Archive of SID

استخراج یک آلکالوئید استروئیدی از بوکسوس هیرکانای ایرانی

دکتر عبدالمجید آیت‌اللهی[۱]، دکتر حسین کمیلی‌زاده[۲]

چکیده

سابقه و هدف: بوکسوس هیرکانا (*Buxus hyrcna*) یکی از گونه‌های جنس بوکسوس است. گونه‌های جنس بوکسوس به عنوان منابع آلکالوئیدهای استروئیدی و دارای فعالیت بیولوژیک شناخته شده‌اند. افزون بر این در طب سنتی از عصاره‌های گونه‌های جنس بوکسوس برای درمان تب‌های مالاریایی مقاوم به گنه‌گنه و دردهای روماتیسمی و نقرس و نیز بیماریهای پوستی استفاده می‌شود. این فعالیت بیولوژیک و خواص درمانی ما را برآن داشت تا به منظور استخراج ترکیبات یک آلکالوئید استروئیدی، نمونه‌هایی از این گیاه را که در اطراف نوشهر واقع در شمال ایران جمع‌آوری شده بود، مورد بررسی فیتوشیمیایی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش *EXPLORA TORY* انجام شد. گیاه جمع‌آوری شده در هوای آزاد بدون استفاده از نور و گرمای زیاد خشک گردید. و توسط آسیاب برقی به صورت پودر نرمی درآورده شد که در نهایت با استفاده متانل به روش ماسراسیون عصاره‌گیری و تغلیظ گردید. آزمایشهای مختلف نشان داد که عصاره متانلی حاوی آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ساپرونیدها بود. به منظور استخراج آلکالوئیدها، عصاره متانلی ابتدا با اسیدکلریدریک ۵٪ تا ۲=*pH* اسیدی گردید و توسط کلروفرم به دو فاز کلروفرمی و آبی تبدیل شد. آزمایش نشان داد که فاز کلروفرمی حاوی مواد غیرآلکالوئیدی بود. فاز آبی باقیمانده با افزودن آمونیاک تا ۹= *pH* قلیایی گردید و به دنبال آن به وسیله کلروفرم مورد استخراج قرار گرفت. تست دراژندرف نشان داد که فاز کلروفرمی حاوی مواد آلکالوئیدی بود. کروماتوگرافی ستونی فاز کلروفرمی، ماده ناخالصی را جدا ساخت که بعداً به وسیله کروماتوگرافی دو بعدی روی لایه‌های نازک خالص‌سازی شد.

یافته‌ها: ماده خاص سازی شده علاوه بر قابلیت جذب تابش ماوراء بنفش (*UV*) دارای نقطه ذوب ۱۷۰-۱۷۳°*C* و چرخش ویژه $[\alpha]_D^{25} = +156^\circ$ و فرمول مولکولی $C_{21}H_{29}NO_2$ بود.

افزون بر این طیف جرمی‌اش نشان داد که آن جسم دارای جرم مولکولی ۳۸۵ = *NW* است. همچنین طیفهای جرمی، *IR* و *H-NMR* وجود گروهها و پیوندهای *C=O* (کتن)، *C-O* و *O-H* (الکل)، $N(CH_3)_2$ (آمین)، $C=CH_2$ (اگزوسیکلیک) و نیز حلقه‌های سیکلوپروپانی و استروئیدی را در مولکول آن جسم به تأیید رساندند.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: فرمول ساختاری که در یافته‌ها آمده است برای بوکسپی ترسیم شد. ترکیب سیکلومیکروبوکسین نامگذاری شده است.

