

Phytochemistry Introduction

كيميااء العقااير

Trease and Evans
Pharmacognosy

p. 95-105, 137-149

Standards Applicable to Crude Drugs

- There are a number of standards, which can be applied in the evaluation of crude drugs either in the whole or the powdered condition. توجد العديد من المعايير التي يمكن تطبيقها لتقييم جودة العقاقير الخام في حالتها الكاملة أو المسحوق

Standards Applicable to Crude Drugs

1. Sampling الاعتيان
2. Preliminary examination الفحص قبل الأولي
3. Foreign matter فحص وجود المواد الغريبة
4. Moisture content (Loss on drying, Separation and measurement of moisture, Chemical, Spectroscopic and Electrometric methods المحتوى من الرطوبة (بطرق التجفيف، فصل الرطوبة وقياسها، الطرق الكيماوية والمطيافية والكهربائية)

Standards Applicable to Crude Drugs

5. Extractive values قيم المستخلص
6. Ash values قيم الرماد
7. Crude fiber الألياف الخام
8. Determination of volatile oil تحديد الزيت الطيار
9. Swelling index قيمة الانتفاخ
10. *Rf*-values معامل الانسياب
11. Microbial contamination التلوث الجرثومي
12. Toxic residues البقايا السامة
13. Radio active residues بقايا المواد المشعة

Introduction

مقدمة

- Plants must be: يجب على النباتات أن
 - 1. Identified (Name, Family.....) تصنف وتعرف
 - 2. Collected in the time (Flowers in spring; in the first flowering stage, Leaves; in the last flowering stage, barks and tubers; in the fall, roots and rhizomes; in the winter when the plant must be removed) تجمع في الوقت المناسب من العام ومن اليوم (حيث تجمع الأزهار في بداية فصل الربيع، في بداية تفتحها، الأوراق تجمع خلال مرحلة الازهار، أو في آخرها، اللحاء والدرنات تجمع في فصل الخريف ، أما الجذور والجذامير فتجمع في فصل الشتاء وحين نرغب في التخلص من النبات كاملا.

- 3. Washed تغسل

مقدمة

Introduction

• Fresh plants must be: النباتات الطازجة يجب أن

1-Stored in dark, cool places in well sealed container (without air) تحفظ في حاويات عاتمة،

but only for short period باردة، ومحكمة الإغلاق

ولكن فقط لفترة قصيرة حتى until be consumed

تستهلك

2-Must be immediately consumed or

أو يجب أن تنقل transported to the industry

للاستهلاك مباشرة أو للصناعة

Introduction

مقدمة

- Must be dried (in the oven not more than 60 c., in the sun or in the shadow) أو يجب أن تجفف بالفرن بدرجة حرارة لا تزيد عن 60 درجة (مئوية أو تحت أشعة الشمس، أو في الظل) until the moisture content reduce enough to prevent any chemical reactions or any growing of the microorganisms حتى تنخفض نسبة الرطوبة بدرجة تمنع حدوث التفاعلات الكيميائية أو تمنع نمو العضويات الدقيقة.

طرائق التجفيف

Drying Methods

- Plant material can be dried using the following methods: يمكن أن تجفف النباتات الطبية بإحدى الطرائق الآتية:
 1. In the sun تحت أشعة الشمس
 2. In the shadow في الظل
 3. In the Oven في الأفران

Drying Process

شروط عمليات التجفيف

- If the plant materials contain compounds which are very sensitive to water and temperature, fast drying by tem. about 60 C must be achieved. اذا احتوت النباتات على مركبات حساسة للماء والحرارة يجب عندها أن تجفف بسرعة وبدرجة حرارة دون 60 درجة مئوية

Drying in open air (in shadow)



Drying Process

شروط عمليات التجفيف

- If the plant materials contain compounds which are not sensitive to water and temperature or we need to ferment it, slow drying by tem. about 20 C must be achieved. اذا احتوت المواد النباتية على مركبات غير حساسة للماء والحرارة أو تحتاج الى تخمير عندها يجب أن يتم التجفيف ببطء وبدرجة حرارة قرابة 20 درجة مئوية.

Drying in the oven



المراقبة العامة للمواد النباتية

General control of plant materials

- Plant material (fresh or dried) must be dealt to determine its moisture content, ash value, volatile oil, extractive value. يجب أن تعالج المواد النباتية (الطازجة أو المجففة) لأجل تحديد الرطوبة، قيمة الرماد، مقدار الزيت الطيار، قيمة المستخلص.
-

المراقبة العامة للمواد النباتية

General control of plant materials

- The active compounds must be detected, identified, titrated (standardized) يجب الكشف عن المكونات الفعالة وتشخيصها ومعايرتها (مقايستها)
- The plant material must be extracted with suitable extraction methods. يجب استخلاص المواد النباتية بطريقة استخلاص مناسبة

Determination of Moisture content

تحديد المحتوى من الرطوبة

- Used methods: الطرق المستخدمة
 1. Loss on drying **الفقدان بالتجفيف**
 2. Distillation **التقطير**
 3. Gas chromatography **الكروماتوغرافيا الغازية**
 4. Chemical methods **الطرق الكيماوية**
 5. Spectroscopic methods **الطرق المطيافية**
 6. Electrometric methods **الطرق الكهربائية**

Loss on drying

فقدان الوزن بالتجفيف

- This method is employed in the EP, BP, and USP. تستعمل هذه الطريقة من قبل دساتير الأدوية الأوروبية والبريطاني والأمريكي
- Loss in weight is due to water, small amounts of other volatiles materials. فقدان الوزن بالتجفيف يعود لفقدان الماء وفقدان المكونات الطيارة.
- Direct drying (105 C°) to constant weight can be employed. تسخين أحيذة محددة الوزن بدقة للدرجة 105 مئوية مدة ساعتين، تترك بعدها لتبرد ثم توزن ثانية ومن ثم تسخن لنفس الدرجة مدة ساعة وتترك لتبرد ومن ثم توزن ويكرر ذلك حتى

Loss on drying



Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- Distillation: the sample is placed in a flask together with a suitable water-saturated immiscible solvent (toluene, xylene, carbon tetrachloride) and pieces of porous pot and is distilled. التقطير: توضع العينة الموزونة بدقة في دورق مع مذيب مناسب غير مزوج مع الماء ومشبع بالماء (تولوين، كزيلين، رابع كلوريد الكربون) مع منظّمات غليان ويقطر

Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- The water in the sample is co-distils with the solvent, condensing in the distillate as an immiscible layer. الماء الموجود في العينة يتقطر مع بخار المذيب ويتكثف في المستقبل على شكل طبقة غير مزوجة مع الماء، يحدد حجم الطبقة المائية وتنسب إلى الأخيذة حيث يحدد مقدار الماء في الأخيذة وبالتالي النسبة المئوية للماء.

Fractional distillation



Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- طرق الكروماتوغرافيا الغازية
Gas chromatographic methods: الغازية
- The water in the weighed, powdered sample can be extracted with dry methanol في
يستخلص الماء الموجود في العينة الموزونة بدقة بالميتانول الجاف.

Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

-Methanol Aliquot submitted to chromatography on a column on:

-10% carbowax or on 10% polyethylene glycol 1500, الخلاصة الميثانولية تحقن في جهاز

الكروماتوغرافيا الغازية على عمود مكون من الكاربوواكس 10% أو البولي ايتيلين غليكول 1500

Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

-N-propanol as an internal standard. يستعمل البروبانول النظامي معياري داخلي.

-FID is used as Detector يستعمل كاشف الشعلة

المتأينة FID

Separation and measurement of moisture (Karl Fischer procedure)

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- Chemical methods: الطرق الكيميائية
- Karl Fischer procedure is used in the BP and is particularly applicable for expensive drugs and chemicals containing small quantities of moisture. تستعمل طريقة كارل فيشر في دستور الأدوية البريطاني وهي تطبق بشكل خاص على العقاقير الثمينة والكيمائيات الحاوية على نسب قليلة من الرطوبة

Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- For crude drugs as digitalis and ipecacuanha the powdered material can first be exhausted of water with a suitable anhydrous solvent (dioxan) and an aliquot taken for titration.

لأجل تحديد الرطوبة في بعض العقاقير من خاتم الذهب والديجيتال يتم استنضاب الرطوبة من مساحيق العقاقير بمذيب لا مائي مناسب (الديوكسان)، تؤخذ خلاصة الديوكسان ويعاير الماء المستخلص من العقاقير فيها.

Moisture Karl fisher method



Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- The reagent consist of a solution of iodine, sulphur dioxide and pyridine in dry methanol. يتكون الكاشف المستخدم من محلول اليود وثاني أكسيد الكبريت والبيريدين في الميثانول الجاف
- This is titrated against a sample containing water, which causes a loss of the dark brown colour. يعاير الكاشف بإضافة العينة من الديوكسان الحاوية على الماء فيلاحظ انخفاض شدة اللون ومن ثم يتوقف اللون عند شدة محددة

Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

At the end –point when no water is available, the colour of the reagent persist.

تنتهي المعايرة عندما ينتهي مقدار الماء في العينة ويثبت اللون

The basic reaction is a reduction of iodine by sulfur dioxide in the presence of water. يعتمد

التفاعل على ارجاع اليود بواسطة ثاني أوكسيد الكبريت بوجود الماء

Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- Spectroscopic methods: water will absorb energy at various wavelength and that change the electromagnetic spectrum which can be made a basis for its quantities' determination. تعتمد الطرق المطيافية على أن الماء يمتص الطاقة بأطوال أمواج مختلفة مما يؤدي الى تغيرات في الطيف الكهرطيسي والذي يمكن أن يعتمد لاجراء معايرة كمية

Separation and measurement of moisture

فصل وقياس الرطوبة في العقاقير

- Electrometric methods: Conductivity, dielectric and colometric methods have all been utilized for moisture determination.
- الطرق الكهربائية: مثل طرق الناقلية، ثنائي الكهربية واللونية كلها يمكن أن تستخدم في تحديد الرطوبة

conductivity



Electrometric method



Extractive values

قيم المستخلص

- The water determination of water –soluble or ethanol-soluble extractive is used as a means of evaluating drugs the constituents of which are not readily estimated by other means. تستخدم طريقة تحديد المستخلص الذواب في الماء أو الذواب في الايتانول كوسيلة لتقييم العقاقير التي تحتوي على مكونات لا يمكن تحديدها بطريقة أخرى

Extractive values

قيم المستخلص

- In certain cases extraction of the drug is by maceration, in others by continuous extraction process. عادة يتم استخلاص العقار بطريقة التعتين وأحيانا يكون بطريقة الاستخلاص المستمر

Extractive values

قيم المستخلص

- For the latter the soxhlet extraction is particularly useful and has been in use for many years, not only for the determination of extractives but also for small-scale isolation من طرق الاستخلاص المستمر الأخيرة فان طريقة سوكسليه هي الأكثر فائدة وهي تستخدم ليس فقط لتحديد قيم المستخلص ولكن أيضا في استخلاص كميات قليلة من العقاقير

Extraction Methods طرق

الاستخلاص

1. Classical methods: الطرق التقليدية (غير المستمرة)
 - Maceration التعطين
 - Digestion الهضم
 - Decoction المطبوخات
 - Methods of tea preparation: Infusion طرق تحضير الشايات: النقع

