الترقيم الدولي ٨٦٩٠ - ١٩٩١ ISSN 1991- 8690
Website: http://jsci.utq.edu.iq Email: utjsci@utq.edu.iq

عزل و تشخيص مركب الفايسين من نبات عباد الشمس

جبار دهري نعمه

جامعة البصرة - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية عزل و تشخيص مركب الـ Vicine والذي يعود الى مجموعة الكلايكوسيدات الفينولية من بذور زهرة عباد الشمس *Helianthus* ومقارنته مع مادة الفايسين القياسية وبعد عزل المركب من النبات بينت بعض الكشوفات النوعية ان المركب من الكلايكوسيدات الفينولية.

تم عزله و أظهر المركب المعزول بأستعمال كرومتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) بشكل بقعة مفردة ، كما شخص المركب بتعيين درجة الأنصهار (MP) وطيف الأشعة فوق البنفسجية (U.V.) وطيف الأشعة تحت الحمراء (IR) إذ تشابه المركب المعزول مع الفايسين القياسي .

المقدمة

هنالك العديد من النباتات التي تسبب مرض فقر الدم الباقلائي التحللي (Favism) والانزيم المسؤول عنهُ Glucose-6-Phosphatase Dehydrogenase (G6PD) ومنها بذور نبات عباد الشمس *Helianthus annus* L. الذي يعود للعائلة المركبة Asteracea (Compositae) والذي يحوي على العديد من المركبات الفعالة منها القلويدات ، الكلايكوسيدات ، التانينات ، الراتنجات و الفلافونيدات وغيرها من المركبات الاخرى واعراض مرض فقر الدم الباقلائي تاتي من تناول عقاقير علاجية او التعرض الى عوامل مؤكسدة مثل الفايسين (الكلايكوسيد الفينولي) في بذور نبات عباد الشمس واوراق الكجرات و اوراق الحناء وغيرها من النباتات الاخرى (Mehta وجماعته ، ٢٠٠٠) .

تظهر الأعراض بهذا المرض بشكل خاص لدى الأشخاص الذين يعانون من نقص حاد في انزيم (G6PD) وهو أول انزيم يدخل في سلسلة تفاعلات تكسير Glucose-6-Phosphate بأنتاج الطاقة في جسم الأنسان بما فيها كريات الدم الحمراء ومن شأن هذه السلسة انتاج Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH) والذي يسمح بأختزال الكلوتاثايون . أختزال الكلوتاثايون يستفاد منه بواسطة الكلوتاثايون بيروكسيديز والذي يزيل البيروكسيد من كريات الدم الحمراء و NADPH ايضاً يتفاعل مع الكاتالاز الغير منشط والذي يحول بيروكسيد الهيدروجين الى الماء و الاوكسجين (Beutler ، ١٩٩١).

العديد من الدراسات اجريت في هذا المجال منها (Ramadan ، ١٩٩٨) التي اجري فيها مسح لعدد

من المصابين بفقر الدم الباقلائي والذين يتناولون الباقلاء اذ اظهرت نتائج الدراسة علاقة المرض بنوع الغذاء المتناول بسبب كون البذور تحوي مركب الفايسين .

من الدراسات التي اجريت في هذا المجال دراسة (Jones ، ٢٠٠٤) الذي بين ان مركب الفايسين الموجود في عباد الشمس يشبه التانين الموجود في الحناء من حيث عمله كعامل مؤكسد لكريات الدم الحمراء والتي تعد عوامل مؤكسدة مما يؤكد تاثير بذور عباد الشمس على مرضى انيميا الفول بسبب تحليلها لكريات الدم الحمراء.

ونظراً لقلة الدراسات في منطقتنا التي تتناول تشخيص النبات الحاوي على العوامل المؤكسدة والمسبب لظهور اعراض هذا المرض على الرغم من ارتفاع نسب المصابين في المنطقة ، لذلك هدفت الدراسة الحالية الى :-

١- تحديد احد النباتات الحاوية على هذه السموم والتي ينصح بعدم تناولها من قبل المصابين للوقاية من ظهور فقر الدم الباقلائي

٢- عزل و تشخيص مركب الفايسين .

