التوصيف الفيزيوكيميائي والطيفي لمركبي Solanidine وSolasodine الفعالة بايولوجياوالمنقاة جزئيا من نبات عنب الذيب (*Solanum nigrum*)

علي صادق محمد ، محمد عباس فياض ، كوكب يعقوب ساعور
قسم التقنيات الاحيائية ، كلية العلوم ، جامعة بغداد
قسم علوم الحياة ،كلية التربية ابن الهيثم
فرع الكيمياء الصيدلانية ،كلية الصيدلة ،جامعة بغداد

الخلاصة

تضمن البحث التوصيف الفيزيوكيميائي والطيفي لبعض المركبات القلويدية المستخلصة من ثمار واوراق نبات عذب الذيب (*Solanum nigrum*)، وهو احد اكثر الاعشاب الطبية المنتشرة في العراق، يعود للعائلة الباذنجانية (Solanaceae). اجريت عملية التحلل المائي الحامضي للمركبات القلويدية الخام باستعمال الحوامض المركزة من H_2SO_4 , HCL l للحصول على الجزء القلويدي (aglycon) للمركبJJات والتي اعطيت الرموز لها (C, B, A) مكونات ستيرويدية مستخلصة ومفصولة سابقا. اوضح التوصيف الفيزيوكيميائي للمركبات المنقاة جزئيا(C, B,A) انها تماثل القلويدات الستيرويدية في صفاتها وتغايرت فيما بينها بدرجات الانصهار (m.p) وقيم الجريان النسبي (Rf) على صفائح السليكا الجاهزة (TLC) وطيف الاشعة فوق البنفسجية–المرئية (uv-visible) وكذلك طيف الاشعة تحت الحمراء (IR). كما اوضحت تقنية السائل ذي الاداء العالي (HPLC) ظهورالمركب (A) بقمة واحدة مما يدلل على نقاوته العالية، فيما دل التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N.) ان القيمة العملية للمركب (A) تناظر القيمة النظرية لمركب solanidin $C_{27}H_{43}NO$ وتناظر مركب Solasodine $C_{27}H_{43}NO_2$ للمركب (C) وهذا ماأثبت من اجراء تحليل طيف الكتلة (MS) للمركب(A) الذي دل ان له وزنا جزئيا يعادل (397 m/z) بدلالة الكتلة/ الشحنة والذي يعادل الوزن الجزيئي للقلويد (Solanidine).

المقدمة

تعد مركبات القلويدات من اهم المجاميع الفعالة بايولوجيا في عالم الدواء والعلاج بالنباتات التي لمعظمها تاثير فسيولجي في الكائن الحي حتى وان وجدت بكميات ضئيلة [1] كما تعد معظمها مواد قاتلة او مثبطة لنمو الاحياء المجهرية المختلفة [2]. توجد القلويدات على اختلاف انواعها في معظم الاجزاء النباتية وحسب النوع النباتي، وتكون على هيئة املاح لاحماض عضوية على الغالب ونادرا ما تكون بصورة حرة مثل :(المورفين ،الكولشيسين ،الكافئيين) وقد تكون بشكل صلب متبلور ماعدا (النيكوتين_سائل)، ان معظمها عديم الـلون ماعدا (الكولشيسين _اصفر اللون) ولبعظها طعم مر (حريف [1] وتنتشر في العـوائل النباتية مثل (Buxaceae, Verstrum, Apocynaceae, Liliaceae, Solanaceae

) وغيرها ، كما تتواجد في بعض الفقريات البحرية، مثل(Cephalodiscus, Zoanthi) [3].

تمتاز قلويدات الجنس النباتي (*Solanum*)بصورةعامة بانها من طراز يختلف عن باقي قلويدات اجناس العائلة(Solanaceae) الاخرى ، اذ تنفرد بكونها قلويدات ستيرويدية (Steroidal Alkaloid) ، بينما تكون في الاجناس الاخرى من نوع قلويدات(Atropane Alkaloid, Indol Alkaloid) [4] كما تعرف بانها من قلويدات ال(Steroidal Glycoalkaloid) وتلك لارتباط وحدة واحدة من السكريات او اكثر بذرة الكاربون (C_3)للهيكل التركيبي للستروبد ، وارتباط قاعدة نايتروجينية (Alkaloid) بذرة كاربون (C_{17})للهيكل نفسه واليها تعزى الفعالية البايولوجية [5] ،و يوضح الشكل (1) الاشكال الجزيئية لاهم المركبات القلويدية المتوقع فصلها من هذا النوع .

اكدت المصادر العلمية التي تناولت التركيب الكيمياوي لنبات عنب الذئب (*Solanum nigrum*) احتوائه على قلويدات ستروبدية بدرجة كبيرة وبكميات وفيرة [6] الى جانب مركبات فعالة اخرى مثل:(الفلافو نينات والصابونينات ....الخ).وتتمثل القلويدات الستروبدية بالمركبات (Solanine ,Solasodine) مركبات رئيسة كما هناك مركبات ثانوية من نوع الكليكوسيدية المتمثلة بـ (Spirostanol Furostan,) فضلا عن (Flavonoid , Steroidal Saponins).

ولاهمية هذه المركبات في الدراسات الصيدلانية ولاستعمالها المتزايد نواة" لتحضير العقاقير[7] ولتغايرها الكمي والنوعي ولتوزعها بنسب متغايرة في الانواع العائدة لجنس (*Solanum*)، فقد كرست جهود الباحثين لاختيارالنوع النباتي الاكثر ملائمة لانتاج قلويد ستروبدي معين من دون غيره اعتمادا على حصيلته الانتاجية في اجزاءالنبات وكذلك على الظروف البيئية الخاصة التي تؤثرفي انتاجية النبات مثل: (الحرارة ،التسميد، ونوع النبات....الخ، [8] او استخدام تقنيات زراعة الانسجة النباتية مخبريا (In Vitro) [9]. وللفعالية البيولوجية المثبتة ضد كثير من الاحياء المجهرية المرضية لعدد من مستخلصات هذا النبات [10] فضلا عن اهميةهذه المركبات مواد مضادة للاورام [11] .

اهتمت هذه الدراسة بالتنقية الجزئية لمستخلصات الثمار والاوراق لنبات عنب الذيب (*Solanum nigrum*) للحصول على مركبات قلويدية ستروبدية ولاسيما مركبي (Solanidine) و(Solasodine) وتوصيفهما بطرائق التوصيف الفزيوكيميائي والطيفي باستخدام تقنيات مختلفة .ويمكن ان تعد هذه الدراسة متفردة في القطر بهذا الاتجاه مع عدم توافر عينات قياسية من المركبات القلويدية وصعوبة توفيرها .ويمكن ان ترسم الخطوط العريضة لكثير من البحوث المتزايدة بالنباتات الطبيه التي تقتصر على المستخلصات الخام ودراسة فعاليتها من دون الاهتمام بتنقيتها ومعرفة مكوناتها الكيميائية .

المواد وطرائق العمل

- الاستخلاص والتنقية الجزئية :-

اعتمد البحث ثلاثة نظم من المذيبات (للحصول على مستخلصات قلويدية خام) نقعت فيها اوزان متساوية (100غم) من مسحوق اوراق وثمار النبات المعروف محليا ب (عنب الذئب) جمعت من بساتين منطقة الكريعات ببغداد . وقد اعطيت المستخاصات المنقاة جزئيا والناتجة عن المستخلصات الخام الرموز (A,B,C)بعد اجراء عملية التحلل المائي الحامضي لها [12],[10] ، لغرض فصل وتنقية المركبات القلويدية منها، وكما ياتي :-

A- مستخلص مسحوق اوراق النبات ناتج من نقع المسحوق ب(بمذيب بميثانول، استيك اسد ، ماء مقطر) بنسبة (1:1:1).

B- مستخلص مسحوق اوراق النبات ناتج من نقع المسحوق ب(بمذيب بميثانول ،كلورفورم) بنسبة (1:1).

C-مستخلص الثمار الجافة للنبات ناتج من نقع المسحوق ب(بمذيب ايثانول 90% ،استيك اسد 2%) بنسبة (1:1).

[12][2]،عوملت المستخلصات كل على حدة و با ستخدام اقماع الفصل مع مذيب البنزين C_6H_6 وجمع طبقته وباستخدام المجفف الدوار تم الحصول على مستخلص جاف خام يحوي القلويدات الكلية الذي اجريت له عملية التحلل

المائي الحامضي للحصول على القلويدات المنقاة جزئيا A,B,C وهي قيد البحث ولمزيد من التفاصيل يراجع المصدر [10].

