

## گلیکوزیدهای ایریدوئیدی ریشه سنبل بیابانی آذربایجانی (*Eremostachys azerbaijanica* Rech.)

مسعود مدرسی<sup>1\*</sup>، مریم فولادینیا<sup>2</sup>، زهرا رفیعی<sup>3</sup>، عزیزاله جعفری<sup>4</sup>، کامران زرزاسنگان<sup>5</sup>

1- استادیار، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

2- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

3- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

4- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

5- داروساز، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

\*آدرس مکاتبه: کرمانشاه، خیابان دانشگاه، بلوار پرستار، دانشکده داروسازی، کدپستی: 6734667149

تلفن: 4276482 (0831)، نمابر: 4276493 (0831)

پست الکترونیک: modarresi1262@yahoo.com

تاریخ دریافت: 91/7/17

تاریخ تصویب: 91/10/19

### چکیده

مقدمه: گیاه *Eremostachys azerbaijanica* از خانواده نعناع، یکی از 16 گونه بومی متعلق به جنس *Eremostachys* می‌باشد. ریشه این گیاه در ایران، به صورت سنتی به عنوان ضد درد و ضد التهاب موضعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف: در این پژوهش، ریشه گیاه *E. azerbaijanica* مورد مطالعه فیتوشیمیایی قرار گرفت تا شاید از طریق شناسایی محتوای شیمیایی آن، بتوان در جهت استفاده صحیح از این ماده طبیعی در امر درمان بیماری‌ها، قدمی برداشت. روش بررسی: عصاره متانولی ریشه گیاه *E. azerbaijanica* به روش سوکسله تهیه شده و سه ترکیب از آن، توسط روش SPE و HPLC تهیه‌ای فاز معکوس جداسازی شد. در نهایت، ترکیبات توسط روش‌های طیف‌سنجی UV و NMR یک بعدی مورد شناسایی قرار گرفتند.

نتایج: سه گلیکوزید ایریدوئیدی به نام‌های لامالید، پولچلوزید I و سزاموزید از ریشه گیاه *E. azerbaijanica* جداسازی شدند. نتیجه‌گیری: از مطالعه نتایج حاصل از این پژوهش و یافته‌های قبلی چنین برمی‌آید که سه گلیکوزید ایریدوئیدی شناخته شده در این پژوهش، قبلاً در برخی دیگر از گونه‌های این جنس نیز مورد شناسایی قرار گرفته‌اند.

گل‌واژگان: ایریدوئید، پولچلوزید I، سزاموزید، لامالید، *Eremostachys azerbaijanica*



## مقدمه

در استان آذربایجان شرقی، ریشه برخی از گونه‌های متعلق به این جنس، به عنوان یک داروی ضددرد و ضدالتهاب، به صورت موضعی در درمان کوفتگی‌ها، ضرب خوردگی‌ها، التهابات و دردهای موضعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در جدول شماره 1 ترکیبات شیمیایی شناخته شده از برخی گیاهان متعلق به این جنس ارائه شده است. گونه مورد مطالعه در این پژوهش *Eremostachys azerbaijanica* (با نام فارسی سنبل بیابانی آذربایجانی) می‌باشد که تا به امروز هیچ‌گونه مطالعه فیتوشیمیایی بر روی آن صورت نپذیرفته است.

جنس *Eremostachys* که با نام فارسی سنبل بیابانی شناخته می‌شود، دربرگیرنده حدود 60 گونه می‌باشد. گیاهان متعلق به این جنس عمدتاً در کشورهای آسیای مرکزی و غربی از جمله ارمنستان، ترکمنستان، ایران، افغانستان، پاکستان، عراق و ترکیه پراکنگی دارند [1,2,3]. حدود 16 گونه از این جنس، در ایران شناسایی شده است [2,4,5]. تاکنون در منابع علمی به اهمیت، کاربرد و اثرات فارماکولوژیک گیاهان متعلق به این جنس اشاره‌ای نشده است، اما در طب سنتی ایران بخصوص

جدول شماره 1- ترکیبات شاخص شیمیایی شناسایی شده از چند گونه از جنس *Eremostachys*

منبع	ترکیبات شناسایی شده	گونه
6 و 7	لابیوز	<i>E. labiosa</i>
8	ویتامین E	<i>E. laciniata</i>
9	استاکیدرین و کولین	<i>E. speciosa</i>
10	ترکیبات کومارینی	<i>E. speciosa</i>
11	سیناروزید و لوتولین-7-1-اُ- بتا گلوکوپیرانوزید	<i>E. speciosa</i>
12	لابالینیک اسید	<i>E. molucelloides</i>
13	هارپاجید و 8- استیل هارپاجید	<i>E. fetissovia</i>
3	لوتولین و گلیکوزیدهای کریزواربول	<i>Eremostachys spp.</i>
14	ترکیبات لکتینی	<i>E. molucelloides</i> و <i>E. kaufmanniana</i>
15	فورسیتوزید B و ورباسکوزید	<i>E. glabra</i>
16	هگزاکوزیل-(ای)- فرولات و لئوکوسپتوزید	<i>E. glabra</i>
17	5 و 9- ای - پنستوموزید، 5 و 9- ای - 7 و 8- دی دهیدرو پنستوموزید و 6 و 9- ای - 8-اُ-استیل شانزسید متیل استر	<i>E. glabra</i>
18	فلومیزوزید II و ارموستاکین	<i>E. glabra</i>
19	دودکانال، ژرماکرن D، بتا کاریوفیلین و کاریوفیلین اکسید	<i>E. laevigata</i>
20	ژرماکرن D، ژرماکرن B، گاما الِمن، میرسن، بتا الِمن و بتافلاندرون	<i>E. macrophylla</i>
21	6- بتاهیدروکسی - 7 - ای لوگانین، لامالیید، شانزسید متیل استر، سزاموزید، 5- دئوکسی پولچلوزید و لامالییدیک اسید	<i>E. molucelloides</i>
22	فلویوزید، فلومیول و پولچلوزید،	<i>E. laciniata</i>
23	5- دئوکسی سزاموئیک اسید	<i>E. laciniata</i>



