

تشخيص الفينولات

CHARACTERIZATION OF PHENOLICS

- ◎ General reagents for phenols: الكواشف العامة للفينولات:
- ◎ ferric chloride,
- ◎ phosphomolybdate-phosphotungstate,
- ◎ vanillin and other aldehydes in the presence of hydrochloric acid,
- ◎ 4-diazoniobenzenesulfonate followed by sodium carbonate,
- ◎ 4-nitrophenyl-diazonium tetrafluoroborate followed by sodium acetate (to form colored azobenzenes or styrylazobenzenes)
- ◎ 2,6-dichloroquinone chlorimide (Gibbs reaction and formation of indophenolates.

Dr.Isam Agha

9

تشخيص الفينولات

CHARACTERIZATION OF PHENOLICS

- ◎ The analysis of simple phenolic compounds from a plant is commonly carried out by TLC, or by GC (following silylation), HPLC, or both.
يجري تحليل الفينولات النباتية بتطبيق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة والクロماتورافيا الغازية اضافة الى الكروماتوغرافيا السائلة رفيعة الانجاز
- ◎ The TLC solvents are mixtures which contain an acid most of the time (acetic, formic) and the TLC plates are coated with cellulose or silica gel or a mixture of two.
الرقيقة هي ممزوجة تحوي حمض معظم الأوقات (الاسيتيك، الفورميك)
وتكون الصنائح من السيليلوز أو من السيليكا الغروية أو كليهما

Dr.Isam Agha

10

تشخيص الفينولات

CHARACTERIZATION OF PHENOLICS

- ◎ The spots are visualized using general reagents for phenols (ferric chloride, vanillin and hydrochloric acid, 2,6-dichloroquinone chlorimide in alkaline conditions) or using more specific reagents (2,4-dinitrophenylhydrazine for aldehydes).
- يمكن اظهار البقع باستعمال كواشف الفينولات العامة ◎

Dr.Isam Agha

11

تشخيص الفينولات

CHARACTERIZATION OF PHENOLICS

- ◎ The analytical method of choice is HPLC. طريقة التحليل المعتمدة هي الكروماتوغرافيا السائلة رفيعة الانجاز
- ◎ In general it is carried out reverse phases (C18) and eluted with mixtures of water, alcohols (or acetonitrile or both) and acids (to limit ionization). ويتم على الطور العكوس ويشطف بمزيج من الماء والكحول (أو الأسيتونترينيل أو كليهما) وحمض للحد من التبريد

Dr.Isam Agha

12

تشخيص الفينولات CHARACTERIZATION OF PHENOLICS

- ◎ These compounds are generally extracted, preferably from fresh plant material, with an alcohol, or alternatively, to extract less lipophilic substances and avoid partial esterification of the phenolic acids, with an alcohol and water mixture.
- تستخلص من المواد النباتية الطازجة بالكحول للتخفيف من استخلاص المركبات المحبة للدسم ولأجل تجنب الاسترقة يتم الاستخلاص بمزج من الماء والبيتانول

Dr.Isam Agha

13

تشخيص الفينولات CHARACTERIZATION OF PHENOLICS

- ◎ Back extraction of the aqueous solution with nonmiscible solvents of increasing polarity separates compounds in the free state, esters, and glycosides.
- لأجل فصل المكونات الفينولية وفقاً لقطبيتها يتم الاستخلاص بالابانة بمذيبات غير مزوجة مع الماء ومتزايدة القطبية

Dr.Isam Agha

14

تشخيص الغينولات CHARACTERIZATION OF PHENOLICS

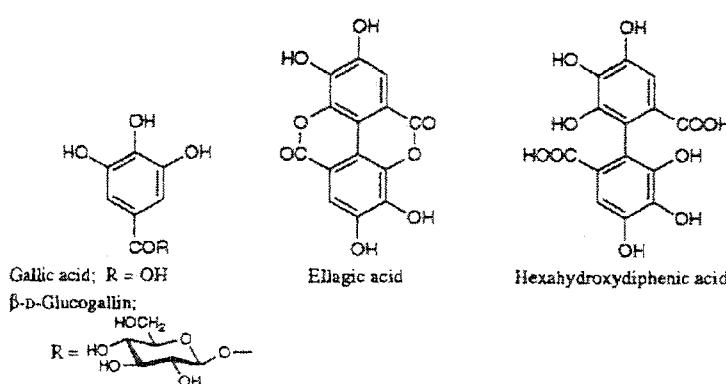
Separation of the constituents of mixtures can be achieved by classic chromatographic techniques on polyamide, cellulose, silica gel, or, in the case of phenylpropanoic esters, on gels and on ion exchange resins.

يتم فصل المكونات الغينولية المتشابهة بتطبيق كروماتوغرافيا العمود على البولي أميد، السيليلوز، السيليكا الغروية، وفي حال وجود مركبات استرات الفينيل بروبان يتم استخدام الهلام والراتجات مبادلات الشوارد

Dr.Isam Agha

15

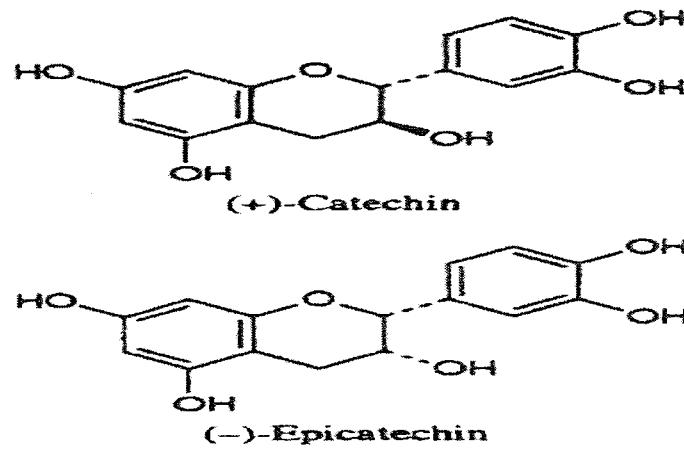
تаниنات حمض الغاليك TANNINS OF GALLIC ACID