- تحديد قيم السريان النسبي (Rf) للمركبات المنقاة جزئيا

فصلت المركبات على نوعين من صفائح السيلكا الجاهزة هي Chromatogram A، Chromatogram B ولنوعين من المحاليل طور متحرك :-

الاول: Toluene:Ethyle acetate :diethylamine 7:2:1 باعتماد طريقة [2].

الثاني: Chloroform:Methanol 19:1 باعتماد طريقة [13]. واستخدم كاشف دراجندروف لرش الالواح بعد انتهاء التجربة وتعطي القلويدات بقعا باللون البنفسجي [14] .

-التوصيف الفيزيوكيميائي والطيفي

1- تعين درجات الانصهار للمركبات المنقاة جزئيا (melting point - m.p.).

2 - قياس الاطياف الالكترونية المتمثلة بطيف (U V- Visible) .تم القياس عند درجة حرارة الغرفة باستخدام خلايا سليكا ذي مسار ضوئي (1cm)، وحدد الطيف الالكتروني للمركبات ضمن المنطقة المحصورة بين (190-800نانومتر) بعد اذابة(1مليغرام) من العينة في (1مليلتر) من الكلوروفورمز.

3- قيا س الاشعة تحت الحمراء (Infra Red Spectrum- IR) للمركبات (A,B) ضمن المنطقة المحصورة بين(600-4000 سم) .

4- التحليل الدقيق للعناصر CHN analysis باستخدام جهاز Carlo Erbo Micro Analyzer ،في كلية الصيدلة جامعة بغداد قورنت النتائج العملية مع نتائج التحليل النظري لعدد من المركبات المنقاة جزئيا المتوقعة في جنس (*Solanum*).

5- تقدير نقاوة المركبات باستخدام تنقية كراموتوكرافيا السائل ذي الالفة العالية HPLC وذلك يحقن العينة في عمود الجهاز من النوع C18- Carbohydrate وباستعمال طور متحرك (Methanol- tris buffer 88:12) عند pH 7.2 وبسرعة جريان (1.5مليمتر/دقيقة) وطول موجي (205نانومتر) ، وبدرجة حرارة الغرفة. (اجري الفحص في دائرة الرقابة الدوائية وللمركب A فقط)

6- تحليل طيف الكتلة (Mass Spectrum- MS) ، أجري تحليل طيف الكتلة لتقدير الوزن الجزيئي للمركب (A) بدلالة الكتلة /الشحنة بعد النتائج المشجعة لنقاوة المركب A.في كلية الصيدلة / الجامعة الاردنية)

النتائج والمناقشة

استعملت ثلاثة مستخلصات خام للاوراق والثمار الجافة من نبات عنب الذيب (*Solanum nigrum*) لغرض فصل وتنقية (جزئية) للمركبات القلويدية الستيرويدية منها وتوصيفها توصيفا فزيوكيميائيا وطيفيا، وقد اعطينا لهذه المركبات المختلفة الرموز [C, B, A].اجريت على المستخلصات الخام بعض الكشوفات الكيميائية للتحقق من طبيعتها الكيمياوية واحتوائها على المركبات القلويدية بشكل خاص [10].واستخدمت التقنيات الاتية لتوصيف المركبات الناتجة عن التنقية الجزئية :-

1- نتائج تحديد قيم الجريان النسبي (Rf) للمركبات باستخدام تقنية كراموتكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC):-

اختبرت الالواح بعد انتهاء من التجربة بتحديد مواقع البقع المنتشرة وقياسها ورسمها على اوراق شفافة بعد فحصها تحت الاشعة فوق البنفسجية وتعريض قسم منها الى بخار الايودين ورش بعضها الاخرمنها بكاشف دراجندروف ،[13] ، [

14]. لم تظهرالبقع القلويدية أي لون او استجابة عند تعريضها للاشعة (UV) قبل رشها بكاشف دراجندروف، في حين ظهر معظمها بعد غمرها ببخار الايودين الذي يؤكد ان البقع الظاهرة (المفصولة) للمركبات (C, B, A) هي قلويدات ستيرويدية وعند رشها بكاشف دراجندروف اظهرت لونا برتقاليا اوبنفسجيا [13]

اظهرت البقع المفصولة بالطور المتحرك الاول والظاهرة على الواح الكراموتكرام نوع (A) وجود بقعتين واضحتين ومتميزتين للمركبات المنقاة جزئيا (C, B, A) تراوحت قيم(Rf) لهما بين (0.85_0.95) ماعدا البقعة الثانية للمركب(A) فكانت صغيرة وغير متميزة وبقيمة (Rf) تساوى (0.96) , اما عند استخدام الواح كراموتكرام نوع (B) فقد اظهرت المركبات (C, B, A) بقعة واحدة متميزة لكل مركب.

اما عند استخدام الطور المتحرك الثاني مع صفائح كراموتكرام نوع (B,A)فقد اظهر بقعة واحدة لجميع المركبات المنقاة جزئيا (C, B, A) وذي قيم (Rf) أنفسها في الطور المتحرك الاول.وهذا يعنى ان النظام المتحرك الاول اكثر كفاية في فصل وتنقية هذه المركبات من نظام الطور المتحرك الثاني ، ويؤكد وجود اكثر من مركب ضمن المركبات الخام وتغاير المركبات المفصولة على الواح السليكا من الناحية الكيميائية.

ان قيم(Rf) لم تتفق لجميع البقع الظاهرة مع أي من قيم(Rf) التي اشارت اليها البحوث لاختلاف نوع السلييكا المستعملة او سمكها ونوعها وكذلك عدم توافر بعض المحاليل التي تتطلبها التجربة وكذلك نوع المركبات التي تم فصلها.

لذا فقد استخدمت نتائج هذه التجربة للتحقق من نقاوة المركبات التي تم تنقيتها جزئيا بالمقارنة مع المركبات الخام من حيث قيم(Rf) لها. تحت الظروف نفسها التي حصل عليها [16]الذى اعزى سبب التغايرفي قيم(Rf) للمركبات الخام الى الطبيعة الكيميائية للمركبات القلويدية التي يحتويها النبات(*S. nigrum*) وتقارب صيغها الجزئية من جهة وتباين قابلية امتزازها على صفائح السليكا من جهة اخرى، فضلا عن قابلية ذوبانها في نظام الطورين المتحركين الاول والثاني. مما جعل ظهور المركبات القلويدية متقاربة في قيم(Rf) لها.

اعتمدت هذه الحقائق في التنقية الحزئية للمركبات المفصولة باستخدام السليكا جل المحضرة Preparative Silica Gelلفصل المركبات المنقاة جزئيا (A,B,C) في هذا البحث بقشطها واعادة تذويبها في محاليل الاستخلاص وبلورتها بعملية التحلل المائى الحامضى .

2 - تعيين درجات الانصهار للمركبات (C, B, A)

استخدمتت تقنية قياس درجات الانصهار(Melthing Point- m.p.)كونها توصف واحدة من الصفات الفيزيوكيميائية للمركبات وتعد خاصية مميزة للمركبات العضوية [17] والقلويدية ،الا انها قد تتغاير للمركب الواحد بتغاير نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص والبلورة [18]اذ كانت درجة الانصهار .المركبات القلويديةالمنقاة جزئيا (C, B, A) (198 و 204 و 210مْ) على التوالي.

اشار [18] الى ان القلويدات الكليكوسيدية المنقاة من النبات (*S. khasianum*) مثل المركب القلويدي (Solasodine) له درجة انصهار بحدود (200مْ)، اما القلويدات الكليكوسيدية في جنس(*Solanum*) مثل (α - Solanin) فلها درجات انصهارتتراوح بين(195-285).اما مركب(α - Chaconine) فله درجة انصهار تقدر(243مْ) [18]، بينما حددها [15] بـ (290 م °) للقلويد (Solanin).ونظرا لعدم توافر أي معلومات اخرى عن درجات انصهار المركبات الاخرى الموجودة في جنس(*Solanum*) فمن المتوقع ان تكون المركبات التي تم التوصل

اليها هي مركبات قلويدية كونها تنحصر ضمن هذه المديات في حدود درجات انصهار القلويدات الستيرويدية العائدة لهذا الجنس فضلا عن التوقع بيغايرها في الشكل الكيمائي لاختلاف درجات الانصهار المسجلة .

3– قياسات طيف الاشعة فوق البنفسجية – المرئية للمركبات المتبلورة (B, A).

