4. Crystallographic characters of alkaloid salts and complexes with different precipitants.
5. Colour reactions with special reagents.
6. Ultra-violet and infra-red absorption spectra.
7. Specific rotation.
8. Determination of molecular formula.
9. Chromatographic constants using different techniques; paper, thin-layer and gas chromatography, etc.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALKALOIDS.

The dried powdered material is completely extracted in quantitative manner, by one of the methods described under extraction and isolation of alkaloids. Purification of the alkaloids may be carried as described above when necessary. The combined organic extract is evaporated and the residue is redissolved in alcohol and evaporated two or three times, to remove any remaining ammonia or volatile bases (of course this cannot be carried in case of volatile alkaloids, e.g. tobacco, pomegranate and ephedra alkaloids, etc).

It should be noted that chloroform, when used as solvent, should not be evaporated to dryness, because some may be decomposed to hydrogen chloride and phosgene. Of course this will cause partial neutralization, particularly in the presence of strong basic alkaloids. Therefore, chloroform should be evaporated to small volume, then alcohol is added and evaporation is carried to dryness.

The alkaloidal residues obtained after the purification process, are usually mixtures of different bases, and various methods are available for the separation (complete or partial) of these alkaloids for the purpose of determining them individually. Chromatography, distillation, precipitation, crystallization, liquid–liquid extraction .. etc., have been applied whenever possible to effect this end. Often, it is possible to determine one alkaloid in the presence of others by colorimetry, polarimetry, polarography, ultraviolet and infrared spectrophotometry and other methods, which take advantage of some special physical and chemical properties of the individual compound.

Most common assay for alkaloidal drugs are "Proximate assays", as in the determination of total mixed alkaloids, total non-volatile alkaloids, total ether-soluble alkaloids, etc. A few are "Ultimate assays", being based on the isolation and determination of a particular alkaloid. Examples of the latter, are the analysis of opium for morphine and nux vomica for strychnine. The residue containing the alkaloids may be evaluated by a suitable one of the following methods :

1. **Volumteric methods** : Volumetric determination of the alkaloidal residue, i. e. the determination of total basic nitrogen, is generally preferred to gravimetric determination because it is more rapid. The presence of neutral substances which do not interfere with the titration can be tolerated, but difficulties due to coloring matter and certain fatty materials may be serious.

The residue is usually dissolved in a little warm alcohol and either titrated directly with standard acid, or usually a measured volume of standard acid is added and the excess back-titrated with standard alkali. In either case, the solution should be well diluted at the end point, to avoid premature turning of the indicator, due to the presence of a significant concentration of alcohol.

In titrating the residues obtained from certain drugs containing fatty material, which has been carried through the purification procedure; it is often well to add a few millilitres of petroleum benzene to the solution that is to be titrated. The materials dissolve in the immiscible solvent and their interfering presence is removed The back titration method is used with methyl red as indicator. This difficulty sometimes arise in the analysis of fatty seeds, e.g. stramonium and sabadilla, which have not been properly defatted prior to extraction.

In some cases, the complex compound formed with a suitable alkaloidal precipitant is decomposed and determined volumetrically or colorimetrically.

Sometimes, the non-aqueous titration method is also adopted, completing the titration in non-aqueous solvent as glacial acetic acid, chloroform or other solvents.

2. **Gravimetric methods** : Gravimetric determination is resorted to in the following cases :

(a) When the alkaloids are so weakly basic, so as not to be titratable in aqueous medium. Examples are the xanthine drugs (coffee, tea, kola, etc.), colchicum and hydrastis.

(b) When the alkaloids occur as mixtures of varying composition and widely separated molecular weights, so that calculations based on volumetric data are either unreliable or impossible. Examples are the alkaloids of veratrum, cinchona and rauwolfia.

In the gravimetric methods, the dried residue or the dried complex compound formed with a suitable alkaloidal precipitant is weighed.

3. **Colorimetric and spectrophotometric methods :** A colour is developed by a special reagent, and is measured in a suitable colorimeter or spectrophotometer at a certain wavelength. For example, in case of solanaceous alkaloids, the colour is developed by the Vitali Morin reaction ; for ergot alkaloids, the p-dimethyl aminobenzaldehyde reagent ; for morphine, the nitrous acid and for aliphatic amines, diazotization and coupling.