maceration



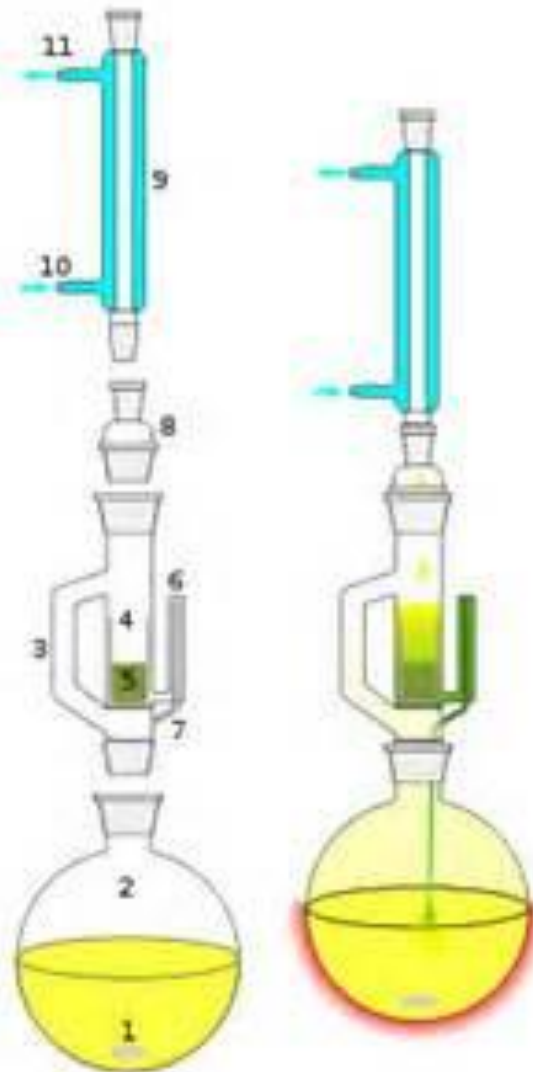
Extraction Methods

2. Continuous extraction methods: طرق

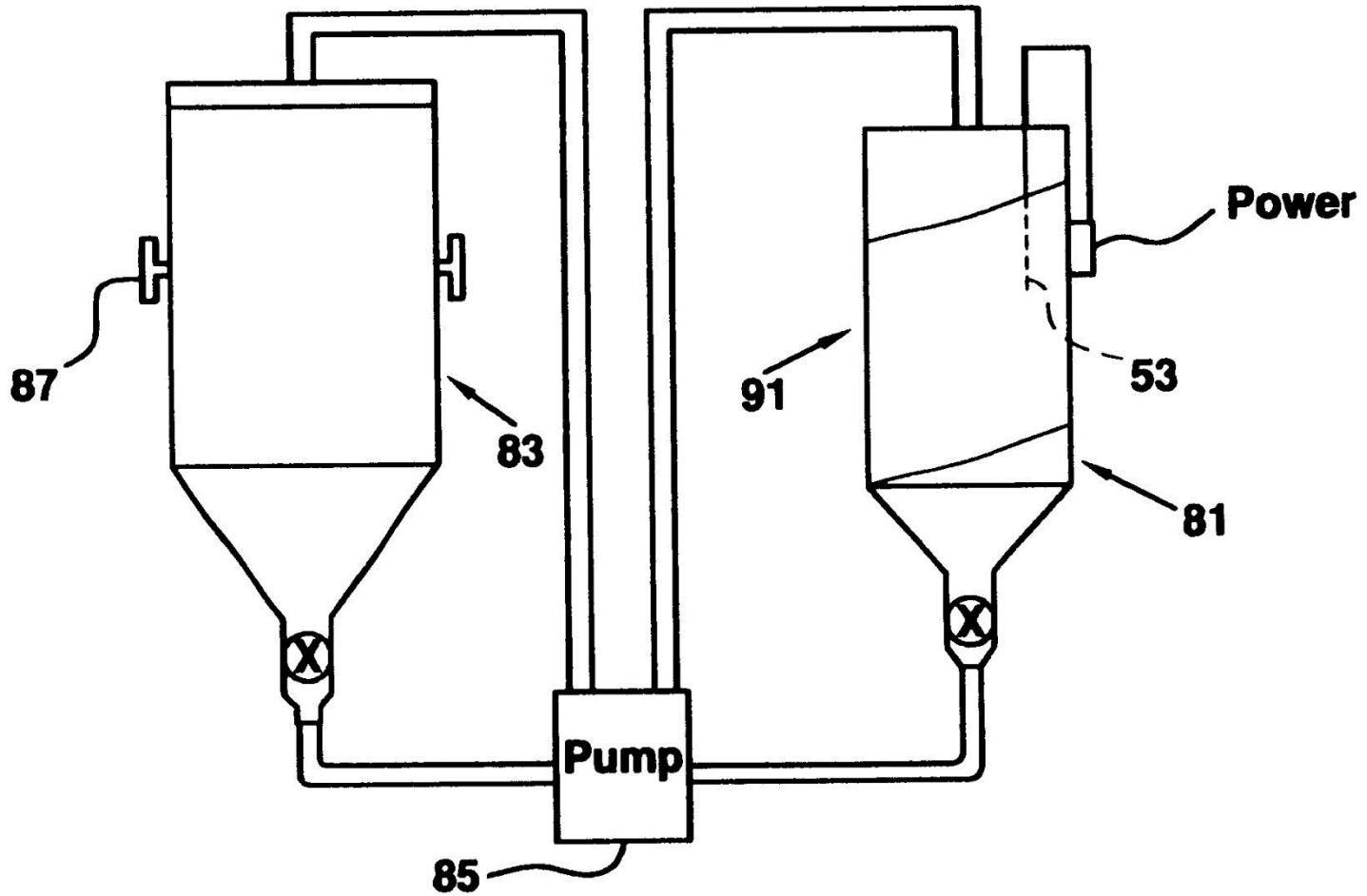
الاستخلاص المستمر

- Soxhlet سوكسليه
- Percolation التزحيل

Soxhlet extraction method



Percolation



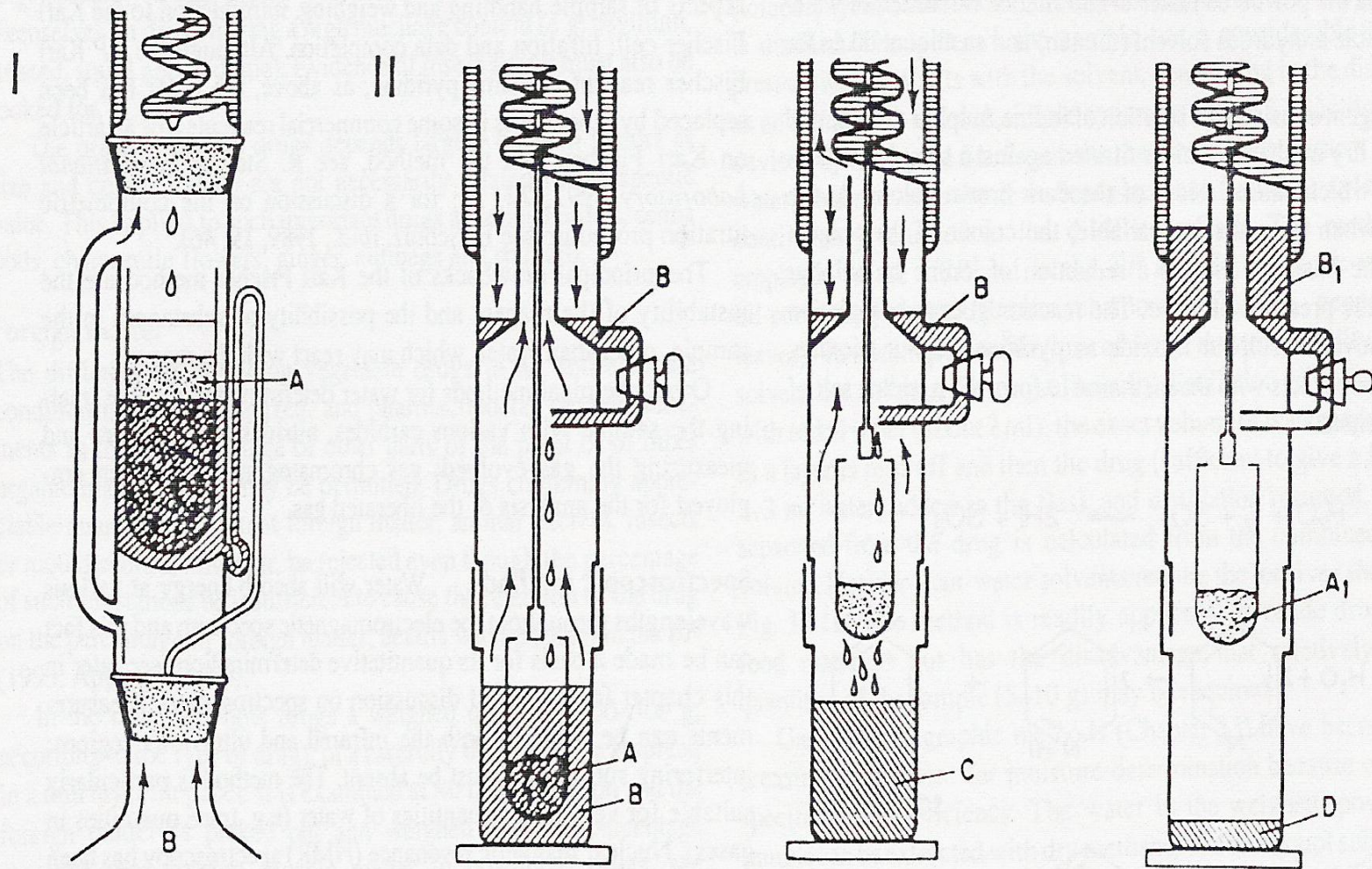


Fig. 12.2. I, Soxhlet continuous extraction apparatus. A, powdered drug for extraction in thimble and plugged with suitable fibre e.g. defatted tow or cotton wool; solvent refluxes into thimble and syphons into flask B, containing boiling solvent, when receiver is full. II, Three-stage continuous extraction and solvent recovery: left, extraction by boiling with solvent; centre, percolation stage; right, removal of solvent. A, sample for extraction; A₁, exhausted drug; B, solvent; B₁, recovered solvent; C, solvent containing soluble plant constituents; D, final extract. (Soxtec System, Tecator Ltd.)

قيم الرماد

Ash values

- هناك ثلاث أنواع للرماد: هناك ثلاثة أنواع للرماد:
-Total ash, -Sulfated ash, -acid insoluble ash
- In the determination of total ash values the carbon must be removed at as low temperature (450 C°) as possible because alkali chlorides would otherwise be lost. عند تحديد قيم الرماد يجب التخلص من الكربون بدرجة حرارة منخفضة قدر الامكان كيلا تتطاير الكلوريدات القلوية

قيم الرماد

Ash values

- If carbon is still present after heating at moderate temperature, the water –soluble ash may be separated and the residue again ignited as described in the BP, or the ash may be broken up, with the addition of alcohol, and again ignited. واذا

بقي الكربون بعد التسخين، يفصل الرماد الذواب بالماء وتلهب البقية ثانية كما هو موصوف في دستور الأدوية البريطاني، أو يتم تحطيم الرماد باضافة الكحول والالهاب

Determination of volatile oil

تحديد الزيت الطيار

- A distillation method is usually employed in the determination of volatile oil and the apparatus is widely used in laboratories.

تستعمل طريقة التقطير بشكل واسع في تحديد نسبة الزيت الطيار، كما أن جهاز التقطير المستخدم واسع الانتشار والاستخدام.

قيم الرماد

Ash values

- The total ash usually consists mainly of carbonates, phosphates, silicates and silica.
يتكون الرماد الاجمالي من الكربونات، الفوسفات، السيليكات والسيلكا (الأملاح والشوائب).
- To produce a more consistent ash the EP and BP use a sulfated ash, which involves treatment of the drug with dilute sulfuric acid before ignition.
لأجل الحصول على رماد أكثر دقة وتكوينا يستعمل دستورى الأدوية البريطاني والأوروبي الرماد السلفاتي والذي يتضمن معالجة العقار بحمض الكبريت قبل الالهاب.

قيم الرماد

Ash values

- In this all oxides and carbonates are converted to sulfates and the ignition is carried out at a higher temperature (600C°). وفي هذه الحالة تتحول كل الأكاسيد والكربونات الى سلفات ويتم الالهاب بحرارة أعلى

قيم الرماد

Ash values

- If the total ash be treated with dilute hydrochloric acid, the percentage of acid insoluble ash may be determined. اذا عولج الرماد الاجمالي بحمض كلور الماء الممدد عندها يمكن تحديد مقدار الرماد الذواب بالحمض.

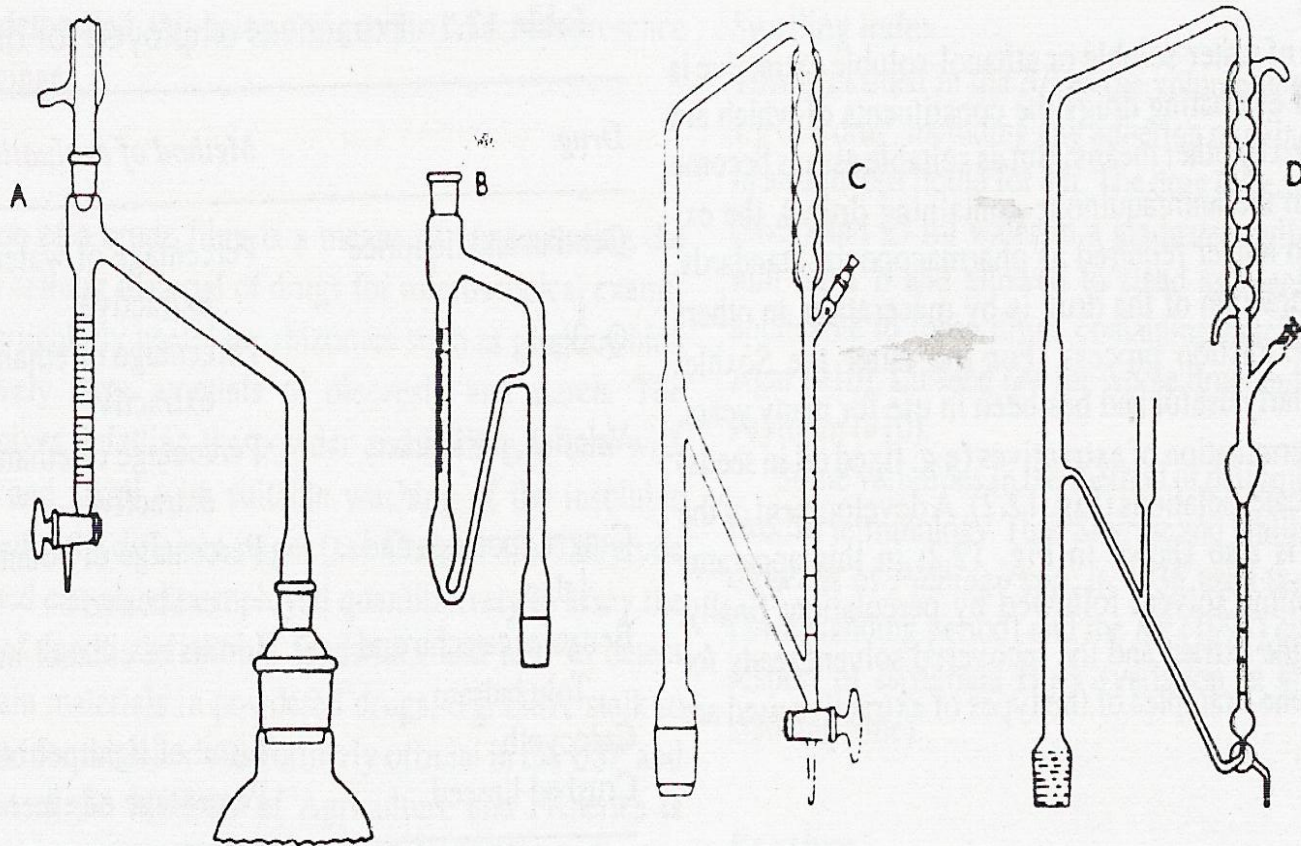
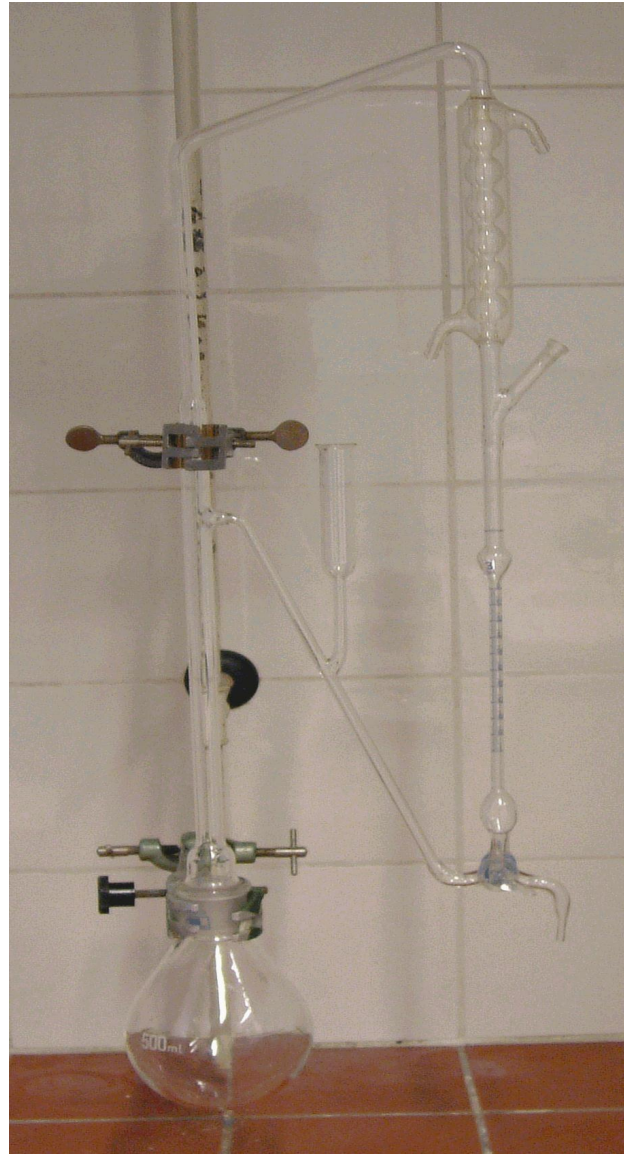
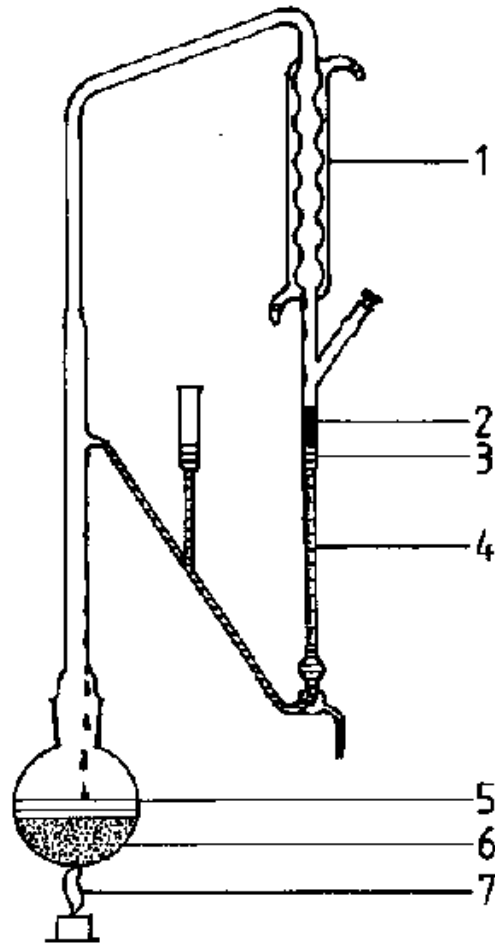


Fig. 12.1. A, Apparatus for the determination of moisture in crude drugs by distillation and for volatile oils heavier than water; B, receiver of apparatus for the determination of water in crude drugs (heavy entrainment) and for volatile oils in drugs; C, receiver for determination of volatile oil in drugs as used by the *BP* 1980 (all with permission of Quickfit and Quartz Ltd). D, Receiver for determination of volatile oil in drugs as used by both the *EP* and the *BP*.

