

استخراج و شناسایی چهار ترکیب استروولی از گیاه عود

احمد رضا گوهري^{۱*}، سودابه سعيدنيا^۱، عباس حاجي آخوندي^۱، گيشو هوندا^۲

۱- استاديار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- استاد، گروه فارماکوگنزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- استاد، گروه فارماکوگنزی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه کیوتو، ژاپن
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، صندوق پستی: ۱۴۵۱ - ۶۴۵۱
تلفن: ۰۲۱ ۶۶۹۵۹۰۹۰ (۰۲۱)، نمایر: ۶۶۴۶۱۱۷۸ (۰۲۱)
پست الکترونیک: goharii_a@sina.tums.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۷/۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۲۷

چکیده

مقدمه: گیاه عود یا عودالهندي با نام علمي *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. IV. که در زبان انگلیسي به آن Incense Tree گفته می شود، گیاهی است که به صورت درختی می روید و بومی جنوب شرق آسیا است. اين گیاه به تیره Thymelaeaceae تعلق دارد. اين گونه گیاهی نخستین بار در هنگ کنگ روییده و چوب آن به شرقی ترین مناطق در چین و یا حتی به سرزمین های دوری همچون عربستان صادر می شده است.

هدف: شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در چوب سالم و یا آسیب دیده گیاه منجر به یافتن اطلاعات ارزشمندی در زمینه پروسه های بیوستزی در تولید ترکیبات گیاه می شود.

روش بررسی: در این مطالعه از عصاره متابولی استفاده شده، که به روش پرکولاسیون از چوب سالم و زخمی نشده گیاه تهیه شده است. به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات استروولی از عصاره متابولی از روش های ستون کروماتوگرافی به روی فاز ثابت سیلیکاژل نرمال و نیز کروماتوگرافی نفوذی در ژل (GPC) استفاده شده است. برای تعیین ساختمان مولکولی ترکیبات جدا شده از تکنیک های ¹³C-NMR، H-H COSY، DEPT، HMBC و HMBC استفاده شد.

نتایج: تعداد چهار ترکیب استروولی جداسازی و خالص شد که ساختمان آنها براساس داده های طیفی حاصل از تکنیک های پیشرفته رزونانس مغناطیسی به ترتیب استیگمات - ۴ - ان - ۳ و ۶ - دی اون، استیگمات - ۴ - ان - ۳ - اون، بتا- سیتواسترول و بتا- دوکوسترول شناسایی شد. این ترکیبات برای نخستین بار از این گیاه گزارش می شود.

نتیجه گیری: عصاره متابولی گیاه عود یا *Aquilaria sinensis* حاوی ترکیبات استروولی است که اصلی ترین آنها از گروه استیگماتان ها هستند و عبارتند از استیگمات - ۴ - ان - ۳ و ۶ - دی اون، استیگمات - ۴ - ان - ۳ - اون، بتا- سیتواسترول و بتا- دوکوسترول (شکل گلیکوزیله بتا- سیتواسترول). این ترکیبات برای نخستین بار از این گیاه گزارش می شود.

گل واژگان: عود، استروول، *Aquilaria sinensis*, Thymelaeaceae



مقدمه

یافت نشده است. با توجه به اهمیت استروپیدها به عنوان ترکیبات گلوکورتیکوپیدی، آندروژنی، آتابولیزان، عوامل بلوك کننده عصبی - عضلانی و ترکیبات کاردیو تونیک، شناسایی ترکیبات استروولی گیاهی می‌تواند پژوهشگران را در یافتن ترکیبات موثرتر یاری نماید [۸]. بنابراین ما در این مطالعه برای اولین بار به جداسازی و تعیین ساختمان مولکولی تعدادی از ترکیبات استروولی از عصاره مтанولی گیاه *Aquilaria sinensis* پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد استفاده: در این مطالعه از چوب زخمی نشده و سالم گیاه *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. IV. استفاده شد. این نمونه چوب از گیاهی که در باغ گیاه‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه کیوتوكاشته شده تهیه شده است.

