

## مطالعه فیتوشیمیایی گیاه *Euphorbia microsciadia*

دکتر سید عبدالمجید آیت‌اللهی<sup>۱</sup>، دکتر سید علیرضا مرتضوی<sup>۲</sup>

### چکیده

سابقه و هدف: خانواده فرفیون از جمله خانواده‌های بزرگ و مهم گیاهان دارویی هستند که دارای بیش از ۸۰۰ گونه‌اند. این خانواده مهم از گیاهان را می‌توان در درمان بیماری‌های مختلفی نظیر سرطان و دردهای عصبی به کار برد. با توجه به اینکه در مورد گونه *Euphorbia microsciadia* تاکنون مطالعات فیتوشیمیایی انجام نگرفته است، در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش Exploratory survey انجام گرفت. گیاه از بخش کهک در جاده قم به کاشان جمع‌آوری شد. عصاره‌گیری با استفاده از روش خیساندن در متانل انجام گرفت. در نهایت عصاره خشک شد و با استفاده از ستون کروماتوگرافی سیلیکاژل و حلال‌های مختلف، فرآیند جداسازی و شناسایی اجزاء موجود در عصاره توسط تکنیک‌های مختلف شامل IR, Mass, NMR و UV صورت گرفت.

یافته‌ها: چهار فراکسیون شامل Md70 و Mg IV, Mg III, Ma7 از عصاره حاصله جدا شد. سپس با استفاده از طیف‌های مختلف به دست آمده از هر فراکسیون اقدام به تعیین ساختمان اجزاء موجود در آنها شد. در فراکسیون Ma7 یک الکان خطی به نام nonacosane شناسایی شد. در فراکسیون Mg III ساختمان ترپنوئیدی  $\beta$ -sitosterol شناسایی گردید و در فراکسیون mg IV حضور cycloclarkeanol مشخص گردید. در فراکسیون Md70 ماده‌ای شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: برای نخستین بار سه ترکیب nonacosane,  $\beta$ -sitosterol و cycloclarkeanol در گونه *Euphorbia microsciadia* شناسایی شد. این مواد را می‌توان برای مصارف درمانی مختلف به کار برد.

واژگان کلیدی: خانواده فرفیون، *Euphorbia microsciadia*، فیتوشیمیایی، جداسازی اجزاء،  $\beta$ -sitosterol و

Cycloclarkeanol

۱- گروه مفردات پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲- گروه داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

## مقدمه

خانواده فرفیون (Euphorbiaceae)، خانواده بزرگی از گیاهان می‌باشند که شامل ۳۰۰ جنس و متجاوز از ۸۰۰ گونه‌اند. در غالب نواحی کره زمین به جز مناطق قطبی و قله کوه‌های مرتفع این خانواده از گیاهان پراکنده‌اند. از جمله جنس‌های مهم این خانواده که دارای ۲۰۰۰ گونه می‌باشد، Euphorbia است. جنس Euphorbia شامل گیاهان یک پایه، دارای گل‌های نر یک پرچمی با میله زانودار، گل‌های ماده با تخمدان سه برچه‌ای، گل آذین سیاتیوم و میوه کپسول سه قاب است و به دو دسته علف‌های یک‌ساله با دوره زندگی کوتاه (Annuae) و گیاهان چند ساله و پایا (Perennae) تقسیم می‌شوند. تعداد زیادی از این گیاهان قادر به تولید نوعی لاتکس سمی هستند که اثر تحریکی بر روی بافت‌های مخاطی دارد. گونه‌هایی از این خانواده به عنوان گیاه زینتی در خانه‌ها نگهداری می‌شوند (۱).

از جمله گونه‌های مهم Euphorbia، گونه Euphorbia microsciada Boiss می‌باشد. این گونه دارای ساقه‌های بدون چتر واقعی طوقه‌دار و دارای تقسیمات دو یا سه شاخه‌ای هستند. وجه تشخیص این گونه محدود بودن تعداد شاخه‌های انتهایی بوده و شعاع‌های تشکیل‌دهنده چترها نیز کوتاه‌ترند و برگ‌های اطراف چتر کل نیز باریک به نظر می‌رسند. پراکندگی گیاه بیشتر در جنوب و مرکز ایران بوده و در شمال کمتر یافت می‌شوند. این گونه در نقاط مرتفع واقع در شمال پاکستان و هم‌چنین هندوستان نیز یافت می‌شود (۱).