لتحديد قيم الامتصاص العظمى (λ - max) للمركبين (B,A) القليويديين الكلايكوسيديين التي يمكن قياسها ضمن الطول الموجي من (190-700نانومتر). ومن نتائج قياس تلك الاطياف الاخرى يتبين ان المركب (A) قد اظهر قيم امتصاص عظمى في منطقة الاشعة (UV) ذي الاطوال الموجية القصيرة والمحصورة قيمها بين اعلى من (245-200نانومتير)، فيوضح الشكل (2) قيمة امتصاص العظمى (λ-Max) للمركب (A) عند طول موجي (238نانومتر) كانت 1.56 وهو ذو نقاوة عالية، وظهور بقعة اخرى في عند طول الموجي (300نانومتر) بلغت قيمة امتصاصهاالعظمى 0.24، ولم تظهر أي قمة اخرى ضمن الاشعة الرئيسة. اما المركب (B) الشكل (3) فقد ظهرت قمتان في طول موجي (305,240نانومتر) حيث بلغت قيمة امتصاصهما العظمى على التوال (1.70,1.76) ولم تسجل أي امتصاص على بقية الاطوال الموجية الاخرى ،اما المركب (C) فقد اعتمد على نتيجة للمركب القلويدي الخام المتبلور عنه الذى اظهر اعلى قمة امتصاص عند الطول الموجى 232.0نانوميتر لحدوث خلل في الجهازوهي قيمة مقبولة الى حد ما شكل (4).

ان البيانات التي تم الحصول عليها تتفق ما ذكره [20] من ان معظم القلويدات الكلايكوسيدية التابعة لجنس (*Solanum*) تفتقد الى وجود مجاميع حاملة للون (Chromophoric groups)، لذا هي تمتص في نهاية الاطوال الموجية القصيرة والمحصورة بين (200-245نانومتر). اما ظهور قيم امتصاص اخرى في مناطق الطيف المرئي اعلى من (400 نانومتر) فيمكن ان تعزى الى لون المستخلص الخام الناتج ان عملية تنقية المركبات وذلك بعد عملية التبلور، كما مبين في الشكل (2,1) لذا ان فقدان المجاميع الحاملة للون في هذين المركبين يجعل استخدام الكواشف الخاصة بالقلويدات امرا مهما لاظهارها على صفائح ال(PC-TLC) مثل كاشف دراجندروف او أي كاشف اخر مثل مزيج حامض الكبريتيك (10 %) مع الميثانول، اوكاشف[anis aldelyde H_2S0_4 [2] او استخدام مركبات متبلورة من (BlanKophorاو Tino pal) [21]، اذ تكون هذه الكواشف الخاصة معقدات ملونة تميز القلويدات الكلايكوسيدية من غيرها من القلويدات، واظهارها على صفائح الكراماتوكرافيا كل حسب طبيعة تكوينه مع الكاشف الخاص به.

نستخلص من هذه النتائج ان المركبين (B, A) هي مركبات ستيرويدية التي اعطت تغيرا واضحا في قيم(λ-max) ضمن طيف الاشعة (UV-Visible) مما يعزى انها مركبات متغايرة في طبيعة التركيب الكيميائي او المجاميع الفعالة فيها الا انها تشترك في كونها انماط متقاربة من القلويدات الستيرويدية.

4- تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء Infera Red Spactram (IR) للمركبين (B, A) .

استخدمت تقنية مطيافية الاشعة تحت الحمراء كونها احدى الطرق المعتمدة لتشخيص المركبات العضوية من خلال تحديد مناطق امتصاص المجاميع الوظيفية الفعالة (functional groups) للاستدلال على مدى نقاوة المركبات المفصولة من خلال شكل الحزم وقممها. وقد طبقت هذه التقنية مع المركبات الناتجة عن طريقة الاستخلاص الاولى[12]. والمركبات الناتجة عنها بفعل التحلل المائي الحامضي وهي المركبات المنقاة جزئيا (B, A) وقد اظهر التحليل الطيفي لل(IR) لهذه المركبات بالأشكال (5 ,6). اما مواقع حزم الامتصاص لهذه المركبات اعلاه والاشكال الناتجة عنها فقد ذكرت في الجدول (1) .

واعتمادا على نتائج[17] لوحظ وجود تغاير في مواقع الامتصاص لبعض المجاميع الفعالة ، فضلا" عن وجود تماثل في بعض مواقع الامتصاص المميزتبين المركبات الخام [16] والمركبات الناتجة عنها بفعل التحلل المائي الحامضي، لذا يمكن اعتمادها أدلة على وجود تغاير في الصبغ الجزئية لهذه المركبات.

ولوجود امتصاص لمواقع الحزم الواقعة ضمن المطقة (cm^1 1350- 600) الممثلة لامتصاص مجاميع (CN,- CO,- CH,- OH,) والتي تعد بصمة اصابع مميزة (Finger Printing) للمركبات القلويدية الستيرويدية تشابه كثيرا معظم

المركبات التي ذكرت في[17] ومنها مركب(Salsolidine hydrochloride dehydrate , Solanine) شكل (7) لكونها المركبات الاكثر شيوعا في الجنس (*Solanum*) ومنها النوع (*S. nigrum*). كما لوحظ ان طيف المركبات المتبلورة (B, A) قد اظهرت قمما وحزما اكثر وضوحا من المركبات الخام التي انتجت منها [16]، وهذه من الادلة الاخرى على كفاية طريقة التحلل المائي الحامضي لعملية التنقية التي اتبعت في هذه الدراسة. ومن متابعة المواقع لحزم الامتصاص للمركبين (B, A) يتوقع ان طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب الاول معبرا لمركب (Solanidine) فيما يكون معبرا لمركب (Solasodine) في المركب الثاني. وللتثبت من طبيعة المركبات المتبلورةمن حيث محتواها من (N, H, C) اجري التحليل الدقيق لعناصر بعض المركبات.

5-التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N Anylsis) للمركبات المنقاة جزئيا(C, A)

استخدمت تقنية الامتصاص الذري(Atomic Absorption) لتشخيص المركبين (C, A) للتعرف على القيم (العملية) التي تمثل التحليل الدقيق لعناصر الكاربون ، الهيدروجين، النتروجين(C.H.N Anylsis) التى بمقارنتها مع القيم النظرية المحسوبة لاقرب المركبات المتوقعة يمكن التوصل الى اقرب المركبات المفصولة ، يتبين من الجدول (2) ان المركب المفصول (A) هو الاقرب لمركب (Solanidine) ذي الصيغة الجزئية $C_{27}H_{43}NO$، مما يدعم توقعنا لنتيجة طيف (IR) لهذا المركب، بينما يمثل المركب المفصول (C) وهو الاقرب لمركب (Solasodine) ذي الصبغة الجزيئية $C_{27}H_{43}NO_2$.(ولم يتم اجراء هذا التحليل للمركبات المنقاة (B) لتعذر ذلك). ونظرا لدخول عناصر (N,H,C) مكونات رئيسة لاي قلويد [23]، لذا يعد استخدام هذه التقنية امرا شائعا لتحليل هذه المركبات. كما ان النتائج التي تم الحصول عليها لهذه المركبات تشير الى انها (Alkamines) او(Aglycons) للمركبات القلويدية الستيرويدية، وهذا امر متوقع نظرا لاجراء عملية التحلل المائي الحامضي للتخلص من الاجزاء السكرية المرتبطة بالمركبات المفصولة بشكل مستخلصات خام. كما يمكن التوقع من نتائج هذه التجربة، ان المركبات التي تم الكشف عنها وتحليلها على قدر كبير من النقاوة نظرا لتقارب القيم النظرية مع القيم (العملية) للمركبات المفصولة، اذ كانت النسبة المئوية (العملية) لعناصر(N, H, C) للمركب(A) تقارب النسب المئوية للعناصر أنفسها في المركب (Solanidine). اما القيم(العملية) للمركب (C) فهي مقاربة للنسب المئوية النظرية لعناصر (N, H, C) في المركب (Solasodine) جدول (2).

6- تقدير نقاوة المركب(A) باستخدام تنقية (HPLC)

بعد الدلائل التي توافرت عن نقاوة المركب (A) المتوقع انه (Solanidine) من خلال النقاط السابقة. استخدمت تقنية السائل ذي الاداء العالي(HPLC) لتحديد مدى نقاوة هذا المركب، على الرغم من عدم توافر عينات قياسية للمركبات القلويدية التي تعود لجنس (*Solanum*) ولم يجر مع المركبات المنقاة الاخرى.ان اعتماد الطور المتحرك المحضرمن [20] لاجراء هذا التحليل كونه افضل النظم المعتمده لتحليل هذه

المركبات عند استخدام هذه التقنية ، اذ اشار الى انه افضل نظم الاذابة المستخدمة لفصل الكلوكوسيدات الاحادية والثنائية والثلاثيةعن بعضها فضلا عن الالكامينات او مايعرف ب(aglycones).

يتبين من الشكل (8) ظهور قمة واحدو متميزة وحادة لعموم المركب (A) وعند زمن الاحتجاز (RT) (1.48 Retention time (mint، وظهور قيم امتصاص يكاد يكون معدوما عند زمن الاحتجاز (2,67 mint , 4.43).

