

## بررسی فیتوشیمیایی فلاونوئیدها و روغن فرار گیاه رزماری کشت شده در ایران

دکتر علیرضا قنادی\*، دکتر سید ابراهیم سجادی\*، دکتر مبارک احمد محمد المسلمی\*\*

### خلاصه

گیاه رزماری یا اکلیل کوهی با نام علمی *Rosmarinus officinalis* L. یکی از گیاهان دارویی خانواده نعناعیان است که در ایران کشت می‌شود. با توجه به وجود ترکیبات فلاونوئیدی و روغن فرار در رزماری. در این مطالعه اقدام به شناسایی ترکیبات فوق گردید. پس از جمع‌آوری گیاه از محل دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و با استفاده از روش کروماتوگرافی کمی عصاره آبی - متانولی گیاه، دو ترکیب فلاونوئیدی جداسازی شد. با استفاده از طیفهای ماورای بنفش و ماورای بنفش همراه با معرفهای جابجا کننده، ساختمان این دو فلاونوئید از دسته فلاون‌ها یا فلاونول‌ها (احتمالاً دی‌هیدروفلانول‌ها) تشخیص داده شد.

ترکیبات موجود در روغن فرار حاصل از تقطیر با آب گیاه رزماری نیز با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی و همچنین کروماتوگرافی لایه نازک مورد شناسایی قرار گرفت. شناسایی این مواد در روغن فرار گیاه با استفاده از تعیین اندیس کواتس، بررسی زمان نگهداری هر ترکیب در ستون مورد مصرف در کروماتوگرافی گازی، طیفهای جرمی ثبت شده برای هر ترکیب در منابع، بررسی الگوی شکست ترکیبات و وجود مواد فوق در گزارش‌های آنالیز ترکیبات روغن فرار رزماری در سایر نقاط دنیا انجام شد. ترکیبات اصلی روغن فرار گیاه، تری‌سیکلن، (۱ و ۸-) سیتول، کامفر، کامفن و بورنیل استات شناسایی گردیدند.

واژه‌های کلیدی: رزماری، خانواده نعناعیان، فلاونوئید، روغن فرار.

### مقدمه

و همچنین مواد شیمیایی موجود در روغن فرار گیاهان مختلف از دستجات مورد توجه محققین جهت بررسیهای فیتوشیمیایی می‌باشند و یکی از مهم‌ترین علل این رویکرد، آثار فارماکولوژیک متنوع اینگونه ترکیبات است (۴-۲). یکی از گیاهان دارویی مهم که حاوی ترکیبات مذکور بوده و در سالهای اخیر نیز مطالعاتی بر روی آن انجام گرفته است گیاه رزماری یا اکلیل کوهی با نام علمی لاتین *Rosmarinus*

بسیاری از کشورها، تحقیقات گسترده‌ای را بر روی گیاهان دارویی انجام می‌دهند. مدارک و شواهد سالهای اخیر گویای این مطلب است که تحقیقات فوق علاوه بر استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی در درمان، منجر به بهره‌گیری از ساختارهای شیمیایی ترکیبات طبیعی بعنوان الگو و مدلی جهت ساخت سایر داروها می‌گردد (۱). ترکیبات فلاونوئیدی

\*دانشیار گروه فارماکوتکونوزی دانشکده داروسازی اصفهان

\*\*داروساز عمومی

مصرف می‌شود. گیاه رزماری در صنایع غذایی و آرایشی - بهداشتی نیز کاربرد وسیعی دارد (۱۳-۵). تا کنون آثار ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب، ضد کمیلمانی و آنتی‌گوندوتروپیک گیاه رزماری مورد بررسی و تایید قرار گرفته است (۹،۱۱،۱۲،۱۴).

