MANARA UNIVERSITY

FACULTY OF PHARMACY

Pharmacognosy 2
CPPH303

Extraction of Medicinal Plants

D DIMA MUHAMMAD

مقررات كلية الصيدلة - طلاب السنة الثانية - الفصل الثاني

المركبات الطبيعية: الحاضر والمستقبل

الطبيعة كانت دائما مصدرا للمركبات الطبيعية على مدى آلاف السنوات و أن عدد كبير من الأدوية الحديثة هي مشتقة من المركبات الطبيعية (vincristine من *Vinca rosea* , morphine من *Papaver somniferum* , Taxol من *T. brevifolia* الخ), تم اكتشاف العديد من هذه المركبات كان على أساس الاستعمال التقليدي في الطب الشعبي. في السنوات الأخيرة لوحظ اهتمام واضح بالمركبات الطبيعية من قبل كبرى الأكاديميات العلمية أيضا من قبل الشركات الصيدلانية. العديد من الأدوية الحديثة (40 % من الأدوية الحديثة) تم تطويرها ابتداء من المركبات الطبيعية.

ستستمر المركبات الطبيعية بكونها أحد المصادر الأساسية للأدوية الجديدة بسبب :

a) تمتلك تنوع بنيوي لا مثيل له.
b) العديد منها تمثل جزيئات صغيرة (<2000).
c) لها خصائص شبيهة بالأدوية "drug-like" (حيث يمكن أن يتم امتصاصها و استقلابها).

لحد الآن, فقط جزء بسيط من التنوع الحيوي في العالم تم استثماره في مجال فحص الفعالية الحيوية للمركبات المعزولة, على سبيل المثال : هناك على الأقل 250000 نوع نباتي من النباتات المنتمية للصفوف العليا في سلم التطور الموجودة على وجه الأرض, لكن فقط 5-10% من هذه النباتات تمت دراستها, بالإضافة فإن إعادة دراسة بعض النباتات المدروسة سابقا لا تتوقف عن كونها مصدرا للمركبات الفعالة التي تمتلك صفات كامنة كأدوية. إن تطور العديد من التقنيات الجديدة و العالية النوعية : تقنيات التجارب الحيوية في الزجاج, الطرق الكروماتوغرافية و التقنيات الطيفية (بشكل خاص : الرنين المغناطيسي النووي NMR) جعلت من السهل إجراء عمليات البحث و الاستقصاء و العزل و تحديد الهوية للمركبات الفعالة بشكل سريع و دقيق.

استراتيجيات البحث في مجال المركبات الطبيعية تطورت بشكل ملحوظ جدا على مدى العقود القليلة الماضية, يمكن تقسيم هذه الاستراتيجيات زمنيا إلى فئتين :

1. الاستراتيجيات القديمة :

a) التركيز على كيمياء المركبات من مصادر طبيعية, لكن ليس على الفعالية.
b) عزل مباشر و تحديد الهوية للمركبات من مصادر طبيعية متبوع بقياس الفعالية.

c) اختيار المصدر الطبيعي يرتكز بشكل أساسي على معطيات الاستعمال الشعبي.

2. الاستراتيجيات الحديثة :

a) عزل و تحديد الهوية للمركبات الفعالة في المصادر الطبيعية موجهة بواسطة قياس الفعالية الحيوية.

b) إنشاء مكتبات للمركبات الطبيعية.

c) إنتاج المركبات الفعالة في الخلايا أو الأنسجة المزروعة tissue culture ,طرق الهندسة الوراثية الخ.

d) تركيز أكبر على الفعالية الحيوية.

e) اختيار المصدر الطبيعي يرتكز بشكل أساسي على معطيات الاستعمال الشعبي, لكن أيضا هذا الاختيار قد يتم بشكل عشوائي.

جامعة المنارة
MANARA UNIVERSITY

المنهجية العامة لدراسة العقاقير

I. تحضير العينة Preparation of plant material

تتضمن مرحلة تحضير العينة عدة خطوات هامة

- التعرف على النبات من قبل الاخصائيين في التصنيف النباتي
- انتقاء العضو النباتي, عمر النبات, زمان ومكان الحصاد
- معالجة العينة النباتية: تجفيف.... تخمير.....تجميد.....تخزين
- تنعيم العينات (طحن.....سحق)

الطحن : تحويل العينة إلى جزيئات بأبعاد صغير , بغية تذليل عملية الاستخلاص ومجانستها وزيادة المردود:

- مجانسة العينة النباتية
- أعضاء نباتية مختلفة ← قوام وكثافة نسيجية مختلفة
- زيادة سطح التماس بين العينة والمحل
- تسهيل عملية تغلغل المحل في العينة
- تهتك في البنية النسيجية : المستقلبات الثانوية على تماس مباشر مع المحل

II. استخلاص العقاقير الدوائية

الهدف: استخلاص المركبات ذات الأهمية (مزائج معقدة, نسب ضعيفة)

النباتات هي أوساط معقدة تنتج عددا من المستقلبات الثانوية الحاملة لمجموعات وظيفية مختلفة وذات قطبية مختلفة. مجموعات المركبات الطبيعية تشمل الشموع , الحموض الدسمة, التربينات (وحيدات التربين, وحيدلت التربين والنصف, ثنائيات التربين, ثلاثيات التربين) الستيروئيدات, الزيوت العطرية, الفينولات (بسيطة, فلافونوئيدات, مواد عفصية, أنتوسيانات, كيتونات, كومارينات) قلويدات, مشتقات غليكوزيدية (سابونينات, غليكوزيدات قلبية, غليكوزيدات فلافونوئيدية).

مفهوم المحل: المركبات القطبية تنحل في المحاليل القطبية وبالعكس. القطبية مرتبطة بوجود مجموعات محبة للماء أو للدسم في الجزيئة. إمكانية تعديل الانحلالية وفقا لدرجة ال pH بالنسبة للجزيئات القابلة للتشرد.

