



دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم پایه

مرکز تهران

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد

رشته شیمی آلی

گروه شیمی

جداسازی و شناسایی ترکیبات با اثر انعقاد خون در گیاه

انجبار (*Polygonum bistorta*)

معصومه ذبیحی

استاد راهنما: سرکار خانم دکتر طیبه پرتوی

استاد مشاور: جناب آقای دکتر سید احمد میرشکرایی

بهمن ماه ۱۳۸۹

تقدیم به :

پدر و مادر عزیزم

**که کلیه موفقیت هایم در تمام مراحل زندگی را مدیون تلاش
ها ، حمایت ها و دلگرمی های بی پایان و بدون چشمداشت
ایشان هستم. به امید روزی که بتوانم ذره ای از محبت
هایشان را جبران نمایم.**

از سرکار خانم دکتر طیبه پرتوی

استاد راهنمای گرامی به خاطر کمک ها، راهنمایی ها و راهکارهای استادانه و همه جانبه و بسیار کارساز ایشان کمال تشکر را دارم. شایان ذکر است که ایشان در این مدت نه تنها نقش یک استاد و راهنمای علمی و عملی را برای من ایفا نمودند، برایم نماد یک الگوی انسانی، دینی و رفتاری نیز هستند که به بار نشستن این رساله را مدیون محبت های بی دریغشان هستم.

از جناب آقای دکتر سید احمد میرشکرایی

استاد مشاور گرامی که با راهنمایی ها و نکته سنجی های مفیدشان مرا در انجام این رساله یاری نمودند، کمال تشکر را دارم.

چکیده

در این پژوهش عصاره ریشه گیاه انجبار گونه *Polygonum bistorta* مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت تا ترکیباتی که اثر منعقد کننده خون دارند، استخراج و شناسایی شوند. استخراج و شناسایی ترکیبات حاصل با استفاده از روش های شیمیایی و فنون طیف سنجی $^{13}\text{CNMR}$, $^1\text{HNMR}$, FTIR منجر به شناسایی دو فلاونوئید از مشتقات فلاون یعنی 3,3',4',5'-پنتاهیدروکسی فلاون و 3,5'-دی متوکسی فلاون گردید. و با توجه به ساختار این ترکیبات و بررسی مقالات سایر محققین، اثر انعقاد خون این گیاه تایید می گردد.

فهرست مطالب

مقدمه..... ۱

فصل اول: کلیات

۱-۱- تاریخچه..... ۴

۱-۲- گیاهان دارویی..... ۵

۱-۲-۱- دلایل رویکرد جهانی به گیاهان دارویی..... ۷

۱-۲-۲- کاربرد های مختلف گیاهان دارویی..... ۷

۳-۱- روش میکروشمی..... ۸

۴-۱- انجبار..... ۱۰

۴-۱-۱- مشخصات..... ۱۰

۴-۱-۲- توزیع..... ۱۱

۴-۱-۳- تکثیر..... ۱۱

۴-۱-۴- برداشت..... ۱۲

۴-۱-۵- کاربرد های خوراکی..... ۱۲

۴-۱-۶- کاربرد های دارویی..... ۱۳

فصل دوم: تانن ها و انعقاد خون

۱-۲- تانن..... ۱۶

۲-۲- خواص فیزیکی و شیمیایی تانن ها..... ۱۷

- ۲-۳-ساختمان شیمیایی تانن.....۱۹
- ۲-۳-۱-تانن های هیدرولیزشونده.....۱۹
- ۲-۳-۲-تانن های هیدرولیزنشده یا متراکم.....۲۳
- ۲-۴-فلاونوئیدها و مشتقات مربوطه.....۲۴
- ۲-۵-کاتشین ها و پروآنتوسیانیدین ها.....۲۷
- ۲-۶-فلاون ها و فلاونول ها و ایزوفلاون ها.....۲۹
- ۲-۷-آنتوسیانین ها.....۳۲
- ۲-۸-روش جدا کردن فلاونوئید ها.....۳۶
- ۲-۹-خاصیت گسی تانن ها.....۳۷
- ۲-۱۰-خواص فیزیولوژیکی تانن ها.....۳۸
- ۲-۱۱-موارد استفاده تانن ها.....۳۸
- ۲-۱۲-اشکال دارویی تانن.....۳۹
- ۲-۱۳-هموستاز و انعقاد خون.....۴۰
- ۲-۱۳-۱-هموستاز.....۴۰
- ۲-۱۳-۲-مکانیسم انعقاد خون.....۴۰
- ۲-۱۳-۳-نقش یون های کلسیم در مسیر انعقاد.....۴۱
- ۲-۱۳-۴-تاثیر تانن برانعقاد خون.....۴۱