Dr.Isam Agha

16

CONDENSED TANNINS
التانينات المتكاثفة
(NOT HYDROLYSABLE)



Dr.Isam Agha

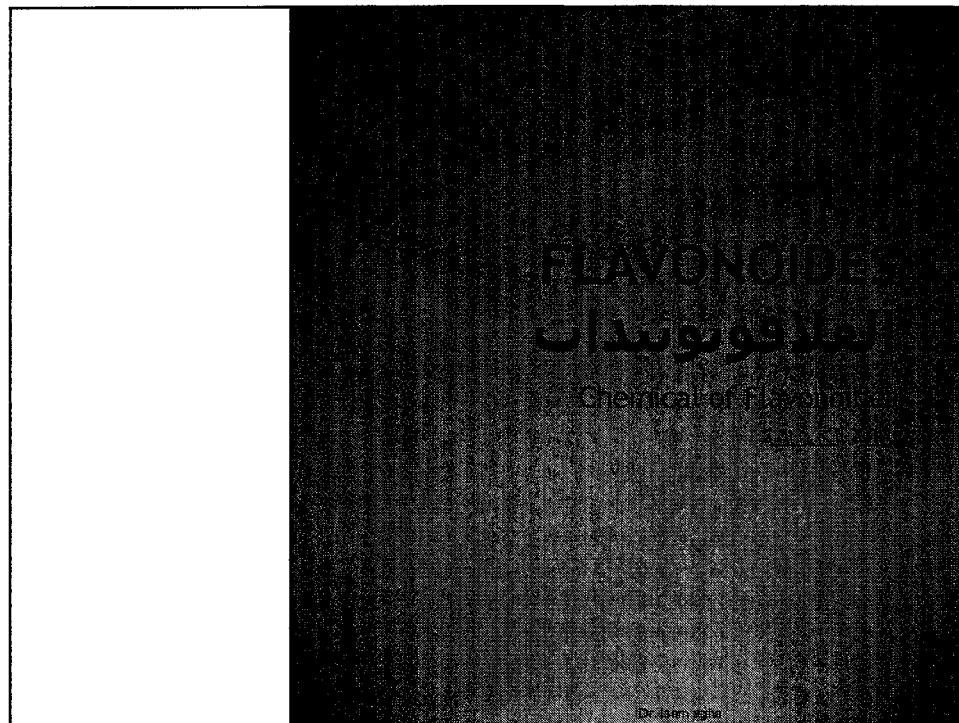
17

COMPLEX TANNINS

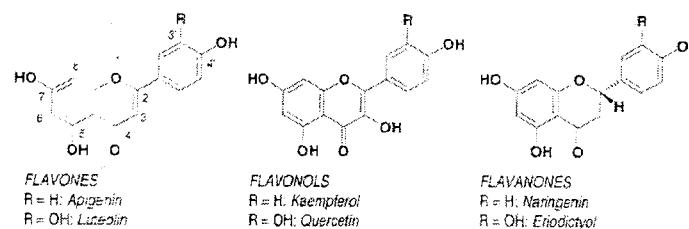
- ◎ الاجيتنينات كربونية الارتباط الغليوكوزيدي (مخلقة حيوياً)
- ◎ من نمط فلافان 3 أول Glycoside Ellagittannins (biogenetic) ◎
- ◎ Favan 3 ol. ◎

Dr.Isam Agha

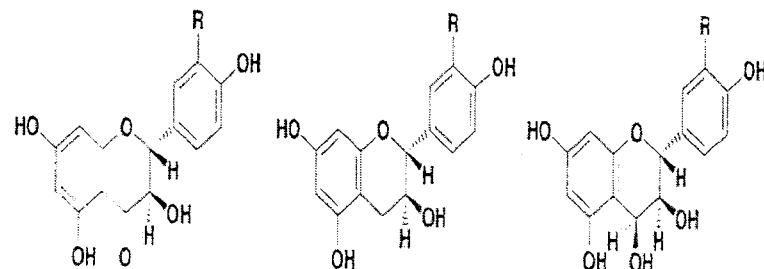
18



أشكال الغلافونوئيدات FORMS OF THE DERIVATIVES



أشكال الغلافونوئيدات FORMS OF THE DERIVATIVES



DIHYDROFLAVONOLS

R = H: Dihydrokaempferol

R = OH: Dihydroquercetin

(= taxifolin)

