

بررسی فیتوشیمیایی عصاره کلروفرمی گیاه *Salvia persepolitana* Boiss.

زهره حبیبی^۱، رامین قهرمانزاده^{۲*} و مریم یوسفی^۳

۱- دانشیار، دانشکده علوم، گروه شیمی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه نانوبیوسنتز، پژوهشگاه فناوریهای نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی ابن سینا، تهران
پست الکترونیک: r.ghahremanzadeh@avicenna.ac.ir

۳- استادیار، گروه نانوبیوسنتز، پژوهشگاه فناوریهای نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی ابن سینا، تهران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۱

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۱

چکیده

در این تحقیق، قسمت‌های هوایی گیاه *Salvia persepolitana* Boiss. که بومی ایران و از خانواده نعناع می‌باشد، در فصل گلدهی از ایلام جمع‌آوری شد و عصاره کلروفرمی آن مورد بررسی قرار گرفت. برای جداسازی اجزای عصاره از کروماتوگرافی ستونی (فاز ساکن سیلیکاژل) استفاده شد. شستشوی ستون با حلال غیر قطبی n -هگزان آغاز شد و سپس قطبیت حلال شوینده با افزودن تدریجی اتیل استات افزایش یافت. در پایان، ستون با متانول شسته شد تا تمامی اجزای باقیمانده از ستون خارج شود. جهت خالص‌سازی بیشتر از کروماتوگرافی ستونی (با ستونهای کوچکتر) و کروماتوگرافی لایه نازک (با استفاده از صفحات شیشه‌ای) استفاده گردید. نمونه‌های خالص شده با تکنیک‌های مختلف NMR و طیف جرمی شناسایی گردیدند. دو دی‌ترینوید شناخته شده به نام‌های اسکالارنول و مانول و یک فلاونوئید شناخته شده به نام لادانتین از عصاره کلروفرمی جداسازی شد. ترکیب‌های مذکور پس از خالص‌سازی با استفاده از طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته مورد شناسایی قرار گرفتند. مقدار دی‌ترینوید استخراج شده اسکالارنول نزدیک به ۳٪ (۱۸ گرم) از کل وزن گیاه بود، به همین دلیل این گیاه می‌تواند منبع طبیعی مناسبی برای ترکیب اسکالارنول باشد.

واژه‌های کلیدی: *Salvia persepolitana* Boiss.، اسکالارنول، مانول، لادانتین.

مقدمه

جنس مریم‌گلی (*Salvia*) متعلق به خانواده نعناع (Lamiaceae) است. این جنس در ایران ۵۸ گونه علفی یکساله و چندساله دارد که در سراسر ایران پراکنده‌اند. دیگر گونه‌های آن علاوه بر ایران در آناتولی، عراق، فلسطین، سوریه، ارمنستان، روسیه، ماورای قفقاز، افغانستان، پاکستان، عمان، جزایر قناری، دماغه سبز، شمال غرب آفریقا، عربستان، لبنان و مصر می‌رویند (Mozaffarian, 1996). گیاه مریم‌گلی پرسپولسی (*S. persepolitana*) که عصاره آن در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است انحصاری ایران می‌باشد.

مریم‌گلی از دسته گیاهانیست که در زمینه اسانس و عصاره آن تحقیقات فراوانی صورت گرفته‌است. به علت تنوع ترکیب‌های موجود در آن نمی‌توان تقسیم‌بندی قطعی برای آن ارائه نمود اما به‌طور کلی می‌توان گفت، ترپن‌ها از عمده ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و عصاره مریم‌گلی هستند. اسانس *S. palestina* نیز به‌وسیله Salehi و همکاران (۲۰۰۵a) مورد بررسی قرار گرفته و از ۹۱/۷٪ ترکیب‌های شناسایی شده جرماکرن-D (۱۴٪)، آلفا-بیزابولن (۱۱/۹٪) و ۱-پی-کوبنول (۹/۸٪) عمده‌ترین ترکیب‌های شناسایی شده بودند. در اسانس *S. xanthocheilla* نیز ۲۷ ترکیب شناسایی شد که جرماکرن-D با ۴۴٪ بیشترین درصد را در

