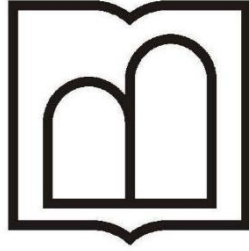


سلامی



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان:

بهینه‌سازی روش عصاره‌گیری ماسراسیون از گیاه گل‌گاوزبان با استفاده از

روش سطح پاسخ

استاتید راهنما:

دکتر منصور میران

دکتر نیما رزاقی اصل

نگارش:

پروین عزیزی

شماره پایان نامه: د-۱۴۲

مهرماه ۱۴۰۱

تقدیم به

آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است

"پدر بزرگوارم" او که فکر و اندیشه‌ام را جهت بخشید و شایسته‌ترین راهنمایم بود.

"مادر مهربانم" همدمی دلسوز که قلب پاکش منبع دعای خیر و وجود پرمهرش خورشید آسمان زندگی من است.

"همسر عزیزم" پناه خستگی ام، او که رفیق راه بود و از هیچ تلاشی برای یاری ام دریغ ننمود.

و شهدای راه سلامت.....

فرشتگان زمینی که سفید پوش شدند تا ما سیاه پوش عزیزانمان نباشیم.

سپاس بی کران پروردگار یکتا را...

که سپاس همواره زیبنده اوست...

در آدمی میل به آموختن نهاد و بی مدد لطفش گامی به پیش نتوان نهاد.

و سپس شایسته نام آنانی است که با مهر، علم به من آموختند.

از اساتید دلسوز و محترم؛ جناب آقای دکتر منصور میران و دکتر نیما رزاقی اصل که با صبر و حوصله، از هیچ کمکی در این مسیر از من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند؛ کمال تشکر و قدرانی را دارم.

همچنین سپاس فراوان از:

تمامی اساتید و داوران فرهیخته

کادر محترم دانشکده داروسازی اردبیل

و سایر عزیزانی که در این مسیر یاری رسانم بودند.

چکیده

مقدمه: ماسراسیون یکی از روش های مرسوم جهت عصاره گیری از گیاهان دارویی می باشد که بازدهی آن تحت تاثیر عوامل زیادی از قبیل دما، نوع حلال و زمان عصاره گیری قرار می گیرد. گیاه گل گاوزبان یکی از گیاهان دارویی ارزشمند در ایران می باشد که از قدیم الایام بصورت دمنوش مورد استفاده بوده است. در این پایان نامه با استفاده از روش سطح پاسخ، شرایط عصاره گیری از گیاه گل گاوزبان به لحاظ داشتن بیشترین مواد موثره، از قبیل رزمارینیک اسید، بهینه شده است.

روش کار: گل های گل گاوزبان که در هوای آزاد خشک شده بودند، پودر شده و به روش ماسراسیون در شرایط مختلف، عصاره گیری شدند که در نهایت ۱۷ عصاره بدست آمد. مواد موثره از قبیل فنول و فلاونوئید تام، کافئیک اسید و رزمارینیک اسید در عصاره های خشک شده بترتیب با روش فولین - سیوکالتو، رنگ سنجی و HPLC مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند. در نهایت شرایط بهینه برای عصاره گیری از گیاه گل گاوزبان با استفاده از روش سطح پاسخ بدست آمد.

یافته ها: نتایج نشان داد که برای فنول و فلاونوئید تام، شرایط بهینه بصورت نسبت آب به متانول ۵۰:۵۰، دمای عصاره گیری ۳۵ درجه سانتیگراد و زمان استخراج ۲۴ ساعت می باشد. برای رزمارینیک اسید، شرایط بهینه در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، زمان استخراج در ۶ ساعت و نسبت حلال ۵۰:۵۰ آب به متانول می باشد. برای کافئیک اسید نیز، شرایط بهینه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، زمان استخراج ۲۴ ساعت و نسبت حلال ۲۵:۷۵ آب به متانول بدست آمد.

