

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۲۷۵۴۹



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان :

مقایسه فیتوشیمی ریشه و ریزوم سنبل الطیب موجود در بازار و  
*Valeriana sisymbriifolia* Vahl. مورد رویش در استان کرمان از نظر وجود  
اسیدوالرنیک و والپوتریاتها در مقایسه با گونه *Valeriana officinalis* L.

توسط :

فرامرز میسمی

به راهنمایی :

دکتر فریبا شریفی فر

دکتر مهدی انصاری

به مشاوره :

دکتر منصور میرتاج الدینی

شماره پایان نامه : ۵۴۲

تابستان ۱۳۸۸

۱۲۷۵۶۹

۴ - ۱۳۸۸ / ۱۹ /  
تذکرات مرکز علمی بزرگ  
تهران

پروردگارا

من در کلبه فقیرانه خود چیزی را دارم  
که تو در عرش کبریایی خود نداری

من چون تو نبی دارم

و تو چون خود نداری

زندگی صحنه یکتای هنرمندی ماست

هر کسی نغمه خود خواند و از صحنه رود

صحنه پیوسته به جاست

خرم آن نغمه که مردم بسپارند به یاد

تقدیم به یگانه منجی عالم بشریت

که لحظه لحظه زندگی ام لطف و عنایت اوست.

تقدیم به مادر مهربانم

یگانه فرشته ای که بهشت به معنای واقعی زیرپای اوست و درس صداقت، مهربانی و گذشت را از او آموختم که برخلاف میل باطنی او، راهی دیار غربت گشتم و او این سال ها را به انتظار نشست.

بر چشمان پر مهرش هزاران بوسه می زنم.

تقدیم به خواهر و برادر عزیزم

فریبا و فرزاد

و خواهرزاده عزیزم

فرناز

که خاطرات زیبای زندگی ام با آنان سپری شد و غربت ملالی نبود جز دوری آنها.

تقدیم به بهترین دوست دوران زندگی ام

دکتر سید علی هاشمی

که بهترین راهنمای من در علم و تحصیل بود.

تقدیم به اساتید گرانمایه و ارجمندم در دانشکده علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران

که مصداق واقعی علم، صداقت و فربنگ بودند

و بهترین راهنمای من در ادامه تحصیل بودند.

باتقدیر و شکر

از استاد عزیزم جناب آقای دکتر فریدون دیبایی، مصداق واقعی علم، صداقت و فرهنگ که بسیار از ایشان  
آموختم و بجزای از یاد محبت هایش غافل نخواهم ماند.

با سپاس از بهترین دوستم و حید علی نیا

که پنج گاه مراد این سال هاتنها نگذاشت.

با شکر از دوست خوبم امین

که در نگارش پایان نامه مرا یاری کرد.

و به یاد دوستانم

وحید محمد سعید حسین، بنزاد سروش، امین، میلاد، امیر حسین و محمد رضا

که در کنار آنها تلخی غربت جای خود را به شادی داد.

## خلاصه

مقدمه: بیش از ۲۰۰ گونه از جنس *Valeriana* در نقاط مختلف دنیا رویش دارد. در ایران نیز ۶ گونه بومی از این جنس به صورت وحشی یافت می‌شود. ریشه و ریزم گیاه *V. officinalis* به عنوان آرام بخش و ضد اسپاسم مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه اخیر گیاه *Valeriana sisymbriifolia* و سنبل الطیب بازار بعد از شناسایی میکروسکوپی، از نظر وجود ترکیبات فعال اسید والرینیک و والپوتریات در مقایسه با گیاه *V. officinalis* مورد مطالعه قرار گرفته اند.

