

(مقاله کوتاه علمی)

استخراج، جداسازی و تعیین ساختار شیمیایی گلیکوزید قلبی

دیگوکسین از عصاره گیاه *Leonurus cardiaca* L.

شبنم ارجمندی<sup>۱</sup>، محبوبه طاهرخانی<sup>۲\*</sup>، مجید قربانی نهوجی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، گروه فیتوشیمی و شیمی فناوری اسانس، دانشکده شیمی دارویی، واحد تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۲۲

چکیده

گیاه دارویی دم شیر با نام علمی *Leonurus cardiaca* L. علفی و چند ساله متعلق به تیره نعنائیان (Lamiaceae) می باشد که به طور گسترده در طب سنتی ایران و دیگر کشورها به عنوان گیاهی آرام بخش، خواب آور، مدر، کاهنده فشار خون، به ویژه در درمان بیماری های قلبی استفاده می شود. از این گیاه ترکیبات فیتوشیمیایی مهمی نظیر آکالوئیدها، ایریدوئیدها، ساپونین ها، فلاونوئیدها، کاردنولیدها و دی ترپنوئیدها استخراج و شناسایی شده است. با توجه به اهمیت و پراکندگی این گیاه در ایران، این پژوهش به منظور جداسازی و تعیین ساختار فیتوشیمیایی گلیکوزید قلبی از عصاره گیاه دم شیر طراحی شد. برای انجام این تحقیق، اندام های هوایی گیاه در مرحله گلدهی از دامنه های کوه دماوند در مردادماه ۱۳۹۵ جمع آوری و به روش خیساندن در حلال عصاره گیری گردید. پس از چربی زدایی با حلال هگزان، از کروماتوگرافی ستونی برای جداسازی اجزای مختلف عصاره استفاده شد. در مجموع ۳۲ ترکیب بدست آمد، یک ترکیب کریستالی طبیعی در فراکسیون ۱۰+۹+۸ ظاهر گردید. ترکیب شیمیایی آن با استفاده از روش های طیف سنجی (<sup>1</sup>H-NMR، <sup>13</sup>C-NMR، IR و DEPT) شناسایی شد. بر اساس نتایج به دست آمده از طیف سنجی، این ترکیب طبیعی دیگوکسین، یک گلیکوزید قلبی شناخته شده است که برای اولین بار از این گیاه استخراج شد.

واژه های کلیدی: دم شیر، دیگوکسین، عصاره، کروماتوگرافی.

## مقدمه

در این گیاه تاکنون بسیاری از ترکیبات موثره فیتوشیمیایی نظیر آلکالوئیدها، ایریدوئیدها، ساپونین، فلاونوئیدها و به‌ویژه برخی از گلیکوزیدهای فنیل پروپانوئیدی همچون ترکیب *Lavandulifolioside* (که اثرات قابل توجهی بر عملکرد قلب، جریان کرونری و فشار خون داشته است) استخراج و شناسایی شده است (Shekari, et al., 2016; Mil kowska-Leyck, et al., 2002).

گلیکوزیدهای قلبی ترکیبات دارویی هستند که برای درمان نارسایی قلب و آریتمی قلب به کار می‌روند. این گلیکوزیدها معمولاً به عنوان متابولیت‌های ثانویه در برخی گیاهان گل‌دار نظیر گیاهان خانواده خرزهره (*Apocynaceae*)، گل میمون (*Scrophulariaceae*)، آلاله (*Ranunculaceae*) و چند خانواده دیگر یافت می‌شوند. از شناخته شده‌ترین گیاهان حاوی این نوع گلیکوزیدها می‌توان به گیاه گل انگشتانه *Digitalis spp.* (حاوی دیجیتالین) و گیاه گل خروسک *Adonis spp.* (حاوی ترکیبات دیجیتالین، آدونین و آدونین توکسین) اشاره نمود (Mozaffarian, 2012; Hosseini, et al., 2019).

قابل توجه این که گیاه دم‌شیر از طریق تسهیل جریان کرونری خون موجب کاهش فشارخون و تقویت قلب شده و همچنین اثرات آرام بخشی آن بواسطه کاهش اختلالات عصبی و عملکردی قلب در کاربرد سنتی گیاه گزارش شده است. همچنین از این گیاه در رفع مشکلات قلبی ناشی از تنشهای عصبی و هیپرتیروئیدیسم استفاده شده و بهبود تاکی‌کاردی ناشی از هیپرتیروئیدیسم و اختلالات گوارشی، آسم، برونشیت، علائم بالینی مربوط به آنها و نیز بهبود زخم‌ها و ناراحتی‌های پوستی از جمله اثرات درمانی گیاه *L. cardiaca* می‌باشد. این گونه اثرات دارویی را می‌توان به حضور ترکیبات گلیکوزید قلبی موجود در

گیاه *Leonurus cardiaca* L. با نام فارسی دم شیر، گیاهی معطر و دارویی و متعلق به تیره نعنائیان (*Lamiaceae*) است که از دیرباز تاکنون در طب سنتی ایران و نقاط مختلف جهان جهت درمان اختلالات قلبی و عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه دارای اثرات آرام بخش، کاهنده استرس، اضطراب و فشار خون بوده و در درمان اختلالات نوروپاتی و عملکردی قلبی مؤثر است (Gholipour, et al., 2014; Mozaffarian, 2012; Mil kowska-Leyck, et al., 2002). بر اساس اطلاعات ذکر شده در فارماکوپه اروپا، فارماکوپه شوروی سابق و فارماکوپه بریتانیا بخش‌های هوایی گلدار کامل یا بریده خشک شده گیاه *L. cardiaca* که ویژگی‌های فارماکولوژیکی قابل توجهی نیز دارد با واژه *Herba Leonuri* معرفی و نامگذاری می‌شود و دارای عطر زیاد و مزه تلخ می‌باشد (WHO, 2010).

این گیاه بومی اروپای مرکزی، اروپای شرقی، منطقه اسکاندیناوی، آسیای غربی و آسیای مرکزی بوده و در قفقاز و غرب سیبری نیز یافت می‌شود. امروزه این گیاه به صورت طبیعی در آمریکای شمالی نیز رشد میکند. همینطور از این گیاه به صورت کاشته شده نیز گزارشاتی ملاحظه شده است (Ewy, 2015; Fleming, 2000). برای این گیاه اثرات فارماکولوژیکی متعددی در زمینه بیماری‌های قلبی-عروقی در آزمایشات مختلف سلولی و بالینی (Zhang, et al., 2018; Sermukhamedova, et al., 2017; Pang, et al., 2001; Bol'shakova, et al., 1997; Zou, et al., 1989; Chan, et al., 1983; Racz-Kotilla, et al., 1981) و همچنین اثرات ضد توموری گزارش شده است (Nagasawa, et al., 1990). همچنین این گیاه دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد میکروبی نیز می‌باشد (Rezaee-Asl, et al., 2014; Sun, et al., 2005; Zhu, et al., 2004).

## 1. Iridoids

می‌شود. گزارش‌های فارماکولوژیک متعددی در مورد اثرات ضد میکروبی (Agnihotri, et al., 2008; Sattar, et al., 1995)، ضد التهابی (Ali et al., 2007) و آنتی‌اکسیدانی (Jafari, et al., 2010; Bernatoniene, et al., 2009) این گیاه وجود دارد. همچنین برخی تحقیقات انجام شده اثرات مفید گیاه بر قلب و سیستم گردش خون و خواص ضدسرطانی این گیاه دارویی ارزشمند را به خوبی نشان داده است (Rezaee-Asl, et al., 2014; Mil kowska-Leyck, et al., 2002).

