

جداسازی و خالص‌سازی و تعیین ساختار ترکیبات اصلی موجود در اندام هوایی گیاه *Hippomarathrum microcarpum*

احمدرضا گوهری^۱، ایرج سلیمی کیا^۲، راضیه دستجردی^۳، سودابه سعیدنیا^۴، آزاده منایی^۵، حمیدرضا
منصف‌اصفهان‌ی^{۶*}

- ۱- دانشیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 - ۲- دانشجوی دکتری فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 - ۳- داروساز، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 - ۴- دانشیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 - ۵- استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 - ۶- دانشیار، گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- *آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵/۶۴۵۱، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
تلفن و نمابر: ۶۶۹۵۹۰۸۹ (۰۲۱)، کدپستی: ۱۴۱۷۶۱۴۴۱۱
پست الکترونیک: irajtakmar@gmail.com

تاریخ تصویب: ۹۳/۴/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۴

چکیده

مقدمه: خانواده چتریان یکی از خانواده‌های بزرگ گیاهی با پراکنش گسترده در جهان محسوب می‌شود. جنس *Hippomarathrum* یکی از اعضای خانواده بزرگ چتریان است و ۲۸ گونه در سراسر دنیا دارد که از این بین گونه *H. microcarpum* در شمال، شمال‌غرب، غرب و مرکز ایران و همچنین ترکیه، قفقاز و عراق پراکنده است.

هدف: در این بررسی ترکیبات اصلی موجود در عصاره اتیل استاتی حاصل از قسمت‌های هوایی گیاه *Hippomarathrum microcarpum* مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

روش بررسی: در این مطالعه از روش‌های کروماتوگرافی ستونی و کروماتوگرافی لایه نازک برای جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات استفاده شده است و ترکیبات خالص شده به وسیله داده‌های ¹H-NMR و ¹³C-NMR شناسایی شدند.

نتایج: در نتیجه این مطالعه دو کومارین (استول (۱) و ایزوایمپراتورین (۲)) و یک استرول (β -سیتوسترول (۳)) از عصاره اتیل استاتی گیاه جداسازی و شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: حضور کومارین‌های شاخصی همچون استول و ایزوایمپراتورین در گیاه *H. microcarpum* سبب اهمیت این گیاه می‌شود. این کومارین‌ها کاربردهای متنوعی در طب سنتی داشته و مطالعات جدید اکثر این کاربردها را تأیید کرده و اثرات جدیدتری از این کومارین‌ها را مشخص کرده است. با توجه به اینکه مطالعه زیادی درخصوص اندام هوایی این گیاه صورت نگرفته است و نیز با توجه به اثرات مهم کومارین‌های جدا شده از آن، انجام مطالعات بیشتر در زمینه فیتوشیمی و نیز بررسی اثرات بیولوژیک این گیاه لازم به نظر می‌رسد.

کل واژگان: *Hippomarathrum microcarpum*، استول، ایزوایمپراتورین، β -سیتوسترول



مقدمه

جنس *Hippomarathrum* یکی از اعضای خانواده بزرگ چتریان با ۲۸ گونه در سراسر دنیا می باشد که از این بین گونه *H. microcarpom* در شمال، شمال غرب، غرب و مرکز ایران و همچنین ترکیه، قفقاز و عراق پراکنده است [۱]. مطالعات فیتوشیمیایی محدودی روی این جنس انجام شده است و بیشتر مطالعات انجام شده مربوط به شناسایی ترکیبات اسانس گونه موردنظر و تعدادی از گونه های دیگر این جنس می باشد. در بازننگری مقالات، ترکیبات بتا کاربوفیلن، آلفا پینن و بتا کاربوفیلن اوکسید به عنوان ترکیبات اصلی اسانس گیاه *H. boissieri* گزارش شده اند [۲]. در یک مطالعه از اسانس گیاه *H. microcarpom* ترکیبات بتا جرماکرن (۶/۸ درصد)، آلفا پینن (۱۵/۹ درصد)، بتا کاربوفیلن (۷/۸ درصد)، بتا فلائدرن (۱۵/۷ درصد) و در مطالعه دیگر بتا کاربوفیلن، بتا کاربوفیلن اوکسید و بورنیل استات به عنوان ترکیبات عمده اسانس جداسازی شدند [۳،۴].

