مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2020.128427.2671

جلد ۳۶، شماره ۴، صفحه ۵۵۱-۵۴۲ (۱۳۹۹) | شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1399.36.542.102.4.1576.46

بررسی فیتوشیمیایی عصاره کلروفرمی ساقه *Ferula ovina* Boiss.

صبا قاسمی[1*]، زهره حبیبی[2] و فاطمه رضا علیزاده روشن[3]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه شیمی، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی، ایلام، ایران، پست الکترونیک: sb.ghasemi@ilam-iau.ac.ir

۲- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیک: z_habibi@sbu.ac.ir

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۸ | تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۹ | تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۹

چکیده

در این تحقیق، بررسی عصاره کلروفرمی ساقه گیاه *Ferula ovina* Boiss. از خانواده چتریان بررسی شد. این گونه گیاهی در فصل گلدهی از استان تهران- دماوند جمع‌آوری شد. پس از خالص‌سازی عصاره با استفاده از کروماتوگرافی ستونی بر روی سیلیکاژل با گرادیان حلال n- هگزان - اتیل‌استات ۱۲ جزء بدست آمد. در نتیجه خالص‌سازی بیشتر این فرکشن‌ها، چهار مشتق استری مونوترپنوئیدی به نام‌های شیمگین (۱)، (۴S،۲R،۱S)-۱،۷،۷-تری‌متیل بی‌سیکلو [۲.۲.۱] هپتان-۲-ایل ۴-متوکسی بنزوآت (۲)، (۴S،۲R،۱S)-۱،۷،۷-تری‌متیل بی‌سیکلو [۲.۲.۱] هپتان-۲-ایل ۴-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزوآت (۳) و استیلوزین (۴) جداسازی و شناسایی شد. البته تاکنون هیچ‌گونه گزارشی مبنی بر جداسازی ساختار ترکیب شماره ۲ یافت نشده است. ساختار ترکیب‌ها توسط روش‌های طیف‌سنجی تعیین شد. در نهایت از طریق مقایسه ویژگی‌های فیزیکی شامل نقطه‌ذوب و چرخش نوری و داده‌های طیفی آنها با آنچه که در منابع علمی معتبر گزارش شده است تأیید گردید.

واژه‌های کلیدی: فیتوشیمی، *Ferula ovina* Boiss.، عصاره، مونوترپنوئید، شیمگین، استیلوزین.

مقدمه

خانواده چتریان Umbelliferae (Apiaceae)

تیره وسیع چتریان در حدود ۳۷۰۰ گونه علفی و ۳۰۰ جنس دارد. این گیاهان در اغلب نقاط زمین و به‌طور مشخص در مناطق معتدله و نواحی کوهستانی یافت می‌شوند. گیاهان این خانواده عموماً علفی، یک یا چندساله و دارای سه ساقه اغلب راست یا خزنده و معمولاً شیاردار هستند. از دیگر ویژگی‌های این گیاهان آن است که به‌طور کلی دارای برگ‌های متناوب ساده و یا دارای پهنک منقسم به بریدگی‌های بسیار و معمولاً منتهی به دمبرگ غلاف‌داری می‌باشند که ساقه را در محل اتصال به آن فرا می‌گیرد. این گیاهان سرشار از متابولیت‌های ثانویه بوده و تحقیقات زیادی در زمینه استخراج ترکیب‌های طبیعی گوناگون موجود در آنها انجام شده است (Zargari, 1997؛ Sayed-Ahmad *et al*., 2017).

گل‌آذین این گیاهان به‌شکل چتر مرکب و به‌ندرت کلاپرک است. به‌دلیل داشتن گل‌آذین چتری و برگ‌های اغلب مرکب از بریدگی‌های باریک و نازک، این گیاهان به

سهولت قابل تشخیص هستند. به‌علت گل‌آذین چتری است که این تیره، تیره چتریان نامیده می‌شود. گونه‌های دارویی و خوراکی زیادی در بین گیاهان تیره چتریان وجود دارد و استفاده از آنها در درمان از پیشینه طولانی برخوردار است. شایان ذکر است که در بین آنها گونه‌های کشنده و سمی مانند شوکران هم یافت می‌شوند (Zargari, 1997؛ Halberstein, 2005). مهمترین جنس‌های آن از نظر تعدد گونه، جنس *Eryngium* (۲۵۰ گونه)، *Pimpinella* (۲۰۰ گونه)، *Peucedanum* (۲۰۰ گونه)، *Buplerum* (۱۰۰ گونه)، *Hydrocotyle* (۷۸ گونه)، *Ferula* (بیش از ۱۷۰ گونه) و *Sanicula* (۳۰ گونه) هستند.