4. **Ultraviolet and Infrared absorption :** The absorption spectra for a good number of alkaloids are known and reported.

5. **Flourimetric methods :** The flourescence of the alkaloid when present, is measured at a certain wavelength, e.g. quinine and quinidine in an oxygenated acid solution,, reserpine in hydrogen peroxide and hydrastine when oxidized to the flourescent hydrastinine.

6. **Polarimetric method :** By measuring the optical rotation of the optically active alkaloids, e.g. hyoscyamine in a suitable solvent.

7. **Chromatographic methods :** The alkaloid separated on a column, paper or thin layer chromatogram, is eluted and determined colorimetrically or spectrophotometrically or by other methods.

Purpose of Alkaloidal Determination :

The analysis of crude drugs and galenicals for their alkaloidal content is performed for several reasons, namely :

1. For the estimation of total and individual alkaloids for the purpose of determining the market value of a shipment.

2. The international control of traffic in narcotic and other potent drugs.

3. The determination of pharmacological potency and conformity to purity rubric or label claims of drugs used in therapy.

4. The toxicological examination of drugs suspected in poisoning cases.

5. Studies of the alkaloidal content as a function of the plant growth, conditions and time of harvesting, or studies of the distribution of alkaloids in the various parts of the plant.

6. For kinetic studies of the rate of deterioration of drugs and galenicals under various conditions of storage.

انتشار القلويدات في النباتات

تعتبر القلويدات واسعة الانتشار في المملكة النباتية و هي تزيد عن 2000 مركب قلويدي منفصلا أو معزولا من أكثر من 200 جنس نباتي لأكثر من 600 نوعا لأكثر من 100عائلة نباتية. و قليلا ما توجد في الحيوان مثل الأدرينالين، و نادرا ما توجد في النباتات أحادية الفلقة كما لا توجد في النباتات اللازهرية عدا فطر عيش الغراب السام وفطر Clavicepa، و من السرخسيات كسبرة البئر Adiantum، و تتركز القلويدات خاصة في العائلات النباتية التالية:

العائلة الخشخاشية Papaveraceae حيث يستخرج منها قلويدات كثيرة منها المورفين Morphine و الكودائين Codaine و البابافرين Papaverine و من أهم نباتاتها نبات الخشخاش، أبوالنوم و نبات الزغليل.

العائلة الباذنجانية Solanaceae و منها يستخرج قلويد الهيوسين Hyoscine و الهيوسيامين Hyoscyamine و الأتروبين Atropine و النيكوتين و من أهم نباتاتها الداتورة و السكران و البلادونا و التبغ.

العائلة اللوجانية Loganiaceae و منها يستخرج قلويد البروسين Brucine و الستركنين Strychnine من بذور نبات جوز المقيء Stry Chnos nux-vomica.

العائلة الروبية Rubiaceae و منها يستخرج قلويد الكينين quinine الأميتين من نباتات خشب الكينا و عرق الذهب.

و كذلك يستخرج القلويدات من عائلات أخرى مثل العائلة البقولية و الزنبقية و النرجسية و المركبة و الشقيقية.

و توجد القلويدات في النباتات غالبا حرة و كثيرا ما تتواجد على شكل أملاح عضوية في الخلايا النباتية.

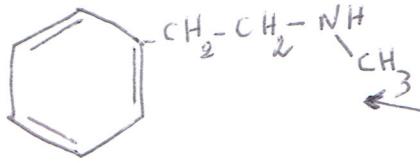
تعتبر القلويدات من أقوى المركبات سمية سواء للإنسان أو الحيوان عند تناولها في غذائه.