المواد و طرائق العمل

1-جمع بذور نبات الدراسة

تم جمع بذور نبات عباد الشمس *Helianthus annus* L. من الأسواق المحلية في البصرة .نقلت البذور الى المختبر وغسلت بالماء المقطر المعقم ثم وضعت على اوراق ترشيح Whatman No-15،وعرضت لتيار هوائي مناسب بدرجة حرارة الغرفة 25م° حتى جفت ،وكانت تقلب بصورة مستمرة لمنع تعفنها (المياح ، ٢٠٠١)

٢- تشخيص النبات

شخصت بذور نبات عباد الشمس من قبل الاستاذ الدكتور عبد الرضا اكبر علوان المياح في قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة البصرة .

٣- تهيئة النباتات للدراسة

طحنت البذور بدون قشور بمطحنة كهربائية Electric mill (Moulinex)وحفظت في أوعية زجاجية محكمة الغلق معتمة في الثلاجة بدرجة حرارة 4م° لحين الإستعمال .

٤-تحضير المستخلص الكلايكوسيدي

تم استخلاص و عزل كلايكوسيد الفايسين وفقاً لطريقة (Gayon، 1972) حيث تم وزن ٢٠ غم من مسحوق البذور الجافة واضيف لها ٣٠٠ مل من ٢% حامض الخليك ، سخن الخليط في حمام مائي لمدة ٨ ساعات ثم رشح المستخلص المائي واضيف للراشح كحول البيوتانول المشبع بكلوريد الصوديوم ووضع المزيج في قمع فصل اذ ظهرت طبقتان اهملت الطبقة العليا الكحولية و اخذت الطبقة السفلية المتمثلة بالماء المحمض والكلايكوسيد المستخلص من بذور عباد الشمس وجفف في طبق بتري زجاجي لمدة ٢٤ ساعة وحفظت في اوعية زجاجية معتمة في الثلاجة لحين الاستعمال .

٥- الكشوفات النوعية لمركب الفايسين

أجريت عدة كشوفات نوعية للتعرف على التركيب الكيميائي للفايسين المعزول وشملت الكشف عن القلويدات (دراكندروف)، الكلايكوسيدات، الصابونينات (كلوريد الزئبقيك ١ %)، الفلافونيدات (هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي) ، التانينات(خلات الرصاص ١ %)،الراتنجات،الفينولات(كاشف فولن)، كشف اليود ،الكشوفات عن عدم التشبع (كشف البروم) الكشف عن الأوكسجين والصهر مع الصوديوم (Trease و Evans ، ١٩٧٣

; Harborn,;١٩٨٤; وAdedayo وجماعته ، ٢٠٠١) .

٦- الاختبار النوعي للفايسين بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

تم اختبار نقاوة الفايسين المعزول من المستخلص الكلايكوسيدي لبذور نبات عباد الشمس *Helianthus annus* L. بإستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وبأستخدام النظام التصعيدي (Butanol:Acetic acid:Water) بنسبة(٧:١:٤). (Harborn،١٩٨٤).

٧- تشخيص الفايسين

أُستخدمت طرائق كيميائية وفيزيائية لأجراء هذا التشخيص

ا- درجة الأنصهارMelting point وبعض الأختبارات الأولية :-

قيست درجة الأنصهار للفايسين المعزول بإستخدام جهاز Gallenkamp thermal point apparatus كما أجريت بعض الأختبارات الأولية مثل كشف الحرق Ignition وكشف الذوبانية Solubility test .(انتريكين وكيرونيز، ١٩٨٣).

ب- أطياف تحت الحمراء Infrared spectra

سجلت أطياف تحت الحمراء للفايسين المعزول بتقنية أقراص بروميد البوتاسيوم (KBr discs) في المنطقة المحصورة بين(٤٠٠٠-٥٠٠) سم$^{-1}$ بوساطة جهاز FTIR-84005 Fourier Transform Infra Red Spectrophotometer,Shimadzu,Japan الموجود في كلية العلوم / قسم علوم الكيمياء وبدرجة حرارة المختبر .