فلاونوئیدها اجزای اصلی بخش‌های هوایی این گیاه هستند که از آن جمله می‌توان به ترکیبات زیر اشاره کرد: O-گلیکوزیدهای کوئرستین (از جمله روتین، کوئرستین، ایزو کوئرستین، هیپروزید)، کامپفرول، آپیزین (به صورت مشتقات آپیزین شامل ژنکوانین و کوئین کوئلوزید)، آکالوئیدها ((-)-استاکیدرین و لئونورین)، گلوکوزیدهای ایریدوئید (لئونورید، آزوگول، گالیریدوزید، و رپتوزید)، دی ترپنوئیدها (لئوکاردین، مخلوطی از ۲ مشتق کلرودان)، سیکلولئونوری پیتیدها (A, B, C و D)، تری‌ترپن‌ها (اورسولیک اسید)، گلیکوزیدهای تلخ، کافئیک اسید ۴-روتینوزید، و تانن‌ها (Zhang et al., 2018; Sermukhamedova et al., 2017; Fleming, 2000; Bradley, 1992; Weinges, et al., 1973) علاوه بر آنچه ذکر شد ترکیبات مونوترپن، دی‌ترپن، تری‌ترپن، فلاونوئیدها، فینیل پروپانوئیدها، اسیدهای فنولیک، ترکیبات حاوی نیتروژن، روغن‌های فرار، استرول‌ها و تانن‌ها نیز در این گیاه وجود دارند (Wojtyniak, et al., 2013). همچنین این گیاه دارای فلاونوئیدهای کوئرستین (Ritter et al., 2010; Mockute et al., 2006)، کامپفرول (Kartnig et al., 1985)، ترپنوئید ursolic acid و واجد خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه می‌باشد (Trumbeckaite, et al., 2006). همچنین جرمرکن D با غلظت ۲۶/۶ تا ۳۵/۱

پیکره گیاه مرتبط دانست (Blumenthal, et al., 2000; Bradley, 1992). همچنین اثرات محافظتی بر قلب و اعصاب همراه با ویژگی‌های آنتی‌دیابت، آنتی‌اکسیدان، حشره‌کش و سیتوتوکسیک برای گیاه *Digitalis lanata* (گل انگشتانه) گزارش شده است. برای اثرات قلبی عروقی مورد اشاره در گیاه گل انگشتانه بیشترین اثر به حضور ترکیبات digoxin و digitoxin که از جمله ترکیبات گلیکوزید قلبی هستند نسبت داده می‌شود. بیان می‌شود که این اثر بیشتر از طریق مهار فعالیت آنزیم ATPase و تنظیم میزان غلظت کلسیم سیتوپلاسمی رخ می‌دهد (Al-Snafi, 2017).

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، در قسمت‌های هوایی گیاه دارویی *L. cardiaca*، مواد تشکیل دهنده متنوعی متعلق به گروه ترپن‌ها شامل مونوترپن‌هایی نظیر ایریدوئیدها (Weinges, et al., 1973)، دی‌ترپن‌هایی نظیر کلرودان (Brieskorn and hofmann, 1979)، فورانولابدان و سایر انواع لابدان‌ها (Agnihotri, et al., 2008)، تری‌ترپن‌هایی از جمله اسیدهای ursolic و oleanolic (Ali et al., 2007; Janicsák et al., 2006) ترکیبات حاوی نیتروژن مانند leonurine (Ewy, 2015; Winnicka, et al., 2006; Chen, et al., 2000) و stachydrine (Calderon-Montano, et al., 2014; Gulubov and Chervenkov, 1970) و فینیل پروپانوئیدهایی مانند lavandulifolioside (Mil kowska-Leyck, et al., 2002) و همچنین فلاونوئیدها (Jafari, et al., 2010)، اسیدهای فنولیک (Bernatoniene, et al., 2009)، در اپی-سیدرول (۹/۷ درصد)، آلفا-هومولن (۹/۲ درصد)، دِهیدرو-۸-اوسینول (۸/۹ درصد)، ژرماکرن-دی (۸/۹ درصد) و اسپاتولنول (۸/۸ درصد) در روغن فرار (Morteza-Semnani, et al., 2008)، استرول‌ها (Senatore, et al., 1991) و تانن‌ها یافت

است، هدف از این تحقیق بررسی فیتوشیمیایی عصاره این گیاه خودرو در کشور می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی: اندام‌های هوایی گیاه دم شیر *L. cardiaca* در مرحله گلدی از محل رویش طبیعی خود واقع در دامنه کوه دماوند در استان مازندران با ارتفاع ۳۱۷۰ متر از سطح دریا و مختصات جغرافیایی "42° 54' 35" N و "40° 06' 52" E در تابستان سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. گیاه اشاره شده پس از خشک و پرس شدن به پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی منتقل گردیده و بعد از تهیه نمونه های استاندارد هرباریومی با استفاده از منابع معتبر گیاهشناسی کشور به دقت شناسایی گردید. نمونه هرباریومی گیاه مورد مطالعه با کد و شماره هرباریومی 7006-IMPH در هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی ثبت و مستندسازی گردید. حجم بیشتری از گیاه جمع‌آوری شده در طبیعت نیز بعد از خشک کردن در سایه و خرد کردن توسط آسیاب برای عصاره‌گیری آماده گردید.

**مواد شیمیایی و معرفها:** کلیه مواد شیمیایی، سیلیکاژل، حلال‌ها و استانداردهای استفاده شده از شرکت Merck خریداری گردید.

**دستگاه‌ها:** جهت توزین نمونه گیاهی از ترازوی دیجیتال مدل Shimadzu-AX200 ژاپن و جهت تغلیظ عصاره در هر مرحله از دستگاه تبخیرکن دوار (روتاری) مدل Rotavapor-R200 ساخت شرکت Buchi آلمان استفاده شد. طیف NMR توسط دستگاه رزونانس مغناطیسی هسته با شدت ۴۰۰ مگاهرتز مدل Bruker آلمان در دانشگاه زنجان و طیف IR نیز با استفاده از دستگاه FT-IR ساخت شرکت Shimadzu موجود در دانشگاه زنجان گرفته شد.

درصد بیشترین غلظت را در روغن اسانسی گیاه *L. cardiaca* جمع‌آوری شده از لیتوانی به خود اختصاص داده بود، پس از آن ترکیبات بتا کاربوفیلن (۹/۰-۵/۸ درصد) و آلفا-هومولن (۹/۲-۶/۴ درصد) به ترتیب بیشترین غلظت را به خود اختصاص داده بودند (Mockute et al., 2006).

عصاره گیاه *L. cardiaca* ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و محافظت قلبی<sup>۱</sup> داشته و بر ایسکمی میوکارد قلب اثر دارد. اثرات آنتی‌اکسیدانی به دو صورت *in vitro* و *in vivo* نیز برای عصاره این گیاه ثابت و نشان داده شد که این اثر با حفاظت انتخابی فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتینون پراکسیداز اتفاق می‌افتد (Feng et al., 2017; Sun et al., 2005). اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از این گیاه در طب سنتی چین گزارش شده و با روش آزمایشگاهی رایج مثل ABTS و DPPH تایید شده است (Zhu et al., 2004). در مطالعه دیگری نشان داده شد که عصاره آبی گیاه *L. cardiaca* جهت درمان ناراحتی‌های قلبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین این گیاه دارویی دارای خاصیت سوپراکسید دیسموتازی و پراکسیدازی بوده و دارای اثر بازدارندگی در پراکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد (Ji et al., 2017). اثرات این گیاه به‌عنوان عاملی موثر بر کاهش غلظت خون اثبات شده است (Zou et al., 1989).

