فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۶، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۱۶۷-۱۵۷ (۱۳۸۹)

استخراج و تعیین ساختار شیمیایی چالکون و فلاونوئیدهای موجود در گلهای *Tanacetum parthenium* L. و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی آن

علی شفقت[۱]

۱- استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خلخال، پست الکترونیک: shafaghata@yahoo.com

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۷ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۸

چکیده

فلاونوئیدها ترکیب‌های طبیعی مهمی هستند که در بسیاری از گیاهان یافت می‌شوند و اثرهای دارویی و بیولوژیکی با ارزشی مانند: تصفیه خون، تقویت سیستم ایمنی، تنظیم سطح کلسترول، تنظیم فشار خون، توقف ترشحات اسیدی، پیشگیری ترومبوس، توقف سیتوفی، پیشگیری از سرطان و ترقی و پیشرفت متابولیسم از خود نشان می‌دهند. در این تحقیق، فلاونوئیدها و یک ترکیب چالکونی موجود در عصاره متانولی گلهای گونه گیاهی *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh. (*Tanacetum parthenium* L.) از تیره کاسنی، با روشهای کروماتوگرافی ستونی و TLC جداسازی و خالص‌سازی شد و با استفاده از روشهای ابزاری اسپکتروسکوپی مثل ^{1}H-NMR، ^{13}C- NMR، Mass و IR تعیین ساختار شیمیایی شده‌اند. در گلهای گونه گیاهی مذکور، دو ترکیب فلاونوئیدی کامفرول و نارینجنین و یک چالکون (ترانس- ٤-اتوکسی- '٤- متوکسی چالکون) شناسایی و تعیین ساختار شدند. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی حاصل از گلهای گیاه با روش ۲و۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) بررسی شد. عصاره مذکور، فعالیت تجمع رادیکالهای آزاد را از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: فلاونوئید، عصاره متانولی، *Tanacetum parthenium* L.، کامفرول، چالکون، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

گیاه دارویی بابونه کبیر (بابونه گاوی) با نام علمی *Tanacetum parthenium* L. یکی از گونه‌های دارویی است که اغلب در مناطق ۸۰۰ تا ۱۲۵۰ متری حاشیه جاده‌ها و رودخانه‌ها، مناطق باز جنگلی، لابه‌لای صخره‌های مناطق پرشیب و حتی داخل مزارع باز رویش دارد. این گونه گیاهی علفی، چند ساله، با کرکهای پراکنده و ریشه کوتاه و مستقیم است. ساقه آن مستقیم و ارتفاع آن با توجه به شرایط اقلیمی بین ۳۰ تا ۸۰ سانتی‌متر است. برگها دارای دمبرگ طویل، پهنک تخم‌مرغی و منقسم شانه‌ای هستند (زرگری، ۱۳۸۱).

گلهای آن به رنگ سفید و قطر آنها حدود ۰/٦ تا ۱/٦ سانتی‌متر است. دارای میوه فندقه، به طول ۱ تا ۵ میلی‌متر و دارای ۵ تا ٦ دنده یا رگ سفیدرنگ با کاکلی به طول ۰/۱ تا۰/۳ میلی‌متر می‌باشد. این گونه از قزاقستان، آسیای میانه و نواحی مدیترانه‌ای منشأ گرفته است (زرگری، ۱۳۸۱؛ Bernath, 2000). جنس مذکور با اسامی مخلصه و مینا در ایران

Archive of SID

www.SID.ir

دارای ۲۶ گونه گیاه علفی دائمی و گاهی بوته‌ای بوده و تقریباً ۲۰۰ گونه آن در سراسر اروپا و آسیای غربی پراکنده‌اند (مظفریان، ۱۳۷۵).

نام عمومی گونه فوق "Feverfew" است که در زبان انگلیسی به معنی "پایین‌آورنده تب" بوده و در طب سنتی ایران و اروپا به‌عنوان تسکین‌دهنده دردهای میگرن، آرتریس، پسوریازیس و بازدارنده تجمع پلاکت‌های خونی کاربرد دارد (Jonson, 1984؛ Kupchan *et al*., 1970؛ Bohlman *et al*., 1965).