#### مواد و روشها

برگ و سرشاخه‌های گلدار گیاه رزماری کشت شده در باغ گیاهان دارویی دانشکده داروسازی اصفهان، سیلیکاژل G 60 و GF/254 60 و حلالهای معمول آزمایشگاهی. قندهای مختلف شامل گلوکز، آرابینوز، گزیلوز، گالاکتوز، رامنسوز، فوکوز، معرفهای متوکسیدسیم، کزور آلومینیوم، اسید بوریک، Natural Product (دی فنیل بوریک اسید آمینواتیل استر)، پی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰۰، دی فنیل آمین، وانیلین - اسید سولفوریک ساخت شرکت مرک آلمان، آلکانهای نرمال (C 9-C18) ساخت شرکت سیگمای آمریکا، ترکیبات استاندارد منوترپنوییدی شامل آلفا پی‌تن، (۱-۴) سیترول، لینالول، لینالیل استات، ژرانیول، ژرانیل استات، بورنشول و بورنیل استات ساخت شرکت Roth آلمان.

دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل Perkin-Elmer 550-SF، دستگاه اسانس‌گیری BP، دستگاه تقطیر در خلاء Heidolph، دستگاه GC/MS مدل Varian 3400 (GC With Finnigan-MAT incos 50 MS) Spectrometer و سایر وسایل و تجهیزات معمول آزمایشگاهی.

برگ و سرشاخه‌های گلدار گیاه رزماری در پایان اردیبهشت سال ۱۳۷۶ از محل دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و در منطقه‌ای به ارتفاع ۱۵۵۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری گردیده و سپس در سایه خشک شد. پس از تطبیق نمونه هر بار بومی گیاه فوق با

*officinalis* L. از خانواده نعناعیان می‌باشد که پرورش آن در بسیاری از نقاط ایران نیز معمول است (۵). با توجه به مشخص نبودن ترکیبات شیمیایی گیاه رزماری در ایران، شناسایی برخی از مواد مؤثر، این گونه گیاهی در آزمایشگاه گروه فارماکوگنوسزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

رزماری گیاهی بوته‌ای، همیشه سبز تا ارتفاع دو متر با شاخه‌های افراشته و یا کُنگاه خوابیده بر روی زمین است که به رنگ سبز و معطر می‌باشد. برگهای گیاه در سطح بالایی چین و چروکدار و در سطح زیرین پوشیده از کرکهای کوتاه است. گلهای گیاه بصورت دسه‌هایی متشکل از چند گل در خوشه‌هایی که در طول محور پراکنده‌اند آرایش یافته و میوه رزماری مجموعه‌ای متشکل از چهار فندقه قهوه‌ای رنگ می‌باشد. برگ و سرشاخه‌های گلدار گیاه، اندام دارویی رزماری هستند که زمان جمع‌آوری آنها در بهار و تابستان ذکر شده است (۷-۵).

ماده متشکله اصلی برگ و سرشاخه‌های گلدار گیاه رزماری را روغن‌های فرار تشکیل می‌دهند که عمده ترین ترکیبات ذکر شده آن شامل ۱ و ۸- سبتول، بورنشول، بورنیل استات، کامفور، آلفا و بتا پینن می‌باشند. ترکیبات فوق بسته به شرایط جغرافیایی و ارتفاع محل کشت گیاه متغیر است (۶، ۸-۱۰). سایر ترکیبات طبیعی موجود در رزماری شامل فلاونوئیدها مانند لوتئولین، اسیدهای فلیک، دی و تری تیرپن‌ها، تانن‌ها، مواد تلخ، رزین، ساپونین و برخی از متابولیت‌های اولیه نظیر پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد (۱۳-۵).

مهمترین موارد مصرف گیاه رزماری شامل آثار ضد اسپاسم، ضد نفخ، اشتها آور، و آرامبخش می‌باشد. رزماری همچنین در برخی از فرآورده‌های موضعی

Natural Product و پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ جهت ظهور لکه‌های فلاونوئیدی استفاده شد. با استناد به نتایج حاصل از این قسمت و به منظور جداسازی دو فلاونوئید با  $R_f$  های ۰/۷۴ و ۰/۵۳ از روی سطح صفحات، اقدام به استفاده از روش کروماتوگرافی کمی با استفاده از فازهای ثابت و متحرک فوق‌الذکر و لایه‌های با قطر یک میلی‌متر گردید (۱۸-۱۵).

