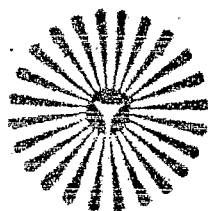


97.11

دانشگاه پیام نور - کتابخانه مرکزی	
بخش نشریات	
شماره ثبت	QD
شماره مدرک	V 888
شماره رکورد	86/6/1



دانشگاه پیام نور
دانشکده شیمی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد

موضوع پایان نامه :

بررسی فیتوشیمی و جداسازی فلاونوئید از گیاه

کاکل زری (Pseudohandelia Umbellifera)

استاد راهنما :

دکتر جلیل لاری

ارائه دهنده :

روح آ... بلندی

۱۳۸۷ / ۲ / ۱۴

تایستان ۸۵

۹۶۵۱۷

با تشکر از :

آقای دکتر جلیل لاری

مهندس مسن جوهرچی (هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد)

دکتر سید احمد امامی (استادیار دانشکده داروسازی مشهد)

دکتر مهرداد ایرانشاهی (استادیار دانشکده داروسازی مشهد)

با تشکر از

پدر و مادر عزیزه

و تقدیم به

همسر عزیز و مهربانم ...

فهرست مندرجات

عنوان..... صفحه

خلاصه.....

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مشخصات و خصوصیات گیاه..... ۲

۱-۱-۱- راسته چتریان..... ۲

۱-۱-۲- تیره جعفری (آمبلیفیریا)..... ۳

۱-۱-۳- گیاه کاکل زری..... ۵

۱-۲- خصوصیات فلاونوئیدها..... ۷

۱-۲-۱- مقدمه..... ۸

۱-۲-۲- ساختمان شیمیایی فلاونوئیدها..... ۸

۱-۲-۳- طبقه بندی فلاونوئیدها..... ۱۰

۱-۲-۴- انتشار فلاونوئیدها در طبیعت..... ۱۵

۱-۲-۵- خواص فلاونوئیدها..... ۱۶

- ۱۶..... ۱-۲-۶- بیوسنتز فلاونوئیدها (۲۴ و ۲۵).....
- ۲۰..... ۱-۲-۷- نقش فلاونوئیدها در گیاهان.....
- ۲۰..... ۱-۲-۸- موارد مصرف و خصوصیات درمانی فلاونوئیدها.....
- ۲۱..... ۱-۳- استخراج و جداسازی فلاونوئیدها.....
- ۲۱..... ۱-۳-۱- استخراج و جداسازی فلاونوئیدها.....
- ۲۲..... ۱-۲-۲- تشخیص و شناسایی فلاونوئیدها.....
- ۲۷..... ۱-۳-۲-۳- معرفهای شناسایی فلاونوئیدها.....
- ۲۸..... ۱-۳-۲-۴- کروماتوگرافی ستون.....
- ۳۱..... ۱-۳-۲-۵-۱- طیف UV فلاونوئیدها.....

فصل دوم: کارهای تجربی

- ۳۴..... وسایل و لوازم کار عملی.....
- ۳۵..... ۱-۲- جمع آوری گیاه (کاکل زری).....
- ۳۵..... ۲-۲- اسانس گیری.....
- ۳۶..... ۲-۳- عصاره گیری.....
- ۳۶..... ۲-۴- آزمایشات کلی فیتوشیمی.....

۳۸..... ۲-۵- جداسازی فلاونوئیدها به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک وستون

۳۸..... ۲-۵-۱- کروماتوگرافی لایه نازک TLC

۴۳..... ۲-۵-۲- کروماتوگرافی ستون

۴۴..... ۲-۶- خالص سازی بیشتر نمونه با استفاده از ستون کوچک کروماتوگرافی:

فصل سوم: بحث و نتیجه گیری

۴۶..... ۳-۱- مشخصات طیف ماوراء بنفش ترکیب خالص شده:

۴۷..... ۳-۲- طیف FT-IR ترکیب خالص شده:

۴۷..... ۳-۳- طیف ^1H-NMR ترکیب خالص شده:

۴۹..... ۳-۴- مشخصات طیف جرم ترکیب خالص شده:

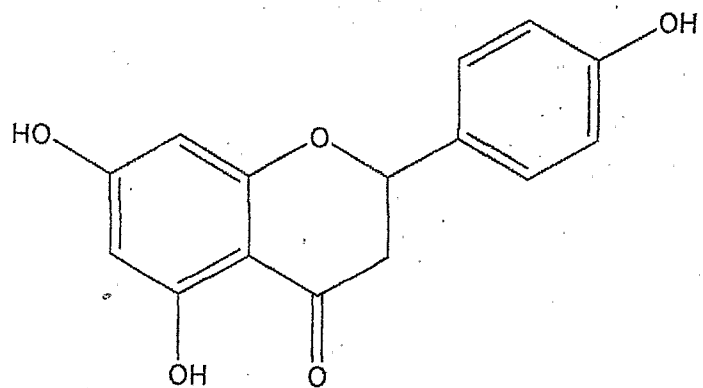
۵۲..... نتیجه گیری:

۵۳..... پیشنهادات:

۵۹..... منابع:

چکیده

موضوع پایان نامه بررسی های فیتوشیمی و جداسازی فلاونوئید از گیاه *Pseudohandellia* با نام محلی کاکل زری می باشد که از ارتفاعات سرخس واقع در خراسان رضوی جمع آوری شده است. پس از جمع آوری و خشک کردن و آسیاب کردن گیاه، ابتدا اسانس گیری به روش تقطیر با آب و کشش بخار آب انجام شد که مقدار اسانس گیاه خیلی پایین بود و برای شناسایی کافی نبود. عصاره گیری با دستگاه سوکسله چندین بار انجام شد و عصاره ها به هم اضافه شد. پس از آزمایشهای کلی فیتوشیمی بر روی عصاره گیاه، به خالص سازی و جداسازی فلاونوئید در گیاه به روش کروماتوگرافی ستون پرداخته شد. پس از جداسازی و خالص سازی، شناسایی ماده مورد نظر بوسیله طیفهای IR و $^1\text{H-NMR}$ و Mass انجام گرفت که اطلاعات طیفی آن در پایان نامه آمده است. با توجه به اطلاعات طیفی، ماده مورد نظر فلاونوئید Naringenin بود که فرمول آن در اینجا آمده است.



فصل اول:

مقدمه

۱-۱- مشخصات و خصوصیات گیاه

۱-۱-۱- راسته چتریان

اولین و بزرگترین خانواده شناخته شده از گیاهان گل دار که در اواخر قرن شانزدهم توسط گیاه شناسان مورد بررسی قرار گرفت تیره چتریان^۱ می باشد. این تیره دارای ۴۵۵-۳۰۰ جنس و ۳۷۵۰-۳۰۰۰ گونه است (۲۷). از این تعداد ۱۱۲ جنس و حدوداً ۳۳۰ گونه در ایران پراکنده است (۲۸). بارزترین خصوصیات مورفولوژیکی این خانواده ساختار میوه و تزئینات سطح آن، وجود گل آذین چتری، حفره های روغنی و کانال های رزینی^۲ است. این تیره دارای مواد شیمیایی مختلف از جمله کومارین ها، فلاونوئیدها، پلی استیلن ها و روغن های فرار گیاهی می باشد که خود این ترکیبات شیمیایی هم دارای انواع مختلفی می باشد (۲۹). گونه های مختلف این تیره دارای مصارف گوناگونی چون مصارف دارویی، آرایشی، خوراکی، سمی و... می باشد. که می توان به عنوان مثال رازیانه، زیره سیاه، بادبچه، کرفس، گشنیز، شوید، هویج، گل پر، شوکران و... را نام برد.