واژگان کلیدی: بوکسپی، سیکلومیکروبوکسین، آلکالوئید استروئیدی

---

۱. گروه فارماکوگنوزی، دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی

۲. گروه شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بوکسوس (*Buxus*) یکی از جنس‌های تیردی بوکساسه است. بوکساسه تیره کوچکی از گیاهان گل‌دار و شامل ۵ جنس و ۱۰۰گونه است که در مناطق گرم و معتدل کره زمین به صورت پراکنده یافت می‌شوند. اینها عموما گیاهانی درختچه مانند و دارای برگهای کامل، پایا و گلهایی به دو نوع نر و ماده واقع بر یک پایه هستند. گلهای آنها فاقد گلبرگ و انواع ماده گلهای آنها نیز دارای مادگی مرکباز ۳ برگچه پیوسته به هم است. جنس بکسوس دارای حدود ٤٠ گونه است که یکی از آنها بوکسوس هیرکانا است (۱). این گیاه را در زبان فارسی «شمشاد» می‌نامند.درخت شمشاد دارای واریته‌های زینتی چندی است که به ارتفاع و قطر قابل ملاحظه‌ای می‌رسند (۲،۳). این گیاه در جنگلهای کم‌ارتفاع شمال ایران در اطراف گرگان، بهشتر، نوشهر، رشت، لاهیجان، دره چالوس و دره هراز می‌روید (۳،٤).

مدتهاست که گونه‌های بوکسوس به عنوان منابع آلکالوئیدهای تی‌ترپنوئیدی جدید و دارای فعالیتهای بیولوژیک شناخته شده‌اند. بررسی‌های فیتوشیمیایی تا به حال منجر به جداسازی بیش از ۱۵۰ عدد از این نوع ترکیبات از گونه‌های مختلف جنس بوکسوس (۵و٦).

در طب سنتی از عصاره‌های جنس بوکسوس برای درمان تب‌های مالاریایی مقاوم به گنه‌گنه، دردهای رماتیسمی، نقرس و بیماریهای پوستی استفاده می‌شود (۷). همچنین گزارش شده است که عصاره اتانلی *Buxus sempervirens* دارای فعالیت ضد*HIV* است (۸).

افزون بر این نشان داده شده است که آلکالوئیدهای موجود در بوکسوس هیرکانا به علت دارابودن خاصیت بازدارندگی استیل‌کولین‌استراز می‌توانند به عنوان داروی طبیعی بر ضد بیماری آلزایمر به کار برده شوند (۹). با توجه به سوابق فوق و در دسترس بودن بوکسوس و نظر به اهمیت و کاربرد روزافزون آلکالوئید استروئیدی و به منظور بررسی امکان استخراج یک آلکالوئید استروئیدی از بوکس هیرکانای ایرانی، این تحقیق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تحقیق به روش *explora tory* انجام گرفت. پس از جدا کردن ناخالصی‌ها، تمام قسمتهای هوایی و زمینی گیاه بوکسوس هیرکانا در هوای آزاد بدون استفاده از نور و حرارت زیاد تحت شرایط کنترل شده، خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی به صورت پودری نرم درآورده شد که جمعاً ۱۵۰۰ گرم پودر از قسمتهای مختلف گیاه به دست آمد.

عصاره‌گیری از ۱۰۰۰ گرم پودر آسیاب شده به روش خیساندن (*Maceration*) در سه مرحله و هر مرحله سه روز و جمعاً به مدت ۹ روز به وسیله ٦ لیتر متانل ۸۰٪ انجام گردید. در این مرحله آزمایشهای مختلف انجام شده روی عصاره متانلی، وجود آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ساپونین‌ها را در آن عصـــــاره به تأیید رسانید. عصاره‌های جمع‌آوری شده پس از گذراندن از صافی به وسیله دستگاه تبخیرکنندهٔ چرخان و در دمای کمتر از $40^{\circ}C$ در خلا تغلیظ گردیدند. پس از تبخیر حلال در یک کریستالیزور، مقدار ۱۷۰ گرم عصاره تام به دست آمد.

به منظور استخراج مواد موجود در عصاره تام، به آن اسیدکلریدریک $pH=2$ افزوده شد. سپس محلول اسیدی حاصل به وسیله کلروفرم استخراج گردید که فاز کلروفرمی حاوی مواد غیرآلکالوئید بود. آنگاه *pH* فاز آبی باقیمانده با افزایش آمونیاک به ۹ رسانیده شد و محلول بازی حاصل بلافاصله به

www.SID.ir

Archive of SID

وسیله کلروفرم استخراج شد. از فاز کلروفرمی به وجود آمده مقدار ۱۰ گرم مواد آلکالوئیدی به دست آمد که به تستهای دراژندرف پاسخ مثبت داد.

