استخلاص بعض المواد العضوية في نبات القريص وتشخيصها بتقنية GC-Mass كروماتوغرافيا الغاز – مطيافية الكتلة

زينب محمود عبد الله ، امل ناجي وادي و هادي كريم دحام
دائرة بحوث المواد ، وزارة العلوم والتكنولوجيا ، بغداد – العراق.

الخلاصة

تضمن البحث استخلاص عشبه القريص الكحولي (درجة حرارة الاستخلاص 40 م°). وفحص المستخلص الكحولي بتقنية مطيافية الأشعة تحت الحمراء FT-IR ومطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV وتقنية كروماتوغرافيا الغاز – مطيافية الكتلة، لتشخيص بعض المواد الفعالة مثل الأحماض العضوية ومواد عضوية نايتروجينية قاعدية، وفحص القابلية التثبيطية للمستخلص على بعض أنواع البكتريا *Pseudomones aeruginosa* , *Staph aurens* المسببة للإمراض الجلدية.

المقدمة

تعتبر النباتات مصدراً مهماً لصناعة العقاقير الطبية لوجود بعض المواد الكيميائية ذات الفعالية البايولوجية لذا أعتمدت في تحضير الكثير من الأدوية والعقاقير الطبية أثارت النباتات الطبية انتباه العلماء منذ فترة طويلة بعد انتشارأستعمالها كوسيلة علاجية لكثير من الحالات الطبية خاصة في السنوات الأخيرة عندما أتضح تأثيرها لتحضير الكثير من الأدوية والعقاقير الطبية لفعاليتها البايولوجية الدوائية وسرعة تأثيرها العلاجي ولقلة تأثيراتها الجانبية السلبية التي تحدثها الأدوية المصنعة كيميائيا، لذا أصبحت أفضل الوسائل العلاجية لكثير من الإمراض التي تصيب الجنس البشري [1].

درس العلماء بصورة مستفيضة في أقطار مختلفة من العالم العديد من المستخلصات النباتية لتوضيح المكونات الكيميائية المؤثرة وراثياً، وتعد الدراسات المتعلقة بهذا الموضوع ذات طابع مهم في جوانب المعرفة العلمية والتطبيقية،إذ برزت في الآونة الأخيرة دراسات متخصصة بالنباتات الطبية بعد كشف النقاب عن مكانتها في الطب الحديث فأولت منظمة الصحة العالمية أهمية كبيرة في توسيع استعمال الأدوية من المصادر النباتية بدلا من الأدوية المصنعة كيميائيا فكانت الدراسات التي قام بها العديد من الباحثين في المراكز البحثية، وكشفت عن الأهمية الكبيرة لبعض المستخلصات النباتية وأعطت للمهتمين فرصاً تم من خلالها التعرف على الكثير من التراكيب الكيميائية ذات الفعالية الطبية، تزايدت أهمية النباتات الطبية عندما اتضح دورها في حماية المادة الوراثية من تأثير الطفرات البيئية وقابلية مكوناتها على تصحيح الأخطاء الوراثية التي تحدثها هذه الطفرات.

القريص عبارة عن نبات عشبي حولي، عند لمس النبات يؤدي إلى تهيج الجلد، الأزهار خضراء بشكل عناقيد متدلية للأسفل. يوجد هذا النبات في أماكن مختلفة. مثلا على ضفاف السواقي، أطراف الغابات، الأراضي المهملة وبشكل خاص في المناطق الغنية بالمادة العضوية. إن اسم جنس هذا النبات URTICA مشتق من URO احرق أو يحرق إشارة إلى الأوبار اللاسعة التي تغطيه أما الاسم الإنكليزي الشائع له NETTLE فهو مشتق من الأنجلو ساكسون NOEDL وتعني إبرة، وقد استخدم لعلاج حالات السكتة الدماغية، الاحتقانات الجسمية والدماغية ولجذب الدم إلى سطح الجلد. وقد استخدم القرّيص في الطب العربي القديم استخدامات متعددة وكان يضاف بعد دقّه ومزجه مع الملح كعلاج موضعي للقروح الناتجة عن عض الكلاب والقروح الخبيثة والسرطانية والدبيلات والتواء العصب على شكل كمادات. وتوضع الأوراق المدقوقة في الأنف للرعاف[2]. أما المواد الفعّالة فيحوي نبات القرّيص على حامض الفورميك وهو حامض طيار يوجد بحالة حرّة في غدد الأوبار اللاسعة لهذه الأنواع وفي بعض النباتات وهو ذو رائحة حامضية كما في حامض الخليك ، طعمه حامض جداً وهو مهيج جداً للجلد، ومن أهم المجاميع الفعالة القلويدات وهي مواد نتروجينية عضوية قاعدية وتوجد كأملاح لبعض الأحماض

العضوية مثل حامض الاوكزاليك وحامض الساكسونيك وحامض الماليك وحامض الستريك وحامض الفوسفريك وحامض الكاربونيك [3].

