------مجلة علوم الرافدين، المجلد16، العدد3، خاص بالكيمياء، ص1-11، 2005------

دراسة الفلافينويدات من بذور نبات الشمر(*Fennel*) الذي ينمو في شمال العراق

طلعت راجح الرمضاني
كلية الصيدلة
وحدة النباتات الطبية
جـ ـامعة المـ ـوصل

مقداد توفيق أيوب
كلية العلوم
قسم الكيمياء
جـ ـامعة المـ ـوصل

(تاريخ الاستلام 2001/8/20 ، تاريخ القبول 2001/12/2)

الملخص

تم دراسة مكونات المستخلص الكحولي والمائي لبذور نبات الشمر باستخدام تقنية كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة (T.L.C.) حيث تم تحليل مركبات الفلافينويد وكلايكوسيداتها. اسـتخدمت كروماتوغرافيـا الطبقة الرقيقة (T.L.C.) بنوعيها الأحـادي البعـد أو الثنـائي الأبعـاد فـضلاً عـن عمـود الفـصل الكروماتوغرافي. شخصت مركبات كلايكوسيدات الفلافينويد مع كلايكوناتهـا مـن خـلال الاختبـارات الكيميائية اللونية المتعلقة بها.

Study on Flavonoids from (*Fennel*) Seeds which Grows in the North of Iraq

Talat R. Al-Ramadhany
Medicinal Plants Unit
College of Pharmacy
MosulUniversity

Mikdad T. Ayoub
Department of Chemistry
College of Science
MosulUniversity

ABSTRACT

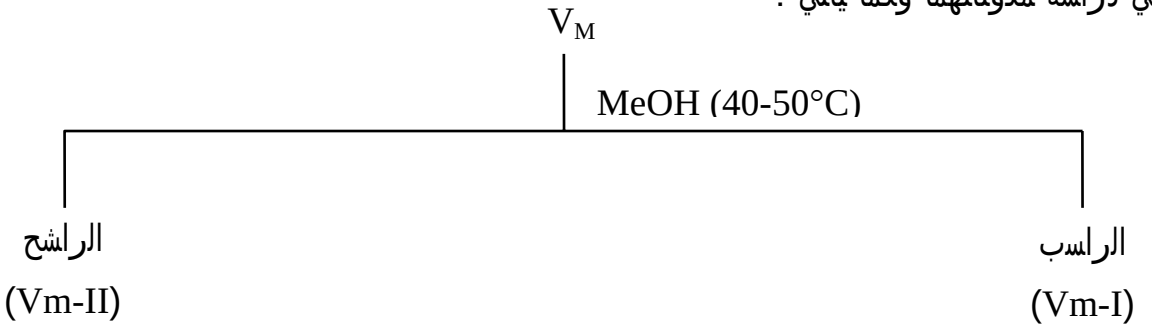
A methanol and aqueous extracts of fennel seeds showed the presence of new flavonoides with its glycosides. The analysis of flavonoides glycoside and its aglycone was made by three chromatographic techniques: thin layer chromatography (T.L.C), two-ensional T.L.C and column chromatography. and with comparing the relative retention times of the resolved peaks with those of authentic samples analyzed under the same experimental conditions.

المقدمة

تعد الفلافينويدات من المركبات الأوكسجينية الحلقية غير المتجانسة المهمة والأساسية في النباتـات، توجد الفلافينويدات على شكل صبغات لها دور مميز في بيئة النبات من خلال جعـل الأزهـار والثمـار جاذبة للحشرات والطيور. إن معظم هذه المركبات قطبية وذائبة في الماء بسبب وجودهـا علـى شـكل كلايكوسيدات . لذا يمكن استخلاصها من النبات باستخدام مذيب قطبي مثل الكحول (أيـوب والحمـداني ،1990). وتكون الفلافينويدات في النباتات إما طليقة أو مرتبطة بمجاميع السكر (كلايكوسيدات) أو مـع التانين (Tannin) (قطب،1982). ونظرا" لان الفلافينويدات تمتلك خواصاً فينولية لذلك يمكن تشخيـصها بتغير لونها عند تعرضها إلى القاعدة أو الأمونيـا فضـلاً عن امتلاكها حزمـاً متبـاينة بين المنطقـة فـوق البنفسجيـة والمرئية (λ max. 300 – 560 nm). ولغرض تشخيص هذه العائلة يفضل إجـراء التحال الحامضي لمركباتها الكلايكوسيدية ومن ثم مقارنة الجزء الكحـولي (Aglycone) مـع مثيلاتهـا المفصولة والمنشورة(Harborne, 1973) حيث يوجد عدد كبير من الكلايكوسيدات لمركب كلايكـوني واحد . ويمكن إجراء هذه المقارنة من خلال تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بنوعيها الأحادي البعـد (One Dimension) أو الثنائي البعد (Two Dimension) وباستخدام نفس الظروف الكروماتوغرافية المنشورة (Harborne, 1967 ; Mabry et al., 1970).

