المركز الجامعي بورقلة
معهد العلوم الدقيقة
دائرة الكيمياء

فصل و تحديد صيغة الأتروبين من نبات *Hyoscyamus muticus* النامي بإليزي

مذكرة
لنيل شهادة

الماجيستر

تخصص : *كيمياء عضوية تطبيقية*
فـــرع : *الحلقات المتغايرة*

مقدمة من طرف
السعيد بن فرج الله

تمت المناقشة : *يوم 15 أفريل 2001*

لا يعار

إهـــــداء

إلى أمي وأبي.

إلى أخي فرج اللّه.

إلى أبنائي أيوب وأكرم (الحاج علي).

إلي من تعبوا معي طوال فترة دراستي بورقلة.

تشكرات

إلى أستاذي الفاضل الدكتور التهامي العانز على مساعداته التي ما فتئ يقدمها حتى تم بعون من الله تقديم هذه الثمرة المباركة.

إلى الأستاذ حسين دندوقي أستاذ مساعد مكلف بالدروس بجامعة قسنطينة على خدماته العلمية و المعنوية طوال فترة بحثي .

إلى الأستاذ بلقاسم لقصير أستاذ محاضر بجامعة عنابة الذي أخذت عليه المبادئ الأولى لكيمياء النبات.

إلى الأستاذ عبد الوهاب يحي أستاذ مساعد مكلف بالدروس بالمركز الجامعي بأم البواقي الذي ساعدني كثيرا في إنجاز هذا البحث وكذلك على قبوله أن يكون عضوا مناقشا لهذا العمل.

إلى الأستاذ بلخير دادة موسى أستاذ محاضر بالمركز الجامعي بورقلة على قبوله ترأس لجنة المناقشة.

إلى الأستاذ محمد رضا وهراني أستاذ محاضر بالمركز الجامعي بورقلة على قبوله أن يكون عضوا في لجنة المناقشة .

إلى الأستاذ محمد المولدي خنفر أستاذ محاضر بالمركز الجامعي بالأغواط على دعمه المعنوي و المادي.

إلى أساتذتي الكرام الذين ساهموا في تكويني .

إلى أسرة التربية بمتقن النزلة بتقرت لدعمهم الدائم لي.

إلى الأساتذة مراد قريشي و نور الدين غراف ومسعود بن ساسي ومسعود حسيني وعلي ذوادي و السيدة سعيدة إيدير بالمركز الجامعي بورقلة .

إلى زميلي الأزهر بشكي على وقوفه الدائم معي أثناء دراستي ومساعد ته لي في إنجاز هدا البحث .

إلى زملاء دفعتي الدراسية بورقلة، إلى فاطمة حاجي وحياة زروقي ومحمد الأخضر بالفار و لخذاري إبراهيم.

إلى الأستاذ بلقاسم تركي لمساعدته لنا في إخراج هذه المذكرة

ملخص

يعتبر السكران متيكيس من أهم النباتات المنتشرة في الجنوب الجزائري والمعروف عالميا بخصائصه العلاجية ،حيث يعد من أهم النباتات انتشارا في الأسواق العالمية كمصدر مهم لقلويد الأتروبين المطلوب طبيا ،الأمر الذي حفزنا على دراسته ،يرتكز عملنا على ثلاثة محاور: -

المحور الأول يتناول دراسة عامة للقلويدات من حيث التصنيف و الخصائص وطرق الاستخلاص واستخداماتها.

المحور الثاني يتناول دراسة للسكران متيكيس من حيث التصنيف في المملكة النباتية وموطنه الأصلي وأهميته الاقتصادية والطبية كما نتناول في هذا المحوركذلك قلويدات نبات السكران متيكيس والاصطناع الحيوي لقلويداته التروبانية.

المحور الثالث نتناول فيه من ناحية تطبيقية اختبارات كيفية للمواد الفعالة ودراسة كروماتوغرافية تحليلية للقلويدات وتقدير نسبة القلويدات الكلية غير المتطايرة لمختلف أعضاء النبات وتقدير نسبة القلويدات الخام في القمم الزهرية واستخلاص لكل من قلويد الأتروبين والسكوبولامين عند قيم pH معينة ودعمنا ذلك بالاختبارات و الدراسة الطيفية.

Résumé

L'Hyoscyamus muticus est considéré parmi les plantes les plus répandues dans le sud algérien, connu mondialement par ses caractéristiques thérapeutiques, puisqu'il est considéré comme l'une des plantes les plus répondues dans les marchés mondiaux comme source importante de l'alcaloïde «atropine» qui est demandé dans la médecine ce que nous a poussé à l'étudier.

Notre travail se base sur trois axes :

Le premier axe : c'est l'étude générale des alcaloïdes selon leur classification, leurs caractéristiques, les méthodes de leur extraction et leur utilisation.

Le deuxième axe : c'est l'étude de la plante selon sa classification dans le règne végétale, son pays d'origine, son importance économique et médicale, comme on aborde dans cet axe les alcaloïdes de ce végétal et la biosynthèse de ses alcaloïdes tropaniques.

Le troisième axe : on aborde d'un coté pratique les analyses qualitatives des matières actives, l'étude chromatographie analytiques des alcaloïdes et l'estimation du taux des alcaloïdes totaux non volatils des différentes organes due végétal et l'estimation du taux des alcaloïdes bruts dans les sommets fleurés, l'extraction des alcaloïdes «atropine» et «scopolamine» aux valeurs pH indiqués, et nous avons consolidé cela par des tests et une étude spectrale.

الفهـــــــــــرس

مقدمـــــة

الفصل I – الدراسة النظرية للقلويدات

1. عموميات..... 4
2. تعريف القلويدات 4
3. نبذة تاريخية 4
4. طبيعتها وتواجدها 5
5. بنية وتصنيف القلويدات 6
6. الخواص الفيزيائية والكيميائية 16
7. استخلاص القلويدات 18
8. كشف وتشخيص القلويدات 23
9. معايرة القلويدات..... 24
10. الاصطناع الحيوي للقلويدات 25
11. استعمالات القلويدات 25

الفصل II – الدراسة النظرية لنبات السكران متيكيس

1. الموطن الأصلي 27
2. الوصف النباتي للسكران متيكيس 27
3. زراعتها 28
4. تصنيف نبات السكران متيكيس 28
5. الأهمية الاقتصادية لنبات السكران متيكيس 29
6. الأهمية الطبية لنبات السكران متيكيس 30
7. قلويدات نبات السكران متيكيس 31
8. الاصطناع الحيوي للقلويدات التروبانية..... 35
9. تشخيص القلويدات ذات النواة التروبانية 37

الفصل III – الدراسة العملية لنبات السكران متيكيس

1. الحصاد..... 39
2. التجفيف..... 39
3. الحفظ..... 39
4. الحصر الكيميائي الأولي لمختلف أعضاء نبات السكران متيكيس..... 40
5. الدراسة الكروماتوغرافية التحليلية لقلويدات مختلف أعضاء النبات..... 45
6. تقدير نسبة القلويدات الكلية غير المتطايرة في مختلف أعضاء النبات..... 49
7. استخلاص القلويدات بدلالة الـ pH 54
نتيجة عامة 60
الملحق..... 61
المراجع..... 66

جـــــــداول

الجدول 1	الحصر الكيميائي الأولي لمختلف أعضاء نبات السكران متيكيس .	ص:44
الجدول 2	كروماتوغرافية تحليلية لقلويدات مختلف الأعضاء .	ص:48
الجدول 3	النسبة المئوية للقلويدات الكلية غير المتطايرة في مختلف أعضاء نبات السكران متيكيس.	ص:52
الجدول 4	النسبة المئوية للقلويدات الكلية غير المتطايرة في مختلف أعضاء النبات	ص:53
الجدول 5	الدراسة الكروماتوغرافية على رقائق سليكا-جل G	ص:56

قائمة الأشكال

شكل:(1) طيف $RMN\ ^{13}C$ للأتروبين ص:61

شكل:(2) طيف $RMN\ ^{1}H$ للأتروبين ص:62

شكل:(3) طيف $RMN\ ^{1}H$ للأتروبين (إطالة) ص:63

شكل:(4) طيف $RMN\ ^{1}H$ للأتروبين (إطالة) ص:64

مـــــــقـــــــــدمة

يتبين من المراجع أن الإنسان عرف التداوي بالنباتات الطبية منذ القدم ومازال، فقـــد جاء ذكر العديد منها عند قدماء المصريين أهمها بردية سميت(Papyrus de smith) الـــتي يرجع تاريخها إلى النصف الأول من القرن السابع عشر قبل الميلاد والمسماة كذلـك بالبرديـة الجراحية(Papyrus chirurgical) ونصها منقولا عن نص يرجع تاريخه إلى 2700-2980 قبل الميلاد ويسمى بالبردية الجراحية " أودين سميت " (Papyrus chirurgical Edwin smith)، برديتان أخريين قريبتين نسبيا من هـــذه الأخـيرة برديـة كـاهين وجـيروب (Papyrus gynecologique de Khahun et Gurob) وبردية إبرس (Papyrus Ebers)، كما جـاء ذكرها على الألواح المسمارية وقد أنشأ الملك الآشوري (Mardoukappalidine) (710-772 قبل الميلاد) حديقة زرع فيها 64 نوعا من النباتات الطبية ، وقد قام قدماء الهنود بتقنـين وتنظيم زراعة النباتات الطبية حسبما جاء في وصفات الملك البوذي أصوكا Açoka (القـرن الثالث قبل الميلاد) ويعتقد الصينيون بأن الطبيعة تحوي لكل داء دواء ويظهر الملخص المنجـز فقط في عام 1597م " بن تساوكنغ- مو Pen ts'ao Kang-mou " 8160 وصفة حضـرت أساسا من 1871 مادة غالبيتها نباتية والكم الهائل الذي حوته من النباتات الطبية يفوق كل مـا عرفته الشعوب ويحتوي هذا الملخص على نباتات لم تستوف دراستها منـها جـذور نبـات الجانسنغ Ginseng الذي يفيد في العقم والشيخوخة وحتى السرطان، ويرجع تقـدم الطـب الحديث لقدماء الصينيين في كثير من النباتات الطبية والعلاج نذكـر منـها نبـات الراونـد rhubarbe والعلندة éphedra والشاي، أما اليونانيون فقد عرفوا التداوي بالراوند ضد اليرقـان وثمار وأزهار الرمان ضد التريف كما دون أبو قراط (أبو الطب) مع تلاميذه مجموعة مـن المعـارف يصـف فيهـا دواء نباتيـا لكـل داء وطريقـة العـلاج المنـاسبة وقـد عـرف الـعهد المسيحي الأول ديوسقوريدوس Dioscoride الذي وضع مؤلفا معروفا

باسم "دوماتيرياميديكا De materia medica " وحمله بأكثر من 500 دواء معظمها من أصل نباتي وقد عرف العصر الوسيط الرازي (865 -925م) بكتابه "الحاوي في الطب" و ابن سينا(1014 -1021م) الذي ترك لنا كتاب القانون في الطب وابن البيطار في كتابه" الجامع لمفردات الأدوية والأغذية " وقد تضمنت كتبهم العديد من النباتات الطبية و طرق استخلاصها و استعمالها. [1،2].

لم يتم استخلاص المركبات العضوية الفعالة إلا في عام 1803م حيث توصل دورون Derosne إلى عزل المورفين من الأفيون (21) وفي عام 1817 توصل بيللوتييه Pelletier و كافنتو Gaventou من عزل الإميتين émétine وهكذا توالى الأمر حتى فاقت 10000 مركبا فعالا وهذه القائمة تزداد يوميا ولكن رغم ما توصل له الطب الحديث من علاج و تصنيع لبعض المستخلصات النباتية في المخابر غير أنه إ ستحال عليه تحضير بعض المركبات بدون أساسات نباتية ومازال الطلب كبيرا على هذه الأساسات النباتية [1] . وقد عرفت نباتات العائلة الباذنجانية المنتجة للقلويدات التروبانية ونبات السكران متيكيس على الخصوص أهمية طبية عظيمة منذ القدم وتناولته العديد من دساتير الأدوية. إن غنى نبات السكران متكيس بقلويد الأتروبين(1) عزز مكانته الطبية الاقتصادية و هذا ما حثنا على تناول هذا النبات النامي بايليزي في بحثنا هذا.

الفصل I

الدراسة النظرية للقلويدات

1- عموميات

تشكل القلويدات مع الجليكوسيدات Les Hétérosides غالبية المركبات الفعالة في النباتات الطبية وتكمن أهميتها القصوى في فاعليتها من ناحية وسميتها من ناحية أخرى[3].

اصطلاح قلويد أدخل عام 1818م من طرف ميسنر Meissner و يدل على مركب عضوي له سلوك القواعد أو القاعدة النباتية [3،4].

2- تعريف القلويدات

مبدئيا تعرف القلويدات بأنها مركبات عضوية، غالبيتها نباتية، قاعدية، أزوتية، ذات بنية معقدة ، ترسب ببعض الكواشف المسماة بالكواشف العامة للقلويدات، لها خواص فيزيولوجية مهمة [3،5].

3- نبذة تاريخية

تعتبر القلويدات من أهم المركبات الكيميائية المستخلصة من المواد النباتية ذات الأهمية العلاجية حيث احتلت مكانة هامة في علم الصيدلة و يعد المورفين(21) أول قلويد مستخلص بصفة نقية من الأفيون عام 1906م من طرف الألماني سيرتيانار Serturner وعرف طبيعته القاعدية ثم توالت عمليات الفصل، مثل قلويد الكنين (18) من نبات الكينا Quinquina والكافيين(9) من البن والأتروبين(1) من نبات Belladone حتى فاق المستخلص منها 4000 قلويد. الكثير منها شديد السمية [6]. ويرجع هذا التطور لإدخال تقنيات الكروماتوغرافيا والأجهزة الطيفية [7].

4- طبيعتها و تواجدها

تتواجد القلويدات في العديد من النباتات فهي نادرة في الفطريات وقليلة في النباتات أحادية الفلقة ووفيرة في النباتات ثنائية الفلقة [3].

يمكن أن تتواجد القلويدات في كل أجزاء النبات لكنها غالبا ما تكون في بعض الأعضاء مثل:- الجذور(عرق الذهب Ipeca)، الأوراق(الكوكا Coca)، الثمار(الخشخاش Pavot)، في اللحاء(الكينا)، في البذور(اللحلاح Colchique)... إلخ. في بعض الأحيان متماثلة في كل أجزاء النبات وفي بعض الأحيان الأخرى تختلف حسب الأعضاء، مثل قلويدات أوراق ولحاء الكينا، قلويدات أوراق وجذور القضاب Pervenche tropicale .

نادرا ما يتضمن النبات قلويدا واحدا فهو على العموم يتضمن مزيجا من القلويدات تتفاوت نسبها.

نادرا ما تتواجد القلويدات في النباتات في صورها الحرة فغالبا ما تكون مرتبطة بأحماض عضوية (حمض الخل، حمض الليمون، حمض الماليك ،...) أو مرتبطة بالمواد المرة Les tanins نسبة تواجدها على العموم تكون بين 1% و 3% (من الوزن الجاف) و قد تفوق نسبها 10% أحيانا كما في لحاء نبات الكينا .

دورها في النبات غير معروف جيدا، إذ تعتبر أحيانا كفضلات وأحيانا أخرى مواد دفاعية لكن يظهر بأنها تمثل مخزونا للأزوت [3].

5- بنية وتصنيف القلويدات

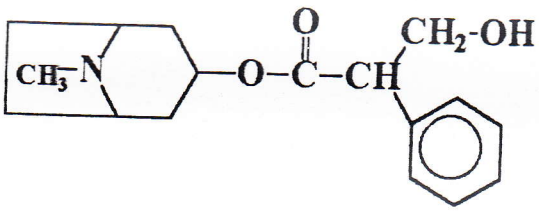
الأزوت الذي يعطي للقلويد السلوك القاعدي، يوجد على هيئة أمين (أولي،ثانوي،ثالثي) أو رباعيا،غالبا ما يكون حلقيا، الكتلة ا المولية للقلويدات جد متغيرة، بعض الجزيئات معقدة جدا وقد تصل كتلها المولية لما يقارب 1000 g/l [3].

يختلف تصنيف المؤلفين للقلويدات، فتصنف حسب توزيعها النباتي، أو حسب خواصها الصيدلانية ، أو تركيبها الحيوي، أو حسب بنيتها الكيميائية.

