بررسی آلکالوئیدهای موجود در دانه پگانوم هارمالای ناحیه مرکزی ایران

محمد رئوف درویش* و خلیل فقیهی

دانشگاه تهران - دانشکده علوم - گروه شیمی، تهران، ایران

چکیده

از دانه گیاه پگانوم‌هارمالای ناحیه مرکزی ایران (اراک) چهار آلکالوئید جدا گردید.هارمین و هارمالین ماده تشکیل‌دهنده اصلی و دوآلکالوئید دیگر بعنی هارمان و هارمالیدن به مقدار کم در آن وجود دارد، چهار مشتق از هارمین نیز تهیه شد.

J.of Sci. Univ. Tehran, Vol 21 (1995), No 1, p. 38-43

STUDIES OF THE ALKALOIDS IN THE SEEDS OF THE PEGANUM HARMALA, GROWING IN THE CENTRAL REGION OF IRAN.

M. R. Darvich* and Kh. Faghihi

Dept. of Chemistry, Faculty of Science, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract

Peganum harmala (zygophyllacea); commonly known as harmal, grows widely in almost all regions of Iran. Harmala alkaloids were used the tradittional system of medecine in Iran. Harmala alkaloids are also reported to be hallucinogenic.Furthermore, their neurological effects hypotensive activities are of interest.

*- مسئول مکاتبات

Since 1841 in view of the therapeutic importance of the P.harmala, its different parts have beeen subijected to chemical and biological studies by many researchers. Unfortunately these plants, which are growing in Iran, have not been studied seriously. Thus, the seeeds of P. harmala from the central region of Iran (a cold and dry region, Arak) were collected in autumn Extraction was done by ethanol 96%, and, four alkaloids were isolated by C.C. and T.L.C. the major components were harmine and harmaline and the minor components, harman and harmalidine.

The chemical structures of these compounds were confirmed by spectroscopic, as well as other methods. The conversion of harmine to its N- substituted derivatives was studied. On the basis of the, U.V,I.R ^{1}H-NMR and mass spectral analyses the structure of these derivatives were identified.

مقدمه

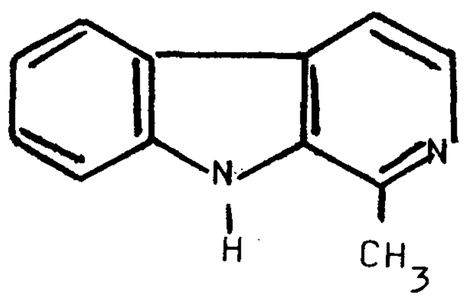
پگانوم هارمالا (زیگوفیلاسه آ) که به طور معمول هارمال گفته می‌شود تقریباً در تمام نواحی ایران روئیده می‌شود. آلکالوئیدهای هارمال در طب سنتی به کار می‌رود[1]، اثرات توهم زای آن نیز گزارش شده است [2]. مؤثر بودن آن بر روی سیستم اعصاب مرکزی و سیستم عروق و قلبی به عنوان پائین‌آورنده فشار خون نیز جالب می‌باشد [3]. تأثیر آن در عمل انعقاد خون نیز در منابع گزارش شده است [4]. خاصیت ضد ویروسی نیز در هارمین دیده شده است[5].

هر چند از سال ۱۸۴۱ و هم اکنون نیز در دنیا به خاطر اثرات درمانی پگانوم‌هارمالا، قسمتهای مختلف گیاه موضوع مطالعات شیمیائی و بیولوژی بسیاری از محققین در دنیا بوده است ولی گیاه پگانوم‌هارمالا که در ایران می‌روید تاکنون مورد مطالعه جدی قرار نگرفته است. در این مقاله نتایج بررسی شیمیائی دانه پگانوم‌هارمالای بخش مرکزی ایران (اراک) که یک ناحیه سرد و خشک است گزارش می‌گردد.

