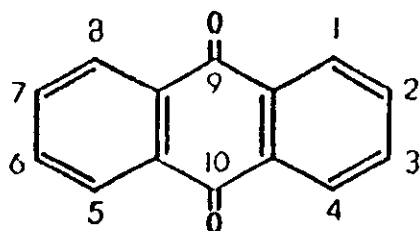
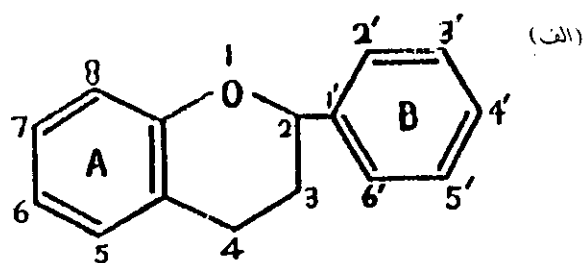


استخراج فلاونویدهای گیاه سنای ایران و شناسایی ساختمان شیمیایی آنها

دکتر علیرضا قنادی^۱؛ دکتر نصراله قاسمی دهکردی؛ دکتر محمدجواد سهرابی

چکیده مقاله.

دارای آثار فارماکولوژیک و فیزیولوژیک متنوعی هستند. فلاونویدها می‌باشند که به طور بی‌سابقه‌ای در سالهای اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. یکی از علل عمده این مسأله، اعتقاد و باور محققین بر این نکته است که در آینده نزدیک، فلاونویدها به عنوان دارو می‌توانند نقش بارزی در درمان برخی بیماریها ایفا نمایند (۴، ۵) (تصویر ۱).



تصویر ۱. ساختمان شیمیایی فلاونویدها (الف)، آنتراکینون‌ها (ب)

آثار ضد التهاب، ضد آلرژی، وقفه دهنده رشد تومور، اثر محافظت‌کنندگی عروق و ضد اسپاسمی، از مهمترین خصوصیات فارماکولوژیک فلاونویدها هستند (۵، ۶). با توجه به این موارد در این تحقیق به بررسی و جداسازی فلاونویدهای گیاه سنای ایران و شناسایی آنها پرداخته شد.

از برگ گونه‌های مختلف گیاه سنای (*Senna or Cassia spp.*) از خانواده نخود (*Leguminosae*) در دنیا به عنوان داروی ملین یا مسهل استفاده زیادی می‌شود. در بسیاری از کشورها فرآورده‌های متعددی به صورت اشکال دارویی مختلف نظیر قرص، کپسول، شربت و شیاف از گونه‌های مختلف این گیاه وجود دارد. مواد مؤثر

مقدمه. گیاه *Senna (Cassia) italica* تنهاگونه بومی گیاه دارویی "سنا" در ایران می‌باشد که به علت دارا بودن آثار دارویی ملین و مسهل، مورد استفاده قرار می‌گیرد. آثار فوق به خاطر وجود ترکیبات آنتراکینونی در گیاه می‌باشد. یکی از آثار سوء این ترکیبات در گیاه سنا، دل‌درد و دل‌پیچه شدید می‌باشد که در صورت وجود توأم برخی از ترکیبات فلاونویدی در گیاه، از شدت اثر آن کاسته می‌شود. جداسازی و شناسایی فلاونویدهای این گیاه با آثار دارویی ضد اسپاسم، به استاندارد نمودن ترکیبات دارویی گیاه کمک می‌نماید.

روشها. پس از جمع‌آوری و شناسایی گیاه سنای ایران. فلاونویدهای نام برگهای گیاه توسط استفاده از یک روش سوکسله جداسازی شده و توسط یک روش کروماتوگرافی لایه نازک (*thin layer*) کمی سه ترکیب فلاونویدی از عصاره برگ گیاه استخراج شد. با استفاده از روش تین‌لایر کروماتوگرافی در حضور ترکیبات استاندارد فلاونویدی و همچنین با بهره‌گیری از طیفهای ماورای بنفش این ترکیبات در حضور معرفهای مختلف و جایجاییهای جذبی حاصل و ترکیبات فوق مورد شناسایی قرار گرفتند. با استفاده از یک روش اسپکتروفتومتری، درصد فلاونویدهای گیاه نیز تعیین گردید.