النتائج والمناقشة

تستخلص بذور نبات الشمر في الميثانول لمدة 3-4 أيام باستخدام جهـاز الاسـتخلاص . يركـز الميثانول باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل ليعطي مادة زيتية بنية اللون ثخينة القـوام وذات رائحة مميزة . يضاف إلى هذه المادة حوالي 50 سم^3 من الميثانـول الساخـــن (40-50 ° م) مـع الرج السريع حيث تترسب في أثناء الإضافة مادة بنية اللون والتي يعتقـد بأنهـا تمثـل كلايكوسـيدات الفلافينويدات . يرشح الراسب(Vm-I) ويركز الراشح (Vm-II) تحت الضغط المخلخـل (مخطـط 1) ليستخدما في دراسة مكوناتهما وكما يأتي :



مخطط 1: يبين فصل مكونات المستخلص الكحولي

1. الراسب (Vm-I) : تمثل الكلايكوسيدات أحد المركبات الأساسية الموجودة في النبات والتي تكـون عادةً ذائبة في الماء وتترسب عند إضافة الكحول إلى مستخلصاتها النباتية المركزة . ولقد اعتمدت عـدة طرائق في دراسة هذه الكلايكوسيدات وان جميعها تنطلق من مبدأ تحللها بوساطة الحامض اللاعـضوي إلى الكحول المقابل (الاكلايكون) والسكر.

$$Ar–O–glycoside + H^{+} \rightarrow ArOH^{*} + Sugar$$

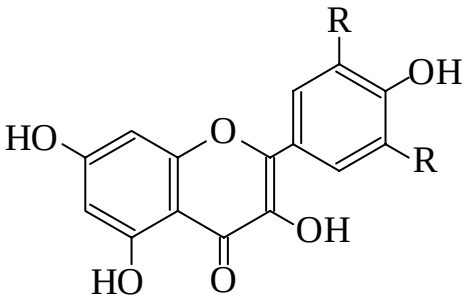
(aglycone)

(*) ArOH = فلافينويد أو أي مركب يمكن أن يكون آصرة كلايكوسيدية مع الكاربوهيدرات.

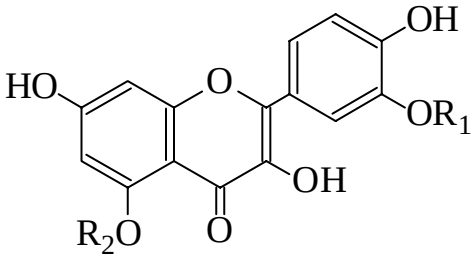
عند تحليل الراسب (Vm-I) باستخدام 2M حامض الهيدروكلوريك واستخلاص الكلايكونـات المتكونة بوساطة خلات الأثيل. أوضحت قياسات T.L.C. باستخدام هلام السليكا ونظـام (BAW ، 5 : 1 : 4) على الطبقة العضوية ظهور أربع بقع عند تعرضها لبخار اليود ، وعند مقارنة قيم (R_f) لها مع مثيلاتها المنشورة لهذه العائلة وتحت نفس الظروف المستخدمة (Harborne, 1973) وجد بأنها تمثـل المركبات المشار إليها في (الجدول 1) .