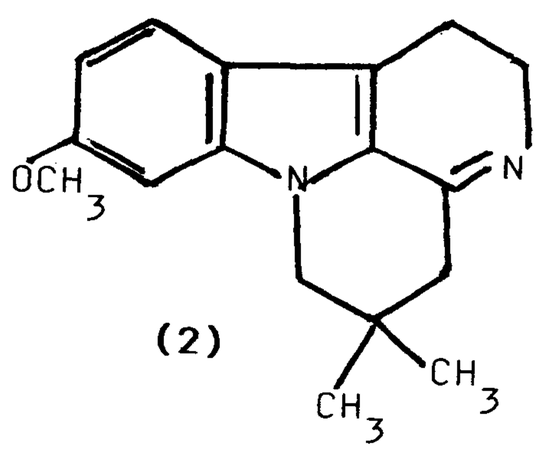
نتایج و بحث

دانه رسیده پگانوم‌هارمالا در ماه آذر جمع‌آوری گردید. پس از خرد کردن و مراحل آماده‌سازی و عمل استخراج، چهار آلکالوئید، هارمان(۱)، هارمالیدین(۲)، هارمالین(۳) و هارمین(۴) جدا شناسایی گردید. چهار مشتق N- استخلافی از هارمین تهیه گردید.

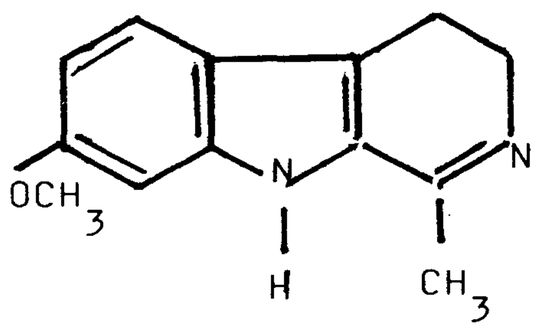
این ترکیبات آندولی جزء آلکالوئیدهای β-کاربولین بوده و اغلب از قسمت دانه گیاه استخراج شده است طیف UV آنهایکی از مشخصه‌های ساختمان β-کاربولین این ترکیبات می‌باشد. هارمین و هارمالین از اجزاء اصلی تشکیل دهنده آلکالوئید β-کاربولینی دانه گیاه هارمالا محسوب می‌شود.



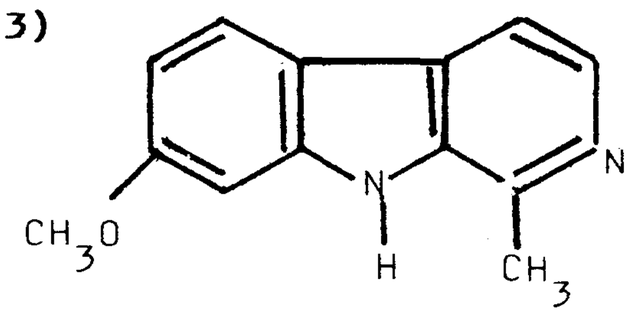
(1)



(2)



(3)



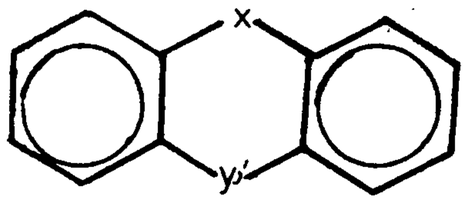
(4)

برای جدا کردن هارمان، هارمین و هارمالین، محلول اتانلی حاصل از استخراج دانه پگانوم‌هارمالا را تبخیر کرده باقیمانده را با اسید استیک رقیق ترکیب می‌کنیم، نتیجه را با کلروفرم به خوبی تکان داده تا مواد غیر بازی جدا گردد. سپس مانده را قلیایی کرده تا آلکالوئید آزاد شود. متعاقباً آلکالوئید آزاده شده را با کلروفرم از آب جدا کنیم، پس از تبخیر حلال جسم ویکسوز را روی ستون حاوی سیلیکاژل کروماتوگرافی می‌کنیم، در نتیجه ابتدا هارمان خارج می‌گردد که مجدداً آن را روی صفحات سیلیکاژل خالص کرده که مقدار آن ۰/۰۰۳۶ ٪ می‌باشد. این جسم در nm ۳۶۶ دارای فلوئورسانس آبی روشن است. بعد هارمین جدا می‌گردد که در nm ۳۳۶ دارای فلوئورسانس آبی می‌باشد و مقدار آن ۰/۷۸ ٪ است. در انتها هارمالین از ستون کروماتوگرافی خارج شده و این جسم در ۳۶۶nm فلوئورسانس بنفش از خود نشان می‌دهد و مقدار آن ۰/۷۱ ٪ است.

