التعرف على مكونات نبـــات الجـــورو

نادیـــة جـــمـــال * طـــه الشـيــحـــى **

نظرا لانتشار وزيادة الطلب على تعاطى نبات الجورو فى بعض الدول العربية ، والذى يخشى انتشاره فى مصر ، لذلك فإن الدراسة الحالية تهدف إلى فصل والتعرف على المكونات الفعالة فى النبات والمسئولة عن آثاره الفارماكولوچية باستخدام التحاليل الكيميائية الدقيقة . ولتحقيق ذلك تم استخدام العمود الكروماتوجرافى ، وكروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) ، وكذلك استخدام طرق التحليل المختلفة مثل : كروماتوجرافيا الغاز (GLC) ، وكروماتوجرافيا الغاز المقترن بمقياس الكتلة (GC-MS) ، والأشعة تحت الحمراء (IR) ، والرنين المغناطيسى (NMR) للفصل والتعرف على هذه المكونات .

وقد أثبتت النتائج المتحصل عليها احتواء النبات على قلويدى الكافيين والثيوبرومين (وهما من مشتقات الزانسين) ، وكذلك على مجموعة من الهيدروكربونات والأحماض الدهنية التى أمكن فصلها والتعرف عليها وتحديد كميتها فى النبات .

مقدمـــة

تعتبر مشكلة انتشار تعاطى وإدمان المواد المخدرة فى السنوات الأخيرة من أكثر المشاكل تشابكا وتعقيدا ، حيث تعددت أنواع المخدرات بين مخدرات طبيعية (مثل الحشيش ، والأفيون ، والكوكايين ، والقات) ، وأخرى مركبة كيميائيا (مثل Benzodiazepines , XTC& PCP) . وقد كان للتطور السريع والهائل فى العلوم الكيميائية والصيدلية أثره البالغ فى دخول أنواع مستحدثة فى سوق الاستخدام غير المشروع للعقاقير .

* مستشار بالمركز القومى للبحوث الاجتماعية والجنائية .
** خبير أول بالمركز القومى للبحوث الاجتماعية والجنائية .

المجلة الجنائية القومية ، المجلد السادس والأربعون ، العدد الأول ، مارس ٢٠٠٣

ويعتبر نبات الجورو من بين المواد المخدرة الطبيعية ، والذى أُسىء استخدامه فى بعض الدول العربية مثل : السعودية ، والسودان – ويخشى انتشاره فى مصر – كبديل لبعض المواد التى تؤثر على الجهاز العصبى المركزى وتسبب الاعتماد عليه [١] .

ويرجع زيادة انتشار هذا النبات إلى التأثير المنشط الذى يحدث لدى المتعاطى ، فهو يقلل الشعور بالتعب ، ويزيد القدرة على العمل ، ويحسن الحالة المزاجية للمتعاطى[٢]، ويعزى ذلك التأثير إلى وجود بعض المواد الفعالة فى النبات وخاصة مادة الكافيين [٣] .

ويتم تعاطى نبات الجورو عن طريق مضغ ثمرته التى تحتوى على المواد الفعالة ، والتى يتحول لونها من اللون الأخضر إلى اللون البنى المحمر عند مضغها [٤] .

يزرع نبات الجورو (*Cola acuminata*, Family: Sterculiaceae) فى غرب إفريقيا، وسيريلانكا ، وأندونيسيا ، وغرب الهند ، والبرازيل ، ويافا ، وچامايكا [٥] .

ويطلق عليه عدة أسماء ، نذكر منها :

Bissy nuts; Gooroo nuts; Guru nuts; Noix de Gourou; Café du Soudan.

ونظرا لعدم وجود دراسات كافية عن هذا النبات وعن المواد الفعالة المسئولة عن التأثير الفارماكولوچى له ، فقد اختير هذا النبات لإجراء هذه الدراسة ، حيث يتم فيها فصل مكونات النبات والتعرف عليها باستخدام الطرق الكيميائية المختلفة .

المواد والطرق المستخدمة فى البحث

أولا : المـــــــواد

تـم الحـصـول علـى أجـزاء النبـات مـحـل الدراسـة (ثمـرة نبـات الجورو*Cola acuminata*) من المملكة العربية السعودية .