جنس کما (*Ferula*)

جنس کما سومین جنس پرجمعیت خانواده چتریان است که بیش از ۱۷۰ گونه در جهان دارد که نزدیک به ۳۰ گونه گیاه چندساله و دائمی از این جنس در ایران یافت می‌شود. غالب این گونه‌ها در مناطق کوهستانی و گاهی بیابانی در آسیای میانه، شوروی سابق، ایران، افغانستان، ترکیه و چین پراکنده‌اند (Mohammadhosseini *et al*., 2019؛ Mozaffarian, 1996). گیاهان این جنس دارای خواص دارویی و درمانی متعددی می‌باشند و از دیرباز به‌عنوان داروی ضدتشنج، خلط‌آور، هضم‌کننده، قاعده‌آور، شل‌کننده عضلات صاف و دفع انگل‌های روده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند. همچنین مصرف آنها در جهت رفع اختلالات هاضمه‌ای نیز توصیه می‌شود (Ghannadi *et al*., 2002؛ Mohammadhosseini *et al*., 2019). از میان آنها دو گونه *F. gumosa* و *F. assa-foetida* در طب گذشته ایران سابقه مصرف دارند که گونه آخر تولید اولئوگم رزینی می‌کند و خواص دارویی دارد (Afifi & Abu-Irmaileh, 2000؛ Mortazaienezhad & Sadeghian, 2006؛ Zargari, 1996).

به‌علت تنوع ترکیب‌های موجود در عصاره جنس کما، تحقیقات فراوانی در زمینه خالص‌سازی و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی این جنس انجام شده است. در عصاره گونه‌های متفاوت این گیاه ترکیب‌های متنوعی مانند مونوترپن کومارین‌ها، سزکویی‌ترپن کومارین‌ها، استرها و ترکیب‌های پلی‌سولفیدی شناسایی شده است. در ادامه به ذکر چند نمونه از تحقیقات انجام شده در زمینه بررسی ترکیب‌های شیمیایی عصاره گیاه کما می‌پردازیم.

در تحقیقی که Yousefi و همکاران (۲۰۱۰) بر روی عصاره قسمت‌های هوایی گیاه *F. behboudiana* انجام دادند، موفق به جداسازی دو جفت دیاستررومر پلی‌سولفیدی جدید شدند. از عصاره دی‌کلرومتانی قسمت‌های هوایی گیاه *F. vesceritensis*، یازده مشتق سزکویی‌ترپنی بدست آمد که پنج تا از این مشتقات سزکویی‌ترپنی برای اولین بار گزارش شده است (Oughlissi-Dehak *et al*., 2008).

بررسی عصاره اتیل‌استاتی میوه‌های گیاه *F. kuhistanica* منجر به جداسازی سه مشتق سزکویی‌ترپنی جدید با ساختار دائوکان (Daucane) گردید که دارای خاصیت ضدباکتریایی بر علیه باکتری‌های گرم- مثبت بودند (Tamemoto *et al*., 2001). به‌علاوه اینکه عصاره کلروفرمی ریشه‌های *F. ferulago* نیز حاوی دو ترکیب مونوترپن کومارینی جدید به نام‌های فرولاگول A و B (Ferulagol A, B) بود (Abd El-Razek *et al*., 2000). طبق گزارش‌های منتشر شده ترکیب‌های ترپن‌کومارینی اثرهای ضدویروس HIV دارند (Zhou *et al*., 2000). در تحقیقی که بر روی ریشه *F. flabelliloba* انجام گردید، سه سزکویی‌ترپن کومارین جدید به‌نام‌های فارنسیفرون B (Farnesiferone B)، فلابلیلوبین A و B (Flabellilobin A, B)، همراه با ۹ ترکیب شناخته شده دیگر از این گیاه شناسایی شد (Iranshahi *et al*., 2010b). از عصاره *F. hermonis* ۱۷ استر سزکویی‌ترپنوئید شناسایی گردید که در میان آنها می‌توان به فروتینین (Ferutinin)، تفریدین (Teferidin) و (+)-α-(+)- بیسابولول (Alpha-bisabolol-(+)) اشاره کرد که خواص ضدمیکروبی از خود نشان داده‌اند (Ibraheim *et al*., 2012) و ازجمله گیاهانی است که علاوه‌بر اثرهای شبه استروژنی به‌عنوان کاهنده قوای جنسی در جنس نر نیز مطرح شده است (Zanoli *et al*., 2005). Jabrane و

همکاران (۲۰۱۰) از ریشه گیاه *F. tunetana* یک استر سزکویی‌ترپن جدید به نام تونتانین A (Tunetanin A) و یک سزکویی‌ترپن کومارین جدید به نام تونتاکومارین A (Tunetacoumarin A) همراه با ۸ ترکیب شناخته شده دیگر شناسایی کردند.

در تحقیقی دیگر سه عصاره کلروفرمی، اتیل‌استاتی و متانولی گونه گیاهی *Ferula capsica* برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت که عصاره کلروفرمی و اتیل‌استاتی بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی را نشان دادند. به‌علاوه اینکه از این گونه گیاهی، سه مشتق سزکوئی‌ترپنی شناخته شده، سه مشتق کومارینی و چندین ترکیب شناخته شده دیگر جداسازی گردید (Kahraman *et al.*, 2019). شایان ذکر است که طی تحقیقی که بر روی عصاره ریشه گیاه *F. ovina* انجام شد توانستند یک سزکویی‌ترپن به نام فروتینین (Ferutinin) که به‌عنوان یکی از قوی‌ترین استروژن‌های طبیعی است و همچنین دو مشتق مونوترپنی به نام‌های استیلوزین (Stylosin) و شیمگین (Tschimgine) را جداسازی کنند (Iranshahi *et al.*, 2010a).