با توجه به اثرات دارویی و جایگاه مهم گیاه *L. cardiaca* در طب سنتی ایران و کشورهای مختلف و همچنین با توجه به اثرات دارویی و فارماکولوژیکی گلیکوزیدهای قلبی، لزوم انجام تحقیقات وسیع‌تر در این زمینه احساس می‌گردد. لذا با در نظر گرفتن این موضوع که تاکنون مطالعه‌ای در خصوص شناسایی ترکیبات موثره عصاره این گیاه در ایران انجام نشده

#### 1. Cardiac Protective

گردید. بلور به دست آمده از فراکسیون ۸+۹+۱۰ خالص سازی، جداسازی و برای شناسایی ساختار ترکیب طبیعی موجود در آن طیف  $^1\text{H}$  NMR،  $^{13}\text{C}$  NMR، DEPT و IR گرفته شد.

جدول ۱: نسبت حلال های مورد استفاده برای شستشوی ستون اول

اتیل استات (ml)	هگزان (ml)
۰	۱۰۰
۱۰	۹۰
۲۰	۸۰
۳۰	۷۰
۴۰	۶۰
۵۰	۵۰
۶۰	۴۰
۷۰	۳۰
۸۰	۲۰
۹۰	۱۰
۱۰۰	۰
متانول (ml)	اتیل استات (ml)
۲	۹۸
۵	۹۵
۱۰	۹۰
۱۵	۸۵
۲۰	۸۰
۳۰	۷۰
۴۰	۶۰
۵۰	۵۰
۶۰	۴۰
۷۰	۳۰
۸۰	۲۰
۹۰	۱۰
۱۰۰	۰

#### نتایج

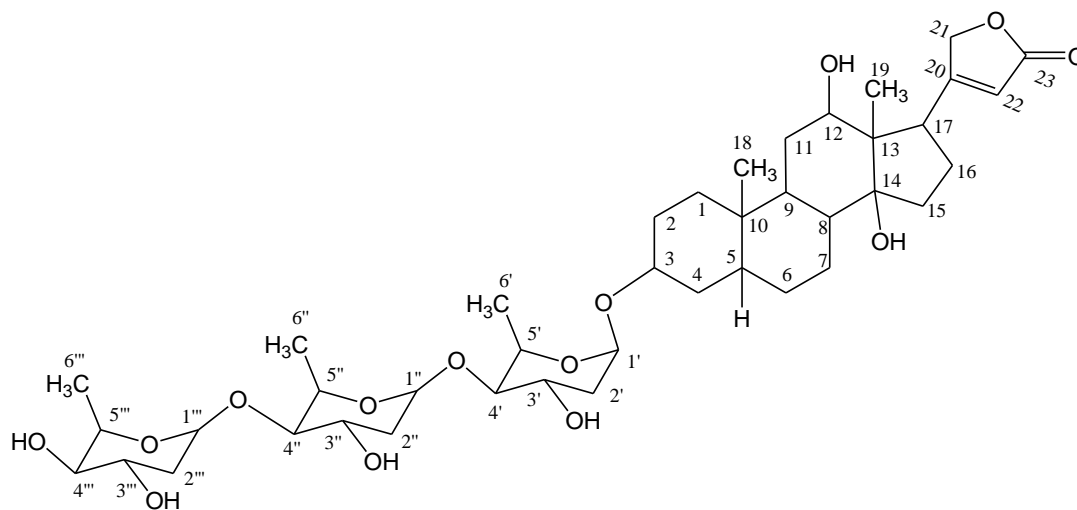
ساختار ترکیب شناسایی شده از عصاره گیاه *Leonurus cardiaca* نتایج حاصل از طیف های

**عصاره گیری و چربی گیری:** برای تهیه عصاره از این گیاه به روش ماسراسیون، ابتدا ۸۰۰ گرم از اندام های هوایی گیاه در سایه کاملاً خشک شده و سپس خرد گردید. سپس پودر همگن آماده شده برای استخراج ترکیبات طبیعی موجود در گیاه، به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در مخلوط متانول: دی اتیل اتر: نرمال هگزان به نسبت ۱:۱:۱ در یک تانک در تاریکی خیسانده شد. پس از سپری شدن زمان لازم مخلوط حاصل با استفاده از قیف بوختر و پمپ خلأ صاف شده و محلول باقی مانده توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد. در نهایت عصاره ای به رنگ سبز تیره و به صورت شیره ای غلیظ و ویسکوز حاصل گردید. سپس به منظور جدا نمودن چربی ها، عصاره با میزان بسیار کمی از متانول حل و به همراه آب مقطر به دکانتور منتقل شد. سپس طی چند مرحله تا حذف کامل چربی ها توسط حلال هگزان در دکانتور، چربی گیری گردید. سپس جهت جدا نمودن ترکیبات طبیعی از حلال اتیل استات استفاده شد. در مرحله بعد فازهای اتیل استات توسط دستگاه روتاری تغلیظ و جذب سیلیکاژل گردید (Taherkhani and Rustaiyan, 2016).

**کروماتوگرافی:** برای آماده کردن ستون کروماتوگرافی، مقدار لازم از سیلیکاژل مخصوص کروماتوگرافی ستونی با مش ۴۰۰-۲۳۰ همراه با حلال هگزان مخلوط و به ستون کروماتوگرافی اضافه شد. نهایتاً عصاره ای که جذب سیلیکاژل شده بود به ستون اضافه گردید. برای جداسازی ترکیبات موجود در عصاره با پلاریته های مختلف، ستون به ترتیب با حلال های هگزان، اتیل استات و متانول (غیر قطبی، نیمه قطبی و قطبی) با نسبت های مشخص مطابق با جدول شماره ۱ شست و شو شده و در اتمام کار ۳۲ فراکسیون به دست آمد. پس از گذشت چند روز در فراکسیون های ۸+۹+۱۰ و ۱۱ بلورهایی مشاهده

شکل ۱ آورده شده است.

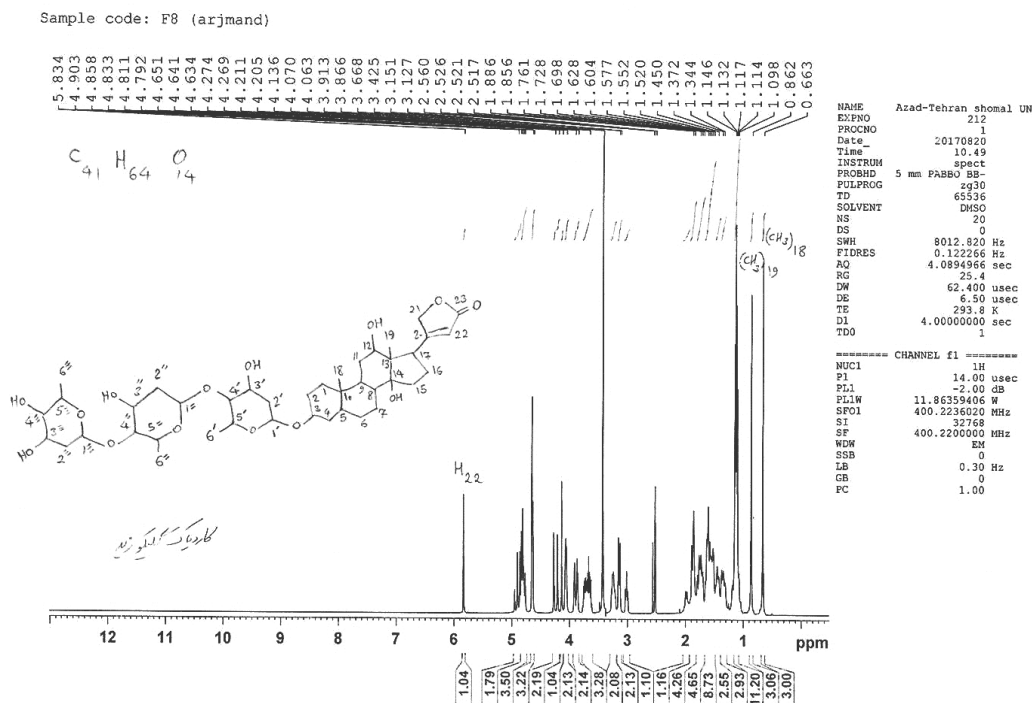
بدست آمده حضور یک ترکیب طبیعی از نوع گلیکوزیدهای قلبی را نشان داد که ساختار آن در



شکل ۱: ساختار ترکیب دیگلوکسین یک گلیکوزید قلبی استخراج شده از گیاه *L. cardiaca*

طیف‌های بدست آمده از ترکیب طبیعی حاصله در شکل‌های ۲ تا ۷ آورده شده است.