۱-۳: روش تهیه طیف متانولی به همراه معرفهای جابجاکننده - با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis و بمنظور شناسایی مواد جدا شده در مرحله قبل. اقدام به طیف‌نگاری در مورد این ترکیبات در طول موجهای ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر گردید. با توجه به ساختمان شیمیایی فلاونوئیدها و طیفهای جذبی قوسی این مواد در این ناحیه‌ها که بنام باندهای I و II معروف می‌باشند و با استناد به این مطلب که باندهای جذبی فوق در اثر مجاورت ترکیب با تعدادی از معرف‌های شیمیایی جابجا می‌گردند، لذا به کمک این جابجایی‌های جذبی می‌توان تعدادی از عوامل شیمیایی استخلاف شده بر روی هسته فلاونوئیدی را تشخیص داد (۱۵، ۱۷، ۱۸). به منظور بررسی ایسن جابجایی‌های جذبی از معرفهای توصیه شده جهت شناسایی این مواد، شامل معرفهای متوکسیدسدیم، کلرورالومینیوم - اسید کربدربیک، اسنات سدیم - اسیدبوریک استفاده شد. جهت تعیین جذب ماورای بنفش محلول متانولی مواد جدا شده و نیز جابجایی‌های آن با معرفهای فوق بدین شرح عمل شد (۱۵ و ۱۸):

-طیف UV<sup>۱</sup> محلول متانولی: ۰/۵ میلی گرم از ماده جدا شده در ۱۰ میلی لیتر متانول خالص حل گردید و طیف UV محلول رسم شد.

خصوصیات گیاهشناسی گیاه رزماری توسط کارشناسان گیاهشناسی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع استان اصفهان، نمونه فوق در محل هرباریوم دانشکده داروسازی اصفهان نگهداری گردید.

بررسیهای فیتوشیمیایی شامل جداسازی و شناسایی فلاونوئیدها و نیز مواد موثره موجود در روغن فرار رزماری، بر روی این گیاه بشرح ذیل انجام شد.

#### ۱- فلاونوئیدها

۱-۱: روش عصاره‌گیری - مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه در دو نوبت با مخلوط آب و متانول عصاره‌گیری شد. نسبت متانول به آب در مرحله اول ۹ به ۱ و در مرحله دوم ۱ به ۱ انتخاب شد. در هر مرحله مقدار کافی حلال اضافه شد. زمان هر عصاره‌گیری ۱۲ ساعت بود. پس از صاف کردن حلال و افزودن حاصل عصاره‌گیری دو مرحله به یکدیگر، حجم حلال توسط دستگاه تقطیر در خلاء به ۳۰٪ حجم اولیه کاهش داده شد و سپس جهت جداسازی برخی از مواد زائد مانند چربیها، محلول فوق چندین نوبت با کلروفرم دکانته شد. پس از این مرحله حلال توسط دستگاه تقطیر در خلاء کاملاً از محیط خارج گردید و عصاره خشک حاصله در یخچال نگهداری شد که در موقع مصرف مقداری از آن در مخلوط آب و متانول حل شده و عملیات جداسازی در مورد آن صورت می‌گرفت (۱۵).

۱-۲: روش کروماتوگرافی با لایه نازک: با استفاده از روش کروماتوگرافی با لایه نازک و استفاده از فاز ثابت سیلیکاژل G 60 و فاز متحرک کلروفرم، استون، اسید فرمیک (۴۰-۳۰-۲)، اقدام به کاشت عصاره حاصل از مرحله قبل بر روی صفحات سیلیکاژل شد. پس از گسترش حلال بر روی صفحات، از معرفهای

