و 23 mm على الترتيب و التي توافق قيم CMI التالية (80  $\mu$ g/ml) ، (80  $\mu$ g/ml) ، (20  $\mu$ g/ml). كما أظهر الزيت الأساسي فعالية مضادة للجذور الحرة معتبرة باستعمال طريقة  $\beta$ -carotene حيث كانت أحسن قيمة تثبيط مفاصة عند القيمة 4 مغ/مل بنسبة 55.46 % .

أما المستخلص البوتانولي للنبتة *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. فقد أظهر فعالية مضادة للجذور الحرة جيدة جداً باستعمال طريقة الـ DPPH، حيث قدر تثبيط 50 % من الـ DPPH عند التركيز 4.3  $\mu$ g/ml للمستخلص (IC<sub>50</sub> = 4.3  $\mu$ g/ml).



Scholars Research Library

Der Pharmacia Lettre, 2013, 5 (3):310-314  
(<http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>)



## Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Salvia officinalis* from Batna (Algeria)

Lakhal H<sup>1</sup>, Ghorab H<sup>1</sup>, Chibani S<sup>1</sup>, Kabouche A<sup>1</sup>, Semra Z<sup>1,2</sup>, Smati F<sup>2</sup>, Abuhamdah S<sup>3</sup>  
and Kabouche Z<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>University of Constantine 1, Department of chemistry, LOST 25000 Constantine, Algeria

<sup>2</sup>CHU Benbadis-Constantine, Service de Bacteriologie, 25000 Constantine, Algeria

<sup>3</sup>University of Jordan, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Sciences, Amman 11942, Jordan

### ABSTRACT

The hydrodistilled essential oil of fresh aerial parts of *Salvia officinalis*, collected at Batna (Eastern Algerian) was analyzed by GC and GC/MS. 35 components representing 98.39 % of the essential oil were detected with  $\alpha$ -thujone (24.52%), 1,8- cineole (15.92%), camphor (16.86%),  $\beta$ -thujone (6.50%) and veridiflorol (6.35%), as the major components. The antibacterial activity of the essential oil was tested against eighth gram-positive and gram-negative bacteria by the use of the disc diffusion method. The antioxidant activity was also investigated by the use of  $\beta$ -carotene bleaching method.

**Keywords:** *Salvia officinalis*, Antioxidant activity, Linoleic acid,  $\beta$ -carotene, Antibacterial activity.

### INTRODUCTION

The genus *Salvia* (commonly known as sage) belongs to the family Lamiaceae, which is a large cosmopolitan family comprising about 252 genera and 7200 species [1,2]. Various species of *Salvia* are used as flavorings, food condiments, cosmetics, perfume additives and as herbal medicine e.g. antibacterial, antiviral, antitumor, spasmolytic, antioxidant and anti-inflammatory [3-5]. In continuation of our works on Lamiaceae [6-25], we report here the GC and GC/MS analyses, the antibacterial and the antioxidant activities of the essential oil of *Salvia officinalis* collected from Batna (Eastern Algerian) which is traditionally used as emmenagogue and antispasmodic.

### MATERIALS AND METHODS

#### Plant Material

Fresh aerial parts of *Salvia officinalis*, collected from Batna (Eastern Algerian) was collected in May 2013. A voucher specimen was deposited at the herbarium of the University of Constantine 1, Algeria (LOSTSo /05/13).

#### Extraction of the essential oil

The hydrodistillation of fresh aerial parts (100 g) of *Salvia officinalis*, collected from Batna, for 3h in a Clevenger-type apparatus, according to the British Pharmacopeia, yielded 2.1 % of a yellow good smell essential oil.

#### Gas chromatography

GC analysis was performed on a Shimadzu GC17A gas chromatograph equipped with a split/splitless injector (250°C) and a flame ionization detector (250°C). Retention times for comparison with authentic compounds were measured using a cross-linked DB5-MS column (40 m  $\times$  0.18 mm, film thickness 0.18  $\mu$ m). The oven temperature was programmed as isothermal at 60°C for 5 min, then raised to 275°C at 5°C/min and held at this temperature for 5

min. Helium was used as the carrier gas at a rate of 1 ml/min. Relative percentage amounts were calculated from peak area without the use of correction factors.

#### Gas Chromatography-Mass spectrometry

Gas chromatography-mass spectrometry: GC-MS was performed using a Shimadzu QP5050 mass selective detector using a cross-linked DB5-MS column (40 m × 0.18mm, film thickness 0.18 μm). The oven temperature was programmed as isothermal at 60°C for 5 min, then raised to 275°C at 5°C/min and held at this temperature for 5 min. Helium was used as the carrier gas at a rate of 1 ml/min. 0.1 μl oil was introduced directly into the source of the MS via a transfer line (280°C) with a split ratio of 1:50 and a linear velocity of 30.0 cm/sec. Ionization was obtained by electron impact (70 eV, source temperature 200°C, resolution 1000).