کمپسترول از این گیاه شناسایی کردند. در تحقیقی که بر روی *S. barrelieri* انجام شد، دو دی‌ترپنوئید جدید به همراه دی‌ترپنوئیدهای شناخته شده هورمینون، استیل هورمینون و روپلثانون شناسایی شدند (Kabouche et al., 2008). شانزده دی‌ترپنوئید جدید از گیاه *S. przewalskii* توسط محققان چینی شناسایی گردید که در میان آنها می‌توان به فروژینول، کارنوسول، پیسیفرین، پیسیفرانول و سالویکانول اشاره کرد (Xu et al., 2005). از عصاره *S. fulgens* چهار دی‌ترپنوئید جدید به نام‌های سالویفولژنولید، ترانس-۲،۱-دی‌هیدرو سالویفاریسین، انت-۱۹-اورتو-استوکسی-۱۵،۱۶-اپوکسی-۳-۱۳،۱۴(۱۶)-کلارودا تری ان-۱۸،۶-دیول و انت-۱۹-استوکسی-۱۵،۱۶-اپوکسی-۶-هیدروکسی-۳-۱۳،۱۴(۱۶)-کلارودا تری ان-۱۸-آل شناسایی شد (Narukawa et al., 2006). در تحقیقی که بر روی *S. ceratophylla* انجام شده، چهار دی‌ترپنوئید شامل سالویپیزون، آتیوپینون، کاندیدیسیول و فروژینول، یک فلاونوئید شامل سالویژنین و یک استروئید شامل بتا-سیتوسترول جداسازی و شناسایی گردید (Gören et al., 2002). Topçu و Ulubelen (۱۹۹۹) از گیاه *S. kronenburgii* یک دی‌ترپنوئید جدید به نام کروئن کینون به همراه شش تری‌ترپنوئید جدید شامل $11\alpha, 3\beta, 2\alpha, 1\beta$ -تراهیدروکسی- اولئان-۱۲-ان، $11\alpha, 3\beta, 2\alpha, 1\beta$ -تراهیدروکسی- اورس-۱۲-ان، 2α -استوکسی- اورس-۱۲، ۵-دی ان- $11\alpha, 3\beta$ -دیول، 3α -استوکسی- اورس-۱۲، ۵-دی ان- $11\alpha, 3\beta$ -دیول، $11\alpha, 3\alpha, 1\beta$ -تری‌هیدروکسی- اورس-۱۲-ان و $11\alpha, 3\beta, 2\alpha$ -تری‌هیدروکسی- اورس-۱۲-ان را جداسازی و شناسایی کردند. Rustaiyan و Sadjadi (۱۹۸۷) از گیاه *S. syriaca* یک سزترترین جدید به نام سالویسیریاکولید جداسازی کردند. در تحقیق دیگری که بر روی *S. blepharochlaena* انجام شد، چهار تری‌ترپنوئید شامل ۴-متیلن-سیکلو آرتانول، اریترودیول-۴-استات، α -آمیرین و اولئانولیک اسید-۳-استات و چهار استروئید شامل 3β -هیدروکسی استیگماست-۵-ان-۷-اون، استیگماست-۴-ان-۳-اون، بتا-سیتوسترول و استیگماسترول از این گیاه بدست آمد (Kolak et al., 2005). از گیاه *S. blepharophylla* فلاونوئیدهایی از قبیل $3', 4', 5'$ ، ۶-تراهیدروکسی-۷-متوکسی فلاون، $3', 5', 6'$ -تری‌هیدروکسی-۷، ۴'-دی متوکسی فلاون، آپی‌ژنین-۸-

میان ترکیب‌ها به خود اختصاص داد (Salehi et al., 2005b). در اسانس بدست آمده از قسمت‌های هوایی گیاه *S. persepolitana* که بومی ایران می‌باشد و در این تحقیق نیز عصاره آن مورد بررسی قرار گرفته‌است، ترکیب مانول (۳۷٪) اصلی‌ترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس بوده‌است (Habibi et al., 2008).

در تحقیقی که توسط Habibi و همکاران (۲۰۰۰) بر روی *S. leriaefolia* انجام شد، یک دی‌ترپن جدید به نام $8(17)$ ، $12, 14E$ -لابدا تری ان-۱۹،۶-اولید از این گیاه بدست آمد. همچنین از عصاره کلروفرمی قسمت‌های هوایی گیاه *S. xanthocheila* یک تری‌ترپن جدید به نام 1β ، 3β -دی‌هیدروکسی اولئان-۱۱، ۱۲-دی‌انیل به همراه دو دی‌ترپن، دو فلاونوئید و یک فیتواسترول شناخته شده به نام‌های 7α -استوکسی روپلثانون، تاکسودی اون، سالویژنین، آپی‌ژنین-۷، ۴'-دی‌متیل اتر و بتا-سیتوسترول استخراج و شناسایی شدند (Gandomkar et al., 2012). مجدداً در تحقیقی توسط گروه Habibi و همکاران (۲۰۱۲) یک تری‌ترپن هیدروکسیل‌دار جدید به نام اولئان-۱۸-ان- 1β ، 2α ، 3β -تری‌ال و چهار ترکیب شناخته شده که شامل دو فلاونوئید، یک دی‌ترپنوئید آبتانی و یک فیتواسترول بودند از عصاره کلروفرمی قسمت‌های هوایی گیاه *S. atropatana* جداسازی و شناسایی گردیدند. همچنین یک دی‌ترپن آبتانی جدید به نام زانتوکینون (5α ، 6α -دی‌متوکسی-۷، ۱۱، ۱۴-تری‌اکسوآبتا-۸، ۱۲-دی ان) و یک تری‌ترپنوئید اولئانانی شناخته شده در ادامه بررسی‌ها بر روی *S. xanthocheila* بدست آمد (Habibi et al., 2013).

در تحقیقی که توسط محققان آرژانتینی بر روی *S. gilliessi* انجام شد، دو آبتان دی‌ترپنوئید جدید به نام‌های 11β -هیدروکسی-۱۱، ۱۴-دی‌کتو- $12, 8, 6$ -آبتا تری ان- $20, 19$ -اولید و $19, 12, 6\alpha$ -تری‌هیدروکسی- $14, 11$ -دی‌کتو- $12, 8$ -آبتا دی ان- $7, 20\beta$ -اولید شناسایی شد (Kuzma, Nieto et al., 2000). همکاران (۲۰۰۶) در تحقیقی که بر روی *S. sclarea* انجام دادند، چهار دی‌ترپنوئید جدید به نام‌های فروژینول، سالویپیزون، آتیوپینون و ۱-اکسو-آتیوپینون، دو تری‌ترپنوئید به نام‌های $3\alpha, 2\alpha$ -دی‌هیدروکسی-اورس-۱۲-ان-۲۸-اویک اسید و $3\alpha, 2\alpha, 24$ -تری‌هیدروکسی-اورس-۱۲-ان-۲۸-اویک اسید و سه استرول به نام‌های بتا-سیتوسترول، استیگماسترول و