همچنین فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره متانولی *H. microcarpom* نیز در مطالعه قبل بررسی شده است. نتایج این مطالعه نشان داده است که اسانس گیاه فعالیت مهاری قوی بر روی ۸ باکتری، ۹ قارچ و یک مخمر دارد در حالی که عصاره متانولی فعالیت ضد میکروبی ضعیفی را دارا می باشد [۴].

مواد و روش ها

تجهیزات: سیلیکاژل فاز نرمال (مش ۳۵-۷۰، Merck آلمان)، MPLC (سیلیکاژل فاز نرمال، مش ۲۳۰ - ۴۰۰، BÜchi سوئیس)، سفادکس LH_{۲۰} (Fluka biochemika، 25-100 µm سوئیس)، صفحات پوشش داده سیلیکاژل (Merck plates 20*20 cm, Silica gel 60 F₂₅₄, TLC aluminium sheets، آلمان)، دستگاه تقطیر (GFL آلمان)، (Büchi سوئیس) rotary evaporator UV Cabinet، (Camag آلمان)، ترازو (Mettler سوئیس)، دستگاه NMR (Bruker Advance 500 DRX)، دستگاه Sonicator (Tecno-Gaz ایتالیا)، معرف انیزالدهید/سولفوریک اسید،

دستگاه فریزدرایر (SciQuip انگلیس).

قسمت های هوایی گیاه *H. microcarpom* تیر ماه ۱۳۹۰ در مرحله گلدهی از محل رویش طبیعی آن در استان قزوین (معلم کلايه، باغدشت، زردچین، به طرف روستای کاله) جمع آوری و پس از تمیز کردن نمونه در سایه و در دمای اتاق خشک شد. نمونه هرباریومی در هرباریوم گیاهان دارویی جهاددانشگاهی کرج (ACECR, Academic Center for Education, Culture and Research) تحت شماره ۱۵۹۵ نگهداری شد. قسمت های هوایی خشک شده *H. microcarpom* که به قطعات کوچک تری خرد شد (۱۵۰ گرم) سه بار و هر بار به مدت ۴۸ ساعت با حلال اتیل استات عصاره گیری شد. عصاره حاصل پس از صاف شدن بوسیله دستگاه تقطیر در خلاء دوار تغلیظ و با فریزدرایر خشک شد و در نهایت ۳۳ گرم عصاره اتیل استاتی به دست آمد.

عصاره اتیل استاتی (۳۳ گرم) توسط ستون سیلیکاژل فاز نرمال و شستشو با حلال های هگزان - کلروفرم (۳:۷)، هگزان - کلروفرم (۷:۳)، کلروفرم، کلروفرم - اتیل استات (۳:۷)، کلروفرم - اتیل استات (۵:۵)، کلروفرم - اتیل استات (۸:۲)، اتیل استات و متانول به ۱۵ فراکسیون تبدیل شد که با حروف A تا O نامگذاری شدند. بخشی از فراکسیون E (۳۱۵۰ میلی گرم) توسط ستون MPLC و شویش با حلال های هگزان - کلروفرم (۶:۴)، هگزان - کلروفرم (۷:۳)، هگزان - کلروفرم (۸:۲) و کلروفرم به ۹ فراکسیون E_۱ تا E_۹ تبدیل شد. فراکسیون E_۳ با وزن کلی ۲۴۷ میلی گرم انتخاب و برای جداسازی بیشتر بر ستون سفادکس LH_{۲۰} بارگذاری شد، ستون با سیستم حلالی کلروفرم - متانول (۳:۷) شسته شد و در نهایت ۵ فراکسیون حاصل گشت. فراکسیون ۳ (۳۳ میلی گرم) بر ستون سفادکس باریک و بلند بارگذاری شد و با سیستم حلالی کلروفرم - متانول (۳:۷) شسته و در نهایت ۱۰ فراکسیون حاصل شد و فراکسیون ۳ به عنوان ترکیبات ۱ و ۲ جداسازی شد.