جدول1: قيم R_f لبعض مركبات الراسب (Vm - I)

المركب	R_f (x 100)	
	المقاسة	المنشورة
ميرستين (1)	44	43
كورستين (2)	62	64
إيزوهامنتين (3)	73	74
كامفيرول (4)	82	83



(1), R = OH
(2), R = H



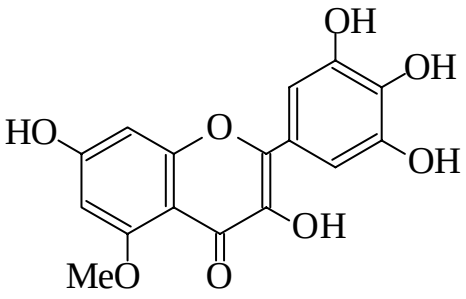
(3), $R_1 = R_2 = H$
(4), $R_1 = Me$, $R_2 = H$

2. الراشح (Vm-II): أوضحت الدراسة السابقة على الراسب (Vm-I) وجود أربعة أنواع من الفلافينويدات (1-4) ، لذلك فمن البديهي أن يكون هنالك تشابهاً في طبيعة الفلافينويدات الموجودة في الراسب مع تلك التي توجد في الراشح مع احتمالية وجود بقع إضافية أخرى فيه. ولغرض تحديد طبيعة هذه الفلافينويدات ، تم القيام بثلاث اختبارات على هذا الراشح :

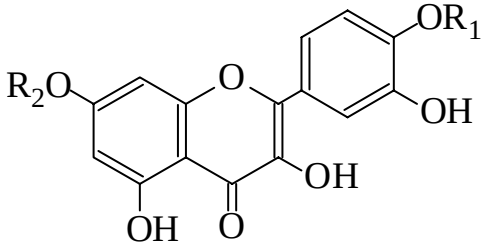
شمل الاختبار الأول دراسة قيم R_f باستخدام نظام (BAW ، 5 : 1 : 4) ومقارنتها مع تلك الموجودة في الجدول (1) مع احتمالية وجود مركبات أخرى يمكن أن تظهر من خلال هذا النظام . وقد أوضحت قياسات T.L.C. ظهور سبع بقع عند تعريض الصفيحة لبخار اليود . ولغرض تشخيصها تمت مقارنتها مع القيم المنشورة لمركبات الفلافينويد بنوعيها الكحولي والكلايكوسيدي . يوضح الجدول (2) قيم R_f للبقع السبعة المميزة في الراشح (Vm-II) باستخدام نظام (BAW ، 5 : 1 : 4) ومقارنتها مع مثيلاتها المنشورة عند استخدام الظروف نفسها(Harborne, 1973).

جدول 2: قيم R_f لبعض مركبات الراشح (Vm-II)

المركب	R_f (×100)	
	المفاسة	المنشورة
ميرستين - 5 - مثيل ايثر (5)	25	24
كورستين - 7 - كلايكوسيد (6)	32.5	32
ميرستين (1)	43	43
كورستين-$^{-}$4- كلايكوسيد (7)	48	48
كورستين (2)	62	64
إيزوهامنتين (3)	73	74
كامفيرول (4)	85	83



(5)

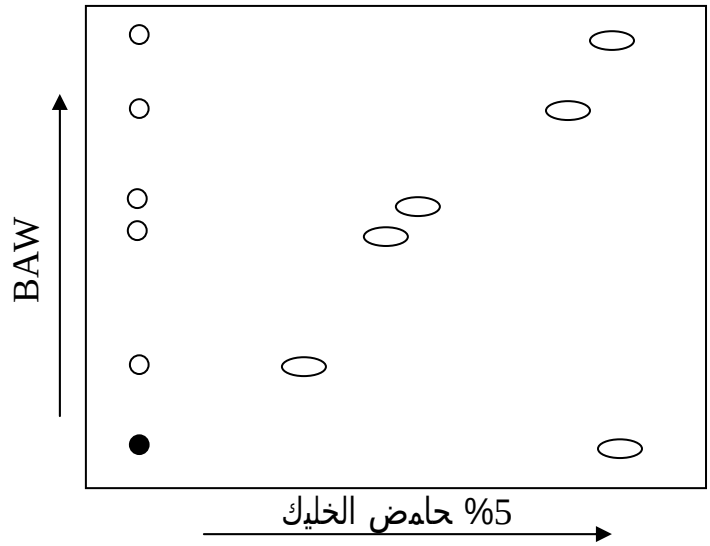


(6), R_1 = H, R_2 = gl.

(7), R_1 = gl., R_2 = H

يتضح من الجدول (2) وجود بعض التطابق في طبيعة الكلايكوسيدات والكلايكونات المشخـصة في جزئي الراسب (Vm-I) والراشح (Vm-II) بعد إجراء عملية التحال الحامضي ، حيث لوحظ ظهور كلايكوسيدات الكورستين (R_f = 0.325 و 0.48) في هذا المستخلص والذي أعطـى الكورسـتين (2) . يمكن الاستنتاج من هذه الدراسة بأن نبات الشمر يحتوي ـ على الأقل ـ أربعة أنواع من الفلافينويـدات بنوعيها الحر الكلايكوسيدي والتي هي الميرستين (1)، الكورستين(2)، ايزوهـامنتين (3) والكـامفيرول (4).