ان ظهور قمة واحدة ومتميزة للمركب (A) تدل دلالة واضحة على النقاوة العالية للمركب المفصول. كما تدل على كفاية طريقة التحلل المائي الحامضي (Acid Hydrolysis)، وطريقة السليكا المحضرة (Preparative TLC) اللتين اعتمدتا لتنقية المركب الخام الذي فصل منه هذا المركب.

7- تعيين الوزن الجزيئي للمركب (A) بدلالة طيف الكتلة Mass spectra

استخدمت تقنية طيف الكتلة للمركب (A) والمتوقع انه (Solanidine) بعد الدلائل التي تشير الى نقاوته العالية والتي تم التطرق اليها في الفقرات السابقة، اذ لم يتم اجراؤها مع بقية المركبات المنقاة جزئيا لتعذرذلك .

يعد طيف الكتلة من الطرق الفيزيوكيميائية المهمة التي استخدمت حديثا في تطبيقات تشخيص المركبات العضوية، والتي يستفاد منها لتعيين الوزن الجزيئي بقياس نسبة الكتلة الى الشحنة(m/z)، اذ يعتمد على تبخير المركبات ذي الاوزان الجزيئية الواطئة (اقل من 1000) [23].

يبين الشكل (9) نتيجة لطيف الكتلة للمركب (A) اذ تتوضح فيه نماذج التجزئة (fragmentation pattern) او الانشطارات الناتجة عن المركب المتاين، فيما تمثل القمم (55, 98, 150, 204, 272 m/z) الاوزان الجزيئية للايونات الناتجة عن انشطار المركب. كما تمثل القمة (150 m/z) اعظمها وتليها القمة(204 m/z)وبوفرة نسبية (25 %, 100 %)على التوالي.ان اقرب تفسير لهذا الطيف ما ذكره [24] من ان قلويد (Solanidine) يظهر انشطارات متشابه في القيم أنفسها، اذ ينشطر الشكل المتباين لهذا القلويد الى ايونين غير متناظرين في الوزن الجزيئي احداهما يظهر وزنا جزيئيا قدره(204 m/z) والاخر له الوزن الجزيئي (150 m/z) كما في المخطط الموضح في الشكل (10).

اما الالية المتوقعة لنماذج التجزئة للمركب المفصول (A)، فقد امكن وضع المخططات الموضحة في الشكل (11) اعتمادا على ما ورد في،[25] [26]. لتفسير الايونات الناتجة عن عملية التجزؤ مع قيم اوزانها الجزيئية، التي تشابه الى حد كبير المركب (Solanidine-5en-3Bol).

ان هذه النتيجة تعد تاكيدا على تشخيص المركب (A) انه المركب(Solanidine).

كما يمكن القول ان المركب المفصول (A)، على درجة عالية من النقاوة كما دل عليه تحليل (HPLC)، وتحليل طيف الكتلة الذي اعطى وزنا جزيئيا يقارب الوزن الجزيئي لمركب (Solanidine) الذي هو(Aglycone) للعديد من المركبات السكريدية في جنس السولانم ومنها (Solanine) و(Chaconine). لاحظ الشكل (10).

المصادر

1– قطب، فوزي طه (1981).النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر . الرياض– المملكة السعودية.

2- Handa, Sukhder S., Decpak Mundkinajeddu and Anupam K. Mangal (1998). Indian Herbal phaemacopoeia. Vol I. Ajoint publication of Regional Research laboratory and Indian Drug Manufacturers, Association. India. P 139-

3- Maalanina, G.G.; L.I. Klimova; L.M. Morozovskaya.; O.S. Anisimova,; L.M. Alekseeva and N.N Suvorov, farm. Zhur. (1974). Chem. Abs. 81, 63874.

4-Roddick, J.G. (1980), Isoprenoi Alkaloids- Solanum Alkaloids in Vol. 8. Secondary and B.V. Charl wood. Encyclopedia of plant products, by E. A. Bell New York

5- Friedman,M. and McDonald ,G.M. (1997). Potato glycoalkaloids:Chemistry, analysis, softy and plant physiology Crit Rev. Plant Sci. 16 (1): 55-132.

6- Bruneton, J. (1993). Pharmacognosy. Phytochemistry of Medicinal plants. Lavoisier, parts2nd ed pp.877.

7- Harrison, D.M. (1976).*Solanum* and *Veratrum* steroidal Alkaloids Chapter 14 in the Alkaloids Vol. 6.Ed. By M.F. Review of the literature publishes. the chemical Grundon. A society, Burlington House. London

8- Yaniv, Z., M. Weissenberg; D. palevitic and A. levy (1981) Effect of seed Number and fruit weight on content and Localization of Glycoalkaloids in *Solanum hasianum*. J Plants medica ,42:303-306

9- محمد، علي صادق؛هادي، صباح مهدي؛ساعور، كوكب يعقوب(2000). انتاج مركب (vinblastine)من خلايا كالس نبات عين البزون Cotharanthus roseus. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. 13:(2) 79-109.

10-الدليمي، محمد عباس فياض (2003). استخلاص وتنقية مركبات من نبات عنب الذيب *Solanum nigrum* وتاثيراتها على الاحياء المجهرية المرضية. رسالة ماجستير. كلية العلوم، جامعة بغداد

11-فياض ،محمد عباس (2008) فعالية المستخلصات القلويدية الخام لنبات عنب الذئب *Solanum nigram* في دنا البلازميد PBR322 المرحل في الهلام. مجلةابن الهيثم للعلوم التطبقية والصرفة .21: (1) 13 – 23

12- Shabana, M.M. and T.S. El-Alfy,(1978). Investigation of the Constituents of *Solanum laciniatum* AIT fllowers. Egypt. J. harm Sci 19 :(1-4)337-347

13- Bhathnagar J.K. and Ravinder K. puri (1974) *Solanum Platanifolium* a New source of solasodine Lloyidia June 318-319.

14-Stahal,E. (1969).Thin layer chromatography .2nd edition-Berlin.Heidel berg. New York .

15- Harborn, J.B. (1973). Phytochemical methods. Chaphan and Hall Itd. London –New York pp278

16 – محمد،علي صادق(2009)التوصيف الفيزيوكيميائي والطيفي للمركبات الفعالة بايولجيا لنبات عنب الذيب *Solanum nigrum*، أ– المستخلصات القلويدية الكلية الخام لاوراق ولثمار النبات. مجلة ام سلمة المجلد 2

17- Pouchert, Charles J. (1981). The Aldrich Library of Infra Red Spectra, Steroids and Indole alkaloids Edition III, AldrichChemical company, Inc.P 1491-1514.

18- Bezbruah, Balamani. (1981) .A Sample method for purification Of glycoalcooides. In the quantitative estimation of Solanum Khasianum. Plant medica . 43,77-81.

19- Zeiger, Errol, (1998).α- chaconine and α-Solanine Review of Toxicological Iiterature , National Institute of Enviromental Health Int .La . Systems

20-Crabble, Phillip Graham and Colin fryer,(1980)Rapid Quantitative Analysis of Solasodin , Solasodine Glycosides And solasodinene by ligh-pressure liquid chromatography.Journal of Chromatography, 187 ,87-100.

21- Jellema, R.; E.T.Elema and Th.M. Malingre Brighteners as thin-laye chromatographic r (1980). Optical Detection reagents for glycoalkaloids and steroid alkaloids in Solanum species J. of Chromatography 189 ,406-409.

