



دانشگاه علوم پزشکی تهران  
دانشکده داروسازی

پایان نامه

برای دریافت درجه دکترا

۱۳۸۰ / ۴ / ۲۰

موضوع :

استخراج ، خالص سازی و شناسایی  
استرولها از ریشه سنبل بیابانی پاره برگ  
( *Eremostachys laciniata* )

استاد راهنما :

جناب آقای دکتر عباس حاجی آخوندی

استاد همکار :

سرکار خانم دکتر مهناز خانوی

012596

نگارش :

۳۵۷.۹

جواد غلامی خاتونی

شماره پایان نامه :

سال تحصیلی : ۸۰ - ۱۳۷۹

۴۱۷۳

## بسمه تعالی

حمد و سپاس فراوان خداوند عز و جل را که به این بنده حقیر حیات زندگی کردن  
بخشید و سایه مهر و عطوفت والدین مهربانی را بر سرم گستراند و خداوند رحیم را  
شکر می گویم که مرا در زمره مسلمانان و انشاءالله شیعیان مولا امیرالمومنین علی (ع)  
قرار داد.

خداوند کریم را بسیار سپاس که در سالی که به نام مولا امیرالمومنین حضرت علی (ع)  
آنهم توسط فرزند شایسته اش و علی زمان، رهبر معظم انقلاب اسلامی "سید علی خامنه ای  
نامگذاری شده است، توفیق اتمام پایان نامه را عطاء نمود و نیز تصویب آن را در شب  
میلاد آن حضرت (شب ۱۳ رجب) قرار داد.

پس شایسته است که این پایان نامه را به تمامی شیعیان واقعی آن حضرت و اهل بیت آن  
حضرت تقدیم نمایم.

پروردگارا به تمامی اسماء مقدس و عزیزت قسم می دهم که تمامی ما را جزء شیعیان  
واقعی آن حضرت و فرزند شایسته اش قرار ده.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	پیش گفتار
	خلاصه
	اختصارات
	فرهنگ لغات
	بخش اول: معرفی
۱.....	فصل اول - گیاهشناسی
۱.....	اسامی گیاه
۱.....	زیستگاههای رویش
۱.....	رده بندی گیاهی
۲.....	شکل شماتیک رده بندی گیاهی
۳.....	مشخصات خانواده نعناع
۳.....	مشخصات جنس ارموستاکین
۴.....	ترکیبات موجود
۵.....	مرفولوژی گیاه
۶.....	تصویری از گیاه بیش خاف
۷.....	فصل دوم: تجزیه استرولها
۷.....	تاریخچه

۷	نامگذاری استرولها مطابق قواعد آیوپاک
۸	۱- تعیین شماره اتمهای کربن استرولها
۸	۲- تعیین شماره زنجیره جانبی استرولها
۱۱	بیوسنتز استرولها
۱۱	تقسیم‌بندی استرولها
۱۳	استخراج استرول از بافت‌های گیاهی
۱۳	۱- مقدمه
۱۳	۲- روش‌های استخراج
۱۴	۳- حلالها و چگونگی استخراج استرولها
۱۵	روش‌های عمومی جداسازی استرول از لیپیدهای استخراجی
۱۶	ستون کروماتوگرافی استرولها
	۱- جداسازی استرهای استریل، ۴، ۴- دی‌متیل استرولها، ۴ آلفا - متیل
۱۶	استرولها و ۴- دی‌متیل استرولها
۱۸	۲- جداسازی <i>ASG</i> و <i>SG</i> از نمونه لیپیدی
۲۱	<i>TLC</i> استرولها
۲۲	هیدرولیز استریل کونژوگه
۲۳	کروماتوگرافی نقره‌ای یا نیترات نقره
۲۵	<i>HPLC</i> استرولها
۲۵	۱- مقدمه
۲۵	۲- فاز نرمال و معکوس <i>HPLC</i>
۲۶	۳- ردیاب‌های <i>HPLC</i>
	۴- جداسازی استرولهای آزاد، استریل استات، استریل بنزوات و ۳-