طبق بررسیهای بعمل آمده در نوشته‌های علمی، فعالیت دفع حشرات، ضد باکتری، آنتی‌اکسیدان و ضد قارچ بودن اسانس و عصاره حاصل از این گیاه گزارش شده است (Bandoniene *et al*., 2000؛ Goren *et al*., 1996). مواد مؤثره گیاهان، بی‌شک عهده‌دار خواص دارویی و اثرهای بیولوژیکی آنها هستند. وجود ترکیب کامفور (۴۸/۹٪) در اسانس حاصل از اندام‌های هوایی همین گونه گیاهی به‌عنوان ماده مؤثره و عمده معرفی شده که عهده‌دار اثر ضد باکتریایی بر روی برخی از سویه‌های مورد آزمایش می‌باشد (سحرخیز و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین در بررسیهای بعمل آمده مشخص شد که کامفور به‌عنوان پایین‌آورنده دمای بدن در موارد تب و مقوی قلب در ضعف عضله میوکارد و ضدعفونی کننده‌ای مؤثر در التهاب ریه‌ها می‌باشد. همچنین از کامفور در صنایع مختلف شیمیایی مانند لاستیک و کاغذ، عطرسازی، لوازم آرایشی، صابون‌سازی، صنایع چسب، سنتز رزینها، حلالها، پلاستیکها، رنگها و لاکها استفاده می‌شود (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵). از این ماده در صنایع داروسازی به‌عنوان ماده ضدعفونی کننده با اثر آنتی‌بیوتیکی بسیار مهم استفاده می‌شود (Awang, 1998؛ Ernestt & Pittler, 2000). ترکیب پارتنولید (Parthenolid)، فلاونوئیدها و تعدادی از سسکویی‌ترپن لاکتونها نیز عهده‌دار فعالیت‌های بیولوژیکی برخی از گونه‌های تاناستوم (*Tanacetum*) گزارش شده‌اند (Harborne *et al*.,1970؛ Barrero *et al*., 1990؛ Goren *et al*., 1998؛ Hadjiakhondi *et al*., 2003).

ترکیب‌های اسانسی تعدادی از گونه‌های *Tanacetum* در منابع علمی گزارش شده‌اند. در گونه *T. vulgare* ترکیب‌های شیمیایی لیراتیل استات، توجون و جرماکرن D اجزای اصلی اسانس بوده‌اند (Appendino *et al*., 1984). تعدادی از مشتقات جدید فارنزیل در اسانس حاصل از گونه *T. fruticulosum* با روشهای GC، GC/MS و NMR مورد بررسی و شناسایی قرار گرفته‌اند (Weyerstahl *et al*., 1999). وجود ترکیب‌های فلاونوئیدی در برخی از گونه‌های *Tanacetum* به اثبات رسیده است. همچنین بعضی از این ترکیب‌ها تعیین ساختار شده‌اند. این مواد دارای خواص بیولوژیکی قابل‌توجهی از قبیل ضد باکتری، ضد تورم، ضد حساسیت و ضد ویروس بوده و همچنین می‌توانند به‌عنوان مواد پیشگیری‌کننده و معالج بیماری قلب و عروق، سرطان، آسم، بیماریهای دهان و دندان، بیماریهای کبد، آب مروارید و ازبین‌برنده لکه‌ها بکار روند (Picard, 1996). در گونه *Tanacetum canescens* دو ترکیب فلاونوئیدی سالویژنین (Salvigenin) و یوپاتورین (Eupatorin) استخراج و با تکنیک‌های اسپکتروسکوپی تعیین ساختار شده‌اند (حبیبی و همکاران، ۱۳۸۷).

در تحقیق حاضر، فلاونوئیدها و یک ترکیب چالکونی موجود در گلهای گونه گیاهی *Tanacetum parthenium* با متانول استخراج و ضمن جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی آنها، فرمول ساختمانی هر کدام از آنها توسط روشهای اسپکتروسکوپی به اثبات رسید. همچنین اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره مذکور با روش DPPH مورد بررسی قرار گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روشها

مواد گیاهی

گلهای گیاه *Tanacetum parthenium* در مردادماه ۱۳۸٦ از ارتفاعات ۱٤۰۰ متری جاده خلخال- اسالم بین استان اردبیل و گیلان جمع‌آوری و در سایه خشک گردید. مقدار ٦۰۰ گرم از گلهای خشک شده در ۱/۲ لیتر متانول ۹۰ درجه به مدت ٤۸ ساعت خیسانده شد. این عمل یک بار دیگر نیز تکرار گردید. محلول بدست آمده در دستگاه روتاری در فشار پایین، تغلیظ و باقیمانده تقطیر توسط هگزان نرمال به منظور حذف برخی ترکیب‌های غیرقطبی و هیدروکربن‌های بلند زنجیر از عصاره شستشو داده شد. در نهایت ٤۰/٦ گرم عصاره خشک مومی شکل بدست آمد. این جسم تا مرحله جداسازی در یخچال نگهداری شد.