صفحات سیلیکاژل GF/254 کاشته شد (۱۹). در این مرحله، از سیستم فاز متحرک دی کلرواتان، اسپنداستیک، متانول، آب (۵۴-۲۸-۱۱-۷) استفاده شد و به منظور آشکار سازی قندهای مختلف بر روی صفحات، پس از گسترش حلال از معرف دی فنیل آمین به همراه حرارت در گرمخانه یکصد درجه سانتیگراد به مدت دو دقیقه استفاده گردید. معرف دی فنیل آمین از انحلال ۵۰۰ میلی گرم دی فنیل آمین در ۲۵ میلی لیتر استون و ۲/۵ میلی لیتر اسید ارتوفسفریک (۸۵٪ وزن در وزن) و ۱/۵ میلی لیتر آبین تهیه شد. در حین کار و به منظور مقایسه، تعدادی از قندهای شاهد (مندرج در بخش مواد) نیز در کنار حاصل هیدرولیز کاشته شد (۲۰).

## ۲- روغن های فرار

۲-۱: استخراج روغن فرار از گیاه- با استفاده از روش تقطیر با آب (۲۱)، روغن فرار برگها و سرشاخه های گندار گیاه که بصورت پودر در آورده شده بود تهیه گردید.

۲-۲: تعیین درصد روغن فرار- تعیین مقدار روغن فرار بر مبنای روش ذکر شده در فارماکوپه بریتانیا به روش حجمی انجام گرفت (۲۱).

۲-۳: کروماتوگرافی با لایه نازک روغن فرار- روغن فرار بدست آمده با روش تقطیر با آب توسط تولون به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق گردیده و با استفاده از فاز ثابت سیلیکاژل GF/254 و فاز متحرک تولون، اتیل استات (۹۳-۷) و همچنین کتروفرم، بنزن (۷۵-۲۵) بطور جداگانه بر روی صفحات سیلیکاژل کاشته شد. همزمان توسط کروماتوگرافی با لایه نازک روغن فرار فوق، تعدادی از ترکیبات استاندارد متوترپین نیز به منظور مقایسه  $R_f$  و رنگ آنها در کنار روغن فرار کاشته شد. پس از صعود حلال بر روی صفحات، از

طیف UV در حضور معرف متوکسید سدیم (محلول ۲/۵٪ سدیم فلزی در ۱۰۰ میلی لیتر متانول)، پس از ریختن سه قطره از معرف فوق بر روی محلول متانولی ماده جدا شده، عمل طیف گیری انجام شد.

طیف UV در حضور معرف کلرور آلومینیوم (محلول ۵٪ کلرور آلومینیوم در ۱۰۰ میلی لیتر متانول) و کلرور آلومینیوم- اسید کلریدریک (۵۰ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ و ۱۰۰ میلی لیتر آب) با افزودن چند قطره معرف کلرور آلومینیوم به محلول متانولی ماده جدا شده، اقدام به طیف گیری شد و سپس به منظور بررسی پایداری کمپلکس حاصل در مجاورت اسید، سه قطره از معرف اسید کلریدریک به محلول مرحله قبلی افزوده شد و مجدداً طیف گیری انجام گردید.

طیف UV در حضور معرف استات سدیم و استات سدیم- اسیدبوریک: مقداری پودر استات سدیم بدون آب (تاحد اشباع) به محلول متانولی ماده جدا شده افزوده و پس از انحلال آن، طیف گیری انجام شد. سپس مقدار کافی (تاحد اشباع) پودر اسید بوریک بدون آب به این محلول افزوده و مجدداً طیف گیری صورت گرفت.

۱-۴: هیدرولیز مواد جدا شده- با توجه به احتمال وجود قند در ترکیبات جدا شده و جهت شناسایی آنها، اقدام به هیدرولیز این مواد بطور جداگانه گردید. جهت انجام هیدرولیز حدوداً ۵ میلی گرم از ماده در مخلوط مساوی از آب و متانول حل گردید و سپس ۲۰ میلی لیتر محلول اسیدسولفوریک ۵٪ حجم در حجم به آن افزوده شد. محلول فوق در فواصل زمانی ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه بر روی حمام بخار رفلاکس گردیده و در هر مرحله، محصول هیدرولیز بر روی

