جامعة المنصورة
كلية العـلوم بدمياط
قسم الكيمياء

مستخلص رسالة الماجستير الخاصة
بالطالب\ محمد عبدالسلام الشربيني حسانين
قسم الكيمياء - كلية العلوم بدمياط – جامعة المنصورة

عنوان الرسالة :

" دراسات كيميائية على بعض المستخلصات الطبيعية ومكوناتها لمكافحة دودة ورق القطن إسبودوبتيرا ليتورالس"

و تهدف الرسالة الى إيجاد بدائل آمنه للمبيدات المصنعة كيميائياً التي لها تأثيرات ضارة على الإنسان والحيوان والنبات حيث أنها تلوث البيئة نظراً لتراكمها في النبات والتربة لفترات زمنية طويلة وتسبب العديد من الأمراض الخطيرة وكنتيجة طبيعية للإستخدام الزائد لهذه المبيدات ظهرت أيضاً بعض المشكلات مثل نقص الأعداء الحيوية وظهور آفات لها سلالات مقاومة للمبيدات وكذلك الإخلال بالتوازن البيئي. لذلك أصبح هناك احتياجاً كبيراً للمبيدات الطبيعية التي تكون من أصل طبيعي مثل خلاصات النباتات والمنتجات الطبيعية النباتية وهذا بسبب سهولة تحللها في الطبيعة وخلوها من السمية مقارنة بالمبيدات المصنعة وإستخدامها كمبيدات آمنه في مكافحة دودة ورق القطن التي تعد من أهم وأخطر الأفات الحشرية التي تصيب محصول القطن والكثير من المحاصيل الحقلية الأخري وكذلك نباتات الزينة مسببة خسائر فادحة في الإنتاج في مصر والعديد من دول العالم. وكذلك دراسة الخلاصات النباتية من ناحية طبيعة المكونات الكيميائية العضوية وقد تم فصل بعض هذة المركبات فى صورة نقية بواسطة طرق فصل كروماتوجرافية عديدة، مثل أعمدة وطبقات الفصل الكروماتوجرافية، وقد تم تعيين الصيغ البنائية لها عن طريق استخدام القياسات الطيفية مثل الأشعة تحت الحمراء وطيف الكتلة وطيف الرنين النووى المغناطيسى للهيدوجين والكربون ١٣ و الرنين النووى المغناطيسى ثنائى الأبعاد وكذلك استخدام تقنية كروماتوجرافيا الغاز / طيف الكتلة.

و يمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها كما يلى :

١- تم تحديد وجمع إثنى عشر نوعاً نباتياً وإجراء إختبار السمية الخاص بهم ضد دودة ورق القطن "إسبودوبتيرا ليتورالس". وقد تم إختيار إثنين من النباتات الواعدة حيث أن خلاصتها اعطت نتائج ايجابية ضد يرقات العمر الثانى لدودة ورق القطن وهما نباتات الحرمل والعادر.

٢- نتج عن دراسة نبات الحرمل فصل وتعريف مركبين من السيترولات بالاضافة الى مركب جديد من مشتقات الفينيل بروبانويد وكذلك سيتريك اسيد تراي ميثيل استر بواسطة أعمدة وطبقات الفصل الكروماتوجرافية. كما تم فصل وتعريف ٥ مركبات الكالويدات كينازولينية منهم واحد جديد. بالإضافة إلي تحديد هوية مكوناته بواسطة تقنية كروماتوجرافيا الغاز/طيف الكتلة وقد أسفر هذا التحليل عن تعريف ٣٥ مركب.

٣- وقد أسفرت دراسة نبات العادر عن فصل وتعريف مركبين من الأسيتيلينات بالإضافة إلي ثلاث مركبات وهى عبارة عن بارا-هيدروكسى اسيتوفينون ومشتقاته وكذلك تم تعريف ٦٢ مركباً بواسطة تقنية كروماتوجرافيا الغاز/طيف الكتلة. وكذلك تم استخلاص الزيت العطرى بطريقة التقطير البخارى للاجزاء الهوائية للنبات وتحديد هوية مكوناته بواسطة تقنية كروماتوجرافيا الغاز/طيف الكتلة وقد أسفر هذا التحليل عن تعريف ١٤ مركب.