- الاستخلاص بمحلات قطبية : ماء, ايتانول, ميتانول ..

- الاستخلاص بمحلات متوسطة القطبية : اسيتات الإيتيل, ثنائي كلور الميتان.
- الاستخلاص بالمحلات اللاقطبية : هكزان, ايتر البترول, الكلوروفورم.

III. التجزئة Fractionation

هي المرحلة التي تلي عملية الاستخلاص,فالخلاصة الخام للمادة الطبيعية هي عبارة عن مزيج من المكونات. من الصعب التوصل إلى عزل المركبات كلا على حدا بتطبيق تقنية فصل واحدة. بشكل بدئي يتم فصل أو تجزئة الخلاصة الخام إلى عدة أجزاء (كل جزء يحتوي على المركبات التي تمتلك قطبية أو وزن جزيئي متقارب) ,و من ثم تتم معالجة كل جزء على حدا بطريقة مناسبة : استخلاص سائل / سائل , عمود تفريق لوني الخ, لكن يجب الانتباه عند تجزئة الخلاصة الخام إلى عدة أجزاء إلى عدم الإكثار من هذه الأجزاء لأن المركب المهم قد يكون متواجدا في كل هذه الأجزاء بتراكيز ضئيلة يصعب معها عزل هذا المركب أو حتى إثبات وجوده detection , لذلك فمن الأفضل جمع عدد قليل من الأجزاء الحاوية على المركب المهم هذه العملية تكون عادة موجهة بطريقة كشف تتم بالتوازي مع عملية التجزئة on-line detection technique مثل HPLC ,UV .

IV. العزل Isolation

العامل الأكثر أهمية والذي يجب وضعه في الحسبان قبل تحديد أو اختيار بروتوكول العزل هو طبيعة المركب المستهدف الموجود في الخلاصة الخام أو في الجزء النصف خام.

الخصائص الموجودة في المركب أو المركبات المستهدفة the target compound و التي يمكن أن تكون مفيدة لتسهيل أو تسريع عملية العزل هي الخصائص التي تشمل الانحلالية (محبة للماء أو للدسم) , الصفات الحمضية أو القلوية, الشحنة, الثبات و الوزن الجزيئي. إذا كنا نريد عزل مركب معروف من نبات معروف أو من نبات غير معروف يمكننا مراجعة معطيات المراجع بشأن خصائصه الكروماتوغرافية ومن ثم نستطيع اختيار الطريقة الأنسب للعزل بدون مشاكل أو صعوبات كبيرة. في حين أنه من الأصعب بكثير وصف أو اختيار طريقة أو بروتوكول لعزل مركب غير معزول. في مثل هذه الحالات يكون من المنصوح إجراء فحوص للكشف عن وجود مركبات ذات بنى مختلفة (فينولية, ستيروئيدية, قلويدية, فلافونوئيدية الخ) بالإضافة لفحص بالتفريق اللوني على الصفيحة الرقيقة TLC أو إجراء فحص بال HPLC .

طبيعة الخلاصة تلعب دورا أيضا في اختيار طريقة العزل

MANARA UNIVERSITY

الطرق التفريقية اللونية المتبعة في عزل الأنماط المختلفة من المركبات الطبيعية يمكن أن تصنف بشكل عام إلى فئتين : كلاسيكية أو قديمة و طرق حديثة :

التقنيات القديمة :

الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة .Thin-layer chromatography (TLC)

الكروماتوغرافيا التحضيرية على الطبقة الرقيقةPreparative thin-layer chromatography (PTLC)

عمود التفريق اللوني المفتوح .Open-column chromatography (CC)

الكروماتوغرافيا المسمات فلاش Flash chromatography (FC)

التقنيات الحديثة :

التفريق اللوني على الطبقة الرقيقة عالي الأداء High-performance thin-layer chromatography (HPTLC)

Multiflash chromatography

الكروماتوغرافيا السائلة تحت الخلاء Vacuum liquid chromatography (VLC)

الاستخلاص في الطور الصلب Solid-phase extraction

الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء High-performance liquid chromatography (HPLC)

التقنيات الهجينة : LC مع MS , كروماتوغرافيا السائلة LC مع NMR

V. تحديد الكمية Quantification

إن المردود من المركبات في نهاية عملية العزل والتنقية مهم جدا. تقدير المردود أو الناتج لمرحلة العزل يتم باستعمال تقنيات التحليل الروتينية و التي تتطلب استخدام عياري (ايجابي و سلبي).

مشكلة المحصول أو ناتج الاستخلاص الضعيف

المردود الضعيف هو واحد من أهم المشاكل المصادفة أثناء عزل وتنقية المنتجات الطبيعية. مثلا : فقط 30 غ من vincristine تم الحصول عليها ابتداء من 15 طن من الأوراق الجافة لنبات *V. rosea* . كذلك عند استخلاص 6000 شجرة بطيئة النمو من *brevifoliaTaxus* نحصل فقط على 27.3كغ من التاكسول ®Taxol. من اجل تجاوز مشكلة ال ®Taxol تم عقد اجتماع من قبل المعهد القومي للسرطان في واشنطن في حزيران 1990 حيث تم اقتراح الآتي

- البحث عن مصدر أفضل ل ®Taxol كأنواع مختلفة من النبات (*Taxus*) مثل بعض الأنواع المزروعة أو من عزله ابتداء من أجزاء أخرى من النبات أو إيجاد شروط زراعة أكثر ملائمة.
- التصنيع النصفي Semisynthesis ل®Taxol من طليعة أكثر توافرا في النبات.
- التصنيع الكامل Total synthesis ل ®Taxol
- زراعة الأنسجة Tissue culture المنتجة ل ®Taxol

من بين هذه الاقتراحات المختلفة كانت عملية التصنيع النصفي هي الأكثر نجاحا على الرغم من انه تم تطوير 3 طرق للتصنيع الكامل ل ®Taxol , للكن العائد الاقتصادي لم يكن أفضل من عملية نصف التصنيع.