روش: گونه های گیاهی مورد مطالعه بعد از تعیین نام علمی، از نظر خرده نگاری زیر میکروسکپ مورد مطالعه قرار گرفتند. وجود والپوتریات ها با استفاده از تست رنگی و TLC در سیستم حلال تولوئن: اتیل استات (۷/۵ : ۲/۵) با گیاه *V. officinalis* مقایسه گردیدند. وجود اسید والرینیک نیز در ابتدا با روش TLC در سیستم حلال هگزان : اتیل استات: اسید استیک گلاسیال (۶۵ : ۳۵ : ۰/۵) در نمونه های گیاهی بررسی و سپس با تهیه منحنی کالیبراسیون اسید والرینیک به صورت کمی تعیین مقدار گردید.

نتایج: گیاه سنبل الطیب بازار تحت نام *Nardostachys jatamansi* شناسایی گردید. آنالیز کیفی والپوتریات ها نشان می‌دهد که همه گیاهان مورد آزمایش دارای ترکیب متفاوتی از والپوتریات ها از نظر کمی و کیفی بوده اند. بیشترین مقدار والپوتریات ها از نظر کیفی و کمی مربوط به گیاه *V. officinalis* می‌باشد. گیاه *N.jatamansi* کمترین مقدار والپوتریات ها را روی پلیت و در تست شیمیایی نشان داده است. نتایج بررسی وجود اسید والرینیک نشان داده است که میانگین میزان اسید والرینیک در بین نمونه ها بین  $۰/۰۲\% (w/w) - ۰/۰۷\%$  متغیر می‌باشد. بیشترین مقدار مربوط به *V. officinalis* و کمترین مربوط به *V. sisymbriifolia* می‌باشد.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان می دهد که گونه های گیاهی مورد مطالعه از نظر وجود مارکرهای اختصاصی دارای تفاوت هایی هستند که در تهیه گیاهان استاندارد بایستی مورد توجه قرار گیرد. علاوه بر این، این گیاهان منابع ارزشمندی از اسید والرینیک می باشند.

واژه های کلیدی : *N. jatamansi*، *V. sisymbriifolia*، *V. officinalis*، والرینیک اسید، والپوتریات



## Abstract

**Introduction:** There are more than 200 species of *Valeriana* of almost cosmopolitan distribution, mostly at high elevations. Six species of *Valeriana* grow in Iran. Valerian root has been used as sedative and spasmolytic agent. The present study aims to characterize *V. officinalis*, *V. sisymbriifolia* and the market sample of valerian with respect to their contents of valerenic acid and valepotriates.

**Methods:** All of the tested plants were studied from the point of botany and microscopic analysis. Identification of valepotriates in the plant species in comparison with *V. officinalis* was achieved applying chemical test and TLC methods using toluene-ethylacetate (2.5:7.5) as mobile phase. Valerenic acid was detected using a TLC method with a mobile phase composed of hexane: ethylacetate: glacial acetic acid (65:35:0.5); and it was quantified applying a UV-spectrophotometry method. Separation of valepotriates and valerenic acid was performed by TLC using the mobile phase of toluene-ethyl acetate (2.5:7.5). Quantitative analysis of valerenic acid and its derivatives was performed using UV-spectrophotometer. The calibration curve of authentic valerenic acid was linear in the range of 2-30  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

**Results :** The market sample of valerian was identified as *Nardostachys jatamansi*. All of the plants exhibited variation in valepotriates quantity and quality. The highest and the lowest amount of valepotriates was detected in *V. officinalis* and *V. sisymbriifolia*

respectively. Total valerenic acid content in different plant species ranged from 0.02% in *V. sisymbriifolia* to 0.07% (w/w) in *V. officinalis*.

**Conclusion :** The results here showed that the studied species have differences in specific markers which must be considered in preparing the standardized plants.

Furthermore , these plants are a valuable sources of valerenic acid.

