الكشف عن المركبات الكيميائية والتنقية الجزئية للقلويدات في مستخلصات (ثمار واوراق وجذور) نبات عنب الذيب (*Solanum nigrum*-)

علي صادق محمد ،محمد عباس الدليمي*، كوكب يعقوب ساعور**

كلية العلوم، جامعة بغداد. بغداد– العراق

*كلية ابن الهيثم، جامعة بغداد. بغداد– العراق

**كلية الصيدلة ، جامعة بغداد. بغداد– العراق

الخلاصة

تضمنت الدراسة استخلاص والكشف الكيميائي والتنقية الجزئية لبعض المركبات القلويدية الخام المستخلصة من ثمار واوراق وجذور نبات عنب الذيب (*Solanum nigrum*) ، من العائلة الباذنجانية (Solanaceae) الذي يعد من النباتات العشبية الطبية المنتشرة في العراق ومستعمل في الطب الشعبي. الكشف الكيميائي للنبات كان مصمم لتقييم المحتوى القلويدي في الثمار والاوراق والجذور، اربعة مركبات قلويدية خام تم الحصول عليها وهي (a، b،c و d) اعطت حصيلة كلية 8.73 و 9.5 و 0.90 و 0.33% على التوالي، وان عملية التنقية بوساطة التحلل الحامضي باستخدام حامض HCl او H_2SO_4 لغرض الحصول على جزء aglycon من هذه المستخلصات الخام. تم الحصول على اربعة مركبات منقاة جزئياً بشكل بلورات وهي (A،B،C و D) والتي اعطت حصيلة 0.80،6.5،5.5 و0.30% على التوالي. ان محتوى المركبات الفعالة بايولوجيا مثل (القلويدات والكلايكوسيدات والصابونيات والكومارينات والتانينات والراتنجات) موجودة بصورة رئيسية في الثمار والاوراق وبشكل اقل في الجذور التي لم تحتوي على الكلايكوسيدات.

البحث مستل من رسالة ماجستير

PHYSIOCHEMICAL AND PARTIAL PURIFICATION OF CRUDE ALKALOID COMPOUNDS IN BERRIES, LEAVES AND ROOTS OF (*Solanum nigrum*) PLANTS.

Ali Sadiq Mohammed, Mohammed Abbas Al-Dulami*, Kawkab Y. Saour**

College of Science, University of Baghdad. Baghdad-Iraq.

*College of Ibn-Al_Haithum, University of Baghdad. Baghdad-Iraq.

**College of Pharmacy, University of Baghdad. Baghdad-Iraq

Abstract

This study included extraction, physiochemical and partial purification of some crud alkaloide compounds in berries, leaves and roots of (*Solanum nigrum*) Solanaceae plants, which is locally named (ANAB Al-THEA'B) . It's the most important medicinal herb, which is widely distribution in IRAQ and used in folklore medicine.

The phytochemical investigation of the plant was designed to evaluate alkaloid contente in berries, leaves and roots. Four major crud alkaloid were isolated and partially purified as follows, (a, b, c and d). The yield was 8.73%, 9.5%, 0.9% and 0.33% respectively. Acid hydrolysis was performed using limited concentration of HCl or H2SO4 to obtain the aglycon part of the previously separated component as (A, B, C and D), the yield was 5.5%, 6.5%, 0.8 % , 0.3% respectively. The content of the active biological compounds such as (alkaloids, glycosides, saponins, coumarins, tannins and resins) was mainly showed in berries and leaves, but low in the roots, in which the detection of glycosides was negative.

المقدمة

تحتوي بعض نباتات الاعشاب البرية والطبية على مركبات كيميائية ذات فائدة واهمية كبيرة تكون نواتج ثانوية من عمليات الايض داخل النبات، تستخدم لاغراض ديمومة حياتها او الحماية والدفاع ضد كائنات حية اخرى. يمكن ان تسمى بالنواتج الطبيعية او الثانوية او العرضية وغالباً ما يطلق عليها المواد الفعالة (active ingredients). ومنذ القدم استخدمت هذه المركبات (بشكل مستخلصات خام) كعقاقير الا ان تنقية وتشخيص العديد من هذه المواد الفعالة ذات التأثير البايولوجي لايزال يشغل علماء الصيدلة والكيمياء وعلوم الحياة. حيث انصب الاهتمام نحو تأثير مستخلصات النبات الخام على عدد من السلالات البكتيرية والفطرية الممرضة. وكذلك لايجاد طريقة او نظام استخلاص محدد يعتمد لاستخلاص المواد الفعالة حيث تتغاير هذه الطرق بين مستخلصات كحولية (ميثانول او ايثانول) او مائية وحتى استخدام العصير النباتي احياناً لاغراض العلاج. كما تتغاير طرق استخلاص تبعاً للجزء النباتي المعتمد للاستخلاص [1]

ولتجاوز تلك العقبات ، نفذت هذه الدراسة على احدى الاجناس البرية لنباتات العائلة الباذنجانية جنس *Solanum* الذي يمتاز باهميته الطبية والعلاجية اكدتها كتب التراث ونشريات البحث العلمي لمحتواه العالي من مركبات القلويدات والمواد الفعالة الاخرى [2]. لذا وقع الاختيار على نبات عنب الذيب *Solanum nigrum* (شكل1) كنموذج مهم لكونه اكثر الانواع انتشاراً في القطر ولفوائده الطبية ولقلة الدراسة الدوائية عليه . لذا نفذت التجربة كخطوة اولى على الوجه الاتي، دراسة المحتوى الكيميائي للنبات في اجزاءه المختلفة (ثمار واوراق وجذور) واستخلاص المواد الخام منها. ومن ثم تنقية الجزيئة (بشكل خاص المركبات القلويدية) وبلورتها. اما الخطوة الثانية (لاحقاً) تنقية وتوصيف المركبات التي تم الحصول عليها (القلويدات) باستخدام تقنيات اخرى وذلك لمعرفة التأثير البايولوجي لهذه المركبات المنقاة (القلويدات) ضد بعض الاحياء المجهرية المرضية.