٤- أشارت نتائج دراسة سمية خلاصات نبات الحرمل على يرقات العمر الثانى للسلالة المعملية لدودة ورق القطن أن الجزئية الغنية بالألكالويدات الكينازولينية كانت الأقوى تأثيراً يليها المستخلص الميثانولى الخام ثم خلاصة الكلوروفورم على الترتيب. كذلك أشارت نتائج دراسة التأثير الإبادي لخلاصات نبات العادر أن خلاصة الإيثر البترولى كانت الأكثر سمية يليها المستخلص الميثانولى الخام ثم خلاصة الزيت العطرى ثم خلاصة الإثير ثم خلاصة الكلوروفورم ثم خلاصة الإيثانول وأخيراً خلاصة الإيثيل اسيتات علي الترتيب.

وبناءاً على ضوء ما ذكر في الدراسة السابقة نوصى بإستخدام الجزئية الغنية بالألكالويدات لنبات الحرمل كمبيد طبيعي ضد دودة ورق القطن والتوسع في التجارب الحقلية بعد دراستها.

Mansoura University
Faculty of Science (Dammietta branch)
Chemistry Department

MSc Thesis Summary of
The Researcher/ Mohamed Abdel-Salam El-Sherbeni Hassanin
Chemistry Department, Faculty of Science (Dammietta branch), Mansoura University

Title of Thesis : "Chemical Studies on some Natural Extracts and Their constituents to Control the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*"

The work described in this thesis has been undertaken with the aim of searching for naturally occurring substances from some available Egyptian plants with pesticidal potential, especially as insecticides against the most injurious and widespread pest of different crops *Spodoptera littoralis* (Boisd.). It is well-known that synthetic chemical pesticides cause serious damage to the environment and human. Therefore, there is a great demand on natural pesticides, such as botanical natural products. This is due to their relatively short environmental half-lives as well as the non-toxicological properties, compared to synthetic pesticides. Through this investigation, useful information was obtained from the application of various chromatographic methods, such as CC and PTLC, as well spectroscopic methods, such as IR, MS, GC/MS, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, DEPT and 2D NMR.

Results were shown as the following:

1- Examination of toxicity of twelve Egyptian plants against the 2nd instar larvae of *S. littoralis* and selection of two promising plants which are *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) and *Artemisia monosperma* Delile (*Compositae*).

2- Processing of *P. harmala* aerial parts revealed the isolation and structure elucidation of two steroids and a new shikimate derivative, in addition to citric acid trimethylester. Also five quinazoline alkaloids were reported, one of them is new. Additionally, 35 compounds were identified using GC/MS technique.

3- *A. monosperma* aerial parts were processed to give two diacetylenes and three compounds of *p*-hydroxyacetophenone derivatives. Additionally, it gave 76 compounds by GC/MS technique.

4- The results indicated that the free alkaloidal fraction proved to be the most effective from *P. harmala* extracts against the 2nd instar larvae of *S. littoralis* of the laboratory strain followed by the crude extract and then the defatted neutral chloroform fraction.

5- The pet. ether fraction was more toxic than the other tested *A. monosperma* extracts followed by the crude extract, essential oil extract, ether fraction, chloroform fraction, ethanol fraction and ethyl acetate fraction, respectively. From the above mentioned data, we recommended the use of *P. harmala* free alkaloidal fraction among all the tested extracts as a natural insecticide against the larvae of the cotton leafworm, *S. littoralis* after investigation by field experiments.

CONTENTS

Summary in English

I. Introduction 1

1.1. General ……... 1

1.2. Natural insecticides …… 3

1.3. *Peganum harmala* L. …….. 18

1.4. *Artemisia monosperma* Delile …… 28

Aim of the work 40

II. Results and Discussion 42

2.1. Insecticidal screening of natural extracts of some Egyptian wild desert plants against *Spodoptera littoralis* ……... 42