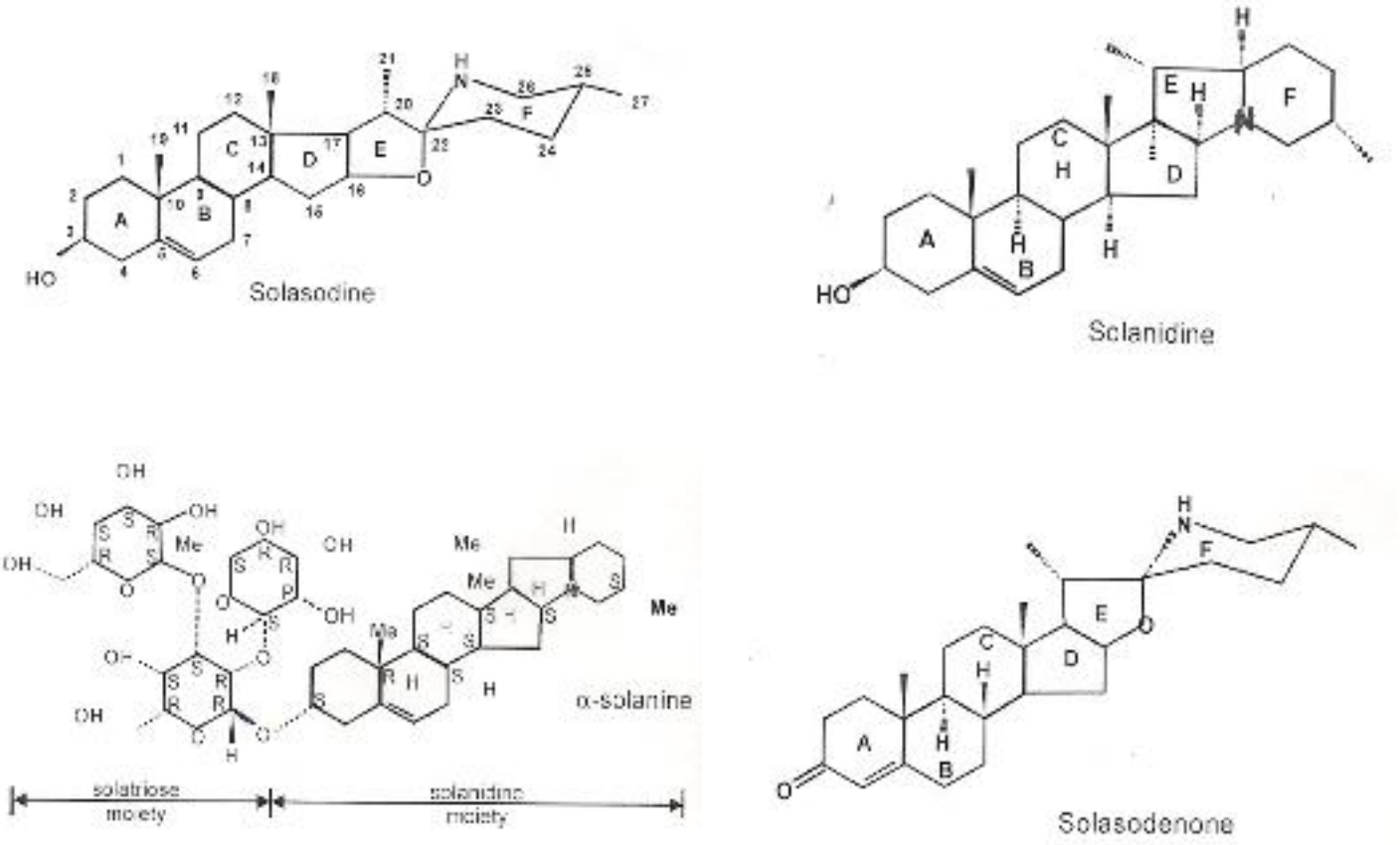
22- James, W.O.,(1950). Alkaloids in plants. In " Mansk R.H., The Alkaloids VIP. 1-23, Academic pres New York, London"

23 – سركيس، جورج بوناتان(1986). الطرق الطيفية في الكيمياء العضوية، مترجم. جامعة بغداد–كلية العلوم ط1 . شركة التايمس للطبع والنشر المساهمة.

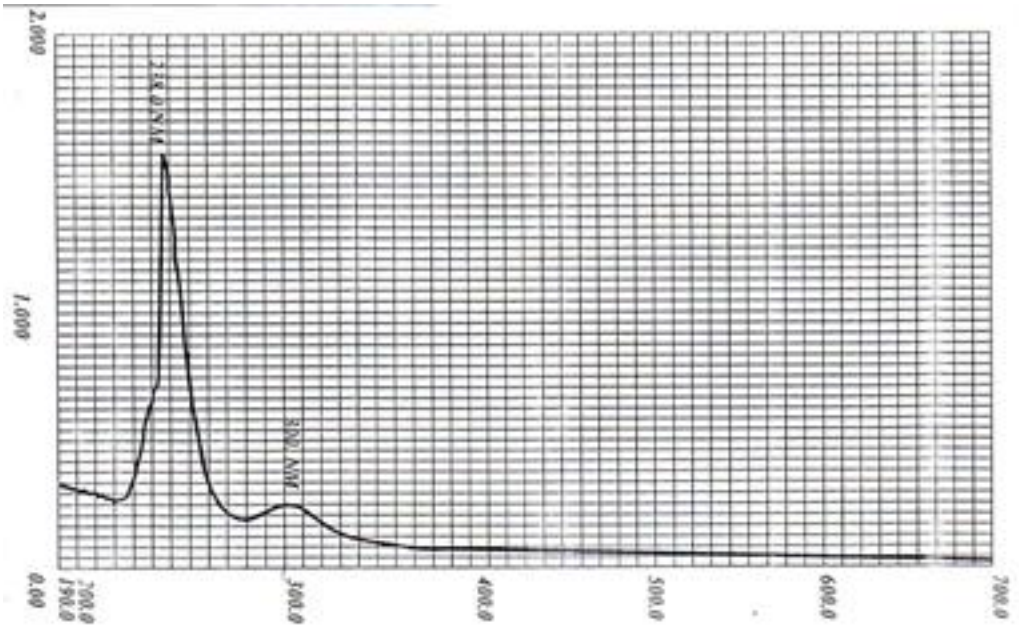
24- Atta-ur- Rahman and M.IqboI Choudhary (1998). Chemistry and Biology of Steroidal Alkaloids . In the Alkaloids. In The Alkaloids Chemistry and Biology by Geoffrey A. Cordell. Copyrigh by Academic press Vol. 50. USA

25- Cordell, Geoffrey A.(1998). The Alkaloids. Chemistry and Biology. Copyrigh by Academic press USA .50:61-103

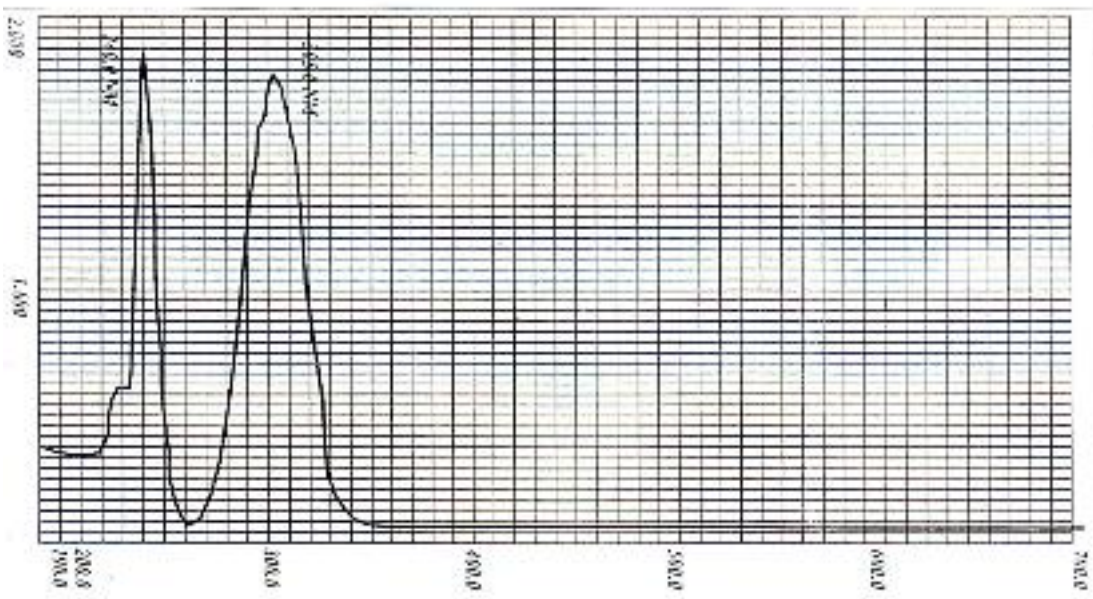
26- Hardman. R. (1987). Recent Developments hn our knowledge of Steroids. Plantamedica P. 233-238