وهى عبارة عن ثمرة ذات فلقتين ، يتراوح طولها بين ٢ – ٥ سـم ، ويـتم تعاطيها عن طريق المضغ ، وطعمها قابض إلى حد ما ، وهى عديمة الرائحة ، ولكنها تترك لونا أحمر داكنا فى فم المتعاطى .

ثانيا : الطرق المستخدمة

١- طريقة الاستخلاص

تستخلص مكونـات ثمار نبـات الجورو وذلك بعد تقطيعها إلى أجزاء صغيرة (٨٠ جراما)، ونقعها فى كحول مثيلى (٢٠٠ ملى) ، فى أوان داكنة ، وتترك لمدة ٢٤ ساعة ، ثم يرشح (تكرر هذه العملية ثلاث مرات) ، ويبخر الرشيح تحت ضغط باستخدام جهاز Rotavapour . يؤخذ ٥ جرامات من المستخلص السابق، وذلك لفصل مكوناته باستخدام العمود الكروماتوجرافى .

٢- الطرق المستخدمة فى الفصل والتعرف على المكونات المفصولة

أ – استخدام العمود الكروماتوجرافى (١٢٠سم × ٢ر١سم) المملوء بمادة أدمصاصية (٢٠٠ جرام) من السليكاجل .Silica gel 60 (230-400 mesh ASTM) لفصل مكونات النبات .

ويستعان أثناء الفصل بكروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) للتعرف على الموادالمفصولة ، وكذلك درجة نقاوتها . ثم يتم استخدام أعمدة مختلفة الأحجام لإتمام عمليات الفصل والتنقية ، ومقارنتها بمواد مرجعية للتعرف على هذه المكونات .

ب – استخدام طريقة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)للتعرف على :

- **الهيدروكربونات Hydrocarbons**

المذيـــب (Solvent)	Chloroform: Ethanol (9:1)
المظهـــر (Reagent)	50% $H_2 SO_4$

- **القلويدات (الكافيين ، الثيوبرومين)**

Alkaloids (Caffeine& Theobromine)

المذيـــب (Solvent)	Chloroform: Ethanol (9:1)
المظهـــر (Reagent)	Iodoplatinate

جـ – استخدام طريقة كروماتوجرافيا الورق (Whatman No.1) للتعرف على الكافيين والثيوبرومين.

المذيـب (Solvent)	n- Butanol - Acetic acid- H_2O (9:1:10)
المظهـــر(Reagent)	Clarke- Kalayci [٦]

د – استخدام طريقة كروماتوجرافيا الغاز Gas Liquid Chromatography للتعرف على :

- **الهيدروكربونات Hydrocarbons**

Column : Glass (2 meter x 4mm i.d.) packed with OV-1, 1% on chromosorb W AW DMCS (80-100 mesh);

Temp. program : 30-250 ^{o}C, 4 ^{o}C/min.

Carrier gas : Nitrogen 30ml/min; Hydrogen 30 ml/min; Air 80 ml/min.

Injection temp. : 260 ^{o}C.

Detector : Flame ionization.

Detector temp. : 260 ^{o}C.

• **الأحماض الدهنية Fatty Acids**

أ – تحضير الأحماض الدهنية [٧] Preparation of the total fatty acids

يترك خليط من النبات (١جرام) ومحلول كحولى (5ml) من هيدروكسيد البوتاسيوم (0.5N) يغلى فى حمام مائى لمدة ٦ ساعات ، ثم يترك ليبرد ، ثم يستخلص (extracted) ثلاث مرات باستخدام مذيب الكلورفورم ($CHCl_3$)، لإزالة المواد غير المتصبنة (Unsaponifiable Matter) ، يؤخذ المحلول الصابونى (Soap Solution) ويضاف إليه محلول مخفف من حامض الكبريتيك ، ثم يستخلص ثلاث مرات بمذيب الكلوروفورم العضوى ، تؤخذ طبقة الكلوروفورم التى تحتوى على الأحماض الدهنية المحررة (Liberated Fatty Acids)، ويضاف إليها بلورات من سلفات الصوديوم اللامائى $Anhyd.\ Na_2\ S0_4$ ، ويرشح ، يبخر الرشيح تحت ضغط باستخدام جهاز الـ Rotavapour .