علاوه‌بر سزکویی‌ترپن‌ها، سزکویی‌ترپن کومارین‌ها (Iranshahi *et al.*, 2007؛ Boghrati & Iranshahi, 2019؛ Iranshahi *et al.*, 2019)، ترکیب‌های گوگردی (Soltani *et al.*, 2018) و اخیراً کومارین گلیکوزیدها (Iranshahi *et al.*, 2008) از عمده‌ترین ترکیب‌های شناسایی شده در جنس کما بوده‌اند. گیاه کما که در مناطق مختلفی در دنیا می‌روید در طب سنتی برای درمان بیماری مالاریا، التهاب روده و گاهی نیز برای دفع حشرات مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zhi-da *et al.*, 1987). از دیگر استفاده‌های درمانی این گیاه می‌توان به اثرهای آرام‌بخشی، ضد اسپاسم، ضد سرطان، ضد آسم، تب و درمان رماتیسم نیز اشاره نمود (Mohammadhosseini *et al.*, 2019؛ Boghrati & Iranshahi, 2019؛ Boulos, 1983).

گونه *F. ovina* برخلاف برخی از گونه‌های دیگر کما که به‌دلیل ترکیب‌های گوگرددار بدبو هستند، خوشبو و معطر می‌باشد. بنابراین با بررسی کامل منابع علمی هیچ‌گونه گزارشی از تحقیق بر روی عصاره ساقه گونه *F. ovina* وجود ندارد، از همین رو تحقیق انجام شده اولین گزارش از بررسی بر روی عصاره ساقه این گونه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری و جداسازی اجزای تشکیل‌دهنده عصاره

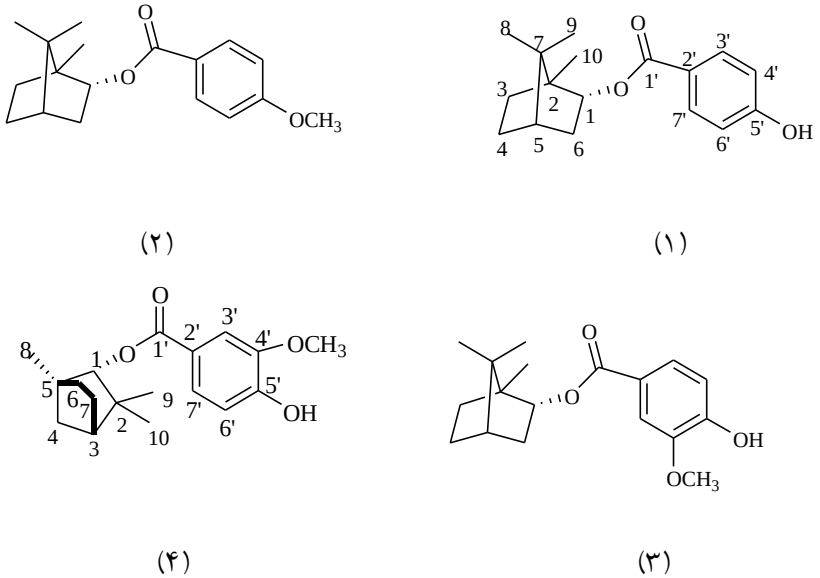
برای عصاره‌گیری ۴۵۰ گرم از قسمت‌های هوایی (ساقه) گیاه *Ferula ovina* خرد شده و به‌مدت ۴۸ ساعت در حلال کلروفرم خیس شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت عصاره حاصل صاف گردید و به‌وسیله تبخیرکننده چرخان در فشار کاهش یافته در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید. به‌منظور افزایش میزان عصاره گیاه، عمل قرار دادن گیاه در کلروفرم و تغلیظ عصاره سه بار تکرار شد. سپس عصاره‌های تغلیظ شده در حداقل میزان متانول حل و به‌مدت ۴۸ ساعت به‌منظور چربی‌زدایی در فریزر قرار داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت عصاره حاصل به‌منظور حذف چربی‌ها صاف گردید و دوباره به‌وسیله تبخیرکننده چرخان، حلال عصاره تبخیر شد و به این ترتیب عصاره برای کروماتوگرافی ستونی آماده گردید.

پس از اتمام مراحل عصاره‌گیری و چربی‌زدایی، مقدار ۱۰/۸۳g عصاره غلیظ سبزرنگ بدست آمد و برای جداسازی اجزاء آن از کروماتوگرافی ستونی استفاده شد. ستون مورد استفاده در این مرحله و مراحل بعدی باید از لحاظ اندازه و ابعاد متناسب با مقدار نمونه تزریقی به ستون باشد. بدین‌ترتیب ستون مورد استفاده با طول ۷۰cm و قطر ۴cm انتخاب گردید. سپس دوغاب نسبتاً غلیظی از سیلیکاژل (60, 0.063-0.09mm) در حلال n– هگزان تهیه شد. پس از اتمام پر شدن ستون در حالی‌که روی آن حلال n– هگزان قرار داشت، سرستون بسته شد و به‌مدت یک شبانه‌روز باقی ماند. به‌منظور وارد کردن نمونه به ستون، عصاره بدست آمده مورد نظر در حداقل کلروفرم حل گردید. سپس سیلیکاژل به‌تدریج به آن اضافه شد. پس از حلال‌پرانی، پودر یکنواخت حاصل از تثبیت عصاره بر روی سیلیکاژل به ستون اضافه گردید. با افزایش حلال‌هایی با قطبیت متفاوت، جداسازی انجام شد. به