۲۶	اکسو استرولها
۲۷	۵- جداسازی استریل کونژوگه
۳۰	GLC استرولها
۳۰	۱- مقدمه
۳۰	۲- ستونهای بکار رفته در تجزیه GC استرولها
۳۰	۳- ردیابی استرولها
۳۱	۴- مشتق سازی استرولها
۳۱	۵- GC مقدماتی
۳۲	۶- زمان بازداری (RT)
۳۲	۷- فاکتورهای جداسازی
۳۳	۸- GC در مورد ۲۴-C اپی مرهای ۲۴- آلکیل استرولها
۳۳	۹- GC در مورد استریل کونژوگه
۳۴	اسپکتروسکوپی IR و UV استرولها
۳۴	۱- مقدمه
۳۴	۲- جذب کششی $C = C$ و $C - H$ و جذب خمشی در استرولهای اولفینی
۳۵	۳- کشش $O - H$ و $C - O$ در ۳ آلفا/بتا- هیدروکسی استرولها
۳۶	۴- کشش گروه کربونیل در ۳- اکسو استروئیدها
۳۶	۵- اسپکتروسکوپی UV و طیف UV استرولهای غیراشباع
۳۷	۶- طیف UV ۳- اکسو استروئیدها
۳۸	طیف سنجی جرمی استرولها
۳۸	۱- مقدمه
۳۸	۲- یونیزاسیون نمونه

- ۲- فراگمانتاسیون  $\Delta^5$  - استرولها ..... ۳۸
- ۴- فراگمانتاسیون  $\Delta^7$  - استرولها ..... ۴۱
- ۵- فراگمانتاسیون  $\Delta^{5,7}$  - استرولها ..... ۴۱
- ۶- فراگمانتاسیون  $\Delta^{5,8}$  - استرولها ..... ۴۲
- ۷- فراگمانتاسیون  $\Delta^8$  - استرولها ..... ۴۲
- ۸- فراگمانتاسیون  $\Delta^{(14)}$  - استرولها ..... ۴۴
- ۹- فراگمانتاسیون  $\Delta^{(11)}$  - استرولها ..... ۴۴
- ۱۰- فراگمانتاسیون  $\Delta^{14}$  - استرولها ..... ۴۵
- ۱۱- فراگمانتاسیون  $\Delta^{8,14}$  - استرولها ..... ۴۵
- ۱۲- فراگمانتاسیون  $\Delta^{15}$  - استرولها ..... ۴۵
- ۱۳- فراگمانتاسیون ۹ بتا، ۱۹- سیکلو پروپان استرولها ..... ۴۶
- ۱۴- فراگمانتاسیون آ - نور - استرولها ..... ۴۶
- ۱۵- فراگمانتاسیون ۳- اکسو استرولها ..... ۴۶
- ۱۶- طیف سنجی جرمی استرهای استریل ..... ۴۷
- ۱۷- طیف سنجی جرمی استریلهای گلیکوزیدها ..... ۴۸
- اسپکتروسکوپی  $^1H NMR$  استرولها ..... ۵۰
- ۱- مقدمه ..... ۵۰
- ۲- سیگنالهای متیل حلقه ..... ۵۰
- ۳- سیگنالهای متیل زنجیره جانبی اشباع ..... ۵۰
- ۴- سیگنالهای متیل در زنجیره جانبی غیر اشباع -  $\Delta^{22}$  ..... ۵۱
- ۵- سیگنالهای متیل در زنجیره جانبی غیر اشباع ( $\Delta^{24(241)}$ ) و ( $\Delta^{24(25)}$ ) ..... ۵۱
- ۶- استرولهای حاوی زنجیره غیر اشباع - ( $\Delta^{25(26)}$ ) ..... ۵۲

۵۳	۷-سیگنالهای ۴ آلفا - منومتیل و ۴و۴-دی متیل
۵۳	۸-سیگنال مربوط به گروه ۱۴ آلفا - متیل
۵۳	۹-جابجاییهای شیمیایی پروتونهای ۹ بتا، ۱۹-سیکلو پروپیل
۵۳	۱۰-سیگنالهای مربوط به گروههای دیگر متیل
۵۴	۱۱-سیگنالهای ۳-H متینی بصورت محوری
۵۴	۱۲-سیگنال ۳-H متینی بصورت استوایی
۵۴	۱۳-سیگنال پروتونهای آلیلی و اولفینی

### بخش دوم: آزمایشها

۵۷	فصل اول: مواد، تحقیقات و آزمایشها
۵۷	الف - مواد لازم
۵۷	ب - وسایل لازم
۵۸	ج - تحقیقات
۵۹	شناسایی علمی گیاه
۵۹	عصارهگیری از ریشه
۵۹	۱- جمع آوری ریشه
۶۰	۲- روش استخراج
۶۱	مراحل مختلف فیتوشیمی
۶۱	۱- مقدمه
۶۱	۲- تشخیص اسانس
۶۱	۳- تشخیص آکالوئید
۶۲	۴- تشخیص تانن