Types of alkaloids and their occurrence

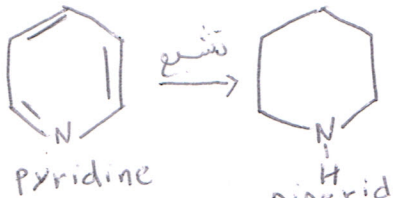
Basic ring structure	Name of alkaloid	Botanical origin
Non-heterocyclic alkaloids		
Phenylalkylamine	Ephedrine	*Ephedra sp.* (*Gnetacea*)
	Hordenine	In germinating barley, *Hordeum distichon*
	Capsaicine	*Capsicum sp.* (*Solanaceae*)
	Cathine	*Catha sp.* (*Celastraceae*)
	Mescaline (related to tryptamine)	*Lophophora williamsii* (*Cactaceae*)
	Narceine	*Papaver sp.* (*Papaveraceae*)
	Erythromycin (an antibiotic)	*Streptomyces erythreus* (Fungi)
Heterocyclic Alkaloids :		
1. Pyrrolidine	Hygrine	*Coca sp.* (*Erythroxylaceae*)
	Stachydrine	*Stachys tuberifera* (*Labiatae*)
2. Pyridine and Piperidine	Trigonelline	Foenugreek (*Leguminosae*) Strophanthus (*Apocynaceae*) Coffee (*Rubiaceae*)
	Coniine	*Conium maculatum* (*Umbelliferae*)
	Arecoline	*Areca Catechu* (*Palmae*)
	Lobeline	*Lobelia sp.* (*Lobeliaceae*)
	Pelletierine	*Punica granatum* (*Punicaceae*)
	Pseudo-pelletierine	*Punica granatum* (*Punicaceae*)
	Nicotine (Pyridine + pyrrolidine)	*Nicotiana tabacum* and other species (*Solanaceae*)
	Anabasine	*Nicotiana glauca* ; *Anabasis aphylla* (*Chenopodiaceae*)
	Piperine	*Piper sp.* (*Piperaceae*)
	Ricinine	*Ricinus communis* (*Euphorbiaceae*)
3. Tropane	Hyoscyamine ; Atropine, Hyoscine, Meteloidine, etc.	Species of *Atropa*, *Datura*, *Hyoscyamus*, *Duboisia* and *Scopolia* (*Solanaceae*)
	Cocaine	*Coca sp.* (*Erythroxylaceae*)
4. Quinoline	Quinine, Quinidine, Cinchonine, Cinchonidine	*Cinchona sp.* (*Rubiaceae*) *Remijia sp.*
	Cusparine	Cusparia bark, *Galipea officinalis* (*Rutaceae*)
5. Isoquinoline	Papaverine, Narcotine	*Papaver somniferum* (*Papaveraceae*)
	Hydrastine, Berberine	Numerous genera of the *Berberidaceae*, *Ranunculaceae* and *Papaveraceae*
	Emetine, Cephaeline	*Cephaelis sp.* (*Rubiaceae*)
	Tubocurarine	Curare obtained from plants of *Menispermaceae.*
	Corydaline	*Corydalis* and *Dicentra sp.* (*Papaveraceae*)
6. Aporphine	Boldine	*Peumus boldus* (*Monimiaceae*)
7. Norlupinane	Sparteine, Cystine, Lupinine, Laburnine	Sometimes called "The lupin alkaloids". Occur particularly in *leguminosae*, sub-family *Papillionaceae*, e.g. broom, *Cytisus scoparis*, dyer's broom, *Genista tinctoria* ; *Laburnum* and *Lupinus sp.*
8. Indole	Ergometrine, Ergotamine	*Claviceps sp.* (*Hypocraceae*)
	Physostigmine	*Physostigma venenosum* (*Leguminosae*)
	Ajmaline, Serpentine, Reserpine.	*Rauwolfia sp.* (*Apocynaceae*)
	Yohimbine, Aspidospermine	*Aspidosperma sp.* (*Apocynaceae*)
	Vincablastine	*Vinca sp.* (*Apocynaceae*)
	Calabash curare alkaloids	*Strychnos sp.* (*Loganiaceae*)
	Strychnine, Brucine	*Strychnos nux-vomica* and other sp. (*Loganiaceae*).
9. Imidazole	Pilocarpine	*Pilocarpus sp.* (*Rutaceae*)
10. Purine	Caffeine	Tea (*Theaceae*), Coffee (*Rubiaceae*), maté (*Aquifoliaceae*), guarana (*Sapindaceae*), Cola nuts (*Sterculiaceae*).
	Theobromine	Cocoa (*Sterculiaceae*)
11. Steroidal (some combined as Glycosides)	Solanine (Glycoside)	Shoots of Potato (*Solanaceae*), etc.
	Veratrum Alkamine ester and their glycosides	*Veratrum sp.* and *Schoenocaulon sp.* (*Liliaceae*)
	Funtamine	*Funtumia elastica* (*Apocynaceae*)
	Conessine	*Holarrhena antidysenterica* (*Apocynaceae*)
12. Terpenoid	Aconitine, Atisine, Lycaconitine, etc.	*Aconitum* and *Delphinium sp.*
13. Tropolone	Colchicine	*Colchicum sp.* (*Liliaceae*)