VI. <u>كشف/تحديد الصيغة أو البنية</u>

هي المرحلة النهائية من عملية عزل المركبات الطبيعية. بشكل عام تحديد البنية للمركبات المعزولة من مصدر نباتي, فطري أو بكتيري أو من مصادر أخرى هي عملية تتطلب الكثير من الوقت وأحيانا تكون أهم عقبة في مجال البحث في المركبات الطبيعية, يوجد العديد من الطرق الطيفية المفيدة من أجل الحصول على معلومات مهمة متعلقة بالبنية الكيميائية و لكن معالجة وتحليل المعلومات التي يتم الحصول عليها بهذه الطرق يتطلب عادة خبراء في هذا المجال. إذا كان المركب معروف مسبقا فإنه من السهل مقارنة معطياته الطيفية مع تلك الموجودة في المراجع أو عن طريق إجراء مقارنة مباشرة مع عينات جاهزة من المركب. لكن إذا كان المركب موضع الاهتمام غير معروف وله بنية معقدة فإن معرفة البنية الكيميائية يتطلب فهم عميق و مقاربات تشمل العديد من التقنيات الفيزيائية والكيميائية والطيفية .

إن المعلومات المتوفرة حول الجنس أو العائلة للنبات أو الميكروب المدروس يمكن أن توفر دلائل إضافية و توجه نحو الصف الكيميائي للمركب المعروف.الطرق الطيفية الآتية تستخدم عادة من اجل تحديد بنية المركبات الطبيعية :

- طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV-vis) : يزود معلومات حول وجود الكروموفور في الجزيئة, مثل بعض المركبات الطبيعية مثل الفلافونوئيدات, القلويدات الإيزوكينولية و الكومارينات, بعض المركبات (القليل منها يمكن أن تشخص مبدئيا بواسطة قمم الامتصاص النوعية لها.

- طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) : يحدد المجموعات الوظيفية المختلفة مثل NH_2—, C=O—, —OH , المجموعات العطرية..) الموجودة في الجزيئة.
- مطياف الكتلة (MS) : يعطي معلومات حول الكتلة الجزيئية والصيغة العامة للجزيء وأقسامه المختلفة.
- NMR طيف الرنين المغناطيس النووي : يعطي معلومات حول عدد ونمط ذرات الهيدروجين والكربون (أيضا عناصر أخرى مثل النتروجين, الفلور...) الموجودة في الجزيئة والعلاقات المختلفة بين هذه الذرات.

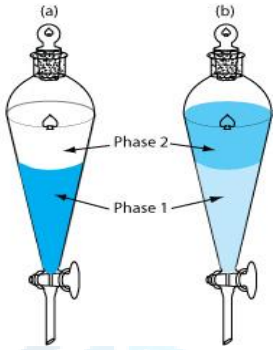
بالإضافة للطرق المذكورة أعلاه يوجد طرق أخرى مثل : دراسات البلورات بأشعة اكس X-ray و الذي يزود معلومات حول بنية البلورة, مقياس الاستقطاب polarimetry الذي يعطي معلومات عن الفعالية الضوئية للمركبات الغير متناظرة chiral compounds .

جامعة المنارة
MANARA UNIVERSITY

طرق الاستخلاص

1. الاستخلاص سائل-سائل:

- المبدأ: نقل المادة بين محلين غير مزوجين
- العوامل: ثابتة التوزع, نسبة الطورين, عدد مرات الاستخلاص.



2. الاستخلاص صلب-سائل:

- المبدأ: انحلال, انتشار. في البداية يدخل المحل إلى داخل الخلايا. في المرحلة التالية يجب على المحلأن يقوم بحل المستقلبات ومن ثم ينتشر خارج الخلايا. بشكل عام تُسهل عملية الاستخلاص بتنعيم المادة الأولية (كلما كانت الخلايا محطمة أكثر فإن الاستخلاص سيعتمد أكثر على انحلالية المستقلبات) وبزيادة درجة الحرارة (تحفيز الانحلالية).
- تبخير المحل يعطي الخلاصة الجافة الخام.
- العوامل: نعومة المادة – مسامية الكتلة المستخلصة – تجديد المحل – درجة الحرارة.

a. **التكثيف والتجفيف:** المبدأ: طرد المحل – العوامل: حرارة, ضغط .

2.1. طرق الاستخلاص

إن اختيار عملية الاستخلاص يعتمد على طبيعة مصدر المادة والمركبات التي يتوجب عزلها, قبل اختيار طريقة العزل, يجب أن نحدد المركب المستهدف من الاستخلاص, قد يكون أكثر من مكون, فيما يأتي بعض هذه الحالات :

- مركب فعال غير معروف.
- مركب معروف موجود في العضوية.

- مجموعة مركبات في نفس العضوية و التي تمتلك بنى متشابهة
- تحديد هوية كل المستقلبات الثانوية الموجودة في العضوية من أجل البصمات الكيميائية أو الدراسات الاستقلابية.

من طرق الاستخلاص:

2.1.1. التعطين MACERATION

طريقة بسيطة ومستخدمة على نطاق واسع لحد الآن, تقوم على ترك النبات ذي درجة النعومة المحددة في تماس مع محل مناسب ووضعه في وعاء مناسب محكم الإغلاق على درجة حرارة الغرفة.

التحريك المستمر أو من وقت لآخر يمكن أن يزيد من سرعة الاستخلاص.

تتوقف عملية الاستخلاص بشكل تلقائي عند حدوث التوازن بين تركيز المستقلبات في الخلاصة وتركيزها في العقار. بعد الاستخلاص, تفصل المادة النباتية المتبقية (marc) عن السائل. يتم هذا عن طريق ترك المزيج يترقد حتى تتم الإبانة (الفصل) والتي تتبع بالترشيح, في بعض الأحيان يتم اللجوء إلى التثفيل إذا كان المسحوق شديد النعومة وصعب الترشيح.