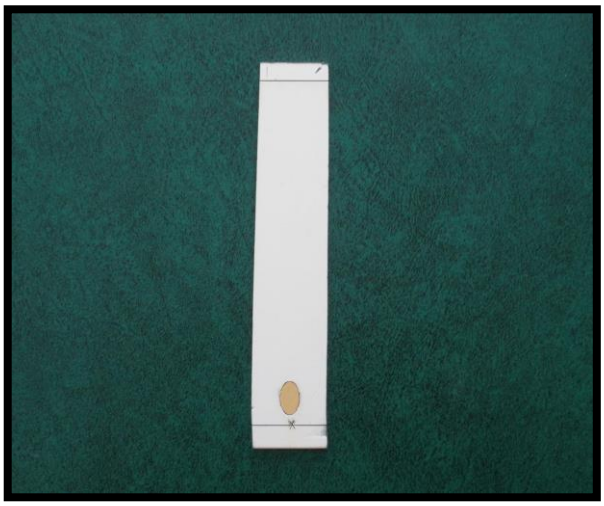
ج- الأطياف الألكترونية Electronic spectra

سجلت هذه الأطياف في المنطقة فوق البنفسجية للفايسين المعزول بإستخدام جهاز Heliosαv4.60UV-visibleSpectrophotometer,England. الموجود في قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة البصرة في المنطقة المحصورة بين (٢٠٠-٤٠٠) نانومتر وأستخدمت خلية من الكوارتز طول مسارها ١ سم وبدرجة حرارة المختبر . واستخدم الايثانول للقياسات في هذه المنطقة وكانت التراكيز المستخدمة 0.005غم / ٥ مل مذيب الايثانول. (Schwedt،١٩٩٧) .

النتائج و المناقشة

١- الاختبار النوعي للفايسين بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

تم الاختبارالنوعي للفايسين المعزول باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة واظهرت ان المادة الفعالة هي عبارة عن مركب واحد نتيجة لظهور بقعة واحدة تعود للكلايكوسيد (الفايسين) وبمعدل جريان R_f بلغ (٠.٢٥) وباستخدام نظام تصعيدي (بيوتانول : حامض خليك : ماء) وبنسب ٥:١:٤ كما مبين في الصورة (١) وكان مشابهاً للمركب الكلايكوسيدي القياسي (الفايسين) والذي بلغت قيمة الـ R_f له (٠.٢٥) وهذه النتيجة تمكننا مبدئياً من القول ان هناك تشابه بين الفايسين المستخلص و القياسي (Dutta وجماعته ، ١٩٨١)



صورة (١):كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للفايسين

٢- تشخيص مركب الفايسين

أجريت الكشوفات النوعية على مركب الفايسين المعزول وعينت بعض الأختبارات الأولية لهما مثل كشف الحرق والذائبية وكما موضح في الجدول (١)