أما الاختبار الثاني للراشح (Vm-II) فقد شمل دراسة قيم سرع الانسياب (R_f) باستخدام تقنيـة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة الثنائية البعد وباستخدام نظامين، الأول (BAW) والثـاني (5% حـامض الخليك). وقد أوضحت هذه الدراسة ظهور ست بقع بعد تعريض الصفيحة لبخار اليود . شكل (1).



الشكل 1: يبين ظهور البقع بعد تعريض الصفيحة لبخار اليود باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة الثنائية البعد.

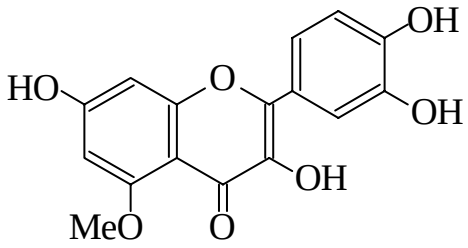
وعلى الرغم من وجود قناعة كاملة بانتمائها إلى كلايكوسيدات الكورستين ومشتقاته الفلافينوييديـة الأخرى، فقد تم الاكتفاء بهذه النتيجة وذلك لصعوبة تشخيص وتحديد هذه المركبات.

أما الاختبار الثالث فقد شمل استخدام عمود الفصل الكروماتوغرافي (هلام السليكا) ، حيث يغـسل العمود بعد وضع الراشح (Vm-II) بوساطة المذيبات العضوية الآتية ، الايثر البترولـي(40-60 °م) ، إيثر بترولي - كلوروفورم (3 : 7 v/v) ، الكلوروفورم والميثانول على التوالي . فصلت هذه المـذيبات مع مكوناتها على انفراد وتم تركيزها باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل وتم قياس قيم سرع الانسياب (R_f) باستخدام نظام (BAW ، 5 : 1 : 4). أوضحت دراسة T.L.C. على مستخلصات الايثر البترولي ، الكلوروفورم والميثانول على التوالي ظهـور ثلاث بقع في المستخلص الأول ، أربع بقع فـي

المستخلص الثاني وبقعتين في المستخلص الثالـث (جدول 3) والتي عند مقارنتها مـع المنـشورة لهـذه المركبات وباستخدام الظروف نفسها (Harborne, 1973) وجد أن بعضاً منها مشابه لتلـك التـي تـم تشخيصها آنفاً.

جدول 3: قيم R_f لبعض المركبات المفصولة بوساطة عمود الفصل الكروماتوغرافي للراشح Vm- II

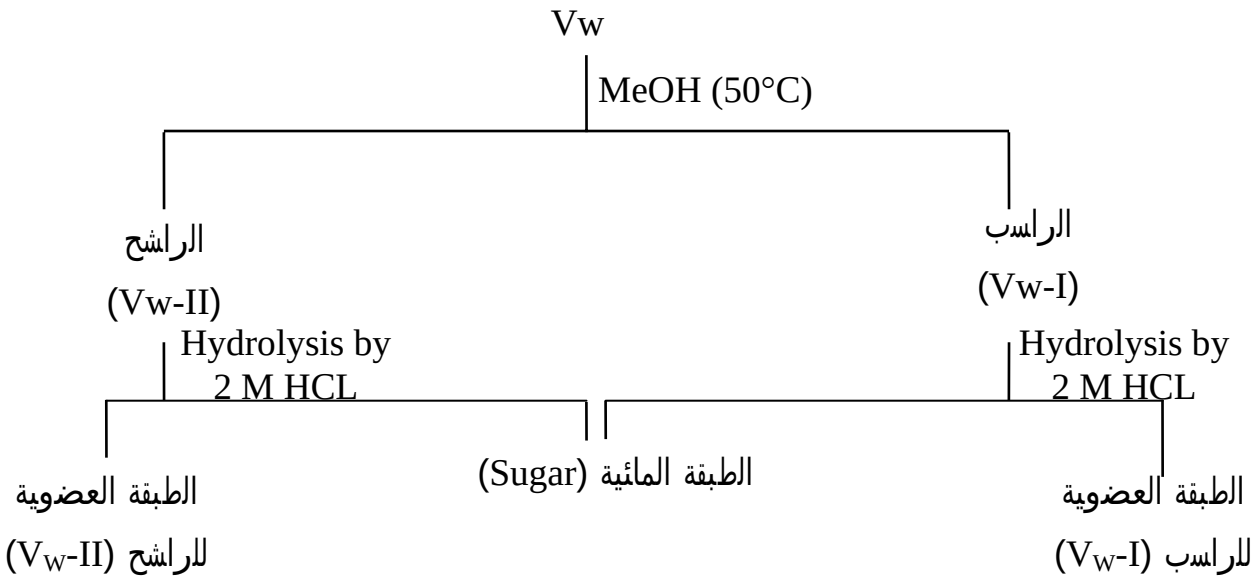
المركب (مستخلص الايثر البترولي)	R_f (×100)	المركب (مستخلص الكلوروفورم)	R_f (×100)	المركب (مستخلص الميثانول)	R_f (×100)
كورستين-5- مثيل إيثر (8)	51	ميرستين-5-مثيل إيثر (5)	25	ايزوهامنتين (3)	76
كورستين (2)	62	كورستين (2)	65	كامفيرول (4)	88
إيزوهامنتين (3)	78	ايزوهامنتين (3)	72		
		كامفيرول (4)	88		