ب – تحضير المثيل استر[٨] Preparation of methylester (Esterification)

تؤخذ كمية قليلة من المستخلص السابق (١٠٠ ملجرام) ، ويضاف إليه ٥ ملى من الميثانول اللامائى (Anhyd. Methanol) الذى يحتوى على ٤٪– ٥٪ حامض الهيدروكلوريك المركز ، ويترك الخليط يغلى فى حمام مائى لمدة ساعتين ، ثم نتركه يبرد . يستخلص الخليط ثلاث مرات بواسطة مذيب عضوى (Diethyl Ether) ، ويبخر الرشيح تحت ضغط باستخدام جهاز Rotavapour ، ثم يستخدم جهاز الكروماتوجرافيا الغازية للتعرف على العينة محل الدراسة .

Column : 6 feet packed with 10% polyethyleneglycoladipate (PEGA) on chromosorb W 80-100 mesh.

Column temp. : 180 ^{0}C.

Carrier gas : Nitrogen.

Injection temp. : 220 ^{0}C.

Detector : Flame ionization.

Detector temp. : 255 ^{0}C .

هـ – استخدام الأشعة تحت الحمراء

Infra Red (Perkin Elmer type 157 and 257)

للتعرف على قمم المنحنيات المميزة لقلويدى الكافيين والثيوبرومين .

و – استخدام كروماتوجرافيا الغاز المقترن بمطياف الكتلة

GC-MS (LKB 9000)

للتعرف على بعض المواد المفصولة مثل الهيدروكربونات ومادة الكافيين .

Column :Glas tubes (2.8m x 4mm i.d.) packed with OV-1, 1% on chromosorb W AW DMCS (80-100 mesh).

Temp. program : 160 ^{0}C, 4 ^{0}C/min.

Carrier gas : Helium 40ml/min.

Injection temp. : 260 ^{0}C.

Detector : Flame ionization.

ز – استخدام جهاز NMR للتعرف على التركيب الكيميائى لمادة الكافيين

NMR (^{1}H,^{13}C), Jeol, GX-400

النتائـــج

أسفرت نتائج فصل مكونات نبات الجورو باستخدام الطرق الكروماتوجرافية المختلفة (العمود الكروماتوجرافى ، وكروماتوجرافيا الطبقة السميكة) وتحليلها بالطرق الفيزيقو كيميائية (IR, GC-MS, NMR, E.A.) عن وجود المواد الآتية : الهيدروكربونات ، وقلويدى الكافيين والثيوبرومين وهما من مشتقات الزانسين [٩] وقد تم التعرف عليهم ، ومواد أخرى لهـــا R_f مختلفــة 0.00 ,0.13 ,0.21 لم يمكن التعرف عليها ؛ نظرا لقلة كمياتها كما هـــو موضح بالجدول رقم (١) ، والشكل رقم (١) بالإضافة إلى الأحماض الدهنية التى تم فصلها والتعرف عليها [جدول رقــم (٣)] .

Table (1)

Column Chromatographic Fractionation of Gooroo

Solvent	Fraction	R_f^*	Substance
Petroleum ether (40-60 °C)	1-63	0.96	Hydrocarbon Sub.1
Petroleum ether: Chloroform 80:20	64-130	0.65	Caffeine Sub.2
50:50	131-158		
Petroleum ether: Chloroform 10:90	159-210	0.36	Theobromine Sub. 3
Chloroform	211-260		
	261-330	0.21	Scanty
	331-370	0.13	Scanty
Ethanol	371-420	0.00	Scanty

* Solvent : Chloroform : Ethanol (9:1)

Fig. (1) Thin Layer Chromatography of Gooroo Extract

Solvent : Chloroform : Ethanol (9:1)
Adsorbent : Silica gel G
Detection : Iodoplatinate (Caffeine& Theobromine)
50% H_2 SO_4 (Hydrocarbon)