برای جداسازی ۱۰ گرم مواد آلکالوئیدی به دست آمده از کروماتوگرافی ستونی با فاز متحرک هگزان و کلروفرم با درصدهای مختلف استفاده شد که به علت خالص نبودن اجزای جدا شده، بلافاصله از کروماتوگرافی روی لایه‌های نازک *TLC* با سیستمهای مختلف حلالی برای جداسازی کامل اجزاء آن فراکسیون ناخالص بهره گرفته شد.

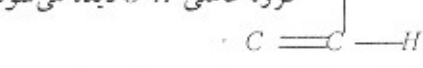
در این روش، سیستم حلالی تشکیل شده از ۲۵٪ استن، ۷۵٪ هگزان و چند قطره دی‌اتیل آمین مناسب تشخیص داده شد و به وسیله آن ماده جداسازی شد که دارای قابلیت جذب تابش ماوراء بنفش *UV* بود.

به منظور حصول اطمینان بیشتر از خالص بودن جسم جداسازی شده، از آن جسم *TLC* دو بعدی با استفاده از همان سیستم حلالی فوق به عمل آمد و آن جسم کاملا در وسط *TLC* مربعی شکل قرار گرفت و بدین سان خلوص کامل آن به تائید خواهد رسید.

به منظور تعیین جرم مولکولی و نیز ساختار ماده جداسازی شده، آن ماده مورد اسپکتروسکوپی‌های *IR*، *H-NMR* و *MS* قرار گرفت.

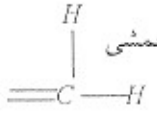
یافته‌ها

تفسیر طیف مادون قرمز (IR): در فرکانس $3438cm^{-1}$ نوار جذبی مربوط به ارتعاشات کششی گروه عاملی *O-H* دیده می‌شود و جذب



فرکانس $3160cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی گروه است. در فرکانس $1700\ cm^{-1}$ یک قلهٔ تیز مربوط به ارتعاشات کششی گروه کربنیل $C=O$ دیده می‌شود. در فرکانس $1630cm^{-1}$ یک نوار جذبی متعلق به ارتعاشات پیوند $C=C$ اگزوسیکلیک یافت می‌شود. جذب در فرکانس $1460cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات گروه متیلنی حلقه سیکلوپروپانی می‌باشد. در ناحیهٔ $1110cm^{-1}$ یک نوار جذبی مشاهده می‌شود که به ارتعاشات خمشی پیوند مربوط می‌باشد *C-O*.

در فرکانس $1040cm^{-1}$ یک نوار جذبی مربوط به ارتعاشات خمشی *C-N* یافت می‌شود و نوا جذبی موجود در فرکانس $920cm^{-1}$ نشانگر ارتعاشات خمشی



است (۱۰و۱۱).

تفسیر طیف جرمی: در این طیف یک پیک مولکولی در m/e=۳۸۵/۶ دیده می‌شود و پیک پایه در m/e=۳۷۰/۷ قرار دارد. پیک پایه مربوط به از دست دادن یک گروه متیل (CH_3) توسط پیک مولکولی است. پیک موجود در m/e=۳۴۲/۵ که ۲۸ واحد با پیک پایه اختلاف دارد، مربوط به از دست دادن یک مولکول پایدار *CO* توسط پیک پایه است (۱۰،۱۱).

تفسیر طیف H-NMR: دو پیام $0/0005ppm$ و $0/0293ppm$ یافت می‌شود که با توجه به جفت‌شدگی آنها مربوط به دو پروتن متیلنی حلقه سیکلوپروپانی است که به صورت دو پیام دو شاخه ظاهر می‌شوند. دو پیام در $4/63ppm$ و $4/95ppm$ یافت می‌شود که با توجه به ثابت جفت‌شدگی آنها مربوط به دو پروتن وینیلی اگزوسیکلیک ($C=CH_2$) می‌باشد.

پیام موجود در $2/34ppm$ نشانگر وجود گروه دی‌متیل آمینو $N(CH_3)_2$ می‌باشد.