از مشخصات این راسته آن است که معمولاً گل‌هایی مجتمع بصورت چتر دارند بطوری که این صفت در غالب آنها عمومیت دارد. گیاهانی علفی، بصورت درختچه و یا بصورت بوته هایی با اعضاء چوبی می باشند. برگهای آنها معمولاً فاقد استیپول (گوشوارک) و گل‌های آنها دو جنسی مرکب از قطعات پنج تایی در چهار ردیف حلقوی است. مادگی آنها از دو تا پنج برچه تشکیل می یابد که مجموعاً تخمدانی تحتانی با دو تا پنج خانه و محتوی یک تخمک در هر خانه بوجود می آورند. تخمکهای آنها یک غشایی و معمولاً دارای خورش کم است. فرمول کلی

اجزا گل آنها بصورت زیر می باشد:

$$۵ \text{ کاسبرگ} + ۵ \text{ گلبرگ} + ۵ \text{ پرچم} + ۲ \text{ تا } ۵ \text{ برچه}$$

با توجه به کلیه صفاتی که راسته چتریان دارند این نتیجه کلی حاصل می شود که این گیاهان در آخرین تیره های خود تدریجاً دارای مشخصاتی گردیده اند که آنها را به پیوسته برگها مخصوصاً به راسته روبریالس^۳، نزدیک نموده است. در تیره کورناسیا^۱ که آخرین تیره از راسته چتریان است مجاورت این راسته با پیوسته گلبرگها مخصوصاً با تیره کاپریفولیاسه^۲ بیشتر مشهود است.

^۱ - umbelliferae

^۲ - Vitta

^۳ - Rubiales

گل آذین چتری این گیاهان را می توان نزدیکترین حالت برای رسیدن آنها به گل آذین تیره

کامپوزیتا^۳ دانست.

راسته چتریان دارای سه تیره مهم به شرح زیر می باشد:

۱- کورناسیا

۲- آلایاسیه^۴

۳- آمبلیفریا^۵

ولی گاهی تیره های کوچکی به آن ضمیمه می شود(۱).

۱-۱-۲- تیره جعفری (آمبلیفریا)^۶

تیره جعفری شامل ۱۵۰ جنس می باشد که عموماً در مناطق معتدله دو نیمکره مخصوصاً نیمکره شمالی می رویند. وجود گل آذین چتری و برگهای غالباً مرکب از بریدگیهای باریک و نازک، آنها را از سایر گیاهان به خوبی متمایز می سازد به علت وجود گل آذین چتری این تیره به نام تیره چتریان نیز نامیده می شود. چتریان گیاهان عموماً علفی یک یا چند ساله و دارای ساقه غالباً راست یا خزنده و معمولاً شیاردار می باشند. برگهای آنها متناوب ساده یا دارای پهنک منقسم به بریدگیهای بسیار و معمولاً منتهی به دمبزرگ غلاف داری است که ساقه را در محل اتصال بدان فرا می گیرد. غالباً آنها گلتهائی نر- ماده دارند ولی در بین آنها گیاهان پلی گام، یک پایه یا دو پایه یافت می شود.

در پایه گل آذین چتری آنها، اغلب برگه هایی (براکته) بوضع فراهم مشاهده می شود که مجموعاً آنولوکر^۷ نام دارد (۱).

گلتهای آنها کوچک، به رنگ سفید یا زرد و مرکب از قطعات ۵ تایی است. بطوری که در هر گل آنها ۵ کاسبرگ، ۵ پرچم و تخمدان و ۲ برچه مشاهده می گردد. از اختصاصات دیگر گیاهان این تیره آن است که گل های کناری گل آذین آنها غالباً گلبرگهای درشت تر از گل های دیگر دارند و این خود در جذب حشرات به سمت گل و مداخله آنها در انجام عمل آمیزش تاثیر فراوانی دارد. مادگی این گیاهان شامل ۲ برچه است که به یکدیگر و به نهج گل پیوسته شده مجموعاً تخمدانی ۲ خامه ای و منتهی به ۲

1 - Cornaceae
2 - Caprifoliaceae
3 - Compositae
4 - Alaliaceae
5 - Umbelliferae
6 - Umbelliferae
7 - Anvolucre

برجستگی غده مانند استیلوپد^۱ به وجود می آورند. قسمت آزاد برجستگیهای مذکور به دو خامه منتهی می شود. در داخل تخمدان آنها معمولا ۲ تخمک در هر خانه به وجود می آید ولی فقط یکی از آنها به رشد خود ادامه می دهند. تخمکها در این گیاه عموما یک غشایی و دارای خورش کم هستند.