المواد وطرائق العمل

1- الوصف النباتي لنبات عنب الذيب *Solanum nigrum*

يعتبر نبات عنب الذيب *Solanum nigrum* والذي يعد مصدراً رئيسياً لكثير من مركبات القلويدية المختلفة، يضيف ضمن جنس السولانم الذي يضم اكثر من الف نوع نباتي[3] . ويمثل هذا الجنس برياً بثلاث انواع في العراق هم *S. dulcamara* و *S.nigrum* و *S. latana* [4].

يوصف نبات عنب الذيب موضوع الدراسة بانه نبات عشبي حولي او ثنائي الحول ونادراً مايكون معمرا. الجذور خشبية والسيقان ثلاثية الاضلاع او اسطوانية ملساء، تتباين الوانها بين الخضراء الى الخضراء البنية. اما الاوراق فانها ذات نصل بيضوي – معيني بابعاد (2.5-8.5) سم × (5-6) سم، في الغالب ذات حافات مسننة او متموجة قليلا. الكأس يحتوي على خمسة اوراق تويجية بيضوية الشكل ، بيضاء- صفراء فاتحة اللون . الثمار من نوع عنبة طرية كبيرة (Berry) ذات شكل كروي خضراء قبل النضج وسوداء – باذنجاني بعد النضج، ذات ابعاد (0.3 × 0.3) سم. تتجمع الثمار بشكل عناقيد تحتوي على (5-9) ثمرة والثمرة تحتوي على بذور كثيرة صغيرة الحجم (شكل 1). فترة تزهير النبات تكون بين شهر مايس وحتى نهاية شهر اب. محتواه الاساس من المواد الفعالة مركبات القلويدية بدرجة كبيرة الى جانب مركبات اخرى مثل الصابونيات والفلافونات ومواد اخرى [2].

2- جمع العينات النباتية وتهيئتها

جمعت نباتات طرية من نبات عنب الذيب S.nigrum، مزهرة ومثمرة، من بساتين منطقة الكريعات في بغداد، للفترة من نهاية تشرين الثاني وبداية كانون الاول للعام 2000. صنفت في كلية العلوم – قسم علوم الحياة ومسجلة بالرقم 460081. نظفت النباتات وجففت في فرن بدرجة حرارة 45°م حتى الجفاف. سحقت اجزاء النبات الجافة (ثمار،اوراق،جذور) كل على حدة بواسطة طاحونة Blender. حفظت النماذج المطحونة في اوعية زجاجية محكمة الغلق في درجة حرارة المختبر(20-22 م) لحين الاستخدام.

3- تقدير النسبة المئوية للرطوبة

وزن 20 غرام من الاجزاء الطرية للنبات في جفنة بلاستيكية وجففت بدرجة حرارة 45°م حتى الجفاف التام ومن ثم وزنت بعد وضعها في خافض الرطوبة Discater يحتوي على CaCl2، بعد ذلك قدرت النسبة المئوية للرطوبة.

4- تقدير الرقم الهيدروجيني pH

وضع 5 غرام من المسحوق المجفف في 50 مليلتر من ماء مقطر دالته الحامضية 7. خلط المزيج في خلاط مغناطيسي Magnetic stirrer مدة 10 دقائق. رشح المزيج وقيست قيم الدالة الحامضية pH بأستخدام جهاز pH meter .

5 - الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في اجزاء نبات عنب الذيب S.nigrum

استخدمت طرق معتمدة للكشف عن اهم المواد الفعالة في المساحيق الجافة والطرية للنبات.

5-1- الكشف عن القلويدات Alkaloids

اتبعت الطريقة الواردة في [5]، اذ اغلي 10 غرام من الجزء النباتي في 50 مليلتر من ماء مقطر محمض بقطرات من حامض الهيدروكلوريك HCl ، بتركيز 4%، برد المحلول ثم رشح. اجريت عملية الكشف باستخدام الكواشف الاتية :-

كاشف دراجندروف للكشف عن القلويدات

⟵ راسب برتقالي (+)

كاشف واكنر للكشف عن القلويدات ⟵ راسب بني (+)

كاشف ماير للكشف عن القلويدات الرباعية

راسب ابيض (+) ⟵ كاشف ماركوس لكشف عن السولاتين راسب اصفر – برتقالي (+)

5-2- الكشف عن الصابونيات Saponins

اعتمدت الطريقتان اللتان اعتمدها كل من[7,6] الطريقة الاولى : تتم برج المستخلص المائي بشدة. وظهور رغوة كثيرة تبقى لفترة طويلة هي نتيجة موجبة للكشف – تأكدت هذه النتيجة عن استخدام الترشيح تحت الضغط للمستخلصات المائية.

الطريقة الثاني : اضافة (0.5 مليلتر) من كلوريد الزئبقيك الى 1.5 مليلتر من المستخلص المائي وظهور راسب ابيض دلالة على الكشف الموجب.