جدول (١) الكشوفات النوعية وبعض الأختبارات الأولية لمركب الفايسين

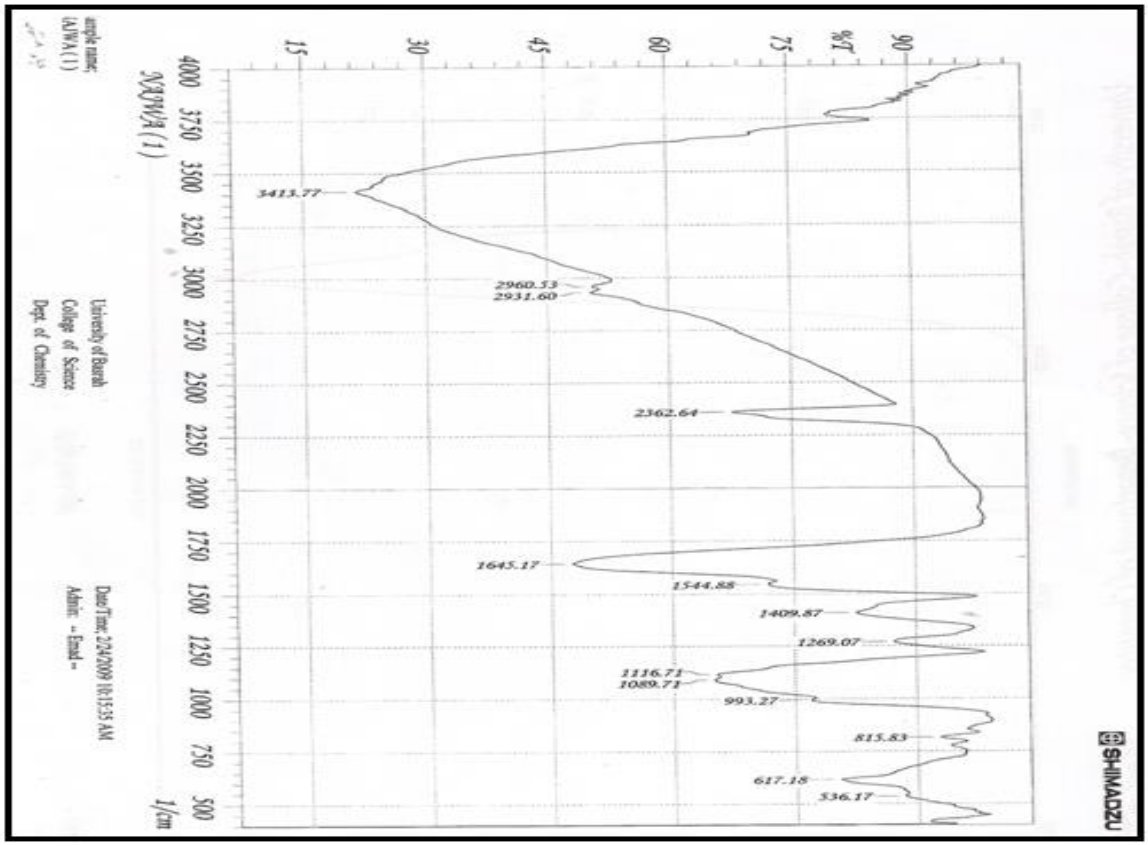
ت	الكشوفات النوعية	مركب الفايسين
١	كشف اليود I	اصفر
٢	اللون بالعين المجردة	اصفر باهت
٣	الكشف عن القلويدات	-
٤	الكشف عن الكلايكوسيد	
أ	قبل التحلل	+
ب	بعد التحلل	+
٥	الكشف عن الصابونين	-
٦	الكشف عن الفلافونيدات	-
٧	الكشف عن التانينات	-
٨	كشف النهيدرين 1%	-
٩	الكشف عن الفينولات	+
١٠	كشوفات عدم التشبع	
أ	كشف البروم	+
١١	الكشف عن الأوكسجين	+
١٢	الصهر مع الصوديوم	
أ	الكشف عن الكبريت	-
ب	الكشف عن النتروجين	+
١٣	بعض الأختبارات الأولية	
أ	كشف الحرق	تحترق بلهب أزرق مع تولد دخان أبيض وتخلف كاربون اسود
ب	كشف الذائبية	ذائبة في الثنائي مثيل سلفوكسايد , الماء ,البيوتانول , حامض الخليك,الايثانول , الميثانول و الايثر

لاحظ من الجدول(١) أن المركب أعطى كشف سالب للفلافينويدات، تانينات قلويدات صابونين وموجب للفينولات والكلايكوسيدات و تمتاز هذه المركبات بأحتوائها على مجموعة هيدروكسيل (O-H) واحدة أو أكثر (Gayon، 1972). و يسند وجود هذه المجموعة الفعالة الكشف الموجب عن الأوكسجين، و كشف الحرق للمركب إذ أن تولد دخان أبيض عند احتراقه و تخلف كاربون أسود يدل على أن لهما تركيب اروماتي غير مشبع و واحتراقه بلهب أزرق يدل على أن المركب حاوي على الأوكسجين ، كذلك أكد كشف البروم التركيب غير المشبع له(Criddle و Ellis ، ١٩٩٤) . كذلك يتبين من الجدول ذائبيته في المذيبات القطبية مما يؤكد انه مركب قطبي كما ان كشف منصهر الصوديوم بين وجود عنصر النتروجين .كذلك اظهر الفايسين المستخلص كشوفات كيميائية موجبة عن مجموعة الامين، ، والايثر اما درجات الانصهار