**Key words:** *Valeriana sisymbriifolia*, *Valeriana officinalis*, *Nardostachys jatamansi*, valerenic acid, valepotriate

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I.....	خلاصه فارسی
III.....	خلاصه انگلیسی
V.....	فهرست مطالب

## فصل اول : مقدمه

۲.....	۱-۱- پیشگفتار و هدف
۳.....	۲-۱- خانواده سنبل الطیب Valerianaceae
۴.....	۳-۱- گیاه سنبل الطیب <i>Valeriana officinalis</i> L.
۴.....	۱-۳-۱- مشخصات گیاه شناسی <i>Valeriana officinalis</i> L.
۵.....	۲-۳-۱- نام های گیاه <i>Valeriana officinalis</i> L.
۵.....	۳-۳-۱- خصوصیات گیاه
۶.....	۴-۳-۱- پراکنش جغرافیایی
۷.....	۵-۳-۱- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی
۸.....	۶-۳-۱- موارد استفاده گیاه در پزشکی سنتی
۸.....	۷-۳-۱- کاربرد درمانی و اثرات فارماکولوژی
۹.....	۴-۱- گیاه <i>Valeriana sisymbriifolia</i> Vahl.
۹.....	۱-۴-۱- مشخصات گیاه شناسی <i>Valeriana sisymbriifolia</i> Vahl.
۱۰.....	۲-۴-۱- نام های گیاه
۱۰.....	۳-۴-۱- خصوصیات گیاه

عنوان	صفحه
۱-۴-۴- پراکنش جغرافیایی	۱۱
۱-۴-۵- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی	۱۱
۱-۴-۶- موارد استفاده گیاه در پزشکی سنتی	۱۲
۱-۴-۷- کاربرد درمانی و اثرات فارماکولوژی	۱۲
۱-۵-۵- گیاه <i>Nardostachys jatamansi</i> DC.	۱۳
۱-۵-۱- مشخصات گیاه شناسی <i>Nardostachys jatamansi</i> DC.	۱۳
۱-۵-۲- نام‌های گیاه	۱۴
۱-۵-۳- خصوصیات گیاه	۱۴
۱-۵-۴- پراکنش جغرافیایی	۱۵
۱-۵-۵- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی	۱۵
۱-۵-۶- کاربرد درمانی و اثرات فارماکولوژی	۱۵
۱-۶-۶- اسید والرینیک (Valerenic acid)	۱۶
۱-۷-۷- والپوتریات‌ها (Valepotriates)	۱۷
۱-۸-۸- کروماتوگرافی روی قشر نازک یا TLC	۱۸
۱-۹-۹- روش اسپکتروفتومتری	۱۹

### فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

۱-۲-۱- مواد مورد استفاده	۲۲
۲-۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده	۲۳
۲-۳-۳- وسایل مورد استفاده	۲۴

عنوان	صفحه
۲-۴-۲- روش تهیه محلول‌ها	۲۵
۲-۴-۲-۱- روش تهیه محلول کلرال هیدراته	۲۵
۲-۴-۲- روش تهیه معرف ۲و۴-دی‌نیتروفتیل هیدرازین (DNPH)	۲۵
۲-۴-۲-۳- روش تهیه معرف اسید استیک - اسید کلریدریک	۲۵
۲-۵-۲- جمع آوری نمونه‌های گیاهی	۲۵
۲-۶-۲- آنالیز میکروسکوپی گیاهان (خرده نگاری)	۲۶
۲-۷-۲- بررسی وجود والپوتریات‌ها در نمونه گیاهی با روش TLC	۲۶
۲-۷-۲-۱- تهیه نمونه	۲۶
۲-۷-۲-۲- انجام TLC	۲۷
۲-۸-۲- انجام تست شیمیایی جهت تشخیص وجود والپوتریات‌ها	۲۷
۲-۸-۲-۱- تهیه نمونه	۲۷
۲-۸-۲-۲- تست شیمیایی	۲۸
۲-۹-۲- بررسی وجود اسید والرینیک در نمونه گیاهی با روش TLC	۲۸
۲-۹-۲-۱- تهیه نمونه	۲۸
۲-۹-۲-۲- انجام TLC	۲۸
۲-۱۰-۲- رسم منحنی کالیبراسیون اسید والرینیک (Calibration Curve)	۲۹
۲-۱۱-۲- اندازه‌گیری میزان اسید والرینیک موجود در نمونه‌های مورد مطالعه با روش اسپکتروفتومتری	۳۰
۲-۱۱-۲-۱- تهیه نمونه	۳۰
۲-۱۱-۲-۲- اندازه‌گیری با روش اسپکتروفتومتری	۳۰
۲-۱۲-۲- روش انجام محاسبات آماری	۳۱