نتایج. فلاونوید «روتین» با ۵ و ۷ و ۳ و ۴ تراهایدروکسی فلاون ۳-۵- و رامونگلوکوزید و همچنین دو فلاونوید از دسته اورونها در برگ گیاه سنای ایران مورد شناسایی قرار گرفت. درصد فلاونویدهای موجود در برگ سنای ایران $1/5 \pm 0/05$ درصد تعیین شد.

بحث. درصد فلاونویدهای موجود در برگ سنای ایران $1/5$ برابر مقدار آن در برگ سنای استاندارد می‌باشد. به نظر می‌رسد وجود درصد بالای فلاونویدهای فوق در برگ سنای ایران، کاهش اثر دل‌پیچه و دل‌درد حاصل از برگ سنا را باعث گردد.

● واژه‌های کلیدی. سنا، خانواده نخود، فلاونوید، روتین.

مقدمه.

تجربیات و شواهد چند دهه اخیر نشان داده است که نه تنها می‌توان از گیاهان دارویی به طور مستقیم در درمان برخی از بیماریها استفاده نمود، بلکه از مواد مؤثر طبیعی موجود در این گیاهان می‌توان به عنوان الگو و مدلی مناسب برای ساخت سایر داروها بهره گرفت. به همین دلیل، امروزه در کنار کاربرد داروهای صناعی، بازگشت به سمت فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی مورد توجه بسیاری از کشورهای دنیا قرار گرفته است (۱-۳).

یکی از دسته‌های مهم مواد طبیعی موجود در گیاهان دارویی که

۱ - گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان، اصفهان.

● روش عصاره‌گیری. مقدار ۵۰ گرم پودر نمونه‌های گیاهی فوق به طور جداگانه در تمپل ۲۵۰ میلی‌لیتری دستگاه سوکسله ریخته شد و توسط ۴۰۰ میلی‌لیتر حلال دی‌کلرومتان به مدت ۸ ساعت عصاره‌گیری گردید. تفاله حاصل از این عصاره‌گیری در دمای معمولی اطاق خشک و مجدداً در تمپل دستگاه سوکسله ریخته شد و با ۴۰۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۵ ساعت عصاره‌گیری گردید. عصاره متانولی فوق توسط دستگاه تقطیر در خلاء کاملاً تغلیظ گردید و سپس حاصل تغلیظ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب جوش حل شده و مقدار کمی ذغال فعال به عنوان ماده جاذب به آن افزوده گردید و مدت کوتاهی تا نقطه جوش آن حرارت داده شد. محلول فوق به صورت داغ صاف شده و محلول صاف شده به مدت ۱۲ ساعت در یخچال نگهداری شد. رسوب تشکیل شده در اثر نگهداری محلول در یخچال، مجدداً در آب جوش حل شد و مقدار کمی ذغال فعال به آن اضافه گردید و مجدداً مراحل جوشاندن، صاف کردن و نگهداری در یخچال تکرار شد. رسوب فلانوئیدی حاصل پس از ۱۲ ساعت تشکیل گردید که برای انجام مراحل تین‌لایر کروماتوگرافی در مقدار کمی متانول حل و نگهداری شد (۱۲، ۱۳).

● روش کروماتوگرافی با لایه‌نازک (*thin layer*). بسا بهره‌گیری از روش تین‌لایر کروماتوگرافی و استفاده از فاز ثابت سیلیکاژل ۶۰-جی و فاز متحرک اتیل استات - اسید فرمیک - اسید استیک گلاسیال - آب (۱۰۰ - ۱۱ - ۱۱ - ۲۷) اقدام به کاشت عصاره‌های حاصل از مرحله قبل بر روی صفحات شد. همزمان با کاشت عصاره‌ها بر روی صفحات شیشه‌ای و به منظور شناسایی و مقایسه رنگ و R_f ترکیبات جدا شده، از فلانوئیدها و اسیدهای هیدروکسی سینامیک (فنلی) استاندارد نیز برای کاشت استفاده گردید. پس از گسترش حلال بر روی صفحات از معرف Natural Product / PEG 4000 برای ظهور لکه‌های فلانوئیدی موجود در گیاه استفاده شد. فلانوئیدها و اسید فنلی تشخیص داده شده در این روش در بخش نتایج ذکر شده است (۱۴).

● روش تین‌لایر کروماتوگرافی کمی. با استفاده از شرایط تین‌لایر کروماتوگرافی ذکر شده در قسمت قبل و به منظور جداسازی فلانوئیدهایی با $R_f = 0/27$ ، $R_f = 0/58$ و $R_f = 0/70$ از روی صفحات شیشه‌ای، اقدام به استفاده از روش تین‌لایر کروماتوگرافی کمی گردید (۱۲، ۱۴).