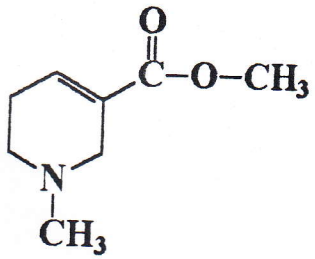
5-1- تصنيف القلويدات إلى قلويدات حقيقية و غير حقيقية [4]

5-1-1- القلويدات الحقيقية Les Alcaloïdes vrais

سامة، لها أثر فيزيولوجي، قاعدية، ذرة الأزوت داخل الحلقة، مشتقة من الأحماض الأمينية مثل الأتروبين (1) والأريكولين (2).



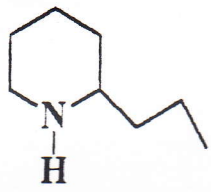
Atropine
(1)



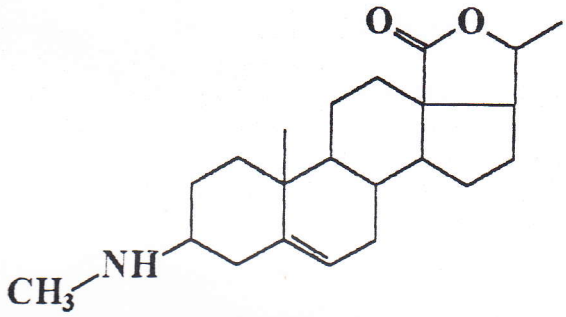
Arécoline
(2)

5-1-2 – أشباه القلويدات Pseudo-Alcaloïdes

غالبا لها نفس خواص القلويدات الحقيقية لكن ليست مشتقة من الأحماض الأمينية، غالبيتها العظمى عبارة عن قلويدات تربينية Alcaloïdes terpéniques وكذلك الكونيين(3) و البارافالارين(4).



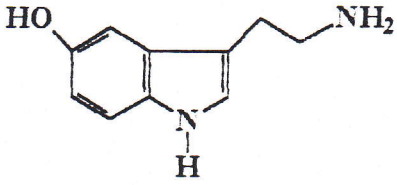
(+)-coniine
(3)



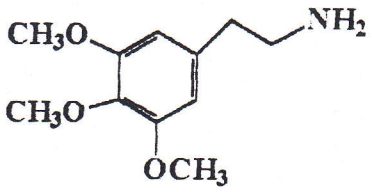
Paravallarine
(4)

5-1-3- البروتوقلويدات Proto-alcaloïdes

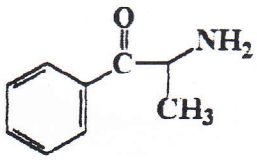
عبارة عن مشتقات أمينية حيث الأزوت خارج الحلقة، قاعدية، تم اصطناعها في الكائن الحي انطلاقا من أحماض أمينية. عدة مركبات ينطبق عليها التعريف، أمينات بسيطة مثل السيروتونين (5) والمسكالين (6) المستخلص من البيتول peyolt، والكاتينون (7) المستخلص من الشاي الحبشي thé des abyssins .



Sérotonine
(5)



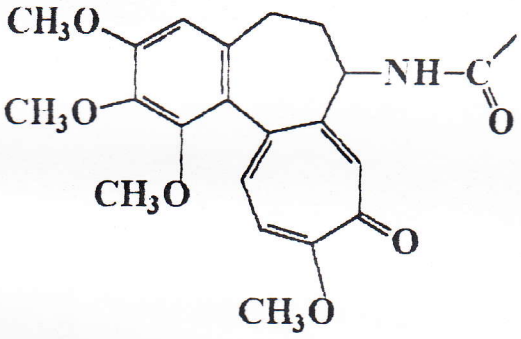
Mescaline
(6)



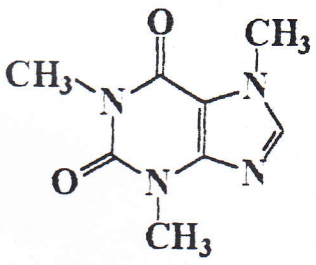
(-)-cathinone

(7)

غير أن هذا التصنيف ليس من السهل تطبيقه، فـأين يصنـف الكولشيسيـــن (8) والكافيين (9) مثـــلاً؟.



Colchicine
(8)



Caféine
(9)

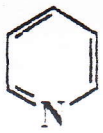
5 -2- تصنيف القلويدات لمركبات غير حلقية متجانسة وحلقية متجانسة

يعد أهم تصنيف للقلويدات التصنيف الذي يعتمد على تقسيمها إلى مركبات حلقية غير متجانسة بداخلها ذرات الأزوت ومركبات حلقية متجانسة متصلة بسلسلة أمينية حانبية [8] .

5-2-1 - قلويدات غير متجانسة الحلقة

تقسم بدورها إلى عدة مجموعات :

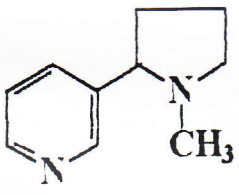
5-2-1-1 مجموعة البيريدين والبيبيريدين



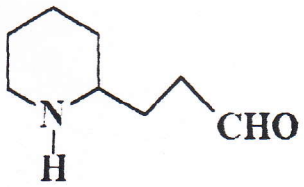
Pyridine
(10)

Piperidine
(11)

أهم القلويدات البيريدينية النيكوتين(12) الموجود في التبغ وأهم القلويدات البيبيريدينية البيلتيرين(13) الموجود في الرمان.

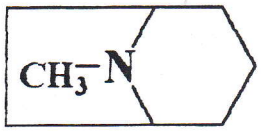


Nicotine
(12)



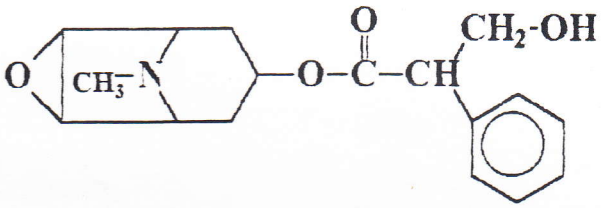
Pelletiérine
(13)

5-2-1-2- مجموعة التروبان



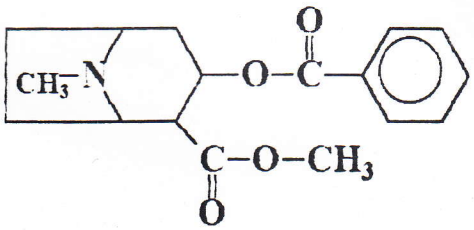
Tropane
(14)

أهم القلويدات التروبانية الأتروبين (1) (المشتق الراسمي للهيوسيامين hyoscyamine اليساري التدوير) والسكوبولامين (الهيوسين) scopolamine (hyoscine) (15) الموجودين في نبات السكران والبلادونا .



Scopolamine
(15)

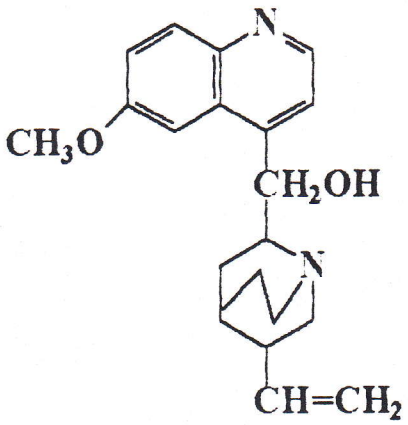
كذلك الكوكايين (16) المستخرج من أوراق الكوكا (coca).



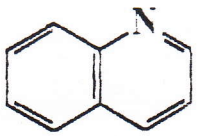
Cocaïne
(16)

5-2-1-3- مجموعة الكينولين

أهم قلويداتها الكينين (18) المستخرج من نبات الكينا.



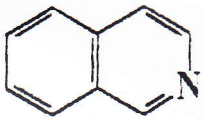
Quinine
(18)



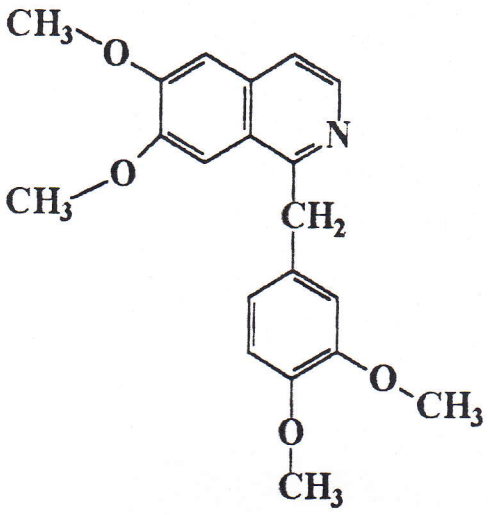
Quinoleine
(17)

5-2-1-4- مجموعة الإيزوكينولين

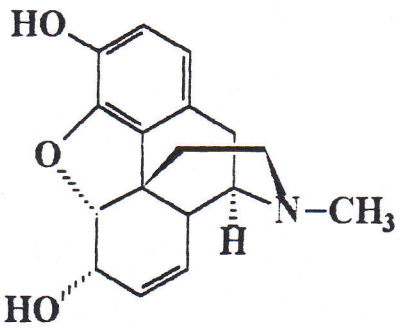
أهم قلويداتها البابافيرين(20) والمورفين (21) المستخرجان من نبات الخشخاش(Pavot).



Isoquinoléine
(19)



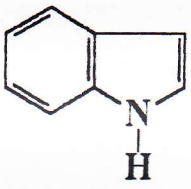
Papavérine
(20)



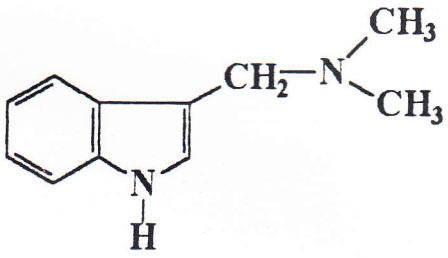
Morphine
(21)

5-2-1-5- مجموعة الإندول

أبسط قلويداتها الجرمين(23) المستخرج من أوراق الشعير.



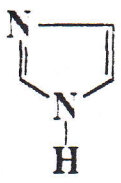
Indole
(22)



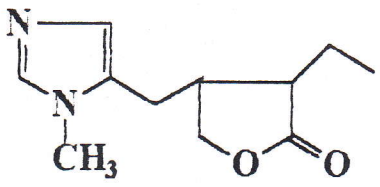
Gramine
(23)

5-2-1-6- مجموعة الإيميدازول

أهم قلويداتها البيلوكاربين(25) المستخرج من أوراق الجابورندي jaborandi.



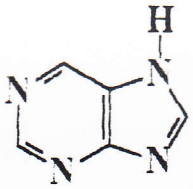
Imidazole
(24)



Pilocarpine
(25)

5-2-1-7- مجموعة البيورين

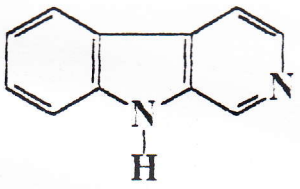
من قلويداتها الكافيين(9) الموجود في أوراق الشاي.



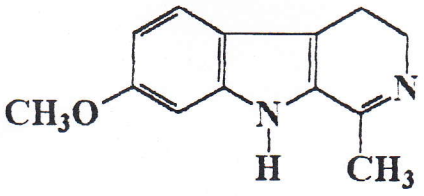
Purine
(26)

5-2-1-8- مجموعة الكاربولين

أهم قلويداتها الحرملين(28) المستخرج من نبات الحرمل .



carboline
(27)



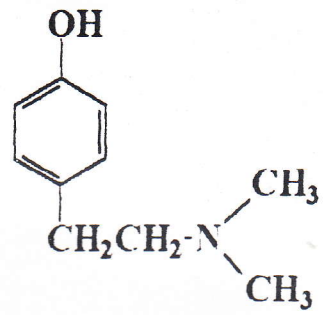
Harmaline
(28)

5-2-2- قلويدات متجانسة الحلقة (الأزوت خارج الحلقة)

تنقسم بدورها إلى مجموعات :

5-2-2-1- الأمينات القلويدية amines alcaloïdiques

نذكر على الخصوص مسكالين(6) و هردينين(29) المستخرجان من البتول.



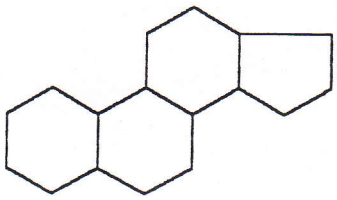
Hordénine
(29)

5-2-2-2 - مشتقات النواة التروبولونية Noyau tropolone

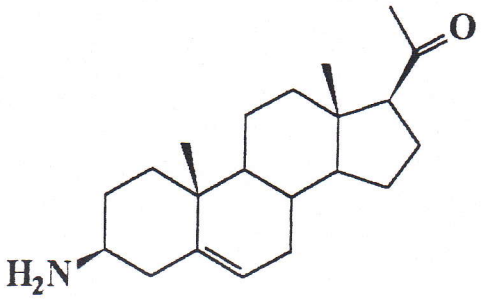
نواتها تتشكل من ثلاث حلقات ، سباعيتان وسداسية و الأزوت موجود خارج النواة ، منها الكولشيسين(8).

يبقى أيضا هذا التصنيف ناقصا فمثلا أين توضع القلويدات الستيرويدية Alcaloïdes stéroïdiques؟ بحيث هيكلها يحتوي على نواة ستيرويدية (30) وهي نواة تتشكل من أربع حلقات ثلاث منها سداسية والباقية خماسية و الأزوت خارج

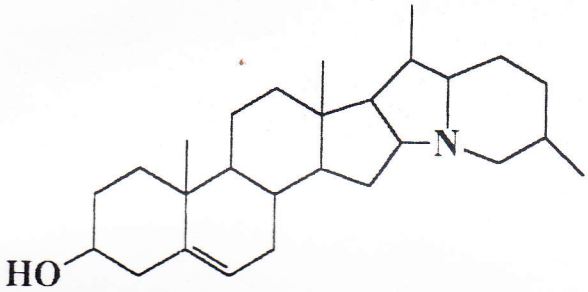
النـــــــــــواة بحيث يكون غير متحلق مثل الهولافيلامين (31) المستخـــــرج مـــــن نبـــــــاتات Apocynaceae أو حلقيا مثل الصولانيدين (32) الموجود في الباذنجانيات.



Noyau stéroïdique
(30)



Holaphyllamine
(31)



Solanidine
(32)

6 – الخواص الفيزيائية والكيميائية

معظم القلويدات صلبة متبلورة، أحيانا ملونة، القليل منها سائلا (عموما غير الأوكسيجينية)، متطايرة يمكن جرفها بالبخار مثل النيكوتين(12)، معظمها نشيطة ضوئيا.

تشترك القلويدات في بعض الخواص الأساسية :

- سلوكها اتجاه المذيبات بدلالة الـ pH .
- تشكيل راسب مع بعض الكواشف المعروفة بـ"الكواشف العامة للقلويدات".

6-1- ذوبانية القلويدات

للقلويدات سلوك قاعدي؛ فهي تعطي أملاحا مع الأحماض.

ذوبانيتها في مختلف المذيبات تتعير بدلالة الـ pH ، أي أن ذوبانيتها تختلف باختلاف طبيعتها (قاعدية أو ملحية):-

- **في شكلها القاعدي:**
  - ذوابة في المذيبات العضوية اللاقطبية (بنزان، كلوروفورم، الإيثر الاثيلي، ...).
  - ذوابة في المذيبات العضوية القطبية (الكحولات).
  - لا تذوب في الماء.
- **في شكلها الملحي:**
  - ذوابة في الماء.
  - ذوابة في المذيبات العضوية القطبية (الكحولات).
  - لا تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية المذكورة آنفا.

6 -2- ترسيب القلويدات

تترسب ببعض الكواشف النوعية"ا لكواشف العامة للقلويدات " في محاليلها المائية (شكلها الملحي) قليلة الحمضية . يوجد العديد من هذه الكواشف أهمها :

- **كاشف ماير Mayer** : عبارة عن رابع يودوزئبقات (II) البوتاسيوم $K_2[HgI_4]$ حيث يعطي مع القلويدات راسب أبيض ضارب للصفرة.
- **كاشف دراجندورف Dragendorff**: هو المحلول الحمضي لرابع يودوبيزموثات (III) البوتاسيوم $K[BiI_4]$ حيث يعطي مع القلويدات راسب أحمر برتقالي.
- **كاشف بوشاردا Bouchardat**: عبارة عن المحلول المائي لليود $K[I_3]$ والذي يعطي راسبا بنيا مع القلويدات.

