



بارالها!

سپاس مرا بپذیر و زبان قاصر مرا در شکر نعمت‌های فراوانت گویا نما. پروردگارا! یاریم کن که عزت خود را در بنده تو بودن، لذت را در به خدمت بندگان تو بودن، سرفرازیم را در کسب رضای تو، امیدم را در گستره رحمت تو و آرامشم را در یاد تو جستجو کنم. این دانش اندک را با عشق و اشتیاق بندگی‌ام به بارگاه رفیع و مقدست تقدیم می‌کنم. امید است که بتوانم آن را در مسیر خدمت تو با فروتنی و بی‌هیچ منت و خودبینی، بکار گیرم.



دانشکده علوم پایه

پایان نامه کارشناسی ارشد، رشته فیتوشیمی

بررسی فیتوشیمیایی ترکیبات اصلی گیاه *Lagochilus cabulicus* Benth

نگارش:

الهام براری

اساتید راهنما:

دکتر علیرضا شاکری، دکتر احمدرضا گوهری

استاد مشاور:

دکتر سودابه سعیدنیا

بهمن ۱۳۸۹

تعهد نامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه گلستان مبین بخشی از فعالیت های علمی - پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

۱. قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع و کسب اجازه نمایند.
۲. در انتشار نتایج پایان نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه گلستان الزامی است.
۳. انتشار نتایج پایان نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب الهام براری دانشجوی رشته فیتوشیمی مقطع کارشناسی ارشد تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می شوم.

تقدیم به همسر مهربانم که زیبایی زندگیم مرهون وجود اوست. او که کاستی‌ها و دوری‌های دوران تحصیل مرا با بردباری تحمل نمود و با صبر و شکیبایی مایه آرامش و همراه همیشگی من تا به امروز بوده است. او که بودنش تاج افتخاری است بر سرم و نامش دلیلی است بر بودنم.

تقدیم به پدر و مادرم به پاس یک عمر زحمت بی‌دریغشان. خدای را بس شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پر بار وجودشان بیاسایم و از ریشه آن‌ها شاخ و برگ گیرم و در سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم.

تقدیم به پدر و مادر همسرم که جبران محبت‌هایشان بیش از این که مایه سپاس باشد مایه شرمندگی است. سپاسگزارم که همیشه غمخوار لحظات پرفراز و نشیمن بوده اند. پدر و مادری که پناهگاه محکم و استواری در این مدت بوده و با وجودشان آرامش را به ما هدیه نمودند.

با تشکر و سپاس فراوان از اساتید محترم جناب آقای دکتر علیرضا شاکری، جناب آقای دکتر احمدرضا گوهری و سرکار خانم دکتر سودابه سعیدنیا که با رهنمودهای علمی و نظرات ارزنده مرا در مراحل مختلف این تحقیق یاری نمودند.

با سپاس از اعضای محترم هیأت داوران جناب آقای دکتر علی اکبر دهنوخلجی و جناب آقای دکتر عظیم قاسم نژاد و همچنین نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه گلستان جناب آقای دکتر حمیدرضا صادقی پور که در مراحل مختلف انجام این پایان نامه زحمات بسیاری را متقبل شدند.

با تشکر و قدردانی از زحمات کارکنان و همچنین از همکاری و همدلی تمامی دوستان خوبم در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران که از هیچ کمکی دریغ نوزیدند.

در انتها این پایان نامه را تقدیم می دارم به تمامی پویندگان علم و حقیقت.

چکیده

نام *Lagochilus* از کلمه یونانی "Lagos" به معنی خرگوش صحرائی و "Chilos" به معنی لب گرفته شده است که به شکل جام گل اشاره دارد. جنس *Lagochilus* متعلق به خانواده نعناعیان شامل ۴۴ گونه در سراسر جهان که ۳۳ گونه آن در آسیای مرکزی رشد می‌کند. در فلور ایران ۵ گونه از این جنس شناسایی شده است که ۴ گونه آن اندمیک هستند.