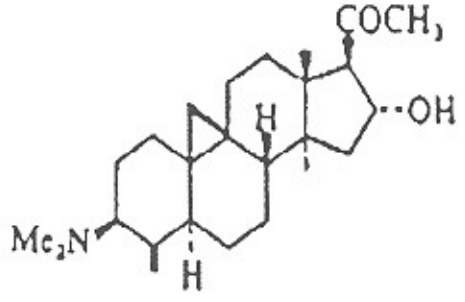
www.SID.ir

Archive of SID

پیام موجود در ۲/۱۵ppm مؤید وجود یک اتم هیدروژن در مجاورت یک اتم اکسیژن است.
پیام‌های موجود در ۰/۹۱ppm و ۱/۲۰ppm مربوط به دو گروه متیل نوع چهارم در مولکول جسم می‌باشد و پیام موجود در ۱/۸۶ppm مربوط به گروه متیل متصل به گروه کربونیل است (۱۰، ۱۱).
نقطه ذوب این ترکیب در گسترهٔ C° ۱۷۳-۱۷۰ قرار دارد و چ_رخش ویژه‌اش $[\alpha]_D^{25}$ =+۱۵۶ است(۱۰،۱۱).

بحث

با استفاده از اطلاعات حاصل از تفسیر طیفهای *IR*، *H-NMR* و جرمی و نقطهٔ ذوب و چرخش ویژهٔ ترکیب جداسازی شده و نیز با استفاده از نتایج حاصل از تحقیقات قبلی انجام یافته روی دیگر گونه‌های این جنس گیاهی و مقایسه آنها با مشخصات به دست آمده از ترکیب جداسازی شده، می‌توان فرمول ساختاری زیر را برای این جسم ترسیم کرد.



این ترکیب بوکسپیین (*Buxpiine*) نامیده شده است (۱۰) که منعکس‌کننده نام تیرهٔ گیاهی (*Buxaceae*) و آلکالوئید بودنش می‌باشد. نام دیگر این ترکیب سیکلومیکروبوکسین (*Cyclomicrobuxine*) است که منعکس‌کننده حلقوی بودن مولکولش است (۱۱).

Reference:

منابع

۱ـ زرگری ـ علی، گیاهان دارویی، چاپ چهارم انتشارات دانشگاه تهران،تهران، جلد چهارم، ۱۳۶۹، ۴۰۲، ۴۰۶.
۲ ـ ثابتی ـ حبیب ا...، درختان و درختچه های ایران ، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۴۴، ۵۹/
۳ ـ مظفریان ـ ولا...،ردهخ بندی گیاهی، کتاب دوم ، دو لپه ای ها ،نشر دانش امروز، تهران، ۱۳۷۳، ۳۰۲ ـ ۳۰۰

4- Rechinger – K.H. , Buxaceae, Flora Iranica, Wien 4, 1965 – 67.
5- Atta – ur- Rahman, Handbook of Natural Products Daata, Diterpenoid and Steroidal Alkaloids, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Vol I, 1990, p. 634.
6- S.Naz, Phytochemical and Structural Studies on the Chemical Constituents of Buxus sempervirens and B. papillosa, Ph. D. Dissertation, H.E.J. Research institute of Chemistry, University of Karachi, Karachi, 75270, Pakistan, 1995.
7- Cordell, G.A., Introduction to Alkaloids, Wiley Interscience, New York, 1980, p. 907.
8- Durant, J., Dellanica, P. and Reboultai, A., Pet. Int. Appl. Wo 9300, 915(CA 118, 13982 U, 1993).
9- Shehnaz Parveen, Atta- Rahman, M., Igbal Choudhary, Asaad Khalid and Ayatollahi, S.A.M., The Riches of Buxus. Batural Remedy for Alzheimer's Diseawe, Abstracts book, p. 103, 8th International Symposium on Natural Produvt Chemistry, Jan< 18-22, 2000, Karachi, Pakistan,
10- Voticky, Z. and Tomko, J., Alkaloids from Buxus sempervirens. Configuration of Buxtauine and Buxpiine, Tetrahedron Letters, 1965, 40, 3579-3584.
11- Nakano, T. and Hasehawa. W. Buwus Alkaloids. The Constitutions of cyclomicrobuxine and cyclomicrobuxinine, J. of Chem. Soc. 1965, 6686

www.SID.ir