(8)

أما المستخلص الرابع المسحوب بوساطة الايثر البترولي - الكلوروفورم (3 :7 v/ v) فقـد تبـين احتوائه على مركب واحدا تقريباً ،وبتركيز عال، كما كان واضحاً مـن قيـاس كروماتوغرافيـا الغـاز (G.C.). ولافتقاد نماذج للمقارنة يمكن استخدامها في هذا الجهاز تم إهمال هذه الدراسة والاكتفاء بهـذه النتيجة .

- **المستخلص المائي (V_W)**: لغرض معرفة المزيد من المركبات التي توجد في بذور نبات الشمر، تم دراسة المستخلص المائي لهذا النبات حيث أن هناك قناعة كاملة بأن هذا المستخلص يمكن أن يحتـوي على كمية أكبر من المركبات القطبية مثل الكلايكوسيدات الفلافينويدية فضلاً عن كلايكوسيدات أخـرى. فقد تم نقع البذور لمدة ثلاثة أيام في كمية من الماء المقطر بعد الانتهـاء مـن استخلاصـها بوسـاطة الميثانول، ثم ترشح وتركز الطبقة المائية باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل وباستخدام حمام مائي لا تتجاوز حرارته 50 °م لتعطي مادة زيتية بنية اللون ، تضاف هذه المادة على شكل قطرات إلى حوالي 50 سم^3 من الميثانول مع الرج السريع حيث تترسب مادة بيضاء اللون (مخطـط 2) ، يرشـح الراسب (V_W-I) ويركز الراشح(V_W-II) تحت الضغط المخلخل لدراسة مكوناتهما الكيميائية.



مخطط 2: يبين فصل مكونات المستخلص المائي

1. **الراسب (Vw-I)**: أن معظم الكلايكوسيدات إن لم تكن جميعها تترسب عند إضافة الكحول إلى مستخلصاتها، لذلك فمن الممكن أن يكون الراسب (V_W-I) هو أحد هذه المكونات. فقد تم تشخيص الكلايكوسيدات في هذا الراسب باستخدام .T.L.C ونظام (BAW) قبل وبعد تحال الراسب حامضياً وباستخدام كاشف فولن وبخار الأمونيا .وقد أوضحت الدراسة ظهور ثلاث بقع (R_f = 0.49 ، 0.59 ، 0.67) قبل تحال الراسب حامضياً. أما النموذج الثاني من الراسب فبعد تحلله بوساطة 2M حامض الهيدروكلوريك ثم الاستخلاص بوساطة خلات الأثيل فقد أظهر ثلاث بقع أيضاً (R_f = 0.44، 0.61 ، 0.67) باستخدام الظروف نفسها المشار إليها آنفاً. (جدول 4). ولغرض تحديد هذه المركبات، تمت مقارنة قيم R_f مع مثيلاتها المنشورة باستخدام الظروف نفسها(Harborne, 1973) حيث وجد بان الميرستين (1) والكورستين (2) يمثلان الجزء الأكبر من الفلافينويدات التي توجد على شكل كلايكوسيدات.