۶۲	۵-تشخیص ساپونین.....
۶۳	۶-تشخیص فلاونوئید.....
۶۳	۷-تشخیص استرولها.....
۶۴	۸-مراحل تکمیلی آزمایشهای فیتوشیمیایی.....
۶۴	۹-نتایج حاصل از انجام آزمایشهای فیتوشیمیایی.....
۶۶	مراحل جداسازی و خالص سازی استرولها.....
۶۶	۱-جداسازی عصاره تام به لیپید پلار و غیرپلار.....
۶۶	۲-ستون کروماتوگرافی استرولها.....
۶۷	۳-جداسازی توسط TLC.....
۶۸	۴-تهیه معرفها.....
۶۹	۵-تهیه پلیت TLC prep:.....
۶۹	۶-کروماتوگرافی فراکسیونها بر روی TLC.....
۷۰	جداسازی و خالص سازی نمونه از فراکسیون ۱۰.....
۷۰	۱-TLC فراکسیون ۱۰.....
۷۲	۲-کریستالیزاسیون.....
۷۲	۳-نقطه ذوب.....
۷۲	روشهای شناسایی و تعیین ساختمان نمونه.....
۷۲	۱-طیف IR نمونه.....
۷۲	۲-طیف $^1H$ NMR نمونه.....
۷۳	۳-طیف جرمی نمونه.....

۷۴	فصل دوم: نتایج.....
۷۴	تفسیر طیف $^1H\ NMR$ .....
۷۴	الف - سیگنالهای متین $H-22$ و $H-23$ .....
۷۴	ب - سیگنال متین $H-3$ .....
۷۷	ج - پروتونهای اولفینی.....
۷۷	د - پروتونهای مربوط به زنجیره جانبی.....
۷۸	ر - پروتونهای مربوط به $C-18$ و $C-19$ .....
۷۸	تفسیر طیف $IR$ .....
۷۸	الف - جذب کششی $C-H$ و $C=C$ و جذب خمشی باندهای اولفینی.....
۷۸	ب - کشش $O-H$ و $O-C$ در $3$ -هیدروکسی استرولها.....
۸۳	نتایج حاصل از تفسیر طیفها.....
۸۳	الف - طیف $NMR$ پروتون.....
۸۴	ب - طیف $IR$ .....
۸۴	مشخص نمودن ساختمان و نام شیمیایی.....
۸۶	مقایسه داده‌ها.....
۸۸	نتیجه نهایی و تعیین ماهیت شیمیایی.....
۸۹	فراگمانتاسیونهای مهم در طیف جرمی نمونه.....
۹۲	فصل سوم: بحث و نتیجه‌گیری نهایی.....

## پیوستها

- ۱- طیف  $NMR^{400}$  پروتون نمونه حاصل از فراکسیون شماره ۱
- ۲- طیف  $NMR^{200}$  پروتون نمونه حاصل از فراکسیون شماره ۷
- ۳- طیف کلی  $NMR^{400}$  پروتون نمونه حاصل از فراکسیون ۱۰
- ۴- بخش ابتدایی طیف  $NMR^{400}$  پروتون نمونه
- ۵- بخش انتهایی طیف  $NMR^{400}$  پروتون نمونه
- ۶- طیف  $NMR$  پروتون مربوط به استیگماسترول
- ۷- طیف  $IR$  نمونه
- ۸- طیف جرمی نمونه
- ۹- طیف جرمی استیگماسترول

## پیش‌گفتار:

استفاده از گیاهان دارویی در پزشکی پیشرفته امروزی، جایگاه ویژه‌ای دارد بطوری که با گذشت زمان، این جایگاه اهمیت بیشتری می‌یابد. گرایش مشتاقانه مردم به گیاهان دارویی از یک سو و وجود عوارض نامطلوب بیشمار در داروهای سنتتیک از سوی دیگر، از دلایل مهم روی‌آوری دوباره علم پزشکی به استفاده دارویی از گیاهان می‌باشد. چندین سال است که تحقیقات گسترده‌ای بر روی اثرات گیاهان دارویی در طب و نیز یافتن مواد مؤثر آنان و جداسازی آن مواد از گیاهان انجام می‌پذیرد، بطوری که تاکنون اشکال مختلف دارویی از مواد مؤثر گیاهان دارویی برای درمان بیماریهای مختلف وارد بازار دارویی جهان شده است. استفاده محققان از منابع معتبر موجود، در مورد اثرات گیاهان دارویی و نیز توجه به فرهنگ مردم مناطق مختلف زمین در استفاده سنتی از گیاهان دارویی نقش بسیار مؤثری در تحقیقات و ادامه آن دارد. بطوری که هم‌اکنون تحقیقات علمی وسیع و گسترده‌ای بر روی گیاهانی که در آسیا، آفریقا و آمریکا که بطور سنتی استفاده درمانی داشته و دارند، انجام می‌پذیرد.