این ترتیب که از حلال کاملاً غیرقطبی n–هگزان شروع و با افزایش اتیل‌استات قطبیت افزایش یافت. حجم حلال‌هایی که در هر نوبت اضافه می‌گردید، ۱۰۰ml و حجم اجزاء جمع‌آوری شده در هر ارلن ۷۵ml بود. در نهایت برای شستشوی ستون از حلال متانول استفاده شد تا تمامی اجزاء باقیمانده از ستون خارج شود. اجزاء مشابه بهم اضافه شدند. برای خالص‌سازی بیشتر اجزاء از کروماتوگرافی ستونی مجدد (با ستون‌های کوچک‌تر) و کروماتوگرافی لایه نازک (با استفاده از صفحات شیشه‌ای (۲۰×۲۰cm)) استفاده گردید. پس از خالص شدن اجزاء تشکیل‌دهنده عصاره، شناسایی نمونه‌های خالص شده به کمک تفسیر طیف‌های ^{1}H NMR، ^{13}C NMR و مقایسه نقطه‌ذوب، چرخش نوری و اطلاعات طیفی آنها با آنچه که در مراجع گزارش شده بود انجام گردید.

نتایج

پس از انجام کروماتوگرافی ستونی، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و افزایش اجزای مشابه به‌هم، در نهایت ۱۲ جزء بدست آمد. پس از انجام مراحل خالص‌سازی با استفاده از کروماتوگرافی ستونی مجدد، کروماتوگرافی لایه نازک و نو بلور کردن، چهار مشتق استری مونوترپنی به نام‌های شیمگین (۱)، (۴S،۲R،۱S)–۱،۷،۷–تری‌متیل بی‌سیکلو [۲.۲.۱] هپتان–۲–ایل ۴–متوکسی بنزوآت (۲)، (۴S،۲R،۱S)–۱،۷،۷–تری متیل بی‌سیکلو [۲.۲.۱] هپتان–۲–ایل ۴–هیدروکسی–۳–متوکسی بنزوآت (۳) و در استیلوزین (۴)، جداسازی و شناسایی شد که از میان آنها ترکیب شماره ۲ جدید است (شکل ۱).



شکل ۱– مشتقات استری مونوترپنی شناسایی شده در عصاره *Ferula ovina*

ترکیب شماره ۱ (شیمگین)

شیمگین یا ایزوبورنیل پاراهیدروکسی بنزوآت با فرمول مولکولی $C_{17}H_{22}O_3$، به‌صورت کریستال‌های جامد و سفید رنگ به شکل دانه‌های برنج از جزء ۶ با قطبیت (n– هگزان: اتیل استات ۱:۱۲) به مقدار ۷۲mg جداسازی شد. نقطه‌ذوب آن ۱۵۹°C–۱۵۸ می‌باشد. این ترکیب طی تحقیقات قبلی که بر روی عصاره حاصل از ریشه این گونه گیاهی (*Ferula ovina*) انجام شده است شناسایی و جداسازی گردیده است. چرخش ویژه اندازه‌گیری شده برای متابولیت در حلال اتانول (c: 0.1) +۴/۷° بدست آمد که با آنچه که در منابع آمده است همخوانی دارد (Kadyrov & Nikonov, 1972). ویژگی‌های فیزیکی و داده‌های طیفی این ترکیب با منابع

معتبر علمی مقایسه و ساختار آن تأیید گردید (Iranshahi *et al.*, 2010a). شایان ذکر است که استفاده از این ترکیب به‌عنوان مهارکننده آنزیم استیل کولین استراز در درمان بیماری آلزایمر مورد بررسی قرار گرفته است (Karimi *et al.*, 2010).

ترکیب شماره ۲

ترکیب ایزو بورنیل پارا متوکسی بنزوآت (۲) با فرمول مولکولی $C_{18}H_{24}O_3$، به‌صورت روغن تقریباً بی‌رنگی بوده و از جزء ۳ از مجموع ۱۲ جزء در قطبیت (n- هگزان: اتیل استات ۱:۱۹) بدست آمده است. ترکیب جداسازی شده، جدید است و تمامی پروتون‌ها از طریق مقایسه با ترکیب شماره ۱ که قبلاً از گیاه *F. ovina* شناسایی شده است، قابل گمارش است.

ترکیب شماره ۳

نام این ترکیب (۴S،۲R،۱S)-۱،۷،۷-تری‌متیل بی‌سیکلو [۲.۲.۱] هپتان-۲-ایل ۴-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزوآت است که از مشتقات شیمگین محسوب می‌شود. این ترکیب با فرمول مولکولی $C_{18}H_{25}O_4$ به‌صورت روغنی بی‌رنگ از جزء ۵ با قطبیت (n- هگزان: اتیل استات ۱:۱۵) بدست آمد. چرخش ویژه متابولیت مورد نظر در حلال اتانول °۳۰/۵- (c: 0.5) بدست آمد که با آنچه که در منابع آمده است همخوانی دارد (Eshbakova & Saidkhodzhaev, 2003). برای شناسایی این ترکیب تنها از مقایسه چرخش نوری و داده‌های طیفی ^{1}H NMR با منابع معتبر علمی استفاده شد (Eshbakova & Saidkhodzhaev, 2003).