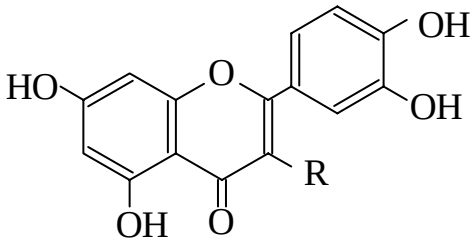
جدول 4 : قيم R_f لبعض مركبات الراسب (V_W-I) المشخصة قبل وبعد التحال الحامضي

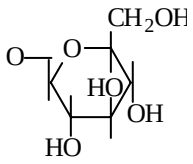
المركب (قبل التحال الحامضي)	R_f (×100)		المركب (بعد التحال الحامضي)	R_f (×100)	
	المقاسة	المنشورة		المقاسة	المنشورة
كورستين-4^{-} - كلايكوسيد (7)	49	48	ميرستين (1)	44	43
كورستين - 3 - كلايكوسيد (9)	59	58	كورستين (2)	61	64
كورستين - 3 - زايلوسيد (10)	67	65	كورستين-3- مثيل ايثر(11)	67	64

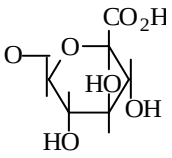
2. **الراشح (V_W-II)** : أوضحت الدراسة على الراسب (V_W-I) ظهور بعض الفلافينويـدات المـشابهة لتلك التي ظهرت في مستخلص الميثانول (V_M) فضلاً عن بعض الكلايكوسيدات الأخرى ، ولإكمـال هذه الدراسة فقد تم الكشف عن الفلافينويدات الموجودة في الراشح (V_W-II) بوساطة تقنيـة T.L.C. ونظام (BAW) ولقد أوضحت هذه الدراسة ظهور أربع بقع بعد تعريض الصفيحة لبخار اليود (جدول 5) وعند مقارنة قيم (R_f) لهذه البقع مع مثيلاتها المنشورة في الأدبيات. اتضح بأنها تمثل كلايكوسيدات مركب الكورستين (2) . ولغرض التأكد من ذلك تم تحلل الراشح (V_W-II) بوسـاطة 2M حـامض الهيدروكلوريك ثم اختبار الطبقة العضوية الناتجة بوساطة T.L.C. ونظام (BAW) حيث ظهر بقعـة واحدة فقط (R_f=0.61) التي تمثل مركب الكورسـتين (2) (المنـشورة، R_f = 0.60) (Harborne, 1973).

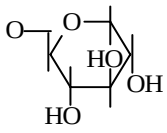
جدول 5 : قيم R_f لبعض المركبات المشخصة للراشح V_W-II

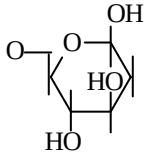
المركب	R_f (×100)	
	المقاسة	المنشورة
كورستين - 3 – كلوكورنيد(12)	40	40
كورستين - 3 – كلايكوسيد (9)	54	58
كورستين-3-أرابينوسيد (13)	70	70



(9), R = 

(12), R = 

(10), R = 

(13), R = 

(11), R = OMe

المواد وطرائق العمل

1. المادة النباتية: أخذت بذور الشمر من الأسواق المحلية والتي جمعت حديثاً من منطقة الجزيرة شمال العراق. نظفت البذور من الشوائب وجففت في الظل ثم هيـأت لعمليـة الاسـتخلاص باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhlet) .
2. المستخلصات المحضرة: حضرت المستخلصات الآتية :
   i. مستخلص الميثانول (64 °م) (V_M).
   ii. المستخلص المائي (V_W).

- **مستخلص الميثانول (V_M)**: يوضع 370 غرام من بذور الشمر الجافة فـي جهـاز الاسـتخلاص المستمر والحاوي على الميثانول (1 لتر) ولمدة 3-4 أيام حتى يصبح مذيب الاسـتخلاص عـديم اللون. يركز الناتج بوساطة جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل باستخدام حمام مائي بدرجة 50 °م إلى حوالي 100 سم^3 ليعطي مادة زيتية بنية اللون ثخينة القوام (V_M) . يتـرك المـستخلص فـي الثلاجة خلال فترة التحليل . يضاف حوالي 50 سم^3 من الميثانول الساخن إلى المستخلص (V_M) مع التحريك المستمر ثم يترك ليبرد عند درجة حرارة المختبر . يرشح الراسب (Vm-I) المتكون الذي يتحول إلى علكي بني عند تعرضه للرطوبة (Hydroscopic) . ويركز الراشح باسـتخدام جهـاز التقطير تحت الضغط المخلخل ليعطي مادة زيتية بنية غامقة اللون (Vm-II) .