در ادامه مسیر فراکسیون E_۴ انتخاب و بر روی ستون سفادکس باریک و بلند بارگذاری و با سیستم حلالی کلروفرم - متانول (۳:۷) شسته شد. در نهایت ۸ فراکسیون حاصل شد و



استاتی اندام هوایی گیاه *H. microcarpum* شناسایی شد (شکل شماره ۱).

طیف‌های $^1\text{H-NMR}$ و $^{13}\text{C-NMR}$ ترکیبات جدا شده ۱ تا ۳ به شرح زیر می‌باشد.

استول (۱):

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ H: 6.23 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 7.60 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 7.29 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5), 6.83 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6), 3.53 (2H, d, $J=7$ Hz, H-1'), 5.22 (1H, t, $J=7$ Hz, H-2'), 1.66 (3H, s, H-4'), 1.84 (3H, s, H-5'), 3.92 (3H, s, OMe-7).

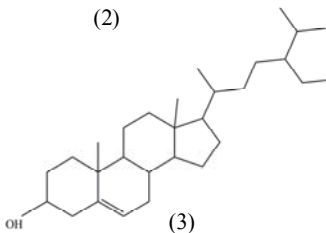
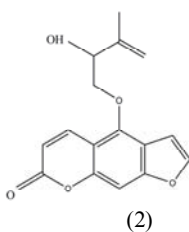
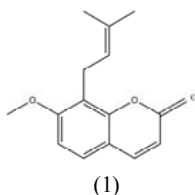
$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ C: 161.3 (C-2), 112.9 (C-3), 143.7 (C-4), 126.1 (C-5), 107.3 (C-6), 160.1 (C-7), 117.9 (C-8), 112.5 (C-4a), 152.6 (C-8a), 21.9 (C-1'), 121.0 (C-2'), 132.6 (C-3'), 25.7 (C-4'), 17.9 (C-5'), 56.02 (OMe-7).

فراکسیون ۷ آن به عنوان ترکیب خالص ۳ به وزن ۱۵ میلی‌گرم جداسازی شد.

مواد جدا شده با سیستم حلال کلروفرم- اتیل استات (۱:۱۹) بر روی صفحات پوشش داده شده سیلیکاژل مورد قرار گرفتند. برای ظهور لکه اجسام روی TLC از تابش اشعه UV در ۲۵۴ و ۳۶۶ نانومتر و نیز پاشیدن معرف انیزالدهید/سولفوریک اسید و به دنبال آن حرارت استفاده شد. جهت تعیین ساختمان مواد جدا شده، طیف‌های $^1\text{H-NMR}$ و $^{13}\text{C-NMR}$ در دستگاه NMR مدل Bruker Advance 500 DRX در حلال کلروفرم با قدرت ۵۰۰ مگا هرتز با معرف داخلی تترامتیل سیلان گرفته شد.

نتایج

طی بررسی‌های انجام شده ترکیبات استول (۱)، ایزوایمپراتورین (۲) و β -سیتوسترول (۳) از عصاره اتیل



شکل شماره ۱- ساختار ترکیبات جدا شده از اندام هوایی گیاه *Hippomarathrum microcarpum*



ایزواپیمراتورین (۲):

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ H: 6.27 (1H, d, $J=9.7$ Hz, H-3), 7.61 (1H, d, $J=9.7$ Hz, H-4), 7.15 (1H, s, H-8), 7.60 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3'), 4.92 (2H, d, $J=6.8$ Hz, H-1''), 5.53 (1H, t, $J=6.8$ Hz, H-2''), 1.70 (3H, s, H-4''), 1.80 (3H, s, H-5'').

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ C: 161.3 (C-2), 112.5 (C-3), 139.5 (C-4), 148.9 (C-5), 114.2 (C-6), 160.1 (C-7), 94.2 (C-8), 107.3 (C-4a), 152.6 (C-8a), 144.8 (C-2'), 105.0 (C-3'), 69.7 (C-1''), 119.05 (C-2''), 139.8 (C-3''), 25.7 (C-4''), 17.9 (C-5'').