بررسی طیف‌های حاصل از ترکیب شناسایی شده از عصاره گیاه *Leonurus cardiaca* نتایج حاصل از

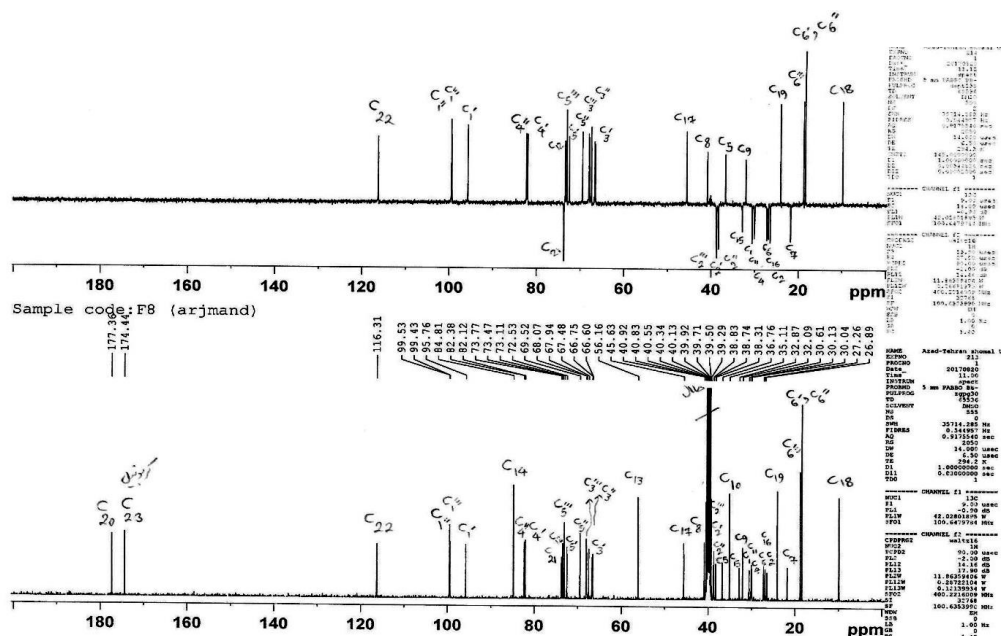


شکل ۲: طیف کلی <sup>1</sup>H-NMR ترکیب دیگلوکسین استخراج شده از عصاره گیاه *L. cardiaca*



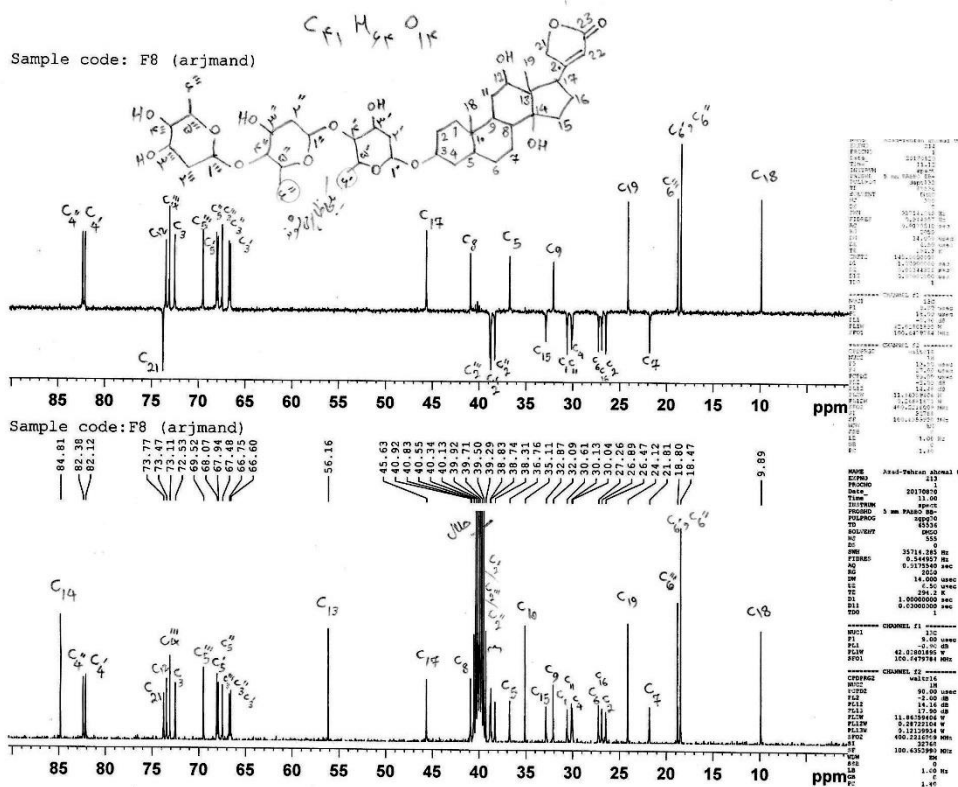
سینگلت و بدون انتگرال قابل مشاهده است. پیک مربوط به پروتون‌های قندی یعنی  $\delta$ ،  $\delta'$  و  $\delta''$  که به اتم اکسیژن متصل می‌باشند در دلتای حدود ۳/۶ تا ۳/۸ ppm با انتگرال ۳ و به دنبال آن پیک مربوط به هیدروژن شماره ۳ و ۳'، ۳'' و ۳''' ظاهر شده‌اند. بنابراین هیدروژن‌هایی که به دلیل اتصال به اتم الکترون‌گاتیو اکسیژن نپوشیده شده بودند را در ناحیه ۳ تا ۵ ppm مشاهده نمودیم. از ناحیه ۴/۱ تا ۴/۶۵ ppm، پروتون‌های مربوط به ۶ گروه هیدروکسیل ظاهر شده‌اند. هیدروژن شماره ۱'، ۱'' و ۱''' که از دو جهت به اکسیژن متصل هستند نپوشیده‌تر شده و با انتگرال ۳ در دلتای حدود ۴/۷۶ تا ۴/۸۵ ظاهر شده‌اند. هیدروژن‌های ۲۱ و ۲۱' موجود در حلقه لاکتونی در دلتای حدود ۴/۹۰ تا ۴/۹۴ ppm با انتگرال ۲ قابل مشاهده‌اند. نپوشیده‌ترین پروتون مربوط به هیدروژن باند دوگانه یعنی ۲۲ می‌باشد که در دلتای ۵/۸۳ ppm به صورت سینگلت دیده می‌شود.