تقسيم القلويدات

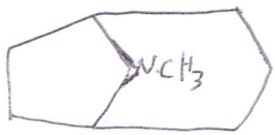
تقسم القلويدات حسب تأثيرها البيولوجي الفيزيولوجي أو مصدرها الكيميائي، و لكن أحسن التقسيمات هو التقسيم الذي يعتمد على طبيعة النواة التي تشتق منها القلويدات، و منه قسمت القلويدات إلى ما يلي:



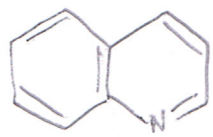
1- **القلويدات الأمينية:** النواة الرئيسية لهذه المجموعة هي B-phynylalanine و أمثلتها Ephedrine من نبات الافدرا Ephydra



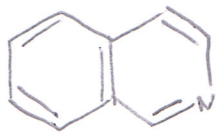
2- **القلويات المشتقة من نواة البريدين و البيريدين:** منها قلويد الببرين من نبات الفلفل و قلويد النيكوتين من نبات التبغ



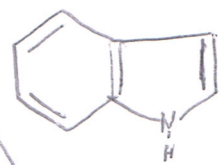
3- **القلويدات المشتقة من نواة التروبان:** من أهمها قلويد الأتروبين، الهيوسين و السكوبولامين.



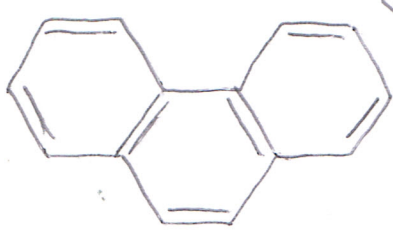
4- **القلويدات المشتقة من نواة الكينولين:** من أهمها قلويد الكينين و الكينيدين من نبات الكينا.



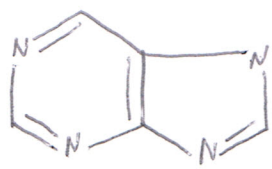
5- **القلويدات المشتقة من نواة الايزوكينولين:** منها قلويد الأفيون papaverine من نبات الخشخاش.



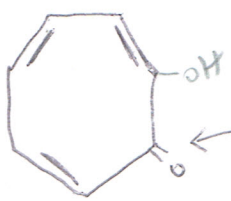
6- **القلويدات المشتقة من نواة الأندول:** منها الستركنين و البروسين من نبات جوز المقيء.



7- **القلويدات المشتقة من نواة الفينانثرين:** منها قلويد المورفين و الكودائين المستخرجة من نبات الخشخاش.

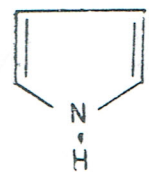


8- **القلويدات المشتقة من نواة البيورين:** من أهمها الكافئين الموجود في بذور البن

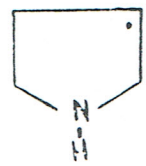


9- **القلويدات المشتقة من نواة التروبولون:** نواة التروبولون حلقة سباعية غير مشبعة من أهم قلوياتها الكولشيسين من نبات اللحلاح.