2.2. Processing of *Peganum harmala* L. aerial parts …… 43

2.2.1. Study of neutral chloroform fraction …….. 45

2.2.1.1. Isolation and characterization of compounds **1** and **2** …….. 45

2.2.1.2. Isolation and charactrization of compound **3** ……... 50

2.2.1.3. Characterization of Compound **4** ……. 55

2.2.1.4. Identification of the defatted neutral chloroform fraction components by using GC/MS technique ……... 58

2.2.2. Study of basic chloroform fraction (Free alkaloids) ……... 66

2.2.2.1. Characterization of compound **33** …… 66

2.2.2.2. Isolation and characterization of compound **34** ……... 69

2.2.2.3. Characterization of compound **35** …… 73

2.2.2.4. Isolation and characterization of compound **36** ……... 74

2.2.2.5. Characterization of compound **37** …… 80

2.2.2.6. Identification of basic chloroform fraction (free alkaloids) by using GC/MS technique …….. 82

2.3. Processing of *Artemisia monosperma* Delile aerial parts …….. 84

2.3.1. Study of pet. ether fraction of *A. monosperma* aerial parts ……. 84

2.3.1.1. Characterization of compound **41** …… 84

2.3.1.2. Characterization of compound **42** …… 87

2.3.1.3. Identification of pet. ether fraction by using GC/MS technique …….. 88

2.3.2. Study of ether fraction of *A. monosperma* aerial parts ……... 93

2.3.2.1. Isolation and characterization of compound **61** ……... 93

2.3.2.2. Isolation and characterization of compounds **62** and **63** …….. 95

2.3.2.3. Identification of the ether fraction components by using GC/MS technique ……... 96

2.3.3. Identification of chloroform fraction by using GC/MS technique …….. 98

2.3.4. Identification of ethyl acetate fraction using GC/MS technique ……. 102

2.3.5. Study of the volatile fraction of *Artemisia monosperma* …… 105

2.4. Laboratory evaluation of the various plant extracts as natural insecticides ... 108

2.4.1. Susceptibility of the 2nd instar larvae of the laboratory strain of cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) to the tested plant extracts after 3-days 108

2.4.1.1. Susceptibility to *Peganum harmala* extracts ……... 108

2.4.1.2. Susceptibility to *Artemisia monosperma* extracts …… 108

2.4.1.3. Toxicity of the most effective plant extracts against the 2nd instar larvae of *S. littoralis* (Boisd.) after 3-days ……... 111

2.4.2. Susceptibility of the 2nd instar larvae of the laboratory strain of cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) to the tested plant extracts after 7-days 113

2.4.2.1. Susceptibility to *P. harmala* extracts ……... 113

2.4.2.2. Susceptibility to *A. monosperma* extracts …… 113

2.4.2.3. Toxicity of the most effective plant extracts against the 2nd instar larvae of *S. littoralis* (Boisd.) after 7-days ……... 116

III. Experimental 118

3.1. Instrumentation …….. 118

3.2. Materials ……. 119

3.3. Bioassay tests ……. 120

3.4. Processing of material of the plants under investigation ……... 122

3.4.1. Processing of the plant material of *Peganum harmala* ……... 122

3.4.2. Processing of the plant material of *Artemisia monosperma* ……... 126

3.5. Characterization of the isolated compounds……... 129

References 134

Appendix 142

1. Spectra of compounds **1** and **2** …….. 142
2. Spectra of compound **3** ……. 145
3. Spectra of compound **4** ……. 154
4. MS spectra of the compounds identified by GC/MS from *P. harmala* neutral chloroform fraction ……... 159
5. Spectra of compound **33** ……... 170

6. Spectra of compound **34** ……..... 177
7. Spectra of compound **35** ……... 184
8. Spectra of compound **36** ……... 187
9. Spectra of compound **37** ……... 201
10. MS spectra of the compounds identified by GC/MS from *P. harmala* free alkaloidal fraction …….. 206
11. Spectra of compounds **41** and **42** …….. 208
12. MS spectra of the compounds identified by GC/MS from *A. monosperma* pet. ether fraction ……. 211
13. Spectra of compound **61** ……... 218
14. Spectra of compounds **62** and **63** …….. 220
15. MS spectra of the compounds identified by GC/MS from *A. monosperma* ether fraction ……. 223
16. MS spectra of the compounds identified by GC/MS from *A. monosperma* chloroform fraction …….. 225
17. MS spectra of the compounds identified by GC/MS from *A. monosperma* ethyl acetate fraction ……... 228
18. MS spectra of the compounds identified by GC/MS from *A. monosperma* essential oil extract …….. 230

Summary in Arabic

List of Abbreviations

Abbreviation	Scientific meaning
^{1}H NMR	Proton nuclear magnetic resonance
^{13}C NMR	Carbon-13 nuclear magnetic resonance
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
δ	Chemical shift value in ppm
ppm	Part per million
H,H COSY	Correlation spectroscopy between hydrogen and hydrogen
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
HMBC	Heteronuclear multiple bond connectivity
NOESY	Nuclear overhauser and exchange spectroscopy
MHz	Megahertz
$CDCl_3$	Deuterated chloroform
CC	Column chromatography
TLC	Thin layer chromatography
GC/MS	Gas chromatography/mass spectrometry
IR	Infra red
MS	Mass spectrometry
m/z	Mass over charge
M^+ or $M^{+\cdot}$	Molecular ion
EIMS	Electron impact mass spectrometry
R_t	Retention time
min.	Minute
R_f	Retardation factor
pet. ether	Petroleum ether
$CHCl_3$	Chloroform
LC_{50}	The lethal concentration that kills 50% of individuals
LC_{90}	The lethal concentration that kills 90% of individuals