گیاه لب خرگوشی کابلی *Lagochilus cabulicus* Benth در مرحله گلدهی از استان تهران جمع‌آوری و در دمای اتاق و سایه خشک گردید. سپس به قطعات کوچک خرد گردید. گیاه خرد شده در دمای اتاق به ترتیب با حلال‌های اتیل استات و متانول، به روش پرکولاسیون عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل توسط تقطیر در خلأ دوار تغلیظ و توسط فریز درایر و آون خلأ کاملاً خشک گردید. ترکیبات اصلی عصاره با روش‌های کروماتوگرافی ستونی (سیلیکاژل فاز نرمال، سیلیکاژل فاز معکوس و سفادکس) و کروماتوگرافی لایه نازک جداسازی و خالص‌سازی شدند. شناسایی این ترکیبات با روش‌های طیف‌سنجی (^{13}C -NMR و ^1H -NMR) میسر گردید و در نهایت چهار ترکیب فلاونوئیدی به نام‌های روتین (Rutin)، کوئورستین (Quercetin)، ایزو کوئورسیتترین (Isoquercitrin)، سلاژین (Selagin) از عصاره متانولی و دو ترکیب استروئیدی به نام‌های بتا سیتوستریل استات (β -Sitosteryl acetate) و استیگماستریل استات (Stigmasteryl acetate) و همچنین یک ترکیب تری‌ترپنوئیدی به نام لوپئول (Lupeol) از عصاره اتیل استاتی حاصل شد. لازم به ذکر است برای نخستین بار است که ترکیبات فوق از این گیاه خالص‌سازی شده است.

پیشگفتار

از دیرباز استفاده و بهره‌وری از گیاهان برای معالجه و درمان بیماری‌ها در نقاط مختلف جهان معمول و شایع بوده، به‌طوری‌که اساس و شالوده طب سنتی را تشکیل داده است. تکامل علم شیمی و سنتز مواد شیمیایی به‌قدری گسترش یافت که موجب فراموشی گیاهان و مواد طبیعی و اهمیت و ارزش آن‌ها در درمان بیماری گردید، به‌طوری‌که یک گسست کامل در روند تاریخی استفاده از گیاهان ایجاد شد.

بروز آثار سوء حاصل از استفاده مواد شیمیایی و سنتز شده و عدم سازگاری آن‌ها با طبیعت انسان موجب هراس دانشمندان و بازگشت به طبیعت و استفاده مجدد از مواد طبیعی و گیاهی شد، تا حدی که دانش فیتوشیمی شکل گرفت. فیتوشیمی شامل بررسی شیمیایی مواد طبیعی موجود با ساختار شیمیایی و بیوسنتز است.

در این پایان‌نامه استخراج و شناسایی چند ترکیب گیاه *Lagochilus cabulicus* Benth صورت پذیرفته است که این ترکیبات به‌طور گسترده‌ای در پزشکی و تحقیقات دارویی استفاده می‌شوند؛ از جمله فلاونوئیدها که دسته‌ای از مواد طبیعی می‌باشند که با تنوع وسیع در گیاهان وجود دارند و نقش آن‌ها به‌عنوان ضد اکسیدان‌های خوب در بسیاری از گیاهان ثابت شده است.

بنابراین ما بر آن شدیم در راستای جهان شتابنده دانش با تکیه بر گنجینه سبز ایران زمین به جداسازی، خالص‌سازی و تعیین ساختمان مولکولی ترکیبات این گیاه بپردازیم.

فصل اول: مقدمه و تئوری

۱-۱-۱	کلیات گیاه‌شناسی	۲
۱-۱-۱	تیره نعناعیان	۲
۱-۱-۱-۱	اختصاصات ریخت‌شناسی	۲
۱-۱-۱-۱-۱	اختصاصات دستگاه رویشی	۲
۱-۱-۱-۱-۲	اختصاصات دستگاه زایشی	۲
۱-۱-۱-۲	اختصاصات تشریحی	۳
۲-۱-۱	جنس <i>Lagochilus</i>	۴
۱-۲-۱-۱	مروری بر تحقیقات پیرامون گیاهان جنس <i>Lagochilus</i>	۴
۱-۲-۱-۱-۱	بررسی فلاونوئیدهای گیاه <i>Lagochilus platycalyx</i>	۴
۱-۲-۱-۱-۲	بررسی فیتوشیمیایی گیاه <i>Lagochilus proskorjacovii</i>	۴
۱-۲-۱-۱-۳	ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی گیاه <i>Lagochilus koschyanus</i>	۵
۱-۲-۱-۱-۴	طیف‌سنجی جرمی دی‌ترپن‌های لاگوچیلین گیاه <i>Lagochilus inebrians</i>	۷
۱-۲-۱-۱-۵	ترکیب حاصل از دهیدراسیون لاگوچیلین در جنس <i>Lagochilus</i>	۸
۱-۲-۱-۱-۶	تعیین لاگوچیلین در فرآورده‌های دارویی با استفاده از طیف‌سنج NMR	۹
۱-۲-۱-۱-۷	بررسی پلی‌ساکاریدهای گیاه <i>Lagochilus usunachmaticus</i>	۹
۱-۲-۱-۱-۸	بررسی پلی‌ساکاریدهای گیاه <i>Lagochilus zeravschanicus</i>	۹
۳-۱-۱	گونه <i>Lagochiluscabulicus Benth</i>	۱۰
۱-۳-۱-۱	رده‌بندی	۱۲
۴-۱-۱	اهداف و ضرورت انجام تحقیق	۱۳
۵-۱-۱	سئوالات اصلی تحقیق	۱۳
۲-۱	شیمی ترکیبات طبیعی	۱۴
۱-۲-۱	تعریف فیتوشیمی	۱۴
۲-۲-۱	متابولیت گیاهی	۱۴
۱-۲-۲-۱	متابولیت اولیه	۱۴