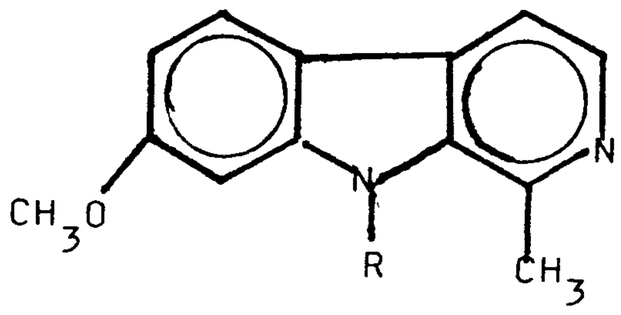
برای جدا کردن هارمالیدین محلول متانلی به دست آمده از عمل استخراج را تبخیر کرده و حاصل را با اسید استیک ۱۰٪ همراه با یدورسدیم کاملاً به هم می‌زنیم. آلکالوئیدهای هارمین و هارمالین به صورت رسوب یدیدرات جدا می‌گردند. محلول حاصل را پس از قلیایی کردن روی سیلیکاژل کروماتوگرافی می‌کنیم. برای خالص کردن مجدداً روص صفحات سیلیکاژل جدا می‌گردد. این جسم در ۳۶۶nm فلوئورسانس سبز دارد و مقدار آن در گیاه ۰/۰۰۴۲ ٪ می‌باشد.

با توجه به اینکه ترکیباتی با فرمول (I) سنتز شده [6] و از نظر خواص داروئی مورد بررسی قرار گرفته و برخی از مشتقات آن نیز مورد مصرف قرار می‌گیرد که اغلب خواص داروئی دارند و بر روی سیستم عصب مرکزی تأثیر دارند. لذا با در نظر گرفتن تشابه ساختمانی با هارمین بر آن شدیم، مشتقات N- استخلافی این جسم تهیه و مورد مطالعه ساختمانی قرار گیرد. در نتیجه چهار جسم با فرمول کلی (II) تهیه و مورد شناسایی قرارگرفت. بر اساس مراجعه به منابع علمی از مشتقات ذکر شده در این مقاله فقط مشتق بنزیل و N-N- دی‌اتیل‌پروپیل هارمین تهیه [7]، ولی گزارشی کامل از مطالعه اسپکتروسکپی نشده است.

تمام این ترکیبات در ۳۶۶nm فلوئورسانس بنفش از خود نشان می‌دهند. جذب N-H در طیفهای مادون قرمز و رزونانس مغناطیسی هسته‌ای حذف می‌گردد. ورود گروه بوتیل تأثیری در جذب UV در مقایسه با هارمین ندارد. ولی گروه بنزیل در ترکیب (IIa) و آلیل در ترکیب (IId) به ترتیب جذب اضافی در ۳۲۷nm و ۲۰۸nm نشان می‌دهد. در ترکیب (IIc) نیز جذب اضافی در ۳۳۲nm مشاهده می‌گردد.



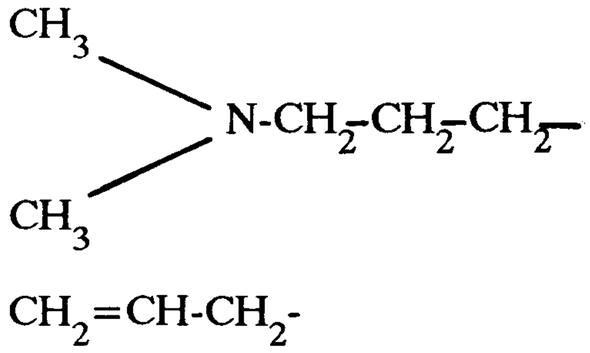
(I)



(II)

$R = C_6H_5CH_2-$ (IIa)

$CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2-$ (IIb)



(IIc)

$CH_2=CH-CH_2-$ (IId)

بخش تجربی :

حلال و مواد لازم برای کروماتوگرافی و سایر تجربیات ساخت مرک است. برای مشخص کردن آکالوئیدها از معرف در ژاندروف استفاده شده و لکه‌های آلکالوئید توسط لامپ UV و یا در بخارید آشکار شده است. نقطه ذوب روی دستگاه تعیین ذوب میکروسکپی مدل Reichert-K تعیین شده و تصحیح نشده است.

