

## استخراج یک آلالالوئید استروئیدی از بوکسوس هیرکانای ایرانی

دکتر عبدالمجید آیت‌الله‌ی<sup>۱</sup>، دکتر حسین کمیلی‌زاده<sup>۲</sup>

### چکیده

سابقه و هدف: بوکسوس هیرکانا (*Buxus hyrcana*) یکی از گونه‌های جنس بوکسوس است. گونه‌های جنس بوکسوس به عنوان منابع آلالالوئیدهای استروئیدی و دارای فعالیت بیولوژیک شناخته شده‌اند. افزون بر این در طب سنتی از عصاره‌های گونه‌های جنس بوکسوس برای درمان تب‌های مalarیایی مقاوم به گندله و دردهای روماتیسمی و نفرس و نیز بیماریهای بوسی استفاده می‌شود. این فعالیت بیولوژیک و خواص درمانی‌ها را برآن داشت تا به منظور استخراج ترکیبات یک آلالالوئید استروئیدی، نمونه‌هایی از این گیاه را که در اطراف نوشهر واقع در شمال ایران جمع‌آوری شده بود، مورد بررسی فیتوشمیابی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش EXPLORA TORY انجام شد. گیاه جمع‌آوری شده در هوای آزاد بدون استفاده از نور و گرمای زیاد خشک گردید. و توسط آسیاب برقی به صورت پودر ترمی درآورده شد که در نهایت با استفاده مثالی به روش ماسراسیون عصاره‌گیری و تغلیظ گردید. آزمایش‌های مختلف نشان داد که عصاره مثالی حاوی آلالالوئیدها، فلاونوئیدها، تربونوئیدها و سایرونوئیدها بود. به منظور استخراج آلالالوئیدها، عصاره مثالی با اسید کلروفرمی  $pH=2$  تا  $5\%$  با اسیدی گردید و توسط کلروفرم به دو فاز کلروفرمی و آبی تبدیل شد. آزمابش نشان داد که فاز کلروفرمی حاوی مواد غیر آلالالوئیدی بود. فاز آبی باقیمانده با افزودن آمونیاک تا  $pH=9$  قلبایی گردید و به دنبال آن به وسیله کلروفرم مورد استخراج فرار گرفت. تست درآژندرف نشان داد که فاز کلروفرمی حاوی مواد آلالالوئیدی بود. کروماتوگرافی سطونی فاز کلروفرمی، ماده ناخالصی را جدا ساخت که بعداً به وسیله کروماتوگرافی دو بعدی روی لایه‌های نازک خالص‌سازی شد.

یافته‌ها: ماده خاص سازی شده علاوه بر قابلیت جذب تابش ماوراء بنتش (UV) دارای نقطه ذوب  $170-173^{\circ}C$

و چرخش ویزه  $[\alpha]^{25}_{D}=+156^{\circ}$  و فرمول مولکولی  $C_{41}H_{49}NO_4$  بود.

افزون بر این طیف جرمی اشن نشان داد که آن جسم دارای جرم مولکولی  $NW=385$  است. همچین طیفهای جرمی، IR و  $^{13}C-NMR$  وجود گروهها و پیوندهای  $C=O$  (کتن)،  $C-O$  و  $O-H$  (الکل)،  $N(CH_3)_2$  (آمین)،  $C=CH_2$  (اگزوسبکلپ) و نیز حلقه‌های سیکلکلوروپرپانی و استروئیدی را در مولکول آن جسم به تأیید رساندند.

**نتیجه‌گیری و توصیه‌ها :** فرمول ساختاری که در یافته‌ها آمده است برای بوکسیبی ترسیم شد. ترکیب سیکلومیکروبوکسین نامگذاری شده است.