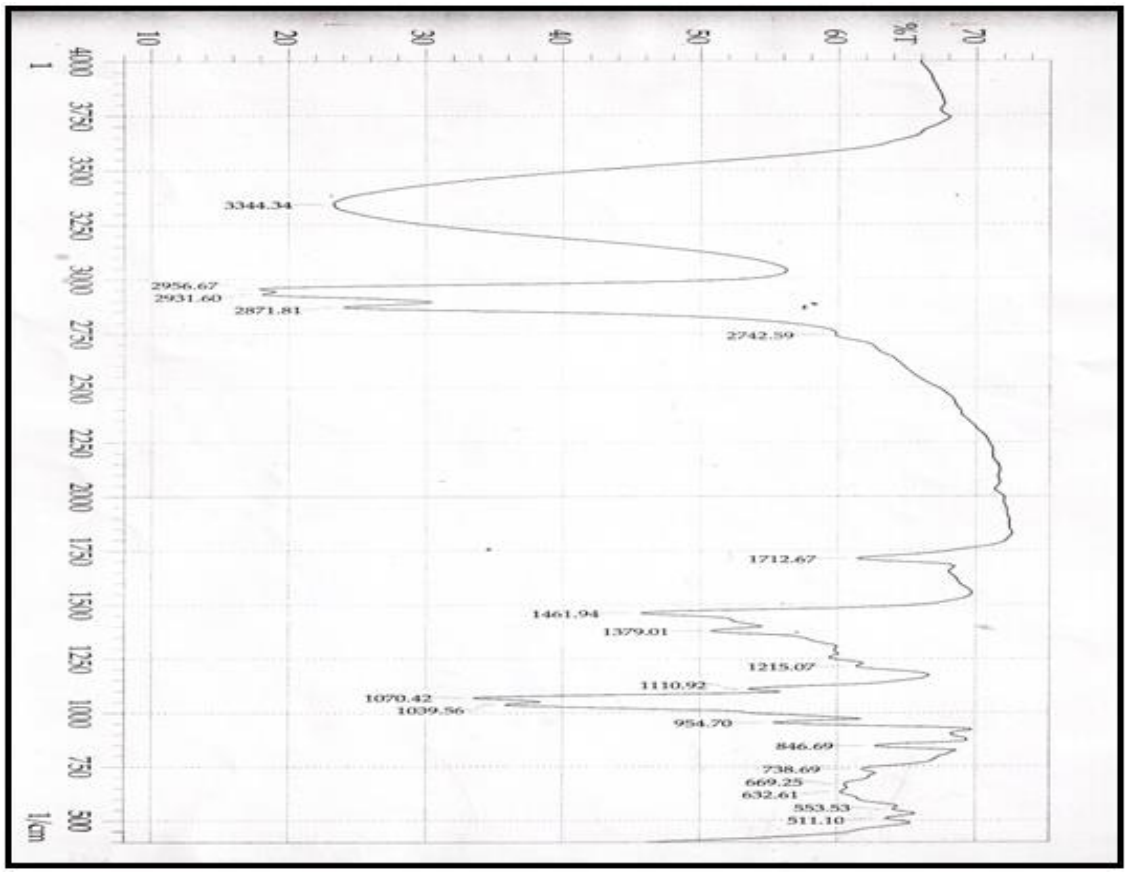
للفايسين المعزول (١٥٤-١٥٦) مْ وهو مقارب لدرجة انصهار المركب القياسي الفايسين البالغة (١٥٤). .كما اظهر ذائبية في كل من الماء ، الميثانول، الايثانول، ، ثنائي مثل اوكسيد الكبريت، وذائب في الايثر.