FLAVAN-3-OLS

R = H: Alzelechin

R = OH: Catechin

FLAVAN-3,4-DIOLS

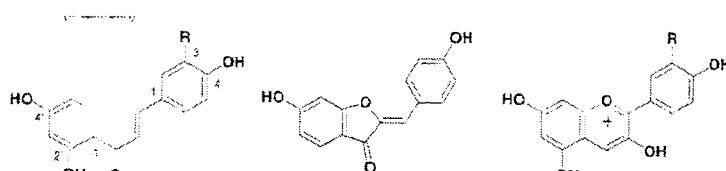
R = H: Leucopelargonidin

R = OH: Leucocyanidin

Dr. Isam Agha

21

أشكال مشتقات الغلافونوئيدات FORMS OF THE DERIVATIVES



CHALCONES

R = H: Isoquertigenin

R = OH: Butein

AURONES

Hispidol

ANTHOCYANIDINS

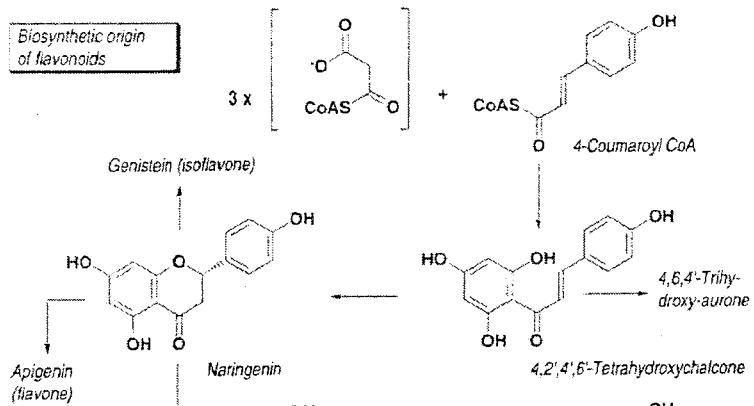
R = H: Pelargonidin

R = OH: Cyanidin

Dr. Isam Agha

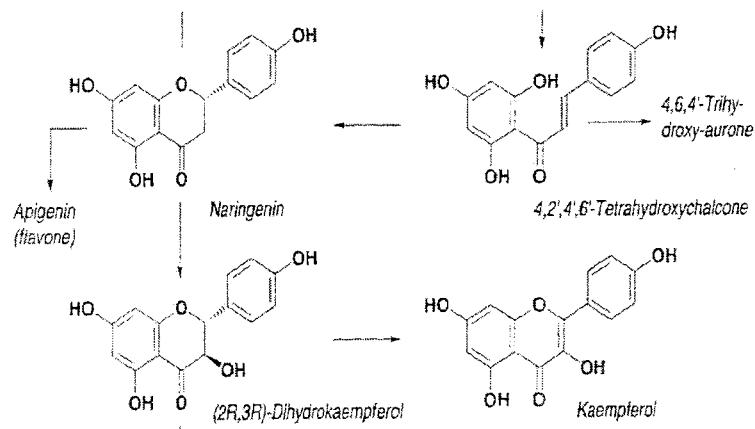
22

مخطط تشكيل الغلافونوئيدات FLAVONOIDES BIOSYNTHSE



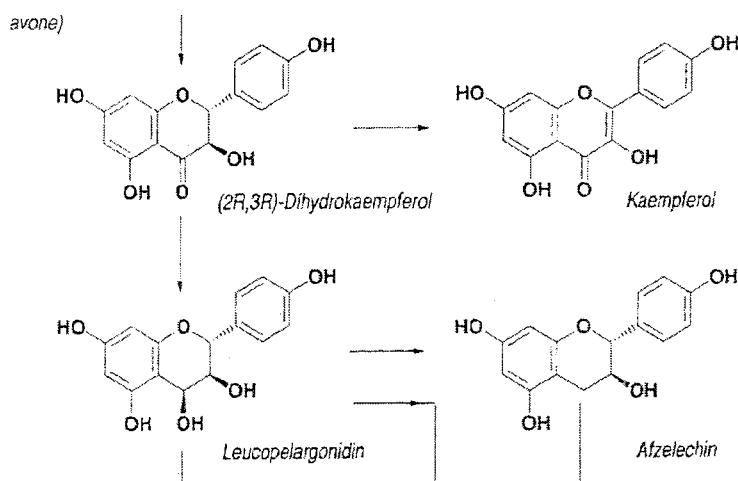
23

مخطط تشكيل الغلافونوئيدات FLAVONOIDES BIOSYNTHSE



24

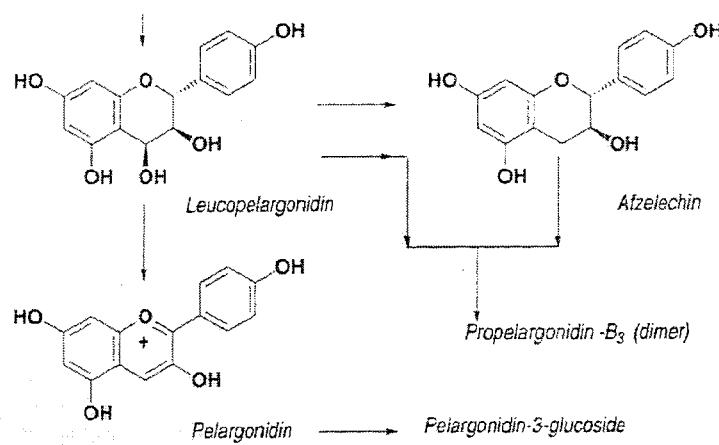
مخطط تشكيل الفلافونويدات FLAVONOIDES BIOSYNTHSE



Dr. Isam agha

25

مخطط تشكيل الفلافونويدات FLAVONOIDES BIOSYNTHSE



Dr. Isam agha

26

الذوبانية والاستخلاص SOLUBILITIES AND EXTRACTION

- ◎ Glycosides are water -soluble and soluble in alcohols غليكوزيدات ذوابة في الماء وفي الكحولات
- ◎ Aglycones are soluble in apolar organic solvents. أغликونات ذوابة في المذيبات العضوية القطبية
- ◎ Phenolic Aglycones are soluble in alkaline solvents. اغликونات فينولية ذوابة في القلويات
- ◎ Lipophilic flavonoids are extracted with dichloromethane or others, washed with hexane. فلافلونويدات لبديدية (محبة للدسم) تستخلص بدبي كلور ميتان أو غيره وتغسل بالهيلزان

Dr. Isam agha

27

الاستخلاص EXTRACTION

- ◎ Glycosides can be extracted (temperature), with acetone or alcohols mixed with water. Washed with petroleum ether. Diethyl ether extract free aglycones, ethyl acetate dissolves the majority of glycosides.
الغليكوزيدات يمكن استخلاصها بالأسيتون أو الكحول مع الماء. تغسل باليتر البترولي. يتم استخلاص الأغликونات الحرّة باليتر الأيتيلي، وتستخلص الغليكوزيدات باليتر أسيتون.
- ◎ Separation and purification based on the usual chromatographic techniques (on polyamide, cellulose, Sephadex gel). أما التقنية. والفصل فنتم باستخدام كروماتوغرافيا العمود على البولي أميد أو السلولوز أو هلام السيفاديكس

Dr. Isam agha

28

التخدير CHARACTERIZATION

1. يتم على الطبقة الرقيقة: TLC
- ◎ Chalcones, aurones are visible, turn orange and red in presence of ammonia الكالكونات، الأورونات مرئية (متلونة) وينقلب لونها vapors الى الورانج أو الأحمر عند تعریضها لأبخرة الأمونیاک
- ◎ Under UV before and after spraying with aluminum trichloride, or before and after exposure to ammonia vapors (fluorescence). وإذا لم تكن مرئية تعرض للأشعة فوق البنفسجية قبل أو بعد رذاها بثلاثي كلوريد الألمنيوم أو بعد التعرض لأبخرة الأمونیاک

