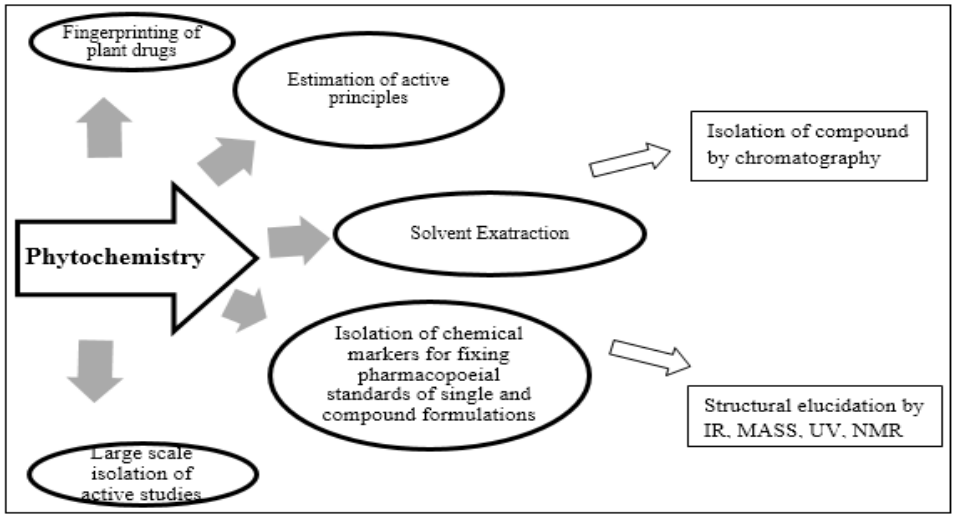
2- طرق استخلاص العقاقير النباتية

Methods of extracting plant drugs

- **من اهم النقاط البحثية التي يتعرض لها الدارس في حقل المنتجات الطبيعية هي:**

1. كيفية الحصول على هذه المنتجات ، واستخلاصها من مصادرها الطبيعية.
2. كيفية الحصول على هذه المكونات الطبيعية بعضها من بعض بغية الحصول على مركبات نقية.
3. بعد تنقية المركب الطبيعي فإن الباحث يبدأ في التعرف على تركيبه الكيميائي، وذلك باستخدام الطرق الفيزيائية والكيميائية وكذلك طرق التحليل الطيفي.
4. الطرق التي تتكون بواسطتها المركبات الطبيعية داخل مصادرها الطبيعية، أي عملية الاصطناع الحيوي **Biosynthes** .

- والبروتوكولات المتبعة للاختبارات الكيمائية للعقاقير النباتية تلخص في الشكل التالي:

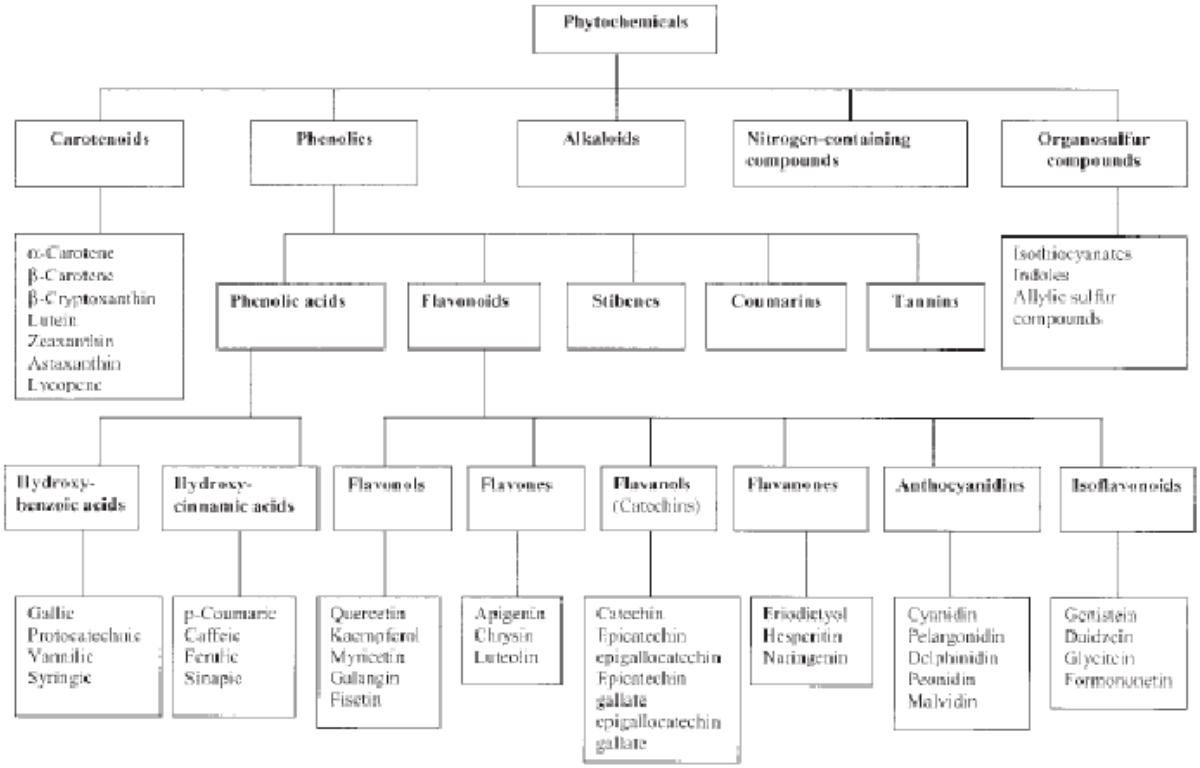


Phytochemical evaluation of herbal drugs

- فالنبات الطبي يحتوي مزيج من المركبات الكيميائية الحاملة لمجموعات وظيفية مختلفة وذات قطبية مختلفة، والتي تصنف كما يلي:

- **المركبات الاولية Primary metabolites مثل:** الكربوهيدرات والأحماض الامينية و والدهون)
- **المركبات الثانوية: Secondary metabolites** مثل الفينولات ، الفلافونوئيدات Flavonoids، والقلويدات والغليكوزيدات Glycosides والكومارينات Coumarins و التربينات Terpenes، زيوت عطرية volatile oils.

- **المواد الثانوية الفعالة** غالبا ما تكون هي **المسؤولة عن** مصدر التأثير الطبي للنباتات الطبية.



المنتجات النباتية الثانوية

اولاً: منهجية الاستخلاص Extraction Procedure

- ❖ تقليل حجم جزيئات المادة النباتية:
- ❖ الاستخلاص Extraction
- ❖ الترشيح filtration
- ❖ التكثيف Concentration
- ❖ التجفيف Evaporation

❖ **تقليل حجم جزيئات المادة النباتية:**

المادة النباتية جافة أو طرية ويجب تقليل حجم المادة النباتية في الحالتين سواء بالسحق او التقطيع بهدف زيادة سطح التلامس بين المذيب والمادة النباتية.

❖ **الاستخلاص Extraction:** يعرف الاستخلاص بأنه عملية فصل المكونات الفعالة من الأنسجة عن المكونات غير النشطة بيولوجياً باستخدام مذيبات مناسبة تعتمد على قطبية المكون وطبيعته الكيميائية والحصول على الخلاصة الخام.

- أثناء الاستخلاص، ينتشر المذيب في المادة النباتية ويذيب المركبات التي لها قطبية مشابهة. يعتمد الأسلوب الدقيق لعملية الاستخلاص بشكل طبيعي على النسيج والمحتوى المائي للمواد النباتية المستخلصة وعلى نوع المادة التي يتم عزلها.

المعايير الأساسية المؤثرة على جودة المستخلص هي: الجزء النباتي المستخدم للاستخلاص، المذيب المستخدم. طريقة الاستخلاص.

- ✓ **تعتمد طريقة الاستخلاص على** مدة الاستخلاص، درجة الحرارة، طبيعة وتركيز المحل، طول مدة الاستخلاص، المحل المستخدم، PH المحل، حجم حبيبات المسحوق، نسبة العينة للمحل. القطبية (إذا كانت القيمة العلاجية تكمن في مكونات غير قطبية أو بيولوجية، فيتم استخدام مذيب غير قطبي. على سبيل المثال، إذا كانت المكونات النشطة هي غليكوزيدات، فيجب استخدام مذيبات قطبية مثل ميثانول مائي. وترتبط القطبية بوجود مجموعات محبة للماء أو الدسم)
- ✓ **اختيار المحلات Choice of solvents: يجب أن يتمتع المحل الجيد بـ:**
  - منخفض السمية
  - سهل التبخر في درجة حرارة منخفضة
  - الامتصاص السريع للمستخلص.
  - عدم التأثير على طبيعة المركبات داخل النبات عبر تشكيل معقدات.