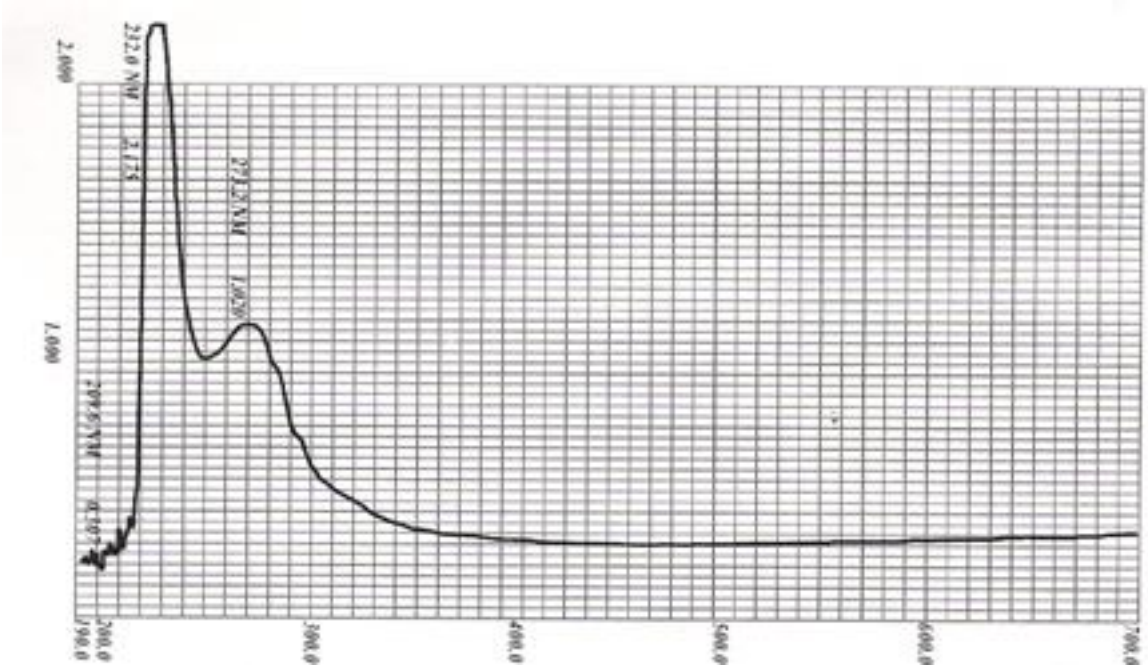
شكل (1): يبين الاشكال الجزيئية الاكثر شيوعـــا للمركبات القلويدية المتوقع فصلها من اجزاء نبات *Solanum n igrum* عن (17) و(19)و(24)



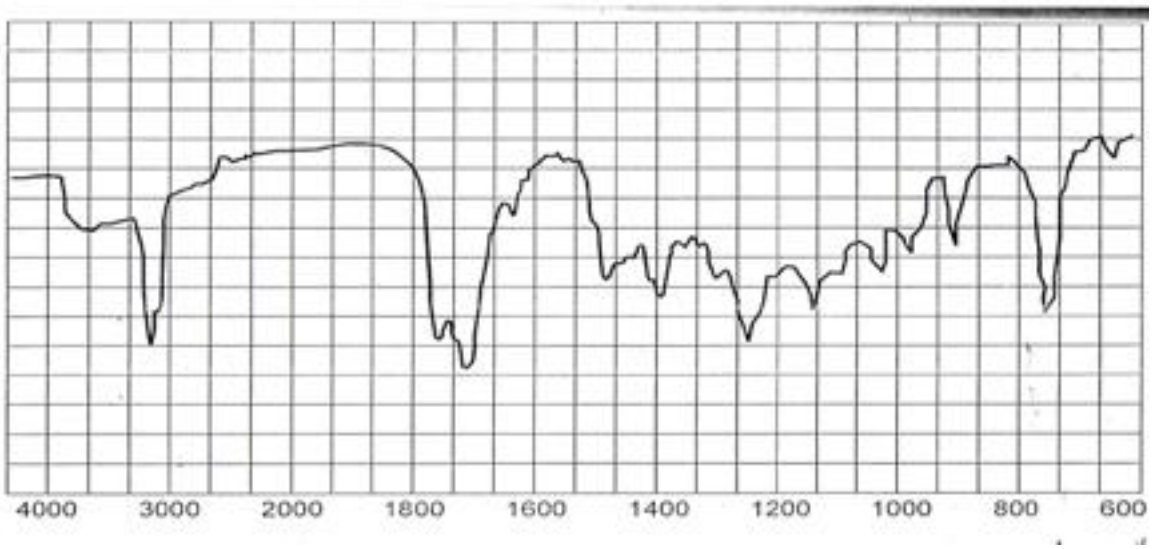
شكل (٢)طيف اكتصاص الاشعة فوق البنفسجية –المرئية للمركب القلويدي (A)



شكل (٣)طيف امتصاص الاشعة فوق البنفسجية –المرئية للمركب القلويدي (B)



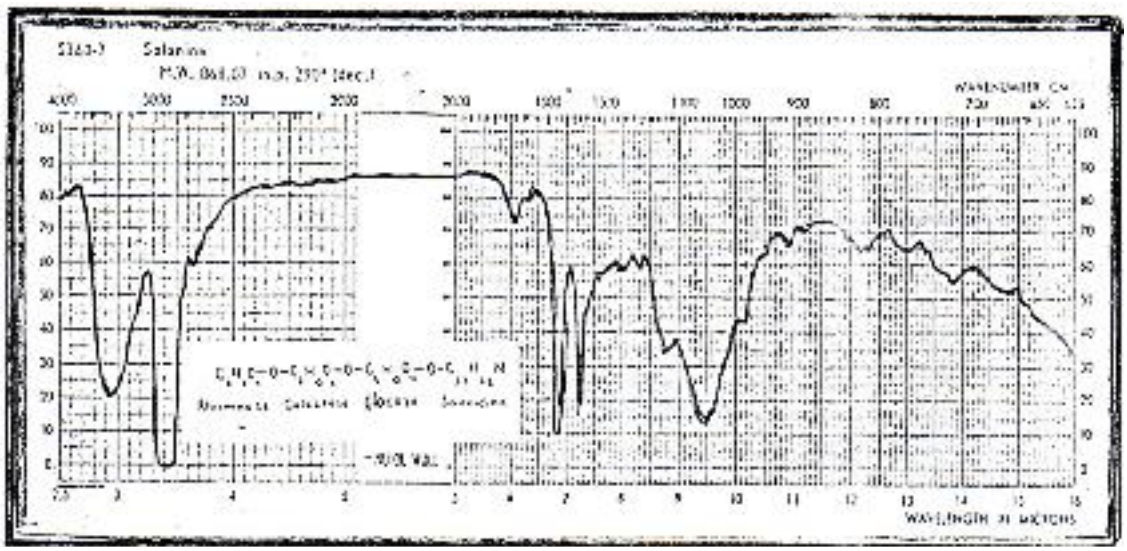
شكل (٤) طيف امتصاص الاشعة فوق البنفسجية- المرئية للمركب C



شكل (٥) طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء (IR) للمركب القلويدي المتبلور (A)

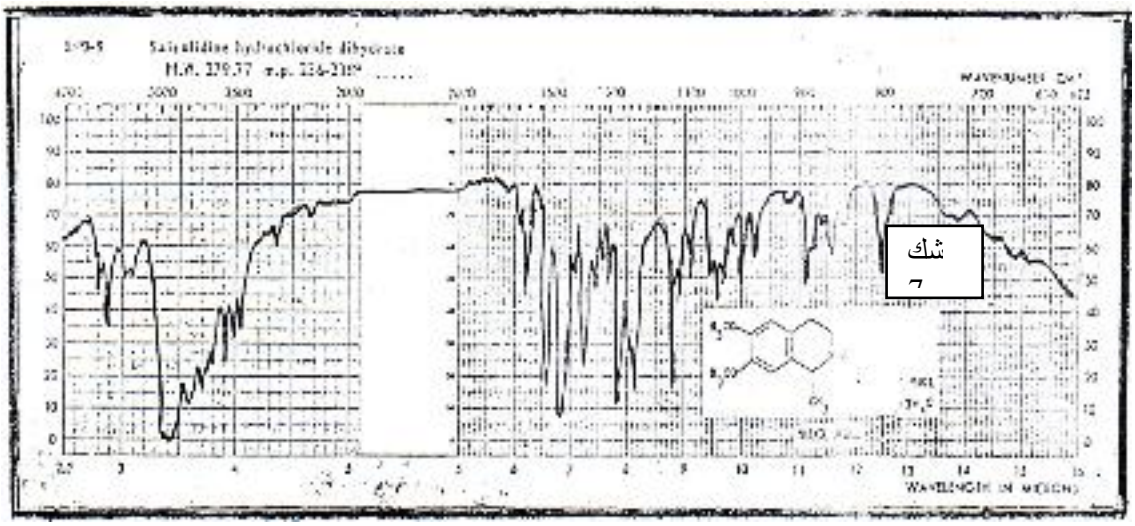
Solanine

A



Salsolidine hydrochloride dihydrate

B



شكل (٧) نماذج من اطياف الاشعة تحت الحمراء لبعض القلويدات الستيرويدية في جنس السولانم. عن (Pouchart, 1981)