مطالعات غربالی انجام شده بر گونه‌های مختلف Euphorbia، حاکی از اثرات درمانی

سودمند برای درمان بیماری‌های مختلف نظیر سرطان، روماتیسم، آسم، عفونت‌های باکتریایی و دردهای عصبی است (۲ و ۳).

در برخی از گونه‌های جنس Euphorbia حضور ترکیبات ترپنوئیدی و استرولی نشان داده شده است (۶ - ۴). از طرف دیگر در گونه Euphorbia clarkeana حضور cycloclarkeanol به اثبات رسیده است (۳). از دیگر ترکیبات جدا شده از گونه‌های مختلف Euphorbia می‌توان به Euphorbol، Cycloeucaenol و  $\beta$ -sitosterol اشاره نمود (۱۰ - ۷).

اما در رابطه با گونه Euphorbia microsciada هیچ‌گونه مطالعه فیتوشیمیایی کاملی تاکنون صورت گرفته نشده است. لذا با توجه به اهمیت این گونه در درمان بیماری‌های مختلف اشاره شده، در این تحقیق تصمیم به بررسی فیتوشیمیایی آن گرفته شد.

## مواد و روش‌ها

تحقیق به روش Exploratory survey انجام گرفت. جمع‌آوری گیاه در خردادماه صورت گرفت. منطقه جمع‌آوری بخش کهک در کیلومتر ۵۰ جاده قم به کاشان بود. گیاه با اندام کامل جمع‌آوری شد و برای تایید نام نمونه هرباریومی از گیاه تهیه شد و نمونه تهیه شده در گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی نام‌گذاری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از جداسازی گیاهان متفرقه به صورت کامل در مکانی دور از نور مستقیم آفتاب و حرارت زیاد به مدت یک هفته خشک شدند. سپس ریشه گیاه جدا شد و اندام‌های هوایی به قطعات ریزتری آسیاب شدند.

عصاره‌گیری با استفاده از روش خیساندن (Maceration) با متانل و به مدت ۵ روز انجام

فراکسیون Ma7 توسط پترولیوم اتر خالص از ستون خارج شد و سپس با اضافه کردن متانل و رسوب‌گیری جدا شد این فراکسیون حالت صمغی داشت و رنگ آن سفید متمایل به زرد بود. کروماتوگرافی روی ورقه نازک TLC نشان داد که این ماده خاصیت جذب اشعه U.V. بر روی ورقه TLC را ندارد و به معرف‌های عمومی تریپنویید و آلکالوئید جواب مثبت نمی‌دهد. دمای ذوب این فراکسیون ۶۳ درجه سانتی‌گراد بود. در مراحل بعدی با استفاده از دستگاه FD خالص بودن این فراکسیون ثابت گردید. طیف IR این فراکسیون جذب‌هایی را در نواحی  $1735\text{cm}^{-1}$ ،  $1648\text{cm}^{-1}$ ،  $2848\text{cm}^{-1}$ ،  $2916\text{cm}^{-1}$  و  $720\text{cm}^{-1}$  نشان داد.

بررسی طیف جرمی FD این فراکسیون نشان دهنده خلوص آن و جرم مولکولی  $408/3$  بود. در بررسی هم‌زمان طیف‌های CNMR و DEPT مشخص گردید که بسیاری از پیک‌ها در ناحیه حدود ۳۰ppm وجود دارند و هم‌پوشانی دارند.

بررسی طیف Mass الکان، خطی بودن ترکیب را نشان می‌دهد. فراکسیون MgIII با سیستم حلالی ۳۵ درصد کلروفرم و ۶۵ درصد پترولیوم‌اتر از ستون خارج شد. پس از تغلیظ، کریستال‌هایی در ویال‌ها تشکیل شد که همراه با رنگدانه گیاهی بود. در مراحل بعدی اقدام به خالص‌سازی این فراکسیون گردید. در نهایت فراکسیون نهایی به دست آمده دارای نقطه ذوب معادل ۱۳۹ درجه سانتی‌گراد بود. در بررسی طیف IR این فراکسیون جذب‌هایی در نواحی  $3440\text{cm}^{-1}$ ،  $2928\text{cm}^{-1}$ ،  $1715\text{cm}^{-1}$ ،  $1463\text{cm}^{-1}$ ،  $1378\text{cm}^{-1}$  و  $1070\text{cm}^{-1}$  به دست آمد. در طیف Mass پیک یون مولکولی برابر  $414\text{m/e}$  به دست آمد. شدت پیک  $m+1$  آن ۳۲ درصد پیک یون مولکولی (m) بود.