عصاره‌گیری و جداسازی: میزان یک کیلوگرم از چوب تنه درخت *Aquilaria sinensis* پس از بریدن به قطعات کوچک‌تر، خشک شده و با روش پرکولاسیون با حلال مтанول در دمای اتاق عصاره‌گیری شد. میزان ۲۵ گرم عصاره متابلی حاصل شد.

عصاره فوق به روی ستون سیلیکاژل فاز نرمال با مش ۲۰۰ برده شده و به ترتیب با سیستم‌های حلال کلروفرم: اتیل استات (۱:۱)، اتیل استات: متابل (۹:۱) و نهایتاً مtanول جداسازی شد. در نتیجه تعداد شش فراکشن (A-F) به دست آمد. مونیتورینگ فراکشن‌ها با استفاده از صفحات TLC سیلیکاژل و معرف انس آلدید - اسید سولفوریک انجام شد. فراکشن B (۵۳۰ mg) مجدداً بر روی ستون سیلیکاژل برده شده و این بار به ترتیب با سیستم‌های حلال هگزان: استون (۹:۱) و هگزان: استون (۸:۲) جداسازی شد تا فراکشن‌های B1-B5 به دست آید. جداسازی فراکشن B1 (۸۲ mg) با استفاده از روش کروماتوگرافی نفوذی در ژل^۱ با حلال کلروفرم و پس از پنج بار تکرار، سه فراکشن B11-B13 حاصل شد. فراکشن B12 انتخاب و با استفاده از روش MPLC^۲ روی ستون سیلیکاژل فاز نرمال با سیستم حلال

گیاه عود یا عود الهندی با نام علمی *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. IV. گیاهی است که به صورت درختی روییده و بومی جنوب شرق آسیا است. این گیاه به تیره Thymelaeaceae تعلق دارد. در زبان انگلیسی به آن Incense Tree گفته می‌شود که ترجمه مستقیم از نام چینی آن به معنای درختی است که در اثر سوختن تولید بوی خوش می‌کند [۱]. عود درختی است همیشه سبز به ارتفاع ۶-۲۰ متر که پوست آن به رنگ خاکستری تیره و چوب آن به رنگ سفید یا زرد دیده می‌شود. این گونه گیاهی نخستین بار در هنگ‌کنگ روییده و چوب آن به شرقی ترین مناطق در چین و یا حتی به سرزمین‌های دوری همچون عربستان صادر می‌شده است [۲]. با این که این گیاه در ایران نمی‌روید ولیکن از گذشته‌های دور در بازار گیاهان دارویی و سنتی کشورمان وجود داشته و چوب آن به عنوان خوشبوکننده هوا به کار می‌رفته است. رزینی که از چوب درخت تولید و انباسته می‌شود ترکیبی بسیار گران‌بها است که به صورت طبیعی در اثر فعالیت پاتولوژیک قارچ‌ها روی چوب درخت و یا به طور مصنوعی با وارد کردن صدمه و خراش‌هایی به عمق ۵ سانتی‌متر در پوست درخت به وجود می‌آید. این رزین agarwood نامیده می‌شود و در شرق آسیا علاوه بر اثر خوشبوکننده هوا، به دلیل اثرات آنالجزیک و سداتیو نیز استفاده می‌شود [۳].