1- **ولعل من أهم العوامل المؤثرة على اختيار المذيب هي:**

- كمية المواد الكيميائية النباتية المراد استخلاصها.
- معدل الاستخلاص. تنوع المركبات المختلفة المستخلصة
- سهولة المعالجة اللاحقة للمقتطفات.
- سمية المذيب في العمليات الحيوية.
- المخاطر الصحية المحتملة من المستخلصات.

من أهم المحلات المستخدمة في الاستخلاص: Water، Ethanol، Methanol، Chloroform ، Ether، Acetone.، ويبين الجدول التالي اهم المحلات والمركبات التي تذوب في كل منها.

Table 1: Solvents used for active component extraction

Water	Ethanol	Methanol	Chloroform	Ether	Acetone
Anthocyanins	Tannins	Anthocyanins	Terpenoids	Alkaloids	Phenol
Starches	Polyphenols	Terpenoids	Flavonoids	Terpenoids	Flavonols
Tannins	Polyacetylenes	Saponins		Coumarins	
Saponins	Flavonols	Tannins		Fatty acids	
Terpenoids	Terpenoids	Xanthoxyllines			
Polypeptides	Sterols	Totarol			
Lectins	Alkaloids	Quassinoids			
		Lactones			
		Flavones			
		Phenones			
		Polyphenols			

ملاحظة: يعتبر مزيج كحول/ ماء بنسب متفاوتة) المذيب الأفضل للمواد القطبية والتي تعطي مردود استخلاص عال، ويرجع ذلك إلى نطاق القطبية الموسع الخاص به.

طرق الاستخلاص والفصل METHODS OF EXTRACTION AND ISOLATION

توجد عدة طرق للاستخلاص تختلف حسب الجزء النباتي وحسب الطبيعة الكيميائية للمكونات وطبيعة تواجدها سواء بحالة حرة أو مرتبطة خاصة وان النبات يحتوي مزيجاً من المكونات.

I-الاستخلاص بالتوزع بين سائل وصلب: في هذا الاستخلاص يجب مراعاة بعض الأمور:

- نعومة العقار
- يتشكل أثناء عملية الاستخلاص جو مركز من المادة حول كل جزء من العقار. لذلك لابد من:
  - التحريك المستمر
  - أو استبدال سائل الاستخلاص

1- التعطين Maceration: للخلاصات السائلة وهو وضع العقار في الماء بدرجة حرارة الغرفة مدة 8 أيام مع التحريك من حين لآخر في وعاء مغلق محكم بعيداً عن الضوء ثم يرشح.

ويستحسن تكرار التعطين بسائل استخلاص جديد من أجل مردود أفضل. ينتهي الاستخلاص عندما يحدث توازن بين تركيز المركبات في الخلاصة وتركيزها في العقار. بعد الانتهار من لاستخلاص ترشح الخلاصة وتبخر.

مساوئ التعطين: 1- طول الوقت 2- تأثر المواد الفعالة بالوسط المائي (حلمهة،...)

2-الهضم Digestion:

تتم عملية الهضم بدرجة حرارة 40-50 درجة مئوية في سائل ثابت مع تحريك متكرر وشديد ضمن وعاء مغلق بعيداً عن الضوء لفترة زمنية معينة.

مساوئه: أكثر من مساوئ التعطين نظراً لأن رفع درجة الحرارة إلى 40 ينشط الأنزيمات.

ميزاته:

- يتسرع انتشار وتوزع المركبات الكيميائية بالحرارة بالإضافة للتحريك وذلك سيقصر زمن الاستخلاص.
- يمكن تحويل بعض المركبات إلى أخرى أكثر فائدة بفعل الأنزيمات.

3- الاستخلاص تحت مبرد صاعد: وهذه الطريقة تساعد في الاحتفاظ بكمية السائل الاستخلاصي (خاصة الطيار منها).

4- التزحيل Percolation:

عملية استخلاص مستمرة بسائل متجدد بدرجة حرارة الغرفة. تعتمد هذه الطريقة على وضع العقار في عمود زجاجي عريض (يشبه الستالة) منتهي بصنبور، ويسد بقطنة من أسفله.