Extraction of volatile oils



Extraction of volatile oils



المقايضة Assay

- A crude drug may be assayed for a particular group of constituents such as total Alkaloids in Belladonna and total glycosides in digitalis or specific compounds such as reserpine in Rauwolfia. يمكن مقايضة العقار الخام لأجل مجموعة محددة من المكونات مثل اجمالي القلويدات في اللقاح واجمالي الغليكوزيدات في الديجيتال أو يمكن مقايستها لأجل مركبات كيميائية محددة كالريزيربين في الراولفيا

Assay

1. Spectroscopic analysis تحاليل مطيافية
2. Fluorescence analysis تحاليل تآلق
3. Quantitative fluorescence analysis تحاليل تآلق كمية
4. NMR spectroscopy مطيافية الرنين النووي المغناطيسي

Assay

5. Immunoassays المقاييس المناعية
6. Radioimmunoassay (RIA) مناعية المقاييس الشعاعية
7. Tandem mass spectroscopy (MS-MS) مطيافية مقياس الكتلة

Extraction of plant material

- The choice of extraction procedure depends on: ان انتقاء طريقة واجراء الاستخلاص يعتمد على:
 1. the nature of the plant material طبيعة المواد النباتية
 2. The components to be isolated المكونات التي يجب عزلها
- Dried materials are usually powdered before extraction المواد النباتية الجافة عادة ما يتم سحقها قبل الاستخلاص

Extraction of plant material

- Fresh plants can be homogenized or macerated with a solvent such as alcohol.
النباتات الغضة تجانس (بالخلاط) أو يتم تعطيتها بمذيب مناسب كالكحول.

Extraction of plant material

- Alcohol is a general solvent for many plant constituents (most fixed oil excepted). يعد الكحول مذيب عام للعديد من المكونات النباتية (عدا معظم الزيوت الدسمة)
- Water-immiscible solvents are widely used-light petroleum (essential and fixed oils, steroids), ether and chloroform (alkaloids, quinones). تستخدم المذيبات غير المزوجة مع الماء بشكل واسع مثل الايثر الخفيف (للزيوت الطيارة والدسمة والستيروئيدات)، الايثر والكلوروفورم (للقلويدات والكينونات)

Extraction of plant material

- The extraction of organic bases (alkaloids) usually necessitates basification of the plant material if a water immiscible solvent is to be used. عادة ما يتطلب استخلاص الأسس العضوية (القلويدات) قلونة المواد النباتية إذا أردنا استخدام مذيب غير مزوج مع الماء بعملية الاستخلاص
- For aromatic acids and phenols acidification may be required. يمكن أن نحتاج الى تحميص المادة النباتية إذا أردنا فصل الأحماض الفينولية والفينولات.

Extraction of plant material

- Extraction may be performed by repeated maceration, percolation or by continuous extraction (soxhlet extractor). يمكن أن يتم الاستخلاص بعملية التعطين، التزحيل أو بواسطة طريقة سوكلية (استخلاص مستمر).

Extraction of plant material

- Ultrasound may enhance the extraction process for some plant materials and the BP uses this in the preparation of a 50% ethanolic solution of opium for the assay of alkaloids.
 - يمكن تعزيز عملية الاستخلاص للعديد من المواد النباتية بواسطة الأمواج فوق الصوتية، (تحضير محلول ايتانولي 50% للأفيون لأجل مقايسة القلويدات).
- Microwave extraction methods
- طرق الاستخلاص باستخدام الميكروويف

Ultrasound may enhance the extraction



Supercritical fluid extraction

الاستخلاص بالسوائل فوق الحرجة

- Above a certain temperature, and pressure, single substances do not condense or evaporate but exist as a fluid.
في شروط محددة من الحرارة والضغط لا تتكاثف المكونات ولا تتبخر ولكنها تبقى بحالة سائلة.

Supercritical fluid extraction

الاستخلاص بالسوائل فوق الحرجة

- For water, the critical conditions for temperature (T_c) and pressure (P_c) are 374 C° and 220 atmospheres respectively and for carbon dioxide (31C ° , 74 atm).
- شروط الاستخلاص بالسوائل الحرجة: الماء (درجة الحرارة المطبقة 374 درجة مئوية، الضغط المطبق 220 ضغط جوي) أما بالنسبة لثاني أكسيد الكربون فهي (درجة الحرارة 31 درجة مئوية، الضغط 74 ضغط جوي)

Supercritical fluid extraction

الاستخلاص بالسوائل فوق الحرجة

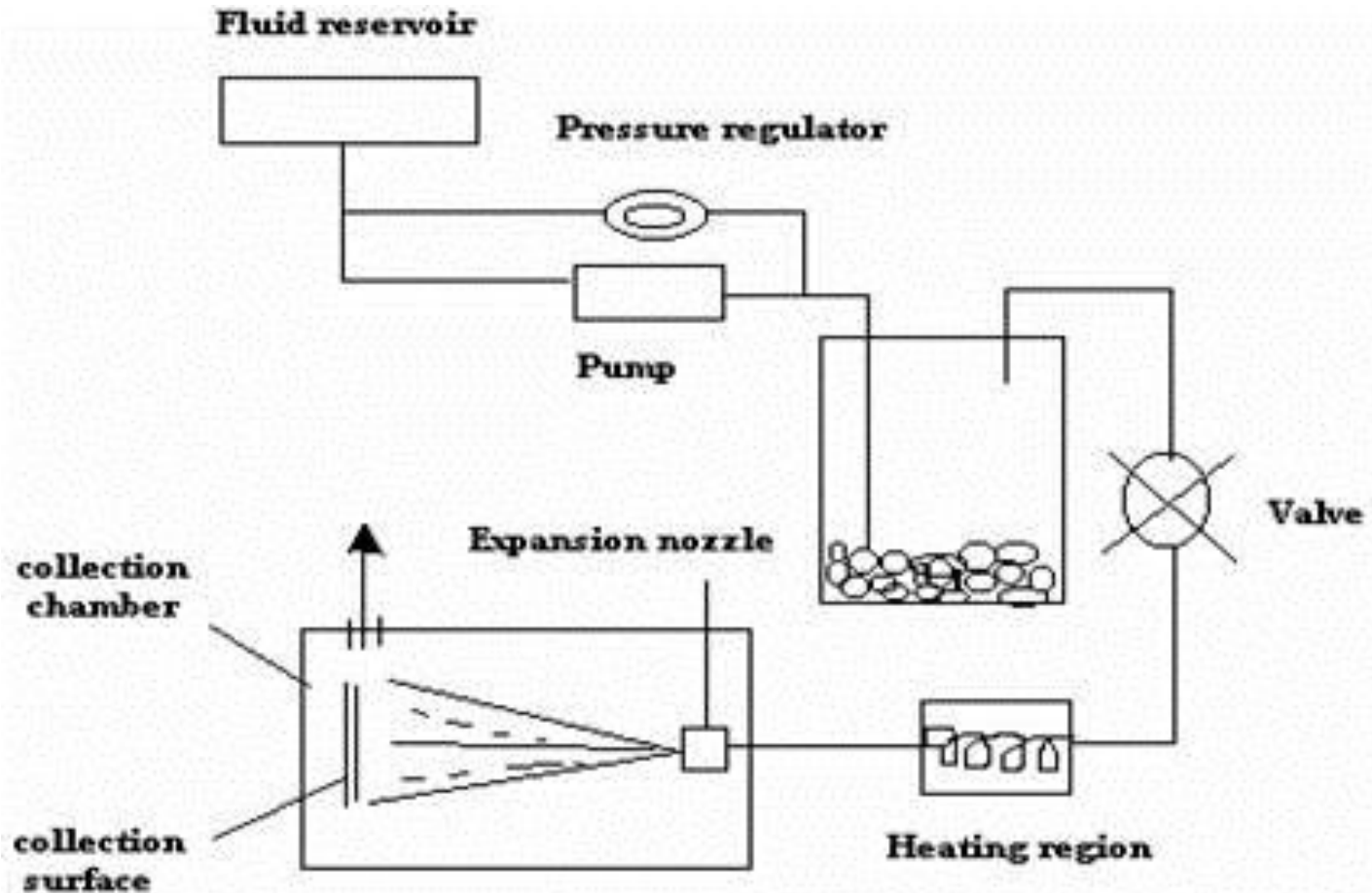
- Some examples of more recent studies involving the extraction of phytochemicals with supercritical carbon dioxide are:
 - بعض الامثلة عن
 - 1. Alkaloids: decaffeination of green coffee .

Supercritical fluid extraction

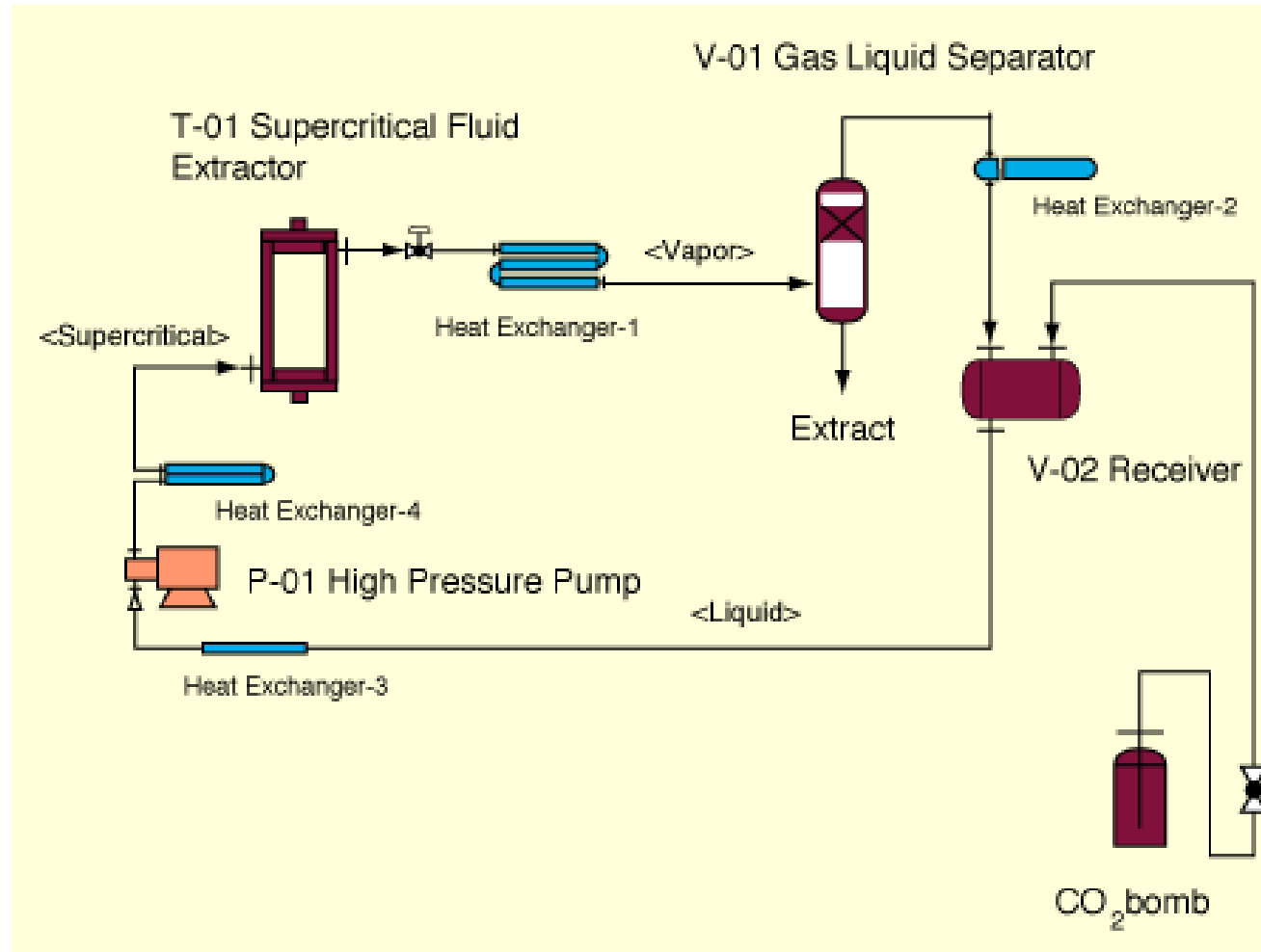
الاستخلاص بالسوائل فوق الحرجة

2. Diterpene: extraction of taxol from taxus brevifolia الطقسوس (extraction more selective than conventional ethanol extraction).
3. Fixed oils: extraction of oil from evening primrose . زهرة الربيع المسائية .
4. Pigments
5. Sesquiterpene lactones
6. Volatile oils and resins: (hops حشيشة الدينار , Piper nigrum الفلفل , rose petals بتلات الورد , rosemary اكليل الجبل ...).