اضافه کردن معرف‌های جابجا کننده تهیه شد. طول موج جذب‌های ماکزیمم هر یک از طیفهای مذکور در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱: طول موج جذب‌های ماکزیمم طیفهای ماورای بنفش محلولهای متانولی فلاونوئیدهای جدا شده از گیاه رزماری همراه با و بدون استفاده از معرفهای جابجاکننده

باند I	باند II	نوع محلول و نام معرف اضافه شده
۲۹۰ و ۳۲۷	۲۸۴ و ۳۲۲	۱- محلول متانولی (بدون معرف)
۲۷۷ و ۳۹۰	۲۷۸ و ۳۳۵	۲- محلول متانولی + معرف متوکسید سدیم
۲۹۰ و ۳۳۲	۲۷۸ و ۳۲۲	۳- محلول متانولی + معرف کلرور آلومینیوم
۲۹۰ و ۳۳۲	۲۸۲ و ۳۳۵	۴- محلول متانولی + معرف کلرور آلومینیوم - اسید کلریدریک
۲۹۰ و ۳۳۲	۲۷۸ و ۳۸۰	۵- محلول متانولی + معرف استات سدیم
۲۹۲ و ۳۲۷	۲۷۸ و ۳۲۷	۶- محلول متانولی + معرف استات سدیم - اسید بوریک

۳- نتایج حاصل از هیدرولیز فلاونوئیدها- پس از هیدرولیز فلاونوئیدهای جدا شده مشخص گردید که هر دو فلاونوئید فوق بصورت آگلیکون و بدون قند هستند.

ب- روغن فرار

۱- نتایج حاصل از تعیین مقدار روغن فرار- مقدار روغن فرار گیاه رزماری  $1/1 + 1/8$  میلی لیتر بازای یکصد گرم پودر خشک گیاه برآورد گردید.

۲- نتایج حاصل از کروماتوگرافی با لایه نازک روغن فرار- پس از ارزیابی کروماتوگرافی با لایه

معرف وانیلین - اسید سولفوریک همراه با قرار دادن پلیت‌ها به مدت دو دقیقه در گرمخانه‌ای که حرارت آن ۱۱۰ درجه سانتیگراد بود استفاده شد (۱۶).

۴-۲: آنالیز GC-MS روغن فرار- با استفاده از دستگاه GC/MS. آنالیز مربوطه در مورد روغن فرار رزماری انجام شد. ستون موئینه DB-5، به طول ۲۵ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر بود. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۸۰ درجه سانتیگراد بود که به مدت ۵ دقیقه در حرارت اولیه ۶۰ درجه سانتیگراد نگه داشته شد و سرعت افزایش حرارت دستگاه، ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه انتخاب گردید. گاز حامل مورد مصرف هلیوم و سرعت آن ۲ میلی لیتر در دقیقه بود. اسپکترومتری جرمی در ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و جریان یونیزاسیون ۷۵۰ میکروآمپر و درجه حرارت منبع یونی ۱۵۰ درجه سانتیگراد انجام شد (۲۲).

نتایج

الف- فلاونوئیدها

۱- نتایج حاصل از کروماتوگرافی با لایه نازک عصاره تهیه شده از رزماری- پس از انجام کروماتوگرافی با لایه نازک، وجود دو لکه شاخص فلاونوئیدی با  $R_f$ های معادل ۰/۵۳ (فلاونوئید ۱) و ۰/۷۴ (فلاونوئید ۲) که در طول موج ۳۶۵ نانومتر بترتیب به رنگهای زرد و آبی روشن دیده می‌شدند اثبات گردید. با انجام روش تین لایر کروماتوگرافی کمی، اقدام به جداسازی این فلاونوئیدها گردید و پس از جداسازی، طیف ماورای بنفش آنها تهیه شد.