میوه آنها بر روی پایه ای به نام کلومال^۲ واقع می شود. این پایه بر خلاف آنچه تصور می شود ادامه گل نیست بلکه از بافتهای مریکارپ نتیجه می شود. هر مریکارپ دارای یک قسمت مسطح و یک قسمت محدب است ناحیه محدب آنها دارای ۵ کناره با لبه برجسته کوت^۳ است که یکی پشتی، ۲ تا جانبی، ۲ تای دیگر کناری است. از هر لبه مذکور یک دسته آوندی که به نحوی عبور می کند که آوندهای چوبی آن در داخل و آوندهای آبکش در خارج واقع شده است. در ناحیه مسطح هر یک از مریکارپ ها نیز دو دسته آوندی بوضع طولی وجود دارد. در ناحیه هر دو لبه برجستگی یک فرو رفتگی بنام والکول^۴ است که در آن ۲۲ مجاری کوتاه و ترشحي قرار دارد.

میوه دو فندقه ای گیاهان مختلف این تیره، تدریجا در طی دوران نمو، متحمل تغییراتی می شود که منجر به پیدایش لبه های کوچک ثانوی در شیارهای میوه می گردد. برجستگیهای اخیر نیز گاهی دارای تارها و یا زوائد قلاب مانند می شود و پیدایش آنها در میوه بیشتر موجب تسهیل انتشار و پراکندگی میوه می گردد. میوه گیاهان این تیره بصور مختلف استوانه ای، نیمه مسطح یا مسطح و گاهی پوشیده از تارهای خشن و یا خار مانند دیده می شوند که هر یک از این صفات نیز به نوبه خود در تشخیص این گیاهان کمک موثری می نمایند. دانه آنها دارای آلبومین فراوان و گاهی گوشتدار است. دستگاه ترشحي این گیاهان شامل مجاری شیزوژن (اسکیزوژن) است که در تمام اندام های گیاهی مانند دایره محیطیه و ریشه اولیه، مقابل دسته های چوبی، پارانشیم آبکشی، پوست و مغز و ساقه و برگ و رگبرگها و همچنین در میوه بصورت کیسه ها یا مجاری کوتاه و دراز پراکندگی دارند. در این مجاری موادی با بوی مطبوع و گاهی نامطبوع شیری رنگ یا به رنگ مایل به زرد جریان دارد، میوه گیاهان تیره جعفری دارای دو گونه مجاری ترشحي است:

¹ - stylopode

² - umelleCol

³ - Cote

⁴ - Vallecule

۱- مجاری ترش‌حی معمولی که در طول دستجات آوندی قرار داشته و با مجاری ترش‌حی ساده مرتبط است.

۲- مجاری ترش‌حی کوتاه که از خارج به جدار میوه محدود می‌شود معمولا در عمق هر شیار میوه یکی از آنها یافت می‌شود.

بطور کلی گیاهان تیره جعفری را از نظر دارا بودن گل آذین می‌توان به دو دسته تقسیم کرد:

۱- چتر ساده: در این دسته گیاهان اشعه‌ها مستقیما به گلها ختم می‌شوند.

۲- چتر مرکب: در این دسته گیاهان اشعه‌ها خود به چتر دیگری ختم می‌گردند.

۱-۱-۳- گیاه کاکل زری

گیاه کاکل زری از خانواده چتریان است. گیاه یک بار بارور، معمولا دو ساله، گاهی پایا، و دارای ریشه عمودی است (۲). مشخصات کلی گیاه در زیر آمده است:

ساقه: ساقه در این گیاه منفرد یا ۱-۳ تائی است. از مشخصات دیگر ساقه این گیاه این است که ساقه ساده و تو خالی است. ارتفاع ساقه از ۱۵-۵۰ سانتی متر است اما گاهی تا ۱۰۰ سانتی متر هم می‌رسد. و پوشیده از برگهای متراکم است.