#### Identification of components

Essential oil components were identified based on their retention indices (determined with reference to a homologous series of normal alkanes), and by comparison of their mass spectral fragmentation patterns with those reported in the literature [26,27] and with authentic compounds.

#### Antibacterial activity

The antibacterial activity of the essential oil was tested against a range of microorganisms, namely *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* ATCC, *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus*. The reference strains were obtained from the Pasteur Institute (Algiers). The other strains were obtained from the laboratory of bacteriology, Benbadis Hospital, Constantine, using conventional methods (clinical isolation) [28].

#### Antioxidant activity: β-carotene bleaching test

The antioxidant activity of the essential oil was evaluated by β-carotene–linoleic acid model system [29]. 0.5 mg of β-carotene in 1 mL of chloroform was added to 25 μL of linoleic acid and 200 mg of Tween 40 emulsifier mixture. After chloroform was evaporated under vacuum, 100 mL of distilled water saturated with oxygen were added by vigorous shaking. Four thousand microliters of this mixture were transferred into deferent test tubes containing different concentrations of the sample. As soon as the emulsion was added to each tube, the zero time absorbance was measured at 470 nm using a spectrophotometer. The emulsion system was incubated for 2 h at 50°C. A blank, devoid of β-carotene, was prepared for background subtraction. Vitamin E was used as standards. The bleaching rate (R) of β-carotene was calculated according to the following equation:

$$R = \ln (a/b)/t$$

Where ln is the natural log, a is the absorbance at time 0, b is the absorbance at time t (120 min) [30]. The antioxidant activity (AA) was calculated in terms of percent inhibition relative to the control, using following equation:

$$AA = [(R_{\text{control}} - R_{\text{sample}}/R_{\text{control}}) \times 100]$$

## RESULTS AND DISCUSSION

#### Chemical composition of the essential oil

The hydrodistillation of flowering *Salvia officinalis*, collected from Batna, yielded 2.1% (w/w) of a yellowish good smell oil. 35 compounds were identified by GC and GC/MS, representing 98.39% of the total essential oil characterized by the main presence of α-thujone (24.52%), camphor (16.86%), 1,8-cineole (15.92%), β-thujone (6.50%) and veridiflorol (6.35%). The chemical composition of the present oil was found to be nearly similar to those of species collected from Algeria [31], Italy [32], Tunisia [33] and India [34], which were mainly represented by α-thujone, 1,8-cineole and camphor. Great amounts of α-thujone (34.42 %, 31.23-52%, 31.56%) were found in oil compositions of species collected from of Tunisia [33], Romania [35] and Georgia [36], respectively while camphor (20.4%, 20.69-54%, 29%, 8,58-31,89%, 5.10 -16.82%) [31,37], 1,8-cineole (32-35%) [32,38], and viridiflorol (16.42-9.92%, 9.94-19.46%) [39-41] were found to be high-contents of *S. officinalis* oils from Algeria, Italy, Algeria, Morocco, Tunisia and Egypt, respectively.

#### Antibacterial activity

The antibacterial activity of *Salvia officinalis* essential oil was tested against several microorganisms (Table 2). The essential oil exhibited the best antibacterial activity against, ATCC 25922, *E. coli* (HS) and *Streptococcus homeolytic* with 20, 21 mm and 23 mm inhibition zone diameters, respectively.

**Table 1: Chemical composition, Retention indices and percentage composition of the essential oil of *Salvia officinalis* collected from Batna.**

Pic	Compounds <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	(%)
1	2,4-Dimethylhexane	729	0.51
2	$\alpha$ - Thujone	809	<b>24.52</b>
3	4-Methylpentanol	838	1.88
4	$\alpha$ -Pinene	930	3.72
5	Camphene	939	3.28
6	$\beta$ -Pinene	954	0.23
7	<i>p</i> -Cymene	979	3.60
8	Tert-butylbenzene	990	1.09
9	$\beta$ -Phellandrene	1024	1.60
10	Limonene	1025	1.70
11	1,8- Cineole	1029	<b>15.92</b>
13	$\gamma$ -Terpinene	1060	0.43
14	Terpinolene	1089	0.20
15	Linalool	1095	0.20
16	<i>trans</i> - Sabinene hydrate	1097	0.46
17	$\beta$ -Thujone	1114	<b>6.50</b>
18	<i>o</i> -Isopropenyltoluene	1118	0.21
19	$\beta$ -Fenchyl alcohol	1127	0.37
20	1-Terpinol	1134	0.10
21	Camphor	1146	<b>16.86</b>
22	Borneol	1169	1.89
23	(Z)- Pinocamphone	1172	0.20
24	<i>p</i> -Cymene-9-ol	1205	1.64
25	Bornyl acetate	1289	0.37
26	Z-Caryophyllene	1409	0.94
27	E-Caryophyllene	1420	0.67
28	$\alpha$ -Humulene	1455	0.67
29	$\beta$ -Cadinene	1583	0.10
30	Caryophyllene oxide	1593	1.29
31	Viridiflorol	1596	<b>6.35</b>
32	Humulene epoxide	1608	0.10
33	$\square$ -Eudesmol	1651	0.22
34	Manool	2057	0.54
35	Linolenic acid	2105	0.20
	<b>Identified compounds</b>	<b>Total</b>	<b>98.39</b>

