

بررسی فیتوشیمیایی عصاره کلروفومی گیاه *Eryngium noeanum* Boiss.

صبا قاسمی^{۱*}، زهره حبیبی^۲ و فاطمه رضا علیزاده روشن^۳

*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه شیمی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران، پست الکترونیک: sb.ghasemi@ilam-iau.ac.ir

۲- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۷

چکیده

در این تحقیق برای اولین بار عصاره کلروفومی قسمت‌های هوایی گیاه *Eryngium noeanum* Boiss. متعلق به خانواده چتریان بررسی گردید. اندام‌های هوایی این گونه گیاهی در فصل گلدهی از فارس- استهبان جمع‌آوری شد. خالص‌سازی عصاره خام به وسیله کروماتوگرافی ستونی بر روی سیلیکاژل با گرادیان حلال n-هگزان-اتیل استات انجام شد. در پایان کروماتوگرافی ستون با متانول شسته شد. اجزا مشابه مطابق آنالیز TLC به هم اضافه شدند تا در نهایت ۸ جزء بدست آمد. دو ترکیب شناخته شده بتا-استیگماستروئول و زانتوتوکسین جداسازی گردید. ترکیب بتا-استیگماستروئول از خالص‌سازی جزء ۳ با نسبت حلال n-هگزان: اتیل استات (۱:۶) به مقدار ۳۰ mg جداسازی شد که ۰/۷٪ از عصاره را تشکیل می‌دهد. در نتیجه خالص‌سازی جزء ۶ عصاره با استفاده از کروماتوگرافی ستونی و لایه نازک در نسبت حلال n-هگزان: اتیل استات (۱:۴) ترکیب زانتوتوکسین به مقدار ۸ mg بدست آمد که تنها ۰/۲٪ از عصاره را تشکیل می‌دهد. ساختار ترکیب‌ها توسط روش‌های اسپکتروسکوپی شامل ¹H NMR، ¹³C NMR، DEPT، COSY، HMQC و طیف جرمی تعیین شد و در نهایت از طریق مقایسه داده‌های طیفی آنها با داده‌های گزارش شده در منابع معتبر علمی تأیید گردید.

واژه‌های کلیدی: *Eryngium noeanum* Boiss.، Umbelliferae، بتا-استیگماستروئول، زانتوتوکسین.

مقدمه

می‌باشند و تحقیقات زیادی به‌ویژه بر روی فورانوکومارین‌ها، ترپنوئیدها و پلی‌استیلین‌های موجود در این گیاهان انجام شده است (Crowden et al., 1969). وجود گل‌آذین چتری و برگ‌های اغلب مرکب از بریدگی‌های باریک و نازک، آنها را از سایر گیاهان به خوبی متمایز می‌کند و به‌علت گل‌آذین چتری است که این تیره، تیره چتریان نامیده می‌شود. گیاهان این تیره عموماً علفی، یک یا چندساله و دارای سه ساقه اغلب راست یا خزنده و معمولاً شیاردار هستند. در میان گیاهان تیره چتریان،

خانواده جعفری یا چتریان (Umbelliferae) (Apiaceae)، خانواده وسیع و مشهوری از گیاهان معطر با ساقه‌های معمولاً تهی می‌باشد که حدود ۳۰۰ جنس و بیش از ۳۷۰۰ گونه علفی دارد و شانزدهمین خانواده بزرگ گیاهان گلدار محسوب می‌شود. اگرچه گونه‌های مربوط به این خانواده در سرتاسر جهان پراکنده‌اند ولی تمرکز اصلی آنها در مناطق معتدل و نواحی کوهستانی است. آنها غنی از متابولیت‌های ثانویه

شناسایی و استخراج شده است.

برای مثال طی تحقیقی که بر روی ریشه گیاه *E. campestre* انجام شد، یک مشتق کومارینی جدید به نام آژلینول بنزوات (Aegelinol benzoate) همراه با سه کومارین شناخته شده گراندیویتین (Grandivittin)، آژلینول (Aegelinol) و آژاسیلین (Agasyllin) جدا گردید (Erdelmeier & Sticher, 1985). در بررسی دیگری که بر روی گیاه *E. campestre* توسط Clemens و Otto (۱۹۸۶) انجام شد، دو گلیکوزید مونوترپنی جدید به نام‌های سیکلوهگزنون گلیکوزید و سیکلوهگزا دی-انون گلیکوزید شناسایی گردید. در تحقیقی که بر روی گیاه *E. ilicifolium* انجام شد، سه کومارین جدید به نام‌های (+)-مارمسین (Marmesin-+))، دلتوئین (Deltoin) و پرن‌شیمگین (Prantschimgin) شناسایی شد (Mariano & Mariano, 1985). García و همکاران (۱۹۹۹) طی تحقیقی به بررسی اجزای اصلی تشکیل‌دهنده عصاره ریشه گیاه *E. foetidom* پرداختند که نتیجه آن شناسایی نه استروئید جدید بود. همچنین در مطالعه خواص درمانی آنها مشخص گردید که این ترکیب‌ها دارای فعالیت ضد درد و ضد التهاب می‌باشند. طبق تحقیقاتی که بر روی گیاه *E. yuccifolium* انجام شد، چهارده تری‌ترپنوئید گلیکوزید، دو فلاونوئید و سه ترکیب فنولی شناسایی گردید (Zhang et al., 2008). خالص‌سازی عصاره کلروفرمی قسمت‌های هوایی گیاه *E. variifolium* منجر به شناسایی یک مونوترپن جدید به نام ایزوفرولیل سنسیئوات (Isoferulyl senecioate) گردید (Muckensturm et al., 2010). همچنین یک مونوترپن جدید، یک فلاونوئید و چهار مشتق استیلنی از گیاه *E. dichotomum* توسط محققان تونس‌ی شناسایی گردید (Nacef et al., 2008). در بررسی فیتوشیمیایی که بر روی عصاره ریشه گیاه *E. yuccifolium* انجام شد دو پلی‌هیدروکسی اولئان ساپونین جدید، همراه با ۱۵ تری‌ترپنوئید ساپونین شناخته شده جداسازی شد (Wang et al., 2013). در طی تحقیقی دیگر سه ترکیب تری‌ترین ساپونین جدید از عصاره حاصل از ریشه گونه

گونه‌های دارویی و خوراکی فراوانی وجود دارد که اغلب آنها مورد شناسایی مردم بوده و از دیرباز مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Zargari, 1997). برخی از آنها مانند جعفری، شوید، کرفس، رازیانه، گشنیز، زیره و ... استفاده غذایی دارند. در میان آنها انواع سمّی و کشنده مانند شوکران هم یافت می‌شود (Halberstein, 2005).