برگ: بن رسته‌های برگ سبز یا در هنگام باز شدن گل خشکیده است. برگ‌ها خطی-پهن درازوبه طول ۵-۲۰ (۳۰) سانتی متر و عرض ۸-۲۰ (-۳۰) سانتی متر است. در دورو، برگها دارای کرکهای تنک و یا متراکم، ندرت بی کرک، با دو بار تقسیمات شانیه ای عمیق، با قطعات فشرده درفشی به ابعاد ۱/۱-۰/۳×۰/۵ (۳-۴) میلی متر و در انتها غضروفی و دندانه دار هستند. برگها در پایین ساقه و میانه آن بی دمبرگ هستند. ساقه آغوش و بتدریج کوچک شده، تقسیم انتهایی برگها به طول ۸ میلی متر، در بالای ساقه های کوچک با تقسیمات نازک و خطی به طول ۸ میلی متر هستند.

گل: گلها زرد رنگ، تماما نر ماده، مجتمع در کپه نیمه کروی به بزرگی ۳-۵×۶-۹ میلی متر هستند. گل آذین کلی به صورت دیهیم بزرگ راسی شامل کپه های فراوان متراکم، واقع در دمگل آذینی به طول ۳-۲۰ میلی متر است. برگهای گریبان همپوش، تقریبا هم اندازه است. بیزونیها بسیار کوتاه، داخلیها باریک، خطی-سر نیزه ای، با حاشیه شفاف است. نهنج کپه مخروطی کند، بدون کرک، جام گل لوله ای

باریک، با غده ها و کرکهای تنک، به طول ۲-۲/۸ میلی متر است. در بخش فوقانی استکانی، عریض و دارای پنج دندانه سر نیزه ای- مثلثی است.

میوه: میوه فندقه خطی، خمیده- کمائی، با غده های متراکم و کرکهای مجعد، به بزرگی ۰/۳- ۰/۴×۱/۸-۲/۴ میلی متر است. میوه فاقد هر گونه جقه یا تاج است.

موسم گل: موسم گل دهی این گیاه خرداد است.

انتشار جغرافیایی: خراسان: بین رباط سفید و شریف آباد، سرخس، چشمه شور، بین صالح آباد و

جنت آباد.

عکس نمونه: خراسان، کلات نادری، شرق جنگلهای چهچه و سنگانه (۲).



Pseudohandelia umbellifera
(Boiss.) Tzvel.

شکل ۱-۱ گیاه کاکل زری

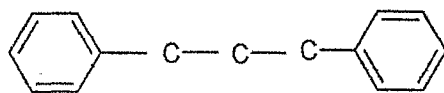
۱-۲- خصویات فلاونوئیدها

۱-۲-۱- مقدمه

تخمین زده می شود که حدود ۲٪ کل کربن فتوسنتز شده به وسیله گیاهان به فلاونوئیدها و ترکیبات وابسته تبدیل می شود. تعداد آنها در طبیعت زیاد و در گیاهان عالی به فراوانی پراکنده می باشد. فلاونوئیدها را می توان ترکیبات حاوی $C_6 - C_3 - C_6$ دانست که دو گروه C_6 به وسیله C_3 به هم متصل شده اند. بزرگترین گروه فلاونوئیدها آنهایی هستند که در آنها زنجیره سه کربنی به شکل حلقه پیران در آمده است. در صورتیکه عوامل هتروسیکل اکسیژن دار در محل های مختلف اضافه شوند سری های مختلف آن به دست می آید. این دسته از مواد اغلب به صورت O -گلیکوزیدی می باشند ولی تا به حال حدود ۲۵ نوع C -گلیکوزید نیز شناخته شده است، از مهمترین فلاونوئیدهای شناخته شده می توان روتین- گورستین و فلاونوئیدهای میوه مرکبات مثل هسپریدین و نارنژین را نام برد (۳).