<sup>a</sup>Compounds listed in order of their RI<sup>b</sup>RI (retention index) measured relative to *n*-alkanes (C6-C24) using DB5-MS column**Table 2: Antibacterial activity (inhibition zones and MIC) of the essential oil of *S. officinalis* collected from Batna.**

Microrganism	Inhibition zone <sup>a</sup> (mm)	MIC ( $\mu$ g/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20	80
<i>Escherichia coli</i> (HS)	21	80
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2785.	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (HS)	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	-	-
<i>Streptococcus homeolytic</i> (HS)	23	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (HS)	-	-

<sup>a</sup>: (128  $\mu$ g/ml)

HS : Hospital strain

### Antioxidant activity

*Salvia* species have been reported as potent natural antioxidants [37]. In this study, total antioxidant activity, by  $\beta$ -carotene bleaching method [25] assays, of the essential oil of *Salvia officinalis* collected from Batna, was carried out. The activity was increased as dose dependent. The essential oil exhibited a good activity, the best inhibition (55.46 %) was measured at 4 mg/ml (Figure 1)

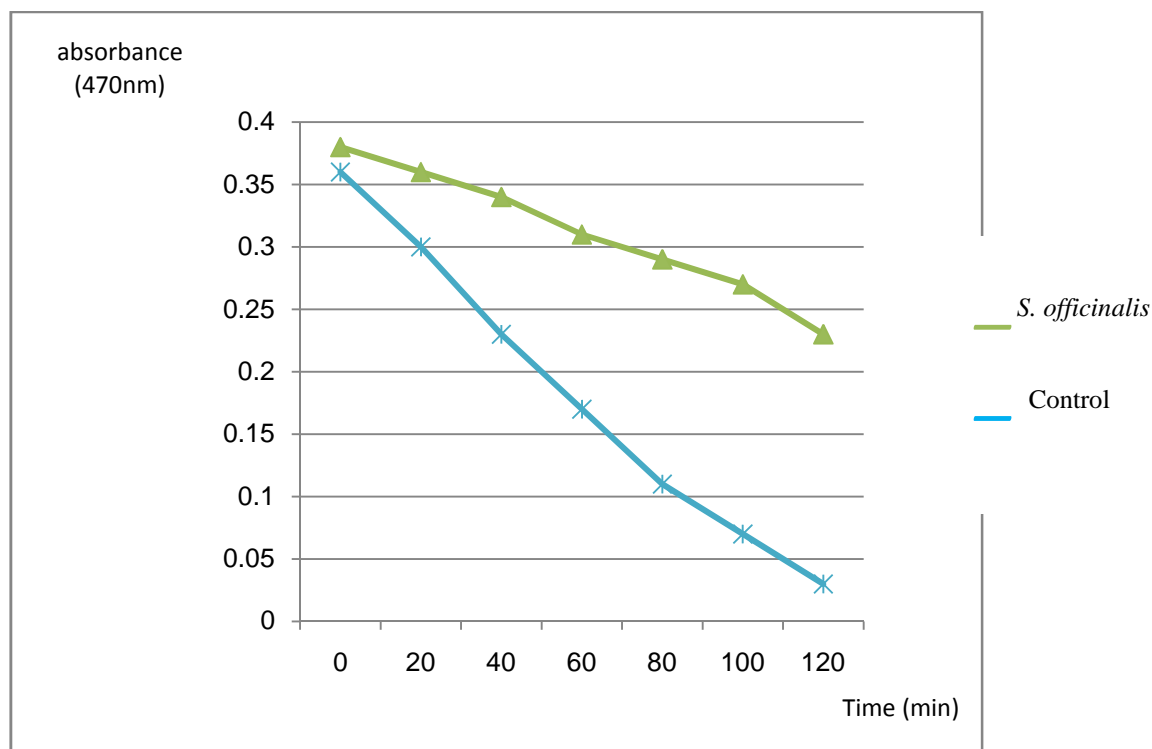


Figure (1): Inhibition of lipid peroxidation of *Salvia officinalis* essential oil and Vitamin E by the  $\beta$ -carotene bleaching method

### CONCLUSION

The essential oil of hydrodistilled fresh aerial parts of *Salvia officinalis*, collected at Batna, was mainly represented by  $\alpha$ -thujone, 1,8-cineole, Camphor,  $\beta$ -thujone and veridiflorol.