از میان جنس‌های مهم آن از نظر تعدد گونه می‌توان *Eryngium* (۲۵۰ گونه)، *Pimpinella* (۲۰۰ گونه)، *Peucedanum* (۲۰۰ گونه)، *Buplerum* (۱۰۰ گونه)، *Hydrocotyle* (۷۸ گونه)، *Ferula* (۶۰ گونه) و *Sanicula* (۳۰ گونه) را نام برد.

جنس بوقناق (*Eryngium*) در ایران ۹ گونه گیاه علفی خاردار دارد که در سراسر ایران پراکنده‌اند. از رایج‌ترین آنها می‌توان از *E. bungei*، *E. caucasicum* و *E. billardieri* نام برد. گونه‌های مختلف این جنس علاوه بر ایران در آناتولی، ماورای قفقاز، عراق، جزایر اژه، سوریه، فلسطین، لبنان، عربستان، تالش، ترکمنستان، افغانستان، پاکستان، غرب هیمالیا، آسیای مرکزی و شرق نواحی مدیترانه‌ای نیز می‌رویند (Mozaffarian, 2007). این جنس شامل گیاهان علفی یک‌ساله و چندساله دارای برگ‌های بدون کرک و پوشیده از خار و گل‌های گنبدی شکل با آرایش چتری شبیه خار می‌باشند. این جنس به‌طور مسلم یکی از بزرگترین و پیچیده‌ترین جنس‌های خانواده چتریان می‌باشد. برخی از گونه‌های آن به‌عنوان گیاه زینتی، سبزیجات و محصولات دارویی برای مصارف محلی کشت می‌شوند. عصاره زول فعالیت‌های زیستی مختلفی از قبیل سمّیت سلولی علیه سلول‌های سرطانی، پادزهر مار و عقرب، ضد التهاب، ضد قارچ، ضد مالاریا، ضد باکتری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داده است (Wang et al., 2012).

به‌طور کلی می‌توان گفت از عصاره گونه‌های مختلف این جنس ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی، کومارینی، استروئیدی، استیلنی و ترکیب‌های تری‌ترپنوئیدی شامل تری‌ترپنوئیدهای ساپونینی، مونوترپن‌ها، سزکویی‌ترین‌ها و تری‌ترین‌ها

۹۱۰۰ در لوله موئین گرفته شده و به صورت تصحیح نشده، گزارش گردیده است. طیف‌های ^{13}C NMR و ^1H با استفاده از طیف‌سنج Bruker Avance 300 MHz دانشگاه شهید بهشتی در حلال کلروفرم دوتره ثبت گردید. جایجایی‌های شیمیایی براساس ppm نسبت به استاندارد داخلی ترامتیل‌سیلان گزارش شده‌اند. ثابت‌های جفت‌شدگی بر حسب هرتز بیان گردیده‌اند. طیف‌های جرمی به وسیله طیف‌سنج Finnigan MAT TSQ-70 در ۷۰ الکترون ولت ثبت شدند. حلال‌های مورد استفاده همگی از شرکت مرک تهیه شده است. صفحات لازم برای انجام کروماتوگرافی لایه نازک در آزمایشگاه به صورت صفحات شیشه‌ای $20 \times 20 \text{ cm}$ با قطر 0.3 میلی‌متر از سیلیکاژل ۶۰ (GF₂₅₄) مخصوص کروماتوگرافی لایه نازک تهیه شدند. مقادیر چرخش نوری ترکیب‌های فعال نوری به وسیله دستگاه پلاریمتر مدل ۳۴۱ (Perkin Elmer) در طول موج 589 nm لامپ سدیم اندازه‌گیری شد.

جمع‌آوری و تعیین نام علمی گیاه

قسمت‌های هوایی گیاه *E. noeanum* با کد هرباریوم TARI-97738 برای بررسی عصاره کلروفرمی در فصل گلدهی از استان فارس - استهبان جمع‌آوری شد و در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تعیین نام علمی گردید.

عصاره‌گیری و جداسازی اجزای تشکیل‌دهنده عصاره

به منظور عصاره‌گیری، ۳۵۰ گرم از بخش‌های پودر شده هوایی گیاه *Eryngium noeanum* به مدت ۲۴ ساعت در حلال کلروفرم خیس شد. پس از صاف کردن، عصاره حاصل به وسیله تبخیرکننده چرخان در فشار کاهش یافته در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید. عصاره حاصل در حمام آب گرم در حداقل متانول حل و به مدت ۴۸ ساعت به منظور چربی‌زدایی در دمای 15°C - قرار داده شد. سپس عصاره حاصل صاف و چربی‌ها از آن جدا شد و دوباره

گیاهی *E. planum* استخراج و شناسایی گردید (Kowalczyk et al., 2014). Aslan Erdem و همکاران (۲۰۱۵) از عصاره متانولی ریشه گیاه *E. kotschyi* توانستند چهار اولئان سایونین جدید همراه با دو تری‌ترینوئید ساپونین شناخته شده استخراج کنند. در تحقیقی دیگر فعالیت ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، اثرهای سیتوتوکسیک و همینطور شناسایی ترکیب‌های زیست فعال عصاره متانولی (گل، برگ، ریشه و ساقه) گیاه *E. serbicum* به روش *in vitro* بررسی شد. فراوانترین ترکیب موجود در عصاره گل و ساقه کلروژنیک اسید بود، در حالی‌که در عصاره ریشه و برگ رزمارینیک اسید ترکیب غالب بود. تمام عصاره‌ها حاوی حجم بالایی از ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدها، فلاونول‌ها و فنولیک اسیدها بودند و همینطور فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی قابل توجهی داشتند. آنها به صورت گزینشی اثرهای سیتوتوکسیک قوی را در برابر سلول‌های سرطانی سینه و روده نشان دادند (Vukic et al., 2018). از بررسی فیتوشیمیایی عصاره اتیل استاتی بخش‌های هوایی گونه گیاهی *E. triquetrum* بیست ترکیب جداسازی و شناسایی گردید که از میان آنها دو ترکیب پلی‌استیلینی و همچنین یک جفت انانتیومر کارولینگانی برای اولین بار استخراج شد (Bouzerghoune et al., 2016).

همچنین در بررسی دیگر که بر روی عصاره گیاه *E. tricuspidatum* انجام شد دو گلیکوزید فنولی جدید همراه با شش مشتق گلیکوزیدی شناخته شده جدا گردید (Benmerache et al., 2016).

با بررسی کامل منابع علمی هیچگونه بررسی فیتوشیمیایی بر روی عصاره گیاه *E. noeanum* انجام نشده است، از همین رو این تحقیق اولین گزارش از بررسی ترکیب‌های شیمیایی گیاه مذکور می‌باشد.