خیسانده شد. پس از اتمام مراحل عصاره‌گیری و جهت چربی‌گیری، عصاره بدست آمده در حداقل متانول حل شده و در فریزر به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. پس از صاف کردن و تبخیر حلال به وسیله تبخیرکننده چرخان، عصاره باقی‌مانده به شکل یک عصاره غلیظ سبز (۴۰ گرم) بدست آمد و برای جداسازی اجزای آن از کروماتوگرافی ستونی استفاده شد. ستون توسط سیلیکاژل مرک ۶۰ (۰/۰۹mm) استفاده شد. پر شد و شستشوی ستون توسط حلال کاملاً غیرقطبی *n*-هگزان آغاز گردید، سپس قطبیت حلال شوینده با اتیل استات افزایش یافت. حجم حلال‌هایی که در هر نوبت اضافه می‌گردید ۱۰۰ml و حجم اجزای جمع‌آوری شده در هر ارلن ۵۰ml بود. در پایان، ستون با متانول شسته شد تا تمامی اجزای باقی‌مانده از ستون خارج شود و نهایتاً در ۴۵ ارلن با حجم ۵۰ میلی‌لیتر جمع‌آوری شدند. از اجزای بدست آمده، کروماتوگرافی لایه نازک با استفاده از ورقه‌های آلومینیومی پوشیده از سیلیکا تهیه شد. اجزای مشابه به هم اضافه شدند و جهت خالص‌سازی بیشتر از کروماتوگرافی ستونی (با ستون‌های کوچکتر) و کروماتوگرافی لایه نازک (با استفاده از صفحات شیشه‌ای) استفاده گردید. شناسایی نمونه‌های خالص شده به وسیله $^1\text{H NMR}$ (دستگاه Bruker Avance 300MHz) و مقایسه داده‌ها با مقادیر گزارش شده در منابع علمی انجام شد.

نتایج

پس از انجام کروماتوگرافی ستونی، سی جزء بدست آمد. در میان نمونه‌ها اجزای ۱۶، ۲۲ و ۲۸ از لحاظ بررسی‌های انجام شده به وسیله $^1\text{H NMR}$ و TLC مناسب تشخیص داده شده، به هم افزوده شده در نتیجه خالص‌سازی روی این نمونه‌ها انجام گردید. در کروماتوگرافی مجدد هر سه نمونه‌ی مخلوط، از هر کدام از اجزای مذکور ۱۵ جزء جدا گردید. نمونه‌های مشابه روی هم افزوده شدند.

طیف‌های NMR مختلف نشان داد که نمونه ۲۸/۳ (*n*-هگزان: اتیل استات ۳:۲) و نمونه ۲۲/۲ (*n*-هگزان: اتیل استات ۱:۱) حاوی دو دی‌ترینوئید شناخته شده به نام‌های مانول (شکل ۱-۱) و اسکلاژول (شکل ۱-۲) می‌باشند. همچنین مشخص شد که نمونه ۱۶/۲ (*n*-هگزان: اتیل استات ۲:۳) یک فلاونوئید شناخته شده به نام لادائین (شکل ۱-۳) می‌باشد.

C-گلیکوزید، کوئرستین-۳-اورتو-D- β -گلیکوزید و کوئرستین-۳-اورتو-D- β -گلیکوپیرانوزید شناسایی شدند (Bisio et al., 1997).

چهار فلاونوئید و یک ترکیب استروئیدی از عصاره اتیل‌استاتی و متانولی قسمت‌های هوایی گیاه *S. macrospilon* به نام‌های آپی‌ژنین ۷، ۴-دی‌متیل‌اتر، ۷-سیستوسترول، سالویژنین، آپی‌ژنین-O-۷-گلوکوزید و لوتولین-O-۷-گلوکوزید استخراج گردید و با روش‌های طیف‌سنجی شناسایی گردید (Gohari et al., 2011). اثرات ضدالتهابی سمیت سلولی دی‌ترینوئیدهای استخراج شده نیز توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته است. در بررسی توسط Huang و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده گردیده است که اسکلاژول که به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی و آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد دارای خواص ضدالتهابی بوده و این اثر به کاهش سایتوکاین‌های التهاب‌آور و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نسبت داده می‌شود. مسیر بیوستنزی اسکلاژول از ترانس-ژرانیل ژرانیل پیروفسفات نیز به‌طور مشروحی مورد بررسی قرار گرفته است (Guo & Wagner 1995). طبق بررسی‌های انجام شده هیچگونه گزارشی از تحقیق بر روی عصاره این گونه سالویا در منابع علمی وجود ندارد. تنها اسانس این گیاه توسط گروه Habibi و همکاران (۲۰۰۸) مورد بررسی قرار گرفته است که از میان ۲۳ ترکیب که ۹۰٪ اجزای شناسایی شده را تشکیل می‌دادند مانول با ۳۷٪ عمده‌ترین ترکیب موجود در اسانس بود. به همین دلیل در این تحقیق ترکیب‌های تشکیل‌دهنده عصاره کلروفرمی قسمت‌های هوایی گیاه *S. persepoltana* مورد بررسی قرار گرفته است.