 β -سیستوسترول (۳):

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ H: 3.52 (1H, m, $J=6.3, 4.5$ Hz, H-3), 5.36 (1H, bs, H-6), 0.69 (3H, s, H-18), 1.02 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, $J=5.8$ Hz, H-21), 0.81 (3H, d, H-26), 0.83 (3H, d, H-27), 0.84 (3H, t, H-29).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ C: 37.24 (C-1), 31.66 (C-2), 71.79 (C-3), 42.29 (C-4), 139.68 (C-5), 122.65 (C-6), 31.91 (C-7), 31.91 (C-8), 50.07 (C-9), 36.62 (C-10), 21.05 (C-11), 39.75 (C-12), 42.34 (C-13), 56.71 (C-14), 24.31 (C-15), 28.25 (C-16), 56.07 (C-17), 11.87 (C-18), 19.32 (C-19), 36.18 (C-20), 18.80 (C-21), 34.00 (C-22), 26.13 (C-23), 45.88 (C-24), 29.20 (C-25), 19.82 (C-26), 19.02 (C-27), 23.01 (C-28), 11.98 (C-29).

بحث

در طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب ۱، ۴ سیگنال در ناحیه آروماتیک (بین ۶/۲ و ۷/۶ ppm) نشان داده شده است.

پیک doublet در ۶/۲۳ ppm با پیک doublet دیگر در ۷/۶۰ ppm در ارتباط است. ثابت جفت شدن بالا و این شیفت‌های شیمیایی مشخصه‌ای از حضور یک هسته کومارین می‌باشند. پیک ۶/۲۳ ppm مربوط به هیدروژن ۳ و پیک ۷/۶۰ ppm مربوط به هیدروژن ۴ در حلقه کومارین است. این ثابت جفت شدن بالا ($J=9/4$ Hz) نشان می‌دهد که این دو پروتون نسبت به یکدیگر موقعیت ارتو دارند. دو پیک دیگر در ناحیه آروماتیک وجود دارد، سیگنال doublet در ۶/۸۳ ppm با سیگنال doublet دیگر در ۷/۲۹ ppm در ارتباط است که این پیک‌ها مربوط به هیدروژن‌های ۵ و ۶ می‌باشند. پیک ppm

۳/۹۲ مربوط به گروه متوکسی متصل شده به حلقه آروماتیک هسته کومارین است.

۴ گروه پروتون باقی‌مانده، شامل ۳ پروتون در ۱/۶۶ ppm، ۳ پروتون در ۱/۸۴ ppm و ۲ پروتون در ۳/۵۳ ppm و ۱ پروتون در ۵/۲۲ ppm، مشخصات یک واحد isoprene اتصال یافته به حلقه کومارین می‌باشند. گروه اول و دوم از این چهار گروه پروتون، مربوط به دو گروه متیل متصل به باند دوگانه این واحد isoprene می‌باشند به عبارت دیگر مربوط به گروه‌های متیل موقعیت ۴' و ۵' این واحد ایزوپرن می‌باشند. از اطلاعات طیف $^1\text{H-NMR}$ می‌توان فهمید که این ترکیب یک اسکلت کومارین متصل شده به یک واحد ایزوپرن دارد.

در طیف $^{13}\text{C-NMR}$ ، ۱۵ پیک مربوط به ۱۵ کربن این ترکیب را نشان داده است. ۱۱ پیک در ناحیه بین ۱۰۷/۳ ppm و ۱۶۱/۳ ppm وجود دارد که مربوط به کربن‌های آروماتیک و باند دوگانه واحد ایزوپرن می‌باشد. کربن مشاهده شده در ۵۶ ppm مربوط به گروه متوکسی متصل شده به حلقه فنیل می‌باشد. ۳ کربن باقی‌مانده در پایین‌ترین شیفت شیمیایی، در ۱۷/۹ ppm، ۲۱/۹ و ۲۵/۷ ppm مربوط به کربن‌های ۵'، ۱' و ۴' می‌باشند. با مقایسه طیف کربن و پروتون این ترکیب با فرانس‌ها، ساختار زیر برای ترکیب ۱ پیشنهاد شد که Osthole نامیده می‌شود.