The antibacterial activity of this essential oil against several microorganisms was investigated. The best antibacterial activity was obtained against *E. coli* and *Streptococcus hemolytic* strains. The essential oil exhibited a good antioxidant activity by the use of  $\beta$ -carotene bleaching method which justifies its use in Algerian food chemistry.

### REFERENCES

- [1] D.J Mabberley, *The Plant-Book, a Portable Dictionary of Vascular Plants*, 2nd ed.; University of Cambridge: Cambridge, UK, **1997**; pp. 385–635.
- [2] R.M Harley, S. Atkins, A.L. Budantsev, P.D. Cantino, B.J. Conn, R. Grayer, M.M. Harley, R.P.J. De Kok, T. Krestovskaja, R.Morales., Labiatae. In *The Families and Genera of Vascular Plants*; Kadereit, J.W., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Germany, **2004**; pp. 167–282.
- [3] S. Firdous, A.K. Dadass, K.M Khan, S.B. Usmani, V.U Ahmad, *Fitoterapia*, **1999**, 70, 326.
- [4] Y. Lu, L.Y. Foo, *Phytochemistry*, **2002**, 59, 114–140.
- [5] B. Tepe, E. Dönmez; M.Unlu, F.Candan D. Dimitra, G.Vardar-Unlu, *Food Chem.*, **2004**, 84, 519–525.
- [6] O. Touafek, A. Nacer, A. Kabouche, Z. Kabouche, C. Bruneau, *Chem. Nat. Comp.*, **2004**, 40, 28-29.
- [7] A. Ghannadi, E. Sejjadi, A. Kabouche, Z. Kabouche, *Z. Naturforsch C.*, **2004**, 59c, 187-189.
- [8] A. Kabouche, N. Boutaghane, Z. Kabouche, E. Seguin, F. Tillequin, K. Benlabeled, *Fitoterapia*, **2005**, 76, 450-452.
- [9] A. Kabouche, Z. Kabouche, C. Bruneau, *Flav. Fragr. J.*, **2005**, 20, 235-236.
- [10] A. Kabouche, Z. Kabouche, E. Seguin, F. Tillequin, C. Bruneau, *Biochem. Syst. Ecol.*, **2005**, 33, 813-816.
- [11] A. Kabouche, O. Touafek, A. Nacer, Z. Kabouche, C. Bruneau, *J. Essent. Oil. Res.*, **2006**, 18, 175-177.
- [12] A. Kabouche, Z. Kabouche, M. Oztürk, U. Kolak, G. Topçu, *Food. Chem.*, **2007**, 102, 1281-1287.
- [13] A. Kabouche, Z. Kabouche, S.E. Sajjadi, A. Ghannadi, *J. Essent. Oil. Res.*, **2007**, 19, 44-46.
- [14] Kabouche, Z. Kabouche, Bioactive diterpenoids of *Salvia* species. *Studies in Natural Products Chemistry*, **2008**, 35C, 753-833.
- [15] S. Laggoune, A. Kabouche, Z. Kabouche, M. A. El-Azzouny, *J. Essent. Oil. Res.*, **2009**, 21, 67-68.