Supercritical fluid extraction



Supercritical fluid extraction



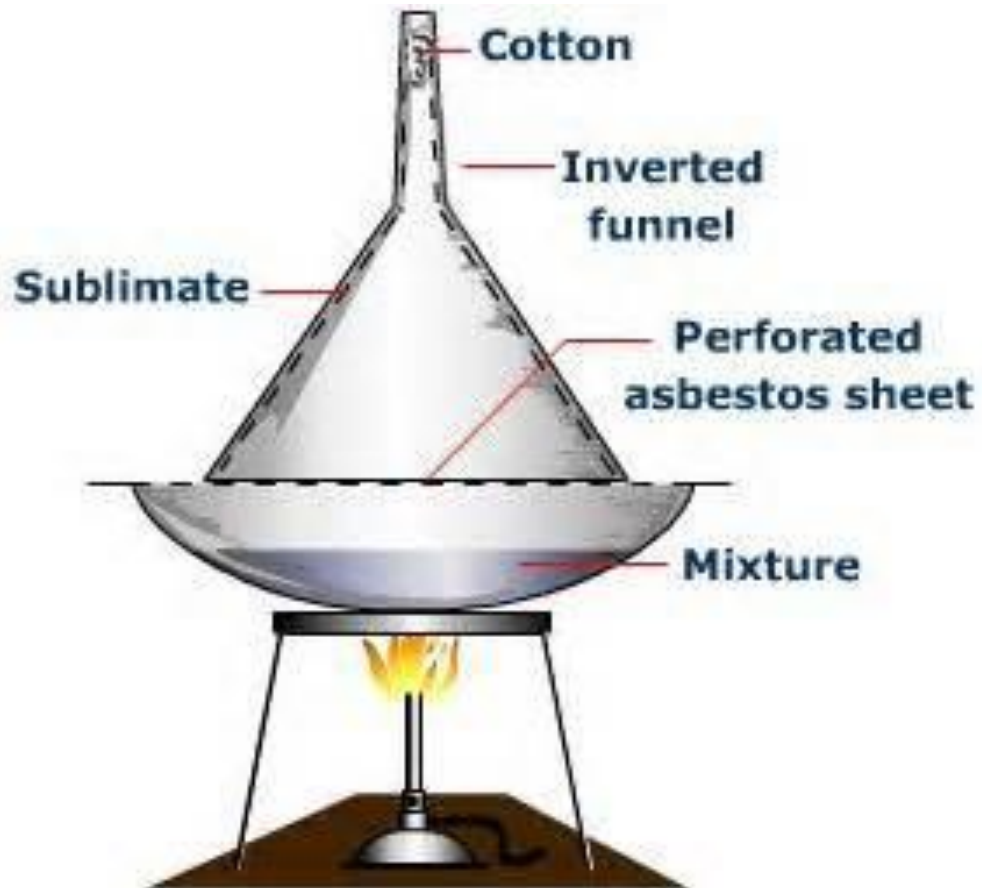
Separation and isolation of constituents

1. Sublimation تصعيد
2. Distillation تقطير
3. Fractional liberation تحرر مجزئ
4. Fractional crystallization بلورة مجزئة
5. Adsorption chromatography كروماتوغرافيا الامصاص
6. Counter-current extraction (liquid-liquid extraction) الاستخلاص بالتدفق المضاد
7. Partition chromatography كروماتوغرافيا التجزئة

Sublimation

- **Sublimation** is the transition of a substance directly from the solid to the gas phase without passing through an intermediate liquid phase. Sublimation is an endothermic phase transition that occurs at temperatures and pressures below a substance's triple point in its phase diagram. The reverse process of sublimation is desublimation, or deposition.

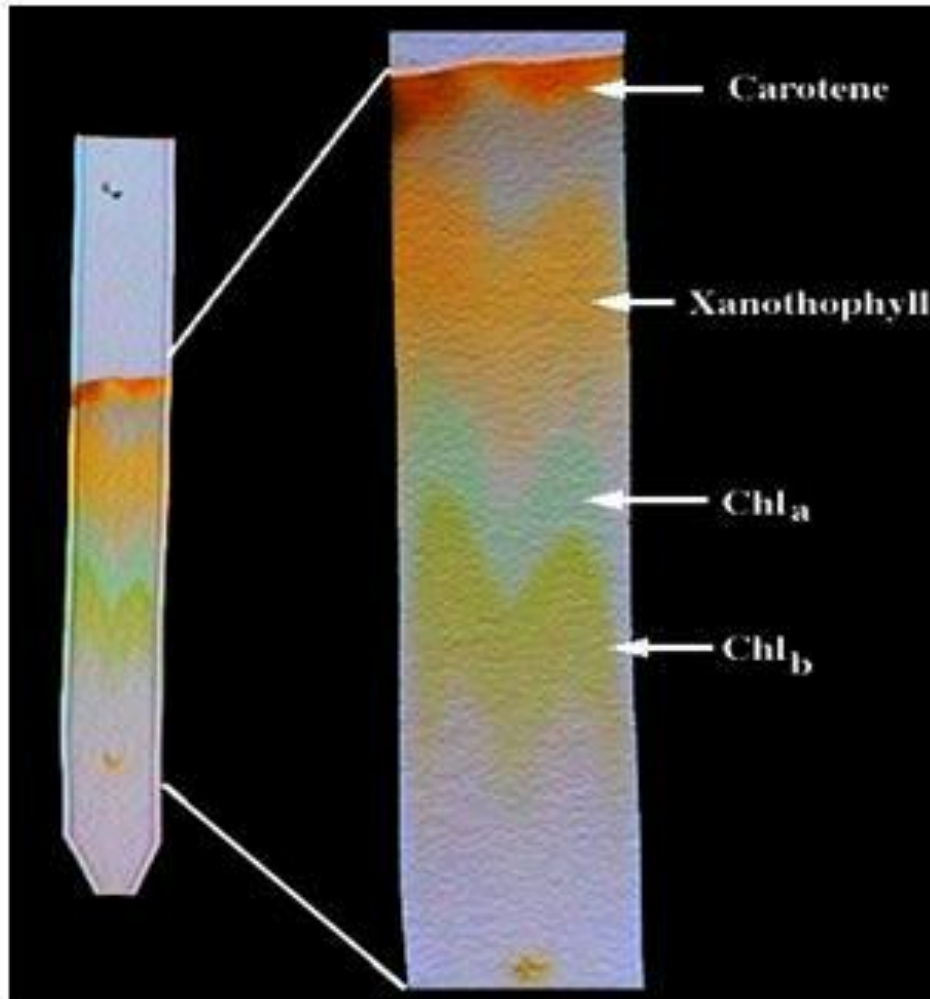
Sublimation



Distillation

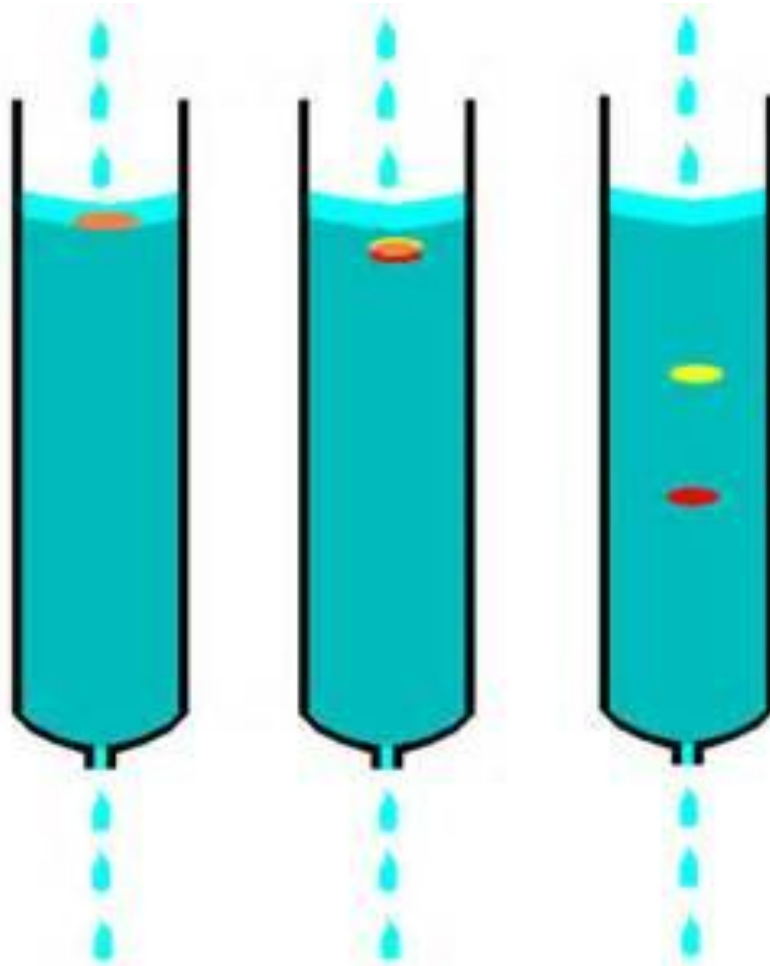
- **Distillation** is a method of separating mixtures based on differences in volatility of components in a boiling liquid mixture. Distillation is a unit operation, or a physical separation process, and not a chemical reaction.

Adsorption chromatography



In this picture the mobile phase moves up, where carotene is the most polar compound thus eluting out first. And chlorophyll b is the least polar molecule which elute last.

Adsorption chromatography



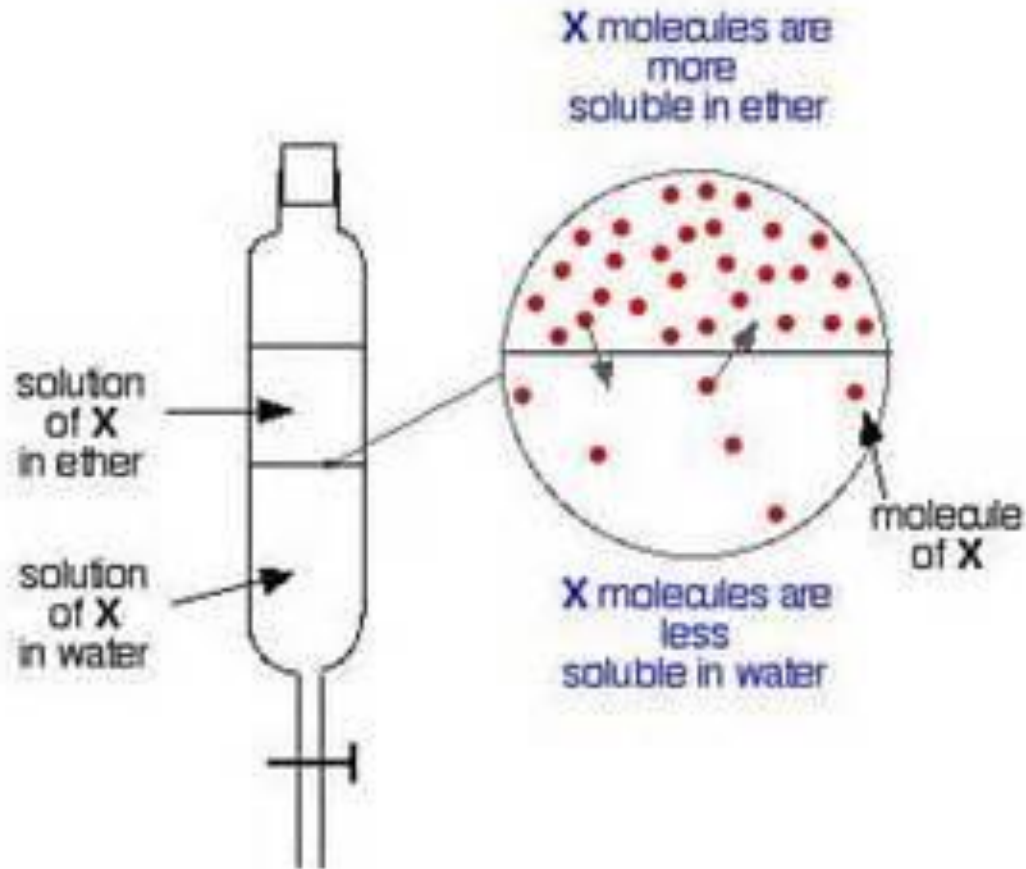
Counter-current extraction (liquid-liquid extraction)



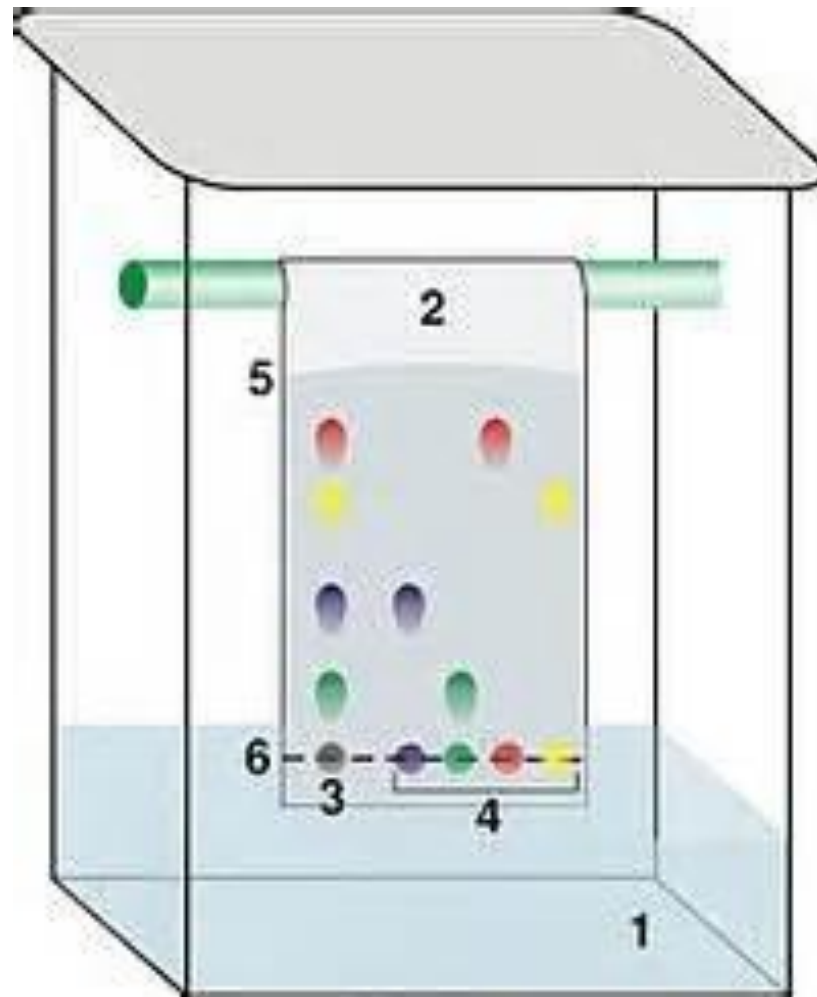
Separation and isolation of constituents