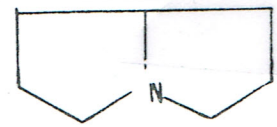
Basic nucleus of Alkaloids الأنوية القاعدية للقلويدات



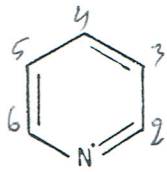
Pyrrole



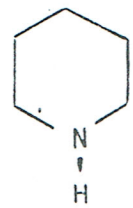
Pyrrolidine



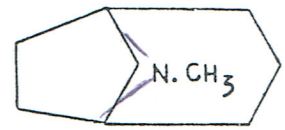
Pyrrolizidine



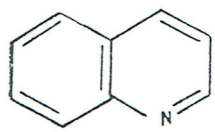
Pyridine



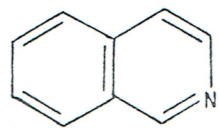
Piperidine



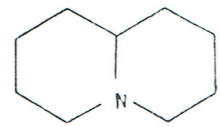
Tropane
(Piperidine — Pyrrolidine)



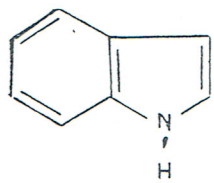
Quinoline



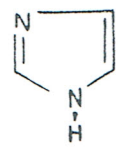
Isoquinoline



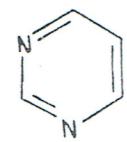
Nor-hipinane



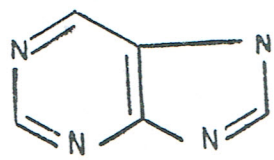
Indole
(or Benzopyrrole)



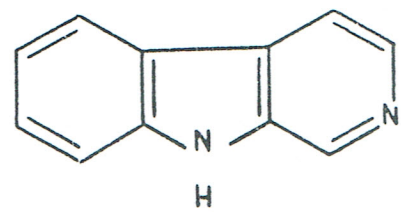
Imidazole
(or glyoxaline)



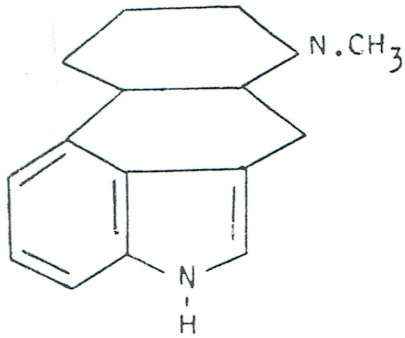
Pyrimidine



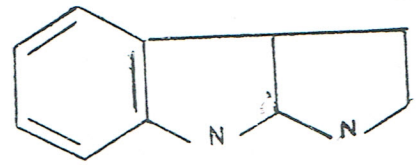
Purine
(Pyrimidine + imidazole)



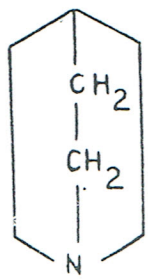
Carboline
(Indole + Pyridine)



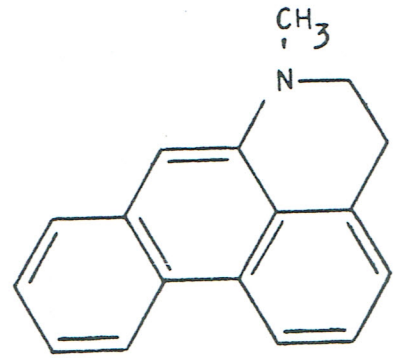
Indole + Hydroquinoline
(In Ergot Alkaloids)



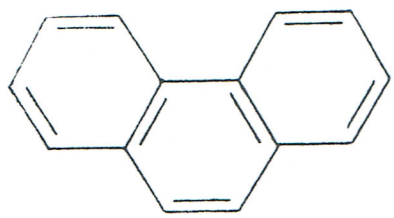
Hydroindole + Pyrrolidine
(In Physostigma Alkaloids)



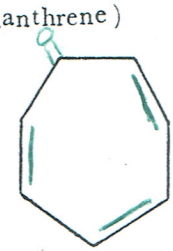
Quinuclidine
(in cinchona alkaloids)



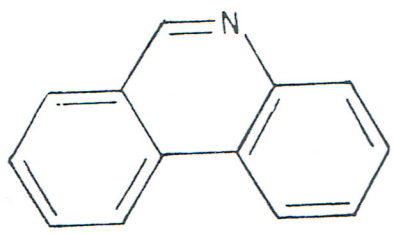
Aporphine
(Isoquinoline + phenanthrene)