- [16] U. Kolak, A. Kabouche, M. Oztürk, Z. Kabouche, G. Topçu, A. Ulubelen, *Phytochem. analysis*, **2009**, 20, 320-327.
- [17] A. Kabouche, A. Ghannadi, Z. Kabouche, *Nat. Prod. Com.*, **2009**, 4, 1251-1252.
- [18] H. Lakhal, A. Kabouche, Z. Kabouche, *Chem. Nat. Comp.*, **2010**, 46, 964-965.
- [19] S. Laggoune, A. Zeghib, A. Kabouche, Z. Kabouche, F. Leon, I. Brouard, J. Bermejo, C.A. Calliste, J.L. Duroux, *Rec. Nat. Prod.*, **2011**, 3, 238-241.
- [20] S. Laggoune, A. Zeghib, A. Kabouche, Z. Kabouche, Y.A. Maklad, F. Leon, I. Brouard, J. Bermejo, C.A. Calliste, J.L. Duroux, *Arab. J. Chem.*, **2011**, online on March **2011**.
- [21] A. Benmebarek, S. Zerizer, S. Laggoune, Z. Kabouche, *Allergy, Asthma & Clin. Immun.*, **2013**, 9-2, 1710-1492.
- [22] H. Ghorab, A. Kabouche, Z. Semra, A. Ghannadi, E.B.Sajjadi, R. Touzani, Z. Kabouche, *Der. Phar. Lett*, **2013**, 5(1), 28-32.
- [23] C. Bensouici, A. Benmerache, S. Chibani, A. Kabouche, S. Abuhamdah, Z. Semra, Z. Kabouche, *Der Pharm. Lett.*, **2013**, 5(2), 224-227
- [24] A. Benmebarek, S. Zerizer, S. Laggoune, Z. Kabouche, *Der Pharm. Lett.*, **2013**, 5(2), 212-223.
- [25] M. Lehbili, S. Chibani, A. Kabouche, Z. Semra, F. Smati, S. Abuhamdah, R. Touzani, Z. Kabouche. *Der Pharm. Lett.*, **2013**, 5(2), 306-310.
- [26] Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, Allured Publishing Co. Carol Stream, Illinois., **2007**, 4th Ed.
- [27] Mc Lafferty FW, Stauffer DB. The Important Peak Index of the Registry of New York. Mass Spectral Data. John Wiley & Son, **1991**.
- [28] NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibilities tests; Villionova, PA, USA: Approach Standard NCCLS: Publication M2-A5, **1993**.
- [29] H. M. Miller, *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, **1971**, 45, 91.
- [30] L. M. Cheung, P. C. K. Ooi, V. E. C. Cheung, *Food Chem.*, **2003**, 81, 249-255.
- [31] T. Dob, T. Berramdane, D. Dahmane, T. Benabdelkader, C. Chelghoum., *Chem. Nat. Comp.*, **2007**, 43(4), 491-494.
- [32] V. Morani, *Nuovi Ann. Agr.*, **1928**, 7, 25-40.
- [33] H. Lazreg, I. Cheraief, A. Fekih, *J. Soc. Alger. Chim.*, **2007**, 17(1), 43-50.
- [34] P. Archana. K. S. Raina, N. M. Dutta, *J. Med. Plant. Res.*, **2013**, 7(11), 683-688,
- [35] I. Oniga, R. Oprean, A. Toiu, D. Benedec, *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.*, **2010**, 114(2), 593-5.
- [36] T. G.Sagareishvili, B. L.Grigolava, N. E. Gelashvili, E. P.Kemertelidze, *Chem. Nat. Comp.*, **2001**, 36(4), 360-361.
- [37] S. Fellah, M. Romdhane, M. Abderraba, *Biosci. Biotechnol Res Asia*, **2005**., 3(2), 163-170.
- [38] S. Fellah, M. Romdhane, M. Abderraba, *J. Soc. Alger. Chim.*, **2006**., 16(2), 193-202.
- [39] S. Bouajaj, A. Benyamna, H. Bouamama, A. Romane, D. Falconieri, A. Piras, B Marongiu, *Nat. Prod. Res.*, **2012**, 7, 1-12.
- [40] M. Ben Farhat, J. Jordan Maria, R. Chaouech-Hamada, A. Landoulsi, A. Sotomayor Jose, *J. Agric. Food Chem.*, **2009**, 57(21), 10349-56.
- [41] A.I. Taghreed, *Molecule*, **2012**, 17, 11315-11334 .



ANTIOXIDANT ACTIVITY AND FLAVONOIDS OF *Stachys ocymastrum*Hichem Lakhal,<sup>1</sup> Tarek Boudiar,<sup>1</sup> Ahmed Kabouche,<sup>1\*</sup>  
Souheila Laggoune,<sup>1</sup> Zahia Kabouche,<sup>1</sup> and Gulacti Topcu<sup>2</sup>

UDC 547.972

*Stachys* genus (Lamiaceae) has shown various activities such as anti-inflammatory [1], antimicrobial [2], and antioxidant [3] activities. Because of the various biological interests in the secondary metabolites (flavonoids, diterpenes, phenylethanoid glycosides) of this genus, we have made a phytochemical study of the antioxidant activity of the species *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. [4].

Aerial parts of *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. were collected from Djebel El-Ouahch-Constantine (North Eastern Algeria) in June 2005 during the flowering stage. A voucher specimen has been deposited in the Herbarium of the Department of Chemistry, University Mentouri-Constantine, and authenticated by Prof. G. De Belair (University of Annaba, Algeria).

Air-dried and powdered aerial parts (890 g) of *Stachys ocymastrum* were macerated in a methanolic solution (70%) at room temperature. The extract was concentrated under low pressure, diluted, and filtered, then successively extracted with petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, and *n*-butanol.