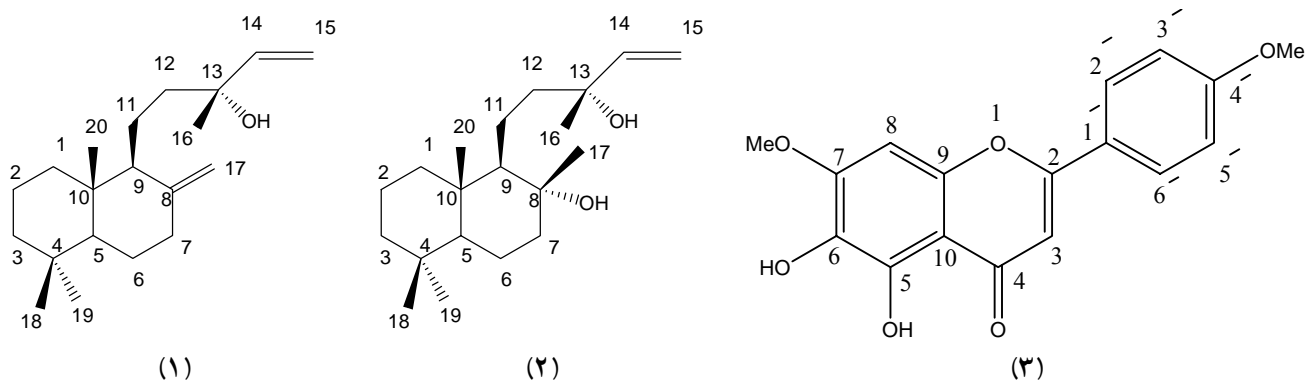
مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه

اندام‌های هوایی گیاه در خرداد ماه سال ۱۳۹۰ از جاده ایلام به دره شهر نزدیک بدره جمع‌آوری گردیده و در دمای محیط خشک شد.

عصاره‌گیری

جهت عصاره‌گیری ۶۰۰-۷۰۰ گرم از قسمت‌های مختلف گیاه خرد و به مدت ۲۴ ساعت در حلال کلروفرم

شکل ۱- ساختار شیمیایی ترکیبات جداسازی شده از عصاره گیاه *S. persepolitana*جدول ۲- جابجایی‌های شیمیایی طیف ^{13}C NMR ترکیب ۱

اتم کربن	δ (ppm)
۱	۳۹/۰۳
۲	۱۴/۴۸
۳	۴۲/۲۳
۴	۳۳/۶۸
۵	۵۷/۲۶
۶	۲۱/۷۷
۷	۲۷/۹۱
۸	۱۴۸/۲۸
۹	۵۵/۲۸
۱۰	۳۹/۷۶
۱۱	۱۷/۶۸
۱۲	۴۱/۴۳
۱۳	۷۳/۴
۱۴	۱۴۵/۱۶
۱۵	۱۱۱/۵۸
۱۶	۳۳/۴۹
۱۷	۱۰۶/۵۷
۱۸	۳۸/۳۹
۱۹	۲۴/۴۵
۲۰	۱۹/۳۹

مانول ترکیبی با فرمول مولکولی $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$ ، جرم مولکولی ۲۹۰/۴۸۸ و دمای ذوب 53°C می‌باشد. اسکالارنول دارای فرمول مولکولی $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$ ، جرم مولکولی ۳۰۸/۵۰ و دمای ذوب 105°C می‌باشد. لادانتین و یا ۶۵-دی هیدروکسی ۷ و ۴-دی متوکسی فلاون، دارای فرمول مولکولی $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$ ، جرم مولکولی ۳۱۴/۲۹ و نقطه ذوب 215°C می‌باشد. جابجایی‌های شیمیایی طیف ^1H NMR و ^{13}C NMR هر سه ترکیب در جداول ۱ تا ۶ آورده شده‌است.

جدول ۱- جابجایی‌های شیمیایی طیف ^1H NMR ترکیب ۱

اتم هیدروژن	δ (ppm)
۵	۱/۰۹
6_{eq} و 6_{ax}	۱/۷۵ و ۱/۴۱
7_{eq} و 7_{ax}	۲/۳۷ و ۲/۳۹
۹	۱/۱۹
۱۱a و ۱۱b	۱/۳۸ و ۱/۰۵
۱۴	۵/۹۲
15_{trans}	۵/۲۳
15_{cis}	۵/۰۷
۱۷ و ۱۷'	۴/۴۹ و ۴/۸۲
Me-۱۶	۱/۲۹
Me-۱۹ و Me-۱۸	۰/۸۸ و ۰/۸۱
Me-۲۰	۰/۶۸
-OH	۲/۵
۱، ۲، ۳، ۱۲	۱/۳-۱/۹۸

جدول ۵- جایجایی های شیمیایی طیف $^1\text{H NMR}$ ترکیب ۳

اتم هیدروژن	δ (ppm)
-OH (C-۵)	۱۲/۹۱
-OH (C-۵)	۱۰/۳۸
۶' و ۲'	۷/۹
۳' و ۵'	۶/۹
۸	۶/۹
۳	۶/۸۴
OMe-۶	۳/۷۲ و ۳/۹۱