طیفهای IR با دستگاه FT-IR Shimadzu corporation مدل 4300 و UV با دستگاه Varian-Techtron مدل ۶۳۵ رسم شده است. طیف NMR پروتون با دستگاه Varian-EM 390 رسم شده و TMS به عنوان استاندارد داخلی استفاده شده است. طیف جرمی با دستگاه Varian Model-311A به دست آمده است.

۱) جداسازی و شناسایی هارمان

دو کیلوگرم از دانه‌های خرد شده پگانوم‌هارمالا در سه لیتر الکل اتیلیک ۹۶ ٪ به مدت ۱۵ روز خواباندیم، پس از صاف کردن حلال آن را در فشار کم تقطیر می‌کنیم. باقی‌مانده را با محلول اسید استیک ۱۰٪ اسیدی کرده و مواد غیرآلکالوئیدی را با کلروفرم جدا می‌کنیم. سپس به محلول اسیدی کم کم سود نرمال اضافه کرده و PH را به ۹ می‌رسانیم. رسوب به دست آمده را صاف و خشک می‌کنیم مقدار آن ۹ گرم می‌باشد. محلول صاف شده را سه بار با کلروفرم استخراج می‌کنیم، پس از تبخیر حلال ۲/۵ گرم جسم جامد به دست می‌آید که آن را به قسمت جامد فوق اضافه می‌کنیم در نتیجه در مجموع ۱۱/۵ گرم مخلوط آلکالوئیدی به دست می‌آید. مخلوط را روی ستون سیلیکاژل (حلال : کلروفرم آستن، متانول به نسبت ۱۵:۵:۸۰) کروماتوگرافی می‌کنیم. فراکسیونهای ۱ الی ۱۲ را جمع‌آوری می‌کنیم. پس از تبخیر حلال مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم جسم جامد به دست می‌آید. مجدداً آن را از طریق کروماتوگرافی تهیه‌ای با صفحاتی از سیلیکاژل با ضخامت ۱/۵ میلیمتر خالص می‌کنیم در نتیجه ۹۲ میلی‌گرم جسم خالص به دست می‌آید (۰/۰۰۳۶)، که نقطه ذوب آن ۲۳۶-۲۳۷°C می‌باشد. نقطه ذوب و مشخصات طیفی (NMR, UV,IR و MS) آن با منابع [8,1] مطابقت دارد و نشان می‌دهد که جسم هارمان می‌باشد. از فراکسیونهای ۱۳ الی ۲۰ هارمین جدا می‌گردد که پس از تبلور مجدد در متانول ۴/۲ (۰/۷۸٪) گرم می‌باشد. نقطه ذوب و مشخصات طیفی آن با داده‌های منابع مطابقت دارد [8,2,1]. فراکسیون‌های ۲۳ تا ۳۹ دارای هارمالین می‌باشد که پس از تبلور مجدد در متانول مقدار آن ۳/۶ گرم گردید (۰/۷۱٪) نقطه ذوب و مشخصات طیفی آن با داده منابع مطابقت دارد [8,4,2,1].