فصل سوم: مواد و روش ها

- ۳-۱-مواد و دستگاه ها..... ۴۴
- ۳-۲-روش ها..... ۴۵
- ۳-۲-۱-ماده اولیه..... ۴۵
- ۳-۲-۲-آسیاب کردن..... ۴۵
- ۳-۲-۳-استخراج اولیه..... ۴۶
- ۳-۳-آزمون های شناسایی..... ۴۶
- ۳-۳-۱-آزمون آب برم..... ۴۶
- ۳-۳-۲-آزمون کلروفریک (FeCl_3)..... ۴۶
- ۳-۳-۳-آزمون بیکربنات سدیم (NaHCO_3)..... ۴۷
- ۳-۳-۴-آزمون ۲و ۴-دی نیترو فنیل هیدرازین..... ۴۷
- ۳-۳-۵-آزمون پتاسیم پرمنگنات (KMnO_4)..... ۴۷
- ۳-۴-استخراج های اصلی..... ۴۸

فصل چهارم: نتایج و بحث

- ۴-۱-مقدمه..... ۵۳
- ۴-۲-نمونه A..... ۵۴
- ۴-۲-۱-تحلیل طیف FTIR نمونه A..... ۵۴
- طیف شماره ۱ (FTIR) نمونه A..... ۵۵
- ۴-۲-۲-تحلیل طیف $^1\text{HNMR}$ نمونه A..... ۵۶

- طیف شماره ۲، ($^1\text{HNMR}$) نمونه A ۵۷
- طیف $^1\text{HNMR}$ گسترده شده شماره ۲ ۵۸
- ۴-۲-۳-تحلیل طیف $^{13}\text{CNMR}$ نمونه A ۵۹
- طیف شماره ۳، ($^{13}\text{CNMR}$) نمونه A ۶۰
- طیف $^{13}\text{CNMR}$ گسترده شده شماره ۳ ۶۱
- ۴-۲-۴-تعیین ساختار ترکیب A ۶۲
- ۴-۳-نمونه B استخراج شده از حلال THF ۶۳
- ۴-۳-۱-تحلیل طیف FTIR نمونه B ۶۳
- طیف شماره ۴ (FTIR) نمونه B ۶۵
- ۴-۳-۲-تحلیل طیف $^1\text{HNMR}$ نمونه B ۶۶
- طیف شماره ۵، ($^1\text{HNMR}$) نمونه B ۶۸
- طیف $^1\text{HNMR}$ گسترده شده شماره ۵ ۶۹
- ۴-۳-۳-تحلیل طیف ($^{13}\text{CNMR}$) نمونه B ۷۰
- طیف شماره ۶، ($^{13}\text{CNMR}$) نمونه B ۷۱
- طیف $^{13}\text{CNMR}$ گسترده شده شماره ۶ ۷۲
- ۴-۳-۴-تعیین ساختار ترکیب B ۷۳
- ۴-۴-نمونه C استخراج شده از حلال اتانول ۷۶
- ۴-۴-۱-تحلیل طیف FTIR نمونه C ۷۶

طیف شماره ۷ (FTIR) نمونه C.....	۷۸
طیف $^1\text{HNMR}$ نمونه C.....	۷۹
طیف شماره ۸، $^1\text{HNMR}$ نمونه C.....	۸۰
طیف $^1\text{HNMR}$ گسترده شده شماره ۸.....	۸۱
طیف $^{13}\text{CNMR}$ نمونه C.....	۸۲
طیف شماره ۹، $^{13}\text{CNMR}$ نمونه C.....	۸۳
طیف $^{13}\text{CNMR}$ گسترده شده شماره ۹.....	۸۴
طیف شماره ۹، تعیین ساختار ترکیب C.....	۸۵
پیشنهادات.....	۸۸
منابع.....	۸۹
Abstract.....	۹۳