۲- نتایج حاصل از تهیه طیفهای ماورای بنفش فلاونوئیدها- طیف ماورای بنفش محلولهای متانولی فلاونوئیدهای فوق و نیز طیفهای این ترکیبات پس از

## جدول ۲: درصد و مواد اصلی مشکله روغن فرار

## رزماری

ردیف	نام ترکیب	اندیس کواتس	درصد
۱	تری سیکلن	۹۲۲	۱۹/۱
۲	کامفن	۹۵۰	۸/۹
۳	بتاپینن	۹۷۷	۳/۸
۴	میرسن	۹۸۹	۵/۱
۵	آلفا فلائدرن	۱۰۰۳	۲/۱
۶	ارتوسیمین	۱۰۲۱	۲/۸
۷	۱ و ۸- سینئول	۱۰۳۰	۱۶/۷
۸	گاما ترپینن	۱۰۵۹	۲/۲
۹	کامفر	۱۱۴۳	۱۵/۹
۱۰	بورنئول	۱۱۶۶	۵/۸
۱۱	بوزنیل استات	۱۲۸۹	۸/۳
۱۲	ترکیبات شناسایی نشده	-	۹/۳

## بحث

مصارف دارویی، صنعتی و آرایشی-بهداشتی گیاه رزماری در ایران در طی سالهای اخیر رو به افزایش گذاشته است و این در حالیست که تحقیق جامعی در مورد ترکیبات شیمیایی موجود در این گیاه در ایران انجام نپذیرفته است. در این بررسی ترکیبات فلاونویدی و روغن فرار گیاه مورد مطالعه قرار گرفت. در مورد ترکیبات فلاونویدی و با استناد به طول موج جذبه‌های ماکزیم طیفهای مختلف این مواد که در جدول شماره ۱ آورده شده است، ساختمان شیمیایی احتمالی آنها بشرح ذیل تشخیص داده شد: با بررسی طیف متانولی فلاونوید ۱، مشخص گردید که این ترکیب احتمالاً از دسته فلاون‌ها یا فلاونول‌ها می‌باشد. در اثر افزودن معرف متوکسیدسیدیم به محلول متانولی این فلاونوید، باند A در طیف حاصل نسبت به طیف قبلی، ۶۳ نانومتر جابجایی باثرومیک

نازک روغن فرار رزماری که همراه با برخی از ترکیبات استاندارد منوترین (مندرج در بخش مواد) انجام شد و با مقایسه  $R_f$  و رنگ لکه‌های موجود در روغن فرار با نمونه‌های استاندارد پس از استفاده از معرف وانیلین-اسیدسولفوریک، وجود بورنئول و بوزنیل استات در روغن فرار اثبات گردید.

**۳- نتایج حاصل از آنالیز GC/MS روغن فرار-**  
اکثر ترکیبات موجود در روغن فرار رزماری توسط بانک اطلاعات جرم سیستم کامپیوتر دستگاه و با مقایسه نمودن طیف جرمی هر فراکسیون شناسایی شده با طیف جرمی ماده استاندارد مندرج در برخی منابع و همچنین بررسی الگوی شکست این ترکیبات مشخص گردید. شناسایی هر ترکیب همچنین بوسیله کنترل توالی خروج ترکیبات از ستون گاز کروماتوگراف و با استفاده از زمان نگهداری ترکیب در سایر ستون‌ها و همچنین وجود و مشابهت این ترکیبات در روغن فرار رزماری سایر نقاط دنیا، به همراه تعیین اندیس کواتس برای هر ترکیب بررسی گردید. جهت انجام محاسبه، از کروماتوگرام GC آلکانهای نرمال استفاده شد (۱۱-۸، ۲۶-۲۲).

فهرست ترکیبات شناسایی شده در روغن فرار رزماری و درصد نسبی آنها در جدول شماره ۲ مشخص گردیده است. تعیین درصد این مواد بر اساس محاسبه سطح زیر منحنی پیکهای GC هر ترکیب توسط انتگراتور دستگاه انجام شد. تعیین درصد ترکیبات روغن فرار همچنین با استفاده از کروماتوگرام GC ترکیب آن-دکان (بعنوان استاندارد خارجی) قابل محاسبه می‌باشد (۲۴-۲۲).

جابجایی عمده در طیف استات سدیم-اسیدبوریک این ترکیب نسبت به طیف متانولی نیز، احتمال وجود عامل ارتودی‌هیدروکسیل در محل کربنهای ۳' و ۴' نفی گردید (۵،۲ و ۱۸).