كذلك تترسب بـ :

- أملاح المعادن الثقيلة مثل أملاح البلاتين والتنغستن والموليبدان .
- أحماض ضعيفة (حمض البكريك،..) .
- العفصيات .

غير أن هذه الكواشف قد تعطي رواسبا مع بعض البروتينات وبعض الكومارينات coumarines وبعض الهيدروكسي- فلافونات ومركبات أخرى.

هناك كواشفا نوعية تشخص أنواعا معينة من القلويدات :

- بارا- تنائي مثيل أمينوبنزالدهيد p-diméthylaminobenzaldéhyde لقلويدات الشيلم siegle.
- كبريتات السيريوم والأمونيوم sulfate de céruim et d'ammonium للقلويدات الإيندولية مثلا.
- كاشف فيتالي- مورين vitali-morin لأسترات حمض الترويك.

- كلور الحديديك $FeCl_3$ الحمضي لقلويدات نبات الراولفيا rauwolfia.

7- استخلاص القلويدات

يعتمد استخلاص القلويدات على طبيعة القلويد الملحية في النبات من جهة وقاعديته من جهة أخرى، أي ذوبانية القواعد و الأملاح في الماء من جهة وفي المذيبات العضوية من جهة أخرى، في كل الحالات يسحق النبات الجاف حتى يكون نفاذ لسوائل الاستخلاص وقد يسبق الاستخلاص عملية إزالة الدهون(خاصة مع البذور) التي تشكل مستحلبات وتجعل عملية الاستخلاص صعبة، فيكفي لإزالتها استخلاص الدهون في البداية بالايثر البترولي أو الهكسان فنادرا ما يمكن استخلاص القلويدات بهما في وسط متعادلا أو حمضيا.

هناك ثلاث طرق عامة لأستخلاص القلويدات :

- الاستخلاص بالمذيبات العضوية اللاقطبية.
- الاستخلاص بالمذيبات العضوية القطبية.
- الاستخلاص بالمذيبات الحمضية.

7-1- الاستخلاص بالمذيبات العضوية اللاقطبية

أهم طريقة هي طريقة سطاس-أتو(stas-otto) وتتم في عدة مراحل نلخصها في ما يلي :

المرحلة الأولى: تحرير القلويدات بشكلها القاعدي واستخلاصها

مسحوق النبات الجاف يعالج في أغلب الحالات بقاعدة ضعيفة مثل النشادر NH_3 أو كربونات الصوديوم Na_2CO_3 . بهذه الطريقة تتحرر القلويدات ثم تستخلص بمذيب

عضوي لا قطبي مثل $CHCl_3$، CH_2Cl_2، EtOEt ...الخ ويفضل ذو درجة الغليان المنخفضة، الاستخلاص يتم على البارد متقطعا بالنقع macération أو التنقيطpercolation، أو على الساخن متواصلا باستخدام جهاز صوكسلي (soxhlet) أو جهاز كيمجافة (kumagava) إذا كانت درجة غليان المذيب لا تؤثر على بنية القلويدات [9،3].

نحصل في كل الحالات على حثالة (مسحوق نبات مستنفد) ومحلول عضوي للقلويدات في صورها القاعدية.

المرحلة الثانية: التنقية

المحلول العضوي السابق ذكره يحتوي شوائب عديدة بالإضافة للقلويدات ولتنقيتها تمرر القلويدات من الطور العضوي إلى طور مائي(حمضي) للتخلص من الشوائب الذائبة في المذيب العضوي (كلوروفيل، دهون، صمغ،...) ثم تنقل القلويدات محددا من الطور المائي إلى طور عضوي قاعدي للتخلص من الشوائب الذائبة في الماء (سكريات، أملاح،...) ومراحل هذه الطريقة تتلخص في (المخطط I) .

7-2- الاستخلاص بالمذيبات العضوية القطبية

تتم في مرحلتين أساسيتين :

المرحلة الأولى: الاستخلاص

مسحوق النبات الجاف يعالج بالكحول ثم تبخر الرشاحة للجفاف والراسب الناتج يداب في محلول حمضي ممدد ،أو يعالج مسحوق النبات الجاف بمحلول كحول حمضي أو

بمحلول كحول- ماء حمضي ثم يليه تبخير كحول الرشاحة والناتج يمدد بمحلول حمضي مخفف إذا لزم الأمر.

المرحلة الثانية: التنقية

يستخلص المحلول الحمضي الصافي الناتج بعد تحويله الى قاعدي بمذيب عضوي لا قطبي ($EtOEt$، CH_2Cl_2، $CHCl_3$، ...) ويبخر للجفاف لنحصل على راسب للقلويدات الكلية ومراحل هذه الطريقة تتلخص في (المخطط**II**).

7-3- الاستخلاص بالمحاليل الحمضية الممددة

تتم على مرحلتين أساسيتين :

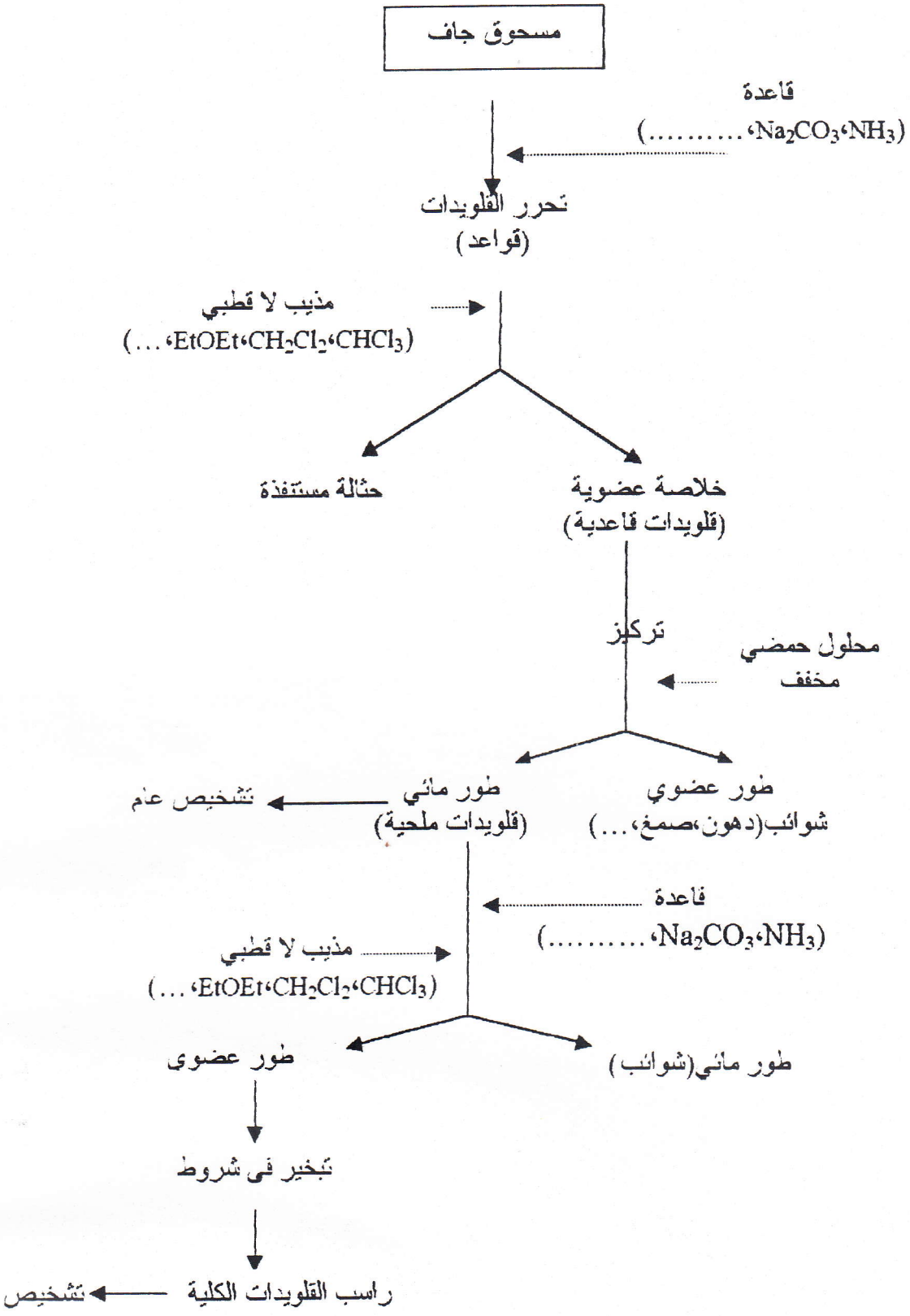
المرحلة الأولى: الاستخلاص

يعالج مسحوق النبات الجاف بالمحاليل الحمضية حتى النفاد، فنحصل على محلول قلويدات ملحية.

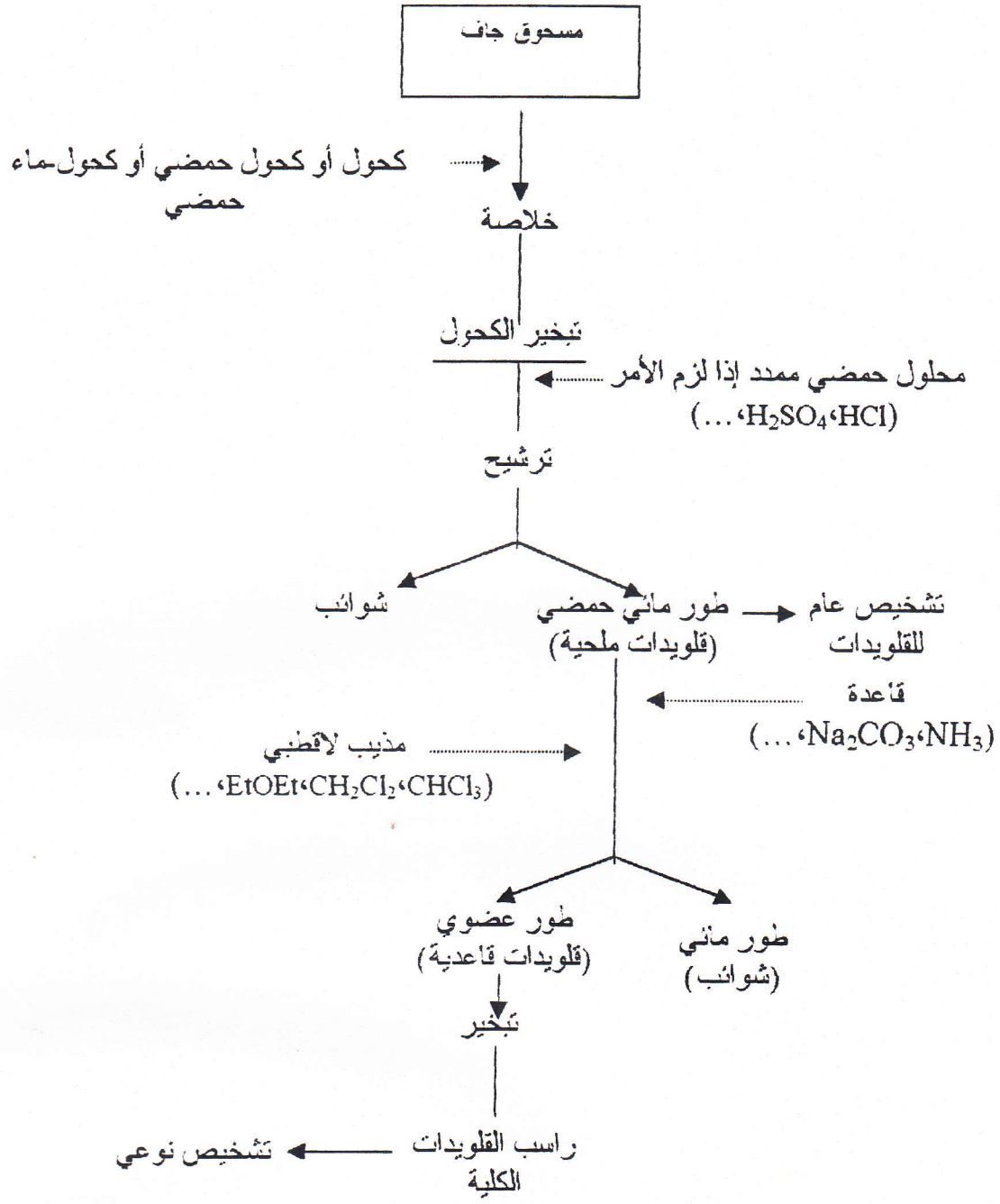
المرحلة الثانية: التنقية

طريقتين:

- **الطريقة الأولى:** يحول المحلول إلى محلول قاعدي بإضافة قاعدة (NH_3، Na_2CO_3، ...) ويستخلص بمذيب عضوي لاقطبي ($EtOEt$، CH_2Cl_2، $CHCl_3$، ...) ثم نبخر لنحصل على راسب من القلويدات الكلية(قاعدية).
- **الطريقة الثانية:** يضاف كاشف ترسيب يرسب القلويدات ثم تحرر القلويدات من الراسب بهدم المعقد مثل ترسيب ذرة الأيون المركزي للأيون المعقد.



(المخطط I):الاستخلاص بالمذيبات العضوية اللاقطبية



(المخطط II):الاستخلاص بمذيب عضوي قطبي

7-4- فصل وتنقية القلويدات

مهما كانت تقنية الاستخلاص فإن القلويدات المتحصل عليها تكون غير نقية وعبارة عن مزيج من القلويدات. نستحدم عدة طرق لتفريد القلويدات تعتمد على البلورة المجزأة في مذيب أو مزيج من المذيبات، أو التقطير المجزأ إذا كان لدينا مركب أو عدة مركبات متطايرة. يمكن أيضا استخدام تفاعلات الترسيب أي تشكيل ملح قلويدي شحيح الذوبان أو تشكيل مشتق أستيلي أو بتريلي. لكن غالبا ما نلجأ للطرق الكلاسيكية لتفريد خليط معقد من القلويدات بتقنية كروماتوغرافيا العمود (سليكا-حل،الومين،الراتنجات المبادلة للشوراد،...).

8- كشف وتشخيص القلويدات

8-1- كشف القلويدات

- **كشف عام**: يتم على الخلاصة المائية الحمضية للنبات.حيت القلويدات تعطي راسبا مع الكواشف العامة للقلويدات مثل كاشف ماير أو دراجندورف .
- **كشف نوعي**: يتم هذا على راسب القلويدات الكلي. فهناك بعض التفاعلات نوعية مثل تفاعل فيتالي- مورين Vitali-Morine لقلويدات إسترات التروبان وتفاعل فان يرك Van Urk مع القلويدات الإيندولية.

8-2- تشخيص القلويدات

نستخدم غالبا الكروماتوغرافيا الورقية أو كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة (CCM) أو حتى الفصل الكهربائي électrophorèse بوجود شواهد. وغالبا ما يتم الكشف في

الخلاصة الكحولية للقلويدات الكلية القاعدية المنقاة، و الكواشف على العموم هي كاشف دراجندورف أو يودوبلاتينات البوتاسيوم.

9- معايـــرة القلويـــدات

تتم على رواسب القلويدات القاعدية المنقاة (قلويدات كلية) :

أ-معايرة وزنية: تستخدم من أجل كميات هامة من القلويـــدات مثـل كوكـايين(16) الكوكا.

ب-معايرة حجمية: تتم باعتبار القلويدات قواعد يمكن معايرتها بأحماض.

- **معايرة مباشرة**: معايرة القلويدات الكلية بكمية معلومة من حمض معلوم التركيز (عموما HCl ، H_2SO_4 بـتركيز 0,1 N أو 0,01 N) وهـي طريقـة قليلـة الاستخدام لقلة دقتها.
- **معايرة غير مباشرة**: يضاف لراسب القلويدات الكلية كمية فائضـة ومعلومـة التركيز والحجم من حمض ثم معايرة فائض الحمض بقاعدة قوية معلومـة التركـيز كما في حالة القلويدات الباذنجانية.

جـ- معايرة في وسط لامائي: يذاب راسب القلويدات الكلية في بلاماء حمـض الخـل ويعاير بواسطة محلول خلي لحمض البيركلوريك $HClO_4$ معلوم التركيز في وجود كاشـف ملون مثل بنفسجي المثيل.