A-Solanine B-Solsolidine hydrochloride dehydrate

جدول (1)يوضح مواقع حزم الامتصاشضص في اطياف الاشعة تحت الحمراء

المركب المنقى جزئيا A			المركب المنقى جزئيا B		
العدد الموجي للحزمة bands rangs cm^{-1}	تذبذب المجموعة Proposed assignmem	نوع التذبذب والملاحظات	العدد الموجي للحزمة bands rangs cm^{-1}	تذبذب المجموعة Proposed assignmem	نوع التذبذب والملاحظات
3780	O-H	حزمة مط الاصرة الكحولية "Stretching alcoholic" النموذج ذو رطوبة عالية	3430(b)	O-H	حزم مط الاصرة الكحولية الممتدة لN-H الامين الثانوي
3213-3142	=C-H	حزم مط مجموعة الالكين Stretching alkene	3070-3000	=C-H	حزم مط الاصرة لمجموعة الالكين
3000-2865(w.b)	-C-H	حزم مط مجاميع المثيل والمثيل	2997 (w)	C-H	حزم مط المجموعة CH_3
1749(s-b) 1700(s-b)	-C=O	*	1749 (s-b) 1700 (s-b)	-C-O	حزم مط مجموعة الكاربونيل
1628 (w)	C=C	حزم مط اصرة الالكين بضمنها الاصرة exocyclic olific الممتدة لحد 1650 cm-1	1686 (s)	C=C	حزم مط اصرة الالكين بضمنها الاصرة الممتدة لحد 1650 cm-1
1479 (m)	-C-H	حزم الحنى band الاساسية لمجموعة لمثيلين للالكين الحلقى	1628 (m) 1557 (w)	C=C	حزم مط اصرة الالكين بضمنها الاصرة exocyclic olific الممتدة لحد cm-1 1650
1400-1382 (d)	-C-H	حزم الحنى لمجموعة المثيل	1500 (w)	C~N	حزم مط الاصرة الاليفاتية (cyamid)
1300(w)	-O-H	حزم الحني في Plane	1484-1466	$-CH_2$	حزم الحني لمجموعة CH_2
1235 (m.b) 1114 (m)	-C-O	حزم مط الاصرة للمحموعة الكحولية والمجموعة الامينية والايثرية	1400	C-H	حزم الحنى لمجموعة المثيلين
1020-1000 (md)	C-N	حزم مط الاصرة الامينية	1208 1142 1050	-C-O -C-O	حزم مط الاصرة للمحموعة الكحولية والمجموعة الامينية والايثرية
946 (w)	-C-H	حزم الحنى للاصرة	886	-C-H	حزم الحنى الخارجية لمجموعة الالكين
886(m)	-C-H	حزم الحنى الخارجية لمجموعة الالكين	700-715	-O-H	حزم الحني الخارجية للاصرة الكحولية
700(s)	-O-H	حزم الحني الخارجية للاصرة الكحولية			

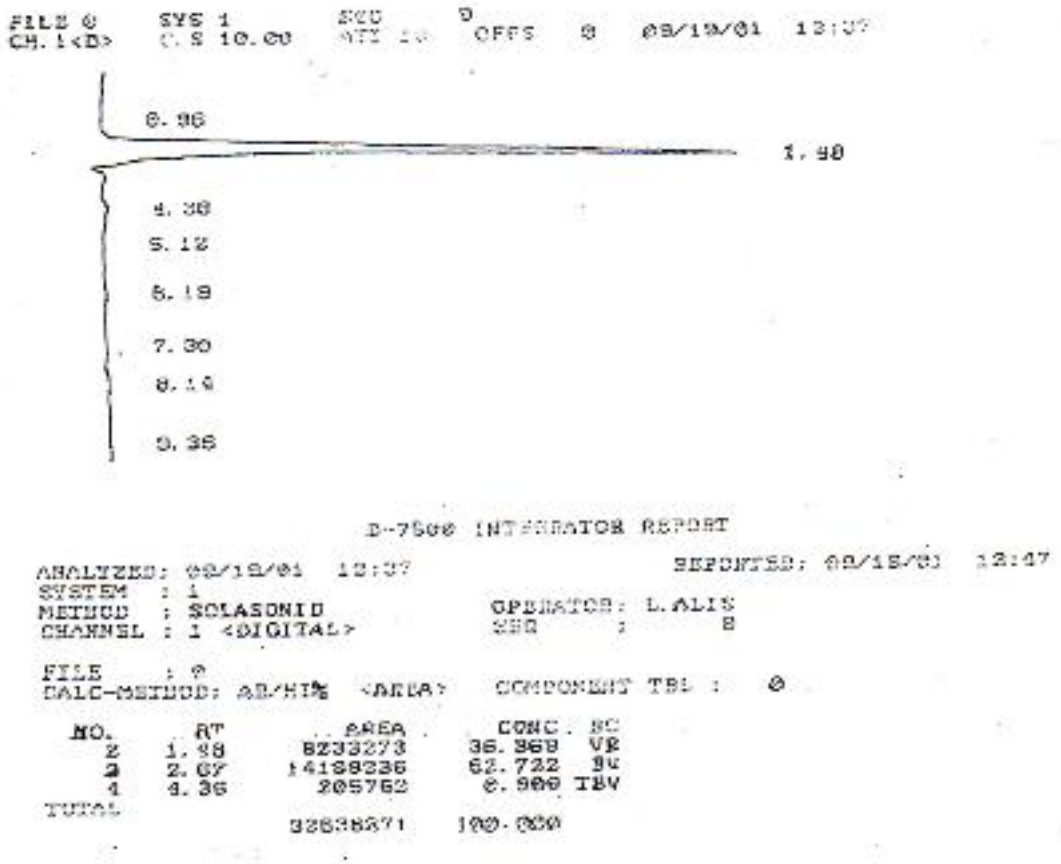
للمركبات AوB

* ظهور هذه المجموعة ضمن المركب المفصول قد تعزى الى استخدام حامض الخليك المركز ،اذ انها غير موجودة ضمن مجاميع القلويدات الستيرويدية ،وعموما فهي غير مؤثرة على نقاوة المركب .

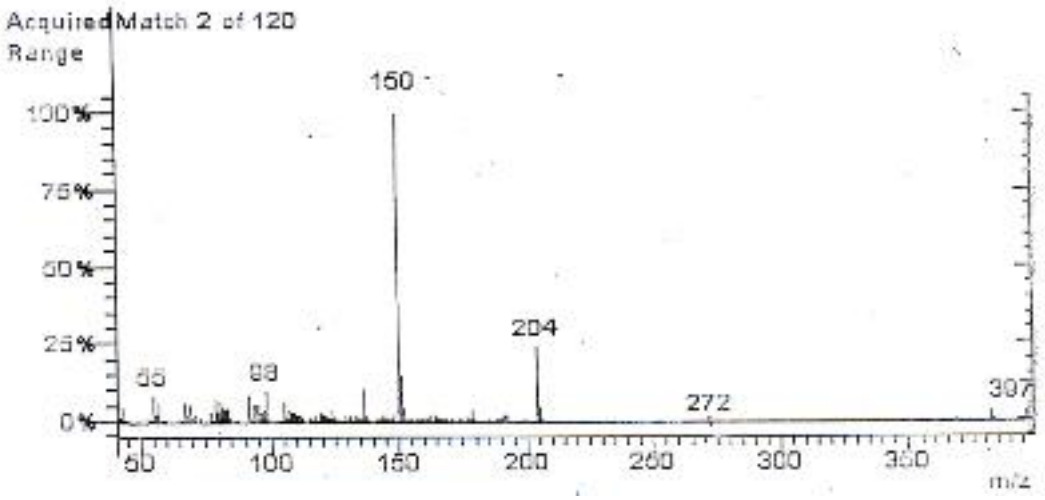
جدول (2): القيم النظرية و(العملية)للمركبات القلويدية المتوقعة A,Bالمفصولة والمنقاة جزئيا التي شخصت بتقنية C.H.N.