گرفت. سپس متانل موجود تبخیر شد و عصاره غلیظ حاصله به دستگاه کریستالیزور انتقال داده شد. عمل خیساندن با متانل دو مرتبه دیگر نیز انجام گرفت، با این تفاوت که مدت زمان خیساندن به ۳ روز تقلیل یافت.

۷۰۰ میلی‌لیتر از عصاره تغلیظ شده حاصل از ماسیراسیون به قیف دکانتور انتقال یافت و با اضافه کردن هگزان نرمال به فاز متانلی و تکان دادن ملایم قیف، فاز هگزان از فاز متانلی جدا گردید. در ادامه کار فاز هگزانی تغلیظ شد و به دستگاه کریستالیزور منتقل گردید و کاملاً تبخیر شد تا عصاره خشک شده گیاه حاصل شود.

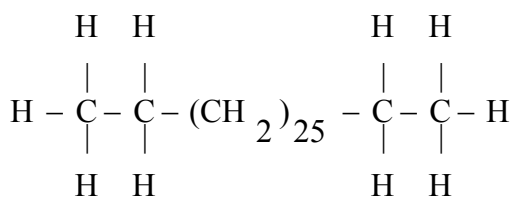
در مرحله بعد با استفاده از ستون کروماتوگرافی سیلیکاژل و استفاده از حلال‌های غیرقطبی (پترولیوم اتر) در شروع کار و به دنبال آن افزودن کلروفرم (به عنوان حلال افزاینده پلاریته) و در نهایت حلال قطبی متانل، به عنوان فاز متحرک، اقدام به جداسازی مواد موجود در عصاره هگزانی تهیه شده، شد. عصاره هگزانی پس از اختلاط با مقداری سیلیکاژل، به ستون افزوده شد و با عبور فاز متحرک، جداسازی اجزاء موجود در عصاره صورت گرفت.

فراکسیون‌های به دست آمده از ستون کروماتوگرافی از نقطه نظر آزمون‌های وجود آلکالوئید (۱۱)، وجود ساپونین (۱۱)، حضور تری‌ترین‌ها و استرول‌های اشباع نشده (۱۱ و ۱۲) و هم‌چنین آزمون وجود فلاونوئید (۱۳) مورد بررسی قرار گرفتند.

#### یافته‌ها

به دنبال جداسازی اجزاء موجود در عصاره هگزانی، چهار فراکسیون Mg IV , Mg III , Ma7 و Md70 به دست آمدند.

عصبی و روماتیسم سودمند باشد. پس از تهیه عصاره این گیاه و جداسازی اجزاء موجود در آن، چهار فراکسیون مختلف به دست آمد. در بررسی فراکسیون Ma7 و بر اساس نتایج به دست آمده از طیف IR و UV حضور گروه‌های C-H و C-C تأیید گردید. هر چند بر اساس طیف IR این فراکسیون حضور ترکیبات کیتونی و الکلی مشخص نشد. عدم وجود پیک‌هایی در ناحیه بالای ۱۰۰ ppm در طیف CNMR این فراکسیون نشان دهنده عدم وجود پیوند دوگانه در این ترکیب می‌باشد. از طرف دیگر طیف DEPT نشان‌دهنده حضور یک گروه متیل می‌باشد. بر اساس طیف HNMR این فراکسیون به نظر می‌رسد که تعداد پروتون‌های آن برابر با ۹۳ باشد. در کل بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که فراکسیون Ma7 یک هیدروکربن خطی اشباع شده باشد. در بررسی طیف Mass این فراکسیون نیز الکان خطی بودن آن اثبات شد. الگوی شکسته شدن ترکیب با الکان‌های خطی سازگار است و این واقعیت که تمام شکستگی‌ها دارای جرم مولکولی فرد هستند اثباتی بر این ادعا است. در نهایت به نظر می‌رسد که Ma7 یک الکان خطی با فرمول  $C_{29}H_{60}$  باشد و فرمول آن



با نام Nonacosane می‌باشد.