تجزیه عصاره

مقداری از عصاره (۲۰ گرم) بدست آمده از مرحله قبل را در حداقل ممکن آب مقطر وارد کرده و با کمی گرم کردن آن را حل کرده و محلول آبی ابتدا با اتیل‌استات و بعد با بوتانول استخراج گردید. عمل استخراج در هر مرحله تا زمانی که نمونه به تست سیانیدین پاسخ منفی دهد، ادامه می‌یابد. این تست جهت تأیید وجود فلاونوئیدها بکار می‌رود (عفت‌پرور، ۱۳۷۹). در نتیجه استخراج با حلالهای مذکور، به‌ترتیب ٤ گرم جسم از محلول اتیل‌استات و ٦/۵ گرم از محلول بوتانولی پس از تبخیر هر یک از حلالها، بدست آمد. مقدار ۳ گرم از عصاره اتیل‌استات توسط ستون کروماتوگرافی با فاز ثابت سیلیکاژل (مش ۲۳۰-۷۰، Merck) و با سیستم حلال‌های پترولیوم اتر، اتیل استات و متانول، با افزایش تدریجی قطبیت اقدام به شستشوی ستون گردید. محلول خروجی از ستون در حجمهای ۲۰ میلی‌لیتری جمع‌آوری و در مجموع ۱۰۰ عدد ارلن دریافت شد. در یک بررسی مقدماتی با ملاحظه رنگ محلولها و آزمایش TLC، محلولهای مشابه بر روی هم افزوده شد و تعداد ۲۳ فراکسیون اصلی بدست آمد. بر روی فراکسیون شماره ۱ تست سیانیدین انجام شد و وجود فلاونوئید در آن مورد تأیید قرار گرفت. پس از تبخیر حلال آن، ماده حاصل با یک ستون کوچکتر و در روی فاز سیلیکاژل تجزیه شد. در این مرحله عمل شستشو با کلروفرم انجام شد و ۸ جزء حاصل شد. جزء شماره ۳ (۸۰ میلی‌گرم) پس از تبخیر حلال، مجدداً روی ستون انتقال یافت و با سیستم حلال کلروفرم: متانول با نسبت ۹/۵: ۰/۵ شستشو داده شد. نتیجه این عمل جمع‌آوری ۳۵ جزء در حجم‌های ۱۵ میلی‌لیتری بود. مخلوط اجزاء شماره‌های ۱٦ تا ۲۷ پس از تبخیر حلال، ۲۳ میلی‌گرم شد که یک بار دیگر نیز به همین روش خالص‌سازی گردید و ترکیب شماره ۱ به مقدار ۸ میلی‌گرم حاصل شد. از میان ۲۳ فراکسیون اصلی مشخص شده در بالا، فراکسیون شماره ٦ مشابه حالت قبل بر روی ستون سیلیکاژل با حلال کلروفرم تجزیه شد. نتیجه کار جمع‌آوری ۹ جزء در حجم‌های ۲۰ میلی‌لیتری بود که اجزاء ۵ تا ۸ یکسان بوده و با هم مخلوط شدند. جسم بدون حلال حاصل از این مرحله به کمک ستون و سیستم حلال کلروفرم: متانول خالص‌سازی شده و ترکیب شماره ۲ به مقدار ۱۱ میلی‌گرم حاصل شد.

فراکسیون شماره ۱۷ (٤۵۰ میلی‌گرم) از فراکسیونهای اصلی روی ستون انتقال داده شده و با حلالهای مناسب شستشو داده شد. در نتیجه این عمل، ٦ جزء جمع‌آوری شد که اجزاء ۳ و ٤ با قطبیت متوسط و استخراج شده در مخلوط حلالهای کلروفرم- متانول، به تست سیانیدین پاسخ مثبت داده و با هم مخلوط شدند. محلول حاصل پس از تبخیر حلال، مجدداً روی ستون کوچکتر، باز هم

Archive of SID

www.SID.ir

خالص‌سازی شده و ٤ جزء بدست آمد که ترکیب شماره ۳ در جزء ۲ و به مقدار ۱۷ میلی‌گرم بدست آمد. هر سه ترکیب حاصل تا زمان بررسیهای اسپکتروسکوپی، در یخچال نگهداری شدند.

دستگاههای اسپکتروسکوپی

برای تهیه طیف‌های جرمی (Mass) و زیر قرمز (IR) به‌ترتیب از طیف‌سنج‌های AEI MS-50 و Shimadzu IR-470 استفاده شد. همچنین در تهیه طیف‌های ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR، از طیف‌سنج ٤۰۰ و ۱۰۰ مگاهرتز بروکر (Bruker Am 400) استفاده شد. تترا متیل سیلان به‌عنوان استاندارد داخلی و مخلوطی از $CDCl_3$ و CD_3OD به‌عنوان حلال مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره

فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره حاصل به صورت کیفی و با روش تغییر در رنگ رادیکال‌های DPPH° مطالعه شد. در این روش رادیکال‌های ۲،۲–دی فنیل–۱– پیکریل هیدرازیل (DPPH°) به فرمول مولکولی $C_{18}H_{12}N_5O_6$ که رادیکال‌های پایداری هستند، با مواد آنتی‌اکسیدان یا سایر گونه‌های رادیکالی ترکیب شده و مقدار آنها طی واکنش کاهش می‌یابد و در نتیجه میزان جذب کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، با توجه به رنگی بودن رادیکال‌های مذکور، پس از انجام واکنش تغییر رنگ قابل رؤیت بوده و در این بررسی به همین شیوه و ملاحظه تغییر رنگ در مقایسه با محلول اولیه و یک نمونه شاهد، آزمایش انجام گردید.

نتایج

یک ترکیب چالکونی و دو ترکیب فلاونوئیدی در عصاره متانولی حاصل از گلهای گیاه *Tanacetum parthenium* به اسامی ترانس ٤– اتوکسی– '٤– متوکسی چالکون (۱)، '٤، ۵، ۷ – تری هیدروکسی فلاوانون (۲) (نارینجنین Naringenin) و ۳، '٤، ۵، ۷– تترا هیدروکسی فلاون (۳) (کامفرول Kaempferol)، جداسازی، خالص‌سازی و تعیین ساختار شیمیایی گردید.