طيف تحت الحمراء للفايسين

سجل طيف تحت الحمراء للمركب الفايسين المستخلص و القياسي الشكلين (١) و(٢) على التوالي و الجدول (٢) اهم حزم الامتصاص للاطياف الناتجة والمجاميع التركيبية العائدة لها (Silverstein وجماعته ، ١٩٩١)



شكل (١) طيف المنطقة تحت الحمراء للفايسين المستخلص



شكل (٢) طيف المنطقة تحت الحمراء لمركب الفايسين القياسي (Duta وجماعته ،١٩٨١)

جدول (2) : مواقع اهم حزم الامتصاص و المجاميع التركيبية العائدة لها في طيف الاشعة تحت الحمراء لكل من الفايسين المعزول و القياسي

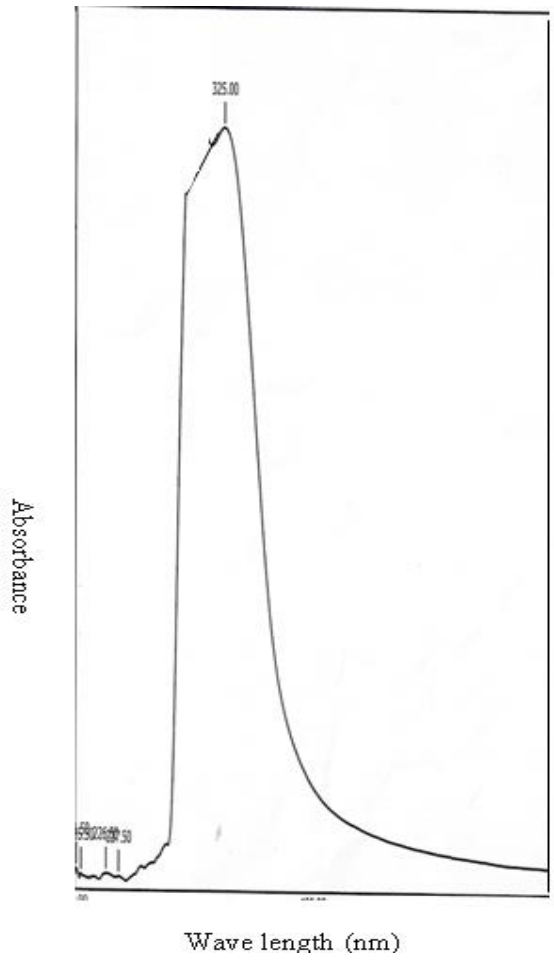
BAND SHAPE AND FREQUENCY (CM^{-1})		ASSIGNMENT.
Standard vicine	**Extracted vicine**	
3344(S)	3413 (S)	O-H Str. vib N-H Str. Vib.
2956,2931 (W)	2960 , 2931 (w)	C-H Str. Vib.
1215(W)	1269(W)	C-N bend. Vib.
1110(W)	1116 (M)	O-CH_2 Str. Vib
1461(M)	1409(W)	C-O-C Str. Vib
1070(M)	1089(M)	C-O-C Bending. Vib. O-H bending . vib. N-H bending. Vib.