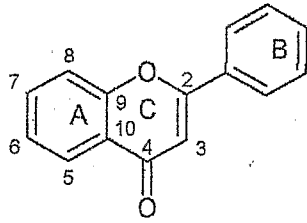
۱-۲-۲- ساختمان شیمیایی فلاونوئیدها

در گیاهان آگلیکون فلاونوئیدها به اشکال ساختمانی مختلف دیده می شود. همه آنها دارای ۱۵ اتم کربن در هسته اصلی خود می باشند که به صورت $C_6 - C_3 - C_6$ مرتب شده اند به طوری که دو حلقه آروماتیک به وسیله سه واحد کربن به همدیگر متصل شده و ممکن است تشکیل حلقه سوم را بدهند. فلاونوئیدهایی که زنجیره سه کربنی با تشکیل حلقه پیران به هم متصل شده است، بزرگترین گروه فلاونوئیدها می باشند که هسته آنها ۲- فنیل بنزوگاما پیران نامیده می شود.



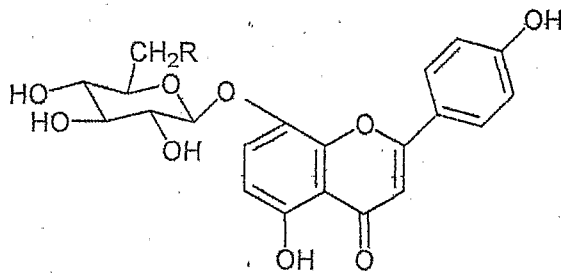
"اسکلت ساختمانی فلاونوئیدها"

نامگذاری فلاونوئیدها به این ترتیب است که حلقه ها به نام های A, B, C نامیده می شوند و اتم های کربن در حلقه های C و A با اعداد معمولی و اتم های کربن حلقه B با اعداد پرایم شماره گذاری می شوند. باید توجه داشت که سیستم نامگذاری چالکون ها متفاوت است.



فلاونوئیدها معمولا به صورت فلاونوئید O- گلیکوزید وجود دارند که گروه های هیدروکسیل

فلاونوئیدها به وسیله یک پیوند همی استال به قند متصل شده است.



شکل فلاونوئید O- گلیکوزید (R=H) Apigenin-7-O-beta-D-glucopyranoside

در اثر گلیکوزیله شدن، فعالیت فلاونوئید کاهش، و حلالیت آن در آب افزایش می یابد. اگر چه گروه های هیدروکسیل در هر موقعیتی از هسته فلاونوئید ممکن است گلیکوزیله شوند اما در حقیقت هیدروکسیل ها در موقعیت های بخصوصی بیشتر گلیکوزیله می شوند مثل هیدروکسیل ۷ در فلاون ها، ایزوفلاون ها و دی هیدروفلاون ها، هیدروکسیل ۳ و ۷ در فلاون ها و دی هیدروفلاون ها و هیدروکسیل ۵ و ۳ در آنتی سیانیدین ها.

گلیکوزیله شدن در آخرین مراحل بیوسنتز رخ داده و توسط آنزیم های خیلی اختصاصی کاتالیز می

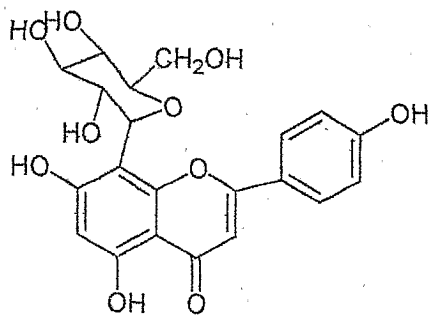
شود.

قند ممکن است مستقیما به حلقه های بنزنی از طریق پیوند کربن- کربن متصل شود که فلاونوئید-

C- گلیکوزید نامیده می شود و نسبت به اسیدها مقاوم می باشد (شکل ۲-۳). در این گروه قند فقط به

کربن موقعیت ۶ و ۸ هسته فلاونوئید متصل می شود. تنوع قند و آگلیکون فلاونوئیدی این گروه محدودتر

است (۱۵).