فهرست جداول

- جدول ۱-۲ ، کربن های هیدروکسیل دار فلاون ها ، فلاوانول ها و ایزوفلاون ها.....۳۲
- جدول ۲-۲ ، آنتوسیانین های معروف، آگلیکون، محل گلیکوزید و منشا طبیعی آن ها.....۳۵
- جدول ۱-۳ ، نتایج شناسایی گروه های عاملی عصاره.....۴۷
- جدول ۲-۳ ، نتایج آزمون های شناسایی گروه های عاملی رسوب A.....۴۸
- جدول ۳-۳ ، انحلال پذیری عصاره در حلال های آلی.....۴۹
- جدول ۳-۴ ، نتایج آزمون های شناسایی گروه های عاملی نمونه B.....۵۰
- جدول ۳-۵ ، نتایج آزمون شناسایی گروه های عاملی نمونه C.....۵۱
- جدول ۱-۴ ، پیک های مهم جذبی FTIR نمونه A.....۵۴
- جدول ۲-۴ ، پیک های $^1\text{H NMR}$ ترکیب A.....۵۶
- جدول ۳-۴ ، پیک های $^{13}\text{C NMR}$ نمونه A.....۵۹
- جدول ۴-۴ ، پیک های FTIR نمونه B.....۶۴
- جدول ۴-۵ ، پیک های $^1\text{H NMR}$ نمونه B.....۶۷
- جدول ۴-۶ ، پیک های CNMR نمونه B.....۷۰
- جدول ۴-۷ ، پیک های FTIR نمونه C.....۷۷
- جدول ۴-۸ ، پیک های $^1\text{H NMR}$ نمونه C.....۷۹
- جدول ۴-۹ ، پیک های CNMR نمونه C.....۸۲

مقدمه

انجبار بوته ای است از خانواده علف هفت‌بند (Polygonaceae) که به نام اناریف نیز معروف است. این درختچه ساقه‌ای صاف و بیش از یک متر ارتفاع دارد. ریزوم‌های بزرگ پیچدار و انشعابی و برگ‌هایی با قاعده‌ی بزرگ و نوک تیز از ویژگی‌های آن است. رویه برگ‌ها سبز و سطح زیر برگ کدر و کرک‌دار است. گل‌هایش به رنگ قرمز یا صورتی کمرنگ و سفید و پرچم‌ها از بیرون دیده می‌شوند. در فاصله‌ی خرداد تا تیرماه گل می‌دهد.

ترکیبات شیمیایی آن شامل انواع تانن، گلوکز، اگزالات کلسیم، اگزالیک اسید، لعاب، صمغ، ویتامین C و ماده رنگی قرمز می‌باشند. [۱]

از نظر خواص درمانی بندآورنده‌ی خون، ضد تب، مدر، ملین، التیام‌دهنده‌ی زخم، قابض، ضد التهاب، ضد تومور و سرطان، ضد اسهال، ضد عفونی‌کننده و مقوی عمومی و اشتهاآور است. [۱۴]

به طور کلی ریشه گیاه انجبار نسبت به سایر بخش‌ها اثرات درمانی بیشتری دارد و تانن‌ها که موجب انعقاد خون می‌شوند، در قسمت‌های سخت گیاه یعنی بیشتر در ریشه وجود دارند. تانن‌ها (فلاوانول‌ها) که به اسم‌های دیگری چون اسید تانیک، گلوتانن، و اسید گلوتانیک نیز شناخته شده‌اند، ترکیبات پیچیده طبیعی هستند که از ساختارهای پلی فنولی تشکیل شده و غیر قابل تبلور می‌باشند. وزن مولکولی این مواد بالا (بین ۵۰۰ تا ۳۰۰۰ دالتون) و دارای تعداد قابل ملاحظه‌ای گروه هیدروکسیل فنولیک (۱ تا ۳٪ وزن مولکولی) و گروه‌های دیگر (مانند گروه‌های کربوکسیل و کربونیل) هستند که امکان تشکیل پیوندهای عرضی بین پروتئین و سایر درشت مولکول‌ها را میسر می‌سازد. ثابت شده که تانن‌های متراکم به صورت کمپلکس با یون‌های فلزی موجب افزایش سرعت انعقاد می‌شوند. همچنین تانن‌ها با ایجاد یک لخته مصنوعی در خون مانع از خونریزی‌های سطحی می‌شوند، و بدین ترتیب سبب بند آوردن خونریزی می‌شوند. [۱۵]

در این پروژه با استخراج و شناسایی دو فلاونوئید از گروه تانن های متراکم، با استفاده از فنون طیف نگاری FTIR و $^1\text{H NMR}$ و $^{13}\text{C NMR}$ به هدف خود از این تحقیق یعنی ترکیبات موثر بر انعقاد خون در گیاه انجبار دست یافتیم.