5-3- الكشف عن المواد القابضة Tannins

استخدمت الطريقة المعتمدة [8] وكما يأتي :

غلي 5 غرام من الجزء النباتي بـ 50 مليلتر من الماء المقطر. رشح المحلول الناتج وترك يبرد. قسم الراشح الى قسمين، اضيف للقسم الاول خلات الرصاص بتركيز 1% ويظهر راسب هلامي القوام يدل على ان الكشف موجب. بينما اضيف للقسم الثاني كلوريد الحديديك بتركيز 1% ويظهر لون اخضر مزرق يدل على ان الكشف موجب ووجود المواد القابضة (Tannins)

5-4- الكشف عن السكريدات Glycosides

استخدمت الطريقة المعتمدة [8]. اذ مزجت اجزاء متساوية من المستخلصات المائية لاجزاء النبات مع كاشف بندكت (Bendict test)، يظهر راسب احمر دلالة على وجود السكريات في المستخلصات المائية. اما النتيجة التأكيدية فقد اعتمدت على التفاعل بين كاشف فهلنك (Fehling test) بأخذ كمية مساوية له من المستخلص المائي وترك التفاعل في حمام مائي مغلي مدة 10 دقائق و ظهور الراسب الاحمر دليل على الكشف الموجب للسكريات.

5- 5- الكشف عن الراتنجات Resins

استخدمت الطريقة المعتمدة [9] في الكشف عن الراتنجات وكالاتي :

اضيف 10 مليلتر من الكحول الاثيلي CH3CH2OH بتركيز 95% الى 1 غرام وزن جاف من الجزء النباتي وترك ليغلي في حمام مائي لمدة دقيقتين . رشح المحلول، واضيف للراشح 20 مليلتر من ماء مقطر محمض بقطرات من حامض HCl بتركيز 4% يظهر العكارة (turbidity) في المحلول.

5-6- الكشف عن الكومارينات Coumarins

استخدمت الطريقة المعتمدة [10]، اخذ 1 مليلتر من المستخلص الكحولي لأجزاء النبات في انبوبة اختبار وغطيت بورقة ترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم المخفف ثم سخنت في حمام مائي مغلي لبضع دقائق. عرضت ورقة الترشيح لمصدر الاشعة فوق البنفسجية ويظهر لون اصفر – مخضر براق دلالة على وجود الكومارينات.

6- الاستخلاص Extraction

لاهمية القلويدات بدرجة خاصة في فعلها المثبط للاحياء المجهرية تم التركيز على استخلاصها وفق الفقرات الاتية.

6-1- اختيار نظام الاستخلاص المذيبي (Solvent extractive system) والجزء النباتي الامثل للاستخلاص:

حضرت ثلاث انظمة استخلاص للاجزاء النباتية وهي على التوالي:-

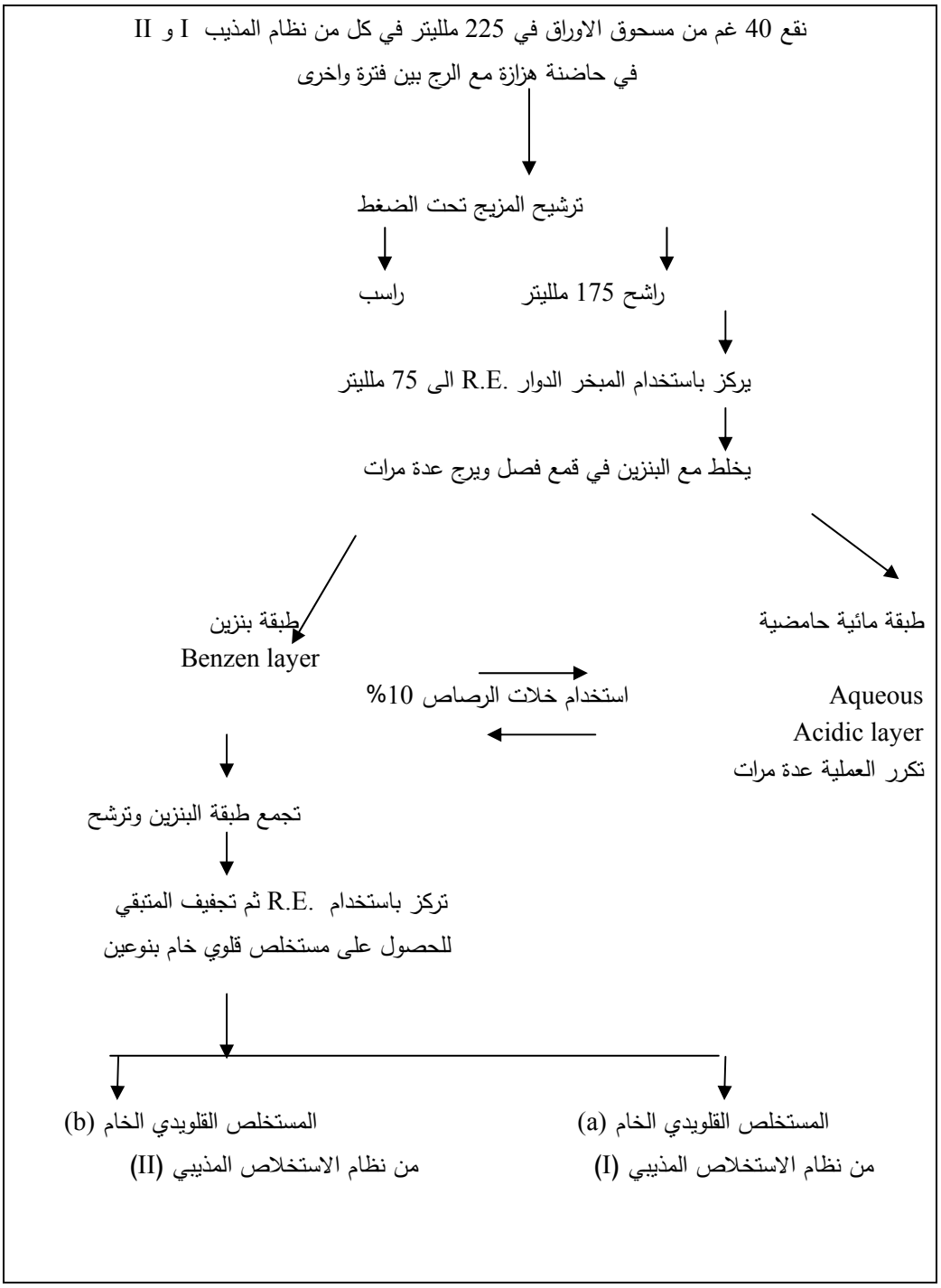
- نظام I : D.W.+ Acetic Acid + Methanol بنسبة 1 : 1: 1
- نظام II : Chloroform + Methanol بنسبة 1 : 1
- نظام III : D.W + Methanol بنسبة 1 : 1