يوضع العقار في الأنبوب بعد ترطيبه بسائل الاستخلاص، وفوقه ورقة ترشيح، ويجب الانتباه لمنع تشكل الفجوات ضمن العمود. ثم يصب سائل الاستخلاص مع الانتباه لعدم تحرك أجزاء العقار. وعند وصول أولى قطرات الاستخلاص لأسفل العمود يغلق الصنبور ويترك نحو 12

ساعة. ثم يفتح الصنبور ويترك مفتوحاً بحيث يخرج سائل الاستخلاص بشكل منتظم وهادئ. ويمكن الاستدلال على نفاد المادة الفعالة من خلال إجراء تفاعلات كشف أو بعمل استشراب على الطبقة الرقيقة TLC.

من شروط نجاح هذه الطريقة الحفاظ على توزان الطور الثابت، والا يكون العقار ناعم.

مساوئها: طول مدة الاستخلاص، استهلاك كميات كبيرة من المحلات

ميزاتها:

- إمكانية استخدام سوائل استخلاص مختلفة أو مزيج من سوائل استخلاص.
- عدم استخدام حرارة يمكن أن تخرب المواد الفعالة.

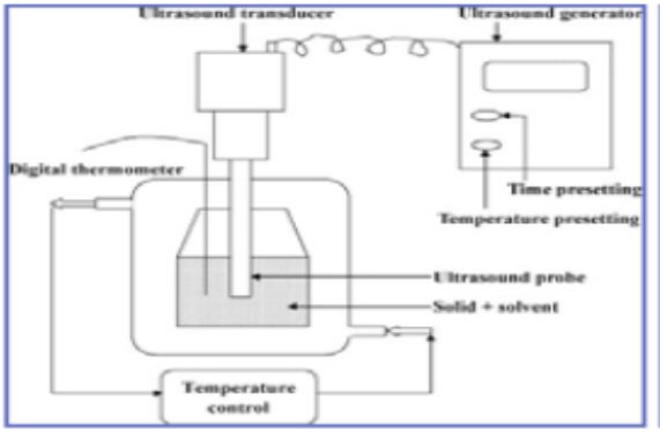
5- الاستخلاص بجهاز الأمواج فوق الصوتية Ultrasound Extraction (Sonication)

يتضمن الإجراء استخدام الموجات فوق الصوتية مع ترددات تتراوح من (20 2000 kHz-)؛ هذه الطريقة تزيد من نفاذية جدران الخلايا وتسبب حدوث فراغات بين الخلايا. على الرغم من أن العملية مفيدة في بعض الحالات مثل استخلاص جذور الروالفيا Rauwolfia، وتطبيقها على نطاق واسع (تستخدم لاستخلاص كميات صغيرة من المواد) محدودة بسبب ارتفاع التكاليف.

ميزاتها:

1-اختزال كمية المحلات واختصار الوقت

2. قدرة المحل على اختراق سريع للنسج النباتية بسبب الفراغات الكبيرة المتشكلة نتيجة تخرب النسج النباتية والخلايا وبالتالي انحلال كمية أكبر من المكونات الفعالة وبالتالي مردود استخلاص أكبر.



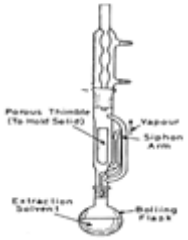
مساوئ الطريقة: تأثير طاقة الموجات فوق الصوتية (أكثر من 20 كيلوهرتز) على نشاط المكونات الفعالة من خلال تشكيل الجذور الحرة وبالتالي تغيرات غير مرغوب فيها في بنية المركبات.

6-الاستخلاص حسب سوكسليه Soxhlet:

وهي عملية استخلاص مستمر دون انتظار وتشبه التزحيل لكنها تتم بحرارة مرتفعة.

مساوئها:

- حدوث ترسب للمواد المستخلصة على جدران الحوجلة.
- تعرض الخلاصة لحرارة مرتفعة نسبياً.
- يتم تخلخل وتغلغل سائل الاستخلاص ضمن مسحوق العقار بصعوبة أحياناً.