**وازنگان کلیدی:** بوکسیبی، سیکلومیکروبوکسین، آلالالوئید استروئیدی

۱. گروه فارماکوگنوزی، دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی

۲. گروه شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

عنوان داروی طبیعی بر ضد بیماری آلزالیم به کار برده شوند (۹). با توجه به سوابق فوق و در دسترس بودن بوکسوس و نظر به اهمیت و کاربرد روزافزون آلالکالولینید استروئیدی و به منظور بررسی امکان استخراج یک آلالکالولینید استروئیدی از بوکس هیرکانای ایرانی، این تحقیق انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها**

تحقیق به روش *explora tory* انجام گرفت. پس از جدا کردن ناخالصی‌ها، تمام قسمتهای هوایی و زمینی گیاه بوکسوس هیرکانا در هوای آزاد بدون استفاده از نور و حرارت زیاد تحت شرایط کنترل شده، خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی به صورت پودری نرم درآورده شد که جمعاً ۱۵۰۰ گرم پودر از قسمتهای مختلف گیاه به دست آمد. عصاره‌گیری از ۱۰۰۰ گرم پودر آسیاب شده به روش خیساندن (*Maceration*) در سه مرحله و هر مرحله سه روز و جمیعاً به مدت ۹ روز به وسیله ۶ لیتر متانول ۸۰٪ انجام گردید. در این مرحله آزمایش‌های مختلف انجام شده روی عصاره متانولی، وجود آلالکالولینیدها، فلاونوئیدها، ترپنوتئیدها و سایپونین‌ها را در آن عصاره به تأیید رسانید. عصاره‌های جمع‌آوری شده پس از گذراندن از صافی به وسیله دستگاه تبخیر کننده چرخان و در دمای کمتر از  $40^{\circ}\text{C}$  در خلا تغليظ گردیدند. پس از تبخیر حلال در یک کریستالایزر، مقدار ۱۷۰ گرم عصاره تام به دست آمد.

به منظور استخراج مواد موجود در عصاره تام، به آن اسید کلریدریک  $\text{pH}=2$  افزوده شد. سپس محلول اسیدی حاصل به وسیله کلروفرم استخراج گردید که فاز کلروفرمی حاوی مواد غیرآلکالولینید بود. آنگاه  $\text{pH}$  فاز آبی باقیمانده با افزایش آمونیاک به ۹ رسانیده شد و محلول بازی حاصل بالافصله به

## مقدمه

بوکسوس (*Buxus*) یکی از جنس‌های تیریدی بوکسسه است. بوکسسه تیره کوچکی از گیاهان گل‌دار و شامل ۵ جنس و ۱۰۰ گونه است که در مناطق گرم و معتدل کره زمین به صورت پراکنده یافت می‌شوند. اینها عموماً گیاهانی درختچه مانند و دارای برگهای کامل، پایا و گلهایی به دو نوع نر و ماده واقع بر یک پایه هستند. گلهای آنها فاقد گلبرگ و انواع ماده گلهای آنها نیز دارای مادگی مرکباز ۳ برگچه پیوسته به هم است. جنس بوکسوس دارای حدود ۴۰ گونه است که یکی از آنها بوکسوس هیرکانا است (۱). این گیاه را در زبان فارسی «شمشداد» می‌نامند. درخت شمشاد دارای واریته‌های زیستی چندی است که به ارتفاع و قطر قابل ملاحظه‌ای می‌رسند (۲،۳). این گیاه در جنگلهای کم ارتفاع شمال ایران در اطراف گرگان، بهشت، نوشهر، رشت، لاهیجان، دره چالوس و دره هراز می‌روید (۳،۴).

مدتهاست که گونه‌های بوکسوس به عنوان منابع آلالکالولینیدهای تیترپنوتئیدی جدید و دارای فعالیتهای بیولوژیک شناخته شده‌اند. بررسی‌های فیتوشیمیابی تا به حال منجر به جداسازی بیش از ۱۵۰ عدد از این نوع ترکیبات از گونه‌های مختلف جنس بوکسوس (۵،۶).

در طب سنتی از عصاره‌های جنس بوکسوس برای درمان تب‌های مalarیایی مقاوم به گنه‌گنه، دردهای رماتیسم، نقرس و بیماریهای پوستی استفاده می‌شود (۷). همچنین گزارش شده است که عصاره اتانولی *Buxus sempervirens* دارای فعالیت ضد است (۸).