د- معايرة بالقياس اللوني: يعتمد أساسها على أن بعض القلويدات تعطي تفاعلات ملونـة يمكن تقديرها بجهاز القياس اللوني مثل قلويدات الكينا.

ه- طرق أخرى: هناك عدة طرق مستخدمة مثل مساحة البقع على رقائق السليكا- جل(CCM) ، الكروماتوغرافيا الغازية، الكروماتوغرافيا السائلة.

10- الاصطناع الحيوي للقلويدات

لا يوجد نظام اصطناع حيوي خاص بالقلويدات بل يتم اصطناعها من مختلف الأحماض الأمينية مثل فنيل أنيلين (51) المشكل لنواة الإيزوكينولين، وتريبتوفان tryptophane المشكل للنواة الإيندولية والأورنيتين (50) المشكل للإيفيدرين éphédrine والميتيونين méthionine الذي يتدخل في مختلف تفاعلات نقل الشق الميثيلي transméthylation ...إلخ. بالإضافة لهذه الأحماض الأمينية تتدخل وحدات الخلات ووحدات التربان في بناء القلويدات [3].

11- استعمالات القلويدات

عقاقير القلويدات لها أهمية معتبرة في مجالات العلاج الوقائي بفضل فعاليتها الفيزيولوجية المختلفة، فمنها ما يؤثر على الجهاز العصبي المركزي(منشط ومهدئ) ومنها مايؤثر على الجهاز العصبي الذاتي : محاكي الودي sympathomimétriques مثل الإفيدرين والحال الودي sympatholétiques مثل الإرجوتامين ergotamine ومحاكي اللاودي مثل البيلوكاربين (25) وحال اللاودي مثل الأتروبين (1) ، وقلويدات أخرى لها خواص تخدير موضعي، مضادة للسرطان...،وفي معظم الحالات سامة جدا ولو بجرعات صغيرة جدا [3].

الفصل II

الدراسة النظرية لنبات السكران-متيكيس

1- الموطن الأصلي

من المؤكد أن حوض البحر الأبيض المتوسط هو المنشأ الرئيسي لجنس السكران، لأن الأشرطة الساحلية المطلة عليه جنوبا لأوروبا وشمالا غربا لإفريقيا وجنوبا غربا لآسيا غزيرة بأنواعه البرية [8]، كما يتواجد السكران متيكس في الصحاري العربية، الجزائر، ليبيا، مصر، السودان، شبه الجزيرة العربية ممتدا حتى إيران وباكستان وأفغانستان والهند، وتعد مصر موطنه الأصلي وأهم الدول المصدرة له مصر والهند وأفغانستان وباكستان [8 ، 10- 12].

تتبع هذا الجنس العائلة الباذنجانية ويضم حوالي عشرين نوعا إما حولية أو ثنائية الحول أو معمرة نذكر منها بالإضافة لـ *hyoscyamus muticus*: *h.niger*، *h.aureus*، *h.reticulatus* ، *h.falezelez*، *h.pusillus*، *h.boveanus*، *h.desertorum*، يتواجد في الجزائر 4 أنواع: *h.muticus* ، *h.niger* ، *h.albus* ، *h.falezelez* [10،13،14] .

2- الوصف النباتي للسكران متيكس

نبات بري عشبي معمر يمكث في الأرض ثلاث سنوات ولكنه يزرع حوليا عند زراعته كمحصول ، كثير التشابه مع السكران الأسود أو ما يسمى بالسكران الأوروبي *h.niger* ، الجذر وتدي والساق قائمة جوفاء لونها أصفر رمادي مغطاة بطبقة ناعمة من الشعيرات، الأوراق متبادلة على الساق، سميكة لحمية معنقة، تختلف عن بعضها البعض في الشكل والحجم، نصلها بيضاوي الشكل يستدق إلى قاعدة متساوية أما القمة فهي مدببة والحافة كاملة يظهر بها من 2-5 أسنان مثلثة مدببة على كل جانب ويغطي سطحي الورقة شعيرات غزيرة، الأوراق السفلية للنبات كبيرة ويظهر بحافتها قليل من الأسنان الكبيرة ولها عنق ضيق في حين أن الأوراق العلوية صغيرة، معنقة أو جالسة وبها عدد أقل من الأسنان

وغالبا ما تكون كاملة غير مسننة، تنتهي الساق بنورة تزدحم بها كأس مستديمة تحتوي على بذور عديدة وصغيرة يتراوح لونها بين الرمادي المصفر إلى البني [10—12].

3- زراعتها

يزرع نبات السكران متيكيس في معظم الأراضي ماعدا الملحية ويفضل زراعته في الأراضي الطينية الغنية بالدوبال بعد محصول البطاطا والباقوليات فهو حساس للماء ولا يتطلب كميات كبيرة منه ، يجمع المحصول في موسم الإزهار فتحش النباتات من 3-4 مرات، الحشة الأولى في شهر جوان وتليه الحشات الأخرى على فترات تبعد حوالي شهر ونصف هذا بالنسبة للنبات المزروع في شهر سبتمبر وتؤخذ الحشة بقرط النبات على ارتفاع 15-10cm من سطح الأرض [12].

4- تصنيف نبات السكران متيكيس

يمكن أن يصنف نبات السكران متيكيس حسبما جاء في العديد من المراجع كما يلي : [16،15،2]

المملكة النباتية

شعبة:- النباتات البذرية — **Phylum:** Phanerogamae

تحت شعبة:- كاسيات البذور — **Sub Phylum:** Angiospermae

طبقة:– ذوات الفلقتين	**class** : Dicotyledons
طائفة:– الأغلفة الزهرية المتميزة	**Division:**Metachlamydeae
صف:– ملتحمات البتلات	**Raw:**Sympetalea
رتبة:–الأنبوبيات	**Order:** Tubiflorae
عائلة:–الباذنجانيات	**Family:** Solanaceae
جنس:–السكران	**Genus:**Hyoscyamus
نوع:– متيكيس	**Species:**Muticus

5– الأهمية الاقتصادية لنبات السكران متيكيس

تعد العائلة الباذنجانية على العموم موردا هاما للقلويدات التروبانية مثل السكران الأسود حيث نسبة القلويدات الكلية فيه ضعيفة (0,05 – 0,15 %) في مختلف أعضائه ماعدا في البذور (0,3 %) حيث تمثل نسبة قلويد السكوبولامين (15) فيه 25 إلى 40 % ، و نبات البلادونا نسبة القلويدات الكلية في الثمار 0,65 % و في الأوراق 0,5 % و في الجذور0,85 % [17]. أما الداتورة *Datura* نسبة القلويدات الكلية فيه من 0,2 إلى 0,5 % منها ثلث من قلويد السكوبولامين (15) [4].

يعد نبات السكران المصري أهم هذه النباتات انتشار في الأسواق العالمية كمصدر مهم لقلويد الأتروبين (1) المطلوب طبيا حيث تفوق نسبة القلويدات الكلية فيه مثيلاتها في العائلة الباذنجانية المنتجة للقلويدات التروبانية (الأوراق : 1,08%، الساق : 0,05%، الأزهار2 %، الجذور: آثار.) وقد وجد أن زراعته بمعاملات زراعية مناسبة تؤدي إلى نبات أغنى بالقلويدات [12] ، حيث تصل نسبة قلويد الأتروبين (1) في القلويدات الكلية إلى 90 % [10،11]، ولقد تناولته العديد من البحوث والدراسات [18—32]، و لم نجد دراسة

في الجزائر تتناول نبات السكران عموما إلا دراستين للدكتور يحي عبد الوهاب على السكران الأبيض *H.Albus* النامي بالشمال القسنطينـــي [2، 33].

6- الأهمية الطبية لنبات السكران متيكيس

جاء ذكر نبات السكران عموما في العديد من المراجع وذكرته جل دساتير الأدويـــة وصنفت أجودها وأعتبر دستور الأدوية العالمي(الطبعة الثانية،1967) أن أجودها لا تقل نسبة القلويدات الكلية الغير متطايرة فيه عن 0,8 % بالنسبة لنبات السكران متيكيس وأنه ســام جدا [10].

عرف جنس السكران منذ القدم فقد ذكر استخدامه عند الفراعنة واليونانيين كمـــا أستخدمه أطباء العرب في كثير من تركيباتهم الطبية كالسعال والزكام والروماتيزم وأمـــراض المسالك البولية ومسكن في حالة الأمراض العصبية [2، 12].

شاع سكران متيكيس بإسم السكران المصري وعرف بعدة أسماء محلية كسم الفـــاخ و القنطيط (ليبيا)، البتيمة أو التبينة وأفليهليه بالجنوب الجزائري.

جاء ذكر نبات السكران في كتاب كشف الرموز في بيان الأعشاب للشيخ عبـــد الرازق بن أحمدوش الجزائري وسماه بالبنج والسيكران وبورنجوف وصنفه لثلاث أنواع أبيض وأحمر وأسود وذكر أن أكله يخلط العقل وغاية في تسكين الأوجاع ومسمن، نـــافع مـــن احتباس البول [34]. كما يزيل أهالي الجنوب الجزائري فعله المسكر بالدسم على العموم.

غير أن أهميته الطبية تكمن في الأتروبين(1) والهيوســـيامين(المـــاكب اليســـاري للأتروبين) المستخلصان حيث سمية هذا الأخير ضعف سمية الأتروبـــين (1). فالهيوســـيامين يستعمل في الطب بشكله القاعدي أو بشكله الملحي الكبريتاتي (SO_4) ويصنف طبيـــا في (القائمةA) (المقدار العاديmg 0,10 إلى 0,50 mg في اليوم، المقدار الأعظمـــيmg 0,50

إلى 1 mg) والأتروبين القاعدي أو الكبريتاتي يصنف كذلك في (القائمةA) (المقدار العادي 0. 25 mg إلى 1 mg في اليوم، المقدار الأعظمي من 2 mg إلى 4 mg عن طريق الفم) هذه القلويدات تعطى عن طريق الفم أو الحقن كمضادات للتشنج (هضمي، قصبة الرئة، مثانة) وكمضاد للإفراز كما لهذه القلويدات استخدامات خارجية كقطرة للعين (محلول 1%) حيث تعمل كممدة للحدقة، بينما يستخدم قلويد السكوبولامين (15) بدرجة أقل من الأتروبين (1) فهو مضاد للتشنج لكن أقل فاعلية من الاتروبين (1) حيث يستخدم كذلك في علاج مرض باركنسون Parkinson وغثيان السفر Mal des transports وهو ناجع كواق من الأمراضProphylactique ويدخل كلاهما في تركيب بعض الأدوية مثل Buscopan, Diglium و palèrol وImmètropan وCantil [4،10،35،36].

يجب أن نذكر أن قطرة العين المتواجدة في الأسواق التجارية تحت الاسم التجاري ميدريسول Midrisol بحجم 5 ml وبتركيز 1% من كبريتات الأتروبين أي في الحقيقة بتركيز 855, 0% من الأتروبين أي في حدود 42 mg من الأتروبين في القارورة الواحدة بسعر81.15 د.ج.

7- قلويدات نبات السكران متيكيس

دلت الدراسات على وجود القلويدات التالية بالإضافة للقاعدة الأزوتية المتطايرة رباعي مثيل ثنائي أمينوبيوتان (33) المسؤولة عن الرائحة المقززة للنبات:

الهيوسيامين المعزول عام 1881 من بذور نبات السكران الأسود، وهو مركب يساري التدوير، يتماكب بسهولة بالحرارة أثناء استخلاصه معطيا الأتروبين (1) الغير نشط ضوئيا المعزول عام 1833 من جذور وأوراق البلادونا ، من طرف مين Mein، تصل نسبة أتروبين/ هيوسيامين (1) إلى 90% من القلويدات الكلية مرفوقا بقليل من قلويدات

السكوبولامين (هيوسين) (15) اليساري التدوير ونوراتروبين (47) والأبواتروبين (46) والبلادونين (49) [10]. وقد ذكر بالت وزملاؤه .Pelet et all في دراسة للسكران متيكيس النامي بأفغانستان وجود قلويدات الأتروبين(1) والسكوبولامين (15) والأبواتروبين (46) وكذلك وجود قلويدات النوراتروبين (47) والبلادونين (49) والنورسكوبولامين(48) بآثار قليلة وصعوبة استظهارها على رقائق السليكا-جل[26]. ومما يلاحظ أن هذه القلويدات هي قلويدات تروبانية حيث تشترك في نواة التروبان (14) الناتجة من تكاثف بيبريدين(10) وبيروليدين(11) حيث يشتركان في ذرة الأزوت و ذرتي كربون، وهي في الحقيقة أسترات لكحولات تروبانية وأحماض عضوية ذات بنية متغيرة، أليفاتية أو عطرية:

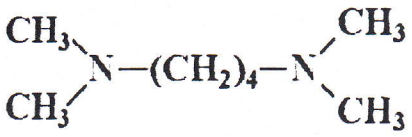
- **الكحولات التروبانية: Alcools tropaniques**

إن معظم القلويدات الباذنجانية مشتقة من الكحول تروبانول-3 أول ، حيث يوجد مماكبان يختلفان في موقع الهيدروكسيل بالنسبة لنواة التروبان (34) [4] :-

تروبانول(أوتروبين) وهو المماكب مفروق (35) وشبه التروبانول وهو المماكب مقرون (36) ، كما يمكن أن تكون هناك وظيفة إيبوكسيد على التروبانول بين ذرة كربون 6 و7 أي إيبوكسيتروبانول époxytropanol أو مايسمى سكوبانول (أوسكوبين) (37).

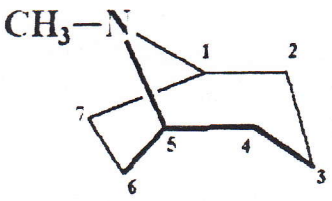
- **الأحماض:**

يمكن أن يكون الشق الحمضي لهذه القلويدات عبارة عن أحماض أليفاتية مثل حمض التجليك (38)، حمض إيزوبيتيريك (39)، حمض إيزوفاليريك (40)، أو حمض α-مثيل-بيتيريك(41) أو أحماض عطرية مثل حمض التروبيك (42) أو حمض الأتروبيك(43).