۲) جداسازی و شناسایی هارمالیدین

دو کیلوگرم از دانه‌های خرد شده پگانوم هارمالا را در هشت لیتر متانول به مدت پانزده روز خواباندیم. پس از صاف کردن حلال آن را تبخیر کرده و باقیمانده را با محلول اسید استیک ۱۰٪ اسیدی می‌کنیم، سپس موادغیر آلکالوئیدی را با ایتل استات استخراج می‌کنیم به محلول اسیدی فوق محلول اشباع یدورپتاسیم اضافه کرده در نتیجه نمک یدیدرات آلکالوئیدی هارمین و هارمالین به صورت رسوب تشکیل می‌گردد، رسوب حاصل را صاف نموده وزن آن ۸/۵ گرم می‌باشد. با افزودن محلول سود نرمال PH محلول زیرصافی را به ۹ می‌رسانیم با اتیل استات استخراج می‌کنیم، پس از تبخیر حلال ۱/۵ گرم جسم جامد قهوه‌ای رنگ به دست می‌آید. آن را روی سیلیکاژل (۰/۲-۰/۰۶) با حلال کلروفرم متانول (به نسبت ۱:۳) کروماتوگرافی می‌کنیم. از فراکسیونهای ۱ تا ۱۰ مقدار ۲۰ میلی‌گرم هارمین به دست می‌آید. فراکسیون ۱۰-۱۸ را با هم مخلوط می‌کنیم مقدار ۱۴۰ میلی‌گرم به دست می‌آید. برای خالص کردن آن را روی صفحات سیلیکاژل با ضخامت ۱/۵ میلی متر با حلال کلروفرم-متانول (۱:۳) کروماتوگرافی نموده و در نتیجه ۸۵ میلی‌گرم جسم به دست می‌آید که رنگ آن زرد بوده و نقطه ذوب آن ۱۵۰-۱۴۹ می‌باشد. این ترکیب دارای فلوئورسانس سبز رنگ (در ۳۶۶mn) می‌باشد. نقطه ذوب و مشخصات طیفی آن با منابع مطابقت دارد [1]، و درصد آن ۰/۰۰۴۲ می‌باشد.

۳) استخراج هارمین و هارمالین با هم

پانصد گرم از دانه خرد شده پگانوم هارمالا را مستقیماً در دو لیتر محلول اسید استیک ۱۰٪ به مدت ۴۸ ساعت به حال خود

گذاشته سپس آن را صاف می‌کنیم PH محلول زیر صافی را با محلول سود نرمال به ۹ می‌رسانیم. پس از اینکه یک شب ماند رسوب تشکیل شده را صاف می‌کنیم مقدار رسوب برابر ۱۳/۵ گرم می‌باشد، این مقدار را روی سیلیکاژل با حلال اتراتیلیک-اتانول ۹۶٪ (۳۰:۷۰) کروماتوگرافی ستونی می‌کنیم در نتیجه ۳/۹ گرم هارمین (۰/۷۸٪) و ۳/۵۵ هارمالین (۰/۷۱٪) به دست می‌آید.

سنتز مشتقات هارمین

الف) تهیه Ind-N-(Benzyl)-harmine (IIa)

۰/۴۲۴ گرم (۰/۰۰۲ مول) هارمین، ۰/۵۰۶ گرم (۰/۰۰۴ مول) بنزیل کلرید و ۰/۶ گرم (۰/۰۱۵ مول) هیدروکسید سدیم و ۰/۱۳۸ گرم (۰/۰۰۱ مول) کربنات پتاسیم انیدر را در بالن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۴/۵ میلی‌لیتر تولوئن بی آب به آن اضافه می‌کنیم و آن را به مدت ۱۸ ساعت رفلاکس می‌کنیم. پس از سرد کردن مخلوط را در ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک N/۱۰ حل می‌نمائیم سپس دوبار هر بار با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتراستخراج کرده تا مواد محلول در حلال آلی جدا گردد. محلول مائی اسیدی را توسط سود قلیائی و به PH=۹ می‌رسانیم نتیجه را به مدت ۱۰ ساعت به حال خود گذاشته تا عمل رسوب شدن کامل گردد. رسوب را صاف و در متانول متبلور می‌کنیم در نتیجه بلورهایی به رنگ سفید به دست می‌آید که وزن آن ۱۵۰ میلی‌گرم می‌باشد (راندمان ۲۴٪) نقطه ذوب برابر با ۱۳۴-۱۳۵°C (lit ۱۳۴-۱۳۵°C).[7] این جسم دارای R_f=۰/۷۱ سیلیکاژل (حلال : اتراتیلیک اتانول ۹۶٪ ۲۵:۷۵) و فلورسانس بنفش دارد.