الهدف من الدراسة هو بيان الفعالية التثبيطية لمستخلص القريص الكحولي على بعض أنواع البكتيريا *Staph aurens* , *Pseudomones aeruginosa* المسببة للالتهابات الجلدية والطفح الجلدي وتعيين بعض المركبات الفعالة بتقنية كروماتوكرافيا الغاز – مطيافية الكتلة لمستخلص نبات القريص.

الجزء العملي

المواد المستخدمة :

1-عشبةالقريص Iraqi

2- الكحول الاثيلي 99.89% Hayman

3 – الاكار المغذي (Himedia Laboratories, Nutrient Agar)

4- ماء مقطر

الأدوات المستخدمة:

1- جهاز الاستخلاص soxilet

2- جهاز المبخر الدوار (Rotary evaporator)، IKA werke Rv06 –ML.

3-فرن للتجفيف، Binder.

4-ميزان حساس ,Kern . ALS220.

5-جهاز كروماتوغرافيا الغاز – مطيافية الكتلة Shimazu 2010,.

6-مطيافية الأشعة تحت الحمراء، Spectro lab MB3000.

7-مطيافية الأشعة فوق البنفسجية، UV-VIS Spectro photometer 1650PC Shimadzu.

طرائق العمل

تم اخذ 25 غم من عشبة القريص وأضيف إليها 200 مل من الكحول الاثيلي المستخدم كمذيب للعشبة في دورق دائري وصعد في منظومة Soxilet في درجة حرارة 40م° (وهي الدرجة الأمثل للاستخلاص بحيث لا تفقد المواد الفعالة منها) ولمدة 16 ساعة، ثم رشح المستخلص من الشوائب الموجودة فيه بواسطة ورق ترشيح وبعدها بخر بواسطة المبخر الدوار الى حد الجفاف وبدرجة حرارة 40م° وبعدها جفف في الفرن الكهربائي للحصول على مستخلص جاف. تم إذابة كمية قليلة من المستخلص بالكحول الاثيلي وحقنه بجهاز كروماتوغرافيا الغاز لتحديد الظروف المناسبة لعملية الفصل ومن ثم حقنه بجهاز كروماتوكرافيا الغاز– مطيافية الكتلة وكانت الظروف المثلى للتشغيل كالأتي:

Detector	= FID
Col. Used	= DP5.525.050
Carrier Gas	= N_2
Initial Temperature	= 170ºC
Initial Time	= 0 min
Rate	= 10 ºC /min
Final Temperature	= 270 ºC
Final Time	= 10 min
Total Flow Rate	= 81.4ml /min
Injector Temperature	= 280 ºC
Pressure	= 100 Kpa

التأثير التثبيطي للقريص

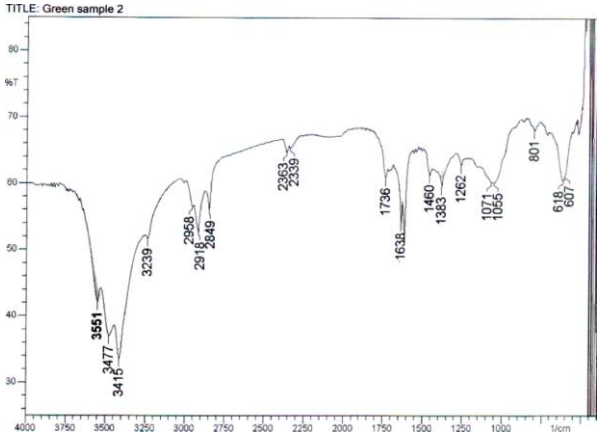
لدراسة التأثير التثبيطي للقريص تم زرع أطباق زجاجيه تحتوي على الاكار المغذي المعقمة سابقا بالبكتريا المرضيه وبواقع 2 طبق لكل عزله وبطريقة التخطيط الكثيف heavy streaking، ثم صنع أقراص مادة الياف السيليلوز وبحجم 5 ملم معقمة ثم اخذ 5 مل من المستخلص الكحولي النباتي بواسطة محقنة طبية وضعت قطرة بعد قطرة على القرص السيليلوزي وبخر الكحول منه وبعدها رفع القرص الحاوي على المستخلص المراد فحص القابلية التثبيطية ووضعت بحذر على الطبق الحاوي على البكتيريا الممرضة وحضنت بدرجة حرارة 37م° ولمدة يوم واحد [4].