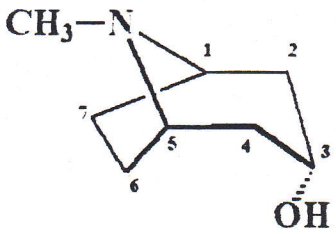
Tetraméthyldiaminobutane

(33)



tropane(صيغة فراغية)

(34)

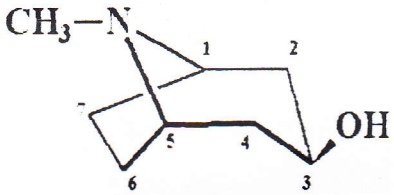


tropanol(tropine)

tropane 3α-ol

isomère trans

(35)

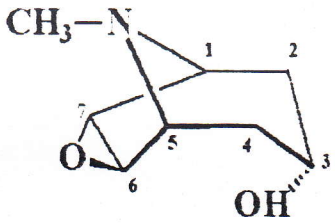


pseudo-tropanol

tropane 3 -ol

isomère cis

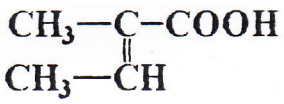
(37)



scopanol (scopine)

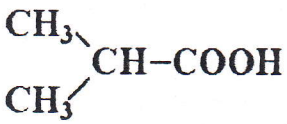
époxy-6,7tropanol

(36)



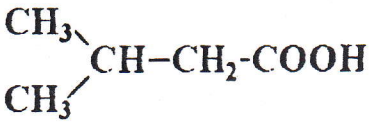
acide tiglique

(38)

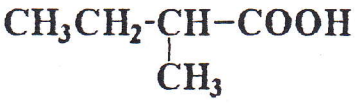


acide isobutyrique

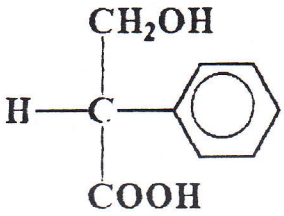
(39)



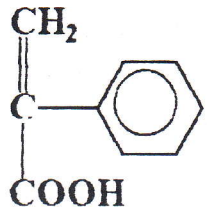
acide isovolèrique
(40)



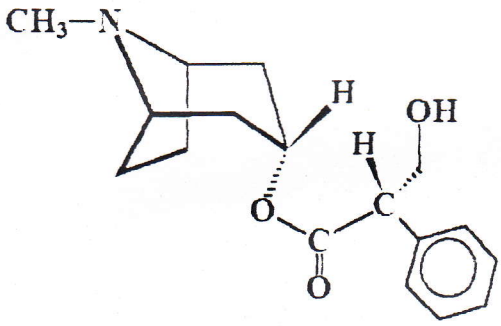
acide α-méthylbutyrique
(41)



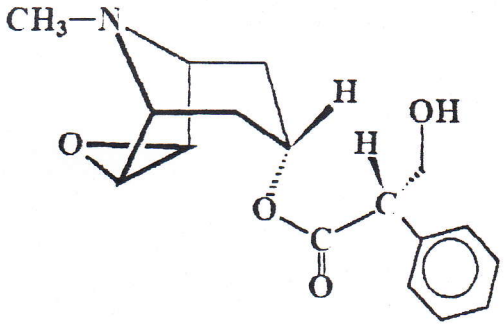
Acide tropique
(42)



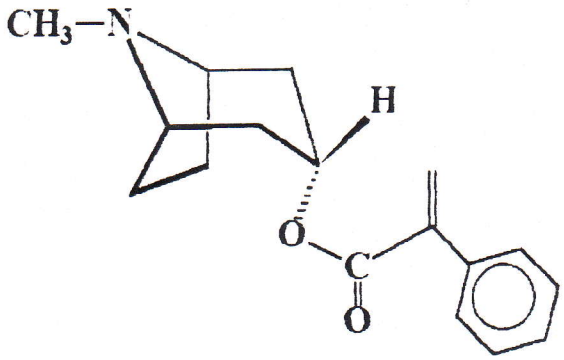
acide atropique
(acide apotropique)
(43)



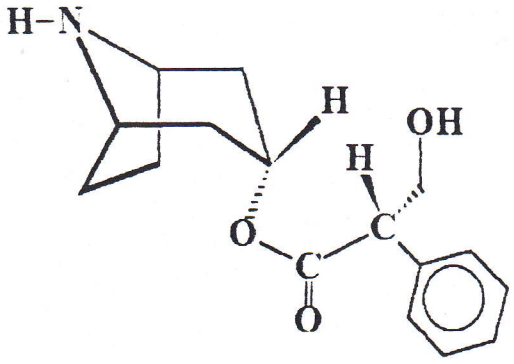
atropine
(44)



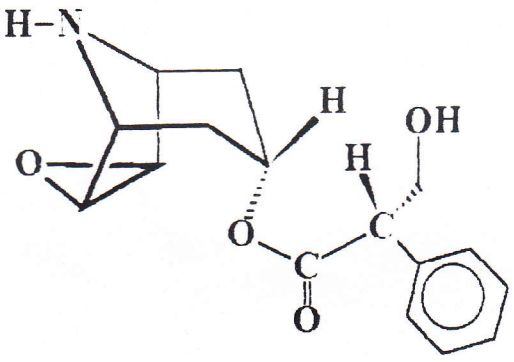
scopolamine
(45)



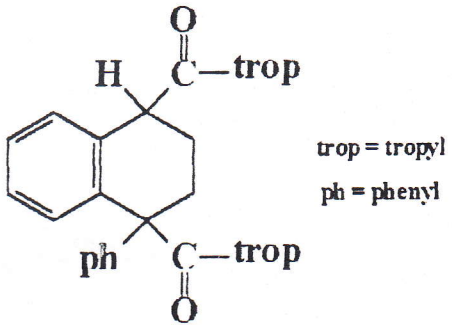
noratropine
(47)



Apoatropine
(46)



belladonine
(49)



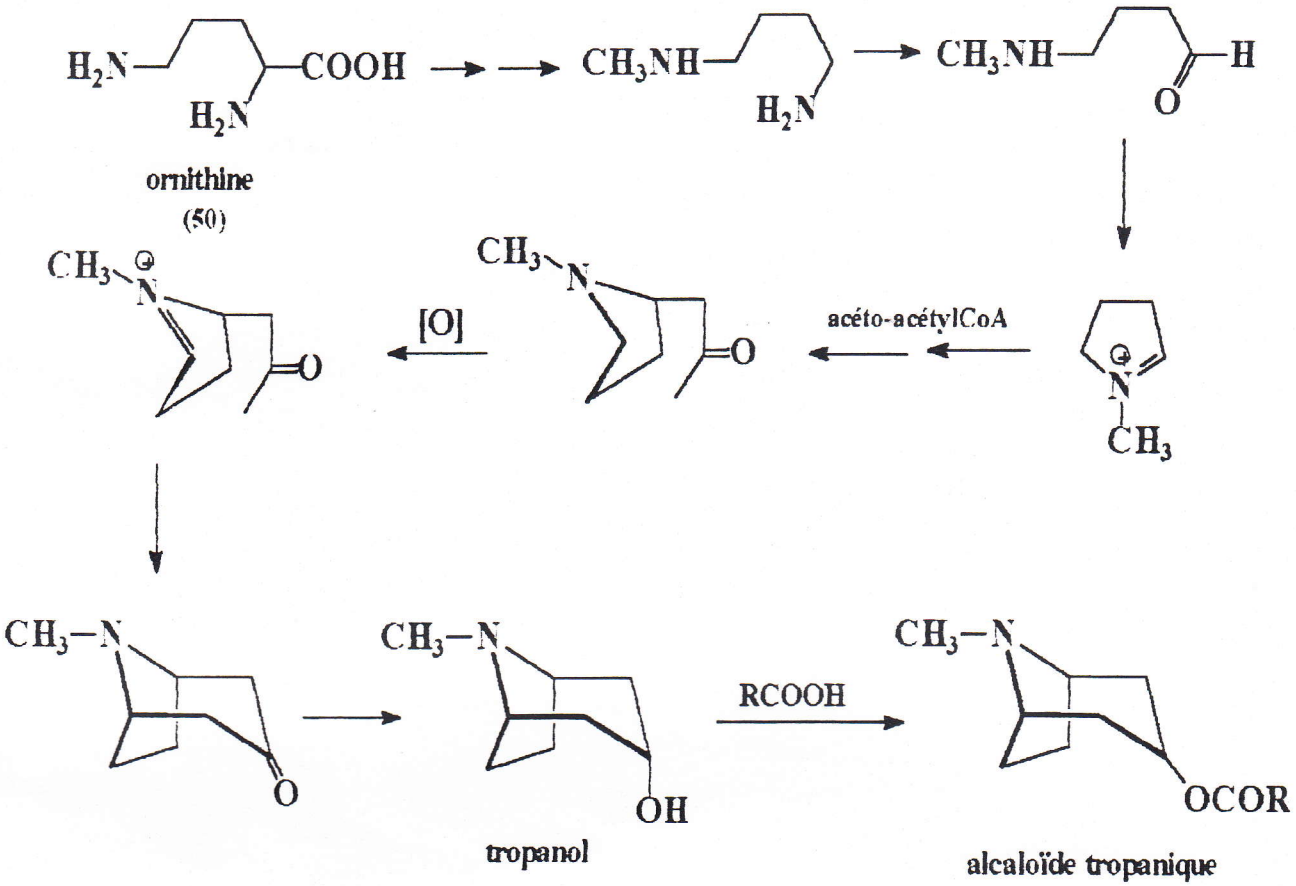
Norscopolamine
(48)

8- الاصطناع الحيوي للقلويدات التروبانية:

إن الاصطناع الحيوي للقلويدات التروبانية يتم بعدة مراحل [4] : ـ من فنيل الألنين(51) بالنسبة للأحماض العطرية في C_6 —— C_1 و C_6 —— C_3 والأحماض الأمينية مثل اللوسين leucine و الإيزولوسين بالنسبة للأحماض الأليفاتية في C_5 .

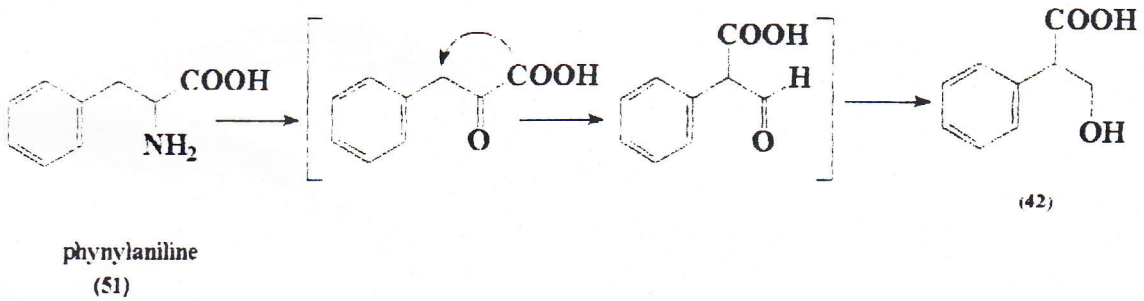
الأورنتين (50) بالنسبة للنواة التروبانية ، و ذرات الكربون الإضافية (C_2 ،C_3 ،C_4) تؤتي بها الخلات (على هيئة أستيل كوانزيم A) و$N\text{-}CH_3$ بواسطة S- أدينوزيل متيونين S- adénosylméthionine .

- أصل نواة التروبان:



- أصل حمض التروبيك (42)

إن مراحل اصطناع هذه الجزيئة هي فنيل آلا لينين (51) ، واستخدام الكربون المشع توضع حقيقة هجرة مجموعة الكربوكسيل من C_2 إلى C_3 . وبآلية غير معروفة [4].



9- تشخيص القلويدات ذات النواة التروبانية

يتم تشخيص القلويدات الأسترية لحمض التروبيك بواسطة تفاعل فيتالي-مورين Vitali-Morin بعد معالجتها بحمض الأزوت المركز ثم معالجة الراسب الناتج بالأسيتون فيظهر لونا بنفسجيا داكنا بوجود البوتاس الكحولي، كما يمكن استخدام كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة (CCM)، والكروماتوغرافيا السائلة (HPLC) تعطي فصلا جيدا [3،4].

الفصل III

الدراسة العملية

1- الحصـــــــــاد

مختلف أعضاء النبات حصدت في المواعيد التالية بضواحي إليزي ،التي تقع في الركـــن الجنوبي للجزائر على ارتفاع m 563 فوق مستوى سطح البحر ويسودها مناخ صحـــراوي جاف [38,37].

الجذور:- ماي 1999.

الأغصان:- ماي 1990.

الأوراق:- ماي 1999.

الأزهار:- ماي 1999.

الثمار:- أوت 1999.

البذور:- أوت 1999.

القمم الزهرية:- جوان 2000.

2- التجفيــــــــف

نظفت مختلف الأجزاء وجففت في الظل مع التقليب من حين لآخر.

3- الحفظ

سحقت مختلف الأجزاء وحفظت في أواني زجاجية محكمة الغلق لحين دراستها.

4- الحصر الكيميائي الأولي لمختلف أعضاء نبات السكران متيكيس

يتم الكشف عن مختلف المركبات الكيميائية في النبات بعد استخلاصها حيث أعتمد استخلاصها على مدى ذو بانيتها في مذيبات الاستخلاص.

4-1- الاستخـــــــــــــلاص

4-1-1- الاستخـــــلاص بالكحول

يؤخذ 20g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ويستخلص على الســـاخن لمدة نصف ساعة بارتداد reflux بواسطة كحول EtOH 70% (ثلاث مرات) و الرشـــاحة ركزت في حدود $50\ cm^3$.

4-1-2- الاستخلاص بالماء

نأخذ 10 g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ويستخلص على الســـاخن لمدة نصـــف ساعـــة بارتداد بواسطة الماء المقطر (ثلاث مرات) و الرشـــاحة ركـــزت في حدود $20\ cm^3$.

4-2- الكشف

4-2-1- الكشف عن القلويدات

حوالي $20\ cm^3$ من الخلاصة الكحولية لمختلف الأعضاء تبخر ويضـــاف لهـــا $5cm^3$ 10 % HCl بعدها يضاف NH_3 10% حتى pH قاعدي (8-9) ثم تنقل إلى قمع فصـــل وتستخلص بـــ $CHCl_3$.

خلاصة $CHCl_3$ تقسم إلى قسمين:

4-2-1-1- الاختبار العام عن القلويدات

القسم الأول: يركز في أنبوبة اختبار لـ cm^3 2 ويضاف لـه cm^3 2 HCl 0,1 mol/l ويبخر بقية $CHCl_3$ ويقسم المحلول الناتج لثلاثة أجزاء:

- **اختبار بوشاردا :**

الجزء الأول: يضاف له قطرات من كاشف بوشاردا، تشكل راسب بني يدل على وجود القلويدات.

- **اختبار ماير:**

الجزء الثاني: يضاف له قطرات من كاشف ماير، تشكل راسب أبيض ضارب للصفرة يدل على وجود القلويدات.

- **اختبار دراجندورف:**

الجزء الثالث : يضاف له قطرات من كاشف دراجندورف، تشكل راسب برتقالي يدل على وجود القلويدات.

4-2-1-2- اختبار فيتالي-مورين

القسم الثاني من خلاصة $CHCl_3$ تعامل بـ Na_2SO_4 اللامائي وتنقل إلى جفنة خزف وتركز للجفاف ثم يضاف لها 10 قطرات من HNO_3 المدخن (استخدمنا HNO_3 65%) ، ثم تركز على لهب للجفاف، بعدما تبرد الجفنة يذاب راسبها في $10\ cm^3$ أسيتون

ويضاف لها KOH كحولي(0,5 N)، ظهور اللون البنفسجي الداكن يدل علـــى وجـــود قلويدات أسترات حمض التروبيك.

4-2-2- كشف العفصيات Tanins

يضاف لـــ $1\ cm^3$ من المستخلص الكحولي $2\ cm^3$ من الماء و3 قطرات من محلـــول $FeCl_3$ 1% ،ظهور اللون الأخضر الداكن أو الأزرق الداكن يدل على وجود العفصيات.

4-2-3- كشف الفلافانويدات

- اختبار $AlCl_3$:

يضاف لـــ $1\ cm^3$ من الخلاصة الكحولية قطرات مـــن محلـــول $AlCl_3$، ظهور اللون الأصفر يدل على وجود الفلافانويدات بصفة عامة.

- اختبار شيباتا Shibata :

يضاف لـــ $1\ cm^3$ من الخلاصة الكحولية قطعة صغيرة من Mg وقطـــرات من HCl المركز، ظهور اللون الأحمر أو البرتقالي يدل على وجود الفلافانويدات.

4-2-4- كشف الكردينوليدات Cardénolides

- اختبار كاربرايس Carr price :

تركز $10\ cm^3$ من الخلاصة الكحولية للجفاف ويضاف للناتج قطرات مـــن $CHCl_3$ مشبع بـــ $SbCl_3$ ، ظهور اللون البنفسجي يدل على وجود الكاردينوليدات.

4-2-5- كشف الستيرولات والتربينات الثلاثية Tritèrpenes, stérols

- اختبار Lieberman-Bucchard :

تركز $10\ cm^3$ من الخلاصة الكحولية للجفاف ثم يذاب المتبقي في $10\ cm^3$ من $CHCl_3$ ويرشح، تركز الرشاحة لـ $1\ cm^3$ ويضاف $1\ cm^3$ من بلاماء حمض الخل ويتبع بإضافة $1\ cm^3$ من H_2SO_4 المركز بلطف على الجدار الداخلي لأنبوبة الاختبار، تشكل حلقة بلون أحمر- بني أو بنفسجي بين السائلين يدل على وجود الستيرولات أو التربينات الثلاثية.

4-2-6- كشف الصابونيات

توضع أنبوبتا اختبار تملأ الأولى بالمستخلص المائي للعينة النباتية، والثانية تملأ بالماء الطبيعي على أن يكون مستوى المحلولين متساويين مع وضع علامة مميزة لكل منها ، ويترك كل منهما جانبا لمدة ساعة كاملة ، فإذا أرتفع مستوى المستخلص المائي للعينة بشرط أن يكون ضعف ارتفاع مستوى الماء الطبيعي دل ذلك على وجود الصابونيات في العينة النباتية.