## مواد و روش‌ها

### مواد مصرفی

کلیه حلال‌های مورد استفاده در مرحله استخراج، استونیتریل مصرفی در مرحله HPLC، متانول به کار رفته جهت ثبت طیف UV و حلال آب دوتره (D<sub>2</sub>O)، ساخت کارخانه Merck آلمان بودند. تیوب‌های SPE C<sub>18</sub> (یک تیوب SPE محتوی جاذب ODS، وزن جاذب 10 گرم و ظرفیت بارگیری حلال 60 میلی‌لیتر) با نام تجاری Vertipak®، ساخت کارخانه Vertical تایلد بودند.

### تجهیزات دستگاهی

در این تحقیق از دستگاه HPLC با نام Knauer ساخت کشور آلمان با مشخصات پمپ 1000 مدل 7603، کنترل کننده 5000 مدل 7602 و ردیاب UV مدل 7605 استفاده شد. دستگاه HPLC به یک ستون تهیه‌ای ODS (با جاذب C<sub>18</sub>، به ابعاد 30 × 250 میلی‌متر، با اندازه ذره‌ای 10 میکرومتر ساخت کارخانه Vertical با نام تجاری Vertisep®) و یک لوپ 1 میلی‌لیتری، مجهز شد. همچنین جهت ثبت طیف‌ها، از دستگاه‌های اسپکتروفتومتر UV-Visible با نام Shimadzu مدل UV-2450 ساخت ژاپن و اسپکترومتر رزونانس مغناطیس هسته‌ای با نام Bruker مدل Spectrospin 200 ساخت سوئیس استفاده شد.

### تهیه نمونه گیاهی

ریشه گیاه *E. azerbaijanica* در اواسط شهریورماه از دامنه کوه‌های سهند واقع در استان آذربایجان شرقی، منطقه سراب، بخش کلیان، اطراف روستای ایدلو جمع‌آوری شد. با بررسی‌های مختلف گیاه‌شناسی (از جمله استفاده از کتاب *Flora Iranica* شماره 150 تألیف Rechinger K. H.) توسط مهندس محمدعلی قهرمانی (گیاه‌شناس مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی)، هویت گونه موردنظر مشخص شد و پس از نگهداری یک نمونه هرباریومی

آن با کد 15909 در هرباریومی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، جهت انجام این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. شایان ذکر است که عمده‌تاً از مشخصات اندام‌های هوایی گیاه، جهت شناسایی گونه گیاهی کمک گرفته شد [5]. پس از جمع‌آوری گیاه (اندام هوایی و ریشه‌ها) و شناسایی آن، ریشه‌ها در سایه خشک شدند. ریشه‌های خشک شده، از خاک و گرد و غبار، تمیز شده و همراه با پوست، کوبیده شدند و در نهایت آسیاب شدند. پودر به دست آمده، مدتی در فضای آزاد و سایه قرار داده شد تا کاملاً عاری از رطوبت شود. در نهایت پودر ریشه کاملاً خشک شده و در یک ظرف شیشه‌ای درب‌دار بسته‌بندی شد تا جهت انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

### استخراج ترکیبات از ریشه

200 گرم پودر ریشه گیاه پس از توزین، در داخل دو کاغذ کارتوش مناسب محبوس شده و در داخل دو دستگاه سوکسله 500 میلی‌لیتر قرار داده شد. جمعاً در داخل دو دستگاه حدود دو لیتر پترولیوم بنزین (با نقطه جوش 60 - 40 درجه سانتی‌گراد) وارد شده و پس از سوار نمودن کلیه قسمت‌های سیستم استخراج مداوم، عمل عصاره‌گیری انجام گرفت. عصاره به دست آمده از این مرحله، توسط دستگاه تقطیر در خلاء در دمای کمتر از 40 درجه سانتی‌گراد خشک شده و باقیمانده به دست آمده در داخل ظرف درب بسته، در دمای پایین‌تر از صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

پس از اتمام عصاره‌گیری با پترولیوم بنزین، کاغذ کارتوش‌ها از سوکسله خارج و با قرار دادن آنها در زیر هود، کاملاً عاری از پترولیوم بنزین شدند. کاغذ کارتوش‌های خشک شده را مجدداً در سوکسله قرار داده و به داخل آن حدود دو لیتر کلروفرم اضافه نموده و عملیات استخراج با کلروفرم مشابه با حلال پترولیوم بنزین، انجام شد. مراحل استخراج به ترتیب به وسیله دو حلال اتیل استات و متانول، همانند روش استخراج با پترولیوم بنزین پیگیری شد.