المناقشة والاستنتاج

تم فحص مستخلص القريص الكحولي على تقنية FT-IR وكانت النتائج كالأتي:

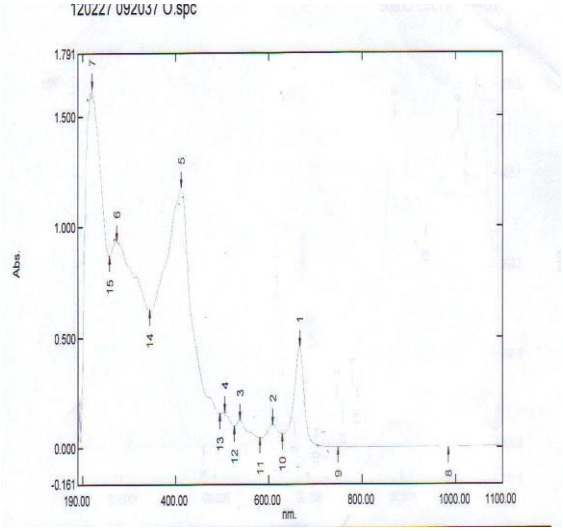
أظهر الفحص امتصاصات في منطقة 1262 سم$^{-1}$ عائدة الى مركبات تحتوي على مجموعة C-O التي تدل على وجود أحماض كاربوكسيلية الموجوده في المركب (المشخص بجهاز كروماتوغرافيا الغاز– مطيافية الكتلة) وهو cyclopropanecarboxylic acid، كما ظهرت امتصاصية عند القمة 1383 سم$^{-1}$ تعود الى مركبات تحتوي على أصرة S=O الموجوده في المركب المشخص الثالث Sulfurous acid، وامتصاص عند القمة 1638 سم$^{-1}$

دلالة على وجود مركبات تحتوي أصرة N=O الموجوده في المركب المشخص الثاني 1-Hexyl-1-nitrocyclohexane، وامتصاص عند القمة 1736 سم$^{-1}$ التي تعود الى مركبات تحتوي على مجاميع كاربونيل C=Oوهي اما مركبات الديهايد اوكيتون الموجودة في المركب المشخص الرابع 4-Heptanone,3methyl و امتصاصية عند القمة (3415- 3551) سم$^{-1}$ التي تشير الى وجود أصرة O-H والتي تشير الى وجود مركبات كحولية أو احماض كاربوكسيليه وهي الموجوده في المركب المشخص الأول 1,2-cyclohexanedimethanol والمركب الخامس cyclopropanecarboxylic acid، أن عدم ظهور امتصاص أسنان المشط في منطقة طبع الأصابع دلالة الى عدم وجود مركبات اروماتية وكما في الشكل (1).



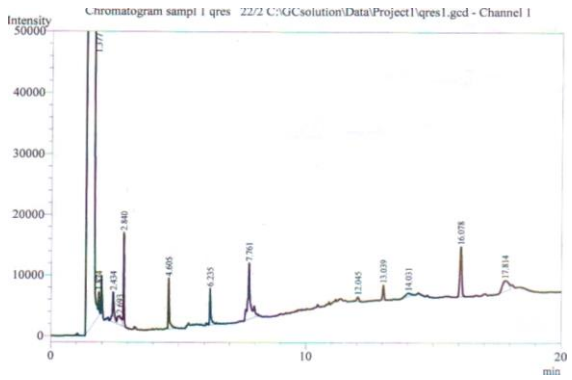
شكل رقم (1) طيف الأشعة تحت الحمراء لمستخلص نبات القريص.

وبعدها تم فحص المستخلص على جهاز الامتصاصية فوق البنفسجية UV كانت الامتصاصية عند الطول الموجي Wave length و 412 نانوميتر التي تدل على وجود مركبات تحدث فيها انتقالات $n-\pi^*$ وعند الطول الموجي 221 نانوميتر تدل على وجود مركبات تحدث فيها انتقالات $\pi-\pi^*$ كما في الشكل (2).