در طیف $^1\text{H-NMR}$ جسم ۲، ۵ پیک در ناحیه آروماتیک بین (۶/۲۶ و ۷/۶۲) نشان داده است.

پیک doublet در ۶/۲۷ ppm با پیک doublet دیگر در ۷/۶۱ ppm در ارتباط است و به ترتیب مربوط به هیدروژن‌های شماره ۳ و ۴ می‌باشند. دو پیک doublet دیگر در ناحیه آروماتیک در ۶/۹۵ و ۷/۵۸ ppm با هم در ارتباط می‌باشند و به ترتیب مربوط به هیدروژن‌های ۲' و ۳' می‌باشند. پیک ۷/۱۵ ppm مربوط به کربن ۸ از اسکلت کومارین است و تک شاخه‌ای بودن آن نشان می‌دهد که کربن موقعیت ۷ پروتونی ندارد. دو پیک singlet در ۱/۷۰ و ۱/۸۰ (هر کدام ۳ پروتون) مربوط به گروه‌های متیل واحد ایزوپرن متصل شده به اسکلت کومارین می‌باشند.



می‌گیرد (ppm ۷۱/۸۳). کربن مربوط به گروه‌های متیل در محدوده ۱۱/۸۷ تا ۱۹/۸۲ ppm ایجاد شش پیک مشخص می‌نماید که مؤید حضور شش کربن می‌باشد. مقایسه موقعیت سایر کربن‌ها با منابع موجود ساختمان پیشنهاد شده با نام بتاسیتوسترول را تایید می‌کند.

اندام هوایی گیاه *H. microcarpum* تا این زمان مورد مطالعه فیتوشیمیایی نبوده است و اکثر مطالعات انجام شده مربوط به بررسی ترکیبات موجود در اسانس و میوه‌های آن بوده است [۵]. استول یک ایزوپنتیلیت کومارین و ایزوایمپراتورین یک فورانوکومارین است. نگاهی بر مطالعات قبلی در مورد اثرات کومارین‌های جدا شده نشان می‌دهد که این ترکیبات می‌توانند مسئول بسیاری از اثرات گیاهان در درمان‌های طب سنتی باشند. قبلاً استول به عنوان ماده فعال زیستی در گیاه *Cnidium monnieri* شناسایی شده است و مطالعات انجام شده نشان داد که اثرات آنتی‌آرژیک این گیاه به دلیل حضور استول در آن است [۶]. استول همچنین از ریشه گیاه *Angelica pubescen* جدا شده است. این گیاه در طب سنتی چین برای درمان بیماری‌های ارتوپدیک متنوعی استفاده می‌شده‌اند [۷]. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که استول دارای اثرات آنتی‌تومور [۸]، القای آپوپتوز بر سلول‌های A549 سرطان ریه [۹]، تحریک تمایز سلولی استنوبلاست‌ها [۱۰] و همچنین بهبوددهنده فعالیت‌های شناختی می‌باشد [۱۱]. بنابراین می‌تواند به عنوان یک ماده نویدبخش در درمان بیماری‌های همچون سرطان، استئوپروز و آلزایمر مطرح شود. به علاوه استول اثر، vasorelaxant [۱۲] و آنتی میکروبیال [۱۳] دارد و از طریق افزایش گلوکوزاسیون آنتی‌ژن سطحی ویروس هپاتیت B اثر مهارتی روی ترشح این ویروس را دارا می‌باشد [۱۴].