W= weak m= medium s= strong str= stretching vib= vibration

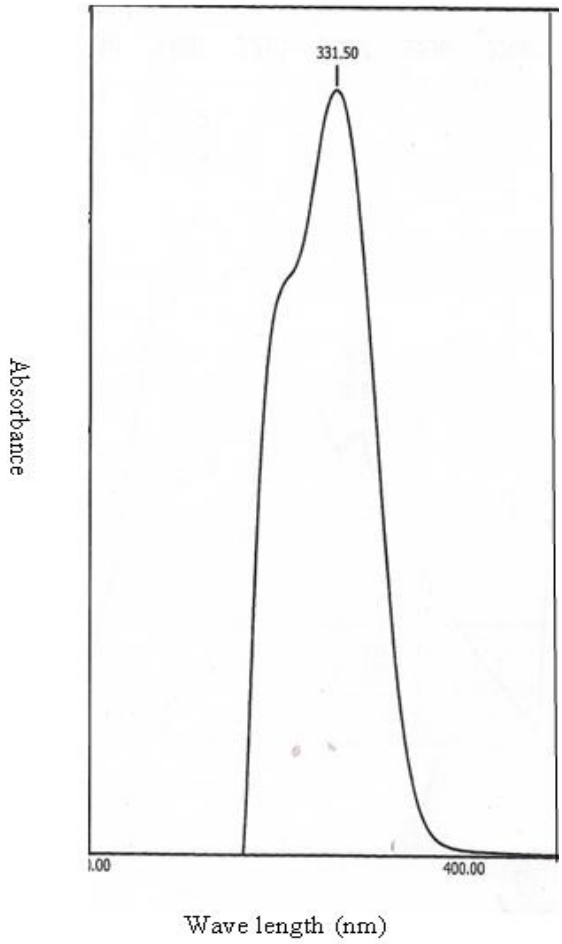
فسر طيف تحت الحمراء للفايسين المستخلص من *Helianthus annus* كما مبين في الجدول (٢) والشكل (١) اعتماداً على (Silverstein وجماعته، ١٩٩١) لوحظ وجود تشابه في القمم الاساسية بين الفايسين المستخلص والقياسي (Dutta وجماعته ، ١٩٨١) .

الاطياف فوق البنفسجية

ويوضح الشكل (3)طيف الاشعة فوق البنفسجية للفايسين المعزول باستخدام مذيب الايثانول من بذور عباد الشمس اذ يلاحظ ظهور حزمة امتصاص عند الطول الموجي٣٢٥ نانوميتر ,ناتجة عن حدوث انتقالات الكترونية من نوع ($\pi \rightarrow \pi^*$)في المركب وهذه القمة مشابهة لما اظهره الفايسين القياسي شكل (٤) كما اشار Lambert وجماعته (١٩٨٧) بوجود حزمة امتصاص عندالطول الموجي ٣٣١ نانومتر عائدة لنفس النوع من الانتقالات .



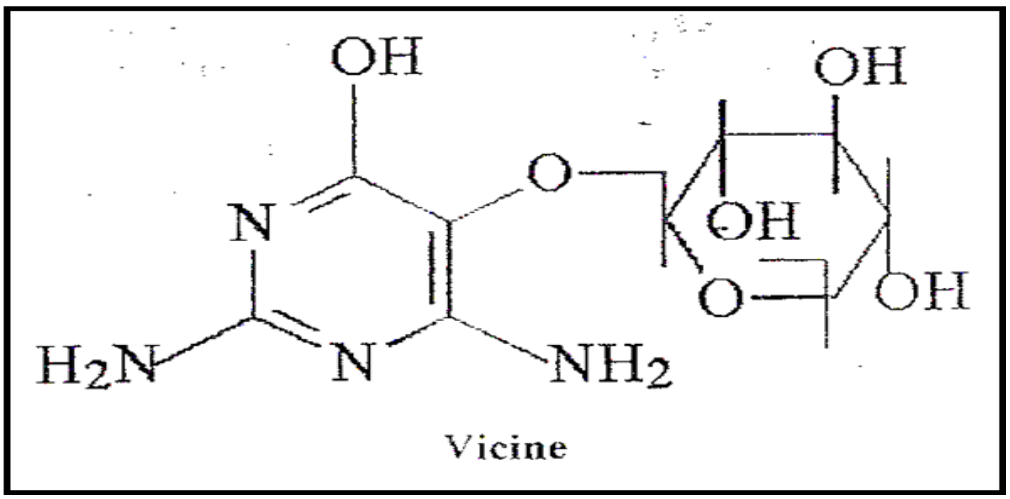
شكل (٣) طيف المنطقة فوق البنفسجية لمركب الفايسين المعزول في مذيب الايثانول وبدرجة حرارة المختبر



شكل (٤) طيف المنطقة فوق البنفسجية لمركب الفايسين القياسي في مذيب الايثانول(Duta وجماعته ،١٩٨١)

٣- استنتاج التركيب الكيميائي للفايسين المستخلص

اعتماداً على نتائج الكشوفات النوعية ودرجة الانصهار و كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ومطيافية المنطقة فوق البنفسجية و تحت الحمراء التي اجريت على مركب الفايسين المعزول من بذور نبات عباد الشمس وبعد مقارنتها مع نتائج الفايسين القياسي المعزول من نفس النبات شكل (٥) تبين ان المركب المعزول هو الفايسين



شكل (٥) : مركب الفايسين القياسي

المصادر

انتريكين، جون ب وكيرونيز، نيكولاس د (١٩٨٣). تشخيص المركبات العضوية. ترجمة د. موفق ياسين شندالة ود. روعة غياث الدين صالح. جامعة الموصل.