لكي نضمن استخلاص جيد, من الشائع أن نقوم بتعطين مبدأي متبوع بالإبانة ومن ثم إضافة محل طازج للبقية, يمكن تكرار هذه العملية ومن ثم جمع الخلاصات المتعاقبة مع بعضها البعض في النهاية.

السيئة الأساسية لهذه الطريقة هي كونها طريقة طويلة قد تستمر من عدة ساعات إلى عدة أسابيع, كما أن التعطين التام يمكن أن يستهلك حجم كبير من المحلول وقد يؤدي إلى فقد في المستقلبات أو / والمادة النباتية.

بعض المركبات قد لا تكون قابلة للاستخلاص بشكل فعال إذا كانت قليلة الانحلال في درجة الحرارة العادية.

بالمقابل, بما أن عملية الاستخلاص بهذه الطريقة تتم على درجة حرارة الغرفة فإن التعطين لا يؤدي إلى تخريب المستقلبات الحساسة للحرارةthermo labile metabolites .

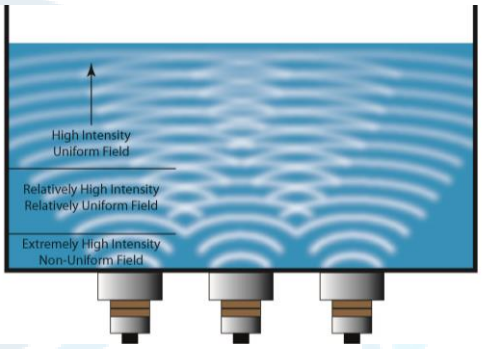
2.1.2. الاستخلاص بمساعدة الأمواج فوق الصوتية ULTRASOUND-ASSISTED SOLVENT EXTRACTION

تعتبر كطريقة تعطين معدلة, حيث أن عملية الاستخلاص تكون مسهّلة باستخدام الأمواج فوق الصوتية. يتم وضع مسحوق النبات في فيال والذي يوضع في حمام فوق صوتي ultrasonic bath . الأمواج فوق الصوتية

المستخدمة تعمل على إيجاد شدة ميكانيكية mechanical stress على الخلايا من خلال إنتاج فراغات أو ثقوب في العينة, وبذلك فإن تحطم الخلايا يزيد من انحلال المستقلبات في المحل ويحسن مردود الاستخلاص. فعالية الاستخلاص تعتمد على تردد الجهاز وعلى طول الموجة ودرجة الحرارة.

هذه الطريقة غير مستخدمة عند القيام بالاستخلاص على نطاق صناعي كبير, بشكل أساسي يستعمل للاستخلاص المبدئي لكميات صغيرة من المادة.

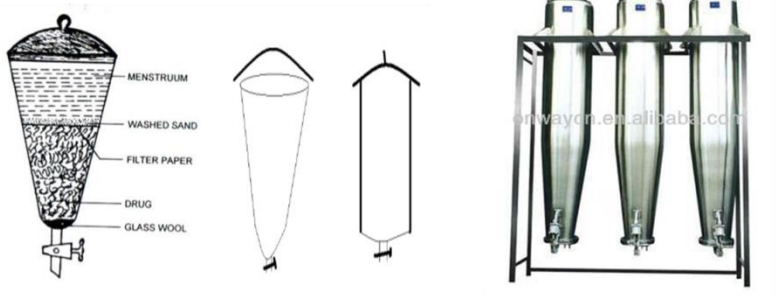
يستخدم بشكل شائع لتسهيل استخلاص المستقلبات الداخل خلوية من نباتات الزراعة الخلوية plant cell cultures .



2.1.3. التزحيل PERCOLATION

يغمر مسحوق النبات بشكل مبدأي بالمحل في مزحلة (وعاء اسطواني مزود بصنبور), تتم إضافة كميات إضافية من المحلول ببطء (على شكل نقط) من قمة الجهاز. بهذه الطريقة لا نحتاج إلى ترشيح الخلاصة الناتجة بسبب وجود فلتر في أسفل المزحلة.

التزحيل هو عملية مناسبة للاستخلاص المبدئي لكميات صغيرة وللاستخلاص على نطاق واسع. وكما في عملية التعطين قد يتم تطبيق عمليات تزحيل متعاقبة من أجل استخلاص العقار بشكل كامل حيث يتم إعادة تعبئة المزحلة بمحل طازج ومن ثم جمع كل الخلاصات الناتجة مع بعضها.



يمكن التأكد من أن عملية التزحيل كاملة عن طريق تطبيق فحوص تحري لوجود المستقلبات في سائل الاستخلاص الناتج. هناك بعض الاعتبارات التي يجب وضعها بالحسبان عند القيام بعملية الاستخلاص بالتزحيل :

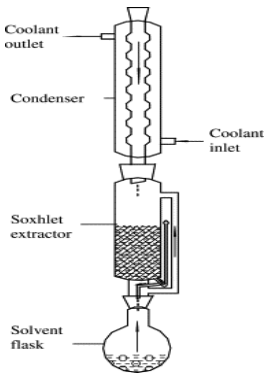
نعومة العقار التي تؤثر على مردود الاستخلاص, لكن المسحوق الناعم و بعض المواد مثل الريزينات والنباتات التي تنتبج بشكل كبير (مثل النبتات الحاوية على مواد لعابية) يمكن أن تسد المزحلة.

إذا كانت المادة غير متوزعة بشكل متجانس في وعاء التزحيل و إذا كانت مرتبة بشكل مضغوط فإن المحل لن يصل إلى كل المناطق وسيكون الاستخلاص غير كامل. كل من زمن التماس بين المحل والعقار و درجة حرارة المحل يمكن أن تؤثر على مردود الاستخلاص. رفع درجة الحرارة يحسن مردود الاستخلاص لكن قد يؤدي إلى تخرب المستقلبات الحساسة.