Compound **1** was isolated as a yellow solid that precipitated from the ethyl acetate extract; then, the butanolic and the ethyl acetate extracts were concentrated under reduced pressure. The two extracts were combined and column chromatographed on Polyamid SC6 with a gradient of toluene–MeOH with increasing polarity, affording compound **2** from fraction F-75. Successive separations using preparative TLC on silica gel eluted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–MeOH (9:1) led to compound **3** from fraction F-57, while paper chromatography (Whatman No. 3MM) eluted with AcOH–H<sub>2</sub>O (30:70) led to compound **4** from fraction F-70.

Compounds **1** and **2** were identified by <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, Dept-135, <sup>1</sup>H–<sup>1</sup>H COSY, HMBC, HMQC, and MS, while compounds **3** and **4** were identified by UV and <sup>1</sup>H NMR as well as by direct comparison with literature data [6–9].

**Compound 1.** C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>, mp 270°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm, J/Hz): 12.97 (1H, s, 5-OH), 7.94 (2H, d, J = 8.7, H-2', H-6'), 6.92 (2H, d, J = 8.7, H-3', H-5'), 6.83 (1H, s, H-3), 6.82 (1H, d, J = 1.8, H-8), 6.47 (1H, d, J = 1.8, H-6), 5.17 (1H, d, J = 6.9, H-1''), 4.47 (1H, d, J = 11.6, H-6''<sub>b</sub>), 4.16 (1H, dd, J = 11.9, 7.2, H-6''<sub>a</sub>), 3.84 (1H, m, H-5''), 3.35 (1H, m, H-2''), 3.33 (1H, m, H-3''), 3.26 (1H, m, H-4''), 7.49 (1H, d, J = 15.9, H-β), 6.67 (2H, d, J = 8.5, H-3''', H-5'''), 7.36 (2H, d, J = 8.5, H-2''', H-6'''), 6.32 (1H, d, J = 15.9, H-α). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 94.60 (C-8), 99.34 (C-6), 102.90 (C-3), 105.26 (C-10), 115.90 (C-3', C-5'), 120.86 (C-1'), 128.45 (C-2', C-6'), 156.80 (C-9), 161.02 (C-5), 161.28 (C-4'), 162.58 (C-7), 164.17 (C-2), 181.88 (C-4), 63.33 (C-6''), 69.87 (C-4'), 72.84 (C-2''), 73.70 (C-5''), 76.11 (C-3''), 99.37 (C-1''), 113.61 (C-α), 115.57 (C-3''', C-5'''), 124.78 (C-1'''), 130.00 (C-2''', C-6'''), 144.85 (C-β), 159.68 (C-4'''), 166.37 (C=O). Mass spectrum, *m/z*: 601.1 [M + Na]<sup>+</sup>, 623.1 [M – H + 2Na]<sup>+</sup>, 639.1 [M – H + Na + K]<sup>+</sup>. Characterized as apigenin 7-*O*-β-D-(6''-*O*-*p*-coumaroylglucopyranoside) [5].

**Compound 2.** C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm, J/Hz): 12.04 (1H, s, 5-OH), 8.35 (1H, s, 8-OH), 7.99 (2H, d, J = 8.8, H-2', H-6'), 6.96 (2H, d, J = 8.8, H-3', H-5'), 6.85 (1H, s, H-3), 6.65 (1H, s, H-6), 5.11 (1H, d, J = 7.5, H-1''), 3.74 (1H, m, H-6''<sub>b</sub>), 3.65 (1H, m, H-2''), 3.51 (1H, m, H-5''), 3.49 (1H, m, H-6''<sub>a</sub>), 3.49 (1H, m, H-3''), 3.36 (1H, m, H-4''), 4.91 (1H, d, J = 8, H-1'''), 3.87 (1H, m, H-3'''), 3.64 (1H, H-5'''), 3.52 (1H, H-6''<sub>b</sub>), 3.42 (1H, H-6''<sub>a</sub>), 3.34 (1H, m, H-4'''), 3.21 (1H, m, H-2'''). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ): 182.3 (C-4), 163.98 (C-2), 161.24 (C-4'), 152.35 (C-5), 151.13 (C-7), 144.24 (C-9), 128.56 (C-2', C-6'), 127.02 (C-8), 121.17 (C-1'), 115.91 (C-3', C-5'), 105.11 (C-10), 102.5 (C-3), 98.65 (C-6), 99.5 (C-1''), 81.17 (C-2''), 76.94 (C-3''), 75.59 (C-5''), 69.17 (C-4''), 60.4 (C-6''), 101.6 (C-1'''), 74.5 (C-5'''), 71.5 (C-2'''), 70.9 (C-3'''), 67.1 (C-4'''), 60.9 (C-6'''). Mass spectrum, *m/z*: 633.1 [M + Na]<sup>+</sup>, 655.1 [M – H + 2Na]<sup>+</sup>. Characterized as isoscutellarein 7-*O*-β-D-allopyranosyl-(1→2)-glucopyranoside [6, 7].