IR(KBr):۳۴۰۰،۳۳۰۰،۳۰۵۰،۱۶۵۰،۱۶۰۰،۱۴۷۰،۱۴۵۰،۱۳۵۰،۱۲۶۰،۱۱۶۰،۱۰۳۰cm-۱

UV, λmax_{EtoH}: ۲۱۰،۲۴۳،۳۰۳،۳۲۷،۳۴۰ nm

^{1}H-NMR(CF_3COOH حلال) δ(ppm): ۲/۸۹(۳H,S),۳/۸۱(۳H,S),۷-۷/۲(۲H,m),۸(۵H,S), ۸-۸/۲(۳H,m), ۸/۹(۲H,S),

Ms: m/e (شدت نسبی),۳۰۲(۴۰), ۳۰۱(۲۷), ۲۳۷(۳۳), ۲۱۱(۱۰۰), ۱۹۶(۲۷), ۱۸۱(۴۶), ۱۵۴(۳۱), ۱۴۱(۲۳), ۹۳(۵۱), ۶۵(۲۵), ۵۷(۳۵), ۴۲(۲۴)

ب) تهیه Ind-N-(n-Butyl)-harmine (IIb)

۰/۴۲۴ گرم (۰/۰۰۲ مول) هارمین و ۰/۵۴۸ گرم (۰/۰۰۴ مول) n- بوتیل برومید و ۰/۶ گرم (۰/۰۱۵ مول) هیدروکسید سدیم و ۰/۱۳۸ گرم (۰/۰۰۰۱ مول) کربنات پتاسیم انیدر را در بالن ۵۰ میلی‌لیتر ریخته و ۴/۵ میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه می‌کنیم و به مدت ۱۰ ساعت رفلاکس می‌کنیم پس از اعمال معمولی، جسم جامد حاصل را در متانول متبلور می‌کنیم در نتیجه بلورهای سفیدرنگ با نقطه ذوب ۲۳۰-۲۳۱°C به دست می‌آید. وزن محصول ۲۰۰ میلی‌گرم (راندمان ۳۸٪) می‌باشد. R_f=۰/۷۸ (سیلیکاژل، حلال: اتر - اتانول ۹۶٪ ۷:۳۰).

IR(KBr):۳۴۰۰،۳۳۰۰،۳۰۵۰،۱۶۵۰،۱۶۰۰،۱۴۷۰،۱۴۵۰،۱۳۵۰،۱۲۵۰،۸۷۰،۶۷۵cm-۱

UV, λmax_{EtoH}: ۲۱۰،۲۴۴،۳۰۱،۳۴۴ nm

^{1}H-NMR(CF_3COOH): δ(ppm)۱/۴(۳H,t),۱/۵(۴H,m),۱/۷۵(۲H,t),۳(۳H,S),۴(۳H,S),۷/۱-۸/۱(۳H,m), ۸, ۲(۲H,m).

Ms: m/e (شدت نسبی), ۲۶۸(۵۳), ۲۶۷(۴۷), ۲۵۳(۳۶), ۲۳۸(۱۸), ۲۲۵(۳۲), ۲۱۱(۱۰۰), ۱۹۶(۳۸), ۱۶۵(۴۴), ۱۵۴(۳۳), ۱۴۰(۱۷), ۹۳(۵۳), ۷۱(۱۴), ۵۷(۳۷), ۴۲(۲۱)

ج) تهیه

Ind-N-(N,N-dimethylpropyl-Harmine) (IIc)

۰/۴۲۴ گرم (۰/۰۲ مول) هارمین، ۰/۵۰۶ گرم (۰/۰۰۴ مول) N و N- دی‌متیل پروپیل کلرید، ۰/۶ گرم (۰/۰۱۵ مول) هیدرواکسید سدیم و ۰/۱۳۸ گرم (۰/۰۰۱ مول) کربنات پتاسیم انیدر و ۴/۵ میلی‌لیتر تولوئن را در بالن ۵۰ میلی‌لیتری می‌ریزیم و

بعد به مدت ۶ ساعت رفلاکس می‌کنیم. پس از عملیات معمولی و تبلور در متانول، ۱۵۰ میلی‌گرم جسم بلوری به دست می‌آید (راندمان ۲۵٪) نقطه ذوب برابر ۷۰-۷۱°C می‌باشد و R_f= ۰/۱۵ (آلومین، حلال اتر- اتانول ۹۶٪ ۷۰:۳۰)

IR(KBr):۳۲۰۰،۳۱۰۰،۲۹۵۰،۲۸۰۰،۱۶۵۰،۱۵۰۰،۱۴۷۰،۱۳۶۰،۱۳۵۰،۱۲۵۰،۸۷۰،۶۷۵cm-۱

UV, λmax_{EtoH}: ۲۱۱،۲۵۱،۳۰۲،۳۳۲،۳۴۵ nm

^{1}H-NMR(CF_3COOH): δ(ppm) ۲/۳(۴H,m), ۲/۷۱(۶H,m), ۲/۸۸(۳H,S),۳/۲(۲H,m) , ۳/۸۴(۳H,S),۶/۸-۷(۳H,m), (۸-۸/۲H,m).