نتایج طیفی و داده‌های مربوطه در جدول ۱ ملاحظه می‌شوند. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی حاصل از گلهای گیاه با روش DPPH° مورد بررسی قرار گرفت و در این مطالعه کیفی مشخص شد که عصاره فوق اثر تجمع رادیکال‌های آزاد را از خود نشان می‌دهد. این اثر در نتیجه افزایش محلول عصاره و تغییر رنگ رادیکال‌های آزاد و پایدار بنفش تیره DPPH به رنگ زرد روشن قابل رؤیت است.

ترکیب شماره ۱: ۴– اتوکسی– '۴– متوکسی چالکون

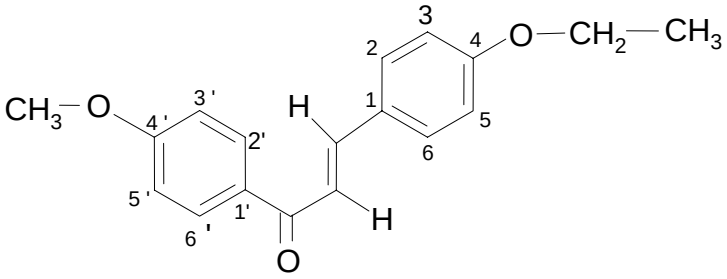
این ترکیب یک نوع فلاونوئید از دسته چالکونها، جسمی جامد با بلورهای آمورف زرد رنگ می‌باشد. این ماده از فراکسیونهای اولیه ۲۷–۱٦ در حلالهای کلروفرم: متانول با نسبتهای ۹/۵: ۰/۵ و خالص‌سازی آنها و به مقدار ۸ میلی‌گرم بدست آمد. نقطه ذوب آن برابر ۲۸۵–۲٦۲ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. فرمول مولکولی آن $C_{18}H_{18}O_3$ با جرم مولی برابر ۲۸۲/۳ می‌باشد که در طیف جرمی مربوطه به‌عنوان پیک مادر مشاهده شده است.

ترکیب شماره ۲: '۴، ۵، ۷– تری هیدروکسی فلاوانون (نارینجنین Naringenin)

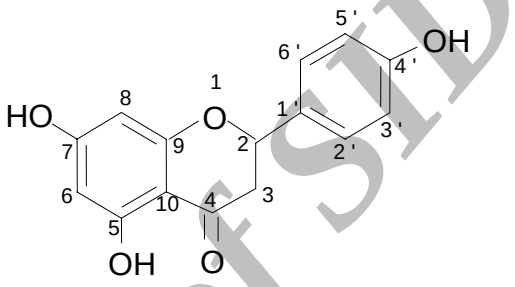
نارینجنین یک ماده فلاونوئیدی از دسته فلاوانون بوده و جسمی است جامد که دارای کریستالهای زرد رنگ و از فراکسیونهای ۸–٦ از جزء اصلی شماره ٦ با مخلوط حلال

Archive of SID

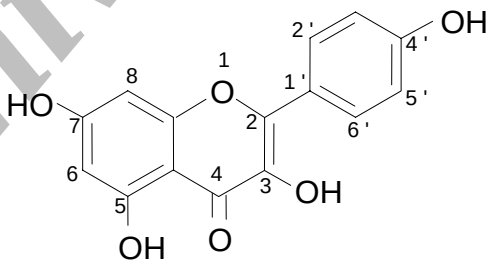
www.SID.ir



ترکیب شماره (۱)



ترکیب شماره (۲)



ترکیب شماره ۳

شکل ۱- فرمولهای ساختاری ترکیب‌های شناسایی شده در عصاره متانولی گلهای گیاه *Tanacetum parthenium*

کلروفرم: متانول خالص‌سازی گردید. فرمول مولکولی آن $C_{15}H_{12}O_5$ و جرم مولکولی آن برابر ۲۷۲ که از طیف جرمی آن بدست آمده است. نقطه ذوب این جسم برابر ۲۵۱-۲۴۸ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

ترکیب شماره ۳: ۳، ۴'، ۵، ۷- تترا هیدروکسی فلاون (کامفرول Kaempferol)

جسم جامد کریستالی زرد رنگ از دسته فلاون‌ها که در این بررسی از فراکسیونهای ٦ و ٧ حاصل از فراکسیون اصلی شماره ۱۷ جداسازی و خالص‌سازی شد. با بررسی طیف‌های اسپکتروسکوپی مربوطه و مقایسه آن با طیف‌های استاندارد و گمارش داده‌های طیفی، ساختار شیمیایی آن تثبیت و نقطه ذوب آن برابر ۲۸۲-۲۷۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. فرمول مولکولی آن $C_{15}H_{10}O_6$ و جرم مولکولی برابر ۲۸٦ می‌باشد.