تاكنوں ترکیبات جدیدی از گروه دی اپوکسی تراهیدروکسی کرومون و نیز مشتقات فنیل اتیل کرومون از آگار وود جداسازی و شناسایی شده است [۴,۳]. برخی از ترکیبات آنتی کانسر با ساختمان‌های فوریول استات و فروریل گلیسراید نیز از گونه تایلندی عود^۱ شناسایی شده‌اند [۵]. همچنین سزکوکی ترپن‌های معطر نظیر مشتقات مختلف آلدیدی و متیل استری سلینا دی ان و نیز مشتقات سزکوکی ترپنی گروه گوايان^۲ از گیاه *Aquilaria agallocha* جداسازی شده است [۶,۷]. مطالعات کتابخانه‌ای نشان می‌دهد که تاكنوں گزارشی از وجود ترکیبات استروولی در گیاه عود

¹ GPC (Gel Permeation Chromatography)

² Moderate Pressure Liquid Chromatography

¹ *Aquilaria Malaccensis*

² Guaiane



EI-Mass استفاده شد. دستگاه NMR مورد استفاده Bruker-500 با قدرت ۵۰۰ مگاهرتز برای اندازه‌گیری پروتون و ۱۲۵ مگاهرتز برای کربن بود. تتراتیل سیلان به عنوان استاندارد داخلی به کار رفت.

نتایج

نتایج مربوط به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون، کربن و HMBC، H-H COSY برای ترکیبات جداسازی شده در جداول شماره ۴ - ۱ در زیر خلاصه شده است.

هگزان: استون (۹:۱)، ترکیب ۱ به مقدار سه میلی‌گرم خالص شد. از فراکشن B13 نیز به روش فوق و با سیستم حلال مشابه ترکیب ۲ (۳ mg) خالص شد. از فراکشن B2 با سیستم حلال کلروفرم: اتیل استات (۱:۱) بر روی استون سیلیکاژل، چهار فراکشن B21-B24 به دست آمد که فراکشن B22 به مقدار ۶۷ میلی‌گرم، ترکیب ۳ بود. از فراکشن C (۲۱۰ mg) با استفاده از روش GPC با حلال کلروفرم، فراکشن‌های C1-C5 حاصل شد. ترکیب ۴ به مقدار ۸ میلی‌گرم از فراکشن C2 به روی استون سیلیکاژل با سیستم حلال کلروفرم: اتیل استات (۱:۹) خالص شد.

به منظور شناسایی اجسام خالص از تکنیک‌های H-NMR، HMBC، H-H COSY، DEPT، 13C-NMR و

جدول شماره ۱- داده‌های مربوط به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون، کربن و HMBC

برای ترکیب ۱ در کلروفرم دوتره

HMQC			
C	δ_C	δ_H	HMBC
1	35.5	2.17 (m, 1H), 1.91 (m, 1H)	3H-19, H-2
2	33.9	2.52 (m, 2H)	H-4
3	199.7		
4	125.5	6.18 (s, 1H)	
5	161.2		3H-19
6	202.5		H-4, H-7b
7	46.8	2.69 (dd, $J=15, 4.8$ Hz, 1H) 2.04 (m, 1H)	
8	34.2	1.89 (m, 1H)	H-7b
9	50.9	1.37 (m, 1H)	3H-19, H-7b
10	39.7		3H-19, H-4, H-9
11	20.8	1.67 (m, 1H), 1.56 (m, 1H)	
12	39.0	2.13 (m, 2H)	3H-18
13	42.5		3H-18
14	55.8		3H-18
15	23.9	1.19 (m, 1H), 1.63 (m, 1H)	
16	28.0		
17	56.5		3H-18, H-21
18	11.8	0.72 (s, 3H)	
19	17.4	1.17 (s, 3H)	H-1a
20	36.0	1.37 (m, 1H)	H-21
21	18.6	0.93 (d, $J=5.5$ Hz, 3H)	



ادامه جدول شماره ۱ - داده‌های مربوط به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون، کربن و HMBC برای ترکیب ۱ در کلروفرم دوتره