### خالص سازی ترکیبات

پس از بررسی‌های تجزیه‌ای صورت گرفته بر روی فراکسیون‌های به دست آمده از مرحله قبل، فراکسیون صفر درصد به عنوان مناسب‌ترین فراکسیون برای انجام مراحل بعدی مطالعه انتخاب شد. در این قسمت، از یک دستگاه HPLC مجهز به یک ستون تهیه‌ای ODS و یک لوپ 1 میلی‌لیتری، استفاده شد. فراکسیون صفر درصد به دست آمده از مرحله قبل، در حداقل مقدار آب مقطر، کاملاً حل شده و با حجم‌های 0/8 میلی‌لیتری، به دستگاه HPLC تزریق شد. برنامه زمانی و سیستم حلال‌گردانی به کار رفته در این آنالیز بدین صورت اجرا شد: از دقیقه صفر تا 150 سیستم حلال به صورت گردانی از 4 به 6 درصد استونیتریل در آب تغییر یافت، سپس از دقیقه 150 تا 249 درصد استونیتریل در آب بر روی 6 درصد ثابت مانده و در نهایت از دقیقه 249 تا 250 درصد استونیتریل در آب به صورت گردانی از 6 به 4 درصد کاهش یافت. در ضمن سرعت جریان سیستم حلال، 7 میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم شد و کلیه حلال‌ها و نمونه‌های تزریقی قبل از استفاده برای آنالیزهای HPLC، توسط فیلتر مخصوص، صاف شده و به وسیله دستگاه اولتراسونیک، گاززدایی شدند. همچنین بهترین طول موج برای ردیابی ترکیبات، 220 نانومتر تعیین شد. با اجرای برنامه فوق و تزریق‌های مکرر نمونه (با حجم‌های 0/8 میلی‌لیتر)، فراکسیون‌های مربوط به پیک‌های سه ترکیب (ترکیب شماره 1 با زمان بازداری 77/6 دقیقه، ترکیب شماره 2 با زمان بازداری 88/2 دقیقه و ترکیب شماره 3 با زمان بازداری 98/0 دقیقه)، به طور مجزا جمع‌آوری شدند (شکل شماره 1). در نهایت فراکسیون‌های جمع‌آوری شده از HPLC، هر یک به طور جداگانه در داخل دستگاه تقطیر در خلاء در دمای کمتر از 50 درجه سانتی‌گراد خشک شده و پس از توزین، در داخل ویال‌های کاملاً درب بسته و در دمای پایین‌تر از صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

پس از انجام عصاره‌گیری‌های اولیه، چهار عصاره فوق توزین و در ظروف مجزا و درب‌دار، در دمای پایین‌تر از صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### کارهای عملی صورت پذیرفته بر روی عصاره متانولی جداسازی ترکیبات

در این قسمت، جهت جداسازی اولیه ترکیبات، از یک تیوب استخراج فاز جامد (SPE) استفاده شد. بدین منظور، یک سیستم کروماتوگرافی، مجهز به پمپ خلاء و تیوب SPE C<sub>18</sub> طراحی شد. در ابتدا تیوب SPE به ترتیب به وسیله 150 میلی‌لیتر متانول خالص و 150 میلی‌لیتر آب مقطر شستشو داده شد (لازم به ذکر است که از ابتدای کار، پمپ خلاء روشن بوده و خلاء ملایمی را در داخل سیستم فراهم می‌آورده است و همچنین در طول فرآیند جداسازی، از خشک شدن تیوب SPE جلوگیری شده است). سپس 2 گرم از عصاره خشک شده متانولی توزین شده و بعد از حل نمودن در 10 میلی‌لیتر آب مقطر، بر روی تیوب SPE بارگیری شد. بعد از نفوذ نمونه به داخل جاذب تیوب SPE، 100 میلی‌لیتر از محلول‌های 0، 10، 20، 40، 60 و 80 درصد متانول در آب، به ترتیب از تیوب عبور داده شدند. به دنبال آن، 100 میلی‌لیتر متانول خالص و 100 میلی‌لیتر کلروفرم خالص نیز به ترتیب از تیوب گذرانده شدند. شایان ذکر است که هر محلولی از تیوب عبور داده می‌شد، به طور مجزا از انتهای تیوب، جمع‌آوری می‌شد. فرآیند جداسازی اولیه ترکیبات بر روی تیوب SPE، 10 بار و هر بار با 2 گرم عصاره متانولی و یک تیوب SPE تمیز و نو تکرار شد. بعد از جمع‌آوری تمام محلول‌های عبور داده شده از تیوب‌ها، هر یک از محلول‌های همسان، با یکدیگر ادغام شده و هر مجموعه از آنها به طور مجزا در داخل دستگاه تقطیر در خلاء، در دمای کمتر از 50 درجه سانتی‌گراد خشک شدند. باقی‌مانده‌های (فراکسیون‌های) خشک به دست آمده، به دقت توزین شده و در داخل ویال‌های کاملاً درب بسته در دمای پایین‌تر از صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.



## شناسایی ترکیبات

ترکیب شماره 2 با وزن 23/0 میلی گرم، به صورت جامد آمورف و به رنگ زرد کم رنگ، دارای ماکزیمم جذبی  $\lambda$  max) 230 نانومتر و مشخصات طیف‌های یک بعدی  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  به صورت زیر بود:

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 7.67 (s, 1H, H3), 5.81 (s, 1H, H1), 4.75 (d, J = 8.0Hz, 1H, H1'), 4.22 (d, J = 3.7Hz, 1H, H6), 3.94 (d, J = 12.1Hz, 1H, H6'b), 3.77 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.71 (d, J = 5.2Hz, 1H, H6'a), 3.61 (dd, J = 4.5, 3.8Hz, 1H, H7), 3.47-3.51 (m, 1H, H5'), 3.36-3.46 (m, 1H, H3'), 3.31-3.41 (m, 1H, H4'), 3.30 (dd, J = 8.6, 4.8Hz, 1H, H2'), 2.84 (d, J=11.7Hz, 1H, H9), 2.45 (m, 1H, H8), 1.00 (s, 3H, H10).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 168.0 (C11), 155.1 (C3), 110.6 (C4), 98.6 (C1'), 95.1 (C1), 77.0 (C6), 76.2 (C5'), 75.6 (C3'), 75.2 (C5), 72.2 (C2'), 70.2 (C4'), 69.5 (C7), 60.5 (C6'), 51.8 ( $\text{OCH}_3$ ), 47.2 (C9), 36.4 (C8), 12.4 (C10).