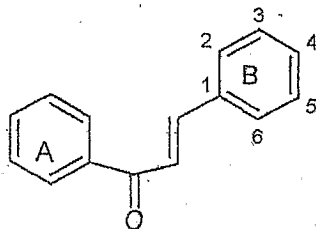
Apigenin- μ -c-b-D-glucopyranoside (vitexin)

۱-۲-۳- طبقه بندی فلاونوئیدها

چنانچه به بنیان فلاونوئیدها عوامل هتروسیکلیک اکسیژن دار و یا عوامل هیدروکسیل در محل های مختلف اضافه شود انواع مختلف فلاونوئیدها حاصل می شود. همچنین با درجات مختلف اکسید شدن زنجیره سه کربنی بنیان فوق، اجسام مختلف فلاونوئیدی مثل لوکوانتوسیانیدین ها، فلاونون ها، آنتوسیانیدین ها و فلاونول ها حاصل می شود. علاوه بر تغییرات فوق که در هسته فلاونوئیدی مشاهده شده است تغییرات دیگری می توان در بنیان C₆-C₃-C₆ مشاهده کرد به طوری که گروه ها و هسته های جدید شیمیایی مثل هسته های چالکون ها، دی هیدروچالکون ها، اورون ها و ایزوفلاونوها حاصل می گردد ساختمان شیمیایی و خصوصیات انواع مختلف فلاونوئیدها به شرح زیر است:

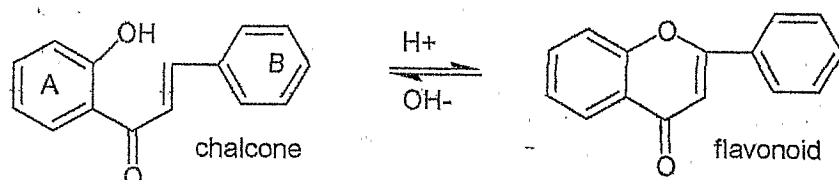
۱-۲-۳-۱- چالکونها و اورون ها

اولین ترکیب واسطه در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها، چالکون می باشد. سیستم نامگذاری آنها متفاوت از سایر فلاونوئیدها است اتم های حلقه A با اعداد پریم و حلقه B با اعداد معمولی شماره گذاری می شوند (۱۶).

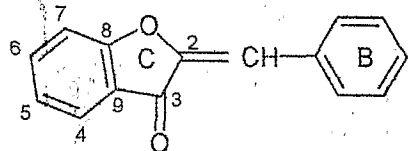


حلقه در این ترکیبات باز شده است. در اکثر چالکون ها ۶ کربن ۶ دارای عامل OH می باشد. این اجسام در محیط اسیدی به فلاونوئید تبدیل شده و در محیط قلیایی دوباره به چالکون تبدیل می شوند.

(۳)



اورون ها ترکیباتی بوده که حلقه وسط به صورت حلقه ۵ تایی است. در نامگذاری اورون ها، حلقه A با اعداد معمولی و حلقه B با اعداد پرایم شماره گذاری می شوند. در این دسته از ترکیبات ممکن است حلقه B بدون گروه هیدروکسیل و یا دارای ۱، ۲ یا ۳ گروه هیدروکسیل باشد. این ترکیبات ایجاد رنگ طلایی نموده و از اکسیداسیون آنزیمی چالکون ها بدست می آید (۱۶).



۱-۲-۳-۲-۱- آنتوسیانین ها

آنتوسیانین ها از مهمترین مواد رنگی موجود در گیاهان می باشند که مسئول رنگ صورتی، قرمز، ارغوانی و آبی گیاهان بوده و بیشتر در گلبرگ گلها وجود دارند. این ترکیبات در اکثر گیاهان به جز کپک ها یافت می شوند. آنتوسیانین ها در واکوئل های بافت های اپیدرم گیاهان تجمع می یابند. این ترکیبات به صورت کاتیونی بوده و بر حسب میزان متیلاسیون و عوامل هیدروکسیل شدت رنگ آنها متفاوت است.