السيئة الأخرى للتزحيل هي الأحجام الكبيرة المستهلكة من المحلات كما أن هذه الطريقة تستهلك الكثير من الوقت.

2.1.4. الاستخلاص بطريقة سوكسليه SOXHLET EXTRACTION

هذه الطريقة مستعملة جدا في استخلاص المستقلبات النباتية بسبب ميزاتها الكثيرة وهي تناسب الاستخلاص المبدئي لكميات صغيرة كما الاستخلاص على نطاق كبير.



مسحوق النبات يوضع في كيس (خرطوشة)من السللوز Thimblecellulose في حجرة الاستخلاص والتي توضع في أعلى حوجلة الجمع المزودة بمبرد. يتم إضافة محل مناسب للحوجلة ويتم التسخين حتى الغليان, عندما يتم تجمع حد معين من السائل المتكاثف في ال Thimble فإنه ينتقل إلى وعاء التجميع. الفائدة الكبرى لهذه الطريقة هي كونها عملية متواصلة : عندما يتفرغ المحل (المشبع بالمستقلبات المنحلة) في وعاء الجمع فإن محل طازج يتكاثف من جديد ويقوم باستخلاص المادة النباتية بشكل مستمر.

كل هذه الأسباب تجعل من الاستخلاص بطريقة Soxhlet طريقة أكثر سرعة و أقل استهلاكا للمحلات من الطرق السابقة.

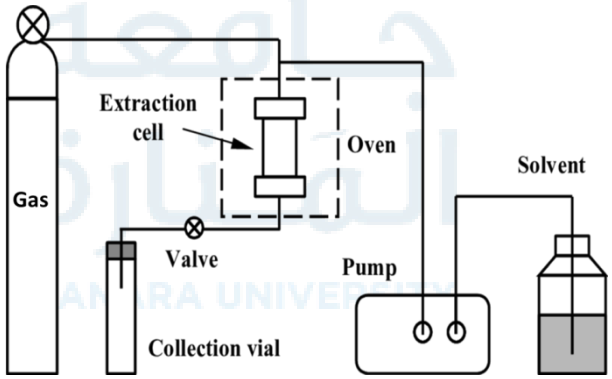
السيئة الأساسية لهذه الطريقة هي كون الخلاصة تتعرض للتسخين بشكل دائم لدرجة غليان المحل المستعمل و هذا يؤدي لتخريب المركبات الحساسة للحرارة.

2.1.5. الاستخلاص بالسائل المضغوط PRESSURIZED SOLVENT EXTRACTION

هذه الطريقة تتطلب حرارة مرتفعة أكثر من كل طرق الاستخلاص الأخرى كما تتطلب ضغط مرتفع لكي نضمن بقاء المحل في الحالة السائلة على درجة الحرارة المرتفعة المستخدمة, مناسب لإجراء استخلاص سريع وذي نتائج متماثلة reproducible لبعض العينات الصغيرة.

يحمّل مسحوق النبات في حجرة استخلاص والتي توضع في فرن ثم يتم يضخ المحل من خزان حتى تمتلئ الحجرة والتي تسخن بعدئذ وتخضع للضغط بمستويات مضبوطة لفترة محددة من الوقت.

الحجرة تكون تحت الآزوت ويتم ترشيح الخلاصة بشكل آلي وتجمع الرشاحة في حوجلة, يتم استخدام محل طازج لغسل كل الحجرة ولحل المواد المتبقية, ثم يمرر تيار من الآزوت لتجفيف كل قطع الجهاز. الحرارة والضغط العاليان يزيدان من اختراق المحل لداخل العقار و يحسنان انحلال المستقلبات وبذلك يتم الاستخلاص الكامل وبمردود جيد بشكل سريع, وبنفس الوقت نستهلك كمية قليلة من المحل.



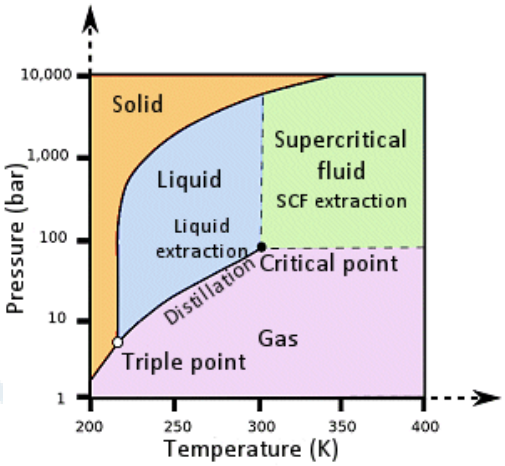
بما أن المتبقي من المادة النباتية (marc) يجفف بشكل آلي, فإنه من الممكن متابعة عملية الاستخلاص وتكرار العملية مع محل ذي قطبية أعلى من المحل الأول, هذه العملية يمكن برمجتها لكي تعمل بشكل آلي لذلك فهي تعطي نتائج متجانسة reproducible .