● روش تهیه طیف متانولی به همراه معرفهای جابجایی‌دهنده، با استفاده از دستگاه:

UV-Vis. Spectrophotometer 550-SE Perkin-Elmer

و به منظور شناسایی فلانوئیدهای جدا شده در مرحله قبل، اقدام به گرفتن طیف ماورای بنفش این ترکیبات در گستره طول موج ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر گردید. با توجه به ساختمان شیمیایی فلانوئیدها و طیفهای جذبی قوی این مواد در نواحی مری و یا ماورای بنفش که به

اصلی موجود در گونه‌های مختلف گیاه سنا که سبب ایجاد اثر ملین و مسهلی آن می‌شوند، آنتراکینون‌ها و یا گلیکوزیدهای آنتراکینونی نام دارند (۶، ۷) (تصویر ۱). یکی از عوارض عمده گلیکوزیدهای آنتراکینونی پس از مصرف، ایجاد دل‌پیچه‌های خفیف تا شدید می‌باشد. وجود برخی از فلانوئیدهای واجد اثر ضد اسپاسم در گیاهان حاوی گلیکوزیدهای آنتراکینونی، از شدت دل‌پیچه و دل‌درد حاصل از آنتراکینونها می‌کاهد (۵، ۷، ۸).

گیاه سنای ایران با نام علمی *Senna italica* Miller یا *Cassia italica* (Miller) Sprengel گیاهی است چند ساله به صورت بوته‌ای خوابیده بر سطح خاک که از برگچه‌ها و گهگاه میوه‌های آن به عنوان دارویی ملین یا مسهل استفاده می‌شود. این گیاه که تنها گونه بومی سنا در ایران می‌باشد، در نواحی جنوبی کشور خصوصاً در استانهای هرمزگان و سیستان و بلوچستان به وفور می‌روید (۸-۱۰).

روش‌ها.

به منظور استخراج و شناسایی فلانوئیدهای گیاه سنای ایران با استفاده از روش کروماتوگرافی با لایه‌نازک (*thin layer*) کمی اقدام به جداسازی سه ترکیب فلانوئیدی و یک ترکیب اسید فنلی گردید و سپس با استفاده از طیف ماورای بنفش، این ترکیبات در حضور معرفهای مختلف و جابجاییهای جذبی حاصل و همچنین تین‌لایر کروماتوگرافی این ترکیبات با سیستمهای مختلف حلال در حضور شاهد، ترکیبات فوق مورد شناسایی قرار گرفتند. درصد فلانوئیدهای مذکور در گیاه نیز تعیین مقدار گردید.

● جمع آوری گیاه. در این بررسی ابتدا اقدام به جمع‌آوری قسمتهای دارویی گیاه *Senna italica* گردید. برگ و میوه این گیاه در اسفندماه سال ۱۳۷۲ از اطراف کوه گنو در استان هرمزگان جمع‌آوری شد. ارتفاع این منطقه از سطح دریا ۱۸۰ متر می‌باشد. نمونه هرباریومی این گیاه در گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران مورد شناسایی و تعیین نام علمی قرار گرفت. این نمونه در هرباریوم دانشکده داروسازی اصفهان نگهداری می‌شود.

همچنین به منظور مقایسه نتایج حاصل از بررسی بر روی این گیاه با یکی از گونه‌های معروف دارویی آن، از برگ گیاه *Cassia angustifolia* Vahl تهیه شده از شرکت Caelo آلمان استفاده گردید.

● آزمایشات فیتوشیمیایی. تستهای فیتوشیمیایی مقدماتی به منظور بررسی وجود فلانوئیدها بر روی برگ و میوه سنای ایران انجام شد و با توجه به وجود فلانوئیدها در برگ و میوه گیاه، بررسی دقیق‌تر شامل استخراج و جداسازی، شناسایی و تعیین کمی بر روی ترکیبات فلانوئیدی گیاه صورت گرفت (۱۱-۱۳).