HMQC			
C	δ_C	δ_H	HMBC
22	33.7		
23	25.9	1.18 (<i>m</i> , 2H)	
24	45.7	0.93 (<i>m</i> , 1H)	H-26, H-27
25	29.0	1.68 (<i>m</i> , 1H)	H-26, H-27, H-24
26	19.7	0.84 (<i>d</i> , $J=6.5$ Hz, 3H)	H-24, H-27
27	18.9	0.82 (<i>d</i> , $J=6.5$ Hz, 3H)	H-24, H-26
28	23.0	1.16 (<i>m</i> , 1H), 1.28 (<i>m</i> , 1H)	H-29
29	11.9	0.86 (<i>t</i> , $J=7.2$ Hz, 3H)	H-24

جدول شماره ۲ - داده‌های مربوط به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون، کربن HMQC, H-H COSY, DEPT برای ترکیب ۲ در کلروفرم دوتره

C	HMQC		H-H-COSY	DEPT
	δ_C	δ_H		
1	35.6	1.90 (<i>m</i> , 1H) 2.15 (<i>m</i> , 1H)	2H-2	CH ₂
2	33.8	2.50 (<i>m</i> , 2H)	H-1a	CH ₂
3	199.8			C
4	123.8	5.73 (<i>brs</i> , 1H)		CH
5	171.9			C
6	32.9			CH ₂
7	32.0			CH ₂
8	35.6	1.92 (<i>m</i> , 1H)	H-9	CH
9	53.8	1.39 (<i>m</i> , 1H)	H-8	CH
10	38.5			C
11	20.9	1.52 (<i>m</i> , 1H) 1.65 (<i>m</i> , 1H)	2H-12	CH ₂
12	39.6	2.11 (<i>m</i> , 2H)	H-11b	CH ₂
13	42.3			C
14	55.9			CH
15	24.1			CH ₂
16	28.1			CH ₂
17	55.8			CH
18	11.9	0.71 (<i>s</i> , 3H)		CH ₃
19	17.3	1.18 (<i>s</i> , 3H)		CH ₃
20	36.1	1.35 (<i>m</i> , 1H)	3H-21	CH
21	18.6	0.92 (<i>d</i> , $J=6.2$ Hz, 3H)	H-20	CH ₃



ادامه جدول شماره ۲ – داده‌های مربوط به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون، کربن HMQC، H-H COSY، DEPT برای ترکیب ۲ در کلروفرم دوتره

HMQC				
C	δ_C	δ_H	H-H-COSY	DEPT
22	33.9			CH ₂
23	26.0			CH ₂
24	45.8			CH
25	29.0	1.66 (m, 1H)	3H-26, 3H-27	CH
26	19.8	0.84 (d, J=6.5 Hz, 3H)	H-25	CH ₃
27	18.9	0.82 (d, J=6.5 Hz, 3H)	H-25	CH ₃
28	23.0			CH ₂
29	11.8	0.85 (t, J=7.2 Hz, 3H)		CH ₃

جدول شماره ۳ – داده‌های مربوط به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون و کربن HMQC برای ترکیب ۳ در کلروفرم دوتره

HMQC			HMQC		
C	δ_C	δ_H	C	δ_C	δ_H
1	37.2		16	28.2	
2	31.5		17	56.0	
3	71.8	3.50 (m, 1H)	18	11.8	0.65 (s, 3H)
4	42.3	2.25 (m, 2H)	19	19.3	0.98 (s, 3H)
5	140.7		20	36.1	
6	121.7	5.32 (t, J= 2.2 Hz, 1H)	21	18.7	0.90 (d, J=6.4, 3H)
7	31.8		22	33.9	
8	31.8		23	26.0	
9	50.1		24	45.8	
10	36.4		25	29.1	
11	21.0		26	18.9	0.79 (d, J=7 Hz, 3H)
12	39.7		27	19.7	0.81 (d, J=7 Hz, 3H)
13	42.2		28	23.0	
14	56.7		29	11.9	0.81 (t, J=8.8, 3H)
15	24.2				



جدول شماره ۴- داده های مربوط به طیف های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون، کربن HMQC, HMBC, DEPT