ایزوایمپراتورین از ریشه گیاه *A. dahurica* نیز جدا شده است. این گیاه در طب سنتی چین به عنوان خواب‌آور، آرامبخش و ضد درد به کار رفته است [۱۵]. مطالعات جدید کاربردهای این گیاه در طب سنتی رابه ایزوایمپراتورین نسبت داده و اثرات جدیدتری از این کومارین را مشخص ساخته است. چندین کومارین از جمله ایزوایمپراتورین از ریشه گیاه

طیف $^{13}\text{C-NMR}$ ۱۵ پیک اصلی مربوط به ۱۶ کربن این ترکیب را نشان داده است. ۱۱ پیک در ناحیه آروماتیک بین (ppm ۹۴/۲ تا ۱۶۱/۳) مشاهده شده که مربوط به کربن‌های اسکلت کومارین و کربن‌های حلقه آروماتیک و کربن‌های باند دوگانه واحد ایزوپرن می‌باشند. با مقایسه طیف کربن و پروتون این ترکیب با فرانس‌ها، ساختار زیر برای ترکیب ۲ پیشنهاد شد که Isoimeratorin نامیده می‌شود.

در طیف $^1\text{H-NMR}$ جسم ۳ می‌توان به تعداد متیل‌ها اشاره کرد که در محدوده ۰/۶۹ تا ۱/۰۲ ppm ظاهر شده‌اند. حضور دو پیک بلند در ابتدا و انتهای این قسمت به ترتیب مربوط به متیل موقعیت ۱۸ و ۱۹ در ساختمان استرول‌ها است. انتگرال گروه‌های متیل موید وجود شش گروه متیل است. پیک مربوط به بقیه متیل‌ها بین این دو پیک ظاهر می‌شوند. متیل ۲۱ به صورت دو شاخه با ثابت اسپین ۶/۵ Hz ظاهر شده است. علت دو شاخه بودن پروتون‌های متیل ۲۱، مجاورت با پروتون ۲۰ می‌باشد.

پیک تک شاخه دارای پهن‌شدگی در ppm ۵/۳۴ مربوط به پروتون ۶ می‌باشد. این پروتون اولفینی بوده لذا در پایین‌ترین میدان در طیف مربوط ظاهر می‌شود و توسط پروتون‌های موقعیت ۷ به صورت تک شاخه پهن مشاهده می‌شود. انتگرال این پیک وجود یک پروتون را نشان می‌دهد. پیک چند شاخه در ppm ۳/۵۲ مربوط به پروتون موقعیت ۳ می‌باشد. این پروتون به دلیل مجاورت با OH در میدان پایین‌تری قرار گرفته است و تحت تأثیر پروتون‌های موقعیت ۲ و ۴ به صورت چند شاخه ظاهر می‌شود. انتگرال این پیک وجود یک پروتون را نشان می‌دهد.

در طیف $^{13}\text{C-NMR}$ شمارش تعداد پیک‌ها نشان‌دهنده وجود ۲۹ کربن در جسم بوده که مؤید ساختمان استرول ۲۹ کربنی است. کربن‌های ۵ و ۶ به دلیل وجود پیوند دوگانه در پایین‌ترین میدان در طیف مشاهده می‌شوند. پیک مربوط به آنها به ترتیب در ۱۴۰/۸ و ۱۲۱/۷ ppm قرار می‌گیرد. کربن شماره ۵ کربن نوع چهار بوده و نسبت به کربن ۶ در میدان پایین‌تری ظاهر می‌شود. کربن موقعیت سه به دلیل حضور OH در میدان پایین‌تری نسبت به سایر کربن‌های مشابه قرار



بیشتر در مورد این گیاه و سایر گونه‌های این جنس لازم به نظر می‌رسد به ویژه مطالعاتی که روی مقدار مواد جدا شده از گیاه تمرکز کرده باشد زیرا با مقایسه TLC‌های عصاره اتیل استاتی به نظر می‌رسد گیاه فوق سرشار از کومارین باشد. همچنین می‌تواند مطالعاتی در زمینه اثرات بیولوژیک گیاه مذکور و سایر گونه‌های این جنس انجام گیرد.

نتیجه گیری

در مطالعه فیتوشیمیایی حاضر از بخش‌های هوایی گیاه *H. microcarpum* دو کومارین و یک استرول جداسازی شده و بر پایه داده‌های $^1\text{H-NMR}$ و $^{13}\text{C-NMR}$ به عنوان استول (۱)، ایزوایمپراتورین (۲) و بتا سیتوسترول (۳) شناسایی شده‌اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از آقای مهندس یوسف اجنی جهت جمع‌آوری گیاه قدردانی می‌نمایند.