با توجه به این فرضیات و نیز عدم وجود قند در اثر هیدرولیز این دو فلاونوئید، فلاونوئید ۱ دارای هیدروکسیل آزاد در محل کربنهای شماره ۴' و احتمالاً ۳' و ۵ می‌باشد و فلاونوئید ۲ در محل کربنهای شماره ۵ و ۴' دارای هیدروکسیل آزاد است. بنابراین فرمول پیشنهادی احتمالی این دو فلاونوئید، به ترتیب عبارتست از: «۵ و ۳' و ۴' تری هیدروکسی فلاون» و «۵ و ۴' دی هیدروکسی فلاون» است.

در مطالعات انجام شده بر روی نتایج حاصل از آنالیز روغن فرار حاصله از گیاه رزماری نیز بیش از ۹۰٪ از ترکیبات روغن فرار شناسایی شده از دسته منوترین‌ها بوده که ترکیبات منوترین هیدروکربنی حدوداً نیمی از مواد شناسایی شده را شامل می‌گردند. با مقایسه نتایج حاصل از آنالیز روغن فرار رزماری در این تحقیق با نتایج حاصل از آنالیز روغن فرار رزماری در سایر کشورها نظیر ایتالیا، آلمان، یونان، الجزایر و تونس، مشخص گردید که تعداد زیادی از ترکیبات شناسایی شده در این مطالعه، در روغن فرار رزماری موجود در این کشورها نیز گزارش شده است (۲۴، ۱۰۸ و ۲۵). برخی از مهمترین این ترکیبات شامل کامفن، بتاپینن، تری سیکلن، (۱ و ۸-) سیثول، کامفر، بورنول، و بورنیل استات می‌باشند. برخی از آثار فارماکولوژیک این ترکیبات شامل آثار ضد اسپاسم و آرامبخشی بر روی حیوانات آزمایشگاهی تأیید شده است و بنظر می‌رسد ترکیبات فوق مسئول آثار دارویی ذکر شده در مورد گیاه رزماری باشند (۱۲).

همراه با افزایش در شدت جذب یافت که نشانگر احتمال حضور عامل هیدروکسیل در موقعیت کربن ۴' فلاونوئید می‌باشد. با اضافه شدن معرف کلرورالومینیوم به محلول متانولی این فلاونوئید، ۵ نانومتر جابجایی باثوکرومیک در باند I نسبت به طیف متانولی پدیدار شد که با افزایش اسید بر روی آن هیچگونه تغییری در جابجایی باندها مشاهده نگردید که این موارد، احتمال ضعیف حضور عامل هیدروکسیل در کربن شماره ۵ فلاونوئید را مطرح نمود. عدم تغییر عمده باند I طیف جذبی محلول متانولی فلاونوئید و معرف استات سدیم نیز باعث عدم تفسیر روشن این طیف شد. جابجایی باثوکرومیک ۲۰ نانومتری باند I طیف استات سدیم - اسید بوریک این ترکیب نسبت به طیف متانولی آن نیز، احتمال وجود گروه ارتودی‌هیدروکسیل در محل کربنهای شماره ۳' و ۴' را مطرح نمود (۵،۲ و ۱۸). طیف متانولی فلاونوئید ۲، بیانگر متعلق بودن این ماده به دسته فلاون‌ها یا احتمالاً دی‌هیدروفلانول‌ها می‌باشد. جابجایی باثوکرومیک ۱۳ نانومتری در باند I طیف حاصل از افزوده شدن معرف متوکسیدسدیم به محلول متانولی این فلاونوئید، احتمال ضعیف وجود عامل هیدروکسیل در موقعیت کربن شماره ۴' را مطرح نمود. عدم وجود هر گونه جابجایی جذبی در باند I بر اثر افزودن معرف کلرورالومینیوم و جابجایی باثوکرومیک ۱۳ نانومتری باند I طیف کلرورالومینیوم-اسیدکلریدریک نسبت به طیف متانولی و نیز طیف کلرورالومینیومی این ترکیب نیز، احتمال حضور عامل هیدروکسیل در کربن شماره ۵ را مطرح کرد. جابجایی باثوکرومیک ۵۸ نانومتری باند I در طیف استات سدیم این ترکیب نسبت به طیف متانولی قابل تفسیر نمی‌باشد. با توجه به عدم وجود