همانطور که در تصاویر ملاحظه می‌گردد متیل‌های ۱۸ و ۱۹ به صورت سینگلت و هر کدام با انتگرال ۳ در ناحیه ابتدایی طیف و زیر دلتای یک ظاهر شده‌اند. همچنین به دنبال آن‌ها متیل‌های قندی یعنی  $\delta$ ،  $\delta'$  و  $\delta''$  به همراه دو هیدروژن  $11\beta$  و  $7\alpha$  با انتگرال ۱۱ هیدروژن در دلتای ۱ تا ۱/۲ ظاهر شده‌اند. به تعداد ۱۶ هیدروژن به صورت overlapped در ناحیه ۱/۳ تا ۲ مربوط به هیدروژن‌های آلکانی و سیکلو آلکانی می‌باشد که به اتم اکسیژن متصل نمی‌باشند. پیک حلال DMSO در ناحیه ۲/۵۴ و بدون انتگرال آمده است. همانطور که ملاحظه می‌شود پروتون‌های قندی یعنی  $\delta'$ ،  $\delta''$  و  $\delta'''$  که به اتم اکسیژن متصل می‌باشند در دلتای حدود ۳ تا ۳/۱۵ ppm با شکافتگی‌های خود آمده‌اند. پروتون ۱۲ که به اتم اکسیژن متصل است در کنار پروتون آلیلی شماره ۱۷ با انتگرال ۲ در ناحیه حدود ۳/۲۴ ppm قابل رؤیت است. در ناحیه حدود ۳/۴ ppm پیک آب موجود در حلال به صورت



شکل ۵: طیف کلی  $^{13}\text{C}$ -NMR دیگوسین استخراج شده از عصاره *L. cardiaca*

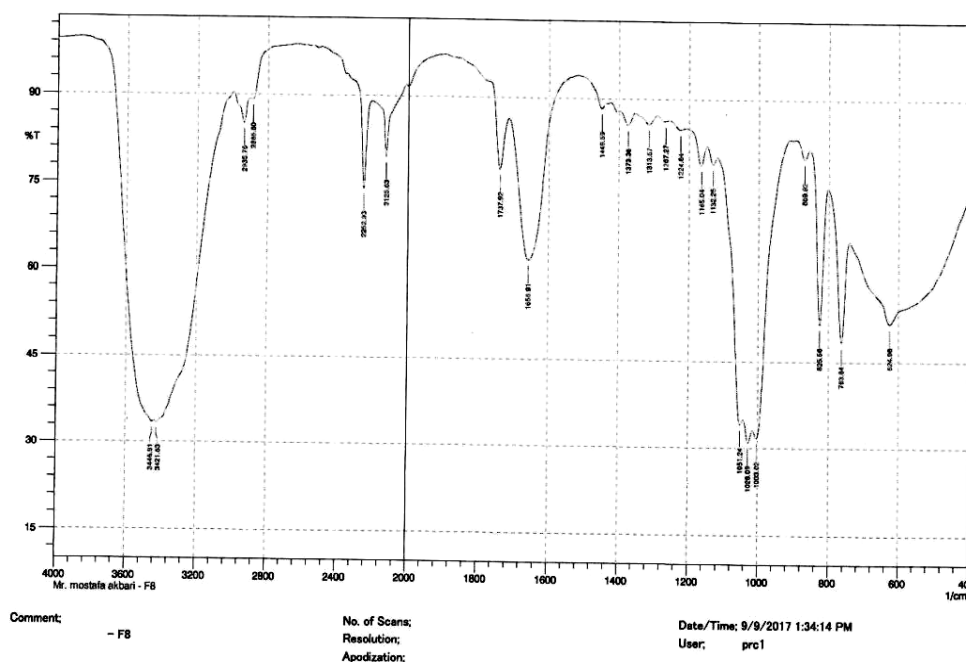




شکل ۶: بزرگنمایی طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  ناحیه ۰ تا ۸۵ ppm دیگوسکین استخراج شده از عصاره *L. cardiaca*

ظاهر شده‌اند. سپس کربن‌های متصل به اتم الکترون‌گاتیو اکسیژن از دلتای ۶۶ ppm به بالا قابل رؤیت هستند. کربن‌های شماره ۱'، ۱'' و ۱''' که از دو جهت به اکسیژن متصل هستند نپوشیده‌تر شده و در دلتای حدود ۹۵ تا ۹۹ ظاهر شده‌اند. کربن ۲۲ مربوط به باند دوگانه در حلقه لاکتونی در دلتای حدود ppm ۱۱۶ ظاهر شده است. نپوشیده‌ترین کربن‌ها مربوط به کربونیل شماره ۲۳ و کربن مزدوج مربوط به باند دوگانه ۲۰ است که در دلتای ۱۷۴ و ۱۷۷ ppm به ترتیب دیده می‌شوند.

طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  به همراه بزرگنمایی آن در شکل ۵ و ۶ به صورت مقایسه‌ای قابل مشاهده است. همانطور که در شکل دیده می‌شود کربن‌های CH و  $\text{CH}_3$  به صورت سر بالا و کربن‌های  $\text{CH}_2$  به صورت سر پایین در طیف DEPT قابل رؤیت است و کربن‌های نوع چهارم نیز در این طیف ظاهر نمی‌گردند. در طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  نیز ۴۱ پیک مربوط به ۴۱ کربن مطابق با فرمول بسته ظاهر شده است. مطابق با شکل ۶ در دلتای زیر ۶۰ ppm کربن‌های آلکانی و سیکلوآلکانی که به اتم اکسیژن متصل نیستند



شکل ۷: طیف IR ترکیب دیگوکسین استخراج شده از عصاره *L. cardiaca*

تفسیر طیف IR وجود گروه های عاملی زیر را در ساختار این ترکیب اثبات می نماید:

- OH هیدروکسیل ← ۳۴۲۱/۸۳ تا ۳۴۴۶/۹۱
- C-H ارتعاشی کششی ← ۲۹۳۵/۷۶ تا ۲۸۸۵/۶۰
- C=O ارتعاشی کششی کربونیل ← ۱۷۳۷/۹۲
- C-O ارتعاشی کششی ← ۱۰۵۱/۲۴ و ۱۰۲۸/۰۹ و ۱۰۰۳/۰۲
- C-C ارتعاشی کششی ← ۱۲۶۷/۲۷
- C=C ارتعاشی کششی ← ۱۶۵۶/۹۱

#### بحث

اینوتروپیک مثبت و الکترولیتی در سلول است و بر اساس این اثرات، برای درمان دو اختلال مهم بالینی یعنی نارسایی قلبی CHF (به علت اختلاف سیستمولیک) و آریتمی های فوق بطنی به طور وسیعی مورد استفاده قرار می گیرد ( Zhang et al., 2008; Withering, 1785).

مطالعه عصاره گیری و استخراج جهت دستیابی به گلیکوزیدهای قلبی، برای اولین بار در گیاه *Digitalis* و در سال ۱۹۵۰ صورت پذیرفت. در این مطالعه نشان داده شد که استفاده از عصاره آبی همراه با استفاده از

امروزه گونه های مختلفی از گیاه گل انگشتانه (*Digitalis spp.*) به عنوان منبع اصلی جهت استخراج ترکیبات گلیکوزید قلبی از گروه digitoxin ها شناخته می شوند. در سال ۱۷۸۵ ترکیب دیگوکسین برای اولین بار از این گیاه توسط ویلیام ویدرینگ کشف و گزارش کرد. در این مطالعه اشاره شد که دیگوکسین نمونه ای از یک داروی محرک قلبی است که باعث افزایش قدرت انقباض قلب و در عین حال کاهش سرعت ضربان قلب می گردد. همچنین دارای اثرات

یکسری حلال‌های با قطبیت متفاوت منجر به استخراج ترکیبات گلیکوزیدی گروه Digitalin نظیر دیگوکسین و دیجیتالین می‌گردد ( Ewy, 2015; King and Gisvold, 1950 ).