نقعت 5 غرامات من المساحيق الجافة لكل من (جذور،اوراق،ثمار) النبات في 25 ملليتر من انظمة الاستخلاص المذكورة اعلاه في اوعية زجاجية محكمة الغلق في حاضنة هزازة مع الرج بين فترة واخرى، رشحت المحاليل تحت ضغط متخلخل،ثم ركزت المستخلصات الخام الى 5 مليلتر باستخدام المبخر الدوار و حفظت العينات في الثلاجة لحين الاستخدام.

6-2- طرائق استخلاص المركبات القلويدية الخام

اعتمدت الطرق الاتية للوصول الى حصيلة قلويدية خام من اوراق وثمار نبات عنب الذيب S. nigrum :

الطريقة الاولى للاستخلاص Method one (M1) اعتمادا على اختبار نظام الاستخلاص المذيبي، واستقراءً لصفات قلويدات الجنس Solanum ، تم اختيار الاوراق نموذجاً لاستخلاص المواد الفعالة ذات التأثير (المثبط للاحياء المجهرية)، باعتماد نظامي المذيبين I و II. صمم المخطط الاتي للوصول الى حصيلة قلويدية خام Yeiled crud of alkaloid extract وقد اعطي الزمر (a) لمستخلص فلويدي



شكل 2: مخطط الطريقة الاولى (M1) لاستخلاص وتنقية المركبات القلويدية الخام من اوراق نبات *S .nigrum*

خام من اوراق النبات باعتماد نظام المذيب I واعطي الزمر (b) لمستخلص قلويدي خام من اوراق النبات باعتماد نظام المذيب II . لاحظ الشكل (2) مخطط الطريقة الاولى للاستخلاص.

استخدمت الطريقة المعتمدة في [11] وطريقة[12] المعتمدة في دستور الاعشاب الهندي لاستخلاص وفصل قلويد السولاسودين Solasodine من ثمار النوع .S platanifolium وقد اعطي الرمز (c) مع اجراء بعض التحويرات في نظم المذيبات وفق المخطط الاتي (شكل 3)

نقع 40 غم من مسحوق ثمار النوع *S. nigrum* في 250 ملليتر من
90 % Ethanol + 2 % Acetic Acid + 8 water

↓

يرشيح ويركيز R.E

↓

يضاف الى الراشح حجم مكافئ من 10% حامض الخليك
ويترك 18 ساعة تحت حرارة 4 م°

↓

راشح

↓

دهون Defating باستخدام البنزين وتكرر العملية عدة مرات

راشح راسب

يسخن الراشح الى 80 م ثم يبرد

↓

NH_4OH pH.9-10

يحفظ لمدة 18 ساعة تحت درجة حرارة 4 م

راسب راشح

يذوب في 5 % حامض الخليك وترفع قيمة pH الى 9 ويترك 18 ساعة تحت 4م

راسب قلويدي خام (c) راشح

شكل 3: مخطط الطريقة الثانية (M2)لاستخلاص وتنقية المركبات القلويدية

[illegible] في الطريقة الثانية (M2)
اذ اخذت 100 غرام من اوراق S. nigrum بدلا من الثمار بنقعها في 400 مليلتر من مذيب الاستخلاص واعطيت حصيلة المستخلص القلويدي الخام الرمز (d).

6-3- التنقية الجزئية لمركبات القلويدات الكلية الخام

تم ذلك باتباع الطريقتين الاتيتين :

أ-استخدام تقنية السيلكاجل Preparative Silica gel المحضرة

اعتمدت طريقة [13] لفصل وتنقية جزئية للمركبات القلويدية الخام المفصولة بالطريقة الاولى M1 (شكل 2)، وذلك باستخدام الواح السليكاجل المحضرة (Preparative Silica gel, TLC) وحسب مايأتي :

- حضرت الواح سليكاجل بسمك 250 مايكروميتر على صفائح زجاجية بابعاد 20 × 20 وبنسبة 2:1 (سليكا : ماء) خلطت جيدا باستخدام قضيب زجاجي واستخدم جهاز النشر (SpreaderTLC) لنشره فوق الصفائح الزجاجية ، تركت لتجف ثم جرى تنشيطها لمدة نصف ساعة بفرن 120 °م. بردت وحفظت في مكان جاف لحين الاستعمال. ولغرض الاستعمال يعاد تجفيف الالواح المحضرة بدرجة مناسبة لغرض زيادة قابليتها على الامتزاز ، ثم نشرت وعلى خط البداية حوالي 1 مل من المستخلص الخام المذاب في الميثانول وبشكل حزمة باستخدام انبوبة باستور.