## References:

- 1- Midgley JM. Drug development, from sorcery to science. *Pharm J*. 1988; 241: 358-365.
- 2- Harborne JB. The Flavonoids, Advances in Research since 1980. London: Chapman & Hall. 1988; 292- 295, 479-500.
- 3-Havsteen BH. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacologic potency. *Biochem Pharmacol*. 1983; 32(7): 1141-1148.
- 4- Hall IH, Starnes CO, Lee KH, Waddell TG. Mode of action of sesquiterpene lactones as anti- inflammatory agents. *J Pharm Sci*. 1980; 69(5): 537-543.
- ۵- زرگری ع. گیاهان دارویی، جلد چهارم- چاپ چهارم. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۷۶-۷۱، ۱۳۶۹.
- 6- “ British Herbal Pharmacopoeia “. Bournemouth: British Herbal Medicine Association. 1989; 181.
- 7- Chiej R. The Macdonald Encyclopedia of Medicinal Plants. London: Macdonald & Co. (Publishers) Ltd. 1988; 264.
- 8- Wichtl M. Teedrogen. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. 1989; 405-407.
- 9-Leung AY, Foster S. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics, 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1996; 446- 448.
- 10-Steinegger E, Hansel R. Lehrbuch der Pharmakognosie und Phytopharmazie. Berlin: Springer- Verlag, 1988; 354-355, 373-374.
- 11-Duke JA. CRC Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton: CRC Press. 1989; 412-413.
- Infrared, Mass, Proton NMR and Carbon NMR Spectra and Kovats Indices. Milwaukee: Aldrich Chemical Co. 1981: 1-121.
- 25- Tuberoso CIG, Satta M, Cabras P, Garau VL. Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* oil of sardinia. *J. Essent. Oil Res*. 1998; 10: 660-664.
- 26-Boutekedjiret C, Bentaher F, Belabbes R, Ressiere JM. The essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. *J. Essent. Oil Res*. 1998; 10: 680-682.
- 12-Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicine, A Guide for Health- Care Professionals. London: The Pharmaceutical Press. 1996; 229-230.
- 13- Evans WC. Trease and Evans' Pharmacognosy, 14th ed. London: W.B. Saunders Company Ltd . 1996; 262-263.
- 14-Parnham MJ, Kesselring K. Rosmarinic acid. *Drugs of the Future*. 1985; 10(9): 756-757.
- 15- Markham KR. Techniques of Flavonoid Identification. London: Academic Press. 1982; 1-51.
- 16- Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas. Berlin: Springer-Verlag. 1984; 5-49, 163-173.
- 17- Harborne JB. Phytochemical Methods, 2nd ed. London: Chapman & Hall. 1988; 69-84.
- 18-Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The Systematic Identification of Flavonoids. Berlin: Springer- Verlag. 1970; 35-60.
- ۱۹- افشار ج، دل آذرع. روتین از *Ruta graveolens* L. مجله دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱-۱۲: (۱۰۲)، ۴، ۱۳۷۳.
- 20- Stahl E, Schild W. Pharmazeutische Biologie, 4-Drogenanalyse. II: Inhaltsstoffe und Isolierungen. Stuttgart: Gustav- Fischer Verlag. 1981; 412-414.
- 21- “ British Pharmacopoeia “. London: British Pharmacopoeia Commission. 1993; A 154-157.
- 22- Ghannadi A, Samsam- Shariat SH, Moattar F. Composition of the leaf oil of *Salvia hydrangea* DC. ex Benth. grown in Iran. *J. Essent. Oil Res*. 1999; 11: 745-746.
- 23- Adams RP. Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy. San Diego : Academic Press. 1989; 1-302.
- 24- Swigar AA, Silverstein RM. Monoterpenes