جدول ۳- جایجایی های شیمیایی طیف $^1\text{H NMR}$ ترکیب ۲

اتم هیدروژن	δ (ppm)
۱۴	۵/۸۹
۱۵ _{trans}	۵/۲۰
۱۵ _{cis}	۴/۹۹
-OH(۱۳ و ۸)	۲/۶۱
V_{eq} و V_{ax}	۱/۶۰ و ۱/۶۳
Me-۱۶	۱/۲۵
Me-۱۷	۱/۱۴
Me-۲۰	۰/۸۴
Me-۱۹ و ۶	۰/۷۶

جدول ۴- جایجایی های شیمیایی طیف $^{13}\text{C NMR}$ ترکیب ۲

اتم کربن	δ (ppm)
۱	۳۹/۶
۲	۱۸/۹
۳	۴۳/۷
۴	۳۳/۴۴
۵	۵۹/۹
۶	۱۵/۲
۷	۴۰/۷
۸	۷۳/۹
۹	۶۱/۹
۱۰	۳۹/۰۰
۱۱	۲۱/۶
۱۲	۴۲/۶
۱۳	۷۳/۴
۱۴	۱۴۴/۳
۱۵	۱۱۵/۷
۱۶	۲۵/۸
۱۷	۲۸/۶
۱۸ و ۱۹	۲۵/۷
۲۰	۱۳/۲

بحث

مانول از جمله دی‌ترین‌هایی می‌باشد که در بسیاری از گونه‌های سالویا یافت شده و گزارش‌های متعددی مبنی بر اثرات آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی آن وجود دارد. (Moreira *et al.*, 2013).

اسکلارئول یک ترکیب شیمیایی معطر است که در جنس سالویا و به ویژه *S. sclarea* یافت می‌شود و نام آن نیز مشتق از گیاه مذکور است. اسکلارئول در دسته دی‌ترین‌های دو حلقوی جای می‌گیرد. شکل ظاهری آن جامدی کهربایی رنگ با بوی شیرین است. اسکلارئول به عنوان ترکیبی معطر در صنایع آرایشی و عطرسازی و یک طعم دهنده در صنایع غذایی استفاده می‌گردد. اسکلارئول همچنین قادر به از بین بردن سلول‌های سرطان خون و روده از طریق آپوپتوز می‌باشد (Dimas *et al.*, 1999; Dimas *et al.*, 2007).

گزارش‌های مختلفی مبنی بر اثرات بیولوژیکی لادائین وجود دارد که می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی و همچنین سمیت در برابر سلول‌های سرطانی خون اشاره نمود (Alkhatib *et al.*, 2010).

در این میان، مقدار دی‌ترینوئید اسکلارئول نزدیک به ۳٪ (۱۸ گرم) از کل وزن گیاه را تشکیل می‌دهد که مقدار قابل توجهی می‌باشد و از همین رو این گیاه می‌تواند منبع طبیعی ترکیب اسکلارئول باشد.

تفسیر داده‌های طیفی ترکیب مانول

در طیف $^1\text{H NMR}$ این ترکیب (حلال کلروفرم دوتره) سه دسته پیام در میدان پایین به صورت دو بار دوتایی دیده می‌شوند که مربوط به هیدروژن‌های وینیلی ۱۴، $^1\text{H}_{\text{trans}}$ و $^1\text{H}_{\text{cis}}$ می‌باشند. پیام دو بار دوتایی موجود در $^1\text{H}_{\text{cis}}$ ۵/۹۲ppm مربوط به ۱۴ می‌باشد که با $^1\text{H}_{\text{trans}}$ و $^1\text{H}_{\text{cis}}$ به صورت سیس و ترانس به ترتیب با ثابت جفت‌شدگی ۱۷/۵ و ۱۱ هرترز جفت می‌شود. پیام دو بار دوتایی موجود در $^1\text{H}_{\text{trans}}$ ۵/۲۳ppm نیز مربوط به $^1\text{H}_{\text{trans}}$ می‌باشد که با ۱۴ به صورت ترانس ($J = 17/5\text{Hz}$) و با $^1\text{H}_{\text{cis}}$ ($J = 2\text{Hz}$) به صورت ژمینال جفت می‌شود. پیام دو بار دوتایی موجود در $^1\text{H}_{\text{cis}}$ ۵/۰۷ppm مربوط به $^1\text{H}_{\text{cis}}$ می‌باشد که با ۱۴ به صورت ($J = 11\text{Hz}$) و با $^1\text{H}_{\text{trans}}$ به صورت ژمینال ($J = 2\text{Hz}$) جفت می‌شود. یک پیام دوتایی

در $^1\text{H NMR}$ ۴/۸۲ppm و یک پیام دوتایی در $^1\text{H NMR}$ ۴/۴۹ppm وجود دارند که مربوط به $^1\text{H}_{\text{trans}}$ و $^1\text{H}_{\text{cis}}$ می‌باشد که با هم ژمینال جفت می‌شوند. پیام سه هیدروژن گروه متیل-۱۶ در $^1\text{H NMR}$ ۱/۲۹ppm ظاهر می‌شود که به دلیل وجود گروه هیدروکسی در نزدیکی آن به میدان پایین‌تر جابجا می‌شود. با توجه به اینکه $^1\text{H}_{\text{trans}}$ در موقعیت آلیلی می‌باشد پیش‌بینی می‌شود پیام موجود در $^1\text{H NMR}$ ۲/۳۹ppm مربوط به این هیدروژن باشد.