ترکیب شماره 3 با وزن 24/3 میلی گرم، به صورت جامد آمورف و به رنگ زرد کم رنگ، دارای ماکزیمم جذبی  $\lambda$  max) 233 نانومتر و مشخصات طیف‌های یک بعدی  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  به صورت زیر بود:

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 7.70 (s, 1H, H3), 5.71 (s, 1H, H1), 4.83 (d, J = 7.9Hz, 1H, H1'), 4.40 (d, J = 2.3Hz, 1H, H6), 3.93 (d, J= 11.1, 1H, H6'b), 3.77 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.66 (dd, J = 5.5, 2.2, 1H, H6'a), 3.51 (s, 1H, H7), 3.44-3.52 (m, 1H, H3'), 3.41-3.48 (m, 1H, H5'), 3.35 (dd, J = 8.8, 3.1, 1H, H2'), 3.34-3.44 (m, 1H, H4'), 2.65 (d, J = 5.7, 1H, H9), 1.49 (s, 3H, H10).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 168.4 (C11), 155.3 (C3), 110.7 (C4), 98.6 (C1'), 94.8 (C1), 76.2 (C5'), 75.4 (C3'), 74.3 (C6), 74.2 (C5), 72.4 (C2'), 70.2 (C4'), 63.9 (C7), 60.6 (C8), 60.5 (C6'), 52.1 (C9), 52.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 15.9 (C10).

## بحث

با در نظر گرفتن اطلاعات استخراج شده از طیف‌های UV و NMR یک بعدی ترکیبات شماره 1 تا 3 و با توجه به

در این مرحله از دو روش «ثبت طیف UV» و «ثبت طیف‌های یک بعدی  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$ » جهت شناسایی ترکیبات کمک گرفته شد. به منظور ثبت طیف‌های UV، از متانول استفاده شد و دامنه ثبت این طیف‌ها، 190 تا 400 نانومتر انتخاب شد. در ضمن حلال به کار رفته جهت طیف‌گیری‌های NMR، آب دوتره ( $\text{D}_2\text{O}$ ) بود.

## نتایج

وزن عصاره‌های پترولیوم بنزینی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی به دست آمده از 200 گرم پودر ریشه گیاه *E. azerbaijanica*، به ترتیب 1/854، 2/008، 2/079 و 95/981 گرم تعیین شد. علاوه بر این وزن فراکسیون‌های خشک شده 0، 10، 20، 40، 60، 80 و 100 درصد متانول در آب حاصل از 10 بار استخراج فاز جامد (یعنی جمعاً از 20 گرم عصاره متانولی)، به ترتیب 16/002، 1/240، 1/170، 1/010، 0/040، 0/070 و 0/050 گرم اندازه‌گیری شد.

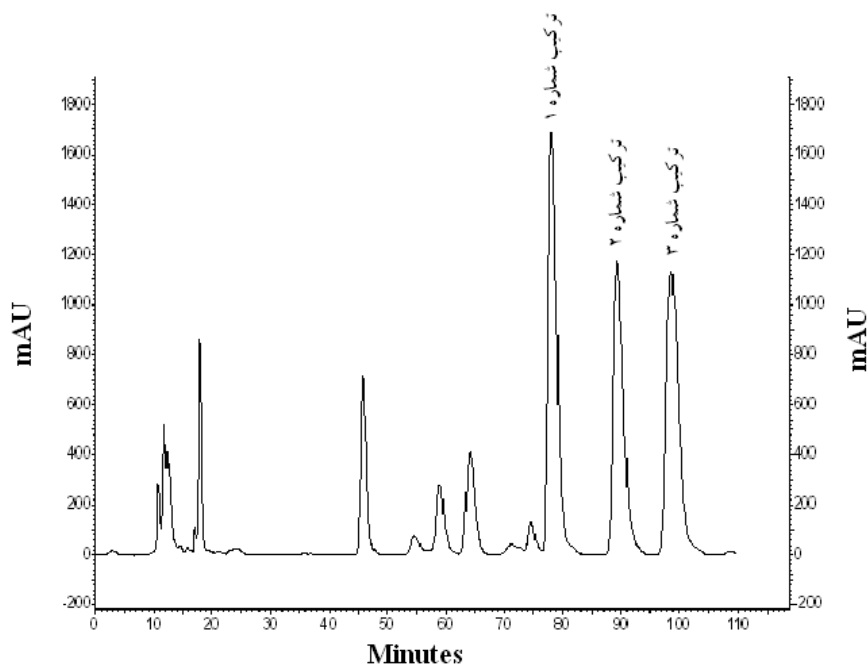
ترکیب شماره 1 با وزن 32/9 میلی گرم، به صورت جامد آمورف و به رنگ زرد کم رنگ، دارای ماکزیمم جذبی  $\lambda$  max) 235 نانومتر و مشخصات طیف‌های یک بعدی  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  به صورت زیر بود:

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 7.47 (s, 1H, H3), 5.65 (s, 1H, H1), 4.77 (d, J = 8.5Hz, 1H, H1'), 4.06 (T, J = 3.9Hz, 1H, H6), 3.96 (d, J = 12.1Hz, 1H, H6'b), 3.77 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.72 (d, J = 7.3Hz, 1H, H6'a), 3.67 (d, J = 4.3Hz, 1H, H7), 3.43-3.54 (m, 1H, H3'), 3.30-3.38 (m, 1H, H5'), 3.26 (T, J = 8.6Hz, 1H, H2'), 3.21-3.30 (m, 1H, H4'), 2.95 (dd, J = 10.9, 3.2Hz, 1H, H5), 2.82 (d, J=11Hz, 1H, H9), 1.22 (s, 3H, H10).