8. Partition chromatography on paper كروماتوغرافيا التجزئة على الورق
9. Thin layer chromatography كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
10. Preparative TLC (الفصل الكمي) كروماتوغرافيا التحضير
11. Gas liquid chromatography الكروماتوغرافيا الغازية السائلة
12. Capillary column gas chromatography كروماتوغرافيا الغازية الشعرية

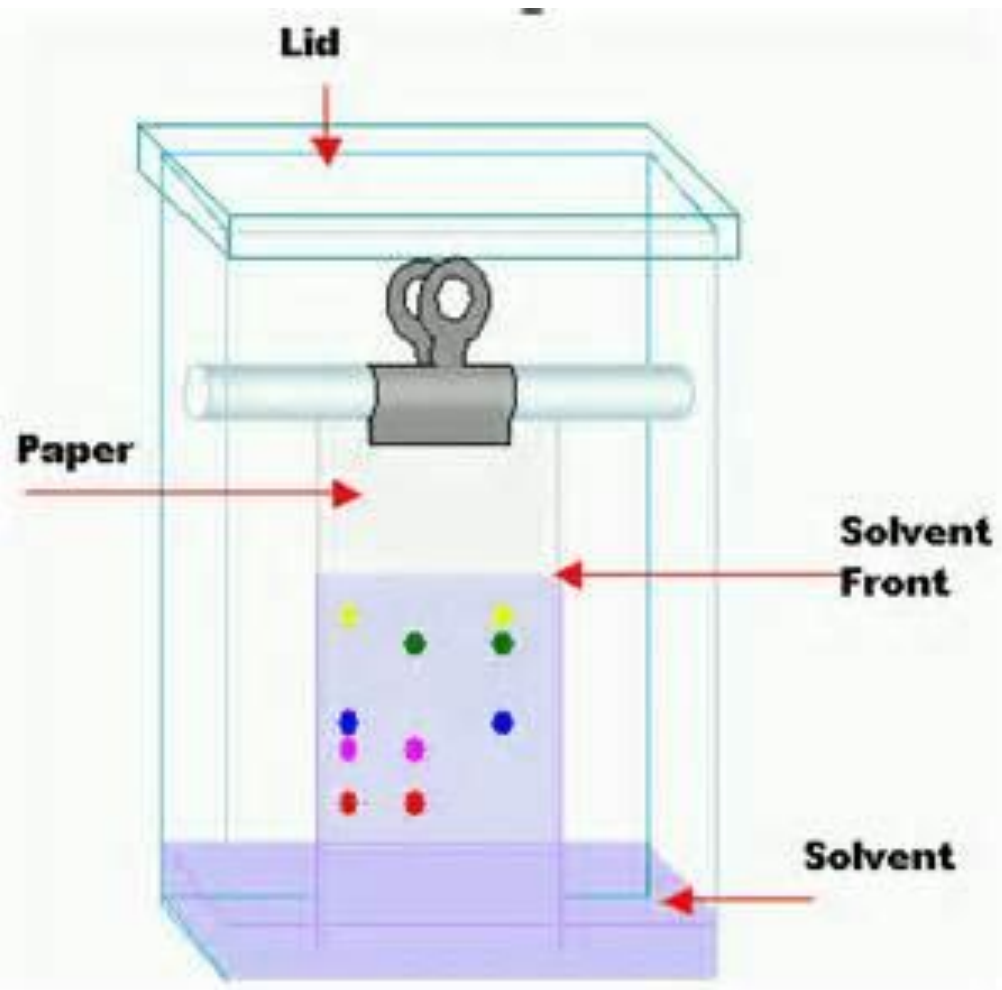
Partition chromatography



Partition Chromatography on paper



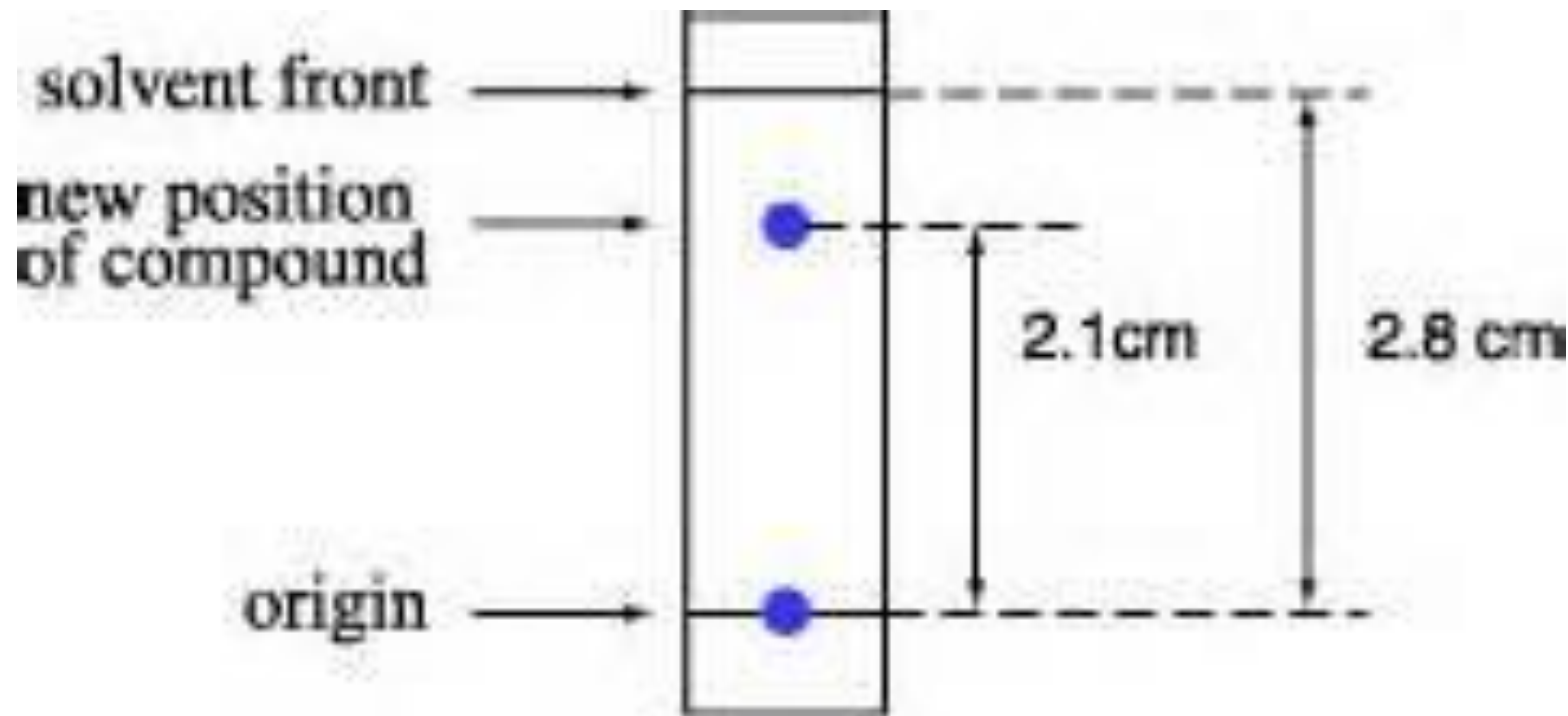
TLC



Preparative TLC

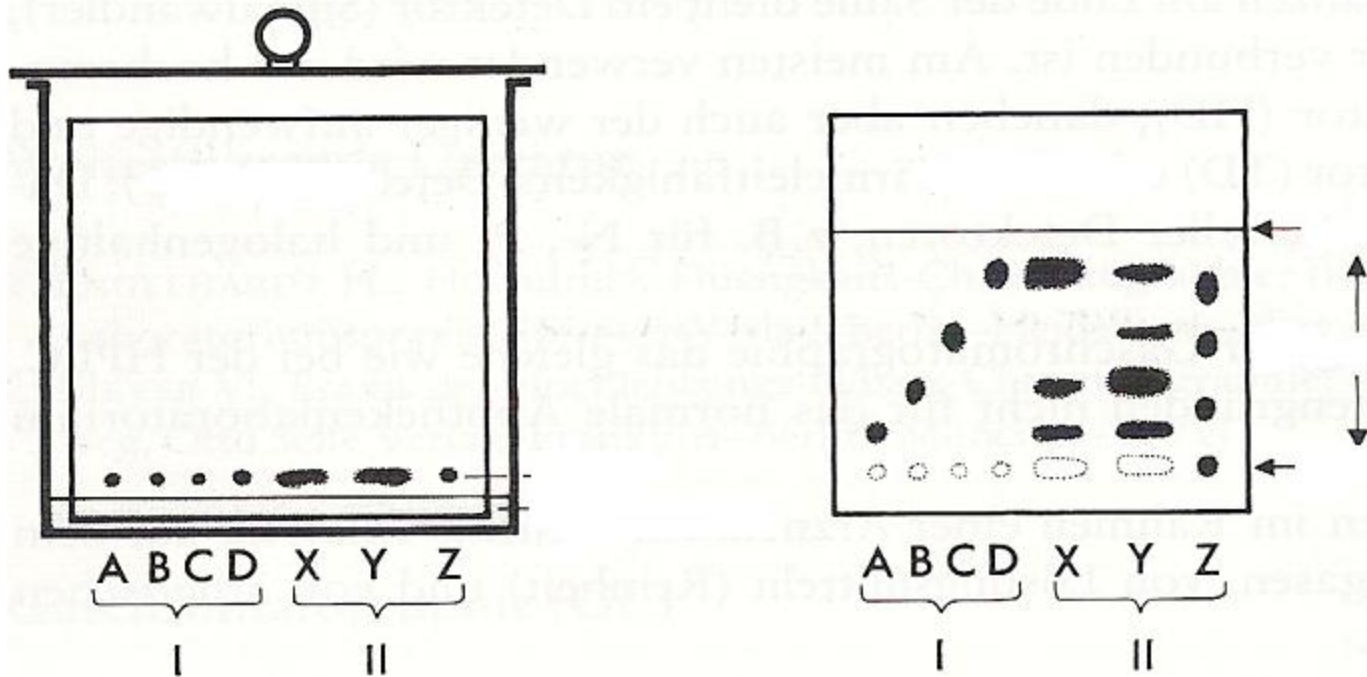


R_f Value