ترکیب شماره ۴ (استیلوزین)

مشتق استری مونوترپنوئیدی، (۴S،۲R،۱S)-۱،۳،۳-تری‌متیل بی‌سیکلو [۲.۲.۱] هپتان-۲-ایل ۴-هیدروکسی-۳-متوکسی بنزوآت به شکل کریستال جامد زرد مایل به سبز از جزء ۴ با قطبیت (n- هگزان: اتیل استات ۱:۲۶) به‌مقدار ۱۲mg جداسازی شد. این ترکیب با فرمول مولکولی $C_{18}H_{24}O_4$، دارای نقطه‌ذوب ۱۱۸-۱۲۱°C می‌باشد. چرخش ویژه این ترکیب در حلال اتانول °۲۲/۵- (c: 0.3) بدست آمد که با آنچه که در منابع گزارش شده است تطابق دارد (Bagirov *et al.*, 1980). شناسایی ساختار آن از طریق مقایسه طیف پروتون با داده‌های طیفی همین ترکیب که قبلاً از ریشه گیاه *F. ovina* استخراج و جداسازی شده بود، انجام گردید. نقطه ذوب و چرخش نوری اندازه‌گیری شده نیز ساختار مورد نظر را تأیید نمود (Iranshahi *et al.*, 2010a).

بحث

مشخصات طیفی ترکیب شماره ۱

در طیف ^{1}H NMR این ترکیب، پیام موجود در δ=۱/۷۳ ppm مربوط به پروتون کربن شماره ۵ می‌باشد که به‌صورت چندتایی دیده می‌شود. دو پیام تک شاخه با سطح زیر انتگرال شش و سه در جابجایی شیمیایی ۰/۹۱ و ۰/۹۵ppm مشاهده گردید که به‌ترتیب به سه گروه متیل ۸، ۱۰ و ۹ مربوط هستند. در ناحیه آروماتیک طیف پروتون این ترکیب دو پیام دوتایی نیز به‌ترتیب در δ= ۶/۹۳ppm و δ= ۷/۹۸ppm با ثابت جفت‌شدگی ۷/۶Hz ظاهر گردید که این الگوی شکافتگی، مؤید وجود یک حلقه آروماتیک با الگوی استخلافی پارا می‌باشد. همچنین پیام مربوط به پروتون‌های CH_2 شماره ۳ در دو ناحیه ۱/۱۲ppm به‌صورت دوتایی پهن شده با ثابت جفت‌شدگی ۱۳/۳Hz و ۲/۴۷ppm به‌صورت چندتایی مشاهده شد. از سویی پیام مربوط به هیدروژن فنولی نیز در موقعیت ۷/۱۸ppm ظاهر گردید.

پیام دوتایی ظاهر شده در جابه‌جایی شیمیایی ۵/۰۹ppm، مربوط به H-۱ با ثابت جفت‌شدگی ۹/۳Hz می‌باشد که به‌دلیل اتصال به اکسیژن گروه استری به میدان پایین جابه‌جا شده است.

طیف ^{13}C NMR این ترکیب نیز ساختار پیشنهادی را تأیید می‌کند. در طیف ^{13}C NMR ۱۵ پیام مشاهده شد که به‌علت تقارن موجود در حلقه آروماتیک و در نتیجه معادل بودن کربن‌های ۳ با ۷ و ۴ با ۶، تعداد پیام‌های موجود در طیف کربن نسبت به ترکیب کمتر است. این پیام‌ها به‌ترتیب در ۱۳۱/۸۸ و ۱۱۵/۳۴ppm مشاهده شد. پیام مربوط به

گروه کربونیل (C–۱′) نیز در ۱۶۷/۵۷ppm ظاهر گردید. پیک مربوط به کربن شماره یک که به عنصر الکترونگاتیو اکسیژن وصل است در جابه‌جایی شیمیایی ۸۰/۷۷ppm مشاهده گردید. بقیه پیام‌های ظاهر شده در طیف با ساختار طیف همخوانی کامل دارد.

مشخصات طیفی ترکیب شماره ۲

در طیف ^{1}H NMR این ترکیب، یک پیام یکتایی در موقعیت δ= ۳/۸۸ ppm با سطح زیر انتگرال سه مشاهده گردید که دال بر وجود یک گروه متوکسی در ساختار است.

پیام مربوط به پروتون‌های دیاستروتاپیک کربن شماره ۳ نیز در ۱/۱۲ppm به‌صورت دوتایی دوتایی با ثابت‌های جفت‌شدگی ۳/۵ و ۱۳/۹ Hz و در ۲/۴۷ppm به‌صورت چندتایی مشاهده گردید. هیدروژن‌های ۳، ۷ و ۴ و ۶ حلقه آروماتیک در این ترکیب به‌صورت دو پیام دوتایی و هر یک با سطح زیر انتگرال دو به‌ترتیب در ناحیه δ= ۸/۰۳ppm و δ= ۶/۹۴ppm با ثابت‌های جفت‌شدگی ۸/۹ Hz و ۸/۸ Hz ظاهر شدند که دال بر الگوی استخلافی پارا می‌باشد.