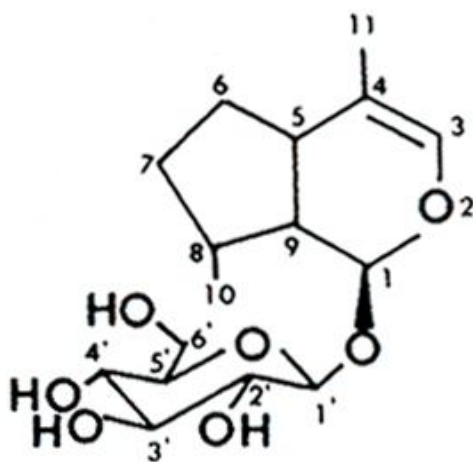
$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 169.5 (C11), 151.8 (C3), 110.3 (C4), 98.2 (C1'), 93.9 (C1), 77.7 (C8), 76.3 (C5'), 75.9 (C7), 75.6 (C3'), 72.6 (C2'), 69.6 (C4'), 60.7 (C6'), 57.6 (C6), 52.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 47.2 (C9), 35.3 (C5), 20.7(C10).

منوگلیکوزیدی با ساختمان پایه‌ای ارائه شده در شکل شماره 2 می‌باشد [24].

گروه‌های مختلف ترکیبات شناسایی شده از تیره نعنای و جنس *Eremostachys* و همچنین با بررسی طیف‌های UV و NMR یک بعدی آن گروه از ترکیبات، مشخص می‌شود که ترکیبات استخراج شده در این پژوهش یک ایزیدوئید



شکل شماره 1- کروماتوگرام حاصل از HPLC تهیه‌ای فراکسیون صفر درصد متانولی به دست آمده از SPE عصاره متانولی ریشه *E. azerbaijanica*



شکل شماره 2- ساختمان پایه‌ای یک گروه از ایزیدوئیدهای گلیکوزیدی [24].

منابع علمی نشان می‌دهد که در حقیقت این ترکیب، همان ترکیب از قبل شناخته شده Lamalbide (Lamiridoside) بوده و ساختمان گسترده آن به صورت ساختمان ارائه شده در شکل شماره 3 می‌باشد [25].

طیف‌های  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  ترکیب شماره 2 بسیار با مشابه ترکیب شماره 1 می‌باشد. مشاهده می‌شود که اختلاف عمده ترکیب شماره 2 با ترکیب قبلی، در جابجایی شیمیایی کربن‌های C-5 و C-8 می‌باشد. در طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  ترکیب شماره 1، کربن C-8 دارای جابجایی شیمیایی برابر با 77/7 ppm ولی در طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  ترکیب شماره 2 دارای جابجایی شیمیایی برابر با 36/4 ppm می‌باشد که احتمالاً به دلیل وجود یک اتم اکسیژن در مجاورت این کربن در ترکیب شماره 2 می‌باشد. همچنین کربن C-5 در طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  ترکیب شماره 1 که دارای جابجایی شیمیایی برابر با 35/3 ppm می‌باشد، در طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  ترکیب شماره 2، به جابجایی شیمیایی 75/2 ppm منتقل شده است که می‌توان تخمین زد که یک اتم اکسیژن به این موقعیت (نسبت به ترکیب شماره 1) اتصال یافته است [25].

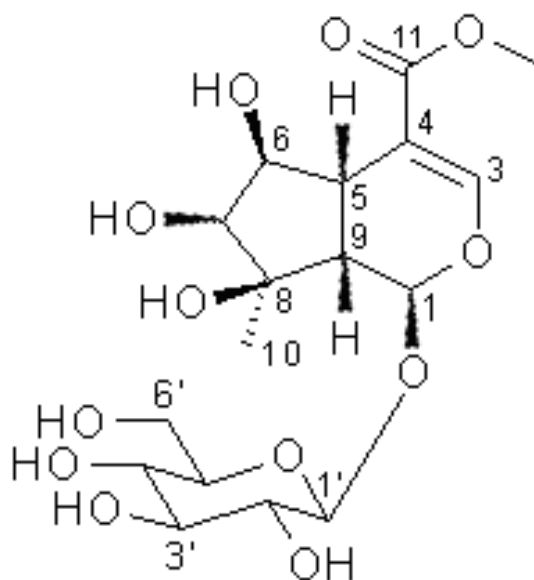
با استفاده از اطلاعات به دست آمده از طیف‌های NMR یک بعدی ترکیب شماره 2 (یعنی متشکل از یک ژنین 11 کربنه و یک مولکول گلوکز می‌باشد) و مقایسه این اطلاعات با منابع علمی حاوی اطلاعات مربوط به طیف‌های NMR یک بعدی ترکیبات ایریدوئیدی از قبل شناخته شده، مشخص می‌شود که ترکیب شماره 2 دقیقاً همان ترکیب از قبل شناخته شده Pulchelloside I می‌باشد. لذا نام ترکیب شماره 2، Pulchelloside I بوده و ساختمان گسترده آن به صورت ساختمان ارائه شده در شکل شماره 4 می‌باشد [28].

طیف‌های  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  ترکیب شماره 3 بسیار مشابه با ترکیب شماره 2 می‌باشد. اختلاف عمده طیف‌های این ترکیب با ترکیب شماره 2 در جابجایی‌های شیمیایی C-7 و C-8 است که به دلیل درگیر شدن این دو کربن در حلقه اپوکسیدی می‌باشد.