Dr. Isam agha

29

التخدير CHARACTERIZATION

1. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة: TLC
- ◎ After spraying with 1% solution of ester of 2-aminoethanol and diphenylboric acid (naturstoff reagenz A), by examination under UV light then under visible light; the sensitivity can be improved by overspraying with a 5% methanolic solution of polyethylene glycol 400(macrogol 400). بعد رذاها بمحلول 1٪ استر امينو ايتانول ودي فينيل بوريك أسيد (الكافش الطبيعي)، بالفحص بالتعرض للأشعة فوق البنفسجية أو بالأشعة المرئية ويمكن زيادة الحساسية بالرذا بمحلول ميتانولي 5٪ للبولي ايتيلين غليوكول 400

Dr. Isam agha

30

التشخيص CHARACTERIZATION

1. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة: TLC
- ◎ After spraying with ferric chloride, anisaldehyde, diazotized sulfanilic acid or other general reagents for phenols.
بعد الرذا بمحلوں کلورید الحديد، الدهید الياسون، او حمض السلفانیلیک المدایریز او غیرها
- ◎ Cyanidin reaction, magnesium powder with HCl (flavanones and dihydroflavanols), or zinc with HCl (flavonoids).
تفاعل السیانیدین اضافة المغذیوم مع حمض الهیدروکلوریک أو الزنك مع حمض الهیدروکلوریک

Dr. Isam agha

31

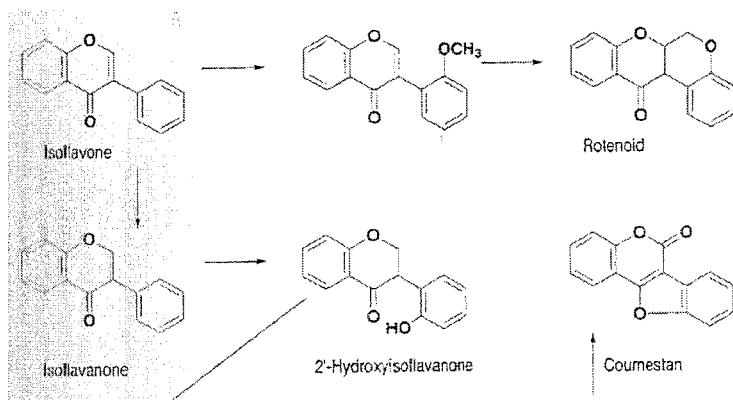
التشخيص CHARACTERIZATION

- ◎ Reaction of dihydrochalcones, first with sodium borhydride, then with 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone.

Dr. Isam Agha

32

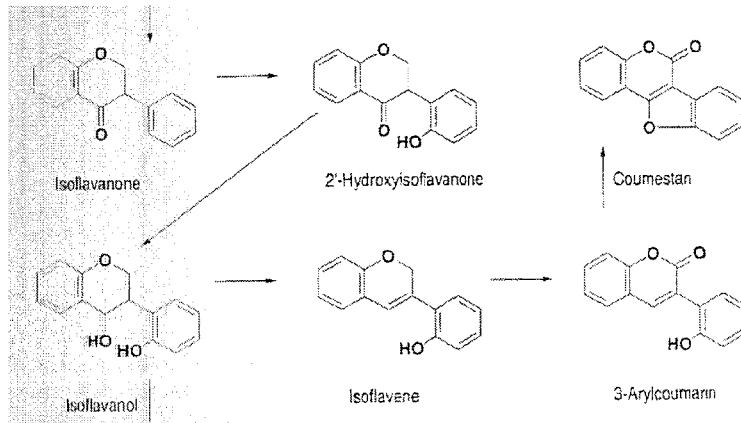
RELATIONSHIP BETWEEN ISOFLAVONOIDS



Dr. Isam agha

33

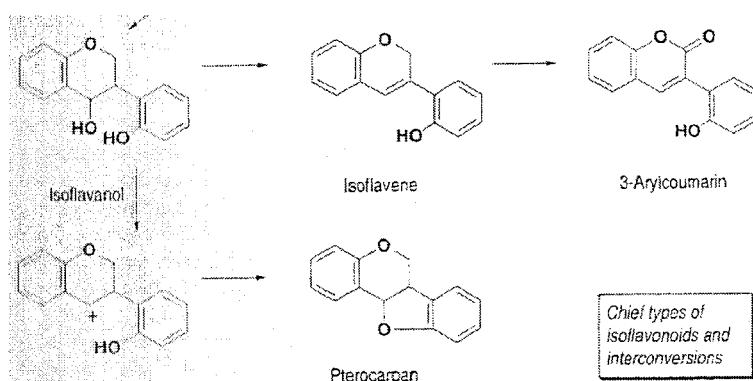
ISOFLAVONOIDS



Dr. Isam agha

34

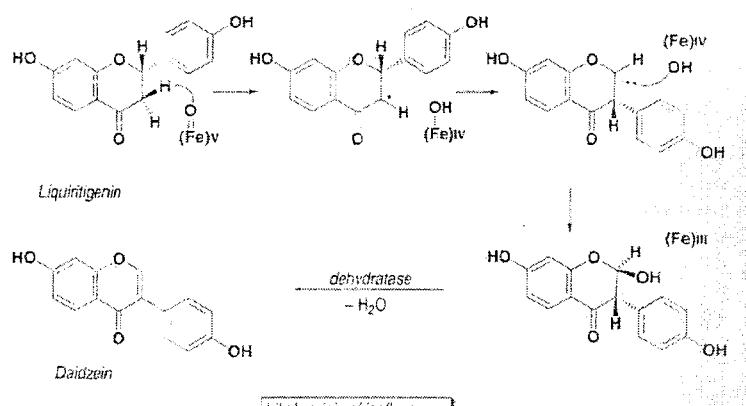
ISOFLAVONOIDS



Dr. Isam agha

35

ORIGIN OF ISOFLAVONES



Dr. Isam agha

36

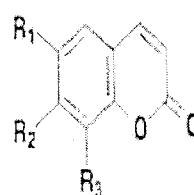
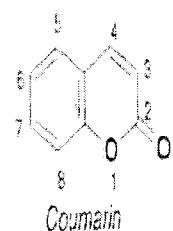
COUMARINS

Derived from Benzo-a-pyran, (Asculetin ⊕
Scopoletin) „Umbelliferon“

Dr.Isam Agha

37

COUMARINS



$R_1 = R_3 = H, R_2 = OH$; Umbelliferone
 $R_1 = R_3 = H, R_2 = OCH_3$; Herniarin
 $R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$; Asculetin
 $R_1 = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = H$; Scopoletin
 $R_1 = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = OH$; Fraxetin

Dr.Isam Agha

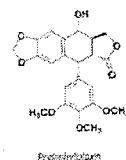
38

LIGNANS

- ◎ Lignans derived from the condensation of two to five phenylpropanoid units.