جدول ۱– اطلاعات طیفی ترکیب‌های شماره ۱ و ۲

پروتون	جابجایی شیمیایی H δ(ppm)	
	۱	۲
۱	۵/۰۹ (brd, J= ۹/۳Hz)	۵/۱ (brd, J= ۹/۴Hz)
۳	۱/۱۲ (brd, J= ۱۳/۳Hz)	۱/۱۲ (dd, J= ۱۳/۹ و ۳/۵Hz)
۴	۲/۴۷ (m)	۲/۴۶ (m)
	۱/۳۵ (m)	۱/۳۵ (m)
	۱/۸۰ (m)	۱/۷۶ (m)
۵	۱/۷۳ (m)	۱/۷۴ (m)
۶	۱/۴۵ (m)	۱/۴۳ (m)
	۲/۱۱ (m)	۲/۱۵ (m)
۸	۰/۹۱ (s)	۰/۹۲ (s)
۹	۰/۹۵ (s)	۰/۹۷ (s)
۱۰	۰/۹۱ (s)	۰/۹۳ (s)
۳′, ۷′	۷/۹۸ (d, J= ۷/۶Hz)	۸/۰۳ (d, J= ۸/۹Hz)
۴′, ۶	۶/۹۳ (d, J= ۷/۶Hz)	۶/۹۴ (d, J= ۸/۸Hz)
OMe	–	۳/۸۸ (s)

الگوی شکافتگی و جابه‌جایی شیمیایی پروتون‌های این ناحیه تقریباً با ناحیه آروماتیک طیف پروتون ترکیب شماره ۱ یکسان می‌باشد و تنها تفاوت فاحش طیف پروتون این ترکیب با ترکیب شماره ۱، ظهور یک پیام یکتایی با سطح زیر انتگرال سه در ناحیه آلیفاتیک است که دال بر حضور یک گروه متوکسی در ساختار ترکیب ۲ است. به‌علاوه پیام مربوط به OH فنولی که در ترکیب شماره ۱ در جابه‌جایی شیمیایی ۷/۱۹ppm ظاهر شده بود برای این ترکیب مشاهده

نشد. در جدول ۱ گمارش کلی هیدروژن‌های این دو ترکیب آمده است.

مشخصات طیفی ترکیب شماره ۳

در طیف پروتون این ترکیب دوپیام دوتایی و یک پیام یکتایی در ناحیه آروماتیک مشاهده گردید که مؤید حضور سه استخلاف بر روی حلقه آروماتیک است. دو پیام دوتایی ظاهر شده با جابه‌جایی‌های شیمیایی ۷/۶۶ و ۶/۹۵ppm و ثابت جفت‌شدگی یکسان ۸/۳ Hz به‌ترتیب مربوط به پروتون کربن‌های شماره ۳ و ۴ می‌باشند و همین‌طور پیام یکتایی موجود در ۷/۵۸ ppm مربوط به H–۷ حلقه آروماتیک می‌باشد. هیدروژن متصل به کربن شماره ۱ نیز به‌صورت یک دوتایی پهن در جابه‌جایی شیمیایی ۵/۰۹ ppm مشاهده گردید. در ناحیه ۳/۹۶ ppm یک پیام یکتایی با سطح زیر انتگرال سه پروتون مشاهده شد که گروه متوکسی را در ساختار تأیید می‌کند. سه گروه متیل ۸، ۱۰ و ۹ نیز به‌صورت دو پیام تک شاخه با سطح زیر انتگرال شش و سه در جابه‌جایی شیمیایی ۰/۹۷ و ۱/۰۳ ppm ظاهر شدند.

همچنین پیام یکتایی دیگری در موقعیت ۶/۰۹ ppm دیده می‌شود که متعلق به OH فنولی است. موقعیت این پیام به‌دلیل ایجاد پیوند هیدروژنی درون مولکولی با گروه متوکسی، به میدان پایین‌تر جابه‌جا شده است.

با مشاهده الگوی شکافتگی ناحیه آروماتیک طیف پروتون این ترکیب و مقایسه با داده‌های طیفی ترکیب‌های بالا ساختار ۳ پیشنهاد گردید.