برای تأیید این امر از $^1\text{H}_{\text{trans}}$ COSY که بعداً در مورد آن بحث خواهد شد، استفاده گردید. سه پیام موجود در نواحی $^1\text{H NMR}$ ۰/۶۸، ۰/۸۱ و ۰/۸۸ مربوط به سه گروه متیل می‌باشد. بقیه پیام‌ها براساس NMR دو بعدی و مقایسه با طیف $^1\text{H NMR}$ گزارش شده ترکیب مشابه به صورت داده‌های جدول ۱ می‌باشد (Ulubelen *et al.*, 1994).

در طیف $^{13}\text{C NMR}$ بیست پیام متفاوت دیده می‌شود که نشان‌دهنده بیست نوع کربن متفاوت می‌باشد. چهار پیام در میدان پایین‌تر مشاهده می‌شود که مربوط به کربن‌های اولفینی می‌باشد. یک پیام در $^{13}\text{C NMR}$ ۷۳/۴ppm دیده می‌شود که مربوط به $^{13}\text{C}_{\text{trans}}$ می‌باشد که به دلیل وجود گروه هیدروکسی روی این کربن به میدان ضعیف‌تر جابجا شده‌است. بقیه پیام‌ها براساس NMR دو بعدی و مقایسه با طیف $^{13}\text{C NMR}$ گزارش شده ترکیب مشابه به صورت داده‌های جدول ۲ می‌باشد (Ulubelen *et al.*, 1994).

در طیف $^1\text{H}_{\text{trans}}$ COSY ارتباط بین $^1\text{H}_{\text{trans}}$ با $^1\text{H}_{\text{trans}}$ و $^1\text{H}_{\text{cis}}$ دیده می‌شود. همچنین ارتباط بین $^1\text{H}_{\text{trans}}$ و $^1\text{H}_{\text{cis}}$ دیده می‌شود، پس این دو هیدروژن نیز با هم جفت می‌شوند. در این طیف ارتباط بین $^1\text{H}_{\text{eq}}$ و $^1\text{H}_{\text{ax}}$ و همچنین ارتباط بین $^1\text{H}_{\text{eq}}$ و یک هیدروژن دیگر هست که می‌تواند $^1\text{H}_{\text{eq}}$ باشد، از طرفی ارتباط بین $^1\text{H}_{\text{ax}}$ و یک هیدروژن دیگر هست که می‌تواند $^1\text{H}_{\text{ax}}$ باشد. همچنین در این طیف یک پیام دوبار دوتایی در $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۰۹ppm وجود دارد که با $^1\text{H}_{\text{eq}}$ و $^1\text{H}_{\text{ax}}$ در ارتباط است که می‌تواند $^1\text{H}_{\text{ax}}$ باشد. پس پیام‌های مربوط به $^1\text{H}_{\text{eq}}$ در $^1\text{H}_{\text{eq}}$ ۲/۳۹ppm، $^1\text{H}_{\text{ax}}$ در $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۹۹ppm، $^1\text{H}_{\text{eq}}$ در $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۳۵ppm، $^1\text{H}_{\text{ax}}$ در $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۷۴ppm و $^1\text{H}_{\text{ax}}$ در $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۰۹ppm ظاهر می‌شوند. در این طیف یک پیام در $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۱۹ppm وجود دارد که مربوط به $^1\text{H}_{\text{ax}}$ می‌باشد که با $^1\text{H}_{\text{ax}}$ و $^1\text{H}_{\text{ax}}$ در ارتباط است. پس پیام‌های موجود در $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۳۸ppm و $^1\text{H}_{\text{ax}}$ ۱/۰۵ppm مربوط به $^1\text{H}_{\text{ax}}$ و $^1\text{H}_{\text{ax}}$ می‌باشد.

مشابه به صورت داده‌های جدول ۴ می‌باشد (Ulubelen *et al.*, 1994).

تفسیر داده‌های طیفی ترکیب لادانئین

در طیف $^1\text{H NMR}$ (حلال کلروفرم دوتره) یک پیام در $12/91\text{ppm}$ به صورت یکتایی دیده می‌شود که مربوط به هیدروژن گروه هیدروکسی C-۵ می‌باشد و همچنین یک پیام یکتایی در $10/28\text{ppm}$ دیده می‌شود که مربوط به هیدروژن گروه هیدروکسی C-۶ می‌باشد. هیدروژن‌های ۲ و ۶ حلقه‌ی آروماتیک به صورت دوتایی در $7/9\text{ppm}$ و هیدروژن‌های ۳ و ۵ حلقه آروماتیک به صورت دوتایی در $6/9\text{ppm}$ دیده می‌شوند. پیام مربوط به هیدروژن ۸ و پیام مربوط به هیدروژن ۳ به ترتیب در $6/91\text{ppm}$ و $6/84\text{ppm}$ به صورت دو پیام یکتایی ظاهر می‌شوند که یکی از این پیام‌ها در زیر دوتایی هیدروژن‌های ۳ و ۵ حلقه ی آروماتیک دیگر قرار گرفته است. هیدروژن‌های دو گروه متوکسی به صورت پیام‌های یکتایی در $3/91\text{ppm}$ و $3/72\text{ppm}$ ظاهر می‌شوند. جابجایی‌های شیمیایی طیف $^1\text{H NMR}$ این ترکیب در جدول ۵ آورده شده‌است. داده‌های طیفی و نقطه ذوب این ترکیب نیز با داده‌های موجود در منابع علمی مقایسه گردید و به این ترتیب صحت ساختار تأیید گردید (Okuda *et al.*, 1975).