جدول ۱- داده‌های طیفی ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR در ترکیب‌های ۱، ۲ و ۳

موقعیت	δ (ppm) ترکیب ۱		δ (ppm) ترکیب ۲		δ (ppm) ترکیب ۳	
	^{13}C	^{1}H	^{13}C	^{1}H	^{13}C	^{1}H
1	127.7	–	–	–	–	–
2	130.7	7.6 (d), J= 8.2 Hz	78.4	5.4 (t)	146.5	–
3(a)	114.7	6.9 (d), J= 8.2 Hz	42.3	3.2 (dd), J= 12.8 ,17.1 Hz	135.6	–
3(b)	–	–	–	2.7 (dd), J=12.8,17.1 Hz	–	–
4	160.9	–	196.2	–	175.8	–
5	114.7	6.9 (d), J= 8.2 Hz	163.5	9.6 (s)	156.1	–
6	130.7	7.6 (d), J=8.2 Hz	95.8	5.91(s)	98.3	6.2 (d), J= 1.9 Hz
7	–	–	166.6	10.8 (s)	163.9	–
8	–	–	94.9	5.93 (s)	93.5	6.5 (d), J= 1.9 Hz
9	–	–	162.9	–	159.1	–
10	–	–	101.8	–	103.0	–
1'	131.4	–	128.8	–	121.6	–
2'	130.1	8 (d), J=8.2 Hz	128.1	7.3 (d), J= 8.2Hz	129.4	8.1 (d), J= 8.2 Hz
3 '	113.8	7 (d), J= 8.2 Hz	115.1	6.8 (d), J= 8.2 Hz	115.3	6.9 (d), J= 8.2 Hz
4'	163.2	–	157.7	12.2 (s)	160.6	–
5'	113.8	7 (d), J= 8.2 Hz	115.1	6.8 (d), J= 8.2 Hz	115.3	6.9 (d), J= 8.2 Hz
6'	130.1	8 (d), J= 8.2 Hz	128.1	7.3 (d), J= 8.2 Hz	129.4	8.1 (d), J= 8.2 Hz
α	119.5	7.4 (d), J= 15.3 Hz	–	–	–	–
β	143.8	7.8 (d), J= 15.3 Hz	–	–	–	–
C=O	188.7	–	–	–	–	–
-O-CH_3	56.2	3.9 (s)	–	–	–	–
-O-CH_2-CH_3	63.7	4.2 (q)	–	–	–	–
-O-CH_2-CH_3	14.3	1.4 (t)	–	–	–	–

J= ثابت جفت‌شدن (Hz)، singletd =s، doublet =d، triplet =t، quartet =q

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱ داده‌ها و نتایج طیف‌های اسپکتروسکوپی ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR ترکیب‌های جداسازی شده از گلهای گیاه *Tanacetum parthenium* را نشان می‌دهد. همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، موقعیت‌های اتمهای کربن و هیدروژن در هر ترکیب و مقادیر جابه‌جایی شیمیایی هر یک از آنها دیده می‌شود. چندگانگی اتمهای هیدروژن و ثابت جفت‌شدن هر کدام نیز داده شده است. به‌طوری که کربن‌های α و β و همچنین گروههای $-O-CH_2-CH_3$ و $-O-CH_3$ فقط در ترکیب چالکونی ملاحظه می‌شود.

بحث

بحث و تفسیر نتایج طیفی ترکیب شماره ۱

این ترکیب به‌عنوان یک ماده چالکونی شناسایی شد. همان طور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، می‌توان موارد زیر را مورد بحث قرار داد:

تفسیر طیف‌های ^{1}H-NMR، IR و جرمی ترکیب ۱

از طیف جرمی تهیه شده از ترکیب ۱ جرم مولکولی آن برابر ۲۸۲/۳ تعیین گردید. در طیف IR بدست آمده از همین جسم، سیگنال مهم در ۱۶۵۱cm^{-1} و نیز مربوط به گروه کربونیل (C=O) بوده و این عامل در ساختار جسم تأیید می‌شود. پیک‌های آروماتیک مربوط به هیدروژنهای دو حلقه فنولیک به شرح زیر گمارش شده‌اند:

δ=۶/۹۱ ppm ،(H-2,6, d, J= 8/2 Hz) δ=۷/۵۷ ppm
H-2',6', d, J= Hz) δ= ۸ ppm ،(H-3,5, d, J= 8/2 Hz)
،(H-3',5', d, J= 8/2 Hz) δ= ۶/۹۷ ppm ،(8/2
δ= ۷/۷۶ ppm و (H-α, d, J= 15/3 Hz) δ= ۷/۴۳ppm
.(H-β, d, J= 15/3 Hz)

گروه $-O-CH_3$ در δ= ۳/۹ ppm و گروه اتیل در دو ناحیه δ= ۴/۲ ppm مربوط به گروه -CH2- اتیل و δ= ۱/۴ ppm مربوط به گروه $-CH_3$ اتیل، پیام نشان داده است. پروتونهای α و β به‌عنوان دو پروتون اولفینی، به‌ترتیب در δ= ۷/۴۳ ppm و δ= ۷/۷۶ ppm با ثابت کوپلاژ ۱۵/۳ Hz که نشان‌دهنده ترانس بودن آن دو پروتون نسبت به یکدیگر است، پیام داده است.