در مطالعه دیگری که بر روی گیاه *D. lanata* و با استفاده از تکنیک HPLC انجام شد، برای نخستین بار قادر به شناسایی برخی ترکیبات گلیکوزید قلبی و از جمله دیگوکسین شدند. در این روش عصاره‌گیری که توسط آب و آب-الکل انجام شد، نشان داده شد که روش عصاره‌گیری هیدروالکلی از روشهای قبلی توصیف شده بهتر بوده و راندمان و عملکرد بهتری دارد. برخی ترکیبات گلیکوزیدی از جمله دیگوکسین در این روش در ستون Reversed Phase با استفاده از مخلوط متنوعی از حلال‌ها در فاز متحرک به دلیل داشتن نقاط ایزوکراتیک متفاوت جدا شدند. این کار در زمان ذکر شده برای اولین بار صورت گرفته و نشان داد که استفاده از الکل (به‌عنوان یک حلال قطبی) در عصاره‌گیری، راندمان استخراج دیگوکسین را افزایش می‌دهد ( Ewy, 2015; Orosz et al., 1989 ). بر اساس همین روش و نتیجه‌گیری‌ها در مطالعه حاضر نیز تلاش شد تا از گیاه دم شیر (*L. cardiaca*) که ویژگی‌هایی در مورد رفع بیماری‌های قلبی-عروقی برای آن در متون طب سنتی و مدرن ذکر شده است، با استفاده از حلال‌های آلی با قطبیت‌های متفاوت عصاره‌گیری صورت گرفته و تلاش شد تا با حذف حلال قطبی آب بازده استخراجی مواد موثره افزایش یابد.

در مطالعات سالهای اخیر نشان داده شد که استخراج digoxin با استفاده از روش نیمه بحرانی امتزاجی از CO<sub>2</sub> و متانول ( Near super critically mixture of CO<sub>2</sub> and Meoh ) اثرات بسیار بیشتری بر استخراج این ماده موثره داشته است. در واقع نشان داده شده که میزان آب باقیمانده در بافت گیاه به دلیل

اختلالی که از جهت قطبیت با digoxin دارد مانع از استخراج کامل و بازده مناسب روش‌های قبلی می‌شود. در روش‌های قبلی یا از عصاره آبی و یا از عصاره هیدروالکلی استفاده می‌شد. در هر دو صورت آب موجود در بافت گیاه باعث کاهش بازده استخراج می‌گردید. اما در این روش به دلیل حذف کامل آب (به عنوان یک حلال قطبی) میزان و راندمان استخراج دیگوکسین افزایش چشمگیری داشته است ( Ewy, 1996; Moore and Taylor, 2015 ). در مطالعه حاضر نیز بر همین اساس تلاش شد تا جهت افزایش راندمان استخراج دیگوکسین از حلال‌های آلی با قطبیت‌های متفاوت استفاده شود.

همچنین در مطالعه دیگری که به روش پرکولاسیون جهت استخراج و خالص‌سازی دیگوکسین انجام شد از برگهای تخمیر شده گیاه *D. lanata* استفاده گردید و شرایط بهینه جهت استخراج و سپس جداسازی دیگوکسین مشخص شد. در بهترین شرایط غیر هوازی برای تخمیر گیاه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان استخراج دیگوکسین به میزان ۹۹-۱۰۰ درصد مشخص گردید. در نتیجه این مطالعه بهترین شرایط برای استخراج دیگوکسین توسط روش پرکولاسیون توصیف شده و میزان استخراج دیگوکسین با موفقیت ۹۷ درصد گزارش گردید. در این مطالعه استفاده از روش پرکولاسیون با رعایت شرایط ذکر شده توصیه گردید و اشاره شد که راندمان استخراج در این روش حدود ۳۰ درصد نسبت به روشهای رایج دیگر در عصاره‌گیری بیشتر می‌باشد (Novkovic et al., 2014). هرچند در مطالعه حاضر استفاده از روش عصاره‌گیری پرکولاسیون مقدور نبود اما با در نظر گرفتن سایر شرایط بهینه سازی برای استخراج حداکثری ماده موثره دیگوکسین در این مطالعه، از روش جایگزین ماسراسیون جهت تهیه عصاره استفاده شد و نتایج حاصله نیز بیانگر

موفقیت نسبی جهت استخراج ترکیب دیگوکسین می‌باشد.

در مورد گیاه دم‌شیر (*L. cardiaca*) تاکنون مطالعات بسیار معدودی انجام شده است. به طور مثال در یک مطالعه مشابه، با استفاده از تکنیک‌های طیف‌سنجی NMR و طیف‌جرمی MS، از عصاره بوتانولی گیاه *Leonurus cardiaca var. vulgaris* که محل رویش آن لهستان بوده است یک ترکیب گلیکوزید فنیل پروپانوئیدی به نام Lavandulifolioside با خاصیت کاهندگی فشارخون و اثرات قابل توجه بر جریان کرونری خون و عملکرد قلب استخراج، شناسایی و تعیین ساختار مولکولی شد (Mil kowska-Leyck et al., 2002). همانطور که ملاحظه می‌شود ترکیبی که در نتیجه مطالعه حاضر استخراج، شناسایی و معرفی شده است ترکیبی متفاوت از مطالعه فوق‌الذکر می‌باشد. دلیل این امر را می‌توان ناشی از اختلاف در مناطق رویشی گیاهان و اقلیم‌های متفاوت آنها که منجر به سنتز ترکیبات مختلف در پیکره گیاه می‌شود دانست. همچنین با احتمال قویتر این اختلاف مشاهده شده را می‌توان ناشی از اختلاف در روش عصاره‌گیری و حلال‌های مورد استفاده دانست.

در مطالعه‌ای دیگر، از عصاره گیاه دارویی *L. cardiaca* در اروپا (لیتوانی)، ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی نظیر کوئرستین، لوتئولین، کامفرول، روتسین، chlorogenic acid، orientin، hyperoside و... جداسازی شده است (Bernatoniene et al., 2014). به‌طور مشابه در مطالعه دیگری که بر روی عصاره اتانولی گیاه دارویی *L. cardiaca* در آلمان انجام شد نتایج حاصله نشان داد که عصاره گیاه غنی از ترکیبات فنولی مانند کافئیک اسید و فنیل اتانوئیدی بوده و خاصیت ضد التهابی و لاکتوپراکسیدازی قوی نشان داد (Flemmig et al., 2015). مقایسه نتایج

حاصله در این مطالعه با نتایج تحقیقات مذکور نشان می‌دهد که هیچ‌گونه ترکیب گلیکوزید قلبی از جمعیت‌های اروپایی این گیاه گزارش نشده است. علت این امر را نیز می‌توان در تفاوت‌های ناشی از اقلیم مناطق و همچنین در روش‌ها و حلال‌های متفاوت در تهیه عصاره دانست. با این توجه می‌توان بیان کرد که گزارش ترکیب گلیکوزید قلبی دیگوکسین در این گونه از ایران برای اولین بار در دنیا انجام می‌گردد.

### نتیجه‌گیری نهایی

برای اولین بار در دنیا از عصاره گیاه دم شیر (*Leonurus cardiaca L.*) یک ترکیب گلیکوزید قلبی به نام Digoxin با فرمول مولکولی  $C_{41}H_{64}O_{14}$  توسط تکنیک کروماتوگرافی ستونی استخراج و با استفاده از تکنیک‌های طیف‌سنجی  $^1H-NMR$ ،  $^{13}C-NMR$ ، DEPT و IR شناسایی شده و ساختار مولکولی آن نیز تعیین گردید. این گیاه یک گیاه علفی چند ساله از تیره نعنائیان بوده و به صورت طبیعی در ایران رویش دارد. کاربردهای محلی مختلفی نیز از این گیاه در مطالعات مختلف گزارش شده است. با توجه به اینکه این گیاه در طب سنتی ایران و سایر کشورها جهت کاهش فشار خون و درمان بیماری‌های قلبی مورد استفاده وسیعی قرار می‌گرفته و از این نظر تا حدودی گیاهی شناخته شده است، لذا می‌توان این اثر را به وجود ترکیب digoxin در گیاه مرتبط دانست.