سرزمین ما مهد پرورش گلها و گیاهان فراوانی است که بسیاری از آنان از قدیم‌الایام استفاده دارویی و درمانی بسیاری داشته‌اند و حتی منابع و کتب مختلفی در این مورد وجود دارد که از مهم‌ترین منابع موجود در دنیا هستند مثل کتاب «قانون در طب» بوعلی سینا که سالهاست یکی از منابع تدریس طب در بعضی از دانشگاه‌های اروپایی و آسیایی می‌باشد.

با وجود این همه منابع معتبر داخلی و نیز استفاده سنتی مردم مناطق مختلف

کشورمان از گیاهان دارویی که ریشه در فرهنگ آن مناطق دارد؛ تحقیقات بسیار اندکی در زمینه اثرات و یافتن مواد مؤثر این گیاهان دارویی انجام شده است که امیدواریم با تلاش خالصانه محققان و دانشجویان عزیز گامهای اساسی در این مورد برداشته شود که خود، گامی مؤثر برای استقلال دارویی کشورمان می باشد.

## خلاصه:

بررسیها در بعضی از مناطق آذربایجان غربی و شرقی و نیز شهرستان دماوند نشان دادند که سالیان سال می باشد که مردم آن مناطق بطور سنتی از ریشه گیاهی که آنرا «چله داغی» می نامند بصورت ضماد با دنبه گوسفند جهت درمان و التیام دردهای روماتیسمی و نیز نرم نمودن عضلات نواحی که شیئی در آنجا فرو رفته، جهت درآوردن شی و یا جاناندازی استخوانهای جابجا شده و در رفته آن نواحی بکار می رود و حتی در شهرستان دماوند برای نرم کردن و تحلیل خار پاشنه پا و حتی تسکین درد آن بکار می رود. در گام بعدی، شناسایی علمی گیاه صورت گرفت که مشخص شد گیاه از خانواده نعناع و با نام علمی *Eremostachys Laciniata* می باشد که اسم فارسی آن «سنبل بیابانی پاره برگ» و «بیش خاف» می باشد و چله داغی اسم فارسی گیاهی با نام علمی "*Biebersteinia Multifida*" از خانواده شمعدانی می باشد که از ریشه آن بطور سنتی در درمان دردهای روماتیسمی مصرف می گردد. برای ادامه کار تحقیقاتی، اولین گام شناسایی ترکیبات و مواد مؤثر احتمالی در ریشه بود. پس از فیتوشیمی مشخص شد که ریشه گیاه سرشار از استرول و تری ترپنها است. بنابراین برای جداسازی و شناسایی استرولهای ریشه اقدام شد و پس از جداسازی حدود ۱۰ نمونه - که احتمالاً از استرولها بودند - امکان شناسایی استرولی با نام استیگماسترولی، که یکی از استرولهای اصلی موجود در ریشه بود، میسر شد.

## اختصارات:

<i>ASG</i>	<i>Acylated steryl Glycosides</i>
<i>CC</i>	<i>Column chromatography</i>
<i>DCI</i>	<i>desorption chemical Ionization</i>
<i>FD-MS</i>	<i>Field desorption Mass spectrometry</i>
<i>FT</i>	<i>Fourier Transform</i>
<i>GLC</i>	<i>Gas liquid chromatography</i>
<i>IUPAC</i>	<i>International union of pure and Applied chemistry</i>
<i>IUB</i>	<i>International union of Biochemistry</i>
<i>JCBN</i>	<i>Joint commission on Biochemical Nomenclature (of IUPAC-IUB)</i>
<i>M.P</i>	<i>Melting point</i>
<i>RRT</i>	<i>Relative Retention Time</i>
<i>RT</i>	<i>Retention Time</i>
<i>SC</i>	<i>Side chain</i>
<i>TMSi</i>	<i>Trimethyl silyl</i>
<i>UV</i>	<i>Ultraviolet</i>