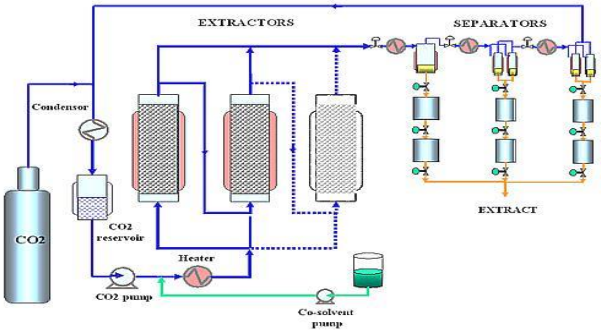
(جهاز سوكسيليه)

Soxhlet extraction	Sonification	Maceration	
Common Solvents used	Methanol, ethanol, or mixture of alcohol and water	Methanol, ethanol, or mixture of alcohol and water	Methanol, ethanol, or mixture of alcohol and water
Temperature (°C)	Depending on solvent used	Can be heated	Room temperature
Pressure applied	Not applicable	Not applicable	Not applicable
Time required	3–18 hr	1 hr	3–4 days
Volume of solvent required (ml)	150–200	50–100	Depending on the sample size

A brief summary of the experimental conditions for various methods of extraction for plants material

7-الاستخلاص بالغازات السائلة: يمكن استخلاص المواد الدسمة من العقاقير لهذا يستعمل غالباً غاز CO_2 بدرجة حرارة فوق 13,3 درجة مئوية وضغط يزيد على73 بار، وعند رفع الضغط إلى 200 بار يتحول الغاز لسائل يستخلص المواد الدسمة، ثم وبالهبوط بالضغط إلى الضغط العادي يتحول السائل إلى غاز ثانية تاركاً المواد الدسمة.

مساوئها: الجهاز مكلف: بسبب الحاجة لأوعية ومراشح وضاغطات متحملة للضغط.



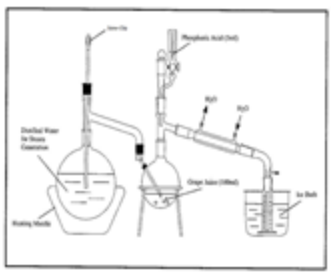
8-الاستخلاص بالتقطير Distillation methods :

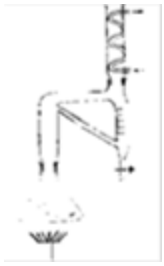
أ- التقطير بالماء Water distillation (جهاز كلافينجر)

تعتمد هذه الطريقة على أن السوائل التي لا تختلط مع الماء والتي تغلي في درجات حرارة عالية، تتقطر بسرعة وبدرجات حرارة أخفض بكثير من درجة غليانها الأصلية عند غليانها مع الماء. وتستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت الطيارة الأقل كثافة من الماء فيطفو الزيت فوق الماء، أو الزيوت الأعلى كثافة من الماء وهي قليلة لندرة الزيوت الثقيلة الطيارة. وعيب هذه الطريقة أنها تعرض الزيت أثناء استخلاصه لدرجة عالية من الحرارة تؤدي إلى تغيير لونه ورائحته مما يقلل من قيمته التجارية . هذه الطريقة من أفضل الطرق لاستخلاص زيت النربنتين turpentine oil.

ب-**التقطير بالبخار Stem distillation**: تستعمل هذه الطريقة في حالة النباتات المجففة أو الطازجة، الورقية أو البذرية أو الثمرية المجففة المجروشة أو المطحونة التي تتأثر بالغليان المباشر في وجود الماء، وهذه الطريقة تختلف عن طريقة التقطير بالماء في وجود مصدر منفصل يجهز فيه بخار الماء (مولد البخار) ثم يمرر هذا البخار إلى الوعاء الذي يحتوي على المادة النباتية التي يغمرها الماء.

ففي بعض العقاقير مثل القرفة *Cinnamomum*أو القرنفل *Eugenia caryophyllata* يسحق العقار أو يطحن ثم يغطى بطبقة من الماء ويمرر بخار الماء في هذا المزيج المنقوع. تستكمل عملية التقطير هذه كعملية التقطير بالماء تماماً. أما في حالة تقطير النباتات الطازجة كالنعناع *Mentha* وغيره من النباتات التي توجد زيوتها الطيارة في الأوراق مباشرة. فليس هناك حاجة لغمر المادة النباتية بالماء نظراً لاحتواء المادة النباتية على الماء ووجود نسبة من الرطوبة. حيث يقوم الماء أو بخاره بحمل الزيوت الطيارة من داخل الأنسجة النباتية باتجاه المكثفات ثم إلى مصيدة الزيت حيث يمكن فصلها. بعد التقطير يتبقى ماء عطري له أهمية صناعية (مستحضرات التجميل الجلدية) وعلاجية. وذلك بهدف الحصول على الزيوت العطرية الطيارة.