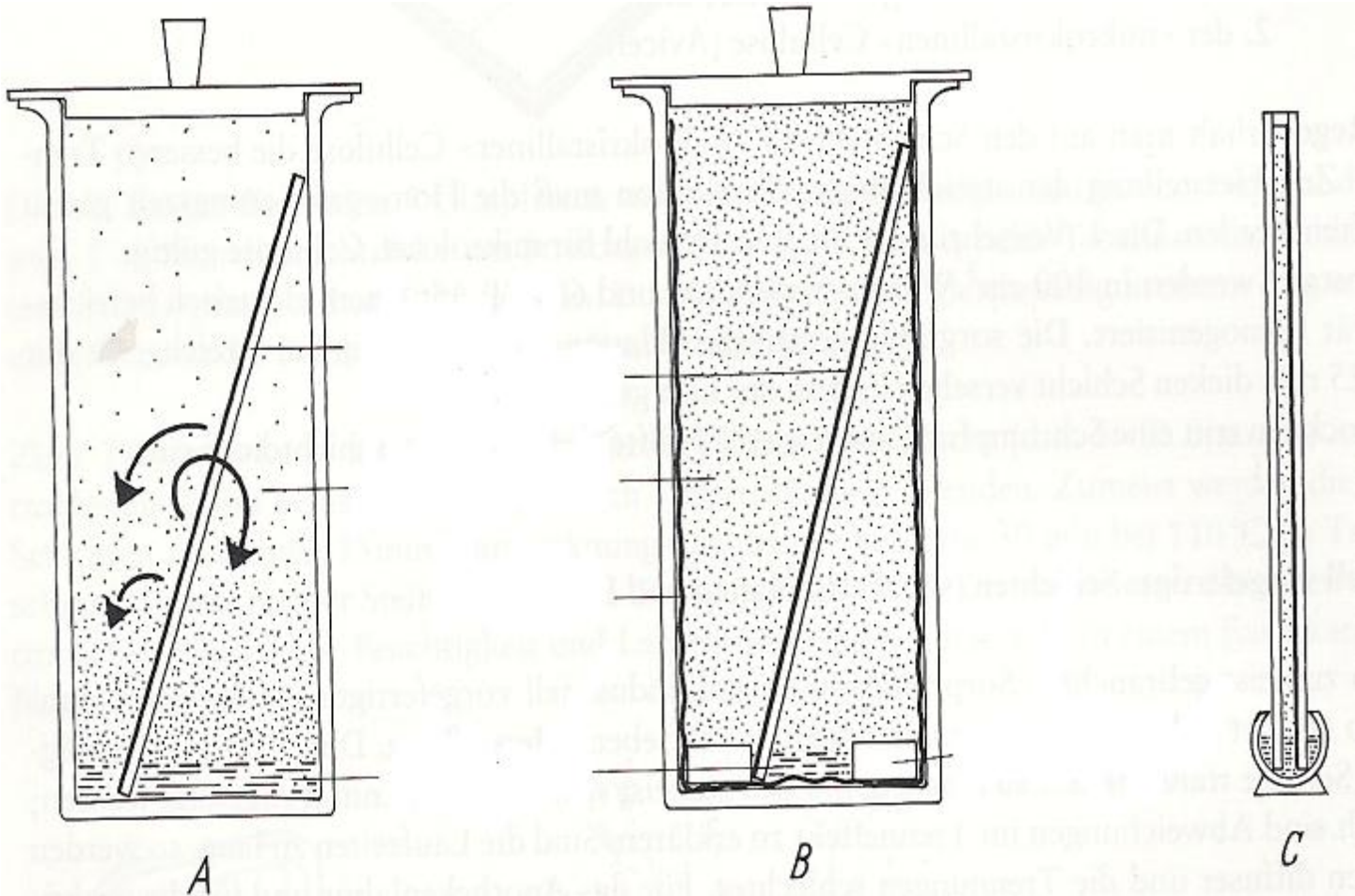


$$R_f = \frac{2.1}{2.8} = 0.75$$

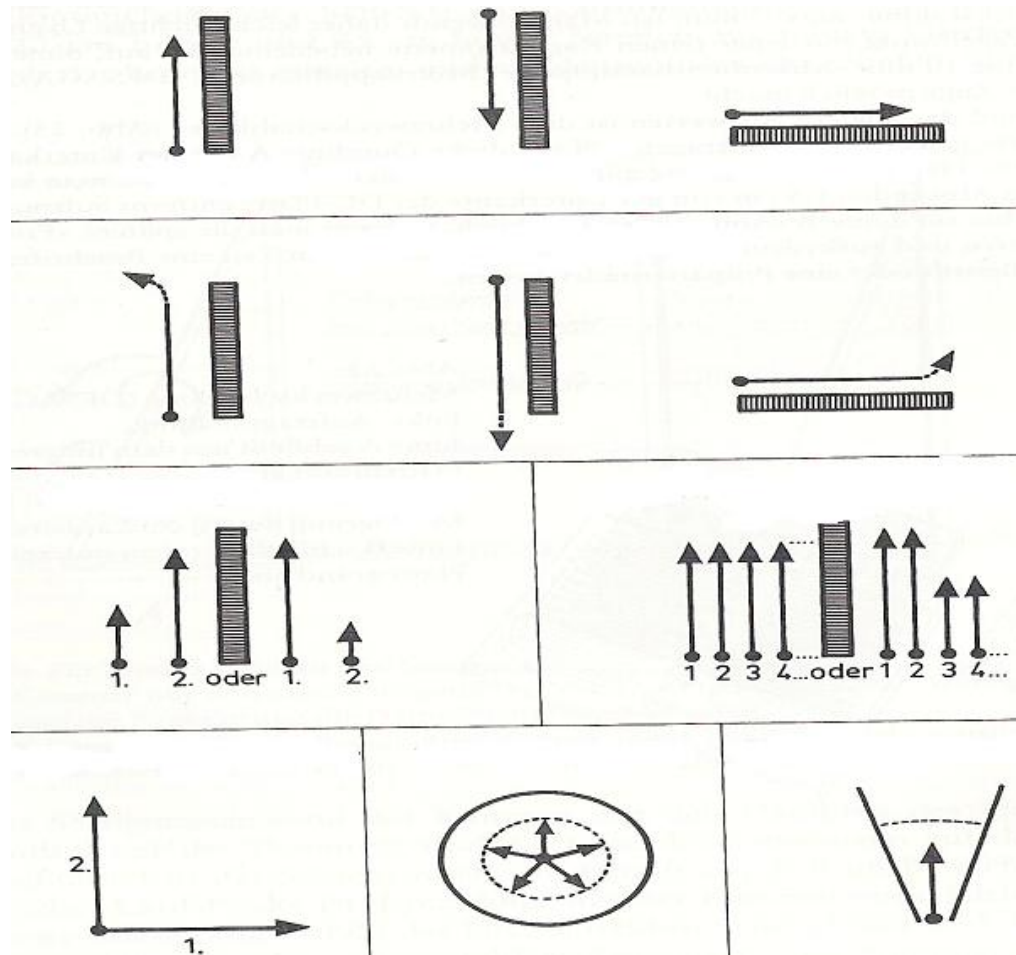
TLC



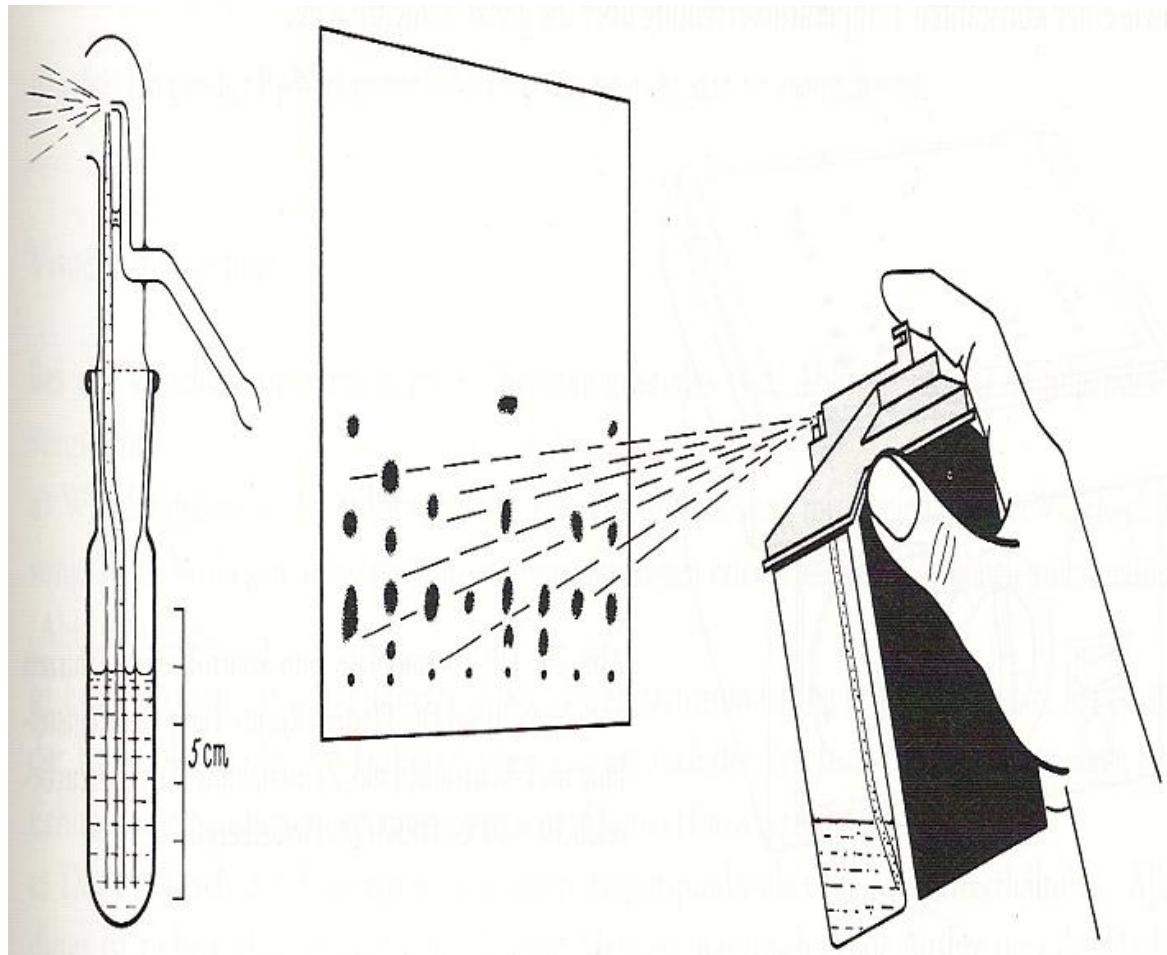
Saturation of the sink



Forms of TLC improvement



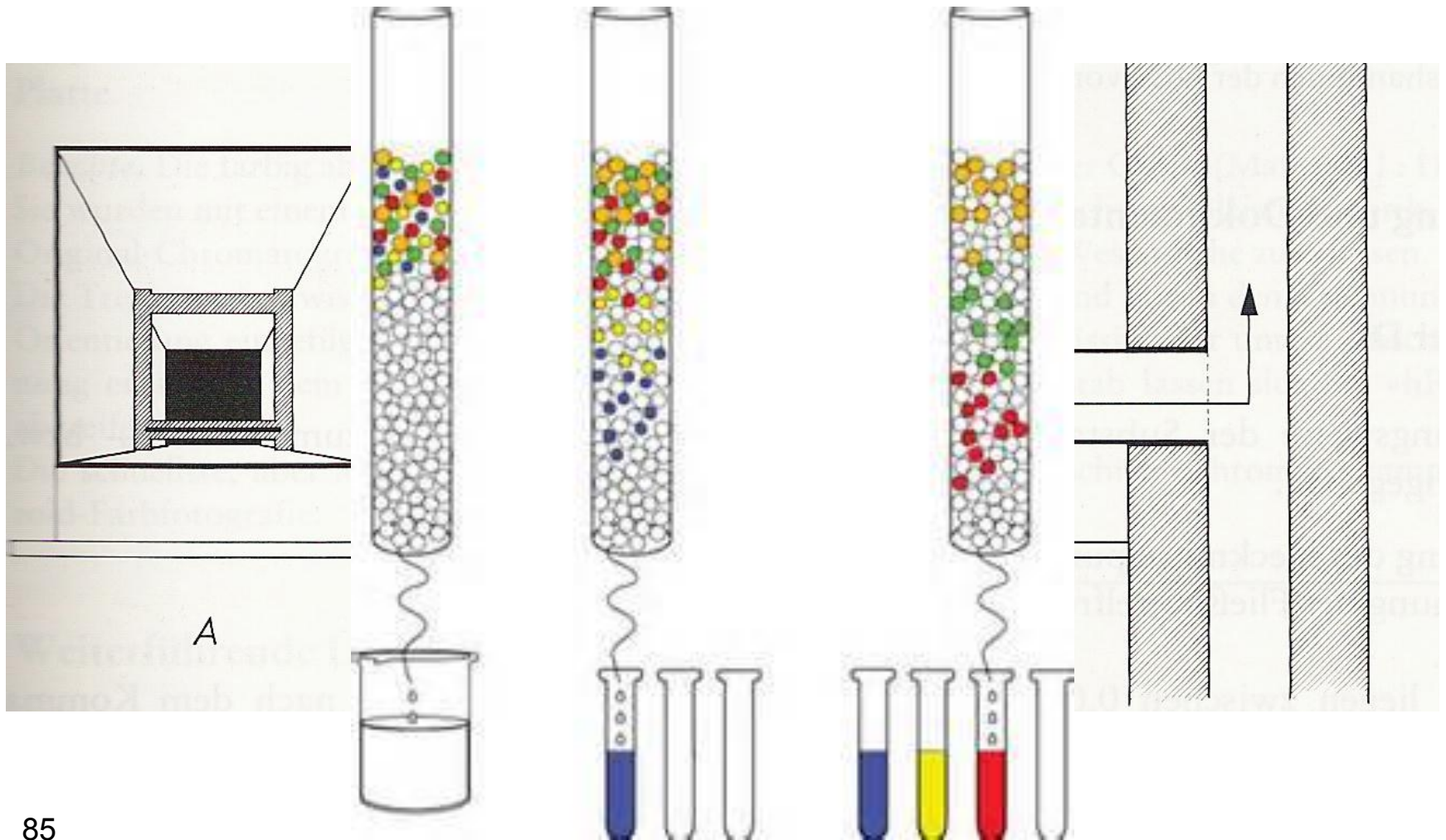
Spraying



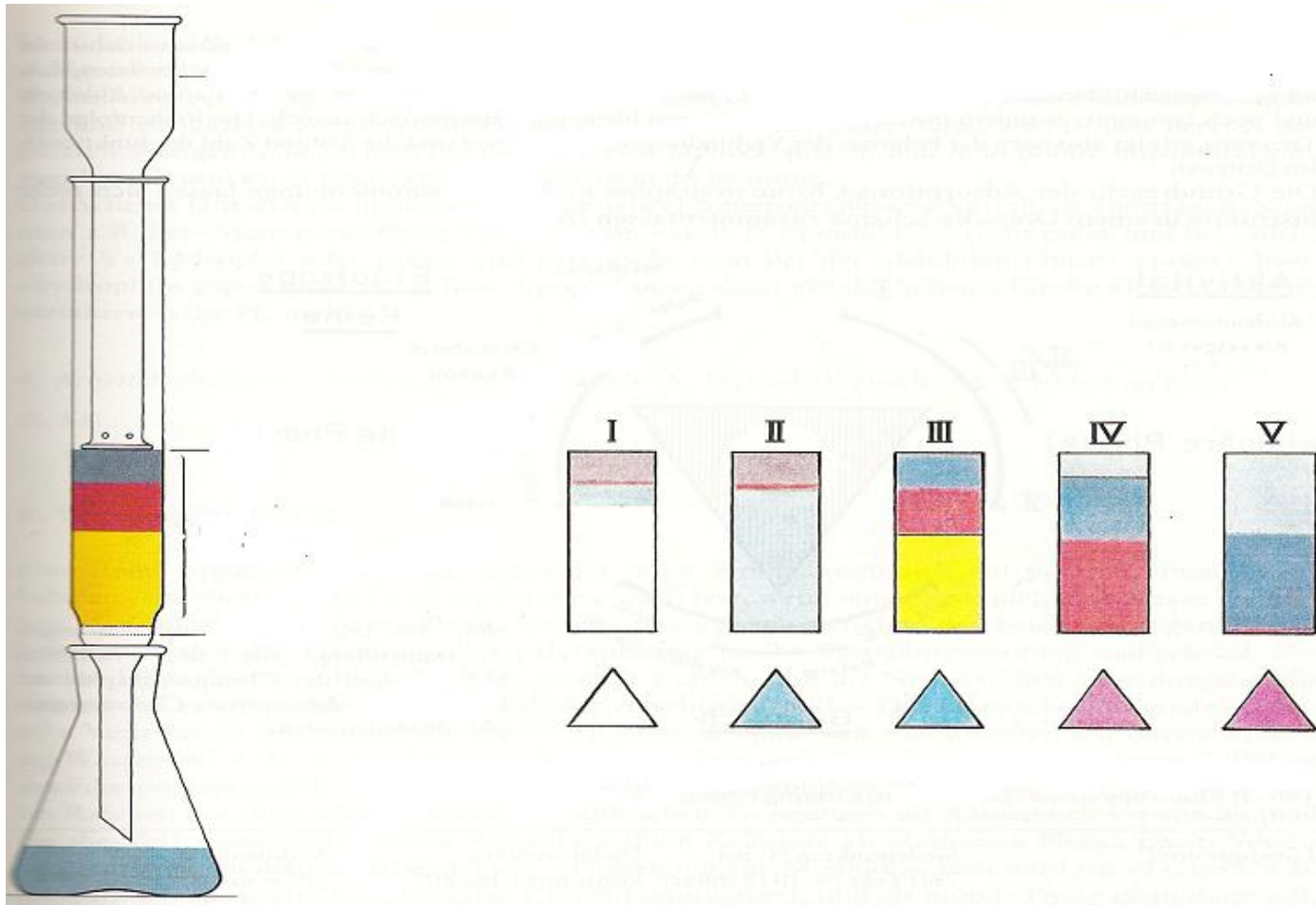
Separation and isolation of constituents

13. Gel filtration (molecular sieves) الترشيح على الهلام (الغراء)
14. Electro chromatography الكروماتوغرافيا الكهربية
15. Affinity chromatography كروماتوغرافيا الالفة
16. High performance liquid chromatography الكروماتوغرافيا السائلة رفيعة الانجاز HPLC