تفسیر طیف ^{13}C-NMR ترکیب ۱

با توجه به جدول ۱ تعداد هشت پیام، مربوط به کربن‌های آروماتیک دو حلقه فنولیک در ترکیب هستند. پیام مربوط به گروه کربونیل (C=O)، در δ= ۱۸۸/۷ ppm و دو پیام دیگر به‌ترتیب در ۱۱۹/۵ ppm و ۱۴۳/۸ ppm که مربوط به کربن‌های α و β در ترکیب هستند، ظاهر شده‌اند. پیام موجود در ۵۶/۲ ppm به کربن گروه $-O-CH_3$ و پیامهای موجود در ۶۳/۷ ppm و ۱۴/۳ ppm به‌ترتیب به گروه $-CH_2-$ و $-CH_3$ گروه اتیل تعلق دارند.

ترکیب ۲ (نارینجنین)

این ترکیب یک فلاونوئید است که ساختار آن با گمارش مقادیر و ملاحظه داده‌های طیفی تأیید شده است. داده‌های جدول ۱ در مورد این جسم، وجود پیامهای مربوط به پروتون و کربن آروماتیک و اسکلت فلاونوئیدی ترکیب را نشان می‌دهد.

تفسیر طیف‌های ^{1}H-NMR، IR و جرمی نارینجنین (ترکیب ۲)

طیف جرمی تهیه شده از ترکیب ۲ جرم مولکولی برابر۲۷۲ را نشان می‌دهد. پیامهای حاصل از طیف IR بدست آمده از همین جسم، در ۳۳۰۷ cm^{-1} پهن و مربوط به گروه

Archive of SID
www.SID.ir

OH– و دیگری در $1641\ cm^{-1}$ و نیز مربوط به گروه کربونیل (C=O) بوده و این دو عامل در ساختار این جسم نیز تأیید می‌شود. با توجه به جدول ۱، پیک‌های مربوط به پروتونهای جسم فوق به شرح زیر گمارش شده‌اند:

H-3a, dd, Hz) δ= ۳/۲۵ ppm ،(H-2, t) δ= ۵/٤۳ ppm
H-3b, dd, J=2/9, 17/1) δ= ۲/۷ ppm ،(J= 12/8, 17/1
Hz)، (H-8, s) δ= ۵/۳۹ ppm ،(H-6, s) δ= ۵/۹۱ ppm
δ= ٦/۸ ppm و (H-2',6' d, J= 8/2 Hz) δ= ۷/۳ ppm
(H-3',5', d, J= 8/2 Hz).

هیدروژنهای موجود در حلقه فنیل B در δ=٦/۸ ppm و در δ=۷/۳ ppm ظاهر شده‌اند که به صورت سیستم اسپینی AX بوده و با ثابت کوپلاژ ۸/۲ هرتز به‌ترتیب مربوط به پروتونهای ('۳ و '۵) و ('۲ و '٦) می‌باشد. پروتونهای گروههای OH– فنولیک بدلیل ناپوشیده شدن در میدان‌های پایین‌تر، یعنی به‌ترتیب در δهای ۹/٦ ppm، ۱۰/۸ ppm و ۱۲/۲ ppm ملاحظه می‌شوند.

تفسیر طیف ^{13}C- NMR ترکیب ۲

تعداد ده پیام در ناحیه آروماتیک طیف ^{13}C- NMR نارینجنین دیده می‌شود. پیام مربوط در δ=۱۹٦ ppm متعلق به کربن گروه کربونیل می‌باشد. دو پیام دیگر، یکی در δ=۷۸/٤ ppm و دیگری در δ=٤۲/۳ ppm که در میدانهای بالاتری قرار گرفته‌اند، آروماتیک نبوده و مربوط به کربن‌های شماره ۲ و ۳ ترکیب می‌باشند. اما چون کربن شماره ۲ به یک اتم اکسیژن اتری متصل است، بنابراین ناپوشیده‌تر از کربن ۳ بوده و به همین دلیل در میدان پایین‌تر از آن ظاهر شده است. اتمهای کربن شماره‌های '٤، ۵ و ۷ در مقایسه با سایر اتمهای مشابه در سیستم فنولیک و آروماتیک، در میدانهای پایین‌تری ظاهر شده‌اند (جدول ۱). این پدیده به دلیل اتصال گروههای OH به کربن‌های مورد نظر و ایجاد ناپوشیدگی در آنها می‌باشد. با ملاحظه مقادیر δ مربوط به کربن‌های ناپوشیده شده فوق، موقعیت گروههای OH تعیین شده‌اند.

ترکیب شماره ۳ (کامفرول)

کامفرول نیز با توجه به شواهد و ساختار آن، یک ترکیب فلاونوئیدی محسوب می‌شود. داده‌های جدول ۱ در مورد این ترکیب، وجود پیامهای مربوط به پروتون و کربن آروماتیک را نشان می‌دهد.

تفسیر طیف‌های ^{1}H-NMR، IR و جرمی ترکیب ۳

جرم مولکولی ترکیب شماره ۳ برابر ۲۸٦ است که از طیف جرمی مربوطه بدست می‌آید. طیف IR بدست آمده از ترکیب، سیگنال‌های مهمی در $3418\ cm^{-1}$، پهن و مربوط به گروه OH– و در $1660\ cm^{-1}$ که مربوط به گروه کربونیل (C=O) می‌باشد، نشان می‌دهد. پیام‌های مربوط به پروتونهای جسم مورد نظر نیز براساس داده‌های جدول ۱ به شرح زیر گمارش شده‌اند.