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱۵	۱-۲-۲-۲. متابولیت ثانویه
۱۶	۱-۲-۲-۲-۱. فلاونوئیدها
۱۶	۱-۱-۲-۲-۲-۱. تعریف فلاونوئیدها
۱۷	۲-۱-۲-۲-۲-۱. ساختمان شیمیایی فلاونوئیدها
۱۷	۳-۱-۲-۲-۲-۱. طبقه‌بندی فلاونوئیدها
۱۷	۱-۳-۱-۲-۲-۲-۱. چالکون‌ها و اورون‌ها
۱۸	۲-۳-۱-۲-۲-۲-۱. آنتوسیانین‌ها
۱۸	۳-۳-۱-۲-۲-۲-۱. فلاوانون‌ها
۱۹	۴-۳-۱-۲-۲-۲-۱. فلاون‌ها، فلاونول‌ها، دی‌هیدروفلاونول‌ها و ایزوفلاونول‌ها
۱۹	۵-۳-۱-۲-۲-۲-۱. بی‌فلاونوئیدها
۲۰	۴-۱-۲-۲-۲-۱. موارد مصرف و خصوصیات درمانی فلاونوئیدها
۲۱	۵-۱-۲-۲-۲-۱. آزمایش‌های رنگی جهت تشخیص فلاونوئیدها
۲۲	۲-۲-۲-۲-۱. تریپنوئیدها
۲۲	۱-۲-۲-۲-۲-۱. طبقه‌بندی تریپنوئیدها
۲۲	۱-۱-۲-۲-۲-۲-۱. همی تریپنوئیدها
۲۲	۲-۱-۲-۲-۲-۲-۱. مونوترپنوئیدها
۲۳	۳-۱-۲-۲-۲-۲-۱. سزکویی تریپنوئیدها
۲۳	۴-۱-۲-۲-۲-۲-۱. دی‌تریپنوئیدها
۲۴	۵-۱-۲-۲-۲-۲-۱. سستر تریپنوئیدها
۲۴	۶-۱-۲-۲-۲-۲-۱. تری تریپنوئیدها
۲۵	۷-۱-۲-۲-۲-۲-۱. تترا تریپنوئیدها
۲۵	۸-۱-۲-۲-۲-۲-۱. پلی تریپنوئیدها
۲۶	۳-۲-۲-۲-۱. استروئیدها
۲۶	۱-۳-۲-۲-۲-۱. ساختار کلی استروئیدها
۲۶	۲-۳-۲-۲-۲-۱. جایگاه و فراوانی ترکیبات استروئیدی در طبیعت

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱-۲-۲-۳-۳. خواص، ویژگی‌ها و کاربردهای مختلف ترکیبات استروئیدی	۲۷
۱-۲-۳. استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی	۲۹
۱-۳-۲-۱. نوع حلال	۲۹
۲-۳-۲-۱. روش استخراج	۲۹
۱-۲-۳-۲-۱. پرکولاسیون	۲۹
۴-۲-۱. انواع روش‌های کروماتوگرافی	۳۰
۱-۴-۲-۱. کروماتوگرافی لایه نازک	۳۰
۲-۴-۲-۱. کروماتوگرافی ستونی	۳۳
۳-۴-۲-۱. کروماتوگرافی اندازه‌طردي	۳۴

فصل دوم: روش کار

۱-۲. مواد، وسایل و دستگاه‌ها	۳۶
۲-۲. تهیه معرف انیس‌آلدئید-اسید سولفوریک	۳۶
۳-۲. تهیه حلال چهارتایی	۳۷
۴-۲. جمع‌آوری گیاه	۳۷
۵-۲. عصاره‌گیری	۳۷
۶-۲. مراحل آماده‌سازی ستون کروماتوگرافی	۳۷
۷-۲. فراکسیون‌گیری عصاره اتیل استاتی	۳۸
۱-۷-۲. جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات اصلی فراکسیون B _e	۳۹
۸-۲. فراکسیون‌گیری عصاره متانولی	۴۰
۱-۸-۲. جداسازی ترکیبات فراکسیون A _m	۴۱
۲-۸-۲. جداسازی ترکیبات فراکسیون B _m	۴۲
۳-۸-۲. جداسازی ترکیبات فراکسیون E _m	۴۳