التعرف على الهيدروكربونات Identification of Hydrocarbon Fraction

بعد تبخير وبلورة المحلول المفصول من العمود الكروماتوجرافى الأجزاء (Fractions) من١ – ٦٣ ، باستخدام خليط من الكلوروفورم والإيثير البترولى ، نحصل على مادة بيضاء اللون (320 mg) ، وبالاستعانة بالأشعة تحت الحمراء (IR) ، أظهرت المادة حزمة ضوئية مماثلة n- alkanes (Typical Absorption Band) للبينما أثبتت طريقة التحليل باستخدام كروماتوجرافيا الغاز المقترن بمطياف الكتلة (GC-MS) أنها عبارة عن خليط من n-Tridecane to n- Octadecane كما هو مبين بالجدول رقم (٢) .

Table (2)

The n- alkanes, detected in the hydrocarbon fraction and their percentages

m/e	Molecular Formula	Name	Percentage
184	$C_{13}H_{28}$	n- tridecane	0. 879
198	$C_{14}H_{30}$	n- tetradecane	0.864
212	$C_{15}H_{32}$	n- pentadecane	0.955
226	$C_{16}H_{24}$	n-hexadecane	2.238
240	$C_{17}H_{36}$	n- heptadecane	1.480
254	$C_{18}H_{38}$	n-octadecane	1.925
268	$C_{19}H_{40}$	n-nonadecane	5.272
282	$C_{20}H_{42}$	n-eicosane	2.258
296	$C_{21}H_{44}$	n-heneicosane	1.900
310	$C_{22}H_{46}$	n-docosane	11.238
324	$C_{23}H_{48}$	n- tricosane	2.168
338	$C_{24}H_{50}$	n-tetracosane	2.359
352	$C_{25}H_{52}$	n-pentacosane	5.946
366	$C_{26}H_{54}$	n-hexacosane	4.146
380	$C_{27}H_{56}$	n-heptacosane	43.698
394	$C_{28}H_{58}$	n- octacosane	12.674

Fig. (2) Gas Chromatogram of Hydrocarbons Found in Gooroo

بعد تبخير وبلورة المحلول المفصول من العمود الكروماتوجرافى مـــن الأجزاء (٦٤ – ١٥٨) باستخدام خليط من الكلوروفورم والايثانول ، نحصل على مادة بيضاء إبرية (White Glistening Needles).

ووجد أن هذه المادة تنصهر عند درجة ٢٣٧ °م [١٠] (Lit.: 234-239 °C).

ولقد استخدمت طريقة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) للتعرف على المادة المفصولة ، ووجد أن R_f لها تساوى 0.65، وهى مماثلة لعينة الكافيين المرجعية . وفى حالة استخدام كروماتوجرافيا الورق وجد أن الـ R_f لمادة الكافيين تساوى 0.67 .

كما أثبتت طرق التحليل المختلفة [IR,GC-MS, NMR (^1H,^{13}C),E.A.] أن تركيب المادة المفصولة مطابق تماما لمادة الكافيين .

IR (KBr) : 1695 & 745 .

^{1}H-NMR : 3. 41 (s,1-CH_3) ; 3.58 (s, 3-CH_3); 3.99 (s,7-CH_3); 7.51(s,8-H).

^{13}C-NMR (CDl_3) : 27. 8723; 29. 6859; 33. 4977 (1,3.7- trimethyl); 141. 3507 (8-C) .

MS : 194 $[M^+]$; 179 $[M\text{-}CH_3]^+$(due to the loss of CH_3); 164 $[M\text{-}(CH_3)_2]^+$, 149 $[M\text{-}(CH_3)_3]^+$

E.A. : $C_8 H_{10} N_2 0_2$ = 194.2

		C	H	N
Calculated	:	49.48	5.19	28.85
Found	:	49.50	5.16	28.80

Fig. (3) ^{1}H-NMR of Caffeine Found in Gooroo

Fig. (4) ^{13}C-NMR of Caffeine Found in Gooroo

Fig. (5) Mass Spectrum of Caffeine Found in Gooroo

التعرف على مادة الثيوبرومين Identification of Theobromine

بعد تبخير وبلورة المحلول المفصول من العمود الكروماتوجرافى من الأجزاء (١٥٩ – ٢٦٠) نحصل على مادة بيضاء متبلورة White Crystalline Powder. ووجد أن هذه المادة تنصهر عند درجة ٢٨٩ – ٢٩٠ م° [١١] (Lit.: 290 °C).