Ms: m/e (شدت نسبی): ۲۹۷(۵۶), ۲۹۶(۵۰), ۲۵۳(۳۵), ۲۳۸(۱۷), ۲۲۵(۳۰), ۲۱۱(۱۰۰), ۱۵۴(۳۴), ۱۵۳(۲۳), ۱۴۰(۴۳), ۹۳(۱۹), ۷۲(۴۵), ۷۱(۴۲), ۵۸(۳۳), ۴۳(۲۱)

د) تهیه Ind-N- allyl harmine (IId)

۰/۴۲۴ گرم (۰/۰۰۲ مول) هارمین و ۰/۴۸۴ گرم (۰/۰۰۴ مول) آلیل برومید و ۰/۶ گرم (۰/۰۱۵ مول) هیدورکسید سدیم و ۰/۱۳۸ گرم (۰/۰۰۱ مول) کربنات پتاسیم آنیدر و ۴/۵ میلی‌لیتر تولوئن را در یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری مخلوط کرده و به مدت ۱۲ ساعت رفلاکس می‌کنیم. بعد از عملیات معمول آزمایشگاهی جسم به دست آمده را در متانل تبلور مجدد می‌کنیم ۲۲۰ میلی‌گرم جسم خالص به دست می‌آید (راندمان ۴۳٪) که نقطه ذوب آن ۲۱۰-۲۱۱°C می‌باشد. R_f=۰/۶۸ (سیلیس، حلال اتر- اتانول ۹۶٪ ۳۵:۶۵).

IR(KBr):۳۲۵۰،۳۱۰۰،۱۶۵۰،۱۵۰۰،۱۴۷۰،۱۳۶۰،۱۳۵۰،۱۲۵۰،۸۷۰،۶۷۵cm-۱

UV, λ_{max}EtoH: ۲۰۸،۲۵۶،۳۰۱،۳۳۶ nm

^{1}H-NMR($CDCL_3$): δ(ppm), ۲/۸(۳H,S), ۲/۵(۲H,S), ۲/۸(۱H,S), ۳/۳(۲H,t) , ۳/۹(۳H,S), ۶/۸-۷/۱(۳H,m), ۷/۸-۸(۲H,m).

جذب پروتون ناحیه ۵ عملاً منطبق بر ۳H گروه متیل واقع در کربن ۳ حلقه است.

Ms: m/e (شدت نسبی): ۲۵۲(۴۷), ۲۵۱(۲۸), ۲۲۶(۳۰), ۲۱۱(۱۰۰), ۱۹۶(۲۲), ۱۶۵(۳۳), ۱۵۴(۴۱), ۹۳(۵۴), ۷۱(۳۷), ۵۷(۲۶), ۴۲(۱۶)

Refrences

[1] Siddiqui, A., Khan, O.Y., Siddiqui, B.S. and Faizi, S.;Phytochemistry , 26,5, 1548 (1987).

[2] Hashimoto, Y. and Kawanishi, K.; phytochemistry, **14** (1975) 1633-1635.

[3] Godding, P.W., Can,J. and Chem.; **61** (1988) 529-532.

[4] Siddiqui, S.,Khan, O.B., Faizi, S. and Siddiqui, B.s.; Heterocycle, 27 6,1401 (1988)

[5] Ayoub, M.T., Rashan, L., Khazraji A.T. and Adaay M. H.; Phytochemistry, 28, 7, 2000 (1989)

[6] Schmolka, S.J. and Zimmer, H.; Synthesis, 1,29 (1984)

[7] Korostskaya, A.I., Danilov, A.U. and utkin, L M., C.A., **51** , 15535g.

[8] Philipson, J.D. and Hemingway, S.R.; *J. of* Chromatography (1975) 173.