استفاده شد. به منظور آشکارسازی قندهای مختلف بر روی صفحات، پس از گسترش حلال از معرف دی فنیل آمین به همراه حرارت استفاده گردید (۱۳). در حین کار و به منظور مقایسه، قندهای شاهد نیز در کنار حاصل هیدرولیز کاشته شد. قندهای شناسایی شده در قسمت نتایج در مورد یکی از فلاونوئیدها (فلاونوئید با $R_f=0/27$) معرفی شده‌اند. معرف دی فنیل آمین از انحلال ۵۰۰ میلی‌گرم دی فنیل آمین در ۲۵ میلی‌لیتر استون و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید اترتو فسفریک ۸۵ درصد وزن در وزن و ۰/۵ میلی‌لیتر آنیلین تهیه شد (۱۳).

● روش تعیین کمی فلاونوئیدها بر اساس روتین. با استناد به وجود فلاونول گلیکوزیدها در گیاه سنا (۷، ۸، ۱۷) و با استفاده از روش زیر، درصد فلاونوئیدهای برگ و میوه سنای ایران و برگ گونه استاندارد سنا اندازه گیری شد (۱۶). ۰/۲ گرم اندام گیاهی مربوط را در بالن ریخته و مخلوطی از ۱ میلی‌لیتر هگزامتیلن تترا آمین ۰/۵ درصد در آب، ۲۰ میلی‌لیتر استون و ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲۵ درصد را به آن افزوده و پس از جوشاندن به مدت نیم ساعت، آن را صاف نموده و در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و مجدداً پودر را در دو مرحله و هر بار با ۲۰ میلی‌لیتر استون جوشانده و به مخلوط قبلی اضافه و نهایتاً با استون به حجم رسانده شد. به ۲۰ میلی‌لیتر از این مخلول، مخلوطی از ۲۰ میلی‌لیتر آب و ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات اضافه شد و پس از هم زدن، فاز اتیل استاتی به یک ارلن ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد. فاز آب و استون نیز در سه مرحله و هر بار با ۱۰ میلی‌لیتر اتیل استات استخراج شد و فازهای اتیل استاتی به اتیل استات قبلی افزوده گردید. مجموعه فازهای اتیل استاتی، دوبار و هر مرتبه با ۵۰ میلی‌لیتر آب دکانته شده و نهایتاً در یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد. به ۱۰ میلی‌لیتر از این مخلول، ۱ میلی‌لیتر از مخلول ۲ درصد کلرور آلومینیوم در اسید استیک ۵ درصد در متانول افزوده شد و در یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد. جذب مخلول حاصل پس از نیم ساعت در طول موج ۴۲۵ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول تجربی زیر، درصد فلاونوئید محاسبه گردید.

$$\text{میزان جذب} \times 625 = \frac{\text{درصد فلاونوئید}}{A} \times \frac{1\%}{1\text{cm}}$$

یا $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ یا جذب ویژه یا شدت جذب مخلول یک درصد از روتین، معادل ۳۰۰ می‌باشد.

نتایج

● نتایج حاصل از تین لایر کروماتوگرافی عصاره‌ها.

پس از انجام کروماتوگرافی بر روی صفحات شیشه‌ای، وجود لکه‌هایی با R_f معادل ۰/۳۷، ۰/۴۵، ۰/۵۸ و ۰/۷۰ در برگ و میوه گیاه سنای ایران و برگ گیاه سنای استاندارد اثبات شد. با توجه به رنگ

نام باندهای I و II معروف هستند و با عنایت به اینکه باندهای جذبی فوق در اثر مجاورت فلاونوئید با تعدادی از معرفهای شیمیایی جابجا می‌شوند، به کمک این جابجایی‌ها می‌توان تعدادی از عوامل شیمیایی استخلاف شده بر روی هسته فلاونوئیدی را تشخیص داد (۱۱، ۱۵، ۱۸). به منظور بررسی این جابجایی‌های جذبی، از معرفهای توصیه شده برای شناسایی این مواد شامل معرف متوکسید سدیم (NaOMe)، معرف کلرور آلومینیوم و کلرور آلومینیوم/اسید کلریدریک، ($\text{AlCl}_3, \text{AlCl}_3/\text{HCl}$) و معرف استات سدیم و استات سدیم/اسید بوریک ($\text{NaOAc}, \text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$) استفاده شد (۱۵). برای تعیین جذب ماورای بنفش مخلول متانولی، ماده جدا شده و نیز جابجایی‌های آن، با معرفهای فوق الذکر، به ترتیب زیر عمل شد (۱۵، ۱۹).