2.1.6. استخلاص بالسوائل الحرجة Supercritical fluid ex. SFE

- **المبدأ: مشابه للاستخلاص PSE**

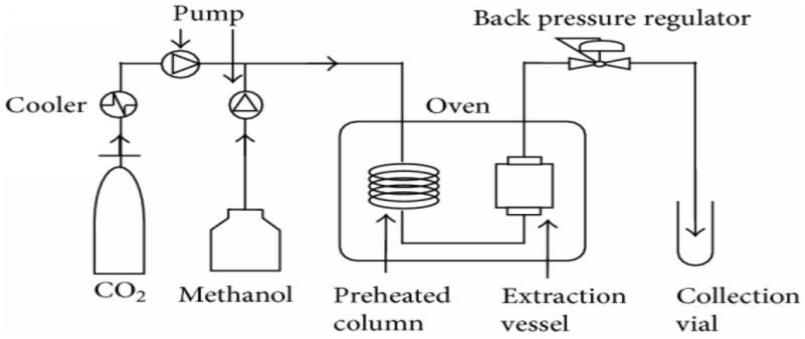
المحل غاز ولكن تحت درجة حرارة وضغط عاليان يكون بشكل سائل (الحالة الحرجة)

- Water: (t_c 374° C) (p_c 220 atm)
- CO_2: t_c = 31° C and p_c 74 atm



المحل غاز: تحت درجة حرارة وضغط عاليان يكون بشكل سائل (الحالة الحرجة)

يمكن إضافة محل لتعديل القطبية (ميتانول)



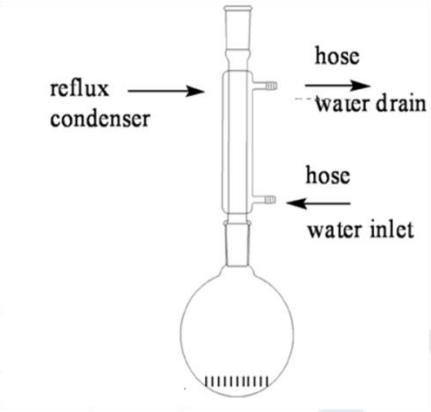
2.1.7. الاستخلاص تحت التكثيف الراجع EXTRACTION UNDER REFLUX و التقطير ببخار الماء STEAM DISTILLATION

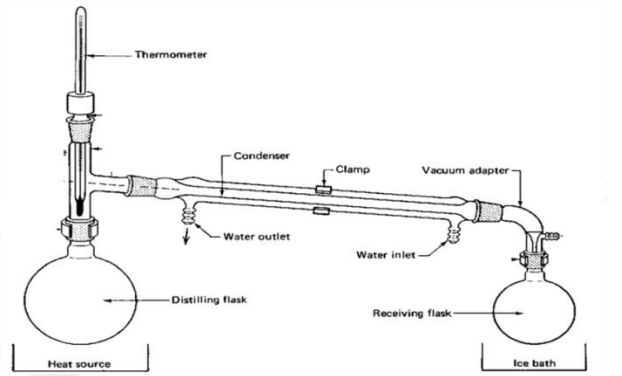
في الاستخلاص تحت التكثيف الراجع تغمر المادة النباتية بالمحل في حوجلة مصنفرة والتي توصل إلى مبرد، يسخن المحل حتى يصل لدرجة غليانه، عندما يتكاثف المحل فإنه يعود تلقائيا إلى الحوجلة.

الاستخلاص بالتقطير ببخار الماء : هي طريقة مشابهة وتطبق بشكل شائع لاستخلاص النباتات الحاوية على زيوت عطرية. النبات (الجاف أو الطازج) يغطى بالماء في حوجلة متصلة بمكثف (مبرد)، تحت التسخين فإن البخار (الذي هو عبارة عن مزيج من الزيت العطري و الماء) يتكاثف ويتقطّر ثم ينفصل إلى طورين مختلفين

حيث يجمع في اسطوانة مدرجة متصلة بالمبرد. الطور المائي تتم إضافته إلى الحوجلة والزيت العطري يجمع على حدا. شروط الاستخلاص المثالية تعتمد على المادة أو العقار.

السيئة الأساسية لهذه الطريقة هي إمكانية تحطم المركبات الحساسة للحرارة.





اختيار طريقة الاستخلاص المثالية :

- طريقة الاستخلاص المثالية يجب أن تكون تامة (تسمح باستخلاص القدر الأكبر من المستقلبات المرغوبة أو العدد الأكبر من المركبات), يجب أن تكون سريعة, بسيطة و ذات نتائج متجانسة عند تكرارها.
- في عملية الاستخلاص قد يتم توظيف محلات مزوجة water-miscible أو غير مزوجة مع الماء water-immiscible . المحل المختار يجب أن لا يكون قابلا لتشكيل مركبات ثانوية (بسبب التفاعل مع مكونات العقار), يجب أن يمتلك سمية منخفضة, قابلية اشتعال و انفجار منخفضة.

الطريقة المختارة في الاستخلاص يجب أن تكون اقتصادية مع إمكانية تدوير المحلات بالتقطير.

- اختيار طريقة الاستخلاص المناسبة يعتمد بشكل أساسي على العمل الذي سيتم تطبيقه لاحقا على الخلاصة و إذا كانت المستقلبات المستهدفة معروفة أم لا.
- إذا كان النبات مدروس من قبل فإننا سنجد في المراجع طريقة لاستخلاصه و لكن هذا لا يمنع من إيجاد طريقة بديلة للاستخلاص تمكننا من الحصول على مستقلبات أخرى.
- إذا كانت العينات النباتية مدروسة للمرة الأولى, فيجب الاستعلام من بين الطرق المختلفة عن الطريقة الأمثل. الاختيار يعتمد على طبيعة وكمية المادة التي يجب استخلاصها, إذا كان من الواجب استخلاص كميات كبيرة فيجب دراسة إمكانية تطبيق الطريقة المتبعة في الاستخلاص المبدئي لكميات صغيرة.

المحلات الأساسية المستخدمة تشمل المحلات الأليفاتية و الكلورية, الأسترات و الكحولات المنخفضة الوزن الجزيئي.

- عملية الاستخلاص يمكن أن تكون انتقائية "selective" أو كاملة "total" , الأساس في اختيار المحل المناسب يرتكز على انتقائيته selectivity للمواد المراد استخلاصها.
- في الاستخلاص الانتقائي يتم استخلاص النبات باستخدام محل ذي قطبية مناسبة حسب مبدأ الشبيه يحل الشبيه و هكذا فإن المحلات غير القطبية تستخدم لحل المركبات المحبة للدسم مثل الألكانات, الحموض الدسمة, الأصبغة, الشمع, الستيرولات, بعض المواد التربينية, القلويدات و الكومارينات.