المركب والرمز	الصيغة الجزيئية	الوزن الجزيئي M.W	التحليل الدقيق للعناصر القيم النظرية (العملية)		
			% C	% H	% N
Solanidine (A)	$C_{27}H_{43}NO$ -	397.64 -	81.55644 (81.18)	10.89998 (10.86)	3.52245 (3.60)
Solasodine (C)	$C_{27}H_{43}NO_2$ -	413.65 -	78.39986 (78.801)	10.47811 (9.990)	3.38612 (3.658)

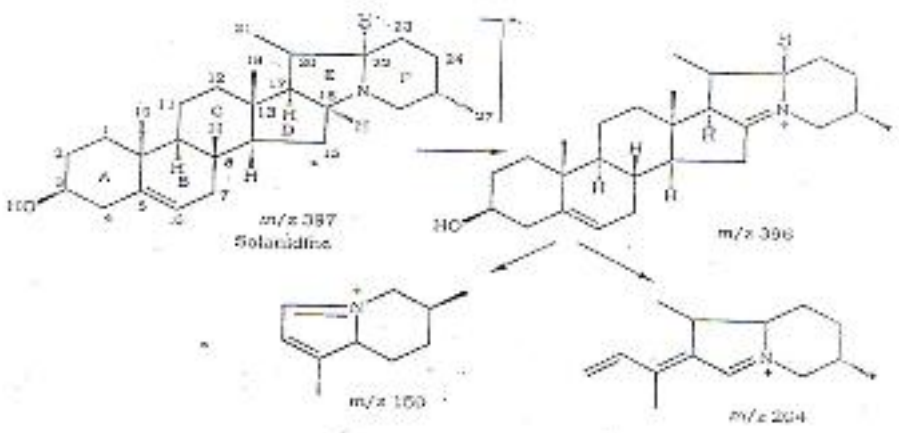
اعتمدت الاوزان الذرية الاتية (C-12.01115)و(H-1.00797)و(N-14.0067)لاجراء القياسات النظرية



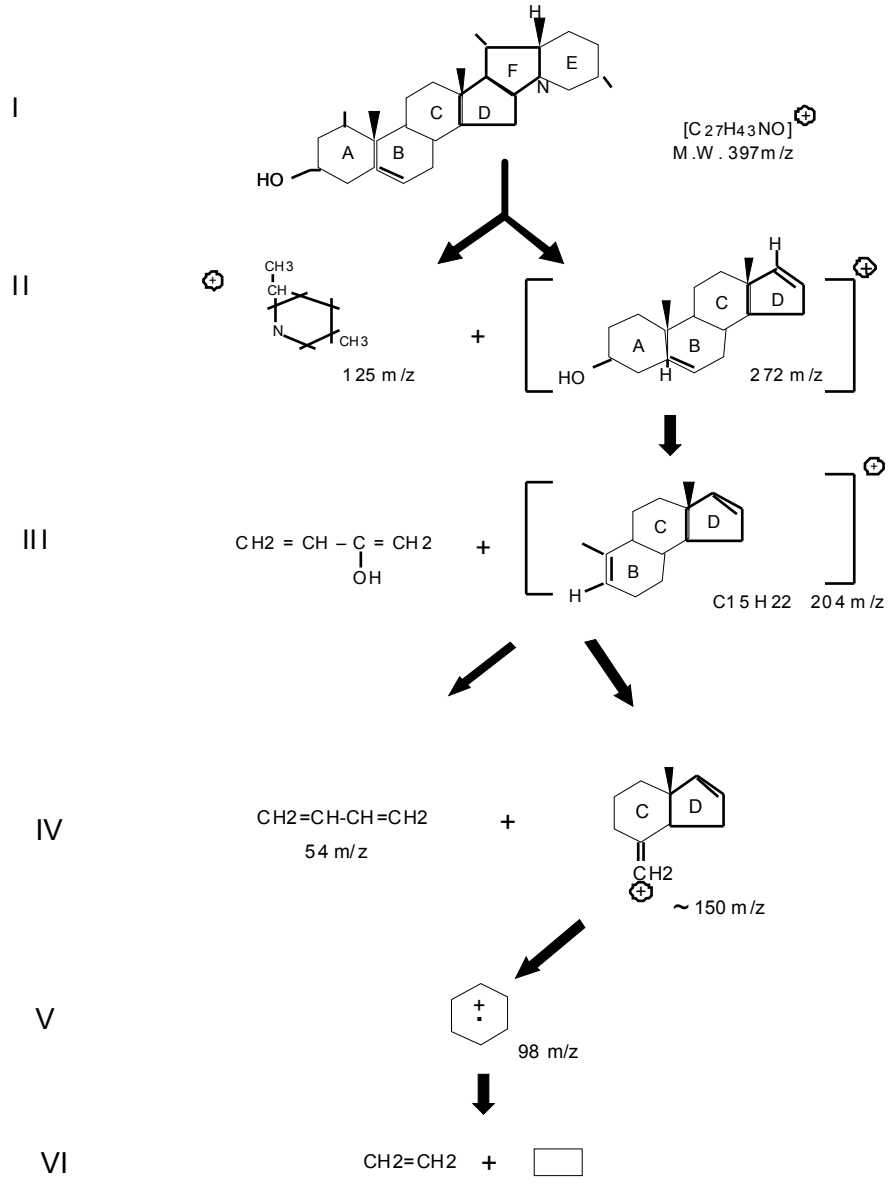
شكل (8) – تقدير نقاوة المركب (A) المفصول من اوراق نبات عنب الذئب (*S. nigrum*) باستخدام تقنية HPLC



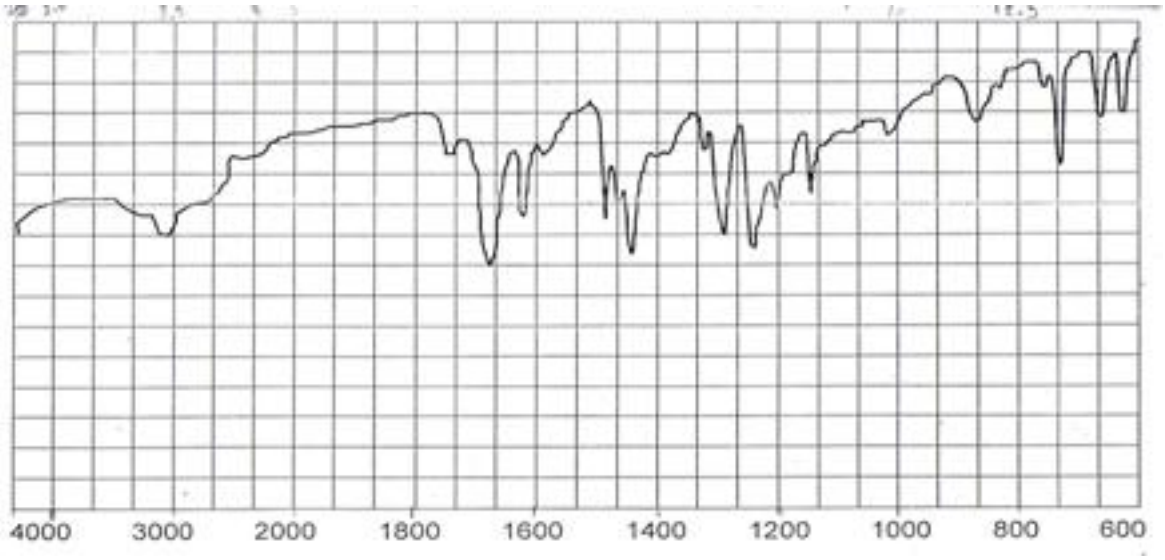
شكل (9) –يوضح طيف الكتلة للمركب (A) المفصول من اوراق نبات النوع *Solanum nigrum*



شكل (10) :مخطط يوضح الية طيف الكتلة لمركب السولانيدين (Solaniden) عن (24)



شكل (11) الاليـة المتوقعة لنمـاذج التجزئـة للمركب (A) المفصـول مـن اوراق نبـات عنب الـذيب (*S. nigrum*) باستخدام تقنيـة MS عن (10)



شكل (٦)طيف امتصاص الاشعة تحت الحمرء (IR)للمركب القلويدي المتبلور (B)

Physiochemical and Spectral Characterization For a Biological Active, Solanidine&Solasodine Partial Purification Compounds From (*Solanum nigrum L*)

A. S. Mohammed , M. A. Fayidh , K. Y.Saooer
Department of Biotechnology , College of Science ,University of Baghdad
Department of Biology ,College of Education Ibn Al-Haitham, University of Baghdad
College of Pharmacology

Abstract

This study includes a physiochemical and a spectrocpical characterization to some alkaloid compounds in the (ANAB AL- THEAB) plant (*Solanum nigrun L*.). It's the most important medicinal herb belonging to the family (Solanaceae). Acid hydrolysis was performed by using limited conc. of Hcl and H_2SO_4, to obtain the aglycon part of previously separated steroidal componants as (A, B and C). The characterization of the(A,B and C) compounds indicates that they varied between them as the separated steroidal like-alkaloids, carried by using melting point (m.p.), thin layer chromatography (TLC), Infra -Red spectroscopy (IR) and Ultra violet-Visible spectroscopy (UV - Visible).High performance liquid chromatography (HPLC) indicated the presence of single characteristic intense peak belonging to (A) component which confirms the purity of components. The Mass- spectra (MS) of this compound gave (397m/z) molecular weight peak related to (Solanidine) alkaloid, when the chararacteristic to compound (C) showed that same as solasodine alkaloid . .