مواد و روش‌ها

روش‌های تجزیه‌ای

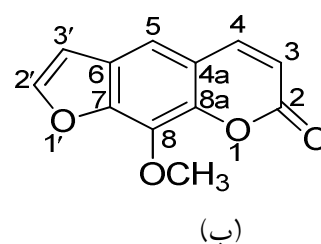
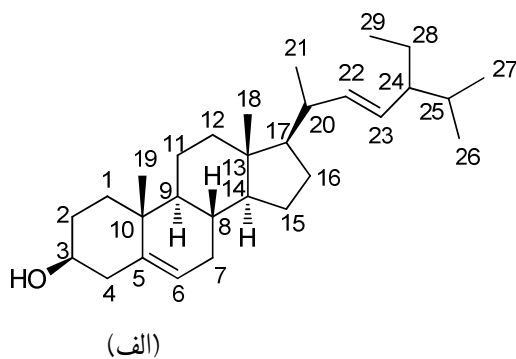
دمای ذوب محصولات با استفاده از دستگاه الکتروترمال

ستونی مجدد (با ستون‌های کوچک‌تر) و کروماتوگرافی لایه نازک (با استفاده از صفحات شیشه‌ای) استفاده گردید. پس از خالص‌سازی جزء ۳ با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک با نسبت حلال n-هگزان: اتیل استات ۱:۶، ترکیب بتا-استیگماسترول به مقدار ۳۰mg جداسازی شد که نسبت به وزن عصاره (۴/۵ گرم) ۷٪ از عصاره را تشکیل می‌دهد. در نتیجه خالص‌سازی بیشتر جزء ۶ با قطبیت n-هگزان: اتیل استات ۱:۴ ترکیب زانتوتوکسین به مقدار ۸mg جداسازی شده است. پس از خالص شدن اجزاء تشکیل‌دهنده عصاره، شناسایی نمونه‌های خالص شده به کمک تفسیر طیف‌های $^1\text{H NMR}$ ، $^{13}\text{C NMR}$ ، طیف‌های دوبعدی، طیف جرمی و مقایسه اطلاعات طیفی آنها با آنچه که در مراجع گزارش شده بود، انجام گردید.

نتایج

پس از انجام کروماتوگرافی ستونی عصاره گیاه *E. noeanum* و اضافه کردن فرکشن‌های مشابه، در نهایت ۸ جزء بدست آمد. پس از انجام مراحل خالص‌سازی، یک استروئید شناخته شده به نام بتا-استیگماسترول (شکل ۱-الف) و یک ترکیب کومارینی به نام زانتوتوکسین (شکل ۱-ب) از این گیاه جداسازی و شناسایی گردید.

به‌وسیله تبخیرکننده چرخان در فشار کاهش یافته، متانول عصاره تبخیر و برای کروماتوگرافی ستونی آماده شد. پس از اتمام مراحل عصاره‌گیری و چربی‌زدایی، ۴/۵ گرم عصاره غلیظ سبزرنگ بدست آمد و برای جداسازی اجزاء آن از کروماتوگرافی ستونی استفاده شد. ستون مورد استفاده دارای طول ۷۰cm و قطر ۴cm بود. با استفاده از حلال n-هگزان دوغاب نسبتاً غلیظی از سیلیکا ژل تهیه شد. پس از اتمام پر شدن ستون در حالی که روی آن حلال n-هگزان قرار داشت، سرستون بسته و به مدت یک شبانه‌روز در این حالت باقی ماند. به‌منظور وارد کردن نمونه به ستون، عصاره مورد نظر در کلروفرم حل گردید، سپس سیلیکاژل (-0.063, 60, 0.09mm) به تدریج به آن اضافه شد و حلال آن به‌وسیله تبخیرکننده چرخان تبخیر شد تا یک پودر یکنواخت از عصاره تثبیت شده روی سیلیکاژل بدست آید. با افزایش حلال‌هایی با قطبیت متفاوت جداسازی انجام شد. به این ترتیب که از حلال کاملاً غیرقطبی n-هگزان شروع و با افزایش اتیل استات قطبیت افزایش یافت. حجم حلال‌هایی که در هر نوبت اضافه شد، ۱۰۰ml و حجم اجزای جمع‌آوری شده در هر ارلن ۵۰ml بود. در نهایت ستون با متانول شسته شد تا تمامی اجزاء باقیمانده از ستون خارج شود. از اجزای بدست آمده، کروماتوگرافی لایه نازک با استفاده از ورقه‌های سیلیکاژل روی آلومینیوم بعمل آمد. اجزای مشابه بهم اضافه شدند و در نهایت ۸ جزء بدست آمد. برای خالص‌سازی بیشتر اجزاء، از کروماتوگرافی



شکل ۱- ساختمان گسترده بتا-استیگماسترول (الف) و زانتوتوکسین (ب)

ترکیب بتا-استیگماسترویل

بیماری آگزما و برخی از بیماری‌های پوستی ناشی از نور خورشید بکار می‌رود (Dewick, 2009).

$(E,2R)-17-(17R,14S,13R,10R,9S,8S,3S)-5-$

اتیل-۶-متیل هپت-۳-ان-۲-ایل-۱۰،۱۳-دی متیل-

۲،۳،۴،۷،۸،۹،۱۰،۱۱،۱۲،۱۳،۱۴،۱۵،۱۶،۱۷-تترا دکا

هیدرو-۱H-سیکلو پنتا[a] فنانترن-۳-آل نام دیگر این

ترکیب است. این ترکیب به صورت کریستال سفید رنگ

سوزنی شکل با فرمول مولکولی $C_{29}H_{48}O$ ، جرم مولکولی

۴۱۲/۶۹ و نقطه ذوب $160^{\circ}C-158$ است و از جزء ۳ با

قطبیت حلال n-هگزان: اتیل استات ۱:۶ به مقدار ۳۰mg

جداسازی شد. داده‌های طیفی با داده‌های گزارش شده در

منابع علمی مقایسه و ساختار پیشنهادی تأیید گردید

(Suttiarporn et al., 2015). در پایان از نقطه ذوب برای

شناسایی نهایی استفاده شد. چرخش ویژه اندازه‌گیری شده

برای متابولیت در حلال کلروفرم $39^{\circ}C-0.16$ (c: بدست

آمد که با آنچه که در منابع آمده است، همخوانی دارد

(Singh et al., 2015). بتا-استیگماسترویل یک فیتوسترویل

است که به صورت تجاری از دانه‌های سویا بدست می‌آید و

به عنوان ماده اولیه در سمی سنتز استروئیدهای دارویی

کاربرد دارد (Habibi et al., 2008).