A. dahurica جداسازی شده است و اثر آنها روی تشکیل AGEs (Advanced Glycation Endproduct) بررسی شده است. در این مطالعه اثر مهار ایزوایمپراتورین از کنترل مثبت آزمایش بیشتر بود [۱۶]، به علاوه ایزوایمپراتورین به صورت انتخابی COX-2 و 5-Lipoxygenase را مهار می‌کند [۱۶] همچنین این ترکیب قادر است سیتوتوکسیسیته القا شده با aflatoxin B1 را مهار کند [۱۷]. بر پایه این مطالعات ایزوایمپراتورین می‌تواند به عنوان یک ماده نویدبخش برای درمان بیماری‌های آلزایمر و بیماری‌های مرتبط با دیابت مثل رتینوپاتی، نفروپاتی و نوروپاتی و نیز به عنوان پایه‌ای برای ساخت داروهای ضد درد و ضد التهاب جدید که به صورت انتخابی عمل می‌کنند و همچنین به عنوان یک chemopreventive قوی در نظر گرفته شود.

نتایج حاصل از مطالعه فیتوشیمیایی بر روی بخش‌های هوایی این گیاه وجود دو کومارین و یک استرول را به اثبات رساند. با توجه به اینکه مطالعه زیادی درخصوص گیاه *H. microcarpum* و سایر گونه‌های این جنس صورت نگرفته است و نیز با توجه به کاربردهای با اهمیت کومارین‌های جدا شده از آن، انجام مطالعات فیتوشیمیایی

منابع

- Ghahramani A. Irainan flora. Research Institute of Rangelands and Forests. Tehran, Iran. 1368, pp: 235. (In persian).
- Baser KHC, Ozek T and Aytac Z. Essential Oil of *Hippomarathrum boissieri* Reuter et Hausskn. *J. Esse. Oil Res.* 2000; 12: 231 - 2.
- Khalilzadeh MA, Tajbakhsh M, Gholami FA, Hosseinzadeh M, Dastoorani P, Norouzi M and Dabiri HA. Composition of the essential oils of *Hippomarathrum microcarpum* (*M. Bieb.*) *B. Fedtsch.* and *Physospermum cornubiense* (*L.*) *DC.* From Iran. *J. of Ess. oil Res.* 2007; 19: 567 - 8.
- Ozer H, Sokmen M, Gulluce M, Adiguzel A, Sahin F, Sokmen A, Kilic H, Baris O. Chemical composition and antimicrobia antioxidant activities of *Hippomarathrum micrcarpum* (*Bieb.*) from Turkey. *J. Agric Food Chem.* 2007; 55: 937 - 42.
- Pigulevskii G, Dranitsyna YA, Kerimov SS and Kozhina I. Coumarins and furocoumarins of *Hippomarathrum microcarpum*. *Chem. Nat. Compd.* 1967; 3: 178.
- Matsuda H, Tomohiro N, Ido Y and Kubo M. Anti-allergic effects of *cnidiimonieri fructus* (dried fruits of *cnidium monnieri*) and its major component, osthole. *Biol. Pharm. Bull.* 2002; 25: 809 - 12.
- Dong W, Zhang Zh, Liu Zh, Liu H, Wang X, Bi Sh, Wang X, Ma T and Zhang W. Protective effects of osthole, a natural derivative of coumarin,

against intestinal ischemia-reperfusion injury in mice. *Inter. J. Molecu. Med.* 2013; 31: 1367 - 74.

8. Chou SY, Hsu Ch, Wang KT, Wang MC and Wang Ch. Antitumor Effects of Osthol from *Cnidium monnieri*: An In Vitro and In Vivo Study. *Phytother. Res.* 2007; 21: 226 – 30.

9. Xu X, Qu D, Jiang T, Li Sh. Osthole induces G2/M arrest and apoptosis in lung cancer A549 cells by modulating PI3K/Akt pathway. *J. Exp. & Cli. Can. Res.* 2011; 30: 33.