آنچه که مسلم است در نتیجه این مطالعه می‌توان بیان کرد که علاوه بر گیاه گل انگشتانه (که به‌طور سنتی به عنوان منبعی برای ترکیبات گلیکوزیدی قلبی و بویژه digoxin شناخته می‌شود)، امروزه می‌توانیم گیاه *L. cardiaca* (دم شیر) را نیز به‌عنوان منبع جدیدی برای ترکیب digoxin معرفی نماییم. همچنین انجام تحقیقات بیشتر برای کشف ترکیبات طبیعی از جمله سایر

واحد علوم دارویی به دلیل در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی و از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی جهت همکاری در راستای شناسایی، معتبر سازی گیاه و اطلاعات گیاه شناسی تشکر می‌گردد.

گلیکوزیدهای قلبی به همراه ارزیابی اثرات بیولوژیکی آنها در عصاره این گیاه توصیه می‌گردد.

### سپاسگزاری

از دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی

### References

1. Agnihotri, V.K., Elsohly, H.N., Smillie, T.J., Khan, I.A. and Walker, L.A. 2008. New labdane diterpenes from *Leonurus cardiaca*. *Planta Medica*, 74(10):1288-1290.
2. Ali, M.S., Ibrahim, S.A., Jalil, S. and Choudhary, M.I. 2007. Ursolic acid: a potent inhibitor of superoxides produced in the cellular system. *Phytotherapy Research*, 21(6): 558-561.
3. Al-Snafi, A.E. 2017. Phytochemical constituents and medicinal properties of digitalis lanata and *Digitalis purpurea*- A review. *Indo Americal Journal of Pharmaceutical science (IAJPS)*, 4(2): 225-234.
4. Bernatoniene, J., Kopustinskiene, D.M., Jakstas, V., Majiene, D., Baniene, R., Kuršvietiene, L., Masteikova, R., Savickas, A., Toleikis, A. and Trumbeckaite, S. 2014. The Effect of *Leonurus cardiaca* herb extract and some of its flavonoids on mitochondrial oxidative phosphorylation in the Heart. *Planta Medica*, 80(7): 525-532.
5. Bernatoniene, J., Kucinskaite, A., Masteikova, R., Kalveniene, Z., Kasparaviciene, G. and Savickas, A. 2009. The comparison of anti-oxidative kinetics in vitro of the fluid extract from maidenhair tree, motherwort and hawthorn. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 66(4): 415-421.
6. Blumenthal, M., Goldberg, A. and Brinckmann, J. 2000. Herbal medicine expanded commission e monographs. *Integrative Medicine Communication*. American Botanical Council: Austin, Texas, 267 p.
7. Bol'shakova, I.V., Losovskaia, E.L., Sapezhinskii, I.I. 1997. Photosensitizing and photoprotective properties of extracts from groups of medicinal plants. *Biofizika*, 42(4): 926-932.
8. Bradley, P.R. 1992. *British Herbal Compendium (Vol. 1)*. British Herbal Medicine Association: Bournemouth, 161p.
9. Brieskorn, C.H. and Hofmann, R. 1979. Bitter substances from labiate plants: a clerodane derivative from *Leonurus cardiac*. *Tetrahedron Letters*, 20(27): 2511-2512.
10. Calderon-Montano, J.M., Burgos-Moron, E., Luis Orta, M., Maldonado-Navas, D., Garcia-Dominguez, I. and Lopez-Lazaro, M. 2014. Evaluating the cancer therapeutic potential of cardiac glycosides. *BioMed Research International*, Article ID 794930. 9 p.
11. Chan, W.C., Wong, Y.C., Kong, Y.C., Chun, Y.T., Chang, H.T. and Chan, W.F. 1983. Clinical observation on the uterotonic effect of I-mu Ts'ao (*Leonurus artemisia*). *American Journal of Clinical Medicine*, 11: 77-83.
12. Chen, Z.S., Chen, C.X. and Kwan, C.Y. 2000. Leonurine, an alkaloid from *Leonurus artemesia*, induces contraction in mouse uterine smooth muscle but relaxation in vascular smooth muscle of rat portal vein. *Biomedical Research*, 11(2): 209-212.
13. Ewy, G.A. 2015. Digoxin: The Art and Science. *The American Journal of Medicine*, 128(12): 1272-1274.
14. Feng, Y., Lu, Y., Liu, D., Zhang, W., Liu, J., Tang, H. and Zhu, Y. 2017. Apigenin-7-O-β-d-(6"-p-coumaroyl)-glucopyranoside pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury via activating AMPK signaling. *Life Sciences*, 15(203): 246-254.

15. Fleming, T. 2000. PDR for herbal medicines. Medical Economics Company, Montrale, Canada, 858 p.
16. Flemmig, J., Noetzel, I., Arnhold, J. and Rauwald, H.W. 2015. *Leonurus cardiaca* L. herb extracts and their constituents promote lactoperoxidase activity. Journal of Functional Foods, 17: 328-339.
17. Gulubov, A. and Chervenкова, V. 1970. Structure of alkaloids from *Leonurus cardiaca*. Materialia Fizika Khimicheskaya Biologica, 8(1): 129-132.
18. Gholipour, A., Ghorbani Nohooji, M., Rasuli, N. and Habibi, M. 2014. An ethnobotanical study on the medicinal plants of zarm-rood rural district of neka (Mazandaran Province). Journal of Medicinal Plants, 4(52): 101-121.
19. Hosseini, M., Taherkhani, M. and Ghorbani Nohooji, M. 2019. Introduction of *Adonis aestivalis* as a new source of effective cytotoxic cardiac glycoside. Natural Product Research, 33(6): 915-920.
20. Jafari, S., Moradi, A., Salaritabar, A., Hadjiakhoondi, A. and Khanavi, M. 2010. Determination of total phenolic and flavonoid contents of *Leonurus cardiaca* L. in compare with antioxidant activity. Research Journal of Biological Sciences, 5(7): 484-487.
21. Janicsák, G., Veres, K., Kakasy, A.Z. and Máthé, I. 2006. Study of the oleanolic and ursolic acid contents of some species of the Lamiaceae. Biochemical Systematics and Ecology, 34(5): 392-396.
22. Ji, S., Fattahi, A., Raffel, N., Hoffmann, I., Beckmann, M.W., Dittrich, R. and Schrauder, M. 2017. Antioxidant effect of aqueous extract of four plants with therapeutic potential on gynecological diseases; *Semen persicae*, *Leonurus cardiaca*, *Hedyotis diffusa*, and *Curcuma zedoaria*. European Journal of Medical Research, 22(1): 1-8.
23. Kartnig, T., Gruber, A. and Menzinger, S. 1985. Flavonoid-O-Glycosides from the Herbs of *Leonurus cardiaca*. Journal of Natural Products, 48(3): 494-507.
24. King, R.E. and Gisvold, O. 1950. Some extraction studies on *Digitalis*. Journal of the American Pharmaceutical Association, 39(2): 109-112.
25. Mil kowska-Leyck, K., Filipek, B. and Strzelecka, H. 2002. Pharmacological effects of lavandulifolioside from *Leonurus cardiaca*. Journal of Ethnopharmacology, 80(1): 85-90.
26. Mockute, D., Bernotiene, G. and Judzentiene, A. 2006. Germacrene D chemotype of essential oils of *Leonurus cardiaca* L. growing wild in Vilnius district (Lithuania). Journal of Essential Oil Research, 18(5): 566-568.
27. Moore, W.N. and Taylor, L.T. 1996. Extraction and quantitation of digoxin and acetyldigoxin from the *digitalis lanata* leaf. via near-supercritical methanol-modified carbon dioxide. Journal of Natural Products, 59(7): 690-693.
28. Morteza-Semnani, K., Saeedi, M. and Akbarzadeh, M. 2008. The essential oil composition of *Leonurus cardiaca* L. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 20(2): 107-109.
29. Mozaffarian, V. 2012. Identification of medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhange Moase publication, Tehran, Iran, 1444 p.
30. Nagasawa, H., Onoyama, T., Suzuki, M., Hibino, A., Segawa, T. and Inatomi, H. 1990. Effects of motherwort (*Leonurus sibiricus* L.) on preneoplastic and neoplastic mammary gland growth in multiparous GR/A mice. Anticancer Research, 10:1019-1023.
31. Novkovic, V.M., Stanojevic, L.P., Cakic, M.D., Palic, R.M., Veljkovic, V.B. and Stankovic, M.Z. 2014. Extraction of digoxin from fermented woolly foxglove foliage by percolation. Separation Science and Technology, 49(6): 829-837.
32. Orosz, F., Nuridsány, M. and Ovádi, J. 1989. Isolation and quantitative determination of some cardioactive glycosides from *Digitalis lanata* by high-performance liquid chromatography. Analytical Biochemistry, 156(1): 171-175.
33. Pang, S., Tsuchiya, S., Horie, S., Uchida, M., Murayama, T. and Watanabe, K. 2001. Enhancement of phenylephrine-induced contraction in the isolated rat aorta with endothelium by H<sub>2</sub>O-extract from an Oriental medicinal plant *Leonuri Herba*. Japanese Journal of Pharmacology, 86(2): 215-222.
34. Racz-Kotilla, E., Racz, G. and Bartha, R. 1981. Antihypertensive action of *Leonurus quinquelobatus* and L.