اللignانات من تكاثف اثنان الى خمس وحدات من الفينيل

بروبانوئيد



Dr.Isam Agha

39

QUINO

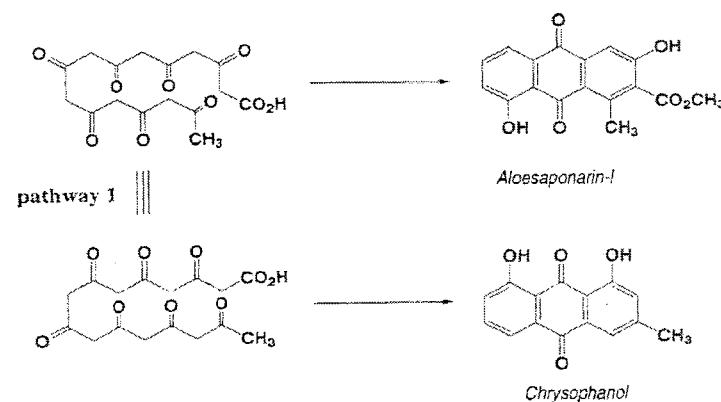
الاصطناع الحيوى للكينونات

- ④ يتم الاصطناع الحيوى للكينونات وفق ثلث مسالك
- ④ مسلك البولي كيتيد
- ④ مسلك الميفالونيك اسيد والشيكميك اسيد
- ④ مسلك الهيدروكسى بنزويلىك اسيد

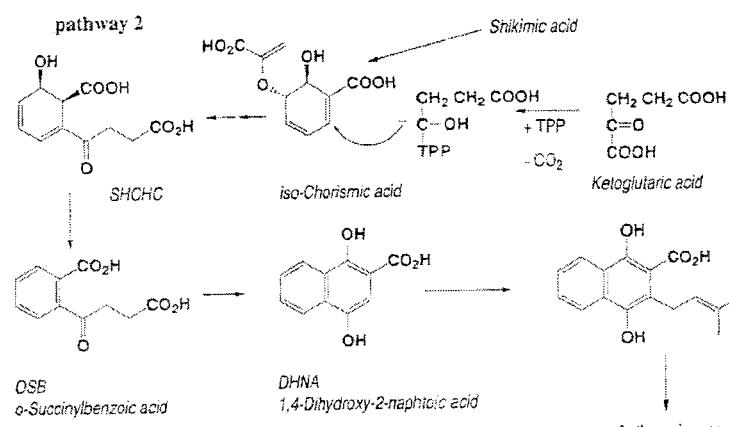
Dr. Isam Agha

41

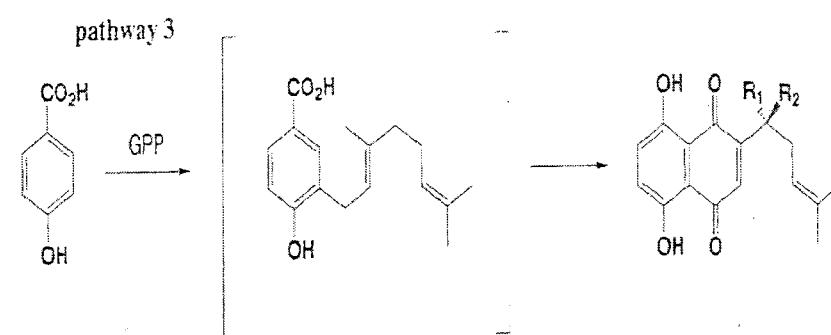
POLYKETIDE PATHWAY



MEVALONIC AND CHORISMIC ACID PATHWAY



HYDROXYBENZOIC ACID PATHWAY

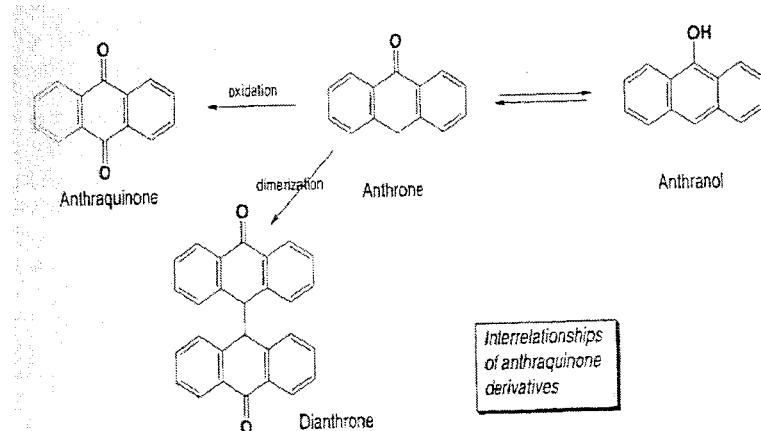


$R_1 = H, R_2 = OH$: Alkannin

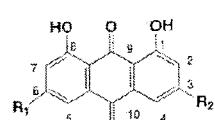
$R_1 = OH, R_2 = H$: Shikonin

Biosynthetic origin of quinones

العلاقات الداخلية بين مشتقات الانتركينونات INTERRELATIONSHIPS OF ANTHRAQUINONE DERIVATIVES