4-2-7- كشف الجليسيدات Glucides

تركز $2\ cm^3$ من الخلاصة الكحولية للجفاف ، ثم يضاف لها بلطف قطرتين من H_2SO_4 المركز، ينتظر خمس دقائق ثم تضاف ثلاث قطرات محلول كحولي مشبع بالتيمول thymol ظهور اللون الأحمر يدل على وجود الجليسيدات.

- **كشف السكريات المرجعة**

يضاف لـ $2\ cm^3$ من الخلاصة المائية $1\ cm^3$ من محلول فهلنغ ($0.5cm^3$ فهلنغA $+0.5\ cm^3$ فهلنغ B) ويسخن ، ظهور راسب أحمر أجوري يدل على وجود السكريات المرجعة.

نتائج الكشف على المركبات الكيميائية في مختلف أعضاء النبات وضعت في الجدول التالي :

المواد الفعالة		جذور	أغصان	أوراق	أزهار	ثمار	بذور
القلويدات	بوشاردا	+	+	+	+	+	+
	ماير	+	+	+	+	+	+
	دراجندورف	+	+	+	+	+	+
	فيتالي-مورين	+	+	+	+	+	+
العفصيات		−	−	+	+	+	−
فلافانويدات	اختبار $AlCl_3$	+	+	+	+	+	+
	شيباتا	+	−	+	+	+	−
الكردينوليدات		−	−	−	−	−	−
الستيرولات والتربينات الثلاثية		−	−	−	−	−	−
الصابونيات		−	−	−	−	−	−
الجليسيدات		+	+	+	+	+	+
سكريات مرجعة		+	+	+	+	+	+

+ : اختبار إيجابي ؛ − : اختبار سلبي

الجدول رقم 1: الحصر الكيميائي الأولي لمختلف أعضاء نبات السكران متيكيس

تحليل النتائج:

من خلال الجدول يتضح لنا ما يلي:

-إن مختلف الأعضاء تحتوي القلويدات و قلويدات أ سترات حمض التروبيك.

-إن مختلف الأعضاء تحتوي الجليسيدات والسكريات المرجعة .

-يوضع إختبار الكاشف $AlCl_3$ وجود الفلافانويدات في كل أعضاء النبات بينما اختبار شيباتا يدل على وجود الفلافانويدات في كل الأعضاء ما عدا البـــذور و الأغصان.

5- الدراسة الكروماتوغرافية التحليلية لقلويدات مختلف أعضاء النبات

دلت اختباراتنا لمختلف أعضاء السكران المصري على وجود القلويدات.

5-1- تحضير الخلاصات:

تؤخذ g 5 من المسحوق الجاف لكل عضو من أعضاء النبات، الجذور، الســـيقان، الأوراق، الأزهار، الثمار، البذور ويتم استخلاصها بالنقع macération بحـــوالي cm^3 40 أربع مرات MeOH 80% v/v كمذيب حيث يستدل على تمام الاستخلاص باختبـــار دراجندورف أو بوشاردا .

تركز الخلاصة الكحولية تحت ضغط منخفض على حمام مائي باستخدام جـــهاز التبخير الدوراني Rotavapeur إلى حدود cm^3 50 وتعالج ثلاث مرات بواسـطة cm^3 10 H_2SO_4 0, 5 N وفي كل مرة يرشح المحلول الحمضي عبر الصوف الزجاجي أو القطن وفي الأخير يغسل دورق الخلاصة الكحولية 3 مرات بـــ $10\ cm^3$ ماء ويرشح عبر القطـــن أو الصوف الزجاجي السابق الذكر، حيث تجمع الخلاصة الحمضية في قمع فصل وتســـتخلص (تغسل) مرتين بـــ cm^3 50 $CHCl_3$. الطور المائي يضاف له NH_3 25% حتى الوصول الى

PH = (8 — 9) ثم يستخلص بـ $25\ cm^3$ $CHCl_3$ أربع مرات بحيث نحذر الرج الشديد الذي يشكل مستحلب، فيكفي تدوير محتوى قمع الفصل بشكل دائري سريع ،الخلاصة العضوية جففت بإضافة 4 غرام من Na_2SO_4 اللامائية لمدة نصف ساعة مع الخلط من حين لآخر، ثم رشحت الخلاصة عبر ورقة ترشيح جافة في دورق كروي جاف ثم غسل في الأخير دورق الخلاصة العضوية مرتين بـ $10cm^3$ $CHCl_3$ الجاف ورشح هذا الأخير عبر ورقة ترشيح جاف في الدورق الكروي، الخلاصة العضوية الأخيرة ركزت جيدا تحت ضغط منخفض ثم أذيب الراسب الناتج في $8\ cm^3$ MeOH وحفظت لحين دراستها كروماتوغرافيا.

5-2- الدراسة الكروماتوغرافية التحليلية

5-2-1- المادة المدمصة المستعملة

صفائح من الألمنيوم سليكا-جل silica-gel G (20cm X 20 cm) ذات سمك 0,2 mm (صناعة Fluka) حيث نشطت في فرن حراري °105 c-°110c لمدة 15 دقيقة حيث ساعدنا التنشيط في ظهور البقع بحالة جيدة.

5-2-2- أنظمة المذيبات المستعملة

يجرى الفصل بطريقة المذيب الصاعد أما خلائط المذيب على العموم اقتصرنا على ما هو شائع وأحسن ما تعطيه المراجع في فصل القلويدات التروبانية حيث الوسط غالبا قاعديا، NH_3 أو DEA (ثنائي اثيل أمين) [39 — 43].

1) CH_3COOEt / $n\text{-}C_6H_{12}$ (25 : 75)

2) $CHCl_3$ / MeOH (20 : 80)

3) $CHCl_3$ / Me_2CO / DEA (10: 50 : 40)

4) $CHCl_3$ / Me_2CO / NH_3 25% (1 : 50 : 50)

5) Me_2CO / H_2O / NH_3 25% (3 : 7: 90)

6) EtMeCO / MeOH 7,5 % / NH_3 25% (10 : 30 : 60)

7) Toluène / Me_2CO / MeOH / NH_3 25% (5 : 10: 45 : 40)

طول الجبهة يتراوح بين12 cm و14cm .

5-2-3- القلويد المرجعي

تم تحضيره بإذابة 50 mg من كبريتات الأتروبين في cm^3 8 من MeOH

5-2-4- كاشف الرش

استعملنا لإظهار البقع بعد التجفيف كاشف دراجندورف المعدل (..unier

نتائج الاختبارات سجلت في الجدول التالي:

المذيب	Atropine	جذور		أغصان		أوراق		أزهار		ثمار		بذور	
	R_f	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f
1	0,0	1	0,0	1	0,0	1	0,0	1	0,0	1	0,0	1	0,0
2	0,06	2	0,06 0,00	1	0,06	2	0,06 0,00	3	0,06 0,00 0,45	5	0,06 0,00 0,45 0,02 0,23	5	0,06 0,00 0,45 0,02 0,23
3	0,65	1	0,65	3	0,65 0,01 0,84	3	0,65 0,01 0,84	3	0,65 0,02 0,84	3	0,65 0,02 0,84	3	0,65 0,01 0,84
4	0,17	1	0,17		0,17	2	0,17 0,01	3	0,17 0,01 0,61	4	0,17 0,01 0,61 0,72	4	0,17 0,01 0,61 0,72
5	0,74	2	0,74 0,03	1	0,74	4	0,74 0,03 0,19 0,97	4	0,74 0,03 0,18 0,97	4	0,74 0,03 0,19 0,97	3	0,74 0,03 0,97
6	0,30	2	0,30 0,01	2	0,30 0,01	3	0,30 0,77 0,01	3	0,30 0,77 0,01	4	0,30 0,77 0,01 0,16	4	0,30 0,77 0,01 0,16
7	0,35	4	0,35 0,52 0,02 0,16	3	0,35 0,52 0,02	3	0,35 0,52 0,02	4	0,35 0,52 0,02 0,26	5	0,35 0,52 0,02 0,07 0,26	6	0,35 0,52 0,02 0,07 0,26 0,46

ب: عدد البقع ; R_f : معامل الانسياب

الجدول رقم 2: كروماتوغرافية تحليلية لقلويدات مختلف الأعضاء

تحليل النتائج :

من خلال الدراسة الكروماتوغرافية يتضح لنا ما يلي :

- مختلف الأعضاء تحتوي على قلويد الأتروبين (1) وهذا ما تظهره الأنظمة المذيبة 2، 3، 4، 5، 6، 7.

-أحسن نظام مذيب للفصل كان النظام المذيب 7 الذي أعطى فصلا جيدا.

- تظهر مختلف الأنظمة المذيبة أن الأغصان والأوراق تحتوي ثلاث قلويدات وأن الجذور والأزهار تحتوي أربع قلويدات وأن الثمار تحتوي 5 قلويدات والبذور تحتوي 6 قلويدات.

- يظهر نظام المذيب 7 أن القلويد(R_f = 0,16) يظهر فقط في الجذور وأن القلويد (R_f = 0,26) يظهر فقط في الثمار والبذور وأن القلويد (R_f = 0,46) يظهر فقط في البذور.

- يظهر نظام المذيب 3 بالنسبة للجذور قلويد واحد (R_f = 0,65، الأتروبين) وبالنسبة للأغصان 2 قلويد (R_f = 0,65، 0,01) أما بقية الأعضاء احتوت 3 قلويدات حيث تشترك في قلويد واحد (R_f = 0,65، الأتروبين) وتختلف في القلويد (R_f = 0,01) الذي يظهر فقط في الأوراق والبذور بالإضافة للأغصان بينما لا يظهر في الأزهار والثمار وتختلف كذلك في القلويد (R_f = 0,02) الذي يظهر في الأزهار والثمار فقط.

- نسجل هنا أن بعض البقع لا تظهر بعد التجفيف والرش مباشرة بل بعد ليلة من ذلك.

6- تقدير نسبة القلويدات الكلية غير المتطايرة في مختلف أعضاء النبات

لقد عرفت العديد من الطرق لتقدير القلويدات الكلية أو المفردة لقلويدات العائلة الباذنجانية على العموم والقلويدات التروبانية على الخصوص مثل المعايرة الحجمية في وسط لا مائي

باستعمال حمض $HClO_4$ 0,05 N وفي وجود كاشف المثيل البنفسجي التي اعتمدها Desgobert والآنسة Clair عام 1968 أو على تصبين الاسترات القلويدية والمعايرة الحجمية للأحماض المتحررة (الأحماض التروبانية) المستخلصة بمزيج من الكلوروفورم وبروبانول-2 (دستور الأدوية العالمي 1951، الطبعة الأولى) أو المعايرة اللونية باستخدام التفاعل الملون لـ فيتالي-مورين (Delga et coll., 1959)، أو حساب مساحة البقع القلويدية على ورق الكروماتوغرافيا أو رقائق الكروماتوغرافيا (Wu chu et coll., 1969 solomon,)، كما أستخدم الفصل الكهربائي (paris et faugeras, 1958)، أو المعايرة اللونية بعد التلوين بأخضر البروموكريزول في وسط منظم (Zarnack et pfeiffer, 1964) [9].

إن معظم دساتير الأدوية لا تختلف كثيرا في تقدير القلويدات الكلية:- استخلاص بمذيب، تحويل القلويدات إلى طبيعتها الملحية بإضافة حمض ممدد ثم الرجوع بالقلويدات لحالتها القاعدية بإضافة قاعدة ضعيفة (NH_3) ، ثم المعايرة غير المباشرة لراسب القلويدات القاعدية، فالاختلاف يكمن في طريقة الاستخلاص (على البارد أو على الساخن) ، أوفي اختلاف مذيب الاستخلاص أو طريقة طرد القواعد الطيارة (حمام مائي أو فرن) أو استخدام الكواشف الملونة مثل استخدام أحمر المثيل أو أخضر البروموكريوزول، [10، 42، 44].

6-1- تقدير نسبة القلويدات الكليةغيرالمتطايرة بطريقة B.P.93 (BelladonnaHerb) [42] .

نزن 10 g من مسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ثم تخلط كل منها بمزيج يتشكل من $5\ cm^3$ NH_3 10mol/l و $10\ cm^3$ EtOH (96%) و $30\ cm^3$ EtOEt ، وبعد الخلط تنقل إلى جهاز التنقيط (قمع فصل أسفله صوف زجاجي مغطى بمذيب الاستخلاص) مستعينين بمذيب الاستخلاص، تترك عملية النقع أربع ساعات بعدها ننقط (percolation) بخليط EtOEt / $CHCl_3$ (3V: 1V) تكرر عملية التنقيط كل 24 ساعة حتى تمام استخلاص القلويدات. نركز الخلاصة إلى حدود $50\ cm^3$ و تنقل إلى قمع فصل باستخدام EtOEt (حوالي $120\ cm^3$) ثم نستخلص بـ $25\ cm^3$ H_2SO_4 0,25 mol/l أربع مرات حيث في كل مرة ننقل الطور المائي (الطبقة السفلية) في قمع فصل آخر. الطور المائي الحمضي المجمع يحول إلى قاعدي بإضافة NH_3 10mol/l ثم نستخلص أربع مرات بـ $CHCl_3$ ($25\ cm^3$). المستخلص الكلوروفورمي جفف بـ 4 g Na_2SO_4 اللامائية لمدة نصف ساعة مع الخلط من حين لأخر ورشح على ورق ترشيح جاف وغسل الملح بـ $CHCl_3$ الجاف ($10\ cm^3$) ثلاث مرات و الرشاحة ركزت للجفاف على حمام مائي مستخدمين جهاز التبخير الدوراني، الراسب وضع لمدة 15 دقيقة في فرن كهربائي (105c° — 110c°).

بعدما يبرد الراسب يذاب في بضع مليمترات من $CHCl_3$ ثم يضاف لـه $25\ cm^3$ H_2SO_4 (0,02N)، يبخر الـ $CHCl_3$ في حمام مائي ثم يعاير فائض الحمض بـ NaOH (0,02N) وباستخدام أحمر المثيل ككاشف ، ثم تحسب النسبة المئوية للقلويدات غير المتطايرة على أساس أنها الهيوسيامين من خلال العلاقة :

$$\text{القلويدات الكلية \%} = \frac{0,005788.[\text{حجم } H_2SO_4 (\text{ع}/50) - \text{حجم القاعدة (ع}/50)]}{\text{وزن عضو النبات المستخدم}} \times 100$$

حيث $1cm^3$ من $0,02N\ H_2SO_4$ توافق 0,005788 ، و النتائج المتحصل عليها دونت في الجدول (3).

العضو	جذور	سيقان	أوراق	أزهار	ثمار	بذور
%	0,09	0,36	1,14	0,64	0,70	0,41

الجدول (3): النسبة المئوية للقلويدات الكلية غير المتطايرة في مختلف أعضاء نبات السكران متيكيس.

6-2- تقدير نسبة القلويدات الكلية غير المتطايرة (دستور الأدوية المصري 1972)[2].

تـوزن 10 g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ويضاف لكل منها $10\ cm^3$ EtOH و$40\ cm^3$ EtOEt ، وتخلط جيدا ، ثم يضاف لكل منها $5\ cm^3$ $10mol/l\ NH_3$ و تخلط لمدة ساعة بعدها تنقل إلى جهاز صوكسلي Soxhlet في خرطوشة وبمساعدة مزيج الاستخلاص (EtOH / EtOEt) ثم يضاف مزيج الاستخلاص من أعلى المكثفة حتى يبلع (siphonner) ثم يزاد على ذلك بـ cm^3 50 ويسخن على حمام مائي، حيث يتواصل الاستخلاص حتى النفاد ويعرف ذلك باختبار القطرات الأخيرة من المستخلص بكاشف دراجندورف. المستخلص ركز على حمام مائي مساعدة جهاز التبخير الدوراني، الخلاصة تنقل ا إلى قمع فصل حيث يستخدم الـEtOEt (حوالي $120\ cm^3$) ، ثم يستخلص في المرة الأولى بـ $20\ cm^3$ من H_2SO_4

1N وبعدها يتكرر الاستخلاص بـ $10\ cm^3$ من $0,1\ N\ H_2SO_4$ حتى النفاد ثم يضاف للخلاصة الحمضية حوالي $10\ cm^3$ $CHCl_3$ وتغسل الطبقة الحمضية بعدها تنقل طبقة الـ $CHCl_3$ إلى قمع فصل آخر وتغسل مرتين بـ $0,1\ N\ H_2SO_4$ ، بعدها تجمع الطبقات الحمضية لبعضها البعض ويضاف لها $20cm^3$ $CHCl_3$ ويتبع مباشرة بإضافة NaOH ممدة حتى يصبح الوسط قلويا، ثم يستخلص بـ $CHCl_3$ ، يتابع الاستخلاص في كل مرة بـ $20\ cm^3$ من $CHCl_3$ حتى النفاد، الطبقة العضوية تغسل بـ $10\ cm^3$ ماء ثم تجفف على Na_2SO_4 اللامائية وترشح على ورق ترشيح جاف مع الغسل بـ $CHCl_3$ جاف ، ويضاف بعدها $2cm^3$ من EtOH المطلق ثم تبخر الطبقة العضوية حتى الجفاف ثم يذاب الراسب في حوالي $1\ cm^3$ $CHCl_3$ ويضاف إليه $20cm^3$ من H2SO4 50g ثم يبخر الـ $CHCl_3$ ، وبعدما يبرد المحلول يعاير فائض الحمض بـ 50g NaOH في وجود أحمر المثيل ككاشف والنتائج المحصل عليها جدولت في الجدول (**2**).
حيث $1\ cm^3$ من 0,02N H2SO4 توافق 0,005788 g ، والنتائج المتحصل عليها دونت في الجدول (**4**).