□ طیف UV مخلول متانولی. ۰/۵ میلی‌گرم از ماده جدا شده در ۱۰ میلی‌لیتر متانول خالص حل شد و طیف UV مخلول رسم گردید.

□ طیف UV در حضور معرف متوکسید سدیم (مخلول ۲/۵ درصد سدیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول). پس از ریختن ۳ قطره از معرف فوق بر روی مخلول متانولی ماده جدا شده، عمل طیف‌گیری توسط دستگاه انجام شد.

□ طیف UV در حضور معرف کلرور آلومینیوم (مخلول ۵ درصد کلرور آلومینیوم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) و کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک (۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب). با افزودن چند قطره معرف کلرور آلومینیوم به مخلول متانولی ماده جدا شده، اقدام به طیف‌گیری شد و سپس به منظور بررسی پایداری کمپلکس حاصل در مجاورت اسید، سه قطره از معرف اسید کلریدریک به مخلول مرحله قبل افزوده و مجدداً طیف‌گیری انجام گردید.

□ طیف UV در حضور معرف استات سدیم و استات سدیم / اسید بوریک. مقداری پودر استات سدیم بدون آب (تا حد اشباع) به مخلول متانولی ماده جدا شده افزوده و پس از انحلال آن، طیف‌گیری انجام گردید. سپس مقدار کافی (تا حد اشباع) پودر اسید بوریک بدون آب به این مخلول افزوده شد و مجدداً طیف‌گیری صورت گرفت. نتایج مربوط به طیف‌گیری‌های فوق در مورد فلاونوئیدهای جدا شده در جدول ۱ آورده شده است.

● روش هیدرولیز فلاونوئیدهای جدا شده. با توجه به احتمال وجود قند در ترکیب جدا شده و برای شناسایی آن، اقدام به هیدرولیز این فلاونوئیدها گردید. برای انجام هیدرولیز حدوداً ۵ میلی‌گرم از ماده در مقداری آب و متانول حل گردید و سپس ۲۰ میلی‌لیتر مخلول اسید سولفوریک ۵ درصد حجم در حجم به آن افزوده شد. مخلول حاصل در فواصل زمانی ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه بر روی حمام بخار جوشان رفلکس گردیده و در هر مرحله محصول هیدرولیز بر روی صفحات سیلیکاژل GF254 کاشته شد (۱۶). در این قسمت، از سیستم فاز متحرک دی کلرواتان - اسید استیک - متانول - آب (۷-۱۱-۲۸-۵۴)

تشخیص داده شد.

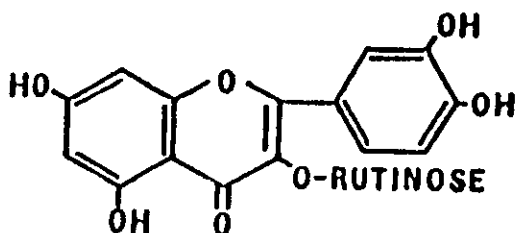
● نتایج حاصل از تعیین کمی فلاونوئیدهای گیاه.

درصد فلاونول-O- گلیکوزیدهای موجود در گیاهان مورد بررسی، اندازه‌گیری شد. درصد فلاونوئیدهای فوق در برگ گیاه سنای استاندارد ۰/۵ ± ۱/۰٪، در میوه گیاه سنای ایران ۰/۳ ± ۰/۲۷٪ و در برگ سنای ایران ۰/۵ ± ۱/۵٪ تعیین گردید.

بحث.

تنها گونه بومی سنای ایران، گیاه *Senna (Cassia) Italica* می‌باشد که طبق بررسی انجام شده و همچنین تعدادی از مطالعات قبلی، برخی از ترکیبات فلاونوئیدی این گیاه با ترکیبات گونه‌ای از گیاه سنا، به نام *Cassia angustifolia* که در دنیا به عنوان گونه سنای استاندارد پذیرفته شده است، یکسان می‌باشد (۷، ۱۷، ۲۰). با عنایت به وجود درصد بالایی از فلاونوئیدها در سنای ایران نسبت به سنای استاندارد، می‌توان استفاده بیشتر از آثار ملین و مسهل این گیاه بدون ایجاد آثار سوء دارویی مثل اسپاسم، دل‌پیچه و دل‌درد را پیشنهاد داده و مطرح نمود.