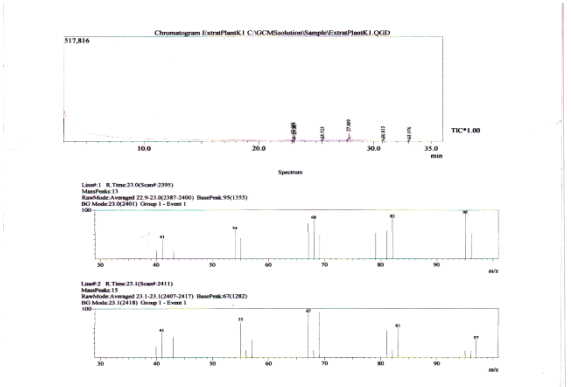


شكل رقم (2) طيف الأشعة فوق البنفسجية لمستخلص نبات القريص الكحولي.

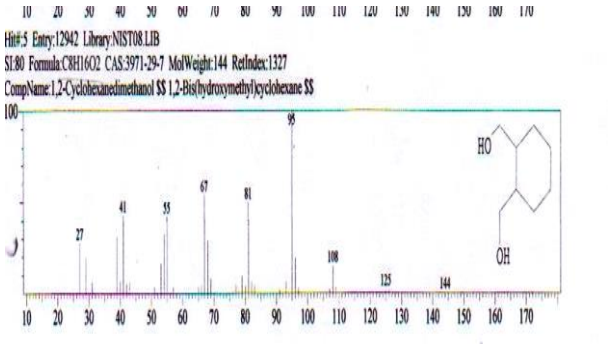
جرى تحليل مستخلص القريص عند ظروف الفصل المثلى المذكورة أنفا بجهاز كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا الغاز– مطيافية الكتلة [6,5] وأظهرت النتائج ذرى عديدة وواضحة كما في الشكل(4,3) على التوالي.



شكل رقم (3) كروموتوغرام جهاز كروموتوغرافيا الغاز.



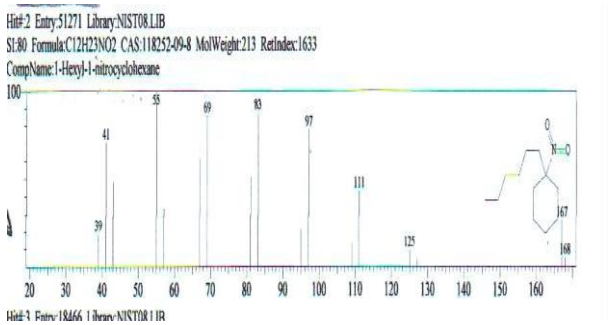
شكل رقم (4) كروموتوغرام جهاز كروموتوغرافيا الغاز – مطيافية الكتلة.



شكل رقم (5).

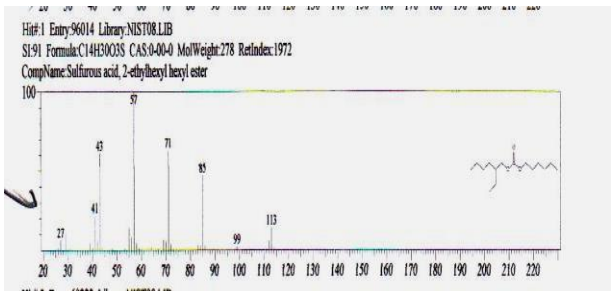
أن الذروة عند زمن الاحتجاز (2.84min) لها طيف كتلة عند ذروة أساس عند (M/Z=95) يعزى الى 1,2-cyclohexanedimethanol كما في الشكل (5).

أما الذروة المميزة الثانية عند زمن الاحتجاز (4.60min) يعطي ذروة أساس عند (M/Z=97) يعود الى مركب 1-Hexyl-1-nitrocyclohexane كما في الشكل (6).



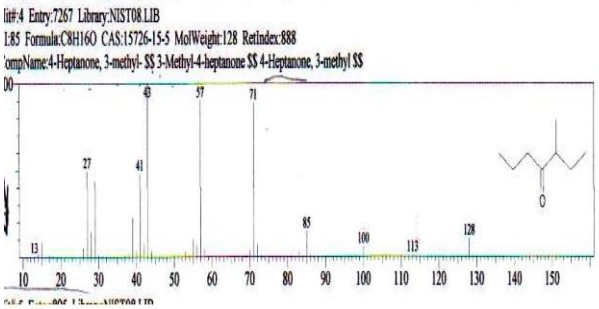
شكل رقم (6).

بينما الذروة المميزة عند زمن الاحتجاز (6.23min) لها طيف كتلة ذو ذروة أساس (M/Z=57) يعود الى مركب Sulfurous acid كما في الشكل (7).