Spraying under the Hood

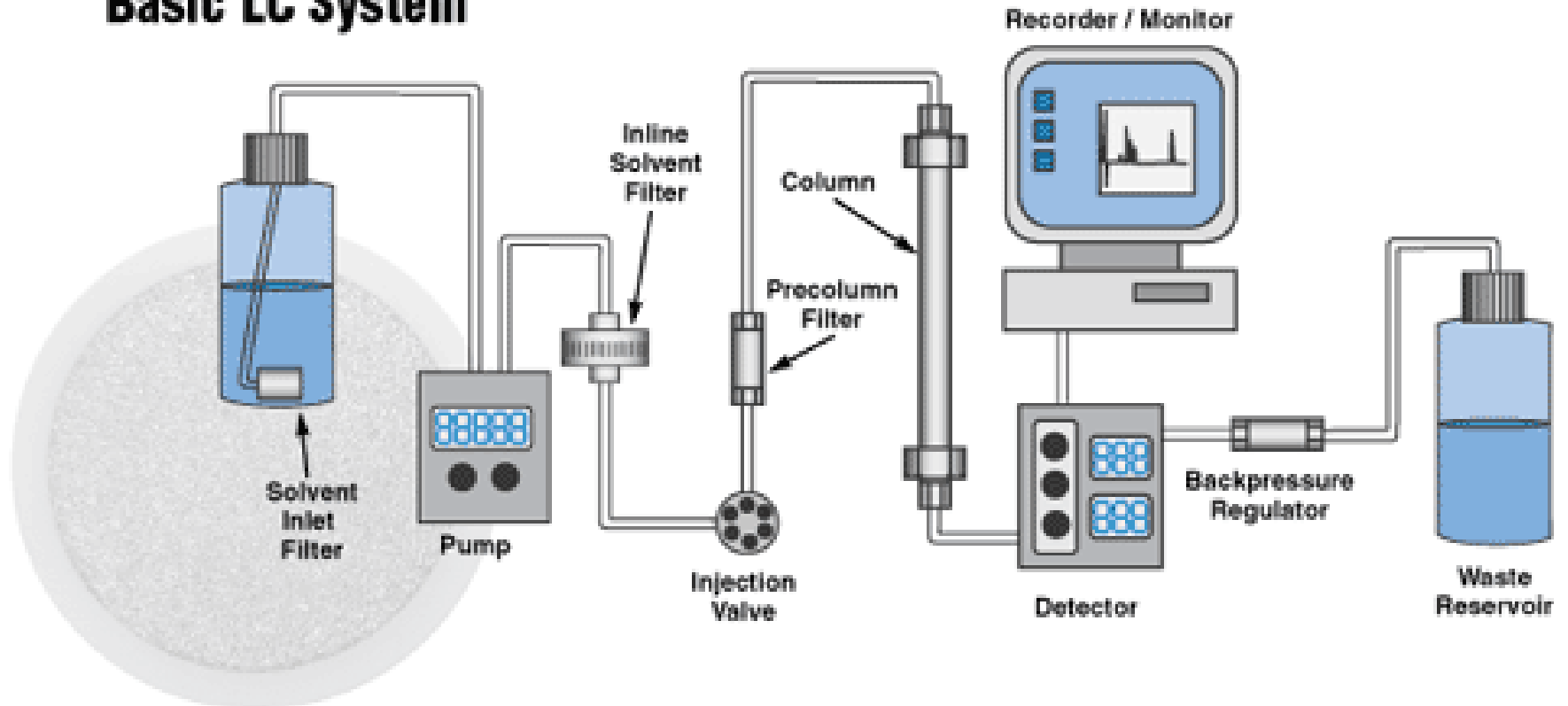


Chromatography

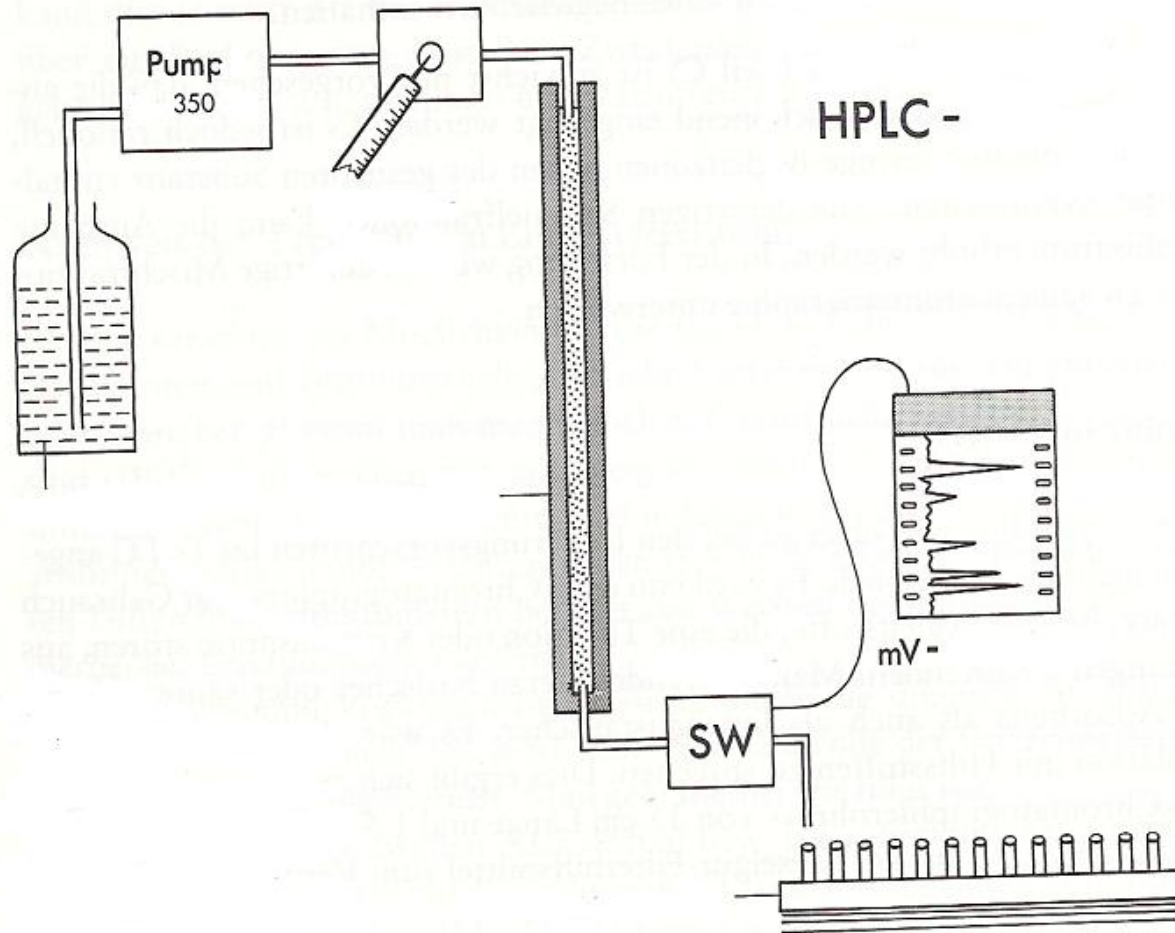


Flash Chromatography

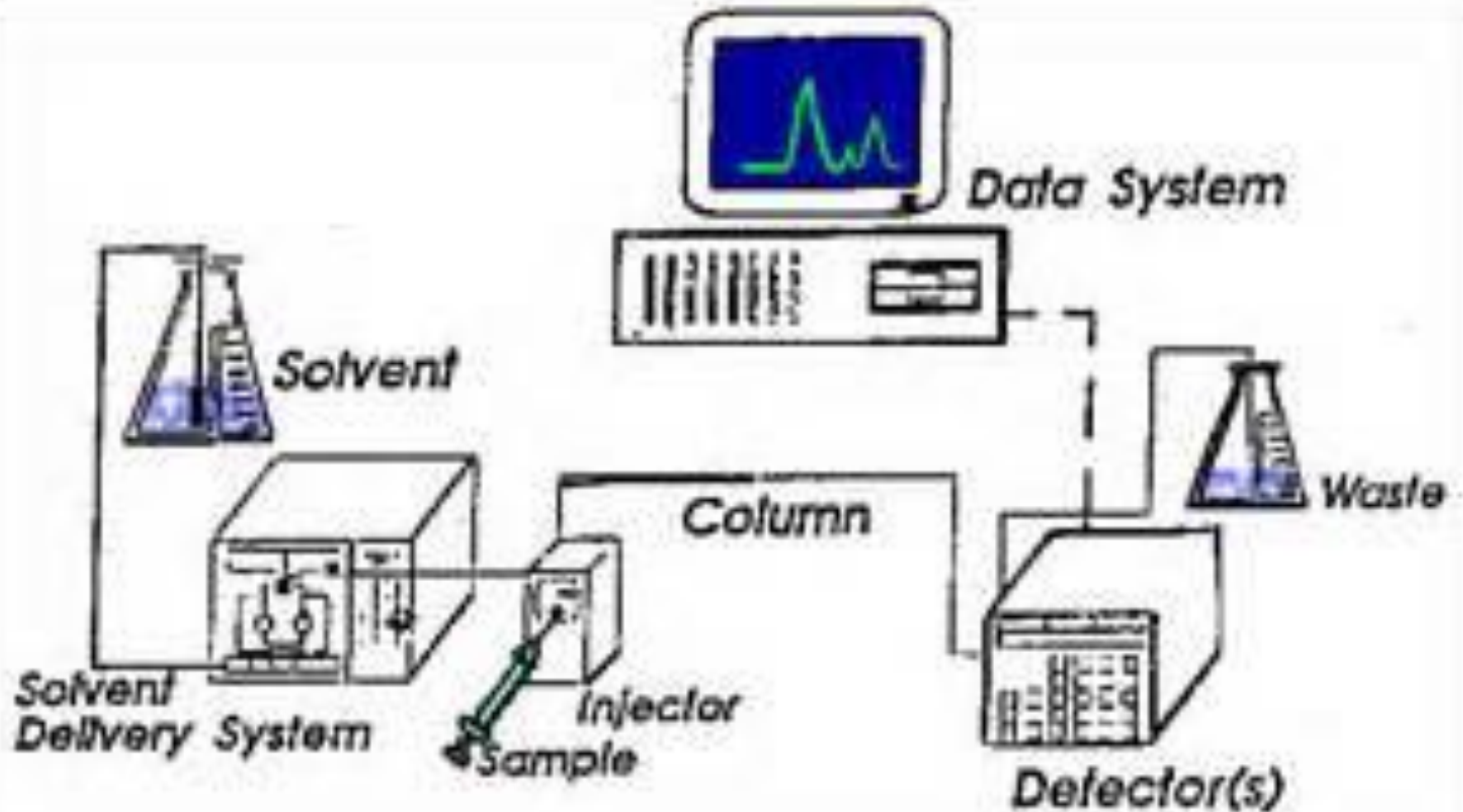
Schematic: Basic LC System



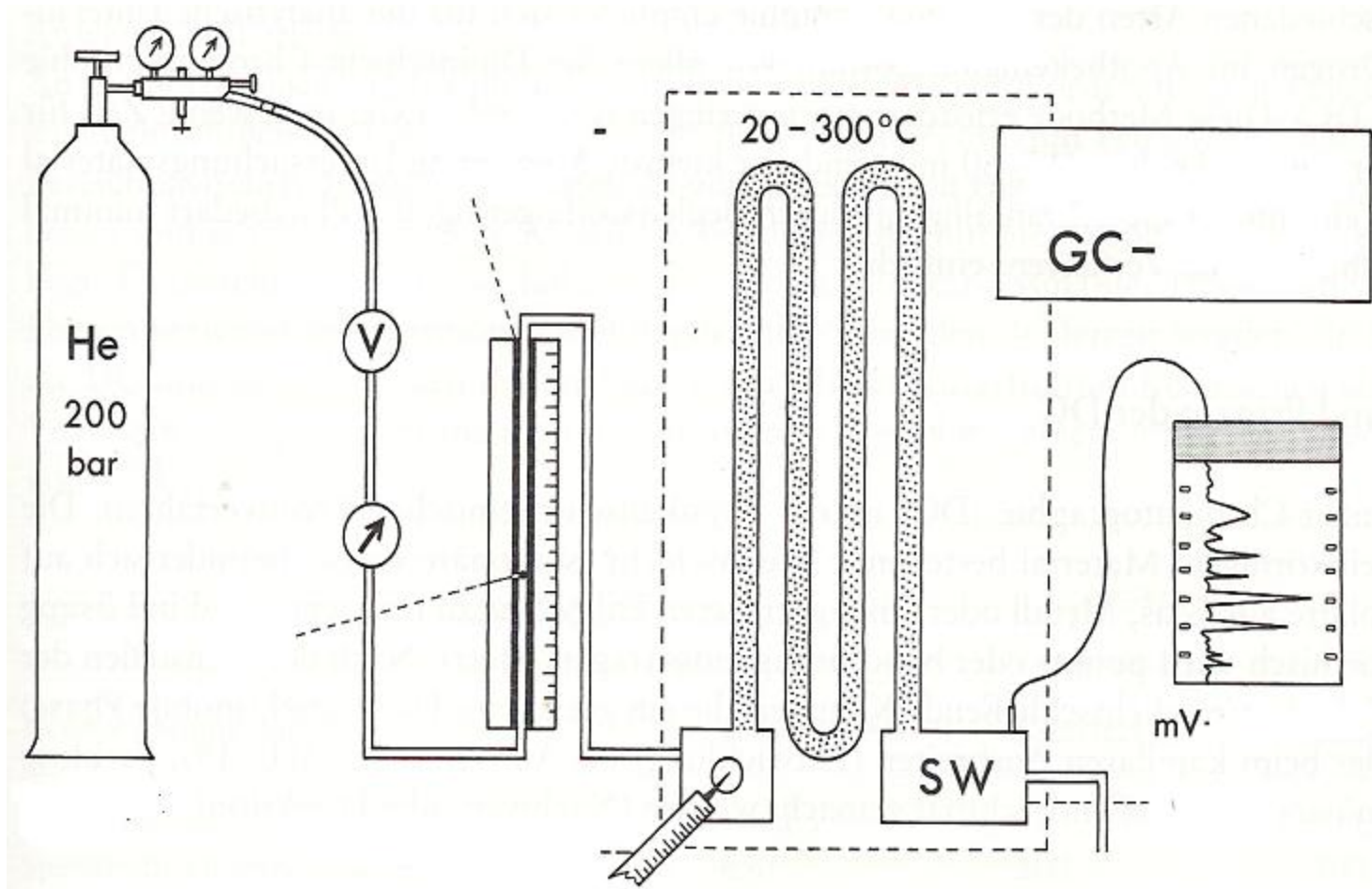
HPLC



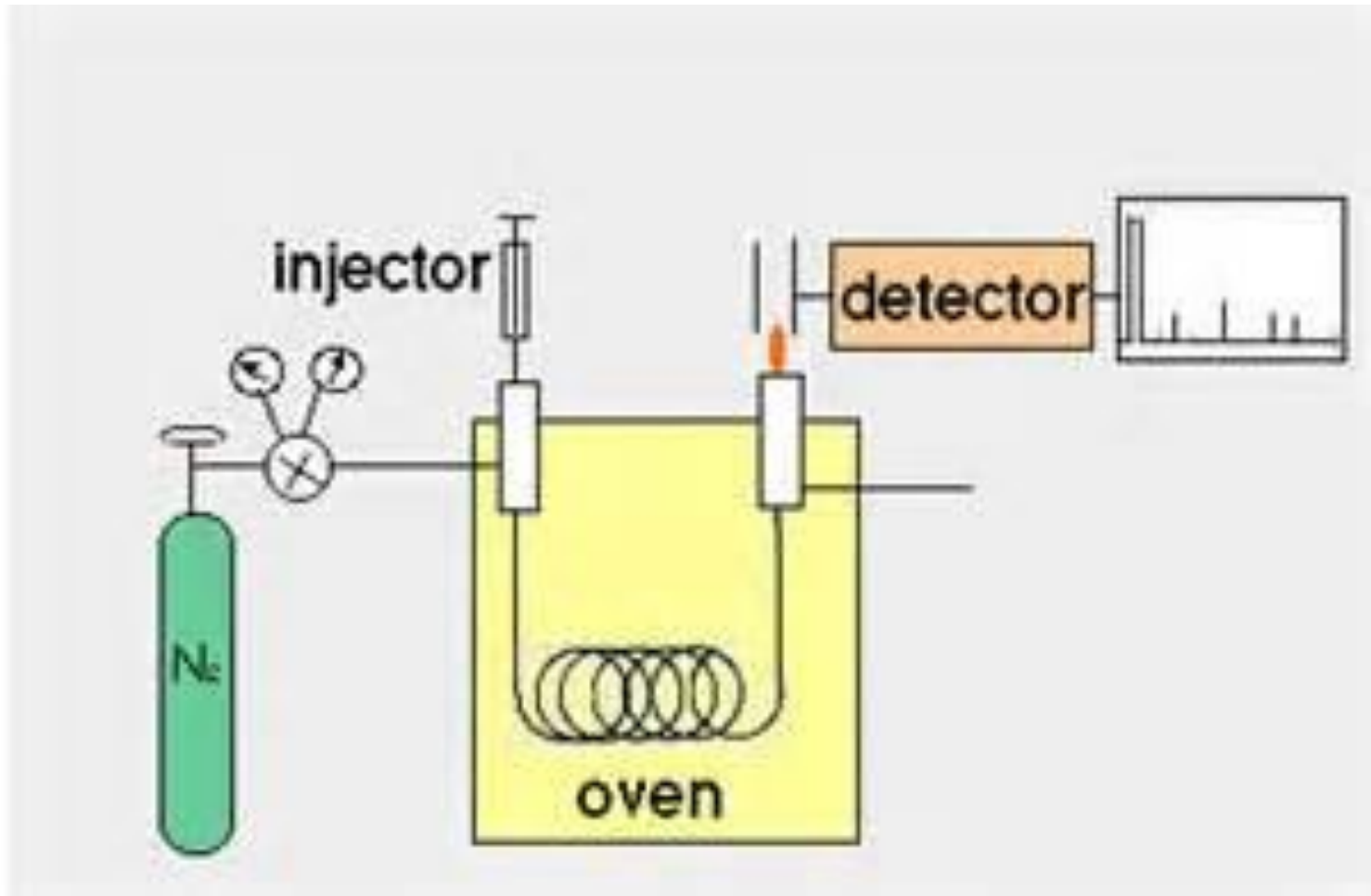
HPLC



GC



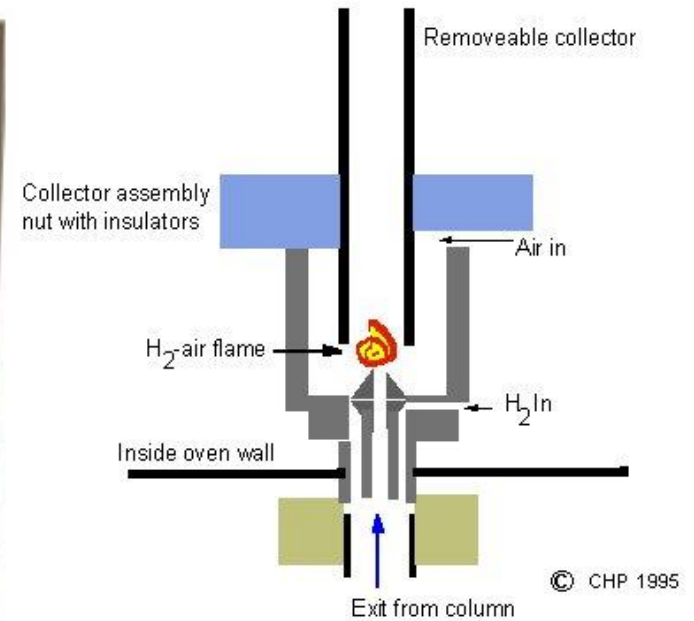
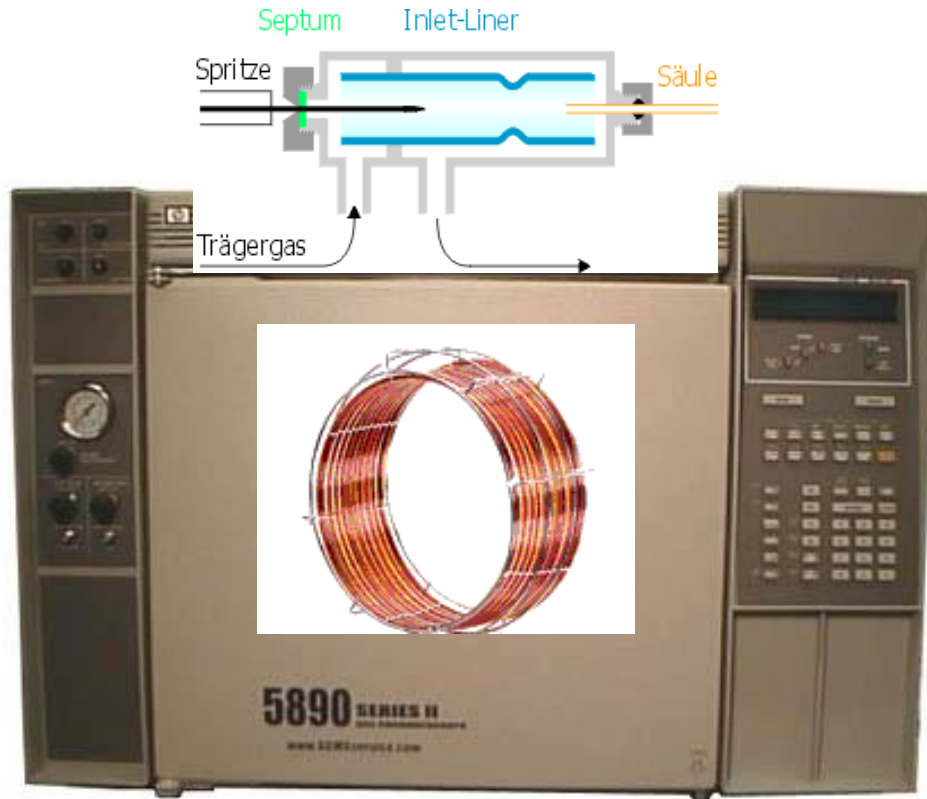
Gas liquid chromatography



Capillary GC



GC

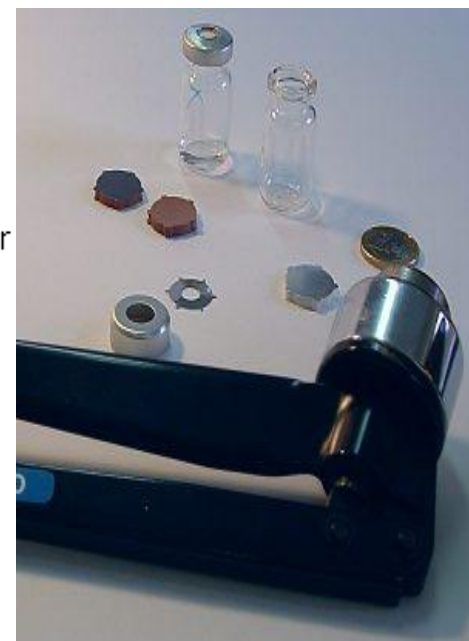