المياح،عبدالرضا أكبر علوان (٢٠٠١). النباتات الطبية والتداوي بالأعشاب. الطبعة الأولى، مركز عبادي للدراسات والنشر، صنعاء. ٢٩١ صفحة.

Adedayo , O. ;Anderson , W.A. ; Moo-Young , M. ; Sncickus , V. ; Patil , P.A. & Kolawole , D.O. (2001) . Phytochemistry and antibacterial activity of *Senna alata* flower.Pharmaceutical Biology.39: 1-5 .

Beutler , E.(1991). Glucose -6-phosphate dehydrogenase deficiency.N Eng. J.Med.324:169-7

Criddle , W.J. & Ellis , G.P. (1994) .Spectral and chemical characterization of organic compounds : Laboratory Hand book . 3th ed. John Wiley and Sons , Chichester . New York. Brisbane. Toronto. Singapore.Pp 1-62.

Dutta , P.K. ; Chakravarty ,A.C; Chowdhury , U.S and Pakrashi ,S.C.(1981). Vicine , afavism – Inducing Toxic from *Momordica charantia* Linn. Seeds .Indian.J.of chemistry . 20 : 669-671.

Fried , B. and Sherman , J.(1986). Thin-Layer Chromatography , Techniques and Application . Chromatographic

Mirfazaelian , A. (2002) . A quantitative thin layer chromatography method for determinatron of theophylline in plasma. J. Pharmaceut. Sci. 5(2) : 131-134.

Ramadan ,A.A.(1998). Studies on the effect of some physiological factors on growth yield , metabolism and favism causative agent on *Vicia faba* plants .ph.D.Thesis , Mansoura Univ.Eygept.

Schwedt , G. (1997) . The essential guide to analytical chemistry. Translated by Brooks Haderlie. John Wiley and Sons . Chichester. New York . Weinhiin .Drisbane. Singapore. Toronto. 248p .

Silverstein , R., Bassler , M., and Morrill , T . (1991).Spectrometric identification of organic compounds . 5 th ed. John Wiley and Sons INC . New York , U.S.A.

Trease , E.J. & Evans , C.W. (1973) . Pharmacognosy . 10th ed. Bailiere tinball , London . 14 : 139-145.

Gayon , G.A. (1972) . Plant phenolic. Oliver and Boyed Edinburg .254 p.

Harborn , J.B. (1984) . Phytochemical methods a guide to modern techniques of plants analysis. 2nd ed. Chapman and Hall , London , New York . 288p.

Jones , C.C.(2004). Henna and Glucose - 6-phosphate dehydrogenase deficiency .the Encyclopedia of Henna .411-412 .

Lambert, J.B.; Herber, F.S.; Davied, L.; Graham-Cooks, R.(1987). .Introduction to organic spectroscopy .Macmillam Publishing Company London.Collier Macmillan Publisher , London.

Mehta , A. ; Mason , P.J. and Vulliamy , T.J.(2000). Glucose -6-Phosphatase deficiency . Baillie Best Pract Res Clin Haematol .13(1) : 21-38.

Isolation and identification of vicine from Helianthus annus L.

Jabbar Dehri Naema

Basrah University - College of Science - Biology department

ABSTRACT

The present study is included isolation & identification of vicine which backed to phenolic glycosides from *H.annus* L. seeds . The extracted vicine is compared with standard vicine. After isolation this compound some qualitative test have been carried out, These test showed that isolated compound is from phenolic glycosides. The isolated compound it showed one spot in T.L.C . It is also identified by melting point and UV and IR spectra.

The results of all above were showed similarity between both isolated compound and standard vicine .