1) Laboratoire d'Obtention de Substances Therapeutiques (L.O.S.T), Faculte des Sciences Exactes, Universite Mentouri-Constantine, Campus Chaabat Ersas, 25000 Constantine, Algeria, e-mail: ahkabouche@yahoo.fr; 2) Department of Chemistry, Faculty of Science and Letters, Istanbul Technical University, 34469 Maslak, Istanbul, Turkey. Published in *Khimiya Prirodnykh Soedinanii*, No. 6, pp. 821–822, November–December, 2010. Original article submitted July 3, 2009.

**Compound 3.** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, mp 327°C, characterized as luteolin [8].

**Compound 4.** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>, mp 347°C, characterized as apigenin [9].

Compound **1** was isolated for the first time from the genus.

**Antioxidant Activity.** The radical scavenging activity of the butanolic extract of *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. was measured by the slightly modified method of Hatano [8]. The *n*-butanolic extract of *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. exhibited good activity: IC<sub>50</sub> 6.77 ± 0.2 µg/mL compared with the reference (rutin: IC<sub>50</sub> 3.01 ± 0.2 µg/mL).

## ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the National Health Research Agency, Oran, Algeria (ANDRS) and (DG/RSDT, MESRS), Algeria for financial support.

## REFERENCES

1. N. Maleki, A. Garjani, H. Nazemiyah, N. Nilfouroushan, S. Eftekhar, Z. Allameh, and N. Hasannia, *J. Ethnopharmacol.*, **75**, 213 (2001).
2. H. D. Skaltsa, C. Demetzos, D. Lazari, and M. Sokovic, *Phytochemistry*, **64**, 743 (2003).
3. A. Matkowski and M. Piotrowska, *Fitoterapia*, **77**, 346 (2006).
4. P. Quezel and S. Santa, *Nouvelle Flore de l'Algerie et des Regions Desertiques et Meridionales*, **1–2**, CNRS, Paris, 1963.
5. P. Venturella, A. Bellino, and M. L. Marino, *Phytochemistry*, **38**, 527 (1995).
6. A. Lenherr and T. J. Mabry, *Phytochemistry*, **26**, 1185 (1987).
7. M. A. El-Ansari, D. Barron, M. F. Abdalla, N. A. M. Saleh, and J. L. Le Quere, *Phytochemistry*, **30**, 1169 (1991).
8. T. J. Mabry, K. R. Markham, and M. B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, Berlin, 1970.
9. T. Hatano, H. Kagawa, T. Yasuhara, and T. Okuda, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2090 (1988).

## الملخص

خلال هذا البحث قمنا بدراسة فيتوكيميائية و تقدير الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لنباتات تنمو في الشرق الجزائري و تنتمي إلى عائلة **Lamiaceae**:

*Stachys ocymastrum* (L.) Briq. ، *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab  
*Salvia officinalis* L.

أدت الدراسة الفيتوكيميائية لمستخلص الـ **Exsudat** و البوتانولي لنبته *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab. إلى فصل 19 مركبا ، حيث 12 منها تم التعرف عليها لأول مرة في المملكة النباتية، تنتمي هذه المركبات المعزولة إلى 6 أقسام من نواتج الأيض الثانوي و هي :

- 12 تربين ثلاثي.
- 1 صابونين.
- 3 فلافونويدات.
- 1 مشتق لفينول بسيط (مركب جديد في الجنس)
- 1 مشتق لحمض السيناميك
- 1 مشتق لإسترفينيل بروبانويد سكري

تم التعرف على البنى الكيميائية للمركبات المعزولة باستخدام مختلف الطرق الفيزيائية من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV ، مطيافية الكتلة عالية الدقة HRESIMS ، و مطيافية الرنين النووي المغناطيس (RMN <sup>1</sup>H ، RMN <sup>13</sup>C J-modulé ، COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H ، HMBC ، HSQC ، ROESY ، NOESY).

قادت الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلص البوتانولي لنبته *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. إلى التعرف على مركبين فلافونويدين بالإستعمال تقنية الـ HPLC التحليلية بحضور الشواهد .

إضافة إلى هذا قمنا بإجراء التحليل الكروماتوغرافي الطور الغازي GC و كروماتوغرافيا الطور الغازي بالتزواج مع مطيافية الكتلة GC/MS للزيت الأساسي للنبته *Salvia officinalis* L. حيث مكننا من التعرف على 35 مركب، ثلاثة منها تعتبر عالية التركيز وهي: (24.52%)  $\alpha$ -thujone ، camphor ، (16.86%) ، 1,8-cineole (15.92%).

أظهر المستخلص البوتانولي لنبته *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. فعالية مضادة للجذور الحرة جيدة جدا باستعمال طريقة DPPH.