فصل اول :

کلیات

۱-۱- تاریخچه

در ابتدا بر مقالاتی که در شناسایی ترکیبات شیمیایی گونه ی *Polygonum bistorta* تحقیق شده مروری می کنیم و در ادامه برخی مقالات که مربوط به استخراج و شناسایی و تعیین ساختار انواع تانن^۱، فلاونوئید^۲ یا پروسیانیدین^۳ می باشند، را مورد مطالعه قرار خواهیم داد.

مانوهاران ، بنی و یانگ در سال ۲۰۰۵ سیکلوآرتان های نوع تریترپنوئیدها^۴ را در ریشه های انجبار شناسایی کردند.[۱۶]

سان و همکارانش در سال ۲۰۰۷ از *Polygonum bistorta* هفت ترکیب شامل پنج تریترپنوئید، یک کومارین و یک استروئید را جداسازی و شناسایی کردند.[۱۴]

لوپز، سیرا و همکاران در سال ۲۰۰۶ از *polygonum ferringneum* یک هومو ایزو فلاون و ساختاری شبیه هیدروچالکون و پنج ترکیب شناخته شده دیگر را با استفاده از ¹³CNMR و ¹HNMR شناسایی کردند.[۱۷]

-
- 1.tannin
 2. flavanoid
 3. procyanidin
 - 4.triterpenoids

۱-۲- گیاهان دارویی

گیاهان دارویی به طور کلی در برگیرنده انواع گیاهان شامل دارویی، ادویه ای، معطر و ... می باشند. و گیاهان دارویی که به صورت خشک و خام مصرف می گردند، به کالای عطاری معروف هستند. احساس نیاز به درمان از اساسی ترین و ابتدایی ترین تمایلات بشر بوده و الهه درمان (اسکوالیا) از مهم ترین الهه های مقدس انسان اولیه بوده است (رب النوع یا الهه طب که نماد آن یک مار می باشد در تابلوی برخی داروخانه ها نیز دیده می شود).

معلوم نیست گیاهان از چه زمانی به عنوان دارو مورد استفاده قرار گرفته اند. مسلماً اطلاعات مربوط به اثرات و خواص دارویی گیاهان از زمان های دور به تدریج بدست آمده و سینه و سینه منتقل گشته، با آداب و سنت های قومی نیز در آمیخته و سرانجام با زحمت زیاد و از طریق تجربه های مدید، اثرات و خواص آن ها در اختیار نسل های معاصر قرار گرفته است. طبق برخی شواهد و سنگ نوشته ها به نظر می رسد که مصریان و چینیان باستان در زمره ی اولین جمعیت های بشری بوده اند که بیش از سه هزار سال قبل از میلاد مسیح از گیاهان به عنوان دارو استفاده کرده اند. و حتی برخی از گیاهان را برای مصرف بیشتر در درمان دردها کشت داده اند.[۲]

مردم یونان باستان خواص دارویی برخی گیاهان را به خوبی می دانسته اند. بقراط حکیم بنیان گذار طب یونان قدیم و شاگرد وی ارسطو و دیگران برای استفاده از گیاهان در درمان بیماری ها ارزش زیادی قائل بوده اند. بعد از اینان یکی از شاگردان ارسطو بنام " تئوфраستوس " مکتب درمان با گیاه را بنیان گذاری کرد.

در قرون هشتم تا دهم میلادی (حدود هزار سال پیش) دانشمندان ایرانی مانند ابوعلی سینا و محمدزکریای رازی و ... به دانش درمان با گیاه رونق زیادی دادند و کتاب های معروفی چون قانون و الحادی را به رشته تحریر درآوردند.

در قرن سیزدهم میلادی " ابن بیطار " مطالعات فراوانی در مورد خواص گیاهان انجام داد و خصوصیات بیش از ۱۴۰۰۰ گیاه را در کتابش یادآور شد.