ازرون بر این نشان داده شده است که آلالکالولینیدهای موجود در بوکسوس هیرکانا به علت دارابودن قابلیت بازدارندگی استیل کولین استراز می‌توانند به

مربوط به ارتعاشات کششی گروه کربنیل  $C=O$  دیده می‌شود. در فرکانس  $1630\text{cm}^{-1}$  یک نوار جذبی متعلق به ارتعاشات پیوند  $C=C$  اگزوسیکلیک یافت می‌شود. جذب در فرکانس  $1460\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات گروه متیلنی حلقه سیکلوپروپانی می‌باشد. در ناحیه  $1110\text{cm}^{-1}$  یک نوار جذبی مشاهده می‌شود که به ارتعاشات خمی پیوند مرتب می‌باشد.

در فرکانس  $1040\text{cm}^{-1}$  یک نوار جذبی مرتب به ارتعاشات خمی  $C-N$  یافت می‌شود و نوا جذبی موجود در فرکانس  $920\text{cm}^{-1}$  نشانگر ارتعاشات



تفسیر طیف جرمی: در این طیف یک پیک مولکولی در  $m/e=380/6$  دیده می‌شود و پیک پایه در  $m/e=370/7$  قرار دارد. پیک پایه مرتب به از دست دادن یک گروه متیل ( $\text{CH}_3$ ) توسط پیک مولکولی است. پیک موجود در  $m/e=342/5$  که  $28$  واحد با پیک پایه اختلاف دارد، مرتب به از دست دادن یک مولکول پایدار  $\text{CO}$  توسط پیک پایه است (۱۰، ۱۱).

تفسیر طیف  $H-NMR$  دو پیام  $10/1000\text{ppm}$  و  $10/293\text{ppm}$  یافت می‌شود که با توجه به جفت شدگی آنها مرتب به دو پروتون متیلنی حلقة سیکلوپروپانی است که به صورت دو پیام دو شاخه ظاهر می‌شوند. دو پیام در  $4/63\text{ppm}$  و  $4/95\text{ppm}$  یافت می‌شود که با توجه به ثابت جفت شدگی آنها مربوط به دو پروتون وینیلی اگزوسیکلیک ( $\text{C}=\text{CH}_2$ ) می‌باشد.

پیام موجود در  $2/34\text{ppm}$  نشانگر وجود گروه دی متیل آمینو ( $\text{CH}_3\text{N}$ ) می‌باشد.

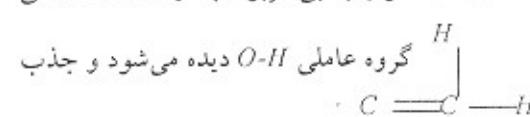
وسیله کلروفرم استخراج شد. از فاز کلروفرمی به وجود آمده مقدار  $10$  گرم مواد آلکالوئیدی به دست آمد که به تستهای درازندرف پاسخ مثبت داد. برای جداسازی  $10$  گرم مواد آلکالوئیدی به دست آمده از کرومانتوگرافی ستونی با فاز متحرک هگزان و کلروفرم با درصدهای مختلف استفاده شد که به علت خالص نبودن اجزای جدا شده، بلاقابل از کرومانتوگرافی روی لایه‌های نازک TLC با سیستمهای مختلف حلالمی برای جداسازی کامل اجزاء آن فراکسیون ناخالص بهره گرفته شد. در این روش، سیستم حلالمی تشکیل شده از  $75/25$  هگزان و چند قطره دی‌ایتل آمین مناسب تشخیص داده شد و به وسیله آن ماده جداسازی شد که دارای قابلیت جذب تابش ماوراء بنفش UV بود.

به منظور حصول اطمینان بیشتر از خالص بودن جسم جداسازی شده، از آن جسم TLC دو بعدی با استفاده از همان سیستم حلالمی فوق به عمل آمد و آن جسم کاملاً در وسط TLC مربعی شکل قرار گرفت و بدین سان خلوص کامل آن به تائید خواهد رسید.

به منظور تعیین جرم مولکولی و نیز ساختار ماده جداسازی شده، آن ماده مورد اسپکتروسکوپی‌های  $H-NMR$  JR و  $MS$  قرار گرفت.