صفحه

عنوان

**فصل سوم : نتایج**

- ۱-۳- نتایج حاصل از شناسایی و تعیین نام علمی نمونه های گیاهی مورد مطالعه ..... ۳۳
- ۲-۳- نتایج حاصل از آنالیز میکروسکوپی (خرده‌نگاری) نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه ..... ۳۳
- ۳-۳- نتایج حاصل از بررسی وجود والپوتریات‌ها در نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه باروش TLC ..... ۳۳
- ۴-۳- نتایج حاصل از انجام تست شیمیایی جهت تشخیص وجود والپوتریات‌ها در نمونه‌های گیاهی ..... ۳۳
- ۵-۳- نتایج حاصل از بررسی وجود اسیدوالرنیک در نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه با روش TLC ..... ۳۳
- ۶-۳- رسم منحنی کالیبراسیون اسیدوالرنیک ..... ۳۴
- ۷-۳- نتایج حاصل از اندازه‌گیری اسیدوالرنیک موجود در نمونه‌های مورد مطالعه با روش اسپکتروفتومتری ..... ۳۴
- ۸-۳- نتایج حاصل از محاسبات آماری ..... ۳۴

**فصل چهارم : بحث و نتیجه گیری**

- بحث و نتیجه گیری ..... ۵۳

**فصل پنجم : منابع**

- منابع ..... ۶۰

فصل اول:

مقدمه

## ۱-۱- پیشگفتار و هدف

سنبل الطیب یا والرین (*Valeriana officinalis* L.) گیاهی علفی و چند ساله از خانواده Valerianaceae می باشد که در نواحی معتدل قاره آسیا، اروپا و آمریکا یافت می شود. اندام دارویی آن ریزم و ریشه های افشان گیاه می باشد که در پزشکی سستی برای رفع خستگی، اثرات آرام بخش، درمان تشنج و دردهای عصبی و گرفتگی عضلانی توصیه شده است (۱). این گیاه در درمان سندرم روده تحریک پذیر و کرامپ های عضلانی نیز به کار می رود (۲). در مشاهدات بالینی عصاره آبی این گیاه کیفیت خواب را بهبود بخشیده و زمان شروع خواب را کاهش داده است. در فارماکوپه آلمان ریشه والرین برای درمان بی قراری و اختلالات خواب پذیرفته شده است (۳). اثر ضد تشنج گیاه تأیید شده (۴) و عصاره اتانولی گیاه دارای اثر ضد شوره نیز می باشد (۱). بیش از ۲۰۰ گونه از جنس *Valeriana* در نقاط مختلف دنیا رویش دارد. در ایران نیز ۶ گونه بومی از این جنس به صورت وحشی یافت می شود که اغلب در ارتفاعات رویش دارند (۵). ریشه های گیاه شامل ترکیبات مختلف با اثرات فارماکولوژیک متنوعی می باشند. اسانس، سزکویی ترپنوییدها (والرنیک اسید)، استرهای اپوکسی ایریدووییدها (والپوتریات ها) و محصولات حاصل از تجزیه آنها (بالدرینال، هموبالدرینال)، اسیدهای آمینه (آرژنین، تیروزین، گابا) و آلکالوئیدها از مهم ترین این ترکیبات می باشند (۶ و ۷). والترات، آسوالترات، بالدرینال و هموبالدرینال از دیگر محصولات تجزیه والپوتریات ها می باشند (۸و ۹). *V. officinalis* در ایران نیز از قدیم شناخته شده و دارای مصارف زیادی می باشد اما این گونه گیاهی در ایران تنها در مناطق محدودی به صورت نیمه خودرو رویش داشته و در بعضی مناطق نیز کشت داده می شود. تاکنون گیاهانی که تحت نام سنبل الطیب در بازار (عطاری ها) به فروش می رسند از نظر شناسایی گونه گیاهی و ترکیبات فعال آن مورد مطالعه دقیقی قرار نگرفته اند. با توجه به ارزش