بحث

تفسیر طیف 1H NMR ترکیب بتا-استیگماسترویل

در طیف 1H NMR این ترکیب سه هیدروژن اولفینی ۶،

۲۲ و ۲۳ هر یک با سطح زیر انتگرال یک به ترتیب در

ناحیه ۵/۳۷، ۵/۰۴ و ۵/۱۴ppm دیده می‌شوند. H-۶ به

صورت یک دوتایی پهن با J کوچک ۴/۵ Hz مشاهده

گردید. H-۲۲ و H-۲۳ که مجاور هم قرار دارند با یکدیگر

و با یک پروتون مجاورشان جفت شده و به صورت

دوتایی-دوتایی با ثابت جفت شدن ۱۵ Hz و ۹ Hz

مشاهده می‌شوند. H-۳ نیز به دلیل اتصال به اکسیژن در

ناحیه ۳/۵۴ppm به صورت یک پیام چندتایی ظاهر شده

است. از شش گروه متیل، سه تای آنها به صورت دوتایی

(d)، دو تا به صورت یکتایی (s) و یکی از آنها به صورت

سه تایی (t) در جابجایی شیمیایی بین ۰/۶۹ppm تا ۱/۰۵

ظاهر شدند (شکل ۲). برای گمارش بقیه پیام‌ها از طیف

H,H -COSY استفاده شد.

ترکیب زانتوتوکسین

تفسیر طیف H,H -COSY ترکیب بتا-استیگماسترویل

در طیف H,H -COSY ترکیب بتا-استیگماسترویل، ۶-

H با دو پیام ارتباط نشان می‌دهد که باید این دو پیام

مربوط به هیدروژن‌های ۷ و ۷' باشد. دو هیدروژن

اولفینی شماره ۲۲ و ۲۳ که در مجاورت همدیگر قرار

دارند نیز با یکدیگر ارتباط دارند و با هم جفت شده‌اند.

H-۳ با هیدروژن‌های ناحیه آلیفاتیک ارتباط نشان

می‌دهد که این پیام‌ها باید مربوط به H-۲، H-۲'، H-۴

و H-۴' باشند. ارتباط بقیه پیام‌ها در طیف قابل مشاهده

است (شکل ۳).

نام دیگر این ترکیب کومارینی، ۹-متوکسی-۷H-فورو

[۲، ۳-g] کرومن-۷-ان می‌باشد. زانتوتوکسین به صورت

کریستالی سفید-زرد با نقطه ذوب $147^{\circ}C-145$ ، فرمول

مولکولی $C_{12}H_8O_4$ و جرم مولکولی ۲۱۶/۱۹ می‌باشد و از

جزء ۶ با قطبیت n-هگزان: اتیل استات ۱:۴ به مقدار ۸mg

جداسازی شده است. برای شناسایی این ترکیب نیز تنها از

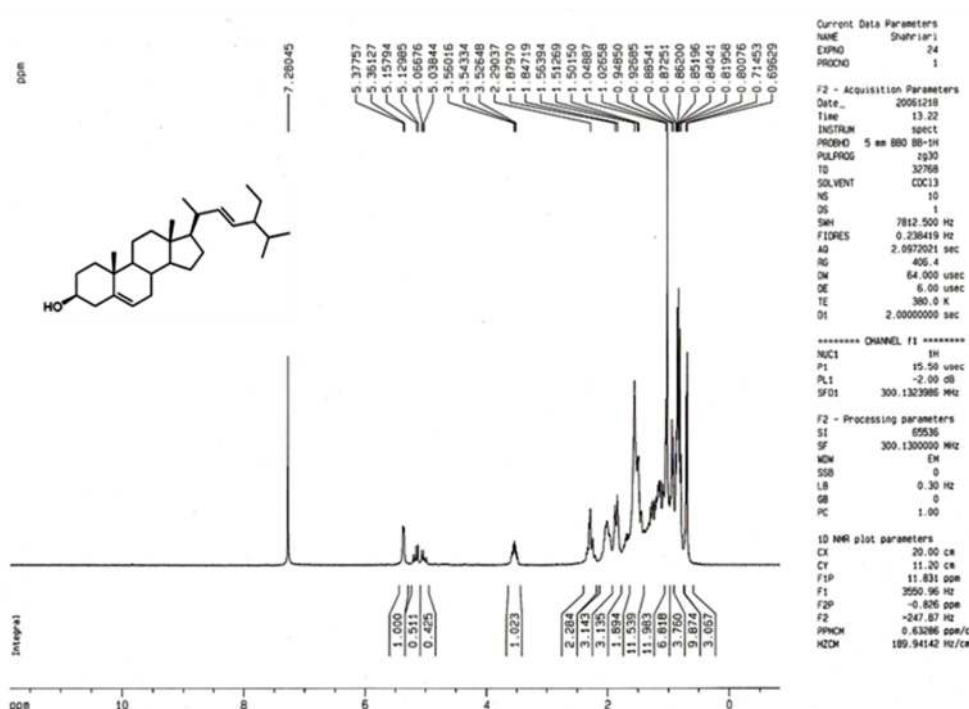
داده‌های طیفی 1H NMR و مقایسه این داده‌ها با منابع معتبر

علمی استفاده شد و در پایان از نقطه ذوب برای شناسایی

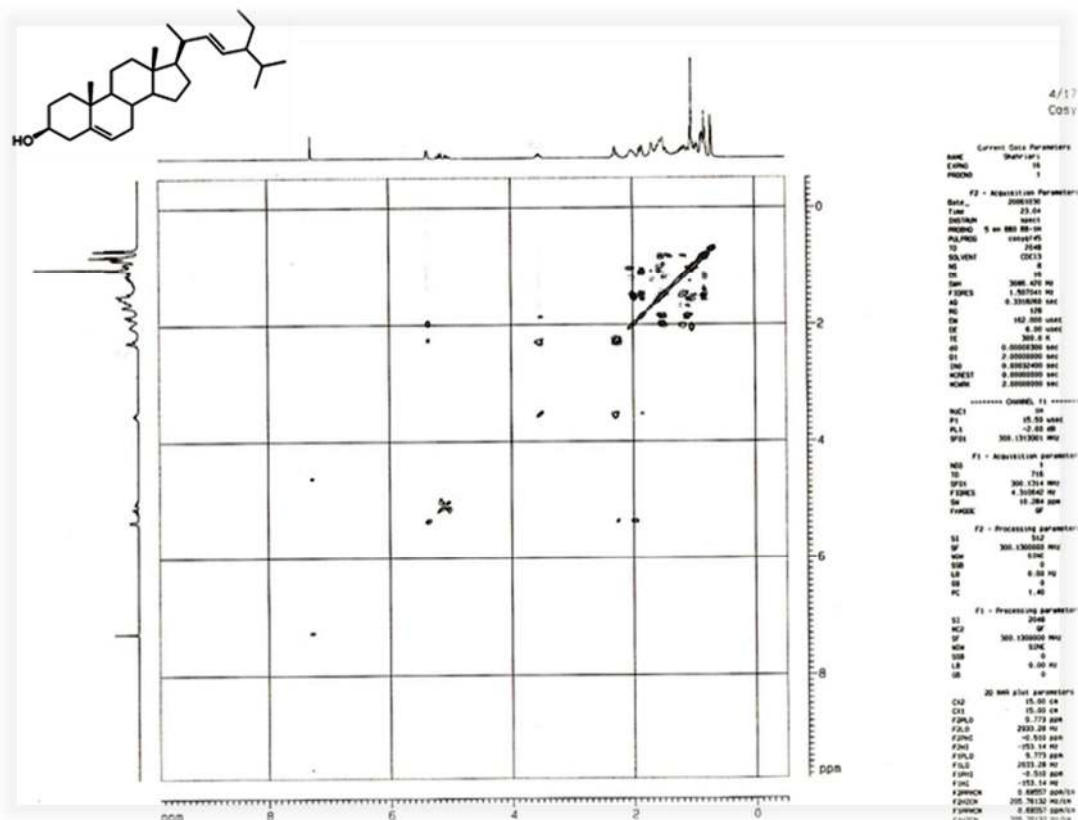
نهایی استفاده گردید (Masuda et al., 1998).