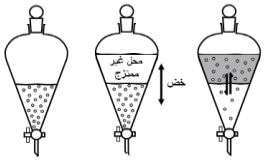
II-الاستخلاص بالتوزع بين سائلين:

ونلجأ لهذا النوع من الاستخلاص عند وجود المادة المطلوب استخلاصها في طور سائل.

شروطها:

- وجود سائلين غير ممزوجين مع بعضهما، ولهذه المادة نسبة انحلال مختلفة وبالتالي إمكان حدوث توزع.

- الانتباه إلى كثافة السوائل المختلفة (جدول خاص).
- أن تكون قطبية سائل الاستخلاص مناسبة لقنص المواد لمراد دراسته
- أفضل أداة للاستخلاص بالتوزع بين سائلين هي حبابة الإبانة.



ملاحظة: وجد أن الاستخلاص المتكرر بمقادير قليلة من سائل الاستخلاص أكثر فعالية وجدوى من الاستخلاص لمرة واحدة بمقدار كبير من سائل الاستخلاص.

❖ **تكثيف وتبخير الخلاصات:** غالبية المذيبات العضوية سامة وينظم وجودها في الأدوية بقوانين لذلك يجب تقليل تركيز المذيبات في المنتج النهائي إلى 2530 جزءًا في المليون.

يتم التبخير باستخدام جهاز مبخر دوار Rotary evaporation والذي يعمل تحت ضغط منخفض:

- يسهل طرد السائل الحامل.
- يخفف درجة الحرارة اللازمة للتبخير وبالتالي يحد من تخرب المواد المستخلصة.
- يمكن ضبط درجة الحرارة حسب المحل المستخدم.

استخلاص المواد الفعالة من النباتات باستخدام المذيبات:

يتم هذا الاستخلاص إما باستخدام مذيبات متدرجة القطبية على الجزء من النبات المراد استخلاص المواد الفعالة منه، أو بالحصول على خلاصة كحولية مائية تحتوي على كافة المواد الكيميائية المتواجدة في الجزء المستخدم من النبات ومن ثم تطبيق الاستخلاص باستخدام مذيبات متدرجة القطبية.

يتم استخدام مذيبات متدرجة القطبية (من القطبية الأقل إلى الأكثر) كما في الجدول التالي:

المذيب	الزمر الوظيفية المستخلصة
هكسان	زيوت طيارة –مواد دسمة – ستيرولات
ثنائي كلورميتان	ستيرولات
كلوروفورم	ستيرولات – كومارينات حرة – فلافونوئيدات (تحوي جذر الميتيل) غليكوزيدات قلبية حرة – صابونينات حرة
خلات الإيتيل	فلافونوئيدات غليكوزيدية وحرة – غليكوزيدات قلبية صابونينات (عدد جزيئات السكر فيها قليل)
بوتانول	صابونينات
ميتانول	فلافونوئيدات غليكوزيدية
ميتانول/ ماء	صابونينات – سكريات

بعد عملية الاستخلاص والحصول على خلاصات جافة ومركزة تجري العمليات التالية عليها:

1–تجزئة الخلاصة النباتية Fractionation of plan extract

بعد تجفيف المستخلصات النباتية، نلجأ إلى تجزئة الخلاصة الخام بهدف تسهيل دراسة وعزل وتنقية المركبات الفعالة المرغوب بفصلها حيث يتم تجزئة الخلاصة الخام إلى عدة أجزاء صغيرة

يجرى لها اختبارات TLC باستخدام كواشف معينة للمركب الفعال نستطيع من خلالها تحديد الأجزاء التي يتواجد فيها المكون الفعال بكميات كبيرة. تجمع الأجزاء مع بعضها وتخضع لعملية تنقية Purification باستخدام احد التقنيات الكرماتوغرافية المناسبة.