منابع مورد استفاده

- Alkhatib, R., Joha, S., Cheok, M., Roumy, V., Idziorek, T., Preudhomme, C., Quesnel, B., alhpaz, François Bailleul, S. and Hennebelle, T., 2010. Activity of Ladanein on Leukemia Cell Lines and Its Occurrence in *Marrubium vulgare*. *Planta Medica*, 76(1): 86-87.
- Bisio, A., Romussi, G., Ciarallo, G. and De Tommasi, N., 1997. Flavonoids and triterpenoids from *Salvia blepharophylla* Brandegee ex Epling. *Pharmazie*, 52: 330-331.
- Dimas, K., Hatziantoniou, S., Tseleni, S., Khan, H., Georgopoulos, A., Alevizopoulos, K., Wyche, J.H., Pantazis, P. and Demetzos, C., 2007. Sclareol induces apoptosis in human HCT116 colon cancer cells in vitro and suppression of HCT116 tumor growth in immunodeficient mice. *Apoptosis*, 12 (4): 685-694.
- Dimas, K., Kokkinopoulos, D., Demetzos, C., Vaos, B., Marselos, M., Malamas, M. and Tzavaras, T., 1999. The effect of sclareol on growth and cell cycle progression of human leukemic cell lines. *Leukemia Research*, 23(3): 217-234.

در طیف C,H COSY پیام مربوط به $145/3\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با هیچ پیام موجود در طیف $^1\text{H NMR}$ ارتباط نیست، پس یک کربن نوع چهارم (C-۸) می‌باشد. پیام مربوط به $145/2\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با پیام موجود در $5/9\text{ppm}$ طیف $^1\text{H NMR}$ در ارتباط است. پیام مربوط به $111/6\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با پیام‌های موجود در $5/9\text{ppm}$ و $5/2$ طیف $^1\text{H NMR}$ در ارتباط است و همچنین پیام مربوط به $106/6\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با پیام‌های موجود در $4/49$ و $4/82\text{ppm}$ طیف $^1\text{H NMR}$ در ارتباط است. پیام مربوط به $14/5\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با پیام موجود در $0/68\text{ppm}$ طیف $^1\text{H NMR}$ با پیام مربوط به $21/7\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با پیام موجود در $0/81\text{ppm}$ طیف $^1\text{H NMR}$ با پیام مربوط به $33/7\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با پیام مربوط به $0/88\text{ppm}$ طیف $^1\text{H NMR}$ با پیام موجود در $39/8\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با پیام موجود در $1/29\text{ppm}$ طیف $^1\text{H NMR}$ در ارتباط است. پیام موجود در $55/6\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با H-۵ در طیف $^1\text{H NMR}$ در ارتباط است پس این پیام مربوط به C-۵ می‌باشد. پیام موجود در $42/2\text{ppm}$ در طیف $^{13}\text{C NMR}$ با H-۱۱a و H-۱۱b ارتباط دارد، پس این پیام مربوط به C-۱۱ می‌باشد.

تفسیر داده‌های طیفی ترکیب اسکلارنول

این دی‌تریپنئوئید مزومری از مانول می‌باشد و تنها تفاوت آنها در C-۸ می‌باشد که در اینجا به جای گروه اولفینی روی این کربن یک گروه هیدروکسیل و یک گروه متیل وجود دارد. بقیه قسمت‌های مولکول شبیه هم بوده و تحلیل طیف آنها کاملاً مشابه هم می‌باشد.

طیف $^1\text{H NMR}$ (حلال کلروفرم دوتره)، پیام‌ها براساس طیف مانول و همچنین براساس طیف NMR دو بعدی و مقایسه با طیف $^1\text{H NMR}$ گزارش شده ترکیب مشابه به صورت داده‌های جدول ۳ می‌باشد (Ulubelen *et al.*, 1994).

طیف $^{13}\text{C NMR}$ ، در این طیف نیز تنها اختلافی که وجود دارد در تعداد کربن‌های اولفینی و C-۸ می‌باشد. بقیه پیام‌ها براساس طیف مانول و همچنین براساس طیف NMR دو بعدی و مقایسه با طیف $^{13}\text{C NMR}$ گزارش شده ترکیب