زانتوتوکسین در بازار تحت عنوان اکسورالن، دلتاسورالن

و ملادینین عرضه می‌شود و به عنوان دارویی برای درمان



شکل ۲- طیف ¹H NMR ترکیب بتا-استیگماسترول

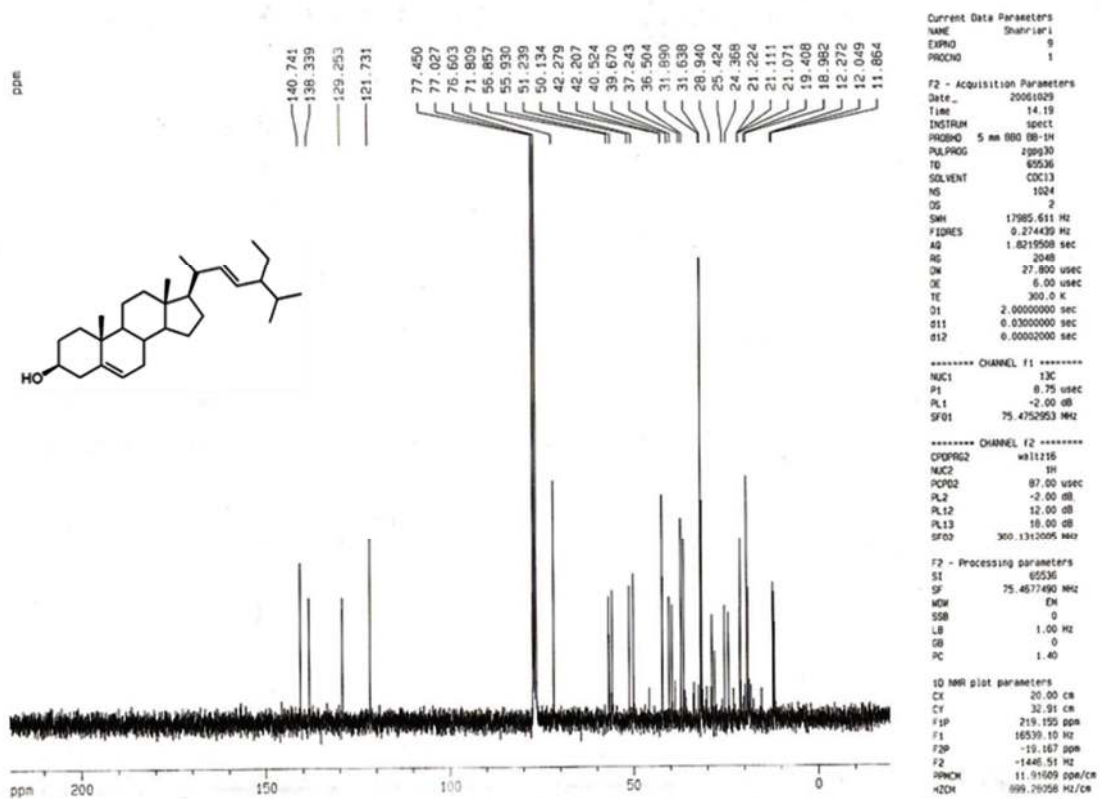


شکل ۳- طیف ¹H, ¹H-COSY ترکیب بتا-استیگماسترول

تفسیر طیف ^{13}C NMR ترکیب بتا-استیگماسترول

در طیف ^{13}C NMR اندکی ناخالصی دیده می‌شود. با استفاده از طیف دو بعدی $\text{C}_\alpha\text{H-COSY}$ پیام‌های اصلی مشخص گردید. در جابجایی شیمیایی بین ۱۵۰-۱۲۰ چهار سیگنال مشاهده می‌شود که نشانگر کربن‌های اولفینی است. با استفاده از تکنیک DEPT با پالس ۹۰ مشخص گردید که پیام در ناحیه با جابجایی شیمیایی ۱۴۰/۷۴ ppm مربوط به کربن اولفینی نوع چهارم و سه پیام ظاهر شده در

ناحیه ۱۳۸/۳۳ ppm، ۱۲۹/۲۵ و ۱۲۱/۷۳ δ مربوط به کربن‌های اولفینی CH- می‌باشد. در نتیجه وجود سه هیدروژن اولفینی موجود در ^1H NMR تأیید می‌شود. در $\delta=71/6$ ppm پیام کربن متصل به اکسیژن ظاهر شده است که در طیف DEPT با پالس ۹۰ نیز دیده می‌شود و نشان می‌دهد که این کربن به صورت CH-O است. بقیه سیگنال‌ها بین ۱۱ ppm تا ۵۷ ppm مشاهده می‌شوند که در مجموع وجود ۲۹ کربن را تأیید می‌کند (شکل ۴).