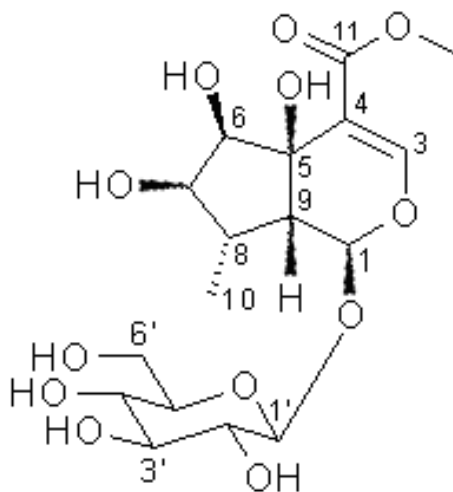
در طیف UV ترکیبات شماره 1 تا 3، یک پیک جذبی قوی در ناحیه 250 - 215 نانومتر مشاهده می‌شود که این جذب می‌تواند بیانگر وجود «یک گروه کربونیلی  $\alpha$  و  $\beta$ -غیراشباع» در ساختمان این ترکیبات باشد [25].

اطلاعات استخراج شده از طیف‌های UV و NMR ترکیبات شناسایی شده در این پژوهش، مشابه ترکیبات ایریدوئیدی مونوگلیکوزیدی می‌باشد که در ساختمان خود دارای یک گروه کربومتوکسی در ناحیه 4 و یک گروه متیل در ناحیه 8 می‌باشند [24، 26]. علاوه بر آن، وجود 17 پیک در طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  این ترکیبات اثبات می‌نماید که هر یک از ترکیبات شماره 1 تا 3، از 17 اتم کربن تشکیل یافته‌اند [24]. وجود چندین پیک جذبی در ناحیه 80 - 60 ppm و دو پیک در ناحیه 110 - 90 ppm در طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  و همچنین چندین پیک شاخه‌دار در محدوده 4/00 - 3/20 ppm و نیز یک پیک دو شاخه در محدوده 4/85 - 4/75 ppm (که با توجه به انتگراسیون پیک‌ها، احتمالاً مربوط به یک پروتون آنومریک قندی می‌باشد) در طیف  $^1\text{H-NMR}$  این ترکیبات، می‌تواند تأیید بیشتری بر مشارکت یک مولکول قند (گلوکز) در ساختمان آنها باشد [27].

در طیف‌های  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  ترکیب شماره 1، علاوه بر پیک‌های مربوط به مولکول قند و موقعیت متوکسی، پیک مربوط به یک گروه متیل C-8 ( $\delta_{\text{C}}: 20/7$   $\delta_{\text{H}}: 1/22$ )، یک کربن آلکنی C-3 ( $\delta_{\text{C}}: 151/8$   $\delta_{\text{H}}: 7/47$ )، سه گروه اکسی‌متینی C-1 ( $\delta_{\text{C}}: 93/9$   $\delta_{\text{H}}: 5/65$ )، C-6 ( $\delta_{\text{C}}: 77/6$   $\delta_{\text{H}}: 4/06$ )، C-7 ( $\delta_{\text{C}}: 85/9$   $\delta_{\text{H}}: 3/67$ )، دو گروه متینی C-5 ( $\delta_{\text{C}}: 35/3$   $\delta_{\text{H}}: 2/95$ ) و C-9 ( $\delta_{\text{C}}: 47/2$   $\delta_{\text{H}}: 2/82$ ) و یک کربن اکسیژنه کواترنری C-8 ( $\delta_{\text{C}}: 77/7$ ) نیز مشاهده می‌شود. با استفاده از اطلاعات استخراج شده از طیف‌های NMR یک بعدی ترکیب شماره 1 و مقایسه این اطلاعات با منابع علمی حاوی اطلاعات مربوط به طیف‌های NMR یک بعدی ترکیبات ایریدوئیدی شناخته شده، مشخص می‌گردد که ترکیب شماره 1 یک ترکیب گلیکوزیدی می‌باشد که دارای یک ژنین ایریدوئیدی 11 کربنه و یک مولکول گلوکز می‌باشد. بررسی



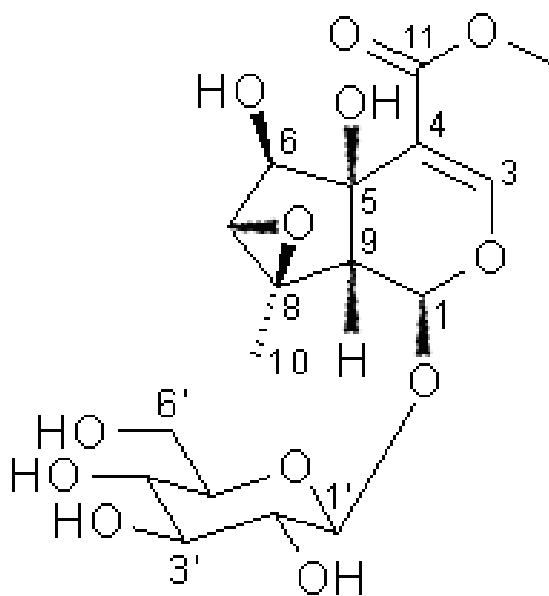
شکل شماره 3- ساختمان گسترده پیشنهاد شده برای ترکیب شماره 1 [25]



شکل شماره 4- ساختمان گسترده پیشنهاد شده برای ترکیب شماره 2 [28]

شده Sesanoside می‌باشد لذا نام ترکیب شماره 3 Sesanoside بوده و ساختمان گسترده آن به صورت ساختمان ارائه شده در شکل شماره 5 می‌باشد [26, 29].