استخدمت عدة الواح لنفس الغرض . واستخدم النظام (Methanol + Chloroform + NH4OH,4 : 1 :0.5) طورا متحركا. قشطت حزم ذات قيمة Rf (0.4 – 0.8)واذيبت في مزيج من (ميثانول كلوروفورم بنسبة 1:1)، ركز الراشح ثم اجري له تحلل مائي حامضي Acid Hydrolysis بكحول محمض بـ (3N -HCl (1.5 مل من الكحول المحمض لكل 10 مل من المستخلص) مع التسخين في حيز مغلق (reflex (لمدة نصف ساعة ترك الراشح ليبرد وترك في درجة حرارة المختبر حتى الحصول على بلورات ابرية صفراء شاحبة اللون منقاة اعطيت الرمز A (من الطريقة الاولى لاستخلاص الاوراق بنظام المذيب I) ونجمية صفراء ذهبية اللون منقاة اعطيت الرمز B (من الطريقة الاولى لاستخلاص الاوراق بنظام المذيب II) .

ب- استخدام التحلل المائي الحامضي :

استخدمت طريقة في [11] لبلورة المركبات القلويدية الخام (c و d) المفصولة بالطريقتين (M2) و (M3) وحسب مياتي :

ذوب حوالي 25 ملغرام من مستخلصات خام الثمار(M2) ومستخلصات خام الاوراق

(M3) بكمية مناسبة من الميثانول الساخن وتركت لتغلي في حمام مائي بدرجة 70 °م. رشح المستخلص بعد تبريدة ونقل الى reflex واضيف له كحول محمض بحامض H2SO4 (2 مليلتر من حامضH2SO4 لكل 10 مليلتر من الكحول) سخن في حمام مائي مغلي حتى اختزال حجم الراشح. دور الراشح على جدران الوعاء وترك في مكان جاف لحين الحصول على بلورات مترسبة منقاة جزئياً واعطيت الرمز (C) و (D) على التوالي.

النتائج والمناقشة

1- الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في اجزاء النبات المختلفة

الجدول (1) يوضح نتائج الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة لاجزاء (ثمار، اوراق، جذور) نبات عنب الذيب Solanum nigrum التي تم الكشف عنها (قلويدات والصابونيات و التانينات والسكريدات والراتنجات والكومارينات) للمقارنة بين كمية المركب الفعال في اجزاء النبات المختلفة.

اشارت النتائج بصورة عامة ، احتواء المجموع الخضري (اوراق، ثمار) على معظم تلك المركبات وبنسب اعلى من الجذور، باستثناء السكريدات Glycosides، التي اعطت نتائج سلبية في الجذور، كما دلت النتائج على وجود الصابونيات والكومارينات والراتنجات في اوراق النبات الجافة بنسب اعلى مما في الثمار والجذور في حين تبين ان المواد القابضة تتركز في الثمار بكمية اعلى مما في الاوراق والجذور (الذي يشك في وجودها). دلت قيمة الرقم الهيدروجيني pH لاجزاء النبات على انها ذات رقم هيدروجيني حامضي ضعيف وتراوحت بين (5.7 – 5.9). سجلت الثمار اعلى نسبة مئوية للرطوبة بقيمة (73.62 %) تليها الاوراق (69.53%) واقلها في الجذور (53.25%). ان هذه النتائج تتفق وما ذكره [14] من ان معظم القلويدات والصابونيات تتغاير في كمياتها في الاجزاء المختلفة للنبات الواحد، الا انها قد تصنع في الجذور وتنتقل الى الاجزاء الخضرية الاخرى فيما بعد او تخزن فيها ، كما اشار الى ذلك [16,15] في دراستهما لأيض قلويدات جنس Datura، الذي يعود الى العائلة الباذنجانية، ومما يدعم ذلك ايضاً ظهور نتائج غير مؤكدة لوجود القلويدات في الجذور بتفاعلها مع كاشفي دراجندروف الذي يكشف عن معظم القلويدات، فيما يختص كاشف ماركوس للدلالة على وجود قلويد السولانين [1]. تمتاز الصابونيات بانها تكون رغوة بوجود الماء [9]، لذا فقد استدل على وجودها بظهور هذه الرغوة، ان معظم المصادر التي تناولت المحتوى الفعال اكدت وجودها بشكل Saponine كما اشار الى ذلك [18,17]. وقد تدمج ضمن مجموعة الصابونيات الستيرويدية[20,19]وبشكل Solasonine الموجود في انواع جنس السولانم. قد يعزى الفعل القابض لثمار النوع S.nigrum الى وجود المواد القابضة Tanninsفي ثماره بكمية اكبر مما في الاوراق, وهذا ما اشارت اليه النتائج, وذلك باعتبارها اماكن خزن وتجميع التانينات اما الكشف عن السكريدات Glycosides فقد اظهرت النتائج عدم وجودها في الجذور ووجودها في الاوراق بنسبة اقل من الثمار، اشار [17] الى وجود السكريدات في اوراق وثمار النبات على شكل مركب Rutin، فيما اشار [21,20,19] الى وجودها بشكل Solasonine و Solamargine او Demissine . وذلك بسبب عملية التركيب الضوئي الذي يحصل في الاوراق وتخليق السكريات. اما الراتنجات Resins فقد ظهر وجودها هي الاخرى بكميات متغايرة في اجزاء النبات اذ تركزت في الاوراق دون الاجزاء الاخرى. وهذا ما يتفق مع ما ذكره[23,22] من ان الراتنجات عبارة عن نواتج ايض ثانوية، تنتج من اكسدة انواع مختلفة من الزيوت العطرية لتشكل تركيب كيميائي معقد جداً وان لها فعلاً مطهراً قويا.

تعد الكومارينات واسعة الانتشار بين المنتجات الطبيعية . ويكشف عنها بكسر الحلقة الاروماتية بقاعدة قوية، وظهور الوان براقة بعد تعريضها الى اشعة U.V وتدخل المستخلصات الحاوية عليها كـ Flavoring agents [24]، واظهرت النتائج وجودها بنسبة اعلى في الاوراق وذلك لان المسارات الايضية لتخليق الكومارينات تتم في الاوراق.