العضو	جذور	سيقان	أوراق	أزهار	ثمار	بذور
%	0,1	0,41	0,62	0,95	1,09	0,97

الجدول (4): النسبة المئوية للقلويدات الكلية غيرا للمتطايرة في مختلف أعضاء النبات .

تحليل النتائج :تظهر النتائج أن الطريقة المصرية في تقدير نسبة القلويدات الكلية غير المتطايرة تعطي نسبا أعلى على العموم(ما عدا الأوراق) ، كما تظهر الطريقتين أن النسب تكون عالية في الأعضاء الخضرية ، كما يمكن الاستنتاج أن النسب الوفيرة تكون في القمم الزهرية

7- استخلاص القلويدات بدلالة الـ pH

اعتمدنا في عملية الاستخلاص على عدة عوامل رئيسية:-

-أن نسبة قلويد الأتروبين (1) تصل إلى 90% من القلويدات الكلية ويليه السكوبولامين (15) والأبوأتروبين (46) بكميات قليلة وبقية القلويدات بآثار [2،26].

-القلويدات التروبانية عبارة عن أسترات وبهذا يجب معاملتها بمذيبات ذات درجة غليان منخفضة حيث سجلنا من المراجع أن استخلاص القلويدات التروبانية أو القلويدات سهلة التحطم على العموم يكون على البارد مثلا بـ MeOH [41، 45-48] أو بالاثيرالايثيلي في وسط ضعيف القاعدية [49-51].

7-1- استخلاص القلويدات

مسحوق القمم الزهرية لنبات السكران متيكس (1Kg) ثم نقعها في MeOH واستخلصت (5 x 2,5 l) في مدة أسبوع، ركز المستخلص للجفاف تحت ضغط منخفض (درجة الحرارة لا تتجاوز في كل الحالات°c 42). الراسب النهائي تمت معالجته بـ H_2SO_4 0,5N (6 l x 0,2 l) حيث ترشح الخلاصة في كل مرة عبر صوف زجاجي. عوملت الرشاحة بالزنك (12،20 g ساعة) ثم رشحت واستخلصت (غسلت) بـ n-Hexane (3 x 0,33 l) والطور المائي حول إلى قاعدي بإضافة NH_3 25% واستخلص بلطف بـ $CHCl_3$ (4 x 0,25 l)، الطور العضوي ($CHCl_3$) جفف من الماء بـ Na_2SO_4 لامائية ثم ركز للجفاف تحت ضغط منخفض، راسب القلويدات الكلية الخام 20,1 g أي بنسبة 2,01% في النبات الجاف.

7-2- استخلاص القلويدات بدلالة الـــ pH

-راسب القلويدات الكلية الخام 20,1g أذيب في 0,225 l HCl 0,5 N ثم عدل المحلول بمحلول $NaHCO_3$ مشبع أولا ثم بمحلـــول Na_2CO_3 مشـــبع حيـــث اســـتخلصت القلويدات بـــ $CHCl_3$ بدلالة الـــ pH :

-pH = 6,0 تم الاستخلاص بـــــ $CHCl_3$ (100 cm^3 x 5)، الخلاصـــة العضويـــة غسلت بالماء وعوملت بـــ Na_2SO_4 لا مائي ثم ركزت للجفاف تحت ضغط منخفض، فكان راسب القلويدات المتحصل عليه 4,7 g، أي بنسبة 23,4% من خام القلويـــدات الكلية وبنسبة 0,47% من النبات الجاف.

-عند pH = 6,5 تم الاستخلاص بالطريقة السابقة فكان راسب القبويدات المتحصـــــل عليهg 0,9 ، أي بنسبة 4,5% من خام القلويدات الكلية وبنسبة 0,09% من النبـــات الجاف .

- عند pH = 8,0 تم الاستخلاص بالطريقة السابقة فكان راسب القلويدات المتحصـــــل عليهg 9,8 أي بنسبة 48,7% من خام القلويدات الكلية وبنسبة 0,98% من النبـــات الجاف.

-عند pH = 8,3 والذي تم الوصول إليه بإضافة $NaHCO_3$ الصلبة ، تم الاســـــتخلاص بالطرق السابقة فكان راسب القلويدات المتحصل عليه 2 g أي بنسبة 9,95% مـــــن خام القلويدات الكلية وبنسبة 0,2 % من النبات الجاف.

-عند pH = 9,5 والذي تم الوصول إليـــه بإضافـــة محلـــول Na_2CO_3 مشـــبع ، تم الاستخلاص بالطرق السابقة فكان راسب القلويدات(لدن) المتحصل عليـــهg 1,1 أي بنسبة 0,11% من النبات الجاف.

الدراسة الكروماتوغرافية على رقائق سليكا-جلG (20× 20) سمك0.25 mm

بنظام المذيب 3 أعطت النتائج التالية :

النظام المذيب	Atropine		pH =6		pH= 6,5		pH= 8,0		pH=8,3		pH=9,5	
	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f	ب	R_f
3	1	0,52	2	0,52 0,76	2	0,52 0,69	2	0.52 0.60	4	0,00 0,18 0,32 0,52	3	0,00 0,32 0,52

جدول رقم (5) : الدراسة الكروماتوغرافية على رقائق سليكا-جلG.

الراسب عند pH = 6,5 (0,9g)، أذيب في قليل من $CHCl_3$ ومزج مع سليكا-جل، العجينة المتحصل عليها وضعت بلطف على سطح عمود سليكا-جل(1cm x 20cm) بعدما غسل العمود عدة مرات بـ $CHCl_3$ حتى ثبات طبقة السليكا-جل وقطر مزيج (MeOH/CHCl3) قطرة قطرة حتى النفاد و الخلاصة ركزت للجفاف، الراسب القلويدي المنقى والجاف أذيب في حواليcm^3 3 $CHCl_3$ ووضعت بشكل شريط على4 صفائح زجاجية سليكا-جل G (20cm x 20cm) سمكها 1mm حضرت مخبريا وتم التفريد بنظام المذيب 6 مرتين، الرش الجانبي للصفائح بكاشف دراجندورف المعدل (Munier) أعطى عصابتين، جرفت العصابتين وعوملت كل منها بـ MeOH و الخلاصتان تم تركيزهما للجفاف، فراسب العصابة السفلية دلت دراسته الكروماتوغرافية بنظام المذيب 3 و 6 بأن له نفس معادل انسياب R_f الأتروبين ، أما راسب العصابة العلوية بعدما دل اختبار فيتالي-مورين على إيجابيته، عومل بمحلول حمض البكريك الساخن ورشح مباشرة عبر ورق الترشيح لنحصل على راسب أصفر بلوري، رشح تحت الفراغ مع الغسل بالماء البارد، ثم جفف عند °105cم لمدة ساعتين (الكتلة 0,350 g ودرجة الانصهار°192 c) مما يدل على أن الراسب الأصفر البلوري هو بيكرات السكوبولامين وبالتالي القلويد المستخلص هو

السكوبولامين (0.2g) حيث حسب دستور الأدوية B.P.93 [42] فإن هذه الاختبارات كافية للدلالة عليه (اختبار العام القلويدات ، اختبار فيتالي- مورين، اختبار درجة انصهار الملح البيكراتي °c 188—°193c).

المستخلص القلويدي عند pH = 8 ، (9,8g)، أذيب في قليل من $CHCl_3$ ومزيج مع سليكا-جل و العجينة المتحصل عليها وضعت بلطف على سطح عمود سليكا-جل : (2 cm x 40cm)، بعدما غسل العمود عدة مرات بـ $CHCl_3$ تم التفريد (élution) بمزيج من $MeOH/CHCl_3$ حيث كانت بداية التفريد بـ $CHCl_3$ 100 % على أن يغنى بكميات متزايدة من MeOH مع المتابعة للأجزاء المفردة بفحوصات كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة .

إن التفريد بـ ($CHCl_3$ 100 %) والكسور الأولى من (98 % $CHCl_3$) أعطت آثارا لقلويدين (A ، B) لم نتمكن من فصلهما، بعدها توالى خروج القلويد B (98 % $CHCl_3$) حيث لـ B نفس معامل انسياب الأتروبين بنظام المذيب 3 وكذلك 6، فكانت كتلة B المتحصل عليها 9,5g ، أذيبت في EtOEt وأضيف قليلا من الفحم الفعال وسخن للغليان لمدة دقيقة ثم رشح فوريا، خلاصة EtOEt ركزت للجفاف والراسب تمت بلورته بمزيج (EtOEt و .EtOH abs) فأعطى بلورات ابرية بيضاء 1,7g (B) اختبار القلويدات وفيتالي- مورين على إيجابيتهما. رشاحة المركب B ركزت وعوملت كما عومل بالسكوبولامين ثم أعيد بلورته بمزيج من الإيثانول و الماء وجفف لمدة ساعتين عند°c 105 فحصلنا على 3.53 g من جسم بلورى أصفر درجة انصهاره °172c (المراجع [52،42] : بيكرات الأتروبين 6-175°م، بيكرات الهيوسيامين °8c-°164 c)، والدراسة الطيفية للجسم B قد اقتصرت على الرنين النووي المغناطيسي لكل من البروتون و الكربون 13 وأعطت النتائج التالية حيث قورنت بالمراجع والتي تذكر بصعوبة تفسير

طيف^1H RMN لبروتونات الحلقة التروبانية (2 — H_2، 4 — H_2، 6— H_2، 7 — H_2)

: [41،7]

RMN ^{13}C : δ(ppm) = 77 ($CDCl_3$) ; 172(C = O) , 135-127(C_6H_5) , 68(C-3), 64(C-α) , 60(C-1/C-5) , 41(N-CH_3) , 36(C-2/C-4) , 25(C-6/C-7)

RMN ^1H : $CDCl_3$; δ(ppm) = 7,3(5H, m, C_6H_5), 4,9(H, t, J=5Hz, H-3), 4,2(H, m, H-α), 3,8 (2H, m, H-1, H-5), 3,4(H, $S_{larg.}$, OH), 2,9(2H, d, H_2-β), 2,2(3H, S, N-CH_3), 2 ,0 — 1,3(8H, m, H_2-2, H_2-4, H_2-6, H_2-7)

بهذه الإختبارات والدراسة الطيفية نجزم بأن المركب B عبارة عن الأتروبين.

نتيجـــــة عامـة

من خلال هذه الدراسة :

◄ نجد أن نسبة القلويدات الكلية غير المتطايرة المحسوبة على أساس الهيوســـيامين (بطريقـــة دستور الأدوية المصري 72 [2]) في الجزء الخضري تمثل نسبا معتبرة حيث يعتـــبر دســـتور الأدوية العالمي أن أجودها تفوق النسبة فيه 0,5 % [26].

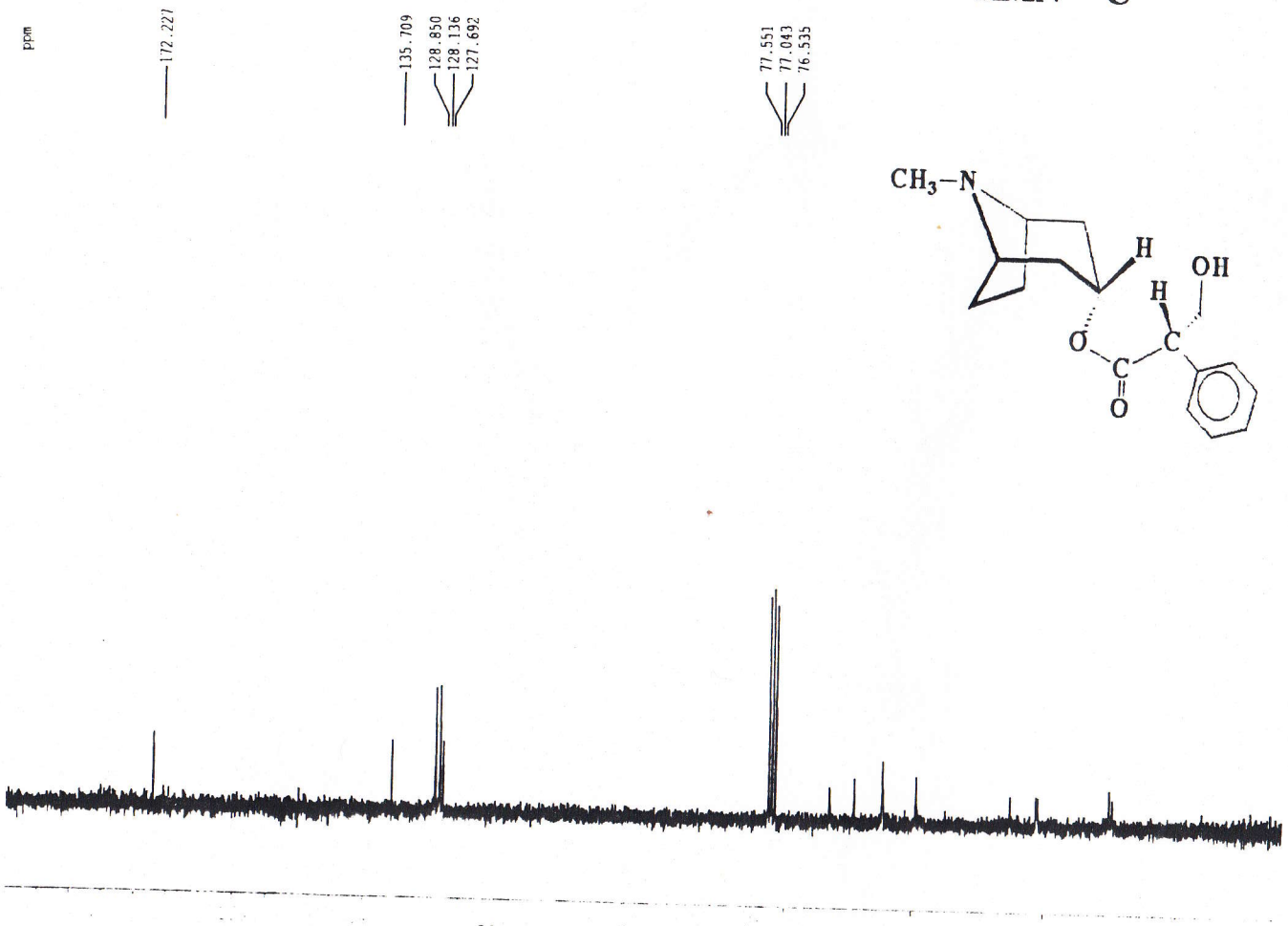
◄ إن نسبة القلويدات الكلية الخام المتحصل عليها قدرت ب 2,01 % و لم نسجل في المراجـــع التي توفرت لنا نسبا أعلى منها(1,34 % للسكران متيكيس النامي بمصر [26]).

◄ إن نسبة القلويدات المستخلصة من النبات الجاف عند pH = 8 والتي تتشكل من الأتروبين أساســـا وآثارا من قلويدا آخر (A) تعتبر كمية معتبرة (0.98 %)، حيث تمثل حوالي 49 % من خام القلويدات الكلية.

يتبين لنا أن السكران متيكيس النامي بإليزي يتطلب المزيد من الدراسات المعمقـــة لأهميتـــه الاقتصادية والطبية.