مشخصات طیفی ترکیب شماره ۴

در طیف ^{1}H NMR این ترکیب، گروه متوکسی در ۳/۹۶ppm به‌صورت یک پیام یکتایی با سطح زیر انتگرال سه ظاهر گردید. از سویی سه پیام یکتایی در ناحیه آلیفاتیک با جابه‌جایی‌های شیمیایی ۱/۱۲، ۰/۸۵ و ۱/۱۹ppm مشاهده شد که به‌ترتیب سه گروه متیل ۸، ۹ و ۱۰ را تأیید می‌کند. در ناحیه آروماتیک طیف پروتون این ترکیب سه پیام با سطح زیر انتگرال یک مشاهده شد. یکی از آنها به‌صورت یک پیام دوتایی با ثابت جفت‌شدگی اورتو (۸/۲ Hz) در ۶/۹۶ ppm ظاهر شد که مربوط به پروتون شماره ۶ حلقه آروماتیک می‌باشد. پیامی دیگر در جابه‌جایی شیمیایی ۷/۶۰ppm به‌صورت یک دوتایی با ثابت جفت‌شدگی متا (۱/۷Hz) مشاهده گردید که مؤید پروتون شماره ۳′ حلقه است. در نهایت پروتون کربن شماره ۷ به‌صورت دوتایی دوتایی با ثابت جفت‌شدگی متا و اورتو (۱/۷ Hz، ۸/۲) در ناحیه ۷/۶۸ppm ظاهر گردید که این الگوی شکافتگی در ناحیه آروماتیک ساختار پیشنهادی بالا را تأیید می‌کند. همچنین پیام مربوط به OH فنولی به‌صورت یکتایی در موقعیت ۶/۰۱ppm دیده می‌شود. موقعیت این پیام به‌دلیل ایجاد پیوند هیدروژنی درون مولکولی با گروه متوکسی، به میدان پایین‌تر جابه‌جا شده است. پروتون متصل به کربن شماره یک به‌دلیل حضور الکترونگاتیو اکسیژن در میدان پایین و در جابه‌جایی شیمیایی ۴/۵۸ppm ظاهر گردید. شایان ذکر است که با توجه به مقدار کم نمونه‌ها و وضوح پیام‌ها از گرفتن سایر طیف‌ها صرف‌نظر شد.

سپاسگزاری

با تشکر از معاون محترم پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی و دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام برای حمایت مالی پروژه و جناب آقای دکتر ولی‌الله مظفریان که جمع‌آوری و شناسایی گیاه را عهده‌دار بودند.

منابع مورد استفاده

- AbdEl-Razek, M.H., Ohta, S., Ahmed, A.A. and Hirata, T., 2001. Monoterpene coumarins from *Ferula ferulago*. Phytochemistry, 57(8): 1201-1203.
- Afifi, F.U. and Abu-Irmaileh, B., 2000. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on less commonly used medicinal herbs. Journal of Ethnopharmacology, 72: 101-110.
- Bagirov, V.Y., Sheichenko, V.I., Aliev, G.V. and Pimenov, M.G., 1980. Esters from *Ferula stylosa*. Chemistry of Natural Compounds, 17: 562-563.