شکل ۴- طیف ^{13}C NMR ترکیب بتا-استیگماسترول

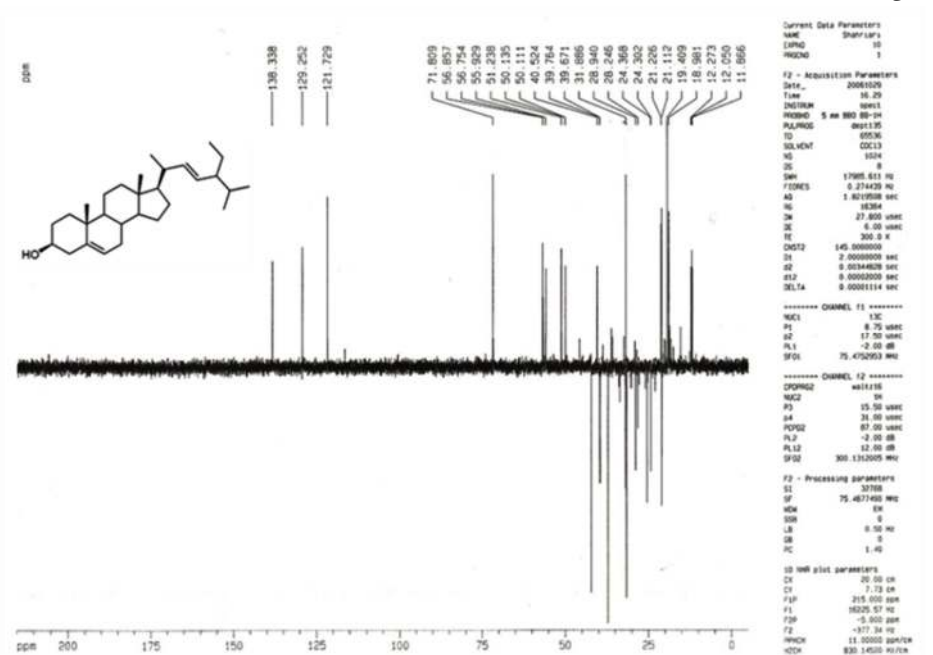
با پالس ۹۰ مشخص شدند از طیف DEPT با پالس ۱۳۵، تعداد CH_3 ها را که ۶ عدد می‌باشند، مشخص گردید (شکل‌های ۵ و ۶). در مرحله منفی نیز ۹ پیام مشاهده می‌شود که مربوط به وجود ۹ کربن به صورت CH_2 است. از آنجا که یک کربن متصل به اکسیژن نیز در ناحیه ۷۱/۶ ppm وجود دارد، بنابراین تنها یک اتم اکسیژن در ساختار وجود دارد؛

تفسیر طیف DEPT ترکیب بتا-استیگماسترول

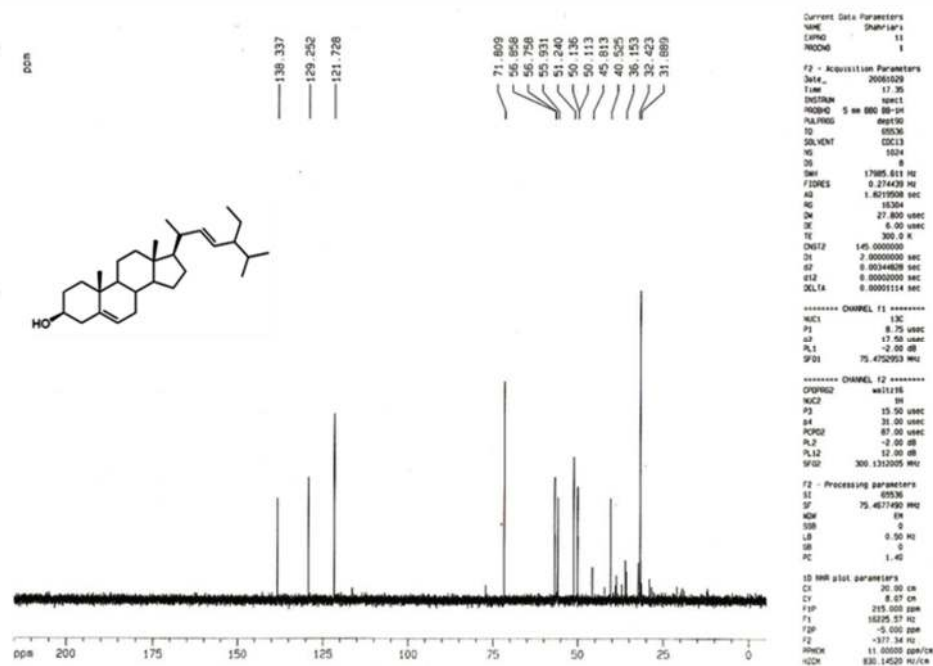
طیف DEPT با پالس ۹۰، ۱۱ پیام را نشان می‌دهد که تأییدکننده وجود یازده کربن نوع سوم (CH) در ساختار می‌باشد. در طیف DEPT با پالس ۱۳۵ پیام‌های مربوط به CH_3 ها و CH_2 ها در مرحله مثبت و CH_2 ها در مرحله منفی ظاهر می‌شوند. با کسر پیام‌های CH که از طریق طیف DEPT

شکستن شاخه جانبی و مولکول آب حاصل می‌شود. به‌علاوه اینکه از شکستن شاخه جانبی، حلقه D و حذف مولکول آب پیک ۲۱۳ ظاهر می‌شود (Singariya et al., 2018); (Suttiarporn et al., 2015).

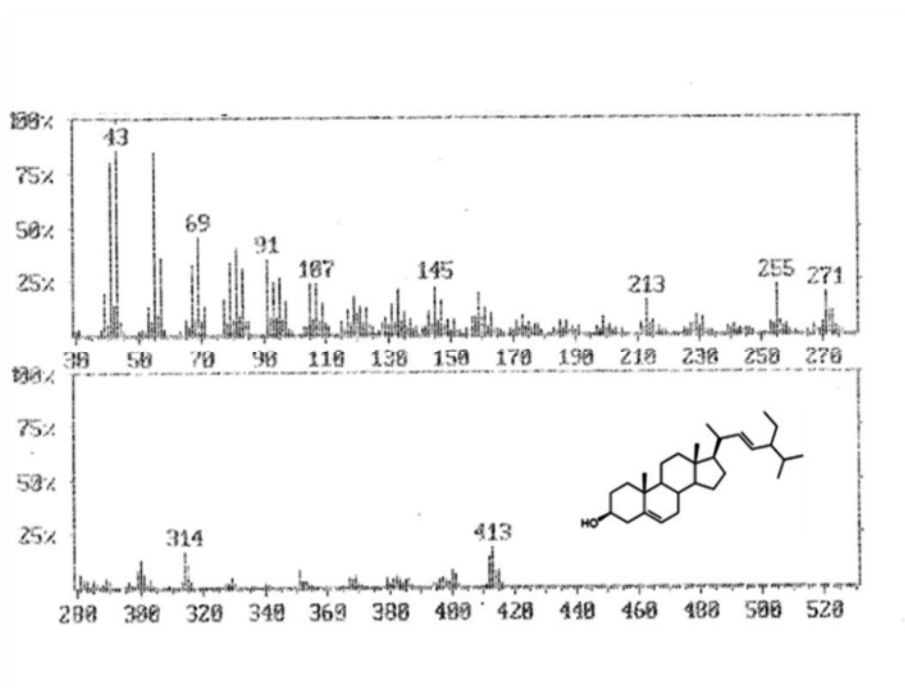
بدین ترتیب فرمول بسته $C_{29}H_{48}O$ می‌باشد که با جرم مولکولی ۴۱۲ که در طیف جرمی مشاهده می‌شود، همخوانی دارد (شکل ۷). شایان ذکر است که در طیف‌نگار جرمی این ترکیب پیک دیگری در ۲۷۱ مشاهده شد که نتیجه حذف شاخه جانبی و دو اتم هیدروژن می‌باشد، پیک مشاهده شده در ۲۵۵ نیز از