1. **تحليل الراسب (Vm-I)**:يضاف 50 سم^3 من محلول 2M حامض الهيـدروكلوريك إلـى الراسـب العلكي(V_M-I) في دورق زجاجي ثم يصعد المزيج لمدة ساعة ونصف، يبرد المحلول ثم تـستخلص المواد العضوية باستخدام خلات الأثيل (3×100 سم^3). تجفف الطبقة العضوية بوسـاطة كبريتـات المغنيسيوم اللامائية ($MgSO_4$) ثم ترشح وتركز تحت الضغط المخلخل لتعطي مادة زيتيـة غامقـة اللون. يجرى اختبار .T.L.C لهذه المادة باستخدام نظام (BAW) والذي أوضح ظهور أربع بقع بعد تعريض الصفيحة لبخار اليود والتي تعود إلى الفلافينويدات الآتية، الميرستين (Myricetin) (1) (R_f = 0.44) ، كورستين (Quercetin) (2) (R_f = 0.62)، ايزوهامنتين (Isorhamnetin) (3) (R_f = 0.73) والكامفيرول (Kaempferol) (4) (R_f = 0.82).
2. تحليل الراشح (Vm - II) : استخدم الراشح (Vm-II) في ثلاثة اختبارات، يـشمل الاختبـار الأول استخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة مع نظام (BAW) والذي أوضح ظهور سبع بقـع عنـد تعريض الصفيحة لبخار اليود والتي تمثل مركبات الفلافينويد بنوعيها الكحولي والكلايكوسيدي. حيث كانت قيم انسيابها كما يأتي:

ميرستين-5-مثيل إيثر(Myricetin-5-methylether) (5) (R_f = 0.25)، كورسـتين-7-كلايكوسـيد (Quercetin-7-glucoside) (6) (R_f = 0.325) ميرسـتين (1) (R_f = 0.43)، كورسـتين-4¯-

كلايكوسـ ـ ـيد (Quercetin-4¯-glucoside) (7) (R_f = 0.48)، كورسـ ـ ـتين (2) (R_f = 0.62)، ايزوهامنتين (3) (R_f = 0.73) والكامفيرول (4) (R_f = 0.85)

أما الاختبار الثاني فيشمل استخدام تقنية T.L.C. ثنائيـة البعـد (Two dimension) وباسـتخدام الأنظمة الآتية : النظام الأول (BAW) والنظام الثاني (5% حامض الخليك) ، وعند تعريض الصفيحة لبخار اليود ظهرت ست بقع.

الاختبار الثالث شمل استخدام عمود الفصل الكروماتوغرافي (هلام السليكا-70mesh-230)، حيث يوضع 2.5 غرام من الراشح (Vm-II) فوق العمود ثم يغسل بحدود نصف لتر لكل من مذيبات الايثر البترولي (40-60 °م) ، الايثر البترولي - كلوروفورم (3 : 7 v/v)، كلوروفورم وميثـانول علـى التوالي . تركز هذه المحاليل من المذيبات باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل ثم تـشخص بوساطة T.L.C. باستخدام نظام (BAW) . وقد لوحظ ظهور ثلاث بقع في مستخلص الايثر البترولي والتي تعود إلى الكورسـتين-5- مثيـل إيثـر(Quercetin-5-methyl ether) (8) (R_f = 0.51)، الكورستين (2) (R_f = 0.62) والايزوهامنتين (3)(R_f = 0.78). أما مـستخلص الكلوروفـورم فقـد أوضح ظهور اربع بقع تعود إلى الميرستين - 5 - مثيل ايثر (5) (R_f = 0.25) ، كورستين (2) (R_f = 0.65)، ايزوهامنتين (3) (R_f = 0.724) والكامفيرول (4) (R_f = 0.88). أما مستخلص الميثانول فقـ ـد أوضـ ـح ظهـ ـور بقعتـ ـين تعـ ـود إلـ ـى الايزوهـ ـامنتين (3) (R_f = 0.76) والكامفيرول (4) (R_f = 0.88) .تم إجراء اختبار كروماتوغرافيا الغاز (G.C.) على مستخلص الايثر البترولي–كلوروفورم (3 : 7 v/v) ولافتقاد النماذج القياسية لغرض المقارنة فقد أهملت هذه النتيجة.