- Boghrati, Z. and Iranshahi, M., 2019. *Ferula* species: A rich source of antimicrobial compounds. Journal of Herbal Medicine, 16: 100244.
- Boulos, L., 1983. Medicinal Plants of North Africa, Reference Publications, Inc., Algonac, Michigan, 286p.
- Eshbakova, K.A. and Saidkhodzhaev, A.I., 2003. Esters from *Ferula samarcandica*. Chemistry of Natural Compounds, 39: 221-222.
- Ghannadi, A., Sajjadi, S.E. and Beigihasan, A., 2002. Composition of the essential oil of *Ferula ovina* (Boiss.) Boiss. from Iran. Daru Journal of Pharmaceutical Sciences, 10: 165-167.
- Halberstein, R.A., 2005. Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns. Annals of Epidemiology, 15: 686-699.
- Ibraheim, Z.Z., Abdel-Mageed, W., Dai, H., Guo, H., Zhang, L. and Jaspars, M., 2012. Antimicrobial antioxidant daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis* Boiss. Phytotherapy Research, 26: 579-586.
- Iranshahi, M., Arfa, P., Ramezani, M., Jaafari, M.R., Sadeghian, H., Bassarello, C., Piacente, S. and Pizza, C., 2007. Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. Phytochemistry, 68: 554-561.
- Iranshahi, M., Famili, A., Bassarello, C., Piacente, S. and Pizza, C., 2010a. Purification and structure elucidation of compounds from the roots of *Ferula ovina* Boiss. Journal of Medicinal Plants, 4: 72-80.
- Iranshahi, M., Kalategi, F., Sahebkar, A., Sardashti, A. and Schneider, B., 2010b. New sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula flabelliloba*. Pharmaceutical Biology, 48: 217-220.
- Iranshahi, M., Mojarab, M., Sadeghian, H., Hanafi-Bojd, M.Y. and Schneider, B., 2008. Polar secondary metabolites of *Ferula persica* roots. Phytochemistry, 69: 473-478.
- Iranshahi, M., Farhadi, F., Paknejad, B., Zareian, P., Iranshahi, M., Karami, M. and Abtahi, S.R., 2019. Gummosin, a sesquiterpene coumarin from *Ferula assa-foetida* is preferentially cytotoxic to human breast and prostate cancer cell lines. Avicenna Journal of Phytomedicine, 5: 446-453.
- Jabrane, A., Ben Jannet, H., Mighri, Z., Mirjolet, J.F., Duchamp, O., Harzallah-Skhiri, F. and Lacaille-Dubois, M.A., 2010. Two New Sesquiterpene Derivatives from the Tunisian Endemic *Ferula tunetana* POM. Chemistry Biodiversity, 7: 392-399.
- Kadyrov, A.S. and Nikonov, G.K., 1972. The structures of chimganin and chimgin. Chemistry of Natural Compounds, 8: 53-56.
- Kahraman, C., Topcu, G., Bedir, E., Tatli, I.I., Ekizoglu, M. and Akdemir, Z.S., 2019. Phytochemical screening and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of *Ferula caspica* M. Bieb. extracts. Saudi Pharmaceutical Journal, 27: 525-531.
- Karimi, G., Iranshahi, M., Hosseinalizadeh, F., Riahi, B. and Sahebkar, A., 2010. Screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of terpenoid and coumarin derivatives from the genus *Ferula*. Pharmacology online, 1: 566-574.
- Mohammadhosseini, M., Venditti, A., Sarker, S.D., Nahar, L. and Akbarzadeh, A., 2019. The genus *Ferula*: Ethnobotany, phytochemistry and bioactivities-A review. Industrial Crops and Products, 129: 350-394.
- Mortazaienezhad, F. and Sadeghian, M.M., 2006. Investigation of compounds from galbanum (*Ferula gummosa*) Boiss. Asian Journal of Plant Sciences, 5: 905-906.
- Mozaffarian, V., 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang-e Moaser, 228p.
- Oughlissi-Dehak, K., Lawton, P., Michalet, S., Bayet, C., Darbour, N., Hadj-Mahammed, M., Badjah-Hadj-Ahmed, Y.A., Dijoux-Franca, M.G. and Guilet, D., 2008. Sesquiterpenes from aerial parts of *Ferula vesceritensis*. Phytochemistry, 69: 1933-1938.
- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A. and Merah, O., 2017. The Apiaceae: ethnomedicinal family as source for industrial uses. Industrial Crops and Products, 109: 661-671.
- Soltani, S., Amin, G.R., Salehi-Sourmaghi, M.H., Schneider, B., Lorenz, S. and Iranshahi, M., 2018. Sulfur-containing compounds from the roots of *Ferula latisecta* and their cytotoxic activities. Fitoterapia, 124: 108-112.
- Tamemoto, V., Takaishi, Y., Chen, B., Kawazoe, K., Shibata, H., Higuti, T., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, K.O. and Ashurmetov, O., 2001. Sesquiterpenoids from the fruits of *Ferula kuhistanica* and antibacterial activity of the constituents of *F. kuhistanica*. Phytochemistry, 58: 763-767.
- Yousefi, M., Mohammadi, M., Habibi, Z. and Shafiee, A., 2010. New polysulfanes from aerial parts of *Ferula behboudiana* Rech. f. & Esfand. Natural Product Research, 24: 1352-1357.
- Zanoli, P., Rivasi, M., Zavatti, M., Brusiani, F., Vezzalini, F. and Baraldi, M., 2005. Activity of single components of *Ferula hermonis* on male rat sexual behavior. International Journal of Impotence Research, 17: 513-518.

- Zargari, A., 1996. Medicinal Plants (Vol 4). Tehran University Publication, Tehran, 948p.
- Zargari, A., 1997. Medicinal Plants (Vol 1). Tehran University Publication, Tehran, 976p.
- Zhi-da, M., Qi-fi, M., Mizuno, M., Tanaka, T., Iinuma, M., 1987. Polysulfanes in the volatile oil of *Ferula species*. Planta Medica, 53: 300-302.
- Zhou, P., Takaishi, Y., Duan, H., Chen, B., Honda, G., Itoh, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, K.O. and Lee, H., 2000. Coumarins and bicoumarin from *Ferula sumbul*: anti-HIV activity and inhibition of cytokine release. Phytochemistry, 53: 689-697.

Phytochemical study on the chloroform extract of *Ferula ovina* Boiss. stems

S. Ghasemi[1*], Z. Habibi[2] and F. Rezaalizadeh Rooshan[3]

1*- Corresponding author, Department of Chemistry, Ilam Branch, Islamic Azad University, Ilam, Iran
E-mail: sb.ghasemi@ilam-iau.ac.ir
2- Department of Chemistry, Faculty of Chemistry, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3- M.Sc. student, Department of Chemistry, Faculty of Chemistry, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: December 2019 Revised: June 2020 Accepted: June 2020

Abstract

In this study, the chloroform extract of *Ferula ovina* (fam. Apiaceae) stems was investigated. The plants were collected at the flowering stage from Tehran province (Damavand), Iran. The extract was purified using column chromatography on silica gel with a solvent gradient of n-hexane-ethyl acetate and yielded 12 fractions. Further purification of the fractions resulted in the isolation and identification of four monoterpenoid ester derivatives named tschimgine (**1**), (1S,2R,4S)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-yl 4-methoxy benzoate (**2**), (1S,2R,4S)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-yl 4-hydroxy-3-methoxy benzoate (**3**) and stylosin (**4**). So far, no report has been found on the isolation and structure identification of the compound No.2. The structure of the compounds was determined by spectroscopic analysis and finally confirmed by comparison of their spectral data, melting points, and optical rotations with those described in the literature.

Keywords: Phytochemistry, *Ferula ovina* Boiss., extraction, monoterpenoid, tschimgine, stylosin.