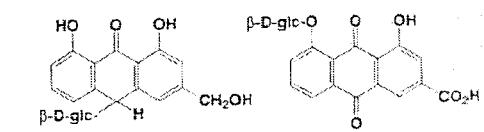
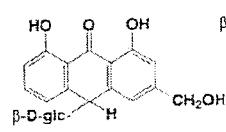
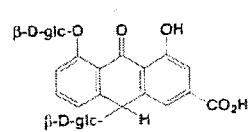
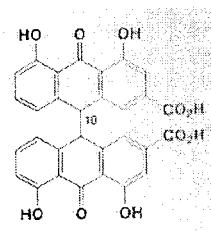


مشتقات الهيدروكسى أنتراكينون HYDROXYANTHRAQUINONES DERIVATIVES

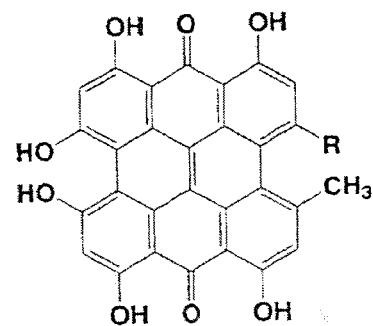


Examples of structures of hydroxyanthraquinones derivatives

$\text{R}_1=\text{H}, \text{R}_2=\text{CH}_3$: Chrysophanol
 $\text{R}_1=\text{H}, \text{R}_2=\text{CH}_2\text{OH}$: Aloe-emodin
 $\text{R}_1=\text{H}, \text{R}_2=\text{CO}_2\text{H}$: Rhein
 $\text{R}_1=\text{OH}, \text{R}_2=\text{CH}_3$: Emodin

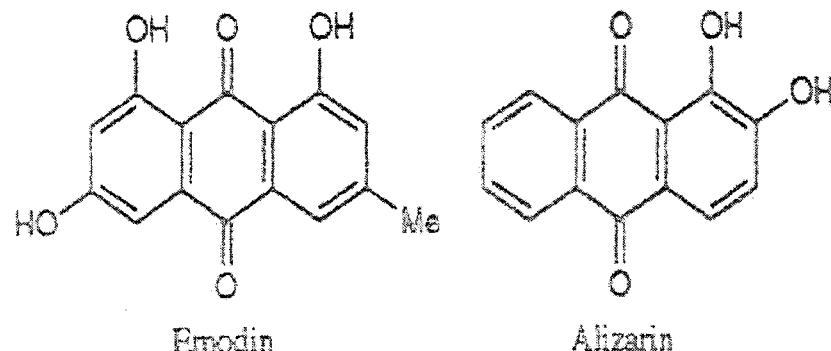


HYPERICUM PERFORATUM, CLAUSIACEAE



R = CH₃, Hypericin

R = CH₂OH, Pseudohypericin



Emodin

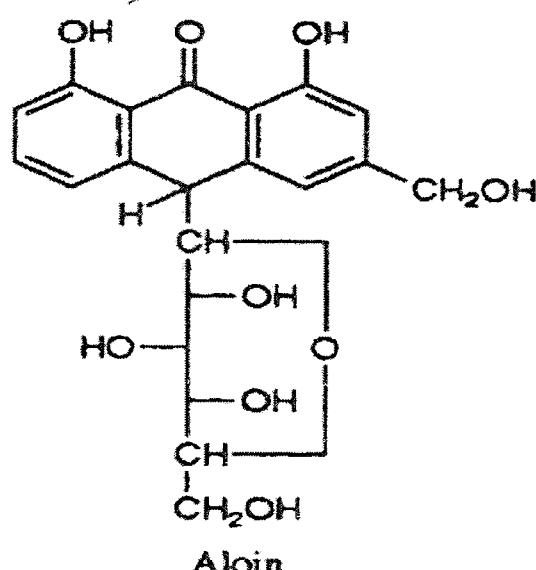
Alizarin

ANTHRAQUINONS CHEMICAL PROPERTIES OF خواص الانثراكينونات الكيميائية

- ◎ Red orange colored with alkali
بالقلويات
- ◎ Soluble in hot water and diluted ethanol
ذوابة في الماء الحار والإيثانول الممدد
- ◎ Identification : Borntranger Reagent, with
KOH or NaOH diluted give orange colored
compounds. تشخيصها: ويتم بتفاعل بورنترانغر، مع
محاليل ممدة من هيدروكسيد الصوديوم أو هيدروكسيد البوتاسيوم
حيث تعطي لوناً برتقاليًا

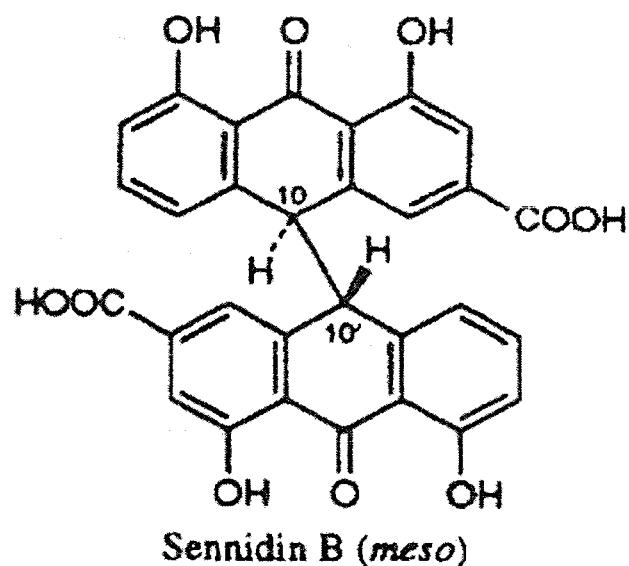
Dr.Isam Agha

49



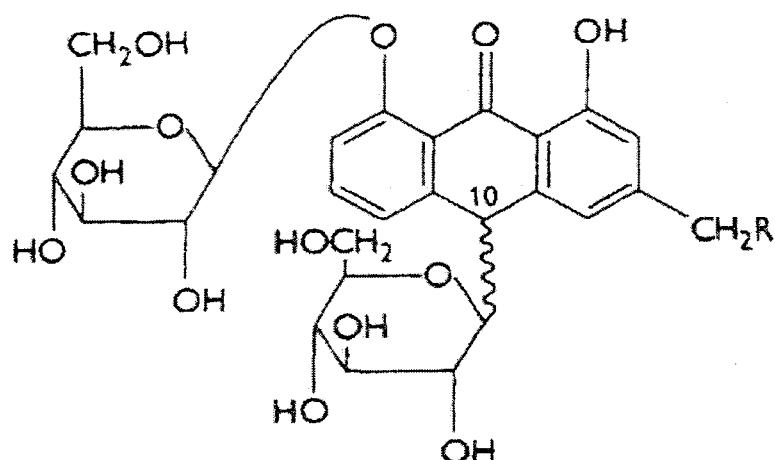
Dr.Isam Agha

50



Dr.Isam Agha

51



Cascarosides of *Rhamnus purshianus*,
 Configurations; Cascaroside A = 10 β , R = OH; B = 10 α , R = OH;
 C = 10 β , R = H; D = 10 α , R = H.