10. Kuo PL, Hsu YL, Chang CH and Chang JK. Osthole-Mediated Cell Differentiation through Bone Morphogenetic Protein-2/p38 and Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 Pathway in Human Osteoblast Cells. *The J. Pharmacol. and Exp. Therapeu.* 2005; 314: 1290 - 9.

11. Dong X, Zhang D, Zhang L, Li W and Meng X. Osthole improves synaptic plasticity in the hippocampus and cognitive function of Alzheimer's disease rats via regulating glutamate. *Neo. Regenara. Res.* 2012; 7: 2325 - 32.

12. Ko FN, Wu TS, Liou MJ, Huang TF and Teng CM. Vasorelaxation of rat thoratic aorta caused by osthole isolated from *Angelica pubescens*. *Eur. J. Pharmacol.* 1992; 219: 29 - 34.

13. Cai J, Yu B, Xu G and Wu J. studies on the quality of fructus *Cnidii* comparison of antibacterial action. *Zhongguo Zhong Yao Zazhi* 1991; 16: 451 - 3.

14. Huang RL, Chen CC, Huang YL, Hsieh DJ, Hu CP, Chen CF and Chang Ch. Osthole Increases Glycosylation of Hepatitis B Surface Antigen and Suppresses the Secretion of Hepatitis B Virus In Vitro. *Hepatology.* 1996; 24: 508 - 15.

15. Kim HY, Lee KH, Lee DG and Lee S. The protective activity of linear furanocoumarins from *Angelica dahurica* against glucose-mediated protein damage. *J. the Kore. Soci. for Applied Biologi. Chem.* 2012; 55: 355 - 8.

16. Moon TC, Jim M, Son JK and Chang HW. The effects of isoimperatorin isolated from *Agelicae dahurica* on cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase in mouse bone marrow-derived mast cells. *Archives of Pharmacol Res.* 2008; 31: 210 - 5.

17. Pokharel YR, Han EH, Kim JY, Oh SJ, Kim SK, Woo ER, Jeong HG and Kang K. Potent protective effect of isoimperatorin against aflatoxin B1-inducible cytotoxicity in H4IIE cells: bifunctional effects on glutathioneS-transferase and CYP1A. *Carcinogenesis* 2006; 27: 2483 – 90.



Isolation and Structure Elucidation of Secondary Metabolites from Aerial Part of *Hippomarathrum microcarpum*

Gohari AR (Ph.D.)¹, Salimikia I (Ph.D. Student)², Dastjerdi R (Pharm.D.)¹,
Saeidnia S (Ph.D.)¹, Manayi A (Ph.D.)¹, Monsef Esfahani HR (Ph.D.)²

1- Medicinal Plants Research Center, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author: Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, P.O.Box: 14155-6451, Tehran, Iran

Tel & Fax: +98-21-66959089

Email: irajtakmar@gmail.com

Abstract

Background: Apiaceae family is one of the largest plant families with wide distribution all around the world. The genus *Hippomarathrum* has 28 species around the world which among them the species *H. microcarpum* outspread in the North, Northwest, West and Central of Iran, and also Turkey, Caucasus and Iraq.

Objective: In this study, the main compounds in ethyl acetate extract from aerial parts of the plant *Hippomarathrum microcarpum* have been studied.

Methods: The isolation and purification of the compounds were carried out using column chromatography. The structure of isolated compound established according ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectral data.

Results: Two coumarins (osthole and isoimperatorin) and one sterol (β -sitosterol) have been isolated and identified from ethyl acetate extract.

Conclusion: The presence of coumarines like osthole and isoimperatorin in *H. microcarpum* cause of the importance of this plant. This coumarines have verity of usages in traditional medicine and recent studies have supported most of these usages and revealed new effects of these coumarines. As regard that more research haven't been done about this plant and also because of significance effects of isolated coumarines, it seems necessary to perform further studies on biological effects of this plant.

Keywords: *Hippomarathrum microcarpum*, Isoimperatorin, Osthole, β -sitosterol