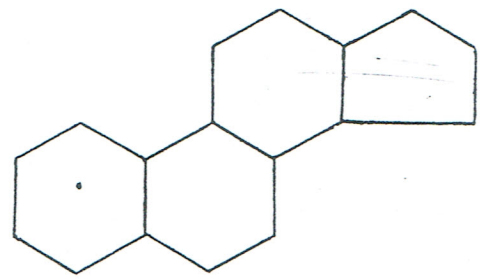
Phenanthrene



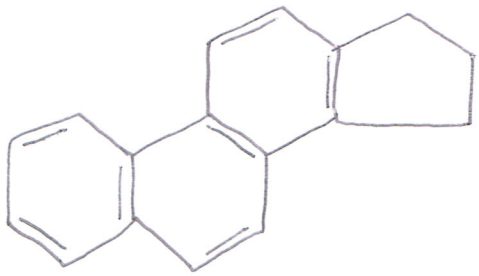
Tropolone



Phenanthridine



Steroidal



10- **القلويدات المشتقة من نواة ستيرويدية:**
قد ترتبط هذه القلويدات بسكريات و تسمى بالقلويدات السكرية، من أهمها السولانين من نبات السولانيم.

1- القلويدات الأمينية

مثل هذه القلويدات لا تحتوي على ذرة نتروجين في حلقة غير متجانسة، و هي مشتقات بسيطة من الحمض الأميني فينايل النين و التيروزين، و قد تكون هذه القلويدات **أولية الأمين** ($R-NH_2$) أو **ثنائية الأمين** ($R_2=NH$) أو **ثلاثية الأمين** ($R_3\equiv N$).

تمتاز جميعها بأنها ضعيفة القلوية، و توجد هذه القلويدات في أنواع نبات العادر Ephedra من العائلة الجنتمية Fam. Gnetaceae من النباتات معراة البذور.

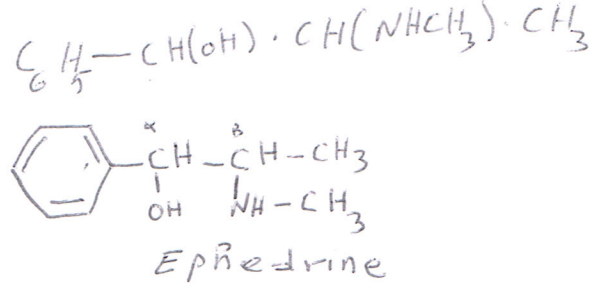
تحتوي هذه الأنواع على 1.25% من القلويدات المنحلة و أهمها قلويد الايفدرين ephedrine و الايفدرين الكاذب psedo ephedrine.

الايفدرين Ephedrine

يوجد في نبات Ephedra sinica (1.3%)و في نبات Ephedra equisetina(2%) و هو إما أن يكون عديم الماء أو يحتوي عليه و يذوب في الماء بعكس القلويدات الأخرى، كما أنه يذوب في الكلوروفورم، الإثر، و الكحول و الجلسرين و زيت الزيتون و زيت البارفين معطيا محلولا عكرا نظرا لوجود الماء به و لا يترسب هذا القلويد بكواشف القلويدات العادية (ماير ، واجنر)، محلوله في HCl مخفف إذا رج مع كبريتات النحاس 5% و أضيف عليه بضع قطرات من NaOH 20% يعطي لونا أحمرا و إذا رج مع الإثر فان الطبقة العليا تتلون باللون الأحمر، و بالغلي تتلون باللون الأزرق.

و الايفدرين عبارة عن hydroxy-B- methylamino propylbenzenz.

يوجد الايفدرين في النبات مع الايفدرين الكاذب و هذين القلويدين يوجدان على شكل بلورات قابلة للتطاير مع بخار الماء و الايفدرين الكاذب هو مماكب للايفدرين.



فصل مزيج الايفدرين و الايفدرين الكاذب:

- إن هيدروكلوريد الايفدرين الكاذب أكثر انحلالا في الكلوروفورم (أكثر من 50مرة) من هيدروكلوريد الايفدرين و هكذا إذا حفظت هاتان المادتان في الكلوروفورم لمدة طويلة ينفصل هيدروكلوريد الايفدرين بشكل بلورات بينما يبقى هيدروكلوريد الايفدرين الكاذب منحلا في الكلوروفورم.
- و نفس الشيء مع الكحول.
- ان بلورات الايفدرين الكاذب تنحل في الماء تاركة بلورات الايفدرين القليلة الانحلال في الماء.