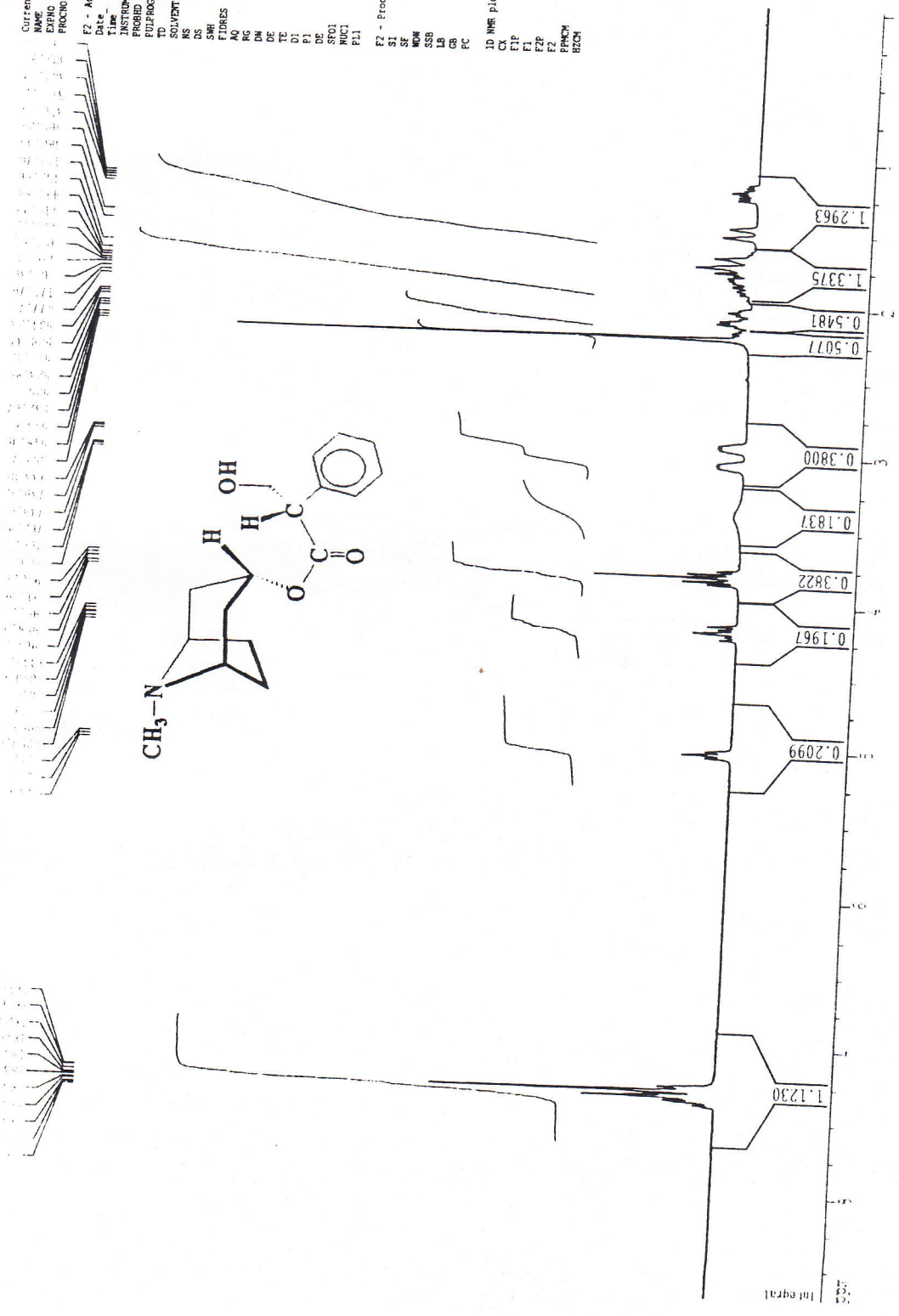
الملـــحق

RMN ^{13}C



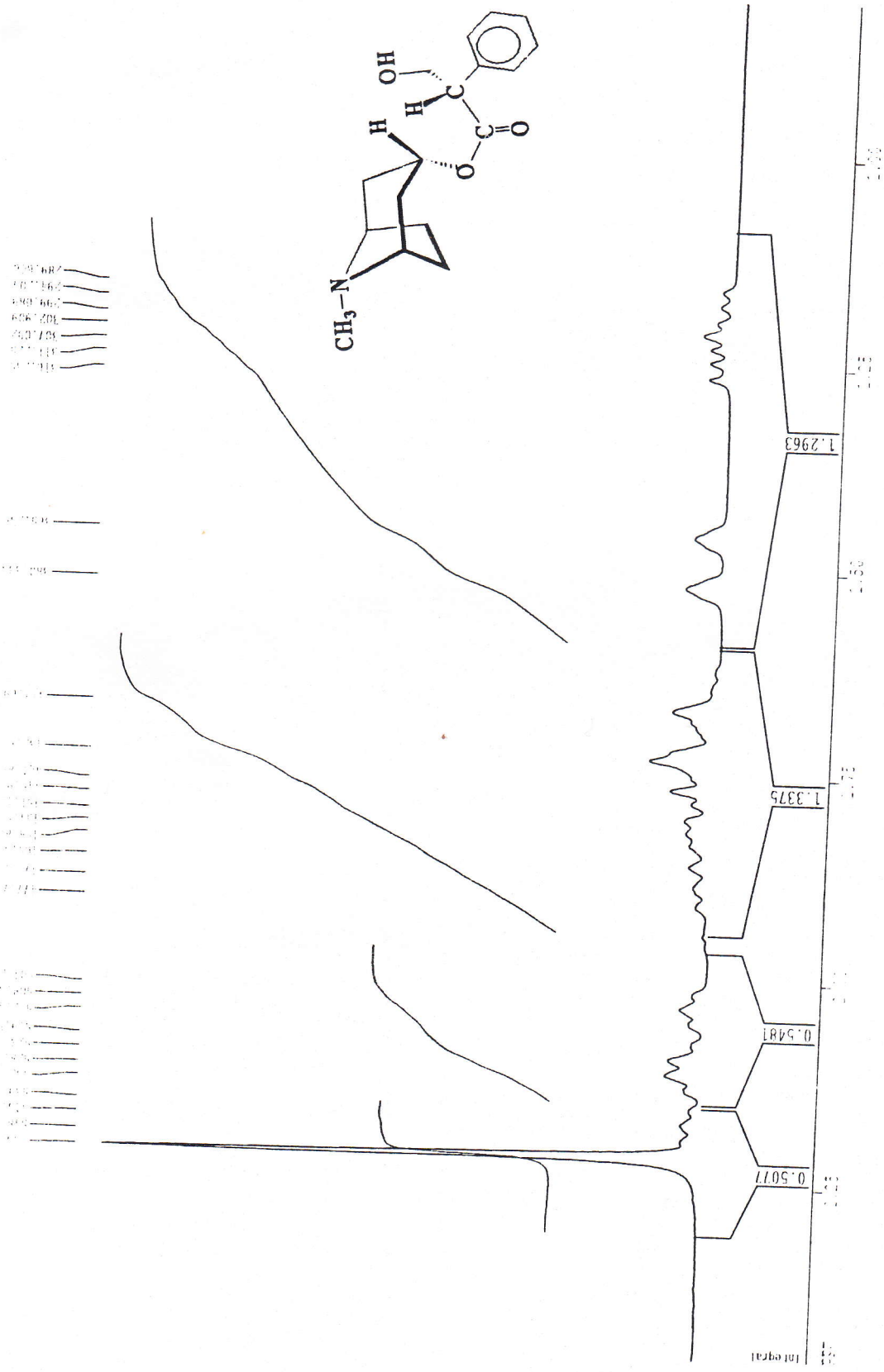

```
Current Data Parameters
NAME            extoat
EXPNO                2
PROCNO               1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           500000
Time             14.30
INSTRUM          spect
PROBHD     5 mm QNP 1H
PULPROG        zgdc30
TD               65536
SOLVENT          CDCl3
NS                 644
DS                   2
SWH          16339.869 Hz
FIDRES        0.249327 Hz
AQ           2.0054517 sec
RG              7298.2
DW              30.600 usec
DE               43.71 usec
TE               300.0 K
D11         0.03000000 sec
PL12             17.00 dB
CPDPRG2        waltz16
PCPD2           100.00 usec
SFO2       250.1315008 MHz
NUC2                1H
PL2             120.00 dB
D1          1.00000000 sec
P1                6.25 usec
DE               43.71 usec
SFO1        62.9027614 MHz
NUC1               13C
PL1              -6.00 dB

F2 - Processing parameters
SI               65536
SF          62.8952412 MHz
WDW                 EM
SSB                  0
LB                1.00 Hz
GB                   0
PC                1.00

1D NMR plot parameters
CX               22.00 cm
F1P            195.341 ppm
F1            12285.99 Hz
F2P             -1.439 ppm
F2              -90.49 Hz
PPMCM          8.94451 ppm/cm
HZCM         562.56726 Hz/cm
```

شكل: (1) طيف RMN ^{13}C للأتروبين



شكل: (2) طيف ^{1}H RMN للأتروبين

شكل: (3) طيف RMN ^{1}H للأتروبين (إطالة)



شكل: (4) طيف RMN ^1H للأتروبين (إطالة)

المراجع

3. M. Paris , M. Hurabielle , "*Abrégé de matière médicale.* " , T.2 , Masson , (1986) , 256-266.

4. J. Bruneton , "*Pharmacognosie* ", 3eme éd., éd.Tec &Doc. (1999) .783-825.

5 .M. Javillier et all. . " *Traité de Biochimie générale* " . T.1. (1956). 1309-1359.

6. C. Cassels Steele , "*An Introduction to Plant biochemistry* " ,Second éd., (1949).218.

7. Geoffrey A. Cordell ," *Introduction to Alkaloïds a Biogenitic Approach*", (1981) . 1 -120 .

9. A.Brunen, "*Traité Pratique de Chimie végétale*" , éd. Georges frère Tourcoine, 1948. 114-116.

10. R.R. Paris, H. Moyse . " *Précis de matière médicale* ", T. III , éd. Masson & Cie , (1971) . 166 -172 .

11. UNISCO, "*Les Plantes médicinales des régions arides* ", Imprimeries oberthur. Rennes, (1960) , 43 .

13. P. Quezel , S. Santa , " *Nouvelle flore de l'Algérie* " ,T. II , CNRS Paris , (1963) , 824.

14. P. Ozenda , " *Flore du sahara* " . 2eme éd.,CNRS Paris.(1977). 30.

17. J. Bruneton , " *Plantes toxiques* ", 3eme tirage, éd.Tec & Doc, (1999). 461- 459.

18. I.R. Fahmy, , *Rep.Pharm. Soc.Egypt.* (1931), III ,1.

19. Z.F. Ahmed .I.R. Fahmy , "Egyptian henbane ", *Magazine of Egypt. Acad. Of science* , May, (1945) . I .

20. Sh..I. Balbaa . Master thése . Fouad Ins.. Cairo Univer..(1950).

21. A.H.Saber. Sh..I. Balbaa . " The fruit of Hyoscyamus muticus L. ... ". *J.amer.Pharm.ass.*,August, (1952) , XIL (8) .

22. Z.F.Ahmed , I.R. Fahmy . *Proc. Pharm .Soc. Egypt* (1952), XXXN(2) , 19

23. A.H. Saber, S.I. Balbaa , "Hyoscamus muticus in relation to ... ". *Magazine of the Desert inst.*,(1954).

24. A.H. Saber, S.I. Balbaa , *Proc. Pharm. Soc. Egypt. Sci. ed.* ,(1956) , XXXVIII(11) ,119.

25. R.R. Paris . A .Saint-Firmin . C.R.Acad.Sci..Paris.Ser.. 825 - 827 ,(1967) , *Chem.Abst.*, (1967) , 66 ,102452d .

26. J.-M. Pelt , Ch. Younos , J.-C. Hayon , *Annales Pharmaceutiques Françaises*,(1985) . 25(1) . 59 .

27. A.H. Abou-donia , Master thèse ,Alex.Univ .,Egypt, (1970).

28 . C.S. Gomaa , D. Bishay , *Egypt.J.Pharma.Sci.*, (1976) , 17(1) .63.

29. M.M. El-olemy , S.M.I. Mustafa , *Bull.Pharm.Sci.* , Assiut Univ. , Egypt , (1983) , 6(1) , 196.

30. N.E. Awad , Master thèse, Cairo Univ. ,(1986).

31. Alam Mah. Ashraf .Muh. Dara . M.Shahid Tauqueer . Dep.Phar. .Un.Punjab , Lahore , Pakistan , J.Pharm.(Lahore) , (1986) , 6(1-2) , 33(Eng.) . *Chem. Abst.*, (1987) , 106 . 162654a.

32. Alam Mah. Ashraf , Muh.Dara , M.Shahid Tauqueer , Fac. Pharm., Univ.Punjab ,Lahore , Pakistan , J.Pharm. (Lahore) , (1985), 6(1-2) , 55(Eng.), *Chem.abst.* , (1987) , 106 , 162652y.

33. A.Yahia , M.M. Senoussi , et S.Rhouati , *Ann.Acad.Constantine* , (2000) , II(1) , 35.

35. Association des enseignants de pharmacologie , " *Cours de pharmacologie* ", éd.Marketing paris , (1987) , - 336 340 .

36. A.Gherib , "*Chimie organique pharmaceutique* ". 2eme éd.. O.P.U.Alger, (1989) , 38-56.

37. EGN, " *Carte d'Afrique* ", dressé en (1963).

39. A.Baerheim Svendsen , R. Verpoorte " *Chramatography of alkaloïds* ", Part A : T.L.C, éd.Elsevier Scientific Publishing Company Netherlands , (1983) , 100 - 112.

40. S.N.Tewari, Sri A.K.Singh , *Chemical ERA* , (1978), 14(9) , 360.

41. N.Shukla Yogendra , S.Thakur Raghunath , *Phytochemistry* , (1992) , 31(12) , 4389.

42. British Pharmacopoeia 1993.éd.HMSO Publications United Kingdom , (1993) , II .

43. A.Vallet , Rapport DEA . Faculté de sciences 33. université de picardie jules vernes , (1996).

44. C.R. Karnick , M.D. Saxena . *Plata Med.* , (1970), 18(3) , 266 .

45. L.H. Zalkow, L. Gelbaum , E.Keinan , *Phytochemisty* ,(1978) , 17 . 172 .

46. A.S. Chowla , A. Sood , M. Kumar , H. jackson , *phytochemisty* , (1992) , 31(1) . 372 .

47. Claus M . Pabreiter , G. Willuhn , E. Röder , *planta Med.* ,(1992) , 58(6) . 557.

48. M. Ruth Grue , J. Richard liddel , *phytochemisty* , (1993) , 33(6) . 1517 .

49. P.Tantivatana , R.Bavovada , V.Jirawongse , J.Natl. Res. council Thailand , (1978) , 10(1) .77 .

50. W.C.Evans , V.A. Woolley , *phytochemisty* ,(1978) , 17 , 171 .

51.W.J. Griffin , *phytochemisty* , (1992) , 31(1) . 367 .

52. T.A. Henry, *The Plant Alkaloïds* , Fourth éd..J.A. Churchill &Ltd., London, 1949.65-74.

1. ح.قبسي ، "*معجم الأعشاب و النباتات الطبية* "، دار الكتب العلمية ، الطبعة الثالثة ، (1998) .
2. ع . الوهاب يحي، رسالة ماجستير، معهد البيولوجيا ، جامعة قسنطينة، (1989) .
8. كمال عواد "*النباتات الطبية* " ، مصلحة الثقافة الزراعية ، القاهرة (1965) ، 128-149
12. فوزي طه قطب حسين ، "*النباتات الطبية* " دار المريخ ، الرياض ، (1981) ، 222 - 226.
15. م. عبد العزيز ، أ. م. مجاهد ، "*النبات العام* " ، الطبعة الخامسة ، المكتبة الأنجلو مصرية ، القاهرة (1983) .
16. ش. ابراهيم سعد ، "*النباتات الزهرية* "، دار الفكر العربي ، (1994) .
34. الشيخ عبد الرزاق بن أحمد وش الجزائري ، "*كتاب كشف الرموز في بيان الأعشاب* "، طبعة ثالثة ، الجزائر، (1928)، 42 ـــ 43 .
38. المعهد الوطني التربوي ، "*الإدريسي في الجغرافيا* "، (1989) ، 14ـــ 19.