Dr.Isam Agha

52

PREPARATION OF ALOES

تحضير الصبر

- ◎ The leaves cut transversely near the base and about 200 of them arranged round a shallow hole in the ground. تقطع الأوراق عرضياً بالقرب من زيل الورقة وتنضد على شكل دائري مدبلاة الى حوض غير قابل للصدأ حيث يبدأ سيلان ونز الماء الفعال الموجودة في المحيط الدائري من الأوراق
- ◎ After about 6 h all the juice has been collected and it is transferred to a paraffin tin and boiled for about 4 h on open fire. بعد ست ساعات يجمع المفرز ويجف كل بلد حسب طريقة فيتم الحصول على أنواع الصبر المختلفة

Dr.Isam Agha

53

GENERAL CHEMICAL TESTS OF الخواص الكيميائية العامة للصبر ALOES

- ◎ Boil 1 g of drug with 100 ml of water, add a little kieselguhr and filter. Use separate portions of the filtrate for following tests. يحضر محلول أم من خلاصة الصبر بوضع 1 غ من الصبر في 100 مل ماء ويضاف قليل من الكيزيل غور ويرشح. يوخذ من الرشاحة وتطبق الاختبارات الآتية
 1. Borax reaction. A green fluorescence is produced. تفاعل البوراكس يعطي تألق أخضر
 2. Bromine test. A pale yellow precipitate of tetrabromaloin is produced. تفاعل البرومين ويعطي رسابة صفراء شاحبة من تترابروماليونين

Dr.Isam Agha

54

SPECIAL CHEMICAL TESTS OF ALOES

الاختبارات النوعية

1. Nitric acid test. Aloes of different types gives colors between yellow, brown and red. اختبار حمض النترิก حيث يعطي الصبر ألوانا مختلفة وفق نوع الصبر
2. Nitrous acid test. Small crystal of sodium nitrite and a little acetic acid are added. A pink colour is produced. اختبار حمض النتروزيك حيث يعطي مع بلورات نتريت الصوديوم وقليل من حمض الأسيتيك لون وردي
3. Klungs isobarbaloin test. Drops of saturated copper sulphate solution are added, followed by 1 g of sodium chloride and 10 ml of alcohol 90%. Red colour is developed. بالايزوباربالوين: عطي مع محلول سلفات النحاس المشبع باليوزوباربالوين وبوجود كلوريد الصوديوم والآيتانول لوناً أحمر

Dr.Isam Agha

55

EXTRACTION AND ASSAY OF ANTHAQUINONS

استخلاص الانثراكيتونات

- ◎ Powdered drug extracted with hot Ethanol/water (50%). The ethanol content removed by evaporating. The residual water extract deal with chloroform. The water extract (Glycosidic compounds) deals with oxidative hydrolysis (modified Borntranger reagent) under heating with HCl and FeCl₃ (all compounds were hydrolysed and turned to free Anthraquinones compounds). يستخلص مسحوق العقار بالآيتانول 50% بالغليان تحت مبرد صاعد. تكتف الخللاصة وتعامل الخللاصة المائية المتبقية بالكلوروформ. تؤخذ الطبقة المائية الحاوية على غلوكوزيدات وتطبق عليها الحلمة الأوكسیدية باضافة فوق كلور الحديد مع حمض كلور الماء وبالتسخين لتحويل كل اشكال الغلوكوزيدات الى اجسام أغليكون حرة

Dr.Isam Agha

56

EXTRACTION AND ASSAY OF ANTHRAQUINONES

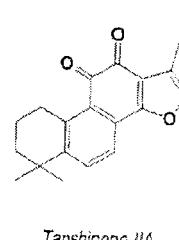
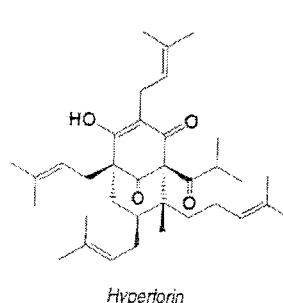
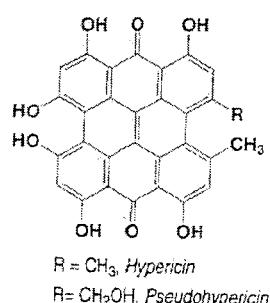
- ◎ The residual water extract extracted with Ethyl ether, (1) and the ethyl ether extract deal with the reagent Ethyl acetate in methanol or diluted ammonia (some alkali is added), red colour is developed and this method (Anthraquinones) can be used in the colorimetric determination of Anthraquinones by 515 nm wavelength.
- تستخلص الطريقة المائية باليترن الابتيلي، (1) بضاف للخلاصة الابتيلية كاشف الابتيل أسيتات بالميثانول أو الأمونياك فتظهر لون احمر برتقالي يمكن استخدامه لإجراء المعايرة اللونية لتحديد نسبة الغليكوزيدات الانتراكونيونية
- ◎ The Chloroform extract evaporated and the residual extract deal with ethyl ether (as in 1) أما (1) الخلاصة الكلوروفورمية فتعامل كما سبق لتحديد الأغликونات الحرة

Dr.Isam Agha

57

الدادي منتن-عشبة القدس حون HYPERICUM-ST JOHNS WORT

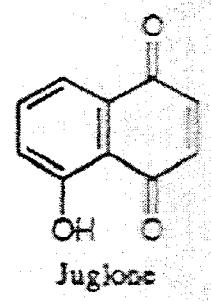
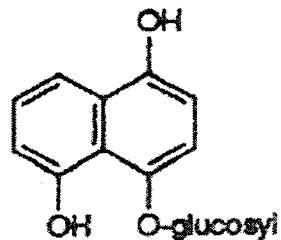
Hypericaceae, الفصيلة الداذية, *Hypericum perforatum* هيبريسين، مشتقات الفلوروغلوسينول (الهيبيروفورين)، يستخدم لمعالجة الاكتئاب.