استاندارد سازی داروهای گیاهی، بررسی علمی نمونه‌هایی که در معرض فروش قرار می‌گیرند قابل اهمیت و تأمل است. از سویی یکی از گونه‌های مورد رویش جنس *Valeriana* در استان کرمان، گونه *V. sisymbriifolia* Vahl می‌باشد که در ارتفاعات کوه‌های هزار به صورت خودرو رویش دارد. باتوجه به اینکه والرینیک اسید به عنوان یکی از مارک‌های جنس *Valeriana* محسوب شده و در عین حال در گزارشات مختلف به اثرات فارماکولوژیک این ترکیبات اشاره شده است (۱۰ و ۹)، هدف از این تحقیق، مقایسه گونه *V. officinalis* با گونه‌های گیاهی موجود در بازار دارویی که تحت نام سنبل‌الطیب به فروش می‌رسند و گونه مورد رویش در کرمان (*V. sisymbriifolia*) از نظر آنالیز کیفی و کمی والرینیک اسید می‌باشد.

## ۱-۲- خانواده سنبل‌الطیب Valerianaceae :

گیاهانی عموماً علفی یکساله یا پایا، بندرت به صورت بوته‌های کم و بیش چوبی و غالباً دارای ساقه‌های منشعب‌اند. عموماً برگ‌هایی متقابل، ساده یا لوبدار و یا منقسم به قطعات برگچه مانند و در هر حال استیپول‌دار دارند. گل‌های آنها نر - ماده یا منحصراً دارای یکی از اجزای اصلی گل (پرچم یا مادگی)، پلی گام، شامل قطعات ۵ تایی و به رنگ‌های سفید، گلی و یا سفید مایل به زرد است که معمولاً به صورت گرزنیهای دو سویه مجتمع می‌باشند. از اختصاصات ساختمان گل این گیاهان آن است که اولاً دارای کاسه بسیار کوچک‌اند بطوری که گاهی عاری از آن به نظر می‌رسند و ثانیاً جام گل آنها غالباً لوله‌ای یا قیفی شکل و دارای پهنکی منقسم به لوب‌های نامساوی و یا شامل دو لوب متمایز است. ضمناً لوله جام گل در عده‌ای از آنها مانند *Valeriana* ها، قوزدار و یا دارای دنباله مشخصی می‌باشد. مادگی این گیاهان اصولاً شامل ۳ برچه است ولی غالباً یکی از آنها به حالت زایا باقی می‌ماند که آن نیز محتوی یک تخمک اپی تروپ می‌باشد، دو برچه دیگر معمولاً فاقد تخمک

باقی می‌مانند. تعداد پرچم‌های این گیاهان، روی طرح اصلی گل باید ۵ باشد ولی چون همیشه پرچم خلفی آنها از بین می‌رود، مجموعاً ۴ پرچم (حداکثر) در آنها مشاهده می‌گردد. عده‌ای از آنها نیز پرچم‌های کمتر از ۴ و حتی یک پرچم دارند بطوری که مراحل تدریجی کاهش تعداد پرچم‌ها را می‌توان به خوبی در آنها مشاهده کرد. گیاهان این تیره بیشتر در نواحی معتدله نیمکره شمالی مخصوصاً منطقه مدیترانه و آسیا می‌رویند ولی در قاره آمریکا، بیشتر در نواحی واقع در نیمکره جنوبی مانند رشته جبال آندوشیلی پراکندگی دارند (۱۱).