من هذه التجربة يمكن الاستنتاج بان جميع المركبات الفعالة التي تم الكشف عنها تتركز كمياً في الثمار والاوراق في حين يكون تركيزها ادنى منها في الجذور، مع ملاحظة انعدام وجود مجموعة مركبات كليكوسايدات في الجذور مما يعطي دليلا على عدم تصنيعها او تخزينها في هذا الجزء من النبات. لوحظ ان نتائج الكشف عن المركبات ذاتها لاتختلف عند استخدام عينات نباتية طرية او جافة لمختلف اجزاء النبات، مما يؤكد احتفاظ الاجزاء الجافة على تلك المركبات الفعالة بكميات اكبر، لذا فقد تم استخدام العينات الجافة في التجارب اللاحقة . كما ان احتواء هذا النبات على هذه المجاميع الفعالة من المركبات ، تؤكد القيمة الدوائية وتعدد استعمالاته كنبات طبي. لذا تم

اختيار القلويدات بوصفها واحدة من اهم تلك المجاميع لاختبار فعاليتها تجاه بعض سلالات الاحياء المجهرية المرضية.

2- الصفات المظهرية للمركبات القلويدية الخام

اعتمدت طرق الاستخلاص M1 و M2 و M3 (شكل 2 و 3) لفصل وانتاج مركبات قلويدية من المستخلصات الخام لاوراق وثمار S. nigrum . فقد تم الحصول على اربعة مركبات قلويدية كليه خام ، اعطيت لها الرموز (a و b و c و d). الجدول (2) يوضح بعضاً من الصفات المظهرية لتلك المركبات، اذ تغايرت هذه المركبات في صفاتها المظهرية من حيث اللون والاذابة في المذيبات العضوية المختلفة والناتج الخام والصلابة حيث كانت جميع المركبات صلبة في درجة حرارة الغرفة. فالمركب (a) كان مسحوق اخضر غامق بلمعان معدني يذوب جيداً في الميثانول الساخن والكلوروفورم الساخن وفي الحوامض المخففة (حامض الخليك 2% و5%). وقليل الذوبان في الماء ولا يذوب في التلوين . اما المركب b) (فكان مسحوق اخضر مصفر يذوب جيداً في الميثانول والكلوروفورم (مع استخدام الحرارة) وفي الحوامض المخففة وفي الماء وقليل الذوبان في التلوين ، بينما المركب (c) كان مسحوق ابيض حبيبي ناعم يذوب في المثانول الساخن والحوامض المخففة يترسب في كل من الكلوروفورم والماء والتلوين. ان المركب (d) كان ذو بلورات ذهبية دقيقة تذوب في معظم المذيبات العضوية بصورة جزئية مع الحرارة ويذوب جيداً في الحوامض المخففة ويترسب في الماء (جدول 2). من هذه الصفات ، يلاحظ بان جميع المواد كانت لها قابلية ذوبان جيدة في المذيبات العضوية (الميثانول و الكلوروفورم) مع استخدام الحرارة وكان المركب (c) اقلهم ذوبانا مستخلص ثمار النبات حسب طريقة (M2). اما ذوبانية المواد في الماء فقد تبين ان المركبين (a و b) قليلا الذوبان فيه و يعزى الى ذوبان الصبغ وترسبها فيه، اما المواد (c و d) فانهما لا يذوبان فيه بل يترسبان. ان هذه الصفة للمركبات يمكن ان تؤكد على ان المواد هي مواد قلويدية خام. اما افضل ذوبانية لهذه المواد فقد توضحت في استخدام حامض الخليك (2% و5%). مقارنة بالذوبانية في الميثانول والكلوروفورم عند استخدام اوزان متساوية للحجوم نفسها في مختلف المذيبات. اما الحصيلة للقلويدات الكلية الخام لهذه المركبات فقد كانت (8.73% و 9.50% و 0.90% و 0.33% غم) [2] للمركبات (a,b,c,d) على التوالي .ذكر [1] انه يمكن استخلاص القلويدات الكلية من البطاطا باستخدام (حامض الخليك 5% والميثانول) وتحت ظروف تسخين . بينما استخدم [11] الايثانول90% والمحمض بحامض الخليك 2% ، وحصل على4.26% غرام كحصيلة قلويدية خام من ثمار النوع S. platanifolium وهي اعلى بكثير مما تم الحصول عليها لدى تطبيقنا هذه الطريقة على ثمار النوع S. nigrum الطريقة (M2) والتي بلغت0.90% غرام بينما اعطت اوراق النبات حصيلة نسبة مئوية 0.33% غرام لخطوات الطريقة (M3) للثمار. اما الطريقة (M1) فكانت اكثر كفاءة لانتاج المركبات القلويدية الخام من كلا الطريقتين (M2) و (M3). ويمكن ان بعزى ذلك الى ان حامض الخليك المركز المستخدم في الطريقة (M1) قد عمل على اذابة اكبر كمية من المركبات القلويدية الموجودة في الاوراق ، مقارنة بتركيزه المستخدم في الطريقتين (M2) و (M3)، ومن جهة اخرى يمكن القول ان التركيزالعالي للحامض عمل على تحرير الاجزاء القلويدية من مركبات السكريدات(glycosides) (قلويد + جزء سكري) وتحريرها بشكل aglycone يضاف الى حصيلة المركبات القلويدية الخام [1] .