المحلات ذات القطبية المعتدلة تستخدم لاستخلاص المركبات ذات القطبية المتوسطة مثل بعض القلويدات و الفلافونوئيدات, في حين أن المحلات الأكثر قطبية تستخدم من أجل المركبات الأكثر قطبية (الغليكوزيدات الفلافونوئيدية, العفص, بعض القلويدات).

يمكن إجراء استخلاص نوعي باستخدام محلات ذات قطبية متزايدة, لهذه القطبية ميزة و هي السماح بإجراء فصل أولي للمستقلبات الموجودة في المادة مما يسهل عملية العزل اللاحقة.

- في الاستخلاص الموصوف بكونه كاملا "total", نستخدم محل عضوي قطبي (مثل الايتانول و الميتانول) على أمل استخلاص أكبر قدر ممكن من المركبات. هذا يستند على قدرة المحلات الكحولية على زيادة نفوذية الغشاء الخلوي مسهلة بذلك استخلاص كميات كبيرة من المركبات القطبية و ذات القطبية المتوسطة إلى الضعيفة.

الخلاصة التامة يجب تجفيفها (بتبخير المحل) حتى تمام الجفاف و من ثم يعاد حلها أو تعليقها بالماء و هكذا يتم إعادة استخلاص المستقلبات بالاعتماد على عامل التوزع الخاص بكل مركب partition coefficient (عبارة عن الميل للانحلال في أحد الطورين) حيث نقوم بعمليات استخلاص متعاقبة يتم خلال كل واحدة توزع المركبات بين الماء و المحل العضوي غير المزوج معه و الذي يمتلك قطبية مختلفة في كل مرة.

- في بعض الطرق الخاصة يتم تعديل درجة حموضة الطور المائي من أجل تحفيز الانحلال التلقائي لمجموعة من المستقلبات (مثل الحموض و الأسس), هذه الطريقة متبعة في استخلاص القلويدات (و التي توجد في العينات بشكل أملاح منحلة في الماء). عند معالجة النبات بمحلول قلوي يتم تحرير القلويد بشكل أساس حر و الذي سيكون منحل أكثر في الطور العضوي.

إذا الاستخلاص سائل/سائل المتعاقب المترافق بتغير درجة ال pH يمكن أن يطبق من أجل فصل القلويدات عن المركبات الغير قلويدية.

كما يمكن أن نستخلص القلويدات من المادة النباتية بحالتها الملحية في وسط حمضي (استخلاص حمضي).

أحد سيئات المعالجة الحمضية-القلوية هي كونها قد تولد بعض المركبات الثانوية و قد تؤدي لتخرب المركبات.

في النهاية : يمكن استخدام محل واحد أو مزيج من المحلات في طريقة الاستخلاص. عندما يكون من الضروري استخدام مزيج من المحلات يتم استخدام محلين مزوجين مع بعضهما binary mixture .

عند الاستخلاص بطريقة سوكسليه Soxhlet , من الأفضل استخدام محل واحد لأنه في حال استخدم مزيج من محلين مثلا فهما لن يمتلكا نفس درجة الغليان, سيتقطر أحدهما بشكل أسرع من الآخر و هذا سيؤدي إلى تغير في خصائص المحل في حجرة الاستخلاص.

طرق التحضير التقليدية للنباتات الطبية:

- إذا كان قد تم اختيار النبات أو العقار بناء على معطيات الاستعمال التقليدي فإن من الأفضل أن تتبع طريقة الاستخلاص الطريقة المتبعة في الاستعمال التقليدي لكي نزيد الفرصة لعزل مستقلبات فعالة حيويا.

الطرق التقليدية تعتمد بشكل أساسي على استخدام الماء الحار أو البارد و السوائل الكحولية أو الكحولية المائية من أجل الحصول على مستحضرات تستعمل خارجيا أو داخليا.

منقوع **Infusion** : نبات (أوراق أو أزهار) تغطى بالماء المغلي (10 دقائق) ثم ترشح.

مغلي **Decoction** : عقار (عادة جذور و قشور) يوضع في الماء مع المحافظة على درجة الغليان لمدة 15-30 دقيقة ثم ترشح.

تعطين **Maceration** : عقار في تماس مع الماء على درجة حرارة الغرفة من 30 دقيقة – 3 أيام حسب الحالة و ثم يرشح.

الهضم **digestion** : نقع في الماء الساخن لمدة طويلة ثم تركه ليبرد هذه الطريقة لم تعد مستعملة لتحضير الشايات في أغلب دساتير الأدوية.

جامعة المنارة
MANARA UNIVERSITY

المكونات الكيميائية في النباتات الطبية

Natural products in Medicinal plants

يصنع النبات الحي عددا كبيرا من المكونات التي يختلف بعضها عن بعض أولا من حيث الطبيعة الكيميائية و ثانيا من حيث المقدار الذي توجد به في النبات.

إنما يهم عالم العقاقير بالدرجة الأولى هو ما يسمى المكونات الفعالة في النبات أي تلك المواد التي تتمتع بخواص فيزيولوجية أكيدة و التي تكون مسؤولة عن استعمال هذا العقار في المعالجة الدوائية تنسب هذه المكونات الفعالة من حيث طبيعتها إلى مجموعات كيميائية مختلفة, يمكن أن تكون ذات طبيعة كيماوية معروفة:

-نباتات تحتوي على غليكوزيدات.

-نباتات تحتوي على قلويدات.

-نباتات تحتوي على فينولات.

-نباتات تحتوي على راتنجات.

-نباتات تحتوي على زيوت عطرية.

-نباتات تحتوي على مواد لعابية.

-نباتات تحتوي على زيوت ثابتة.