Dr.Isam Agha

58

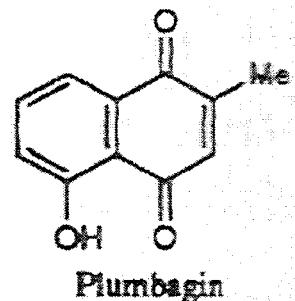
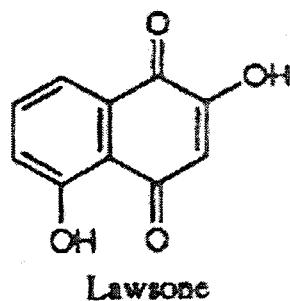
النافثوكينونات-النافثوكينونات الغليكورزيدية



Dr.Isam Agha

59

النافثوكينونات-النافثوكينونات الغليكورزيدية



Dr.Isam Agha

60

Tannins

التانينات

Prof. Dr. Isam Agha

1

Tannins-Definitions

تعريف التانينات

1. Seguin (1796) → Tannins = “substances that are able to combine with proteins of animal hides, prevent their putrefaction & convert them into leather”
وفق سيفونين مواد قابلة للارتباط بالبروتينات الحيوانية تمنع تخربيها وتحولها إلى جلد
3. Recently → Tannins = polyphenols related to gallic acid & flavan-3-ol. Sometimes occurring as glycoside
حالياً التانينات هي مركبات عديدات فينول لها علاقة بحمض الغاليك والفلافان 3 أول. توجد أحياناً على شكل غликوزيدات

Prof. Dr. Isam Agha

2

Tannins-Characters

خواص التانينات

- Have a large number of phenolic groups within a molecule of moderate size (1-2 /100g mol.wt.) usually as *o*-dihydroxy & *o*-trihydroxy groups لها عدد كبير من المجموعات الفينولية ضمن جزيء متوسط الكبر وهي توجد عادة على شكل ثانوي أو ثلاثي هيدروكسيل
- Have astringent & antiseptic activities لها فعاليات قابضة (دابجة) ومضهرة
- React with alkalis & Fe salts تتفاعل مع الالکاليات ومع أملاح الحديد

3

Types of tannins

True tannins

- * Complex phenolics
- * High mol. wts = 1000 to 5000.
- * Having the general properties of tannins
- * Precipitated by gelatin in 1% solution.

Pseudo-tannins

- * Simple phenolics
- * Give some of the tests for tannins
- * Not precipitated by gelatin in 1% solution

Hydrolysable tannins

Condensed tannins

Complex tannins.

Gallitannins

Ellagitannins

Prof. Dr. Isam Agha

4

Hydrolysable tannins- Properties

خواص التانينات القابلة للحلمة

1. **Hydrolyzed by acids or enzymes (e.g. tannase).** يمكن حلّمهاها بالحموض والإنزيمات (تاناز)
2. **Formed from several molecules of phenolic acids (gallic & hexahydroxydiphenic acids) united by ester linkages to a central glucose molecule.** تتشكل من العديد من جزيئات الحموض (الفينولية)
(حمض الغاليك وحمض هكزا هيروكسى دي فينيك) مرتبطة مع جزء غلوكوز مركبى
1. Known as "Pyrogallol tannins", because on dry distillation → Pyrogallol.
تعرف باسم تانينات البيرو غالول لأن التقطر. الجاف لها يعطي بيرو غالول
تعطى لوناً أزرق مع كلوريد الحديد
2. Subclassified into 2 types: gallitannins [gallic acid units] & ellagitannins [hexahydroxydiphenic acid units].
تصنف ضمن نمطين: التانينات الغالية (وحدات حمض الغاليك) والالاغيتانين (وحدات هكزا هيروكسى دي فينيك أسيد)

Prof. Dr. Isam Agha

5

Condensed tannins- Properties

خواص التانينات المتكاثفة

1. Sometimes called "Proanthocyanidins" تسمى أحياناً بروانتوسيانيدين
2. Not hydrolyzable & have no sugar moiety. غير قابلة للحلمة ولن يعطى لها جزء سكري
3. Related to flavonoid pigments in structure لها بنية ذات علاقة بالفالفونويدات
4. Polymers of flavan-3-ols (catechins) & flavan-3, 4-diols (usually di- & trimers). بوليمرات فلافان 3 أول (كاتيكيبات) وفلافان 3 و 4 دي أول (دي مير أو تر مير)

Prof. Dr. Isam Agha

6

Condensed tannins- Properties

خواص التانينات المتكاثفة

5. Also called “catechol tannins” because on dry distillation → catechol تسمى أيضاً بالكاتيكول تانينات لأن التقطر الجاف يعطي كاتيكول
6. + with acids or enzymes → red insoluble “phlobaphenes” تعطي مع الحموض والإنزيمات مواد حمراء غير ذوبابة تسمى فلوبافينات
7. → green color with ferric chloride تعطي لون أخضر مع كلوريد الحديد

Prof. Dr. Isam Agha

7

Complex tannins

- ★ Formed by union of a hydrolysable & a condensed tannin.
- ★ Union is through a C-C bond between C-1 of glucose of the ellagitannin & the flavan-3-ol derivative → monomer → oligomer

Pseudotannins

- ★ Polyphenolics of molecular weights < true tannins.
- ★ Negative goldbeater's skin test
- ★ In conc. solution may → precipitate gelatin
- ★ Partly retained by hide powder.
- ★ Examples: gallic acid, catechins & chlorogenic acid.

Prof. Dr. Isam Agha

8