### یافته‌ها

تفسیر طیف مادون قرمز (IR): در فرکانس  $3438\text{cm}^{-1}$  نوار جذبی مرتب به ارتعاشات کششی



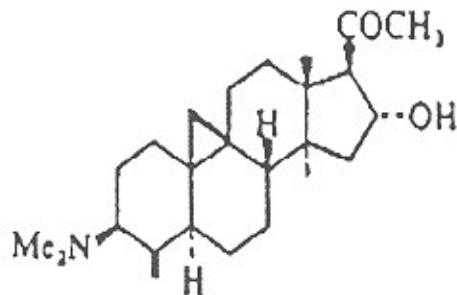
فرکانس  $3160\text{cm}^{-1}$  مرتب به ارتعاشات کششی گروه است. در فرکانس  $1700\text{cm}^{-1}$  یک قله تیز

## بحث

با استفاده از اطلاعات حاصل از تفسیر طیفهای *JR* و *H-NMR* و جرمی و نقطه ذوب و چرخش ویژه ترکیب جداسازی شده و نیز با استفاده از تابع حاصل از تحقیقات قبلی انجام یافته روی دیگر گونه‌های این جنس گیاهی و مقایسه آنها با مشخصات به دست آمده از ترکیب جداسازی شده، می‌توان فرمول ساختاری زیر را برای این جسم ترسیم کرد.

پیام موجود در  $2/15 ppm$  مؤید وجود یک اتم هیدروژن در مجاورت یک اتم اکسیژن است. پیام‌های موجود در  $0/91 ppm$  و  $1/20 ppm$  مربوط به دو گروه متیل نوع چهارم در مولکول جسم می‌باشد و پیام موجود در  $1/86 ppm$  مربوط به گروه متیل متصل به گروه کربونیل است (۱۰، ۱۱). نقطه ذوب این ترکیب در گستره  $C^{170-173}$  قرار دارد و  $\alpha_D^{25} = +156$  ویژه‌اش است (۱۰، ۱۱).

این ترکیب بوکسیپ این (*Buxpiine*) نامیده شده است (۱۰) که منعکس‌کننده نام تیره گیاهی (*Buxaceae*) و آلکالوئید بودنش می‌باشد. نام دیگر این ترکیب سیکلومیکروبکسین (*Cyclomicrobuxine*) است که منعکس‌کننده حلقوی بودن مولکولش است (۱۱).



## Reference:

## منابع

- ۱- زرگری - علی، گیاهان دارویی، چاپ چهارم انتشارات دانشگاه تهران، تهران، جلد چهارم، ۱۳۶۹، ۴۰۲ - ۴۰۶.
- ۲- ثابتی- حبیب ا...، درختان و درختچه‌های ایران ، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۴۴ /۵۹.
- ۳- مظفریان - ولا...ردهخ بندی گیاهی، کتاب دوم، دو لیه ای ها، نشر دانش امروز، تهران، ۱۳۷۳ - ۳۰۰ - ۳۰۲.
- 4- Rechinger - K.H. , *Buxaceae, Flora Iranica*, Wien 4, 1965 - 67.
- 5- Atta - ur- Rahman, *Handbook of Natural Products Daata, Diterpenoid and Steroidal Alkaloids*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Vol 1, 1990, p. 634.
- 6- S.Naz, *Phytochemical and Structural Studies on the Chemical Constituents of Buxus sempervirens and B. papillosa*, Ph. D. Dissertation, H.E.J. Research institute of Chemistry, University of Karachi, Karachi, 75270, Pakistan, 1995.
- 7- Cordell, G.A., *Introduction to Alkaloids*, Wiley Interscience, New York, 1980, p. 907.
- 8- Durant, J., Dellamica, P. and Reboultai, A., *Pet. Int. Appl. Wo 9300, 915(CA 118, 13982 U, 1993)*.
- 9- Shehnaz Parveen, Atta- Rahman, M., Iqbal Choudhary, Asaad Khalid and Ayatollahi, S.A.M., *The Riches of Buxus. Natural Remedy for Alzheimer's Disease, Abstracts book, p. 103, 8<sup>th</sup> International Symposium on Natural Product Chemistry, Jan 18-22, 2000, Karachi, Pakistan*,
- 10- Voticky, Z. and Tomko, J., *Alkaloids from Buxus sempervirens. Configuration of Buxtauine and Buxpiine*, *Tetrahedron Letters*, 1965, 40, 3579-3584.
- 11- Nakano, T. and Hasehawa. W. *Buxus Alkaloids. The Constitutions of cyclomicrobuxine and cyclomicrobuxinine*, *J. of Chem. Soc.* 1965, 6686