در بررسیهایی که در این مطالعه انجام گرفت، سه ترکیب فلاونوئیدی از برگ گیاه *Senna italica* استخراج گردید و مورد شناسایی واقع شد. یکی از این فلاونوئیدها که مورد شناسایی دقیق‌تری قرار گرفت، روتین یا ۵ و ۷ و ۳ و ۴ تتراهیدروکسی فلاون-۳-O- رامنو گلوکوزید می‌باشد (تصویر ۳) که آثار فارماکولوژیک مهمی در درمان آترواسکلروز و برخی نارسایی‌های عروقی داشته و همچنین به عنوان یک ترکیب ضد اسپاسم و آنتی‌اکسیدان مطرح می‌باشد (۵، ۶، ۱۸، ۲۱). در مطالعات قبلی فلاونوئیدهایی با ساختمان مشابه با روتین از سایر گونه‌های گیاه سنا جداسازی و شناسایی شده بود (۷، ۱۷).



تصویر ۳. ساختمان شیمیایی فلاونوئید روتین

برای اثبات ساختمان شیمیایی فلاونوئیدهای استخراج شده به روش تین‌لایر کروماتوگرافی کمی از برگ گیاه سنای ایران، به تین‌لایر کروماتوگرافی مواد فوق در مقابل استانداردهای موجود

لکه‌ها در طول موج ۲۶۵ نانومتر و مقایسه R_f و رنگ حاصل با استانداردهای موجود مشخص گردید که لکه‌های با R_f معادل ۰/۳۷ و ۰/۴۵ به ترتیب مربوط به روتین و اسید کلروژنیک می‌باشند. سپس با انجام روش تین‌لایر کروماتوگرافی کمی، اقدام به جداسازی لکه‌های فلاونوئیدی با R_f معادل ۰/۳۷، ۰/۵۸ و ۰/۷۰ از برگ گیاه سنای ایران شد. پس از جداسازی و خالص کردن این فلاونوئیدها، طیف ماورای بنفش آنها تهیه گردید.

● نتایج حاصل از تهیه طیفهای ماورای بنفش فلاونوئیدهای جدا شده.

طیف ماورای بنفش محلول متانولی سه فلاونوئید جدا شده و نیز طیفهای این ترکیبات پس از اضافه کردن معرفهای جابجا کننده ذکر شده در قسمت روشها، تهیه گردید. طول موج جذبهای ماکزیم هر یک از طیفهای به دست آمده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. طول موج جذبهای ماکزیم طیفهای ماورای بنفش محلول متانولی فلاونوئیدهای جدا شده از برگ گیاه سنای ایران همراه و بدون استفاده از معرفهای جابجا کننده.

نوع محلول و نام معرف اضافه شده	باند I	باند II
۱- محلول متانولی (بدون معرف)	ف- ۱: ۲۵۰ (شانه) و ۲۸۰ و ۲۶۲	ف- ۲: ۲۹۶ و ۲۶۸
۲- محلول متانولی + معرف NaOMe	ف- ۱: ۲۲۰ (شانه) و ۲۷۸	ف- ۲: ۲۲۰ و ۲۷۲
۳- محلول متانولی + معرف AlCl ₃	ف- ۱: ۲۲۰ (شانه) و ۲۶۸	ف- ۲: ۲۱۷ و ۲۶۷
۴- محلول متانولی + معرف AlCl ₃ /HCl	ف- ۱: ۲۹۲ (شانه) و ۲۷۰ و ۲۶۷	ف- ۲: ۲۹۰ (شانه) و ۲۳۵ و ۲۶۵
۵- محلول متانولی + معرف NaOAc	ف- ۱: ۴۰۰ (شانه) و ۲۶۷	ف- ۲: ۲۹۹ و ۲۶۲
۶- محلول متانولی + معرف NaOAc + H ₃ BO ₃	ف- ۱: ۲۶۹ و ۲۶۷	ف- ۲: ۲۵۸ و ۲۶۲
		ف- ۳: ۴۰۲ (شانه) و ۲۶۴ و ۲۸۵

● نتایج حاصل از هیدرولیز فلاونوئیدهای جدا شده.

با هیدرولیز فلاونوئیدهای جدا شده، در مورد فلاونوئید با R_f = ۰/۳۷، قندهای متصل به آگلیکون مورد نظر، گلوکز و رامنوز

زرد نارنجی نشانگر متعلق بودن این فلاونوئید به دسته اورونها می‌باشد. در اثر افزودن معرف متوکسید سدیم به محلول متانولی، باند I در طیف حاصل نسبت به طیف قبلی، ۲۴ نانومتر جابجایی باثوکرومیک همراه با افزایش در شدت جذب پیدا نمود که نشانگر حضور عامل هیدروکسیل در محل کربن شماره ۶ همراه با اکسیژناسیون در محل کربن شماره ۴ است.