تعداد کل گونه‌های آنها به ۴۰۰ می‌رسد که در ۱۳ جنس جای دارند. از جنس‌های مهم آن، *Valeriana* (دارای ۲۰۰ گونه)، *Valerianella* (۶۰ گونه) و *Centranthus* (۱۲ گونه) را می‌توان نام برد. از بعضی از آنها، از قدیم الایام به عنوان ضد تشنج و یا تهیه اسانس استفاده می‌شده است (۱۱).

### ۱-۳- گیاه سنبل الطیب *Valeriana officinalis* L.

#### ۱-۳-۱- مشخصات گیاه شناسی *Valeriana officinalis* L.

گیاه *Valeriana officinalis* L. از خانواده Valerianaceae بوده و در طبقه بندی انگلر دارای جایگاه زیر است:

سلسله (Kingdom): Plantae

شاخه (Division): Magnoliophyta

رده (Class): Magnoliopsida

زیر رده (Subclass): Magnoliopsida

راسته (Order): Dipsacales

خانواده (Family): Valerianaceae

جنس (*Valeriana*) : (Genus)

گونه (*V. officinalis* L.) : (Species) (۱۲).

۱-۳-۲- نام های گیاه *Valeriana officinalis* L.

نام علمی : *Valeriana officinalis* L.

نام انگلیسی : Cat's valerian

نام فارسی : سنبل الطیب، علف گربه

نام عربی : حشیشه القطه (۱۱).

۱-۳-۳- خصوصیات گیاه :

گیاهی علفی و دارای ساقه قوی به ارتفاع ۰/۵ تا ۱/۵ و حتی ۲ متر است. به حالت خودرو در جنگلهای کم درخت، مخصوصاً حاشیه جریانهای آب یا گودالهای غالب نواحی اروپا، آسیا و ایران می‌روید. پراکندگی آن در مناطق کوهستانی به نحوی است که معمولاً از ارتفاع ۱۰۰۰ متری دامنه‌ها بالاتر نمی‌رود. آنچه که تشخیص این گیاه را در همان نظر اول امکان پذیر می‌سازد، ارتفاع نسبتاً زیاد گیاه و شیارهای عمیق ساقه آن است که بر روی آن، برگهائی با ظاهر شبیه به برگ بعضی *Fraxinus*ها مشاهده می‌شود. ریزوم آن، پوشیده از ریشه‌های فراوان است که از بعضی از آنها، انشعابات منتهی به جوانه، خارج می‌گردد برگهای آن دارای وضع متقابل و منقسم به ۷ تا ۱۱ برگچه بیضوی، نوک تیز و دنداندار است ولی گاهی برگهای منقسم به ۱۱ تا ۲۳ برگچه باریک نیز در گیاه مشاهده می‌گردد که ظاهری باریک‌تر از دیگران دارند. قسمت‌های فوقانی ساقه، دارای برگهائی مرکب از برگچه‌های نسبتاً باریک، به تعداد کمتر است. بوی مطبوع ریزوم گیاه، گربه را به سمت خود جلب می‌کند به طوری که این جانور، در اطراف آن به جست و خیز می‌پردازد، از این جهت این گیاه

را علف گریه می‌نامند. سطح خارجی ریشه والرین بر اثر خشک شدن، چین‌دار می‌گردد. رنگ آن نیز قهوه‌ای تیره می‌شود. طعم ریشه ابتدا ملایم، سپس تلخ و معطر و بوی آنها مشخص است، زیرا بوی اسید والرینیک می‌دهد. ریشه‌های تازه منحصراً بوی ضعیف مخصوص، متمایز از ریشه‌های خشک می‌دهند ولی به مجرد خرد و یا خشک شدن، ریشه‌ها همان بوی قوی و مطبوع مذکور را پیدا می‌کنند (شکل ۱-۱) (۱۱).



شکل ۱-۱- گیاه *Valeriana officinalis* L.

۱-۳-۴- پراکنش جغرافیایی :

این گیاه در بعضی از نواحی شمال غربی ایران مانند میشوداغ و نواحی معتدل قاره آسیا، اروپا و آمریکا یافت می‌شود (۱۱و ۱۴).