اما در بررسی فراکسیون MgIII مشخص گردید که بر اساس طیف IR آن، گروه‌های OH، C-H، متیلن، متیل و C-O می‌توانند در ساختمان این ترکیب وجود داشته باشند. در بررسی طیف Mass

هم‌چنین حضور ساختمان ترپنوئیدی در این فراکسیون مشخص گردید. طیف HNMR این فراکسیون به صورت پیک‌های متعددی در ناحیه یک تا دو ppm ظاهر شد.

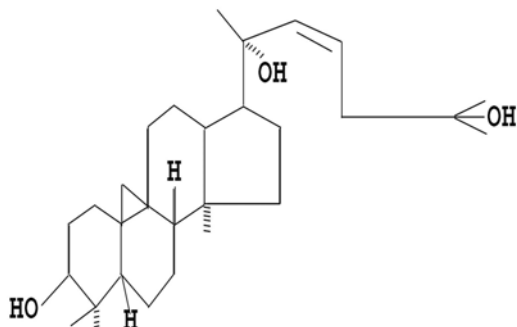
فراکسیون MgIV دارای نقطه ذوبی برابر با ۱۹۳ درجه سانتی‌گراد بود. طیف FD این فراکسیون نشان دهنده خلوص آن و داشتن جرم مولکولی برابر با ۴۵۸/۳ بود. طیف Mass نیز این مطلب را تأیید کرد. در طیف IR جذب در ناحیه  $3436\text{cm}^{-1}$  به دست آمد. هم‌چنین جذب در نواحی  $2928\text{cm}^{-1}$ ،  $1640\text{cm}^{-1}$  و  $1050\text{cm}^{-1}$  به دست آمد. در طیف NMR پیک‌هایی در نواحی ۰/۳۳ppm و ۰/۵۴ppm به دست آمد. هم‌چنین پیک‌هایی در نواحی ۱-۲ppm و ۳/۲۶ ppm به دست آمد. پیک‌هایی در نواحی ۵/۴ppm و ۵/۴۸ppm نیز به دست آمد.

در نهایت فراکسیون Md70 که به صورت کریستال‌های کوچک مکعبی شکل در مخلوطی از رنگدانه گیاهی در ته ویال‌هایی که طی سیستم حلال حاوی ۸۵ درصد پترولیوم اتر و ۱۵ درصد کلروفرم از ستون خارج شده بود، به دست آمد. TLC تهیه شده از این فراکسیون وجود لکه فعال UV را نشان نداد. TLC دو بعدی نیز لکه‌ای را نشان نداد. این فراکسیون جذب‌هایی را در طیف IR در نواحی  $3400\text{cm}^{-1}$ ،  $2915\text{cm}^{-1}$ ،  $2847\text{cm}^{-1}$ ،  $1753\text{cm}^{-1}$  و  $1460\text{cm}^{-1}$  نشان داد.

### بحث

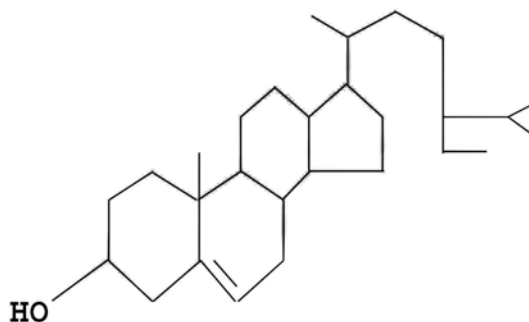
هدف از انجام این تحقیق عصاره‌گیری و جداسازی اجزاء موجود در گونه گیاهی Euphorbia microsciada برای نخستین بار بود. همان‌طور که به آن اشاره گردید استفاده از این عصاره می‌تواند در درمان سرطان، عفونت‌های باکتریایی، دردهای

حضور یک تری ترپنوئید استرولی در این ماده می‌باشد. بر اساس طیف IR، حضور گروه‌های OH، C-H در گروه  $\text{CH}_2$ ،  $\text{C}=\text{C}$  و حلقه سیکلوپروپان مشخص گردید. در نهایت بر اساس نتایج حاصله حضور ترکیب Cycloclarkeanol در این فراکسیون مشخص گردید. ساختمان این ترکیب به صورت زیر می‌باشد:



متأسفانه برای فراکسیون Md70 امکان تعیین دقیق ساختمان بر اساس نتایج به دست آمده وجود نداشت، هر چند حضور گروه OH در این ساختمان مسلم می‌باشد. بنابراین به عنوان نتیجه‌گیری از این مطالعه می‌توان گفت که برای نخستین مرتبه بررسی فیتوشیمیایی بر روی گیاه *Euphorbia microsciadia* Boiss انجام گرفت و حضور سه ترکیب  $\beta$ -sitosterol، cycloclarkeanol و nonacosane در آن تعیین گردید.

این فراکسیون حضور ۲۹ کربن در ساختمان ماده پیش‌بینی می‌شود و در واقع با استفاده از بانک اطلاعاتی موجود در دستگاه صحت این مطلب تأیید شد و ساختمان  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$  برای این فراکسیون پیشنهاد گردید. با توجه به نقطه ذوب و ترپنوئید بودن این فراکسیون می‌توان چنین تصور کرد که این ماده  $\beta$ -sitosterol باشد. این ماده یک استرول گیاهی است که به جز زنجیره متصل به کربن ۲۴، ساختمانی مشابه کلسترول دارد و قادر به کاهش میزان LDL پلاسما خواهد بود. مکانیسم این اثر شناخته نشده است ولی به نظر می‌رسد که این ماده مانع جذب کلسترول می‌شود. ساختمان  $\beta$ -sitosterol به صورت زیر می‌باشد:



در بررسی فراکسیون Mg IV و بر اساس نتایج به دست آمده، فرمول کلی  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$  برای آن پیشنهاد می‌شود. نتایج به دست آمده نشان دهنده

## References:

- 1- Tyler E, Brady R, Robbers E. *Pharmacognost.* 9<sup>th</sup> ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1998; p: 441.
- 2- Kukenov M. New toxic and cocarcinogenic diterpene esters from Euphorbiaceae. *Pure Appl Chem* 1977; 49: 1423-31
- 3- Ayatollahi SA, Ahmed Z, Malik A, et al. Cycloclarkeanol, a new triterpene from *Euphorbia clarkeana*. *J Nat Prod* 1992; 55: 959-62.
- 4- Pradhan B, Khastgir HN. Terpenoids and related compounds, chemical investigation of *Euphorbia sikkimensis*. *J Indian Chem Soc* 1969; 46: 331-4.
- 5- Nielsen PE Steroids from *Euphorbia* and other latex-bearing plants. *Phytochemistry* 1979; 18: 103-4.
- 6- Yamamoto Y. Chemical constituents of cultured cells *Euphorbia triucalli* and *Euphorbia millii*. *Plant Cell Rep* 1981; 1: 29-30.

- 7- Ponsinet G, Ourisson G. Biosynthesis of triterpenes in Euphorbia latex. *Phytochemistry* 1968; 7: 757-64.
- 8- Nazir M. Chemical constituents of Euphorbia royleana. *Pakistan J Sci Ind Res* 1965; 8: 80-83.
- 9- Rufina S, Ludwiozak K. Chemical constituents of Euphorbia latyrus. *Roczniki Chem* 1965; 39: 1233-7.
- 10- Aynechi Y, Kiumehr N. Chemical examination of Euphorbia tinctoria Boiss. *Acta Pharm Suecica* 1974; 11: 185-190.

- ۱۱- کرامتی ب. بررسی فیتوشیمیایی و اثرات ضد قارچ گیاه *Achillea santolina*. رساله دکترای حرفه ای داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، سال تحصیلی ۷۳-۱۳۷۲.
- ۱۲- پیرمرادی آموزگار فرد پ. بررسی فیتوشیمیایی گیاه گلدار آبی *Potamogeton lucens*. رساله دکترای حرفه ای داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، سال تحصیلی ۷۳-۱۳۷۲.
- ۱۳- صمصام شریعت، ه، قهرمانی ن. بررسی گیاه شناسی و فیتوشیمیایی گونه های مختلف بید در استان اصفهان. *دارو و درمان*، ۱۳۷۲؛ ۱۱۶، صفحات ۱۵-۱۸.