با اضافه شدن معرف کلرور آلومینیوم به محلول متانولی این فلاونوئید، ۲۱ نانومتر جابجایی باثوکرومیک در باند I نسبت به طیف متانولی پدیدار شد که نشاندهنده وجود گروه ارتودی هیدروکسیل در حلقه A این فلاونوئید می‌باشد. این مسأله همچنین توسط جابجایی هیسوکرومیک ۲۷ نانومتری طیف کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک این فلاونوئید نسبت به طیف کلرور آلومینیوم تأیید گردید.

جابجایی باثوکرومیک ۲ نانومتری در باند I در اثر افزودن استات سدیم به محلول متانولی، احتمال وجود عامل هیدروکسیل در کربنهای شماره ۴ و ۶ فلاونوئید شماره ۲ را مطرح نمود (۱۱، ۱۵، ۱۹). بررسی طیف متانولی فلاونوئید شماره ۳ (ف-۳) با $R_f=0/70$ و رنگ زرد تیره نیز ساختمان شیمیایی فلاونوئیدی با خصوصیات شماره ۲ را مشخص نمود.

قابل ذکر است که با توجه به روشهای به کار رفته در تشخیص فلاونوئیدهای فوق، نمی‌توان به طور یقین در مورد ساختمان شیمیایی آنها اظهار نظر نمود و نیاز به استفاده از روشهای تکمیل کننده شناسایی، نظیر طیف جرمی و طیف رزونانس مغناطیسی هسته می‌باشد. با مشخص شدن ساختمان شیمیایی احتمالی این فلاونوئیدها و با بررسیهای دقیق تر بر روی سایر ترکیبات شیمیایی گیاه سنای ایران، می‌توان نسبت به استاندارد کردن این گیاه که گام ابتدایی در جهت ساخت فرآورده‌های دارویی از آن محسوب می‌گردد، اقدام نمود.

قدردانی و تشکر.

بدینوسیله از همکاران آقایان دکتر غلامرضا امین و دکتر عبدالعلی محققزاده تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

مقایسه رنگ و R_f حاصل و نیز با توجه به هیدرولیز مواد فوق و تشخیص قندهای آن و مقایسه طیفهای جذبی این مواد در محدوده ماورای بنفش، استناد گردید. لازم به ذکر است که وجود سه فلاونوئید جدا شده، در میوه سنای ایران و برگ سنای استاندارد اثبات گردید.

در بررسی طیف جذبی محلول متانولی فلاونوئید شماره ۱ (ف-۱) با $R_f=0/27$ و رنگ زرد ارغوانی، مشخص گردید که این ماده از دسته فلاون‌ها یا فلاونول‌هایی است که احتمالاً قند در محل کربن شماره ۳، جایگزین گروه هیدروکسیل فلاونول شده است. در اثر افزودن معرف متوکسید سدیم به محلول متانولی این فلاونوئید، باند I در این طیف همراه با افزایش در شدت جذب، به اندازه ۷۰ نانومتر جابجایی باثوکرومیک نسبت به طیف محلول متانولی پیدا کرد که مؤید حضور عامل هیدروکسیل در موقعیت کربن شماره ۴ است.

با اضافه کردن معرف کلرور آلومینیوم به محلول متانولی این فلاونوئید، ۷۰ نانومتر جابجایی باثوکرومیک در باند I پدیدار شد که نشاندهنده وجود عامل هیدروکسیل در محل کربن شماره ۵ است. در اثر افزودن معرف اسید کلریدریک، باند I طیف قبلی به میزان ۲۸ نانومتر جابجایی هیسوکرومیک یافت که مشخصه شکسته شدن کمپلکس کلرور آلومینیوم با گروه ارتودی هیدروکسیل در حلقه B فلاونوئید است. بنابراین، ماده فوق در محلهای ۳ و ۴ به صورت ارتودی هیدروکسیل می‌باشد. به علاوه، جابجایی باثوکرومیک ۴۲ نانومتری باند I در طیف کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک نسبت به طیف متانولی، تأییدی دیگر بر وجود عامل هیدروکسیل در محل کربن شماره ۵ و عدم وجود آن در محل کربن شماره ۲ است. جابجایی باثوکرومیک ۵ نانومتری در باند II در اثر افزودن معرف استات سدیم به محلول متانولی فلاونوئید شماره ۱، احتمال وجود عامل هیدروکسیل در محل کربن شماره ۷ را مطرح می‌نماید. حضور گروه ارتودی هیدروکسیل در حلقه B نیز با جابجایی باثوکرومیک ۱۹ نانومتری در باند I طیف استات سدیم / اسید بوریک نسبت به طیف متانولی مجدداً تأیید گردید (۱۱، ۱۵، ۱۸، ۱۹). با توجه به این شواهد و نتایج قبلی حاصل از هیدرولیز این ترکیب، وجود فلاونوئید روتین (تصویر ۳) در این گیاه مشخص گردید.