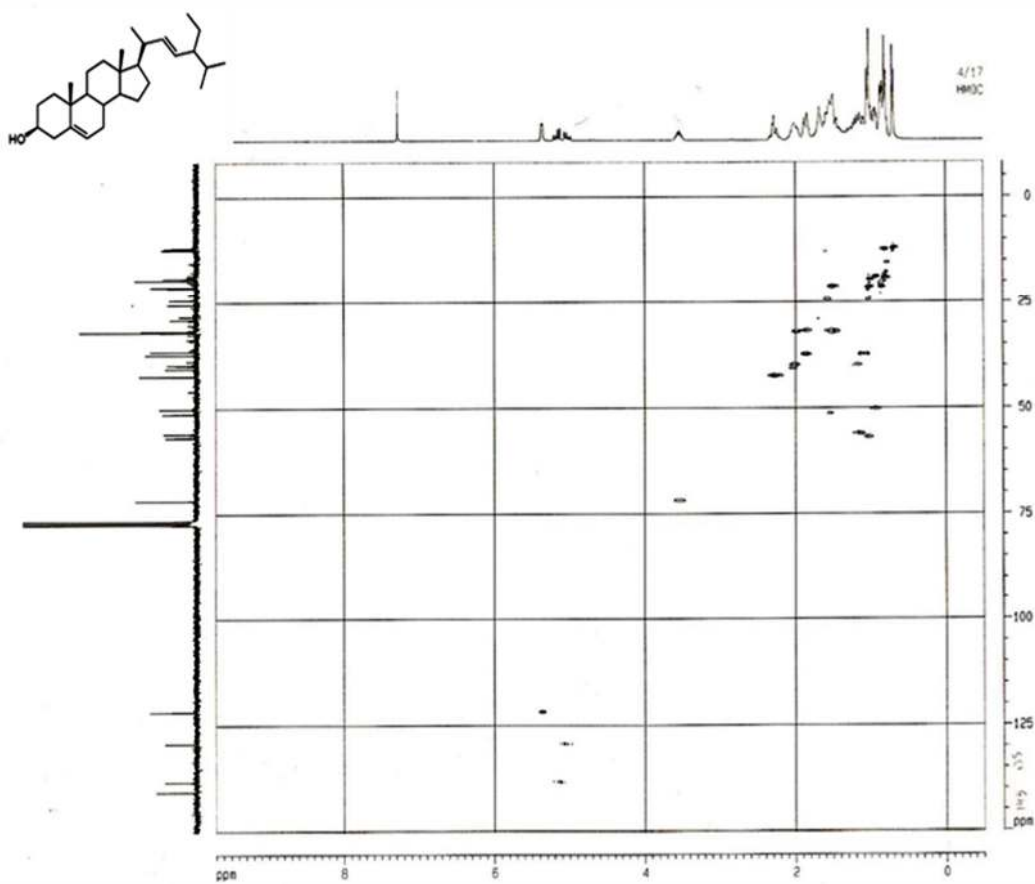
شکل ۵- طیف DEPT 135 ترکیب بتا-استیگماسترول



شکل ۶- طیف DEPT 90 ترکیب بتا-استیگماسترول



شکل ۷- طیف جرمی ترکیب بتا-استیگماسترویل



شکل ۸- طیف ¹³C, ¹H-COSY ترکیب بتا-استیگماسترویل

طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب نیز سه کربن نوع چهارم موجود در ساختار را تأیید می‌کند که هیچ‌یک ارتباطی در طیف دو بعدی $^1\text{H-COSY}$ نشان نمی‌دهند. برای گروه‌های CH_2 دو ارتباط و برای گروه‌های CH و CH_3 یک ارتباط در طیف مشاهده می‌شود (شکل ۸). از آنجا که هیدروژن‌ها از طریق طیف $^1\text{H-COSY}$ قبلاً گمارده شده‌اند، می‌توان کربن‌های مرتبط با آنها را تعیین نمود. به این ترتیب ساختار بتا-استیگماستروئول تأیید می‌شود.

تفسیر طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب زانتوتوکسین

در طیف $^1\text{H-NMR}$ چهار پیام دوتایی موجود در

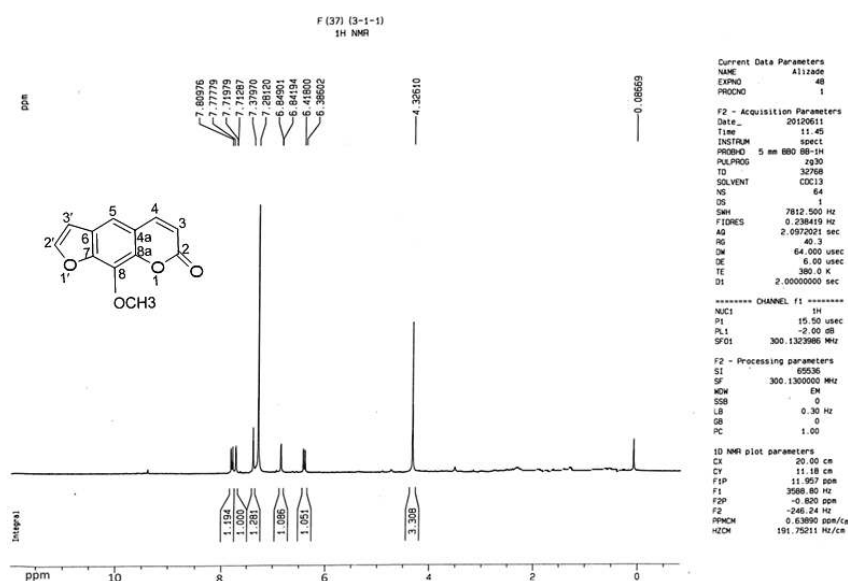
جدول ۱ آورده شده است.

تفسیر طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب زانتوتوکسین

در طیف $^1\text{H-NMR}$ چهار پیام دوتایی موجود در

جدول ۱- اطلاعات طیفی ترکیب زانتوتوکسین

پروتون	جابجایی شیمیایی $\delta(\text{ppm})$ H	چندگانگی
۲'	۷/۷۱	d ($J=۲/۱$ Hz)
۳'	۶/۸۴	d ($J=۲/۱$ Hz)
۳	۶/۴۰	d ($J=۹/۶$ Hz)
۴	۷/۷۹	d ($J=۹/۶$ Hz)
۵	۷/۳۷	s
OMe	۴/۳۲	s

شکل ۹- طیف ^1H NMR ترکیب زانتوتوکسین

سپاسگزاری

با تشکر از معاون محترم پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی برای حمایت مالی پروژه و جناب آقای دکتر ولی الله مظفریان که جمع آوری و شناسایی گیاه را عهده دار بودند.