3- التنقية الجزئية للمركبات القلويدية الكلية الخام

لغرض التنقية الجزئية للمواد التي تم الحصول عليها (a و b و c و d)، اجريت تقنية السليكاجل المحضرة و حسب طريقة [13] للمركبين (a و b)، كمرحلة ممهدة لاجراء هذه العملية، وذلك للتخلص من المركبات الملونة (الشوائب) والتي كان لها قيم Rf (0.4 و 0.8) في الامام. اذ تم الحصول على بلورات ابرية صفراء شاحبة للمركب (a) وبلورات نجمية صفراء ذهبية اللون للمركب (b). ومن ثم اجريت عملية التحلل الحامضيحسب طريقة [11] كأحد الوسائل المتبعةلبلورة المركبات القلويدية الخام للمركبين (c و d) الاكثر شيوعاً واقتصاداً والحصول ليها بشكل aglycon [24] .

ان تقنية السيلكاجل المحضرة تعد واسعة الانتشار لفصل المركبات القلويدية والعضوية اذ تظهر فيها المركبات المفصولة بشكل حزم يمكن تميزها [1]. فقد امكن التوصل الى مركبات متبلورة متجانسة مظهرياً معظمها ذات لون ابيض حليبي باستثناء المركب (b) كان بلون ذهبي مصفى، ويمكن ان يعزى ذلك اما الى وجود مواد ملونة في المركب المتبلور (b) او انه يحوي على اكثر من مركب، ان بلورات المركبات لا تعني النقاوة المطلقة بل تنقية جزئية وقد اعطي الرموز (A و B و

C و D) على التوالي. يلاحظ في بلورات المركب (A) بانها ابرية صفراء شاحبة وفي المركب (B) نجمية صفراء ذهبية، بينما كانت كروية ناعمة في المركب (C) وكروية خشنة في المركب (D). وقد تم اجراء نفس الاختبارات التي نفذت على المركبات (a و b و c و d) وهي اختبار الكواشف والذوبانية والصلابة، فقد اعطت هذه المركبات المتبلورة جزئياً (A و B و C و D) نتائج مشابهة لما ذكر سابقاً. فقد اعتمدت تجربة التحلل المائي الحامضي باذابة وزن ثابت في حجم ثابت لجميع هذه المركبات وللمذيبات التي تم اختبارها. ان اجراء هذا الاختبار للتحقق من طبيعة المركبات القلويدية الكلية الخام والمركبات المتبلورة الناتجة منها بفعل التحلل الحامضي، من خلال تفاعلها الايجابي مع كواشف القلويدات المعتمدة، الا ان تغاير قابلية ذوبانها في كل من الميثانول والكلوروفورم والتلوين وذوبانها بصورة جيدة في حامض الخليك المخفف، تعطي انطباعاً عن تغاير صيغها الجزيئية او التكهن بذلك. اما الحصيلة الكلية التي تم الحصول عليها من جراء استخدام تقنية السيلكاجل المحضر والتحلل الحامضي لهذه المركبات المتبلورة فكانت 5.5% للمركب (A) المتمثل لنمط قلويد(Solandine) و 6.5% للمركب (B) يمكن ان يعزى الانخفاض في هذه النسبة الى وجود صبغات وشوائب في الحصيلة القلويدية الخام (b) والتي كانت 9.5% فيما بلغت 0.80% للمركب (C) و 0.30% (D).

جدول 1: نتائج الكشف الكيميائي * عن المركبات الفعالة في اجزاء نبات عنب الذيب *S. nigrum* ، (الثمار ، الاوراق ، الجذور) الجافة ** ، مع بعض صفاتها الكيميائية .

مجاميع المركبات الفعالة	طرق الكشف	اجزاء النبات الجافة			
	الكاشف المستخدم	النتيجة الموجبة للكشف	ثمار	اوراق	جذور
القلويدات Alkaloids	دراجندروف I	راسب برتقالي	+++	+++	±
	واكنر	راسب بني	+++	+++	+
	ماير	راسب تبيض	+++	+++	+
	ماركوس	لون اصفر – برتقالي	+++	+++	±
الصابونيات Saponins	رج المستخلص المائي	رغوة كثيفة لفترة طويلة	++	+++	±
	كلوريد الزئبقيك	راسب ابيض	++	+++	±
المواد القابضة Tannins	خلات الرصاص 1%	راسب ابيض هلامي	+++	++	±
	كلوريد الحديديك 1%	لون ازرق مخضر	+++	++	±
السكريدات Glycosides	كاشف بندكت	راسب احمر	++	++	–
	كاشف فهلنك	راسب احمر	++	++	–
الراتنجات Resins	غلي المستخلص الكحولي واضافة ماء محمض	عكارة	++	+++	+
الكومارينات Coumarins	تعريض المستخلص الكحولي لاشعة U.V	لون اصفر – مخضر	+	++	+
الرقم الهيدروجيني	استخدام جهاز pH-meter		5.68	5.90	5.70
النسبة المئوية للرطوبة %	–		%73.62	%69.53	%53.25

*** تمثل النتائج معدلاً لمكررين ، تشير العلامة (+) الى ايجابية الكشف ، والعلامة (–) الى سالبية الكشف بينما تشير العلامة (±) الى عدم ظهور النتيجة الموجبة بوضوح . وقد حددت شدة المركب بزيادة عدد علامات الموجبة .**

**** اجريت الاختبارت ذاتها على الاجزاء الطرية للنبات ووجدت انها مطابقة مع اغلب النتائج اعلاه مع ان شدة النتيجة اقل منها في الاجزاء الجافة . استثناء من الصابونيات في الثمار (+++) والسكريدات في الاوراق (+++) .**

جدول 2 : بعض الصفات المظهرية للمواد القلويدية الخام (a و b و c و d) المستخلصة بالطرق الاولى (M_1) والثانية (M_2) ، لثمار واوراق نبات عنب الذيب .