ولقد استخدمت طريقة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة للتعرف على المادة المفصولة ، ووجد أن R_f لها تساوى 0.33، وهى مماثلة تماما لعينة الثيوبرومين المرجعية .

وأثبتت نتائج التحليل (IR, GC-MS, E.A.) للمادة المفصولة أنها مطابقة تماما لمادة الثيوبرومين .

IR (KBr) : 1690 ,1550, 1221.

MS : 180 $[M^+]$; 165 $[M\text{-}CH_3]^+$, 150 $[M\text{-}(CH_3)_2]^+$

E.A. : $C_7 H_8 N_4 0_2 = 180.2$

	C	H	N
Calculated :	46.66	4.47	31.09
Found :	46.68	4.45	31.04

Fig. (6) Mass Spectrum of Theobromine Found in Gooroo

التعرف على الأحماض الدهنية Identification of Fatty Acids

أوضحت نتائج تحليل عينة المثيل استر للأحماض الدهنية[١٢] المفصولة من النبات – باستخدام طريقة كروماتوجرافيا الغاز – أنها عبارة عن خليط من الأحماض الدهنية التالية :

Capric, Lauric, Myristic, Palmitic, Stearic, Oleic and Linoleic .

كما أوضحت النتائج أن هذه الأحماض موجودة بالنبات بنسب متفاوتة كما هو موضح بالجدول رقم (٣) .

Table (3)

Fatty Acids Present in Gooroo and their Percentages

Fatty Acid	Percentage%
Capric	0.6
Lauric	2.2
Myristic	2.6
Palmitic	46.9
Stearic	35.1
Oleic	11.9
Linoleic	0.7

المناقشـــة

لقد أمكن فصل ثلاثة مركبات من العمود الكروماتوجرافى ، وهى عبارة عن : الهـيـدروكـربونات (Hydrocarbons) ، وقلويـدى الكافـيـين ، والثيـوبرومـين (Caffeine& Theobromine) . ولقد أثبتت نتائج التحليل – باستخدام طريقة GC-MS لعينة الهيدروكربونات – أنها عبارة عن خليط من n-Tridecane to n-Octacosane - ويمثل n- Heptacosane النسبة العظمى من هذا الخليط ، حيث بلغت نسبته حوالى ٤٣٫٦٩٪ من الخليط كما هو موضح بالجدول رقم (٢) .

أما بالنسبة للمادة الثانية المفصولة من العمود الكروماتوجرافى ، فلقد أثبتت طرق التحليل المستخدمة فى البحث [TLC, IR, NMR, (^{1}H, ^{13}C),MS, E.A.] أنها عبارة عن مادة الكافيين ، حيث أمكن فصلها والتعرف عليها بصورة نقية ، وهى عبارة عن 1,3,7- trimethylxanthine.

أما بالنسبة للمادة الثالثة المفصولة من العمود الكروماتوجرافى ، فلقد أثبتت طرق التحليل المستخدمة [TLC, IR, MS, E. A.] أنها عبارة عن مادة الثيوبرومين (3,7- dimethylxanthine).

وبالنسبة للأحماض الدهنية التى تم فصلها من النبات ، أوضحت نتائج تحليلها – باستخدام طريقة كروماتوجرافيا الغاز – أنها عبارة عن خليط من الأحماض التالية :

Capric, Lauric, Myristic, Palimitic, Stearic, Oleic & Linoleic

هذه الأحماض موجودة بالنبات بنسب متفاوتة كما هو موضح بالجدول رقم (٣) .

ويمثل حمض الـ Palmitic النسبة الكبرى ، حيث بلغت نسبته 46.9% ، يليه حمض الـ Stearic (35.1%) .

المراجـــع

1- Graham, D.M. , Caffine Its Identity, Dietary Sources, Intake and Biological Effects, *Nutritional Review*, 36, 1978, p. 97.

2- Graham, D.M. ,ibid.