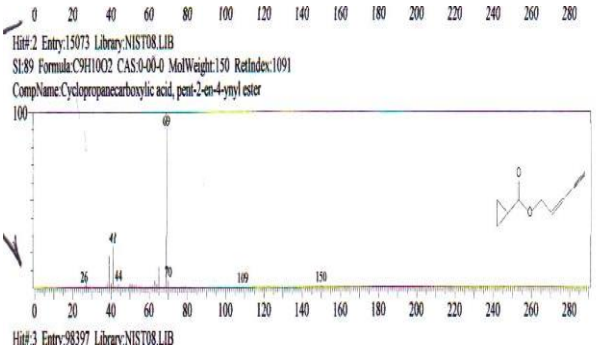
شكل رقم (7).

أن الذروة الظاهرة عند زمن احتجاز (7.76min) شخصت كونها مركب طيف كتلته ذو ذروة أساس (M/Z=43) عائدة للمركب 4-Heptanone,3methyl كما في الشكل (8).



شكل رقم (8).

أما الذروة التي ظهرت عند زمن احتجاز (16.07min) لها طيف كتلة ذو ذروة أساس (M/Z=69) شخصت كونها مركب cyclopropanecarboxylic acid كما في الشكل (9).



شكل رقم (9).

الزرع التثبيطي البكتيري لمستخلص القريص الكحولي ضد بكتريا ممرضة Pseudomones aeruginosa سالبة وموجبة لصبغة كرام المسببة للأمراض الجلدية والطفح الجلدي كما موضح في الشكل (10) كان لها تأثير تثبيطي بحدود 24 ساعة لصبغة كرام سالبة، وهذا يدل على وجود مركبات الديهايد وكيتون ومركبات كبريتيه [7].

شكل رقم (10) الزرع التثبيطي البكتيري لمستخلص القريص الكحولي ضد بكتريا ممرضة Pseudomones aeruginosa.

بالنسبة للزرع التثبيطي الثاني للمستخلص الكحولي ضد بكتريا ممرضة Staph aurens سالبة وموجبة لصبغة كرام المسببة للأمراض الجلدية والطفح الجلدي كما موضح في الشكل (11) كان لها تأثير تثبيطي بحدود 24 ساعة لصبغة كرام موجبة، وهذا دلالة على وجود مركبات كبريتية وقواعد عضوية نتروجينية [9,8].

رقم (11) الزرع التثبيطي لمستخلص القريص الكحولي ضد بكتريا ممرضة Staph aurens.

References

[1] Harsony, Muawiya M., Encyclopedia of the ABCs of herbal medication, **2010**

[2] Bousquet J., bieber T., fokkens W., Kowalski ML., humbert M., niggemenn B., simon H. U., burney P., van cauwenberge P., zuberbire T., akdis CA., demoly P., lmportant ques-tions in allergy: novel research areas. Allergy, V. 63, pp.143-147. **2008**.

[3] Cody R. B., Laramee J. A., Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. Anal. Chem., V.77, PP. 2297-2302. **2005**.

[4] Al-Tamimi, "Effect of plant extracts lack the King of bacterial and fungal causes of skin diseases". Master Thesis. Faculty of Science. Mustansiriya University, **2001**.

[5] Belaidi D., Sebih S., Bouda S., Guermouche M. H. and Bayle J. P., J.Chromatogr. A, V.1087, pp.52. **2005**.

[6] Boudah S., Sebih S., Guermouche M. H., Bayle J. P., and Voudah S., Chromatographia, V. 57, pp.307. **2003**.

[7] Albanaa, Amin M. A., "Effect of caffeine and some plant extracts on some fungi and pathogenic bacteria and nonspecific activation of macrophages". Master Thesis. Faculty of Science, University of Mustansiriya, **1998**.

[8] Jia Q., Nichols T. C., Rhoden E. E., Waite S., Identification of Free-B-Ring flavonoids as potent COX-2 Inhibitors. US. Patent, **2007**.

[9] Smith R.J.& Winder M.L., Medicinal garden in the national herb garden guidebook.ober, R.;Ed.,The Herb Society of America,Inc., Spring field, V.4, pp. 61-71. **1996**.

[10] Whitney P.J., Gibbs G. The common stinging nettle re-source or risk, Biologist, V.53, PP. 178-182. **2006**.

Abstract

The Research contained preparation of Urtica dioica (extraction of temperature 40C°). alcoholic extract was examine by infrared spectroscopy FT-IR, UV spectroscopy and gas chromatography- mass spectrometry technique to characterize the active materials substances such as organic acids and organic materials Nitrogenic base, and test the ability of inhibition for alcoholic extract on some bacteria *Pseudomones aeruginosa*, *Staph aurens* which caused skin diseases.