مقایسه اطلاعات به دست آمده از طیف‌های NMR یک بعدی ترکیب شماره 3، با اطلاعات مربوط به طیف‌های NMR یک بعدی ترکیبات ایریدوئیدی شناخته شده، نشان می‌دهد که ترکیب شماره 3 دقیقاً همان ترکیب ایریدوئیدی از قبل شناخته



شکل شماره 5- ساختمان گسترده پیشنهاد شده برای ترکیب شماره 3 [29]

درمان ضرب خوردگی‌ها، کوفتگی‌ها و التهابات موضعی و همچنین دردهای موضعی، منطقی بوده و این گیاه می‌تواند در این زمینه مؤثر باشد [42].

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با کمک مالی و مساعدت معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به انجام رسیده است. ضمن تشکر و سپاس فراوان از این معاونت محترم، لازم به ذکر است که این مقاله منتج شده از پایان‌نامه دانشجویی آقای کامران زرزاسنگان جهت اخذ درجه‌ی دکتری رشته داروسازی از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.

تحقیقات نشان داده است که ایریدوئیدها دارای اثرات برجسته ضدالتهابی و ضددردی می‌باشند [30 - 35]. این ترکیبات از طریق مکانیسم‌هایی چون مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز، 5- لپوکسیژناز و هیالورونیداز، مهار تولید رادیکال‌های آزاد از لوکوسیت‌ها، مهار الاستاز لوکوسیت‌ها، مهار فعالیت ماکروفاژها، مهار سیستم کمپلمان و مهار آنزیم ترومبوکسان سینتاز، اثرات ضدالتهابی خود را بروز می‌دهند [33, 36 - 41].

با توجه به اینکه ریشه *E. azerbaijanica* مملو از ترکیبات ایریدوئیدی می‌باشد (در این پژوهش 3 ترکیب ایریدوئیدی از گیاه‌شناسایی شد) و ترکیبات ایریدوئیدی گلیکوزیدی، دارای اثرات ضدالتهابی شاخص و تا حدودی ضددردی می‌باشند، چنین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ریشه این گیاه در

1. Li XW, Hedge IC. Flora of China. Vol. 17. Science Press (Beijing) and Missouri Botanical Garden Press. Missouri. 1994, pp: 50 - 299.
2. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser. Tehran. 2003, pp: 207 - 8.
3. Azizian D, Cutler DF. Anatomical, cytological and phytochemical studies on *Phlomis* L. and *Eremostachys* Bunge (Labiatae). *Bot. J. Linn. Soc.* 1982; 85: 225 - 48.
4. Karimi H. Iranian Plant Names. First ed. Markaz Nashr Danshgahi. Tehran. 1995, pp: 216, 224, 268, 276, 278, 296, 317.
5. Rechinger KH. Flora Iranica (Labiatae). No. 150. Akademische Druck-U Verlagsanstalt Graz. Austria. 1982, pp: 256 - 92.
6. Strepkov SM. A new disaccharide, "labiose". *Chemische Berichte.* 1907; 70B: 1166 - 7.
7. Strepkov SM. Labiose, a new trisaccharide of the trehalose type. *Russ. J. Gen. Chem.* 1939; 9: 1489 - 92.
8. Zolotnitskaya SY, Akopyan GO. Vitamin E in Armenian plants. *Akademija Nauk Armyan.* 1954; 14: 75 - 91.
9. Pulatova TP. Presence of alkaloids in some plants of the family Labiatae. *Khimiya Prirodnikh SoedinenII.* 1969; 5 (1): 62 - 3.
10. Pulatova TP. Coumarin substances in some plants of the Labiatae family growing in Uzbekistan. *Meditinskii zhurnal Uzbekistana.* 1972; 11: 16 - 17.
11. Gella EV, Vavilova VI, Ermolov NG. Luteolin-7-glycoside from *Eremostachys speciosa*. *Khimiya Prirodnikh SoedinenII.* 1972; 5: 674.
12. Gusakova SD, Umarov AU. Oils from *Ziziphora pedicellata* and *Eremostachys molucelloides* seeds. *Khimiya Prirodnikh SoedinenII.* 1975; 11 (3): 324 - 8.
13. Gella EV, Vavilova NK. Monoterpene glycosides of *Eremostachys fetissoyii*. *Khimiya Prirodnikh SoedinenII.* 1980; 1: 44 - 8.
14. Levitskaya SV, Asatov SI, Yunusov TS. New species of lectin-containing plants. *Khimiya Prirodnikh SoedinenII.* 1984; 1: 86 - 8.
15. Delazar A, Gibbons S, Kumarasamy Y, Nahar L, Shoeb M, Sarker SD. Antioxidant phenylethanoid glycosides from the rhizomes of *Eremostachys glabra* (Lamiaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 2005; 33: 87 - 90.
16. Delazar A, Shoeb M, Kumarasamy Y, Beyres M, Nahar L, Modarresi M, Sarker SD. Two bioactive frulic acid derivatives from *Eremostachys glabra*. *DARU.* 2004; 12 (2): 49 - 53.
17. Delazar A, Beyres M, Gibbons S, Kumarasamy Y, Modarresi M, Nahar L, Shoeb M and Sarker SD. Iridoid glycosids from *Eremostachys glabra*. *J. Nat. Prod.* 2004; 67 (9): 1584 - 87.
18. Delazar A, Modarresi M, Shoeb M, Nahar L, Reid RG, Kumarasamy Y, Majinda RR and Sarker SD. Eremostachiin: a new furanolabdane diterpene glycoside from *Eremostachys glabra*. *Nat. Prod. Res.* 2006; 20 (2): 167 - 72.
19. Amiri H, Meshkat A, Sadat MH and Lari Yazdi H. Chemical composition of the essential oil of *Eremostachys laevigata* Bung. *DARU.* 2007; 15 (1): 41 - 4.
20. Nori-shargh D, Kiaei SM and Dyhimi F. The volatile constituents analysis of *Eremostachys macrophylla* Montbr. & Auch. from Iran. *Nat. Prod. Res.* 2007; 21 (8): 733 - 5.
21. Calis I, Guvenc A, Armaggan M, Koyuncu MH, Gotfredsen CR and Jensen S. Iridoid glycosids from *Eremostachys molucelloides* Bunge. *Wiley Inter. Sci.* 2007; 5: 25 - 30.
22. Modarresi M, Delazar A, Nazemiyeh H, Fathi