برای ترکیب ۴ در پیریدین دوتره

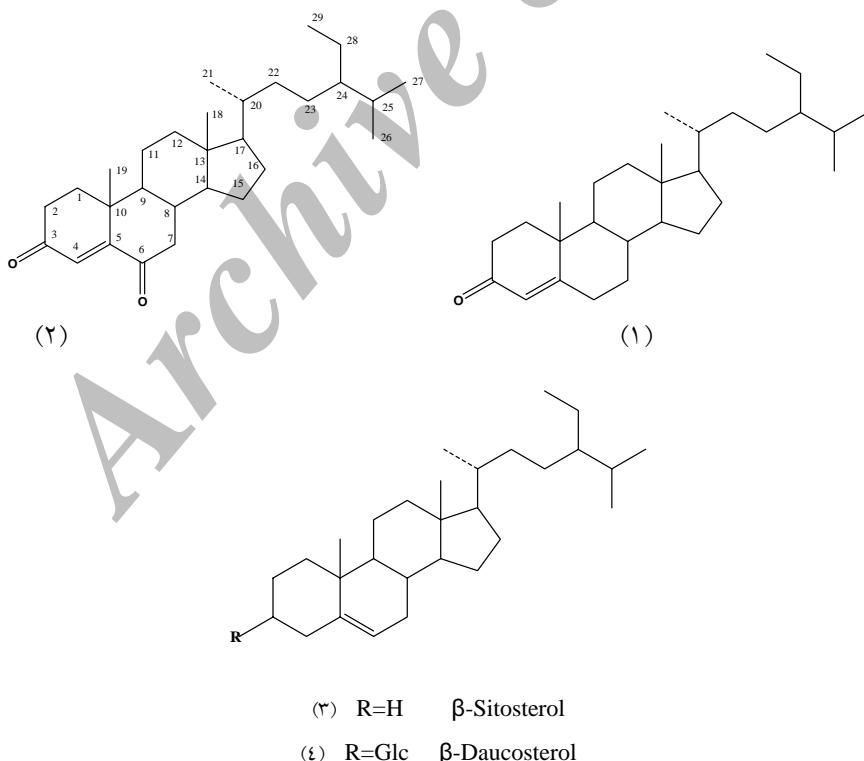
HMQC			
C	δ_C	δ_H	HMBC
1	37.4		CH_2
2	30.2	2.12 (<i>m</i> , 1H), 1.85 (<i>m</i> , 1H)	CH_2
3	78.5	3.95 (<i>m</i> , 1H)	H-1'
4	39.2	2.48 (<i>m</i> , 1H), 2.73 (<i>m</i> , 1H)	CH_2
5	140.9		C
6	121.9	5.34 (<i>t</i> , 1H)	CH
7	32.0	1.69 (<i>m</i> , 1H) 1.94(<i>m</i> , 1H)	CH_2
8	31.9		CH
9	50.2		H-19
10	36.8		H-6, 3H-19
11	21.1		CH_2
12	39.8		3H-18
13	42.4		3H-18
14	56.7		3H-18
15	24.4		CH_2
16	28.4		CH_2
17	56.1		3H-18, 3H-21
18	11.8	0.64 (<i>s</i> , 3H)	CH_3
19	19.3	0.92 (<i>s</i> , 3H)	CH_3
20	36.3		3H-21
21	18.9	0.97 (<i>d</i> , $J=6.6$ Hz, 3H)	CH_3
22	34.1		3H-21
23	26.2		CH_2
24	45.9		3H-26, 3H-27
25	29.3		3H-26, 3H-27
26	19.1	0.84 (<i>d</i> , $J=6.8$ Hz, 3H)	3H-27
27	19.8	0.86 (<i>d</i> , $J=6.8$ Hz, 3H)	3H-26
28	23.2		3H-29
29	12.0	0.89 (<i>t</i> , $J=7.3$ Hz, 3H)	CH_3
1'	102.5	5.07 (<i>d</i> , $J=7.6$ Hz, 1H)	H-2'
2'	75.3	4.07 (<i>m</i> , 1H)	CH
3'	78.6	4.30 (<i>m</i> , 1H)	H-2'
4'	71.6	4.30 (<i>m</i> , 1H)	CH
5'	78.0	3.98 (<i>m</i> , 1H)	CH
6'	62.7	4.44 (dd, 1H), 4.58 (dd, 1H)	CH_2