طیف متانولی فلاونوئید شماره ۲ (ف-۲) با $R_f=0/58$ و رنگ

مراجع.

- ۱- قنادی ع ر. بازگشت اصولی به گیاهان دارویی. طب و تزکیه ۱۳۷۵؛ ۲۲: ۳۸-۴۰.
- 2- Midgley JM. Drug development, from sorcery to science. Pharm J 1988; 241: 358-365.
- 3- Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z. Medicinal plants in therapy. Bull WHO 1985; 63(6): 965-981.
- 4- Duwiejua M, Zeitlin IJ. Plants as a source of anti-inflammatory substances, In: Drugs from natural products - pharmaceutical and agrochemicals. London: Ellis Horwood 1993; 152-167.

- 5- Middleton JrE. Plant flavonoid effects on mammalian cell systems. in: Herbs, spices and medicinal plants: Recent advances in botany, horticulture and pharmacology. Vol.3, Phoenix: Oryx Press 1988; 103-144.
- 6- Evans WC. Trease and Evans' pharmacognosy. 14th Ed. London: WB Saunders Co. 1996; 235-9, 249-51.
- 7- Wichtl M. Teedrogen. 2. Auf. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH 1989; 452-458.
- ۸- زرگری ع. گیاهان دارویی. جلد ۲، چاپ ۴. تهران: نشر دانشگاه تهران ۱۳۶۷؛ ۹۸-۱۰۷.
- ۹- امین غر. گیاهان دارویی سنتی ایران. جلد ۱. تهران: نشر معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ۱۳۷۰؛ ۶۷-۸.
- ۱۰- قهرمان ا. فلور ایران. جلد ۲. تهران: نشر مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ۱۳۶۱؛ ۴-۲۰.
- 11- Harborne JB. Phytochemical methods. 2nd Ed. London: Chapman & Hall 1988; 69-84.
- 12- Robinson T. The organic constituents of higher plants, New Amherst: Cordus Press 1983: 79-8, 100-101, 175-8.
- 13- Stahl E, Schild W. Pharmazeutische biologie. 4.Drogenanalyse II. Inhaltsstoffe und isolierungen, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag 1981: 412-14.
- 14- Wagner H, Blatt S, Zgainski EM. Plant drug analysis, A thin layer chromatography atlas. Translated by: Scott ThA, Berlin: Springer Verlag 1984: 163-173.
- 15- Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The systematic identification of flavonoids. Berlin: Springer Verlag 1970: 35-60.
- ۱۶- قاسمی دهکردی ن ا، قنادی ع ر، محتاج ف. بررسی مرفولوژی و فیتوشیمیایی گیاه *Crataegus curvisepala* Lind در مقایسه با گیاه *Crataegus oxyacantha* L. دارو، مجله دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران ۱۳۷۵؛ ۶(۱ و ۲): ۲۵-۳۶.
- 17- Tiwari RD, Singh J. Phytochemical investigation of *Cassia laevigata* pods-Part 1. Planta Med 1978; 34: 319-322.
- 18- Harborne JB. The flavonoids: Advances in research since 1980. London: Chapman & Hall 1988: 233-324.
- 19- Markham KR. Techniques of flavonoids identification. London: Academic Press 1982: 36-51.
- ۲۰- ثابتی ح ا. جنگلها، درختان و درختچه‌های ایران، چاپ ۲. یزد: نشر دانشگاه یزد، ۱۳۷۲؛ ۲۰۳.
- ۲۱- افشار ج، دل آذر ع، روتین از *Ruta graveolens* L. مجله دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۲؛ ۴(۱ و ۲): ۱۲-۱.