- Azad F, Smith E, Rahman MM, Gibbons S, Nahar L and Sarker SD. Antibacterial iridoid glycosides from *Eremostachys laciniata*. *Phytother. Res.* 2009; 23: 99 - 103.
23. Calis I. Secondary metabolites from *Eremostachys laciniata*. *Nat. Prod. Commun.* 2008; 3 (2): 117 - 24.
24. El-Naggar LJ and Beal JL. Iridoids: A review. *J. Nat. Prod.* 1980; 43 (5): 649 - 707.
25. Silverstien R and Vebster FX. Identification of organic compounds with spectroscopy methods, Translated by Mir Mohammad Sadeghi M, Saeidi MR. First ed. Entesharat Daneshgah Esfahan. Esfahan. 2000, pp: 161 - 319, 345 - 377.
26. Boros CA, Stermitz FR. Iridoids: An updated review. Part I. *J. Nat. Prod.* 1990; 53 (5): 1055 - 147.
27. Agrawal PK. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides, *Phytochem.* 1992; 31 (10): 3307 - 30.
28. Milz S and Rimpler H. Pulchellosid I, ein neues iridoid aus *Verbena pulchella* sweet. *Tetrahedron Lett.* 1978; 10: 895 - 8.
29. Potterat O, Msonthi JD and Hostettmann K. Four iridoid glucosides and a phenylpropanoid glycoside from *Sesamum angolense*. *Phytochem.* 1988; 27 (8): 2677 - 9.
30. Güvenalp Z, Özbek H, Ünsalar T, Kazaz C and Demrezer LÖ. Iridoid, flavonoid and phenylethanoid glycosides from *Weidemannia orientalis*. *Turk. J. Chem.* 2006; 30: 391 - 400.
31. Delaporte RH, Sanchez GM, Cuellar AC, Giuliani A, Palazzo de Mello J. Anti-inflammatory activity and lipid peroxidation inhibition of iridoid lamiide isolated from *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae). *J. Ethnopharmacol.* 2002; 82 (2 - 3): 127 - 30.
32. Ahmed B, Al-Rehaily AJ, Al-Howiriny TA, El-Sayed KA and Ahmad MS. Scropolioside-D<sub>2</sub> and harpagoside-B: two new iridoid glycosides from *Scrophularia deserti* and their antidiabetic and anti-inflammatory activity. *Biol. Pharm. Bull.* 2003; 26 (4): 462 - 7.
33. Ling SK, Tanaka T and Kouno I. Effects of iridoids on lipoxygenase and hyaluronidase activities and their activation by  $\beta$ -glucosidase in the presence of amino acids. *Biol. Pharm. Bull.* 2003; 26 (3): 352 - 6.
34. Kupeli E, Harput US, Varel M, Yesilada E and Saracoglu I. Bioassay-guided isolation of iridoid glucosides with antinociceptive and anti-inflammatory activities from *Veronica anagallis-aquatica* L. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 102 (2): 170 - 6.
35. Suksamrarn A, Kumpun S, Kirtikara K, Yingyongnarongkul B and Suksamrarn S. Iridoids with anti-inflammatory activity from *Vitex peduncularis*. *Planta Med.* 2002; 68 (1): 72 - 3.
36. Boje K, Lechtenberg M and Nahrstedt A. New and known iridoid- and phenylethanoid glycosides from *Harpagophytum procumbens* and their in vitro inhibition of human leukocyte elastase. *Planta Med.* 2003; 69 (9): 820 - 5.
37. Lin LC, Wang YH, Hou YC, Chang S, Liou KT, Chou YC, Wang WY and Shen YC. The inhibitory effect of phenylpropanoid glycosides and iridoid glucosides on free radical production and beta2 integrin expression in human leukocytes. *J. Pharm. Pharmacol.* 2006; 58 (1): 129 - 35.
38. Ju HK, Moon TC, Lee E, Baek SH, An RB, Bae K, Son KH, Kim HP, Kang SS, Lee SH, Son JK and Chang HW. Inhibitory effects of a new iridoid, patridoid II and its isomers, on nitric oxide and TNF-alpha production in cultured murine macrophages. *Planta Med.* 2003; 69 (10): 950 - 3.
39. Cimanga K, Hermans N, Apers S, Van Miert S, Van den Heuvel H, Claeys M, Pieters L and Vlietinck A. Complement-inhibiting iridoids from *Morinda Morindoides*. *J. Nat. Prod.* 2003; 66 (1): 97 - 102.
40. Diaz AM, Abad MJ, Fernández L, Recuero C, Villaescusa L, Silván AM and Bermejo P. In vitro

anti-inflammatory activity of iridoids and triterpenoid compounds isolated from *Phillyrea latifolia* L. *Biol. Pharm. Bull.* 2000; 23 (11): 1307 - 13.

**41.** Bermeio Benito P, Díaz Lanza AM, Silván Sen AM, De Santos Galindez J, Fernandez Matellano L, Sanz Gómez A and Abad Martínez MJ. Effects of some iridoids from plant origin on arachidonic

acid metabolism in cellular systems. *Planta Med.* 2000; 66 (4): 324 - 8.

**42.** Mohammadi A. Study of the analgesic compounds in *Eremostachys glabra* with Hot plate method. Thesis of Pharm.D. Tabriz University of Medical Sciences. Faculty of Pharmacy. 2005, pp: 52 - 6.