فصل سوم: نتایج و بحث

۴۶	۱-۳. بررسی ترکیبات.....
۴۶	۱-۱-۳. بررسی ترکیب A.....
۴۶	۱-۱-۱-۳. مشخصات ترکیب A.....
۴۶	۲-۱-۱-۳. نتایج طیف ترکیب A.....
۴۸	۳-۱-۱-۳. تفسیر طیف نمونه A.....
۴۸	۱-۳-۱-۱-۳. تفسیر طیف ترکیب A.....
۴۸	۱-۱-۳-۱-۱-۳. تفسیر طیف پروتون ترکیب A ₁
۴۸	۲-۱-۳-۱-۱-۳. تفسیر طیف کربن ترکیب A ₁
۵۰	۲-۳-۱-۱-۳. تفسیر طیف ترکیب A ₂
۵۰	۱-۲-۳-۱-۱-۳. تفسیر طیف پروتون ترکیب A ₂
۵۰	۲-۲-۳-۱-۱-۳. تفسیر طیف کربن ترکیب A ₂
۵۲	۲-۱-۳. بررسی ترکیب B.....
۵۲	۱-۲-۱-۳. مشخصات ترکیب B.....
۵۲	۲-۲-۱-۳. نتایج طیف ترکیب B.....
۵۲	۳-۲-۱-۳. تفسیر طیف ترکیب B.....
۵۲	۱-۳-۲-۱-۳. تفسیر طیف پروتون ترکیب B.....
۵۴	۲-۳-۲-۱-۳. تفسیر طیف کربن ترکیب B.....
۵۶	۳-۱-۳. بررسی ترکیب C.....
۵۶	۱-۳-۱-۳. مشخصات ترکیب C.....
۵۶	۲-۳-۱-۳. نتایج طیف ترکیب C.....
۵۷	۳-۳-۱-۳. تفسیر طیف ترکیب C.....
۵۷	۱-۳-۳-۱-۳. تفسیر طیف پروتون ترکیب C.....
۵۷	۲-۳-۳-۱-۳. تفسیر طیف کربن ترکیب C.....
۵۹	۴-۱-۳. بررسی ترکیب D.....

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۵۹	۱-۴-۱-۳. مشخصات ترکیب D
۵۹	۲-۴-۱-۳. نتایج طیف ترکیب D
۶۰	۳-۴-۱-۳. تفسیر طیف ترکیب D
۶۰	۱-۳-۴-۱-۳. تفسیر طیف پروتون ترکیب D
۶۰	۲-۳-۴-۱-۳. تفسیر طیف کربن ترکیب D
۶۲	۵-۱-۳. بررسی ترکیب E
۶۲	۱-۵-۱-۳. مشخصات ترکیب E
۶۳	۲-۵-۱-۳. نتایج طیف ترکیب E
۶۳	۳-۵-۱-۳. تفسیر طیف ترکیب E
۶۳	۱-۳-۵-۱-۳. تفسیر طیف پروتون ترکیب E
۶۴	۲-۳-۵-۱-۳. تفسیر طیف کربن ترکیب E
۶۶	۶-۱-۳. بررسی ترکیب F
۶۶	۱-۶-۱-۳. مشخصات ترکیب F
۶۶	۲-۶-۱-۳. نتایج طیف ترکیب F
۶۷	۳-۶-۱-۳. تفسیر طیف ترکیب F
۶۷	۱-۳-۶-۱-۳. تفسیر طیف پروتون ترکیب F
۶۷	۲-۳-۶-۱-۳. تفسیر طیف کربن ترکیب F
۶۹	۷-۳. اثرات زیستی و دارویی
۷۰	۸-۳. نظرات و پیشنهادات
۷۲	منابع
۷۶	ضمایم

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۳۹.....	نمودار ۱-۲. طرح کلی از روند فراکسیون‌گیری عصاره اتیل استاتی
۴۰.....	نمودار ۲-۲. طرح کلی روند خالص‌سازی ترکیبات اصلی فراکسیون B_e
۴۱.....	نمودار ۳-۲. طرح کلی روند فراکسیون‌گیری عصاره متانولی
۴۲.....	نمودار ۴-۲. طرح کلی روند خالص‌سازی ترکیبات اصلی فراکسیون A_m
۴۳.....	نمودار ۵-۲. طرح کلی روند خالص‌سازی ترکیبات اصلی فراکسیون B_m
۴۴.....	نمودار ۶-۲. طرح کلی روند خالص‌سازی ترکیبات اصلی فراکسیون E_m