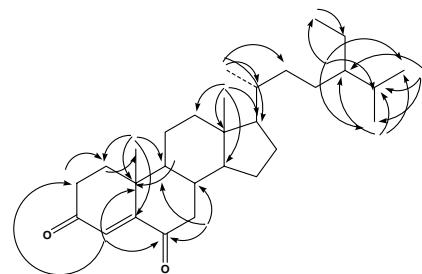
بحث

استیگماستان را تایید می‌کند. مطالعه طیف‌های HMBC و HMQC همان‌طور که در شکل شماره ۱ ارتباطات آن ملاحظه می‌شود ساختمان استیگماست-۴-ان-۳ و ۶-دی‌اون را برای ترکیب یک ثابت می‌نماید. مقایسه نتایج به دست آمده از طیف‌ها با منابع معتبر نیز تاییدکننده این ساختمان است [۹]. در مورد ترکیب ۲ طیف رزونانس مغناطیسی هسته‌ای پروتون مربوطه مشابه ترکیب قبلی وجود ۶ گروه متیل و یک پیوند دوگانه را نشان می‌دهد. طیف کربن این ترکیب نیز شامل ۲۹ پیک بوده که گویای ساختمان استروولی آن است. در این طیف کربن‌های یک گروه کتونی در دلتای $199/8$ ppm پیوند دوگانه را نشان می‌دهد. طیف کربن این ترکیب نیز شامل ۲۹ پیک بوده که گویای ساختمان استروولی آن است. در این طیف کربن‌های یک گروه کتونی در دلتای $123/8$ ppm و $171/9$ دیده می‌شوند. با توجه به نتایج فوق و روابط موجود در H-H COSY که تاییدکننده زنجبیر جانبه (شکل شماره ۲) است، ساختمان استیگماست-۴-ان-۳-اون برای این ترکیب پیشنهاد می‌شود. مقایسه نتایج به دست آمده از طیف‌ها با منابع معتبر نیز تاییدکننده این ساختمان است [۱۰].

نگاهی به نتایج حاصل از داده‌های طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته‌ای پروتون در مورد ترکیب شماره یک (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد که ۶ گروه متیل در دلتای مایبن ۰/۷۲ ppm تا $1/17$ ppm در این ترکیب موجود است. وجود دو پیک متیل تک شاخه و سه گروه متیل دو شاخه ساختمان استروولی را برای این ترکیب متصور می‌سازد. همچنین پیک موجود در $6/18$ ppm با انتگرال یک پروتون نشانه حضور پیوند دوگانه با کربن‌های نوع سوم و چهارم است. بررسی طیف کربن وجود ۲۹ پیک را مشخص می‌سازد که تاییدکننده ساختمان استروولی ۲۹ کربن است. حضور دوپیک در میدان بسیار پایین در دلتاهای $199/7$ ppm و $202/5$ ppm نشان‌دهنده دو گروه کربونیل کتونی در این مولکول است. علاوه بر آن کربن‌های $125/5$ ppm و $161/2$ بیانگر وجود پیوند دوگانه است. بررسی طیف‌های این ترکیب در DEPT- 45 و DEPT- 135 DEPT- 90 در ساختمان آن وجود دارد که نهایتاً ساختار استروولی CH3



شکل شماره ۱ - ساختمان‌های استروولی جداسازی شده از گیاه عود



شکل شماره ۲- نمایش ارتباط پروتونها با کربن‌های همسایه در HMBC ترکیب ۱ (H → C).