- **المستخلص المائي (V_W)** : بعد أن تم استخلاص بذور نبات الشمر بوساطة مذيب الميثانول، تنقـع البذور المتبقية باستخدام 1 لتر من الماء المقطر ولمدة ثلاثة أيام بدرجة حرارة المختبر ثم ترشـح ، يركز الراشح بوساطة جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل بدرجة حرارة لا تتجاوز 50 °م ليعطـي المستخلص المائي (V_W) . يضاف هذا المستخلص إلى 50 سم^3 من الميثانول على شكل قطرات مع التحريك المستمر حيث يتكون راسب أبيض اللون. يترك المحلول ليستقر لمدة 24 ساعة ثم يرشـح الراسب المتميء (V_W-I) ويركز الراشح (V_W-II) باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل ثم يحفظ في الثلاجة خلال فترة التحليل .

1. **تحليل الراسب (V_W-I)** :يجرى للراسب اختباران باستخدام تقنية T.L.C.، نظام (BAW) . يجـرى الاختبار الأول قبل تحلل الراسب (V_W-I) حامضياً ، حيث أوضح ظهور ثلاث بقع بعد رش الصفيحة بكاشف فولن ثم تعريضها لبخار الأمونيا، وعند تشخيص هذه البقع وجد أنها تعود إلـى الكورسـتين -4´- كلايكوسيد (7) (R_f = 0.49)، كورستين-3-كلايكوسـيد (Quercetin-3-glucoside) (9) (R_f = 0.59) وكورستين-3– زايلوسيد (Quercetin-3- xyloside) (10) (R_f = 0.67) .

أما الاختبار الثاني فيشمل تحلل الراسب (V_W-I) حامضياً وذلك بإذابته في 50 سم^3 من 2M حامض الهيدروكلوريك وتصعيد المزيج لمدة ساعة ونصف ثم الاستخلاص بوساطة خـلات الأثيـل (3×100 سم^3) حيث لوحظ ظهور ثلاث بقع عند تعريض الصفيحة لظروف الاختبار الأول. تعـود هذه البقع إلى الميرستين (1) (R_f = 0.44)، كورستين(2)(R_f = 0.61) وكورستين - 3 – مثيل ايثر (Quercetin-3-methyl ether) (11) (R_f = 0.67) .

2. **تحليل الراشح (V_W - II)** :وبالأسلوب السابق نفسه يجرى للراشـح (V_W-II) اختبـارين بوسـاطة T.L.C قبل وبعد التحلل الحامضي مع استخدام نظام (BAW). أوضح الاختبارالأول ـ قبل التحلل الحامضي ـ ظهور ثلاث بقع بعد تعريض الصفيحة لبخار اليود والتي تعود إلـى الكورسـتين-3-كلوكورنيد (Quercetin-3-glucuronide) (12) (R_f = 0.40) ، كورسـتين–3–كلايكوسـيد (9) (R_f = 0.54) وكورستين –3- ارابينوسـيد (Quercetin-3-arabinoside)(13) (R_f = 0.70) .
أما الاختبار الثاني فيجرى بعد التحلل الحامضي للراشح (V_W-II) بإذابته فـي50 سـم^3 مـن 2M حامض الهيدروكلويك وتصعيد المزيج لمدة ساعة ونصف ثم الاستخلاص بوسـاطة خـلات الأثيـل (3×100 سم^3) حيث لوحظ ظهور بقعة واحدة تمتلك قيمة انسياب (R_f = 0.61) والتي تعـود إلـى مركب الكورستين (2).

المصادر العربية

أيوب، مقداد توفيق، الحمداني, رعد إسماعيل, 1990. الكيمياء العضوية المتقدمة؛ مديريـة دار الكتـب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. العراق.

قطب, فوزي طه, 1982. النباتات الطبية، دار المريخ للنشر، الرياض.

المصادر الأجنبية

Harborne, J. B., 1967.Comparative Biochemistry of the Flavonoids. Academic press, London & New York. 30 p.

Harborne, J.B., 1973.Phytochemical methods. A Guide to Modern Technique of Plant Analysis, 1st. Edn., Printed in Great Britain by Cox & Wyman Ltd., London. 52-73 p.

Mabry, T. J., Markham, K. R., and Thomas, M.B., 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag, Berlin. 253 p.