-نباتات تحتوي على مواد مرة.

-نباتات تحتوي على مضادات حيوية.

-نباتات تحتوي على غليكوزيدات قلبية.

-نباتات تحتوي على غليكوزيدات سيانوجينية.

أما إذا تساءلنا عن دور المكونات الفعالة في الظواهر الحيوية التي تتم في النبات، نستطيع أن نجيب أنها لا تساهم بأي عمل أساسي بل على العكس نضيف بأن المكونات الفعالة في النبات تعد من زمرة المكونات الثانوية التي مازلنا نجهل الدور الذي تقوم به في الاستقلاب النباتي.

جامعة المنارة
MANARA UNIVERSITY

من جهة أخرى يجب أن نشير هنا إلى أن كل مكون نباتي لايخلو من تأثير فيزيولوجي مهما ضؤل والواقع ان التأثير الفيزيولوجي للعقار لا يمكن أن يعادل التأثير الفيزيولوجي لجوهره الفعال, فمثلا :لا يمكن أن نستعيض بقلويد الكينين عن خلاصة الكينا،كما لا يمكن أن يحل المورفين محل الافيون

كل ذلك يفسر بأن النبات الحي يحتوي دائما إلى جانب مكوناته الفعالة مكونات أخرى تدعى بالمكونات المساعدة Adjuvants،ويعزى إلى هذه المكونات الأخيرة تأثير فيزيولوجي قد يدعم التأثير الفيزيولوجي للمكونات الفعالة في النبات.

فمثلا نجد أن الفروكتوانات في نبات العنصل تقوي التأثير المدر للمكون الفعال

كما نجد أيضا أن تأثير هذه المواد المساعدة قد يطيل تأثير المكونات الفعالة في النبات أو قد يحوله فمثلا وجود المواد العفصية الكاتشية جنبا إلى جنب مع قلويد الكافئين في نبات الشاي يؤدي إلى تخفيف الأثر المنبه لهذا القلويد.

أخيرا هنا كبعض الحالات التي يكون فيها تضاد حقيقي بين تأثير المكونات الفعالة في النبات و المكونات المساعدة فيه مثال ذلك وجود المواد العفصية في نبات الراوند يضاد التأثير المسهل للمكونات الانتراكينونية فيه.

مما تقدم يمكن الوصول إلى النتيجة التالية:

إن التأثير الفيزيولوجي لكل عقار هو تأثير معقد وشائك مما يوجب على الباحث معرفة طبيعة المكونات الكيميائية التي تدخل في تركيبه من جهة أخرى يهتم عالم العقاقير بدراسة المكونات التي تسمح بتعيين ذاتية العقار. مثلا نستعين في تحديد ذاتية مسحوق فطر مهماز الشيلم بتعيين المواد الملونة الانتراكينونية فيه، كما نستعين في تشخيص مسحوق اللفاح بتعيين المكون الكوماريني فيه.

وسوف نتبع في استعراضنا لهذه المكونات التصنيف الذي يعتمد على الطبيعة الكيمياوية لهذه المكونات. سنبدأ أولا بالماء ثم بالمكونات المعدنية ثم بالمكونات العضوية:

أولا-الماء : تحتوي العقاقير النباتية على نسبة كبيرة من الماء قد تصل في الأوراق إلى90%

إن معرفة عيار الماء في أقسام العقار المختلفة أمر ضروري لأن ذلك يتعلق بنسبة المكونات الفعالة فيه، وكذلك بجودة حفظ العقار لأن نسبة الماء في العقاقير المحفوظة يجب ألا تزيد على 10%

ثانيا- المواد المعدنية:

يدل تحليل رماد العقاقير النباتية على وجود الفحم و الأوكسجين الهدروجين والآزوت إضافة إلى أشباه المعادن مثل: الكلور والفوسفور والكبريت والبور والفلور واليود والبروم. كذلك تحتوي العقاقير النباتية على المعادن التالية:

كالكالسيوم والبوتاسيوم والصوديوم والمغنزيوم والسيليسيوم, كما يوجد كل من الألمنيوم والحديد والمنغنيز بأثار زهيدة.

توجد العناصر المعدنية في النباتات وفق الأشكال التالية:

- ✓ أملاح منحلة :كلورور أو نترات أو فوسفات أو فحمات وتكون على شكل أملاح بوتاسية خاصه.
- ✓ أملاح مبلورة: فحمات الكالسيوم التي توجد على شكل فحمات حجرية, حماضات الكالسيوم التي توجد بعدة أشكال منها:
  - بلورات موشورية
  - بلورات مرصعة
  - بلورات إبرية
  - بلورات رملية
- ✓ شكل عضوي متحد :كالكبريت في الغليكوزيدات الكبريتية والمغنزيوم في اليخضور والحديد والنحاس والتوتياء والمنغنيز في الخمائر والكلور في المضادات الحيوية الناتجة عن الفطور: كالكلورامفنكول والكوبالت في الفيتامين.

-بعض النباتات الطبية تعود بفعاليتها الفيزيولوجية إلى المكونات المعدنية التي تحويها.

مثال :أملاح البوتاسيوم (نترات)التي تعطي النبات خواص مدرة كما في النباتات التالية:

نبات لسان الثور،النجيل الطبي،مياسم الذرة و أعواد الكرز و عرق السوس.

كذلك أملاح الكالسيوم التي تفيد كعوامل مرممة كالقريص. والمركبات اليودية في الأشنيات التي تفيد في داء الغدة الدرقية. وأملاح السيليس في ذنب الخيل.

ثالثا-المكونات العضوية :

تقوم الخلية الحية في النبات بعمليات اصطناع حيوي ينتج على أثرها عدد لايحصى من المكونات العضوية التي يتعذر اصطناعها باستعمال الوسائط المخبرية وتدعى بالمستقلبات الطبيعية موضوع دراسة هذا المقرر