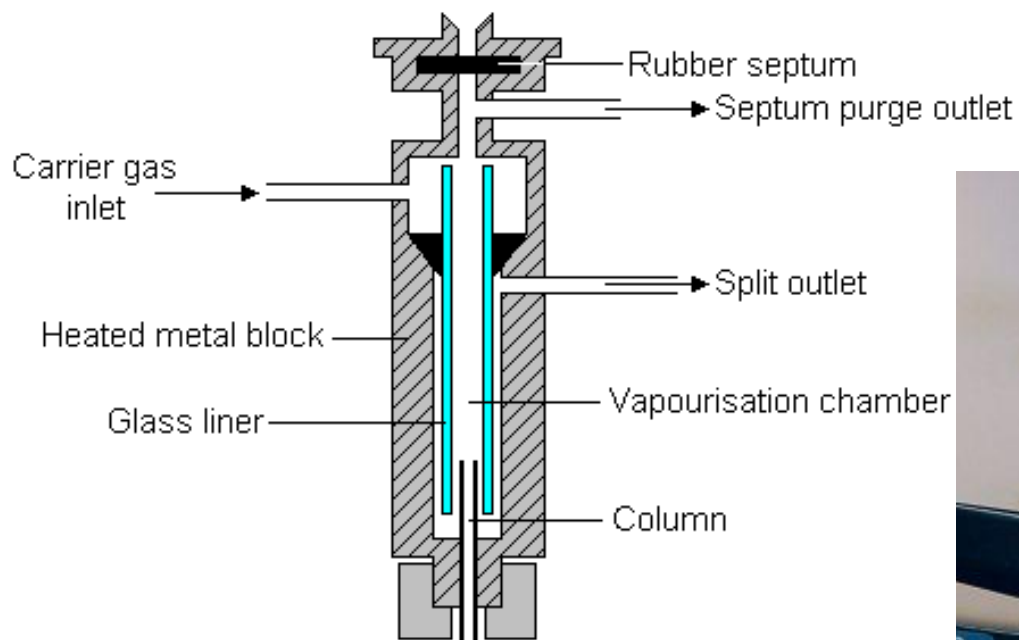
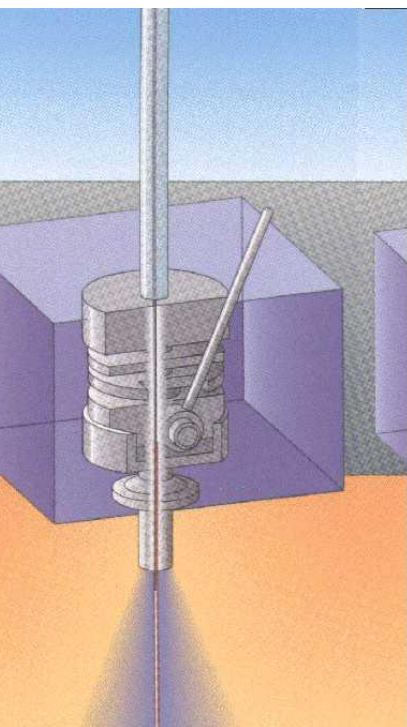


GC

On-Column

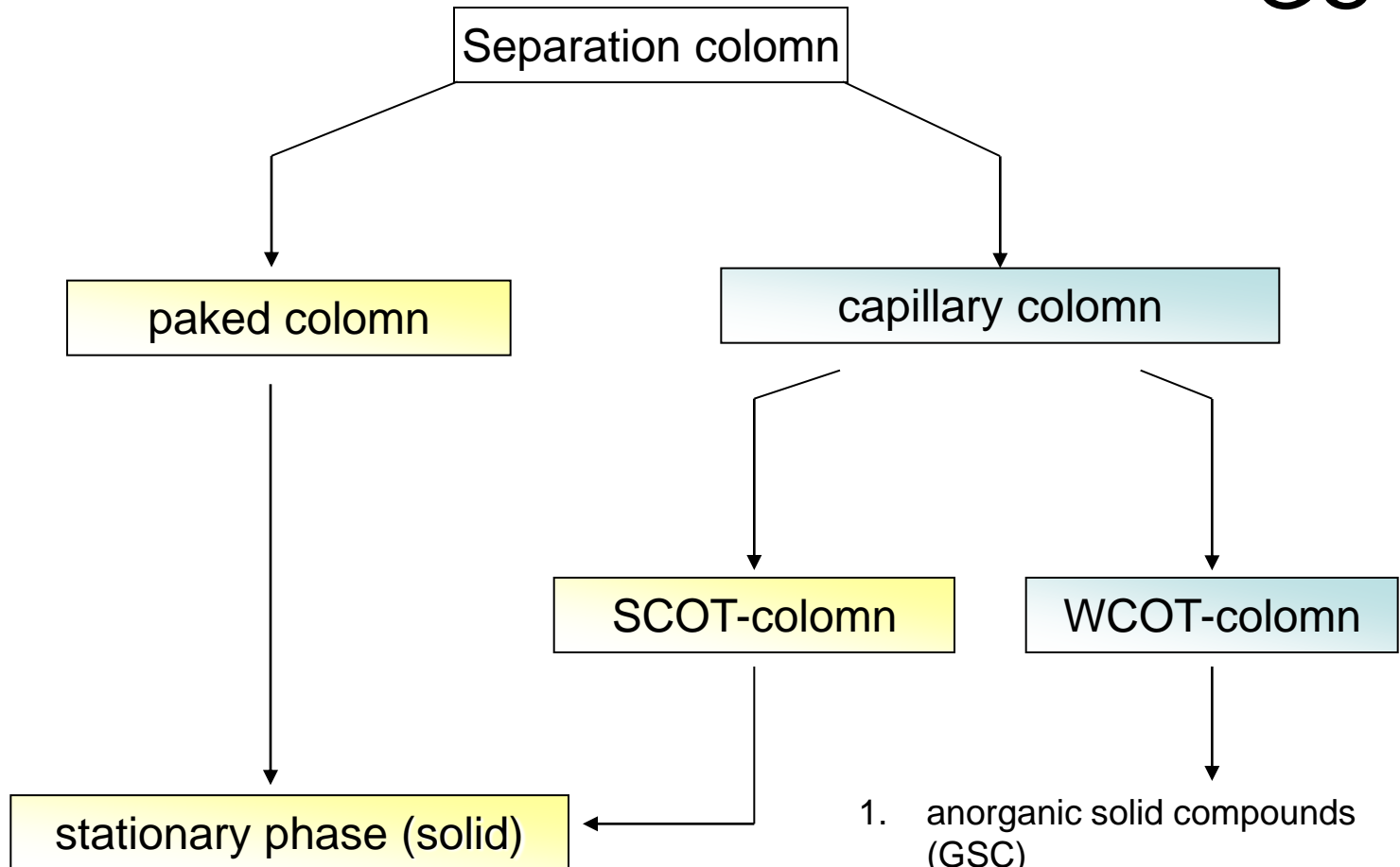
GC •

The split / splitless injector



Forms of GC

GC •



1. anorganic solid compounds (GSC)
2. Organic, polymeric compounds (GSC)

Retentiontime

زمن الاحتباس

Def.: The Retentiontime is related to distribution factor k between fluid stationary phase and Gasphase (in constant T and V -holdgas)

$$k = \frac{\text{conc. in fluid station phase}}{\text{concentration in holdgas}}$$