- turkestanicus* extracts. Review of Medicine, 27: 32-35.
35. Rezaee-Asl, M., Sabour, M., Nikoui, V., Ostadhadi, S. and Bakhtiarian, A. 2014. The study of analgesic effects of *leonurus cardiaca* l. in mice by formalin, tail flick and hot plate tests. International Scholarly Research Notices, Article ID 687697, 5 p.
  36. Ritter, M., Melichar, K., Strahler, S., Kuchta, K., Schulte, J., Sartiani, L., Cerbai, E., Mugelli, A., Mohr, F.W., Rauwald, H.W. and Dhein, S. 2010. Cardiac and electrophysiological effects of primary and refined extracts from *Leonurus cardiaca* L. *Planta Medica*, 76(6): 572-582.
  37. Sattar, A.A., Bankova, V., Kujumgiev, A., Galabov, A., Ignatova, A., Todorova, C. and Popov, S. 1995. Chemical composition and biological activity of leaf exudates from some Lamiaceae plants. *Pharmazie*, 50(1): 62-65.
  38. Senatore, F., De Feo, V., De Simone, F., Mscisz, A., Mrugasiewicz, K. and Gorecki P. 1991. Sterols from *Leonurus cardiaca* L. growing in different geographical areas. *Herba Polonica*, 37(1): 3-7.
  39. Sermukhamedova, O.V., Sakipova, Z.B., Ternynko, I.I. and Gemedzhieva, N.G., 2017. Representatives of motherwort genus (*Leonurus* spp.) aspects of pharmacognostic features and relevance of new species application. *Acta poloniae pharmaceutica*, 74(1): 31-40.
  40. Shekari, A., Nazeri, V. and Shokrpour, M. 2016. Pollen viability and storage life in *Leonurus cardiaca* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(3): 101-104.
  41. Sun, J., Huang, S.H., Zhu, Y.C., Whiteman, M., Wang, M.J., Tan, B.K., Zhu, Y.Z. 2005. Anti-oxidative stress effects of *Herba Leonuri* on ischemic hearts. *Life Sciences*, 76(26): 3043-3056.
  42. Taherkhani, M. and Rustaiyan, A., 2016. Investigation of *in vitro* cytotoxic, mutagenic and anti-mutagenic effects of shirazolide extracted from *Jurinea leptoloba*. *Natural Product Research*, 30(23): 2743-2746.
  43. Trumbeckaite, S., Bernatoniene, J., Majiene, D., Jakstas, V., Savickas, A. and Toleikis, A. 2006. The effect of flavonoids on rat heart mitochondrial function. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(5): 245-248.
  44. Weinges, K., Kloss, P. and Henkels, W.D. 1973. Natural products from medicinal plants. XVIII. isolation and structure elucidation of a new C15-iridoid glucoside from *Leonurus cardiaca*. *Justus Liebig's Annalen der Chemie*, 4: 566-572.
  45. Winnicka, K., Bielawski, K. and Bielawska, A. 2006. Cardiac glycosides in cancer research and cancer therapy. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 63: 109-115.
  46. Withering, W., 1785. An account of the foxglove and some of its medical uses: with Practical Remarks on Dropsy and other Diseases, Birmingham, England, 230 p.
  47. Wojtyniak, K., Szymański, M. and Matławska, I. 2013. *Leonurus cardiaca* L. (Motherwort): A review of its Phytochemistry and pharmacology. *phytotherapy Research*, 27(8): 1115-1120.
  48. World Health Organization Reports., 2010. WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS). WHO Press, Geneva, Switzerland, 452 p.
  49. Zhang, H., Qian, D.Z., Tan, Y.S., Lee, K., Gao, P., Ren, Y.R., Rey, S., Hammers, H., Chang, D., Pili, R., Dang, C.V., Liu, J.O. and Semenza, G.L. 2008. Digoxin and other cardiac glycosides inhibit HIF 1 alpha synthesis and block tumor growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(50): 19579-19586.
  50. Zhang, R.H., Liu, Z.K., Yang, D.S., Zhang, X.J., Sun, H.D. and Xiao, W.L. 2018. Phytochemistry and pharmacology of the genus *Leonurus*: The herb to benefit the mothers and more. *Phytochemistry*, 147: 167-183.
  51. Zhu, Y.Z., Huang, S.H., Tan, B.K., Sun, J., Whiteman, M. and Zhu, Y.C. 2004. Antioxidants in Chinese herbal medicines: a biochemical perspective. *Natural Product Reports*, 21(4): 478-489.
  52. Zou, QZ., Bi, R.G., Li, J.M., Feng, J.B., Yu, A.M., Chan, H.P. and Zhen, M.X. 1989. Effect of motherwort on blood hyperviscosity. *American Journal of Chinese Medicine*, 17(1-2): 65-70.

(Short Paper)

**Extraction, isolation and chemical structure determination of Digoxin cardiac glycoside from *Leonurus cardiaca* L. extract**

**Arjmandi, Sh.<sup>1</sup>, Taherkhani, M.<sup>2\*</sup>, Ghorbani Nohooji, M.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>M.Sc. Student, Dept. of Phytochemistry and Essential Oils Technology, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Dept. of Chemistry, Faculty of Basic Science, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

Received: 2017-12-31 ; Accepted: 2018-8-13

**Abstract**

*Leonurus cardiaca* L., commonly known as “lion's tail”, is an herbaceous perennial medicinal plant belonging to Lamiaceae that is widely used in traditional medicine of Iran and other countries as a sedative, hypnotic, diuretic and hypotensive, especially for treating heart diseases. Important phytochemicals such as alkaloids, iridoids, saponins, flavonoids, cardenolides and diterpenoids have been previously extracted and identified from this plant. Due to the importance and distribution of this plant in Iran, this study was designed to isolate and determine the phytochemical structure of cardiac glycoside from *Leonurus cardiaca* L. extract. To conduct this study, the aerial parts of the plant were collected at flowering stages from hillsides of Damavand Mountain in August 2016 and extracted by maceration method. After defatting the extract with hexane solvent, chromatography column was used to separate the different constituents of the extract. Totally 32 different fractions were isolated; a natural crystal compound was appeared in fraction 8+9+10 of 10 + 9 + 10. Its chemical structure was identified using spectrophotometric methods (1H-NMR, 13C-NMR, IR and DEPT Techniques). Based on the obtained spectra, this natural compound was Digoxin, a well-known cardiac glycoside that was extracted from this plant for the first time.

**Keywords:** Chromatography, Digoxin, Extract, *Leonurus cardiaca*.

---

\*Corresponding author; mahtaherkhani@yahoo.com