- Kuźma, L., Skrzypek, Z. and Wysokińska, H., 2006. Diterpenoids and triterpenoids in hairy roots of *Salvia sclarea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 84(2): 171-179.
- Moreira, M.R., Souza, A.B., Moreira, M.A., Bianchi, T.C., Carneiro, L.J., Estrela, F.T., dos Santos, R.A. and Januário, A.H., 2013. RP-HPLC analysis of manool-rich *Salvia officinalis* extract and its antimicrobial activity against bacteria associated with dental caries. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23 (6): 870-876.
- Mozaffarian, V., 1996. *A Dictionary of Iranian Plant Names: Latin, English, Persian*. Farhang Moaser Publisher, Tehran, Iran, 596p.
- Narukawa, Y., Fukui, M., Hatano, K. and Takeda, T., 2006. Four new diterpenoids from *Salvia fulgens* Cav. *Journal of Natural Medicine*, 60: 58-63.
- Nieto, M., Garcia, E.E., Giordano, O.S. and Tonn, C.E., 2000. Icetexane and abietane diterpenoids from *Salvia gilliessi*. *Phytochemistry*, 53(8): 911-915.
- Okuda, T., Yoshida, T. and Ono, I., 1975. Two new flavone glycosides from *Catalpa ovata*. *Phytochemistry*, 14(7): 1654-1656.
- Rustaiyan, A. and Sadjadi, A., 1987. Salvisyriacolide, a sesterterpene from *Salvia syriaca*. *Phytochemistry*, 26(11): 3078-3079.
- Salehi, P., Sefidkon, F., Tolami, L.B. and Sonboli, A., 2005a. Essential oil composition of *Salvia palaestina* Benth. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(5): 525-527.
- Salehi, P., Tolami, L.B. and Sefidkon, F., 2005b. Essential oil composition of *Salvia xanthocheila* Boiss. ex Benth. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 17(4): 442-443.
- Topçu, G. and Ulubelen, A., 1999. Terpenoids from *Salvia kronenburgii*. *Natural Product Letter*, 62: 1605-1608.
- Ulubelen, A., Topcu, G., Eris, C., Sönmez, U., Kartal, M., Kurucu, S. and Bozok Johansson, C. 1994. Terpenoids from *Salvia sclarea*. *Phytochemistry*, 36: 971-974.
- Xu, G., Peng, L.Y., Zhao, Y., Li, X.L., Tu, L., Zhao, Q.S. and Sun, H.D., 2005. Two new icetexane diterpenoids from *Salvia przewalskii*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(12): 1575-1576.
- Gandomkar, S., Yousefi, M., Habibi, Z. and As'habi, M.A., 2012. A new triterpene from *Salvia xanthocheila* Boiss. *Natural Product Research: Formerly Natural Product*, 26(7): 648-653.
- Gohari, A.R., Ebrahimi, H., Saeidnia, S., Foruzani, M., Ebrahimi, P. and Ajani, Y., 2011. Flavones and flavone glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(2): 247-251.
- Gören, C.A., Topçu, G., Öksüz, S., Kökdil, G., Voeltre, W. and Ulubelen, A., 2002. Diterpenoids from *Salvia ceratophylla*. *Natural Product Letter*, 16: 47-52.
- Guo, Z. and Wagner, G.J., 1995. Biosynthesis of labdenediol and sclareol in cell-free extracts from trichomes of *Nicotiana glutinosa*. *Planta*, 197(4): 627-632.
- Habibi, Z., Cheraghi, Z., Ghasemi S. and Yousefi, M., 2012. A new highly hydroxylated triterpene from *Salvia atropatana* Bunge. *Natural Product Research*, 26(20): 1910-1913.
- Habibi, Z., Eftekhari, F., Samiee, K. and Rustaiyan, A., 2000. Structure and antibacterial activity of p6 new labdane diterpenoid from *Salvia leriaefolia*. *Journal of Natural Product*, 63: 270-271.
- Habibi, Z., Gandomkar, S., Yousefi, M. and Ghasemi, S., 2013. A new abietane diterpenoid from *Salvia xanthocheila* Boiss. *Natural Product Research*, 27(3): 266-269.
- Habibi, Z., Yousefi, M., Aghaie H.R., Salehi, P., Masoudi, S. and Rustaiyan, A., 2008. Chemical composition of essential oil of *Salvia persepolitana* Boiss. and *Salvia rhytidea* Benth. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 20: 1-3.
- Huang, G.J., Pan, C.H. and Wu, C.H., 2012. Sclareol exhibits anti-inflammatory activity in both lipopolysaccharide-stimulated macrophages and the λ -carrageenan-induced paw edema model. *Journal of Natural Product*, 75(1): 54-59.
- Kabouche, A. and Kabouche, Z., 2008. Bioactive diterpenoids of *Salvia* species. *Studies in Natural Products Chemistry*, 35: 753-758.
- Kolak, U., Topçu, G., Birteksöz, S., Ötürk, G. and Ulubelen, A., 2005. Terpenoids and Steroids from the Roots of *Salvia blepharochlaena*. *Turkish Journal of Chemistry*, 29(2): 177-186.

Phytochemical investigation of the chloroformic extract of aerial parts of *Salvia persepolitana* Boiss.

Z. Habibi¹, R. Ghahremanzadeh^{2*} and M. Yousefi³

1- Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2*- Corresponding author, Nanobiotechnology Research Center, Avicenna Research Institute, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

3- Nanobiotechnology Research Center, Avicenna Research Institute, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran

Received: June 2012

Revised: January 2013

Accepted: February 2013

Abstract

The aerial parts of *Salvia persepolitana* Boiss. were collected during the flowering stage from Ilam Province. Purification of chloroform extract of *S. persepolitana* was carried out by column chromatography on silica gel with a gradient of *n*-hexan/ethyl acetate. At the end of chromatography, the column was eluted by methanol. Further purification was carried out by column chromatography (smaller columns) and thin layer chromatography (glass plates) in *n*-hexane–ethyl acetate as solvent for several times and yielded pure compounds. The structure of purified natural products was elucidated by using Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy and Mass spectrometry. The chloroform extract of *S. persepolitana* yielded two known diterpenoids as manool and sclareol and one known flavonoid namely ladanein. The amount of purified sclareol was 3% (18g) of the total plant weight, so *S. persepolitana* can be a good source for sclareol.

Keywords: *Salvia persepolitana* Boiss., sclareol, manool, ladanein.