پیشرفت اروپاییان در استفاده از گیاهان دارویی در قرن هفده و هجده میلادی ابعاد وسیعی یافت و از قرن نوزدهم کوشش جهت استخراج مواد مؤثر از گیاهان دارویی و تعیین معیار معین برای تجویز و مصرف شروع شد. در یک تعریف می توان گفت که گیاهان دارویی گستره ی وسیعی از گیاهان هستند که در درمان بیماری و یا در پیشگیری از بروز بیماری مورد استفاده قرار می گیرند. در شعری منسوب به نظامی یک تعریف عام برای گیاهان دارویی ارائه شده است. [۲]

نروبیده بر زمین هرگز گیاهی که نوشته است بر برگش دوايي

مهم ترین ویژگی های گیاهان دارویی را به شرح زیر می توان خلاصه کرد.

۱. در پیکر این گیاهان مواد خاصی ساخته و ذخیره می شود که این مواد خواص متعددی دارند. ماده مؤثر فعال به میزان بسیار کم (معمولاً کمتر از ۱٪ وزن خشک گیاه) ساخته می شود.

۲. ممکن است اندام خاصی چون ریشه، ساقه، برگ و گل و ... حاوی مواد مؤثره مورد نظر باشند.

۳. معمولاً از اندام های مورد نظر بصورت تازه استفاده نمی شود. باید تحت تأثیر عملیات خاصی مانند تمیز کردن، هوا خوردن، خشک کردن، استخراج و تصفیه قرار گرفته و سپس مورد استفاده واقع شوند.

۴. گیاهان دارویی حاوی مواد مؤثر در مقایسه با عموم گیاهان مورد استفاده در کشاورزی مانند غلات و سبزی ها که به طور عام و روزمره مورد استفاده انسان هستند، در موارد خاص قابل استفاده اند. [۳]
بطور کلی از گیاهان دارویی حاوی مواد مؤثر استفاده های مختلفی به عمل می آید. که آن ها را به صورت زیر می توان طبقه بندی کرد.

الف) گیاهان دارویی که مواد مؤثر موجود در آن ها به طور مستقیم یا غیر مستقیم اثر درمانی دارند و به عنوان دارو استفاده می شوند.

ب) گیاهان ادویه ای که از ماده مؤثر فعال آن ها در صنایع غذایی، کنسرو سازی و ... به منظور بهبود رنگ، طعم و مزه آن ها استفاده می شود مانند نعناع، آویشن، دارچین، زعفران.

ج) گیاهان عطری که اندام های خاصی از این گیاهان حاوی ترکیباتی هستند که اسانس نامیده می شوند و دارای عطر و بوی خاصی می باشند و اسانس از راه تقطیر و یا روش های دیگر استخراج می شود.

د) گیاهان رنگی که دارای مواد مؤثر رنگی طبیعی می باشند در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و ... مورد استفاده قرار می گیرند مانند: حنا، روناس، و زعفران. [۲]

۱-۲-۱- دلایل رویکرد جهانی به گیاهان دارویی

استفاده روز افزون مردم از گیاهان دارویی و تمایل شرکت های تولید کننده مواد دارویی به داروها و ترکیبات با منشأ گیاهی را می توان به دلایل زیر دانست:

۱. تهیه برخی از مواد مؤثر به طور مصنوعی امکان پذیر نیست و تنها به صورت طبیعی از گیاهان قابل استخراج هستند.

۲. مواد دارویی مصنوعی (شیمیایی) هر چند به طور سریع اثر می بخشند و دارای یک تأثیر مشخص می باشند ولی در اکثر موارد عوارض جانبی نامطلوب روی بدن انسان بجا می گذارند در حالی که مواد گیاهی تأثیر مفید و اثرات جانبی خوبی روی سلامت بدن دارند.

۳. برخی از عطر و اسانس در صنایع آرایشی - بهداشتی - مواد شیمیایی خانگی (شامپو، صابون و ...) مورد استفاده واقع می شوند، که بدون وجود مواد مذکور، ساخت آن ها امکان پذیر نمی باشد.