Hz) δ= ٦/٤٦ ppm ،(H-6, d, J= 1/9 Hz) δ= ٦/۲ ppm
(H-2',6', d, J= 8/2 Hz) δ= ۸/۱ ppm ،(H-8, d, J= 1/9
و (H-3',5', d, J= 8/2 Hz) δ= ٦/۵۹ ppm.

پروتونهای مربوط به سه گروه از گروههای OH–که به دو حلقه فنولیک متصلند، بدلیل ایجاد ناپوشیدگی زیاد توسط حلقه‌های فنیل و تشکیل پیوند هیدروژنی OH– در C-۵ با گروه کربونیل مجاور و موقعیت آروماتیک آنها، در میدانهای بالاتر از δ =۱۵ ppm مشاهده نشدند. در حالی که یک پیام پهن در حدود δ =۱۲/۳ ppm مشاهده شده که مربوط به پروتون گروهOH– متصل به کربن شماره ۳

Archive of SID

www.SID.ir

است، کربن مورد نظر یک کربن اولفینی بوده و پروتون گروه OH- را ناپوشیده می‌کند. ثابت کوپلاژ پروتونهای ٦ و ٨ برابر ۱/۹ ppm نشان می‌دهد که آن دو نسبت به هم در موقعیت متا قرار دارند. هیدروژنهای موجود در حلقه فنیل B در ٦/۹ ppm =δ و در ۸/۱ ppm =δ ظاهر شده‌اند، که به صورت سیستم اسپینی AX بوده و با ثابت کوپلاژ ۸/۲ هرتز به‌ترتیب مربوط به پروتونهای (٣' و ٥') و (٢' و ٦') می‌باشد.

تفسیر طیف ^{13}C- NMR ترکیب ۳

پیام موجود در ۱۷۵/۸ ppm=δ به کربن شماره ٤ (گروه کربونیل) اشاره دارد. ۱۲پیام دیگر در جدول ۱ برای ترکیب شماره ۳ دیده می‌شود، به‌طوری که کربن‌های ٦، ٨، ١٠، ١'، ٢'، ٣'، ٥' و ٦' به‌ترتیب دارای δهای ۹۸/۳، ۹۳/۵، ۱۰۳/۰، ۱۲۱/٦، ۱۲۹/٤، ۱۱۵/۳، ۱۱۵/۳ و ۱۲۹/٤ ppm می‌باشند و جملگی آروماتیک بودن کربن‌های مذکور را تداعی می‌کنند. به‌طوری که در میان چهار کربن باقی‌مانده از ۱۲ کربن آروماتیک مورد اشاره، می‌توان به این موضوع پی برد که پشت این چهار کربن یعنی کربن‌های شماره ٥، ٧، ٩ و ٤' که در دو حلقه آروماتیک قرار دارند، اتم اکسیژن متصل است. سه گروه OH- به کربن‌های شماره ٥، ٧ و ٤' متصل است. زیرا وجود این گروه در مکانهای فوق موجب ناپوشیده شدن این کربن‌ها شده، بنابراین در میدان‌های پایین‌تری (به‌ترتیب ١٥٦/١، ١٦٣/٩ و ١٦٠/٦ ppm) ظاهر شده‌اند. به نحوی که کربن‌های شماره ۲ و ۳ هر دو اولفینی می‌باشند. کربن‌های ٢' و ٦' هر دو دارای شیفت شیمیایی یکسانی هستند (۱۲۹/٤ ppm) و همین‌طور کربن‌های ٣' و ٥' نیز دارای شیفت شیمیایی یکسان هستند (۱۱۵/۳ ppm). این موضوع نشان‌دهنده این واقعیت است که کربن‌های مذکور در حلقه B متقارن هستند.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی

رادیکالهای DPPH به رنگ بنفش، ترکیبی پایدار بوده و به وسیله آن فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل بررسی است. وجود ترکیب‌های پلی‌فنولیک در عصاره حاصل از این گونه و سایر گونه‌ها عهده‌دار ترکیب شدن با رادیکال‌های موجود در محیط واکنش است. با توجه به وجود ترکیب‌های فلاونوئیدی مانند آنچه که در این بررسی ملاحظه گردید، می‌توان اثر آنتی‌اکسیدانی را به آنها نسبت داد.

سپاسگزاری

از سرکار خانم عظیمی (کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل) که در شناسایی گیاه به اینجانب کمک نمودند، تشکر می‌کنم.

منابع مورد استفاده

- حبیبی، ز.، شهریاری، ف.، یوسفی، م.، کیا، ی. و بصیری، ع.، ۱۳۸۷. استخراج و شناسایی β-استیگماسترول و دو فلاونوئید از قسمتهای هوایی گیاه *Tanacetum canescens*. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ٢٤(٢): ١٤٧-١٣٥.
- زرگری، ع.، ۱۳۸۱. گیاهان دارویی. جلد سوم، چاپ پنجم، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۹۲۵ صفحه.
- سحرخیز، م.ج.، ستاری، م.، گودرزی، غ. و امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۷. تعیین اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه *Tanacetum parthenium* .L. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ٢٤(١): ٥٥-٤٧.
- عفت‌پرور، ب.، ۱۳۷۹. بررسی شیمیایی مواد مؤثره گیاهان دارویی اردبیل. انتشارات شیخ صفی‌الدین اردبیلی، ٨٦ صفحه.