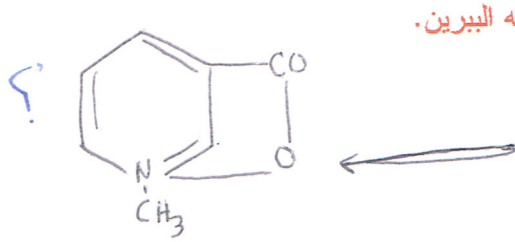
2- القلويدات المشتقة من نواة البريدين و الببريدين

و هذه المجموعة تنقسم إلى تحت مجموعات على أساس النواة الداخلة في الجزيء و هي:

أ- القلويدات التي تحتوي على حلقة بريدين واحدة فقط مثل قلويد ترجونلين Trigonelline

ب- القلويدات التي تحتوي على حلقة بريدين مع حلقات نتروجينية أخرى مثل Nicotine.

ج- القلويدات التي تحتوي على حلقة ببريدين منه الببرين.

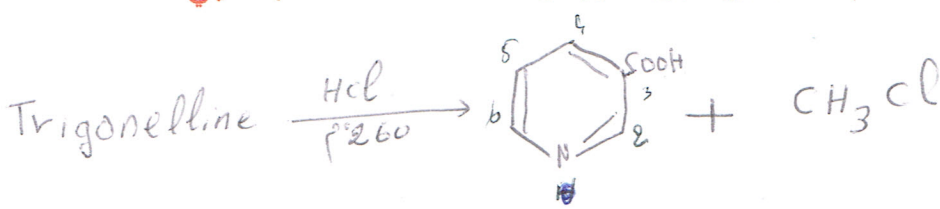


ترجونلين Trigonelline: و هو عبارة عن:

1-methyl nicotinic acid

و هو قلويد يحتوي على حلقة البريدين فقط و يوجد في بذور البن و نباتات أخرى،

و هذا القلويد عبارة عن مركب بلوري يذوب في الماء معطيا محلولا متعادلا و عندما يغلى مع HCl على 260°م يتكسر إلى كلوريد الميثيل و nicotonic acid حسب ما يلي:



قلويدات نبات التبغ (القلويدات النيكوتينية)

و هي القلويدات التي تحتوي على حلقة البريدين اما مفردة كما في الأنابازين أو متحدة مع حلقات أخرى مماثلة مثل البيروليدين كما في النيكوتين و نورنكوتين و مشتقاتهما.

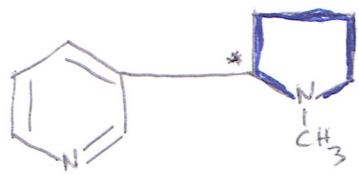
كما أن هذه القلويدات لا تحتوي على الأكسجين و لذلك فهي سائلة و متطايرة.

النيكوتين Nicotine:

النيكوتين النقي عديم اللون سائل طيار زيتي القوام يتحول إلى اللون الأصفر بسرعة عندما يتعرض للهواء، يذوب في الماء و الكحول و الإثر و القروليم إثر و له رائحة تشبه رائحة السيجارة و طعم حاد و محرق، و هو يغلي بدرجة 250-260°م مع التحلل البسيط و هو يتطاير بسهولة مع بخار الماء و حتى مع أبخرة الكحول.

و يعتبر النيكوتين من الأمينات الثنائية و يحتوي على ذرتي نتروجين إحداهما في حلقة البريدين و الأخرى في حلقة البيروليدين.

تركيبه الكيميائي:



و هو عبارة عن β- pyridyl α-methyl pyrolidine

اختبارات التمييز: يمكن تمييز النيكوتين عن القلويدات المصاحبة كما يلي:

1- يعطي محلول النيكوتين المائي لون وردي محمر يتحول إلى بنفسجي عند إضافة محلول para dimethyl amino-benzaldhyde في حمض هيدروكلوريك مدخن (مركز)

2- عند خلط محلول النيكوتين المائي مع 0.5غ من الفانيلين في 100مل HCl مركز فانه يعطي لون أحمر دموي.

الاستعمال:

- يستعمل أساسا كمبيد حشري على شكل محلول كبريتات النيكوتين بقوة 40%.