منابع مورد استفاده

- Clemens, A.J.E. and Otto, S., 1986. A cyclohexenone and a cyclohexadienone glycoside from *Eryngium campestre*. *Phytochemistry*, 25: 741-743.
- Crowden, R.K., Harborne, J.B. and Heywood, V.H., 1969. Chemosystematics of the Umbelliferae- a general survey. *Phytochemistry*, 8: 1963-1984.
- Dewick, P.M., 2009. *Medicinal Natural Products*. John Wiley & Sons, Ltd., 164p.
- Erdelmeier, C.A. and Sticher, O., 1985. Coumarin derivatives from *Eryngium campestre*. *Planta Medica*, 51: 407-409.
- García, M.D., Sáenz, M.T., Gómez, M.A. and Fernández, M.A., 1999. Topical antiinflammatory activity of phytosterols isolated from *Eryngium foetidum* on chronic and acute inflammation models. *Phytotherapy Research*, 13: 78-80.
- Habibi, Z., Shahriari, F., Yousefi, M., Kia, Y. and Basiri, A., 2008. Extraction and identification of β -stigmasterol and two flavonoids from the aerial parts of *Tanacetum canescens* (DC.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 24: 135-147.
- Halberstein, R.A., 2005. Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns. *Annals of Epidemiology*, 15: 686-699.
- Kowalczyk, M., Masullo, M., Thiem, B., Piacente, S., Stochmal, A. and Oleszeka, W., 2014. Three new triterpene saponins from roots of *Eryngium planum*. *Natural Product Research*, 28: 653-660.
- Aslan Erdem, S., Mitaine-Offer, A.C., Miyamoto, T., Kartal, M. and Lacaille-Dubois, M.A., 2015. Triterpene saponins from *Eryngium kotschyi*. *Phytochemistry*, 110: 160-165.
- Benmerache, A., Alabdul Magid, A., Berrehal, D., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Messaili, S., Abedini, A., Harakat, D. and Kabouche, Z., 2016. Chemical composition, antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of glycosides from aerial parts of *Eryngium tricuspdatum* L. *Phytochemistry Letters*, 18: 23-28.
- Bouzergoune, F., Ciavatta, M.L., Bitam, F., Carbone, M., Aberkane, M.C. and Gavagnin, M., 2016. Phytochemical study of *Eryngium triquetrum*: isolation of polyacetylenes and lignans. *Planta Medica*, 82(16): 1438-1445.

- 3028-3030.
- Suttiarporn, P., Chumpolsri, W., Mahatheeranont, S., Luangkamin, S., Teepsawang, S. and Leardkamolkarn, V., 2015. Structures of phytosterols and triterpenoids with potential anti-cancer activity in bran of black non-glutinous rice. *Nutrients*, 7: 1672-1687.
 - Vukic, M.D., Vukovic, N.L., Djelic, G.T., Obradovic, A., Kacaniova, M.M., Markovic, S., Popović, S. and Baskić, D., 2018. Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxic activity of different plant organs of *Eryngium serbicum* L. *Industrial Crops and Products*, 115: 88-97.
 - Wang, P., Su, Z., Yuan, W., Deng, G. and Li, S., 2012. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). *Pharmaceutical Crops*, 3: 99-120.
 - Wang, P., Yuan, W., Deng, G., Su, Z. and Li, S., 2013. Triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium* 'Kershaw Blue'. *Phytochemistry Letters*, 6: 306-309.
 - Zargari, A., 1997. *Medicinal Plants* (Vol. 4). Tehran University Publication, Tehran, 103p.
 - Zhang, Z., Li, S., Ownby, S., Wang, P., Yuan, W., Zhang, W.L. and Beasley, R.S., 2008. Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium*. *Phytochemistry*, 69: 2070-2080.
 - Mariano, P. and Mariano, P.G., 1985. Coumarins from *Eryngium ilicifolium*. *Journal of Natural Products*, 48: 853-854.
 - Masuda, T., Takasugi, M. and Anetai, M., 1998. Psoralen and other linear furanocoumarins as phytoalexins in *Glehnia littoralis*. *Phytochemistry*, 47: 13-16.
 - Mozaffarian, V., 2007. *A Dictionary of Iranian Plant Names*. Tehran: Farhang-e Moaser, 671p.
 - Muckensturm, B., Boulanger, A., Farahi, M. and Reduron, J.P., 2010. Secondary metabolites from *Eryngium* species. *Natural Product Research*, 24: 391-397.
 - Nacef, S., Ben Jannet, H., Hamza, M.A. and Mighri, Z., 2008. Contribution to the phytochemical investigation of the plant *Eryngium dichotomum* Desf. (Apiaceae) from Tunisia. *Journal de la Societe Chimique de Tunisie*, 10: 141-148.
 - Singariya, P., Kumar, M.K. and Padma, K., 2018. Identification of stigmasterol by preparative thin-layer chromatography, infrared, gas chromatography-mass spectrometry analysis, and antioxidant properties of *Cenchrus ciliaris* L. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 12: 108-112.
 - Singh, K.S., Sawant, S.G., Devi, P. and Kaminsky, W., 2015. Stigmasterol from *Eichhornia crassipes* (water hyacinth): Isolation, characterization and X-ray structure. *Asian Journal of Chemistry*, 27:

Phytochemical investigation of chloroform extract of *Eryngium noeanum* Boiss.

S. Ghasemi^{1*}, Z. Habibi² and F. Rezaalizadeh Rooshan³

1*- Corresponding author, Department of Chemistry, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran

E-mail: sb.ghasemi@ilam-iau.ac.ir

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

3- M.Sc. student, Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: April 2018

Revised: August 2018

Accepted: October 2018

Abstract

In this study, the chloroform extract of the aerial parts of *Eryngium noeanum* Boiss. from Umbelliferae family was investigated for the first time. The aerial parts of this plant were collected at the flowering stage from Estahban, Fars Province, Iran. The extract was fractionated by the gravity column chromatography on silica gel with a gradient *n*-hexane, *n*-hexane-ethyl acetate, ethyl acetate, ethyl acetate-methanol, and methanol as eluent. The similar fractions were combined according to TLC analysis and eight fractions were collected. Two known compounds namely β -stigmaterol (1) and Xanthotoxin (2) were isolated. β -Stigmaterol was extracted from fraction 3 by thin layer chromatography in *n*-hexane: ethyl acetate (6:1, 30 mg). The sixth fraction was purified using repeated column chromatography and thin layer chromatography in *n*-hexane: ethyl acetate as the eluent (4:1) to obtain the known coumarin 2 (8 mg). The structure of compounds was determined by their comprehensive spectroscopic analysis including EI-MS, ¹H NMR, ¹³C NMR, H-H COSY, DEPT, HMQC, and comparison with the literature data.

Keywords: Umbelliferae, *Eryngium noeanum* Boiss., β -stigmaterol, xanthotoxin.