الاختبار / المادة الخام	الشكل الفيزيائي	الهيئة و اللون	الذوبانية	الناتج(غم)	النسبة المئوية
a	صلب في درجة حرارة الغرفة.	مسحوق اخضر غامق بلمعان معدني.	يذوب جيدا في الميثانول الساخن وفي الكلوروفورم الساخن وفي الحوامض المخففة وقليل الذوبان بالماء ولا يذوب في التلوين	3.49غم من 40غم من مسحوق الاوراق	% 8.73
b	صلب في درجة حرارة الغرفة .	مسحوق اخضر مصفر.	يذوب جيدا في الميثانول الساخن وفي الكلوروفورم وفي الحوامض المخففة والمتوسطة وفي الماء وقليل الذوبان في التلوين.	3.8 غم من 40 غم من مسحوق الاوراق.	% 9.50
c	صلب في درجة حرارة الغرفة .	مسحوق ابيض حبيبي ناعم	يذوب في الميثانول الساخن وفي الحوامض المخففة ويترسب في كل من الكلوروفورم و التلوين والماء .	0.45 من 50 غم من مسحوق الثمار.	% 0.9
d	صلب في درجة حرارة الغرفة .	بلورات ذهبية رقيقة.	يذوب في معظم المذيبات العضوية بصورة جزئية مع الحرارة ، ويذوب جيداً في الحوامض المخففة ويترسب في الماء .	0.325 غم من 100 غم من مسحوق الاوراق	% 0.33

المصادر

1. Harborn , J . B .**1973**. *Phytochemical methods* . Chapman and Hall Itd .London NewYork pp. 278.
2. السامرائي ، خلود وهيب عبود ، **1983**. *توزيع القلويدات واهميتها التصنيفية في بعض الانواع البرية والعائلة البانجانية Solanaceae في العراق*". رسالة ماجستير كلية العلوم – جامعة بغداد.
3. Burton, W.G. **1989**. *The potato*. Longman Group, U.K. Limited 742 pp. published in (OECD) 1997.
4. Al-Rawi, and H.L.Chakravarty. **1964**. *Medicinal plants of Iraq*. Government prees, Baghdad-Iraq. Pp. 109.
5. Fahmy, I.R.**1933**. "*Constituents of plant crud drugs. Ist*". Ed-Poul Barbey-Cairo. Egypt.
6. شامي ، سامي اغا، **1982** . "*دراسة بعض الصفات الدوائية والسمية لازهار القيصوم*" . رسالة ماجستير . كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .
7. العاني ، اوس هلال جاسم، **1998** ." *دراسة مكونات الحبة السوداء المحلية* " .*Nigella sativa* L وتأثير مستخلصاتها على بعض الاحياء المجهرية . رسالة ماجستير . كلية العلوم – الجامعة المستنصرية .
8. Shihata,I.M.**1951**.Apharmacolo-gical study of *Anagallis arvensis* M.D.vet. Thesis Cairo University
9. قطب ، فوزي طه، **1981** . *النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها* ". دار المريخ للنشر . الرياض – المملكة السعودية .
10. Jaffer, H.J.; Mahmod, M.J.; Jawad. A.M., Naji A, and Al-Naib A., **1988**. Phytochemical and biological screeining of iraqi plant. *Fitoterapia LIX* . **3**: 229-233.
11. Bhathnagar J.K. and Ravinder K. Purik **1974** . Solanum platanifolium a new source of solasodine lloyidia ,June: 318-319.
12. Handa, S. S.; Decpak M. and Anupam K. M, **1998**.*Indian Herbal pharmacopoeia*. Vol I. Ajoint publication of Regional Research laboratory and Indian Drug Manufacturers Association. India. P.p. 139-146.
13. Shabana, M.M. and T.S. El- Alfy,**1978**. Investigation of the constituents of *Solanum laciniatum* AIT flowers. *Egypt. J.pharm Sci*. **19**(1-4): 337-347.
14. Thonison, W.A.R. **1978**. *Medicines from the Earth*. McGraw-Hill Book Co. Maidenhead,United kingdom.
15. Kapoor, L.D., **1964** . Site of synthesis of alkaloids in some plants. *Curr. Sci*.**32** : 355-356.
16. Burdykina-S; E.A. **1967**. On the problem of the course of Alkaloid formation in Datura innoxia Rastit. Resursy.**2** (1): 56-Hort Abst. 37-5538.
17. مجيد ، سامي هاشم ؛ مهند جميل محمود ، **1988** *النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي*" . مجلس البحث العلمي . مركز بحوث علوم الحياة قسم العقاقير وتقييم الادوية .
18. Karim, Fawzi M. and Saleh A. Qurran, **1986** . *Medicinal plants of Jordan. Jordan Natural History Museum, center for Jordanian studies*. Published by Yarmouk University – Irbid- Jordan.
19. Bruneton , J . **1993** . *Pharmacognosy Phytochemistry of Medicinal plants*. Lavoisier, parts 2nd ed. pp. 877.
20. Sharma, S.C.; Chand R., O.P. and Sharma A.K. **1983**.*Phytochemistry*. 22,pp : 1241.
21. Hassein, Fawzy Taha Kotob,**1985**. " *Medicinal plants in Libya-Al-Fath University*" . Arab Encyclopedia House, Libya, 1st print. Libya
22. الشماع ، علي عبد الحسين ، **1989** . "العقاقير وكيمياء النباتات الطبية" – دار الكتب للطباعة والنشر . نينوى – العراق
23. Tyler, Varro E., Lynn R.Brady and James E. RobbersK, **1988**. *Pharmacognosy*. 9th ed. Lea & Febiger Philadelphia, P.A. USA.
24. Crabble, Phillip Graham and Colin Fryer, **1980** . Rapid Quantitative Analysis of Solasodine, Solasodine Glycosides and solasodinene by ligh-pressure liquid chromatography . *Journal of Chromatography*. **187** (1980) 87-100.