كما أظهر الزيت الأساسي للنبته *Salvia officinalis* L. فعالية مضادة للبكتيريا جيدة خاصة مع السلالات التالية *Escherichia coli* ATCC 25922 ، *Escherichia coli* (HS) ، *Streptococcus* ، *homeolytic* ، بالإضافة إلى فعالية مضادة للأكسدة جيدة باستعمال طريقة  $\beta$ -carotene.

**الكلمات المفتاحية:** تربين ثلاثي، صابونين، فلافونويدات، إسترفينيل بروبانويد، فعالية مضادة للأكسدة، فعالية مضادة للبكتيريا، *Salvia* ، *Lamiaceae* ، *Stachys*.

## Résumé

Dans notre travail, nous avons effectué l'étude phytochimique et évalué l'activité biologique antibactérienne et antioxydante des plantes de l'Est algérien et appartenant à la famille des Lamiaceae : *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab., *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. et *Salvia officinalis* L..

L'étude phytochimique de l'extrait Exsudat et butanolique de l'espèce *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab.

a permis d'isoler 19 composés dont 12 ont été décrits pour la première fois dans le règne végétal, Ces composés isolés appartiennent à 6 classes des métabolites secondaires :

- 12 triterpènes
- 1 saponoside
- 3 flavonoides
- 1 dérivé d'un phénol simple (nouveau pour le genre)
- 1 dérivé de l'acide cinamique
- 1 ester hétérosedique d'un phenylpropanoide.

La détermination des structures des composés isolés a été réalisée par des méthodes physiques telles que la spectroscopie **UV-Visible**, la spectrométrie de masse haute résolution par electrospray (**HRESIMS**), la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (**RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H, HSQC, HMBC, NOESY, ROESY**).

Suite à des travaux antérieurs sur l'espèce *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. qui avaient permis d'isoler 4 flavonoides, 2 autres flavonoides ont été identifiées par analyse **CLHP-UV** de l'extrait n-butanolique en présence de témoins.

L'analyse **GC** et **GC/MS** de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a permis d'identifier 35 composé dont 3 majoritaires : le  $\alpha$ -thujone (24.52%), le camphor (16.86%), 1,8-cineole (15.92%).

L'extrait butanolique de l'espèce *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. a montré une très bonne activité Anti-radicaux libres par la méthode du **DPPH**.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. a surtout inhibé la croissance des souches bactérienne de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* (HS) et *Streptococcus homeolytic* et a montré une bonne activité Anti-radicaux libres par la méthode du  $\beta$ -carotene

**Mots clés** : triterpènes, saponoside, phenylpropanoide, flavonoides, activité antioxydante, antibactérienne, *Stachys*, *Salvia*, Lamiaceae.

## Abstract

In this work, we conducted the phytochemical study and evaluated the antibacterial and antioxidant activities of plants grown in the Eastern Algerian belonging to the Lamiaceae family : *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab., *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. et *Salvia officinalis* L..

The phytochemical study of exudate and butanolic extract of *Salvia argentea* var. *aurasiaca* (Pomel) Batt. et Trab species resulted in the isolation of 19 compounds of which 12 were described for the first time in the plant kingdom, The isolated compounds belong to six classes of secondary metabolites:

- 12 triterpenes
- 1 saponin
- 3 flavonoids
- 1 a simple phenol derivative (new for the genus)
- 1 cinamic acid derivative
- 1 phenylpropanoid ester heteroside

The structure determination of the isolated compound was carried out by physical methods such as **UV-visible** spectrophotometry, the high resolution mass spectrometry with electrospray (**HRESIMS**), the nuclear magnetic resonance spectroscopy (**NMR <sup>1</sup>H, NMR <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HSQC, HMBC, NOESY, ROESY**).

In continuation of previous works on the species *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. Four flavonoids have been isolated, we've identified two other flavonoids from the n-butanolic extract by the use of **HPLC-UV** analysis in the presence of the authentic samples.

**GC** and **GC / MS** analysis of the essential oil of *Salvia officinalis* L. led to the identification of 35 compounds with 3 as the major components: the  $\alpha$ -thujone (24.52%), camphor (16.86%) and 1,8-cineole (15.92%).

The Butanolic extract of *Stachys ocymastrum* (L.) Briq. exhibited a Very good Anti free radicals activity by the use of the **DPPH** method.

The essential oil of *Salvia officinalis* L. especially inhibited the growth of bacterial strains namely *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* (HS) and *Streptococcus homeolytic* and showed good Anti free radicals activity by  $\beta$ -carotene bleaching methode.

**Key words:** triterpenes, saponin, flavonoids, phenylpropanoid, antioxidant activity, antibacterial, *Stachys*, *Salvia*, Lamiaceae.