And Also:
Goodman A. Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. U. S. A., Mc Graw- Hill, 9th ed., 1996, p. 672,

3- Curatolol, P.W., and Robertson, D. , The Health Concequences of Caffeine, *Annual Report of Internal Medicine*, 98,1983, p. 641.

And Also:
Symposium on *Developmental Pharmacology of The Methylxanthines.* Soyka, L.F., ed., Semin Perinatol , 5, 1981, p. 303.

Amaud, M.J., The Pharmacology of Caffeine, *Progress of Drug Researches*, 31,1987, p. 273.

Clementz, G.L., and Dailey, J.W. , Psychotropic Effects of Caffeine. *American Family Physician* , 379,1988, p. 167.

4- Evans, W. C., *Trease and Evans'Pharmacognosy*. London, Bailliere Tindall,14th ed., 1996, p. 43& p.403.

5- Evans, W. C., op.cit. , p.43& p. 403.

And Also:
Varro, E. T.; Lynn, R. B.; Janes E. R.; *Pharmacognosy*. U.S.A., Lea & Febiger, 9th ed., 1988, p. 245.

6- Clarke, E.G. and Kalayci, S., *Nature*, 1963. p. 198 & 783.

7-Burchield, M. P. and Storrs, E.E., *Biochemical Application of Gas Chromatography*. London, Academic Press,Vol. 4, 1962, p. 73.

8- Burchield, M. P. and Storrs, E.E., op.cit. , p. 73.

9 - Graham, D.M. , op.cit. , p. 97.

And Also:
Graham, T.E.; Rush, J.W. and Van Soeren, M.H., Caffeine and Exercise : Metabolism and Performance, *Canadian Journal of Applied Physiology*, 19,1994, p.11.
Goodman A. Gilman, op.cit. , p. 672.

Hesse, M., *Alkaloid Chemistry*. New York, John Wiley & Sons Inc., 1981, p. 114.

Dalton, D.r. , *The Alkaloids*. New York, Marcel Dekker Inc., 1979, p. 196.

Saxton, J.E., *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: The Monoterpenoid Indole Alkaloids*. New York, John Wiley & Sons Inc.,Vol. 25, Part 4, 1983 .

Brossi, A. and Manske, R.H.F. , *The Alkaloids*. New York, Academic Press Inc., Vols. XXI-XXIV, 1983- 1985.

10- Martindal Extrapharmacopia, London, Pharmaceutical Press, 28th ed., 1982, p. 341 .

11- Martindal Extrapharmacopia, ibid., p. 341.

12- Burchield, M. P. and Storrs, E.E., op. cit., p. 73.

Abstract

IDENTIFICATION OF GOOROO CONSTITUENTS

(Cola Accuminata, Sterculiaceae)

Nadia Gamal Taha El-Shihi

Gooroo is one of the natural narcotics commonly abused in many Arab countries- especially in Sudan and Saudi Arabia - as a cheaper substitute for the very expensive narcotics.

It is used as a stimulant, antisoporific and mode elevator. It decreases fatigue, increases capacity for work and increases mental efficiency, when chewed in moderate quantities. The active constituents of the plant especially caffeine are responsible for these pharmacological effects.

Chromatographic fractionation of Gooroo constituents was carried out using column chromatography, resulted in the isolation of hydrocarbon, caffeine and theobromine. Their chemical structures were confirmed using different techniques such as TLC, E.A., IR, GLC, GC-MS and NMR (^{1}H, ^{13}C).

The hydrocarbon fraction was identified by GC-MS technique as a mixture of n-tridecane to n-octacosane and the n-heptacosane ($C_{27}H_{56}$) which represents the main constituent of this fraction (43,69%).

Caffeine fraction was identified as 1, 3, 7- trimethylxanthine by using different techniques for analyses (TLC, E.A., IR, MS and NMR).

Theobromine fraction was also identified as 3, 7- dimethylxanthine by using different techniques for analysis (TLC, E.A., IR, and MS).

The analysis of the total fatty acids content was also carried out using gas-liquid chromatographic technique. They were identified as Capric, Lauric, Myristic, Palmitic, Stearic, Oleic and Linoleic acids.

It was found that Palmitic acid represents the main constituent of these fatty acids (46.9%).