گلوکر نیز در دلتای بین ۶۲/۷ تا ۷۸/۶ ppm ظاهر می‌شوند. با مشاهده طیف HMBC این ترکیب محل اتصال قند به آگلیکون استرونی با توجه به ارتباط پروتون آنومریک قند با کربن موقعیت ۳ آگلیکون نشانه اتصال قند به این کربن است. مقایسه نتایج به دست آمده از طیف‌ها با منابع معتبر نیز تاییدکننده این ساختمان است [۱۲]. در مجموع هیچ یک از ترکیبات فوق تاکنون از چوب گیاه عود گزارش نشده است.

در مورد ترکیب ۳ با توجه به تشابه ساختمانی با دو ترکیب قبلی و مقایسه طیف‌های پروتون و کربن آن با منابع معتبر ساختمان بتا- سیتواسترون تایید می‌شود [۱۱]. ترکیب ۴ نیز شکل گلیکوزیله بتا- سیتواسترون بوده که پروتون‌های گلیکوزیدی آن در دلتای بین ۳/۹۸ تا ۵/۰۷ ppm ظاهر می‌شوند. پیک دو شاخه ۵/۰۷ ppm با ثابت اثر اسپین ۷/۶ هرتز مربوط به پروتون آنومریک گلوکر بوده که پیک کربن آن در دلتای ۱۰۲/۵ ppm قرار دارد. پنج کربن باقی‌مانده

منابع

- Iu, KC. The Cultivation of the Incense Tree (*Aquilaria sinensis*). *J. Hong Kong Branch Royal Asiatic Society*. 1983; 23: 247 - 9.
- Nakanishi T, Yamagata E, Yoneda K, Nagashima T, Kawasaki I, Yoshida T, Mori H and Miura I. Three fragrant sesquiterpenes of agarwood. *Phytochemistry*. 1984; 23: 2066 - 7.
- Yagura T, Ito M, Kiuchi F, Honda G and Shimada Y. Four new 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives from withered wood of *Aquilaria sinensis*. *Chem. Pharm. Bull.* 2003; 51: 560 - 4.
- Yagura T, Shibayama N, Ito M, Honda G and Kiuchi F, Three novel diepoxy tetrahydrochromones from agarwood, artificially produced by intentional wounding. *Tetrahedron lett.* 2005; 46: 4395 - 8.
- Gunacekera SP, Kinghorn AD, Cordell GA and Farnsworth NR. Plants anticancer agents XIX, constituents of *Aquilaria malaccensis*. *J. Nat. Prod.* 1981; 44: 569 - 72.
- Ishihara M, Tsuneya T and Uneyama K. Fragrant sesquiterpenes from agarwood. *Phytochemistry*. 1993; 33: 1147 - 55.
- Ishihara M, Tsuneya T and Uneyama K. Guaiane sesquiterpenes from agarwood. *Phytochemistry*. 1991; 30: 3343 - 7.
- Martin B, William LD. Molecular structure and biological activity of steroids. CRC Press, INC. Florida. 1992.
- Lim JC, Park JH, Budesinsky M, Kasal A, Han YH, Koo BS, Lee SI and Lee DU. Antimutagenic constituents from the thorns of *Gleditsia sinensis*. *Chem. Pharm. Bull.* 2005; 53: 561 - 4.
- Onocha PA, Okorie DA, Connolly JD and Roycroft DS. Monoterpene diol, iridoid glucoside and dibenzo- α -pyrone from *Anthocleista*

djalonensis. *Phytochemistry*. 1995; 40: 1183 - 9.
11. Goad LJ, Akihisa T. Analysis of sterols. Blackie Academic and Professional. London. 1997, pp: 375 - 6.

12. Faizi S, Ali M, Saleem R, Bibi I and Bibi S. Complete ^1H and ^{13}C NMR assignments of stigmaster-5-en-3-O- β -D-glucoside and its acetyl derivative. *Magn. Reson. Chem.* 2001; 39: 399 - 405.

Archive of SID