۴. در صنایع کنسرو سازی و شیرینی سازی و ... در سطح دقیق و حساب شده برای بهتر شدن طعم و رنگ و بوی محصول از مواد مؤثره استفاده می شود. مواد مؤثر گیاهان ادویه ای علاوه بر اینکه طعم و مزه مواد غذایی را بهتر می کنند، اشتها آور نیز هستند و سبب هضم مواد غذایی و سلامت کار دستگاه گوارش می گردند. [۲]

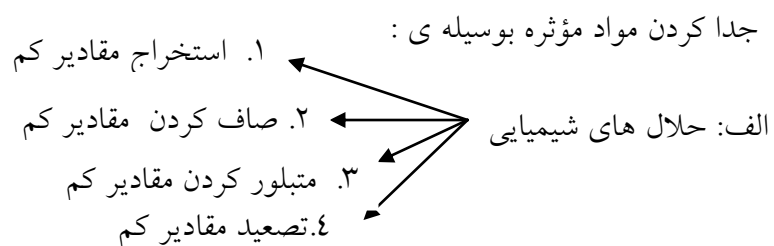
۱-۲-۲- کاربردهای مختلف گیاهان دارویی:

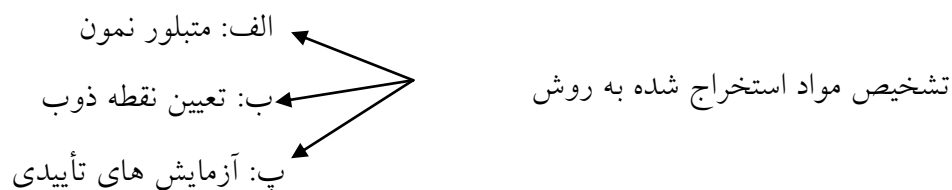
۱. استفاده از گیاهان دارویی در خودکفایی، ارزآوری و تحول اقتصادی کشور.
۲. استفاده از گیاهان دارویی در ایجاد اشتغال.
۳. استفاده در داروسازی و صنایع جنبی داروسازی.
۴. استفاده از گیاهان دارویی در پرورش زنبور عسل.
۵. استفاده در گل آرایشی، تهیه گل خشک و تزئین.
۶. استفاده از گیاهان دارویی در تأمین اهداف فرهنگی مانند بکارگیری گلاب در تطهیر خانه خدا و اماکن مقدس. [۲]

۱-۳- روش میکروشیمی

روش های میکرو شیمی عبارتند از مطالعه و بررسی ترکیبات موجود در بافت های گیاهان دارویی با استفاده از روش های شیمیایی و فیزیکی بر روی مقادیر بسیار جزئی از پودرها یا بافت های گیاهان دارویی. [۴]

بدین وسیله ممکن است ترکیبات موجود در بسیاری از گیاهان دارویی را جدا و خالص نمود. اصولی که جهت جدا کردن ترکیبات دارویی موجود در مواد دارویی گیاهی به کار می روند در زیر ذکر می گردند:





۱. استخراج مقادیر کم: بدین طریق می توان مواد مؤثر در بافت های گیاهی را از حداقل مقدار جسم مورد آزمایش استخراج نمود. استخراج ترکیبات موجود در مواد دارویی بستگی به حلالیت آن ها در حلال مورد نظر دارد. طی عملیات استخراج باید به نکاتی چند توجه داشت. از جمله وضعیت فیزیکی جسم مورد استخراج (تماماً خرد یا پودر شده باشد) نوع حلال به کار برده شده، درجه حرارت در حین استخراج و ... برای این که مقدار جزئی از ماده استخراج شده را به صورت محلول شفافی در آوریم، احتیاج به روش صاف کردن به مقدار کم می باشد. برای این که جسم استخراج شده از پودر گیاهی کاملاً خالص گردد باید آن را چندین بار متبلور نمود. [۴]

- تصفیه به مقادیر کم: طریقه ای است که بدین وسیله می توان مواد مؤثر یک دارو را به کمک حرارت به صورت بخار درآورد و پس از سرد کردن مجدد به حالت جامد تبدیل نمود. این طریقه در صورتی قابل اجرا است که دارو و ترکیبات موجود در آن در اثر حرارت فاسد نشوند. هنگامی که ترکیبات تصفیه شده بر روی سطح سرد جمع شدند، بلورهای حاصل اشکال مشخص و مخصوص به خود می گیرند که نشانه ی خلوص آن هاست. جسم متبلور را می توان به روش های مختلف فیزیکی یا شیمیایی تشخیص داد. [۴]