Archive of SID
www.SID.ir

– مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۷۵۰ صفحه.

– میرزا، م.، سفیدکن، ف.، و احمدی، ل.، ۱۳۷۵. اسانسهای طبیعی، استخراج، شناسایی کمی و کیفی، کاربرد. چاپ اول، انتشارات مؤسسه تحیقات جنگلها و مراتع، ۲۰۵ صفحه.

- Appendino, G., Garibaldi, P., Nano, G.M. and Tetenyi, P., 1984. Tetrahydrofuran type terpenoids from *Tanacetum vulgare*. Phytochemistry, 23: 2545-2551.
- Awang, D.V.C., 1998. Prescribing therapeutic feverfew (*Tanacetum parthenium*). Integrative Medicine, 1(1): 11-13.
- Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R. and Gruzdiene, D., 2000. Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extract in rapeseed oil. Food Research International, 33: 785-791.
- Barrero, A.F., Sanchez, J.F., Molina, J., Barron, A. and Delmar Salas, M., 1990. Guaianolide from *Tanacetum annum*. Phytochemistry, 29: 1929-1932.
- Bernath, J., 2000. Medicinal and Aromatic plants. Mezo Publication, Budapest, 667p.
- Bohlman, F., Fanglanel, L., Kleine, K.M., Kramer, H.D., Monch, H. and Schuber, J., 1965. Uber neue polyine der *Gattung chrysanthemum* L. Chemische Berichte, 98: 2596-2597.
- Ernestt, E. and Pittler, M.H., 2000.The efficacy and safety of a systemic review. Public Health Nutrition, 3(4): 509-514.
- Goren, N., Tahtasakal, E., Kraviec, M. and Watson, W.H., 1996. A Guaianolide from *Tanacetum argenteum* subsp. *Flabellifolium*. Phytochemistry, 42: 757-760.
- Goren, N., Tahtasakal, E., Kraviec, M. and Watson, W.H., 1998. Guaianolide from *Tanacetum argenteum* subsp. *Canum* var. *Canum*. Journal of Natural Products, 61: 560-563.
- Hadjiakhondi, A., Ameri, N., Khalighi, S.F. and Rustaiyan, A., 2003. A new Guaianolide from *Tanacetum fruticulosum* Ledeb. Daru, 11(4): 171-174.
- Harborne, J.B., Heywood, V.H. and Saleh, N.A.M., 1970. Chemosystematics of the Compositae, flavonoid pattens in the *Chrysanthemum* complex of the tribe Anthemidae. Phytochemistry, 9: 2011-2016.
- Jonson, E.S., 1984. Feverfew, A traditional herbal remedy for migraine arthritis. Sheldon press, London, 185p.
- Kupchan, S.M., Fessler, D.C., Kakin, M.A. and Giacobbe, T.J., 1970. Reaction of α-methylene lactone tumor inhibitors with model biological nucleophilies. Science, 168: 376-378.
- Picard, D., 1996. The biochemistry of green tea polyphenols and their potential application in human skin cancer. Alternative Medicine Review, 1: 31- 42.
- Weyerstahl, P., Marschall, H., Thefeld, K. and Rustaiyan, A., 1999. Constituents of the essential oil of *Tanacetum* (syn. *Chrysanthemum*) *fruticulosum* Ledeb. from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 14: 112-120.

Archive of SID

www.SID.ir

Antioxidant activity, extraction and determining of chemical structure of flavonoids and chalcone in flowers of *Tanacetum parthenium* L.

Ali Shafaghat[1]

1- Department of Chemistry, Islamic Azad University, Khalkhal Branch, Khalkhal, Iran, E–mail: shafaghata@yahoo.com

Received: November 2008 Revised: January 2010 Accepted: January 2010

Abstract

One of the most important secondary metabolism products found in plants are flavonoids. They have medicinal and biological effects such as: purify blood, strengthen immune system, monitoring cholesterol level, regulate blood pressure, suppress acid secretion, prevent thrombus, suppress cytophy, antibacterial, prevent cancer, promote metabolism. In this study, the flavonoids and one chalcone from methanolic extract of flowers of *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh. (syn. *Tanacetum parthenium* L.) (Compositae Family) were separated and purified by column chromatography and TLC methods. Kaempferol and naringenin are two flavonoids and trans- 4- ethoxy- 4'- methoxy chalcone as a chalcone compound were extracted, separated and detected by spectroscopy methods (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, Mass and IR). Investigation of antioxidant activity included free radical scavenging activity towards 2, 2-diphenyl-1-pycrylhydrazile (DPPH) radicals. Methanolic extract of flowers of *Tanacetum parthenium* showed free radical scavenging activity.

Key words: Flavonoid, methanolic extract, *Tanacetum parthenium* L., kaempferol, chalcone, antioxidant activity**.**

Archive of SID

www.SID.ir