نتیجه گیری: شرایط عصاره گیری ترکیبات فنول تام و رزمارینیک اسید با روش ماسراسیون با استفاده از روش سطح پاسخ بهینه شد. در این شرایط مقدار تام فنول براساس گالیک اسید در شرایط بهینه برابر با ۶۶.۲۸ میلی گرم در یک گرم عصاره خشک بود. همچنین مقدار رزمارینیک اسید در شرایط بهینه برابر با ۱۲۰ میلی گرم در یک گرم عصاره خشک بود.

کلید واژه: گل گاوزبان، رزمارینیک اسید، ماسراسیون، روش سطح پاسخ.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

- ۱-۱. اهمیت گیاهان دارویی..... ۲
- ۲-۱. گیاه شناسی گل گاوزبان ۳
- ۳-۱. پراکنش جغرافیایی..... ۴
- ۴-۱. گل گاوزبان و خواص آن در طب سنتی ایران..... ۴
- ۵-۱. اثرات فارماکولوژیکی گل گاوزبان..... ۵
- ۱-۵-۱. اثرات آنتی اکسیدانی..... ۵
- ۲-۵-۱. اثرات ضد التهابی، تعدیل کننده سیستم ایمنی..... ۵
- ۳-۵-۱. اثر ضد اضطرابی..... ۵
- ۴-۵-۱. فعالیت ضد ویروسی..... ۶
- ۵-۵-۱. اثرات ضد باکتریایی..... ۶
- ۶-۵-۱. اثر ضد تشنج..... ۷
- ۷-۵-۱. تاثیر بر سگته ی مغزی..... ۷
- ۸-۵-۱. تاثیر بر آب مروارید..... ۷
- ۶-۱. ترکیبات شیمیایی گل گاوزبان..... ۸
- ۱-۶-۱. ترکیبات فنولی..... ۱۰
- ۲-۶-۱. فلاونوئیدها..... ۱۱
- ۳-۶-۱. کافئیک اسید..... ۱۲
- ۴-۶-۱. رزمارینیک اسید..... ۱۳
- ۷-۱. عصاره گیری..... ۱۴

- ۸-۱. روش‌های مختلف عصاره‌گیری از گیاهان دارویی..... ۱۵
- ۱-۸-۱. روش ماسراسیون یا خیساندن..... ۱۵
- ۹-۱. تعیین محتوای فنولی عصاره..... ۱۶
- ۱۰-۱. تعیین محتوای فلاونوئیدی عصاره..... ۱۶
- ۱۱-۱. جداسازی و خالص‌سازی اجزا تشکیل‌دهنده گیاهان..... ۱۷
- ۱۲-۱. کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)..... ۱۷
- ۱۳-۱. بهینه‌سازی و اهمیت آن در انجام تحقیقات علمی..... ۱۹
- ۱۴-۱. روش سطح پاسخ..... ۱۹
- ۱-۱۴-۱. تعریف برخی اصطلاحات..... ۲۰
- ۲-۱۴-۱. مبانی و مراحل روش سطح پاسخ..... ۲۰
- ۱۵-۱. مطالعات انجام شده به روش سطح پاسخ..... ۲۱
- ۱۶-۱. روش باکس بنکن..... ۲۴
- ۱۷-۱. هدف و انگیزه..... ۲۶
- ۱-۱۷-۱. اهداف کلی..... ۲۶
- ۲-۱۷-۱. اهداف اختصاصی..... ۲۶

فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

- ۱-۲. مواد و روش‌ها..... ۲۸
- ۲-۲. جمع‌آوری گیاه گل‌گاوزبان..... ۲۹
- ۳-۲. خشک کردن و آماده‌سازی گیاه گل‌گاوزبان..... ۳۰
- ۴-۲. طراحی آزمایش..... ۳۱
- ۵-۲. عصاره‌گیری از گیاه گل‌گاوزبان..... ۳۳
- ۶-۲. خشک کردن عصاره‌ها..... ۳۸
- ۷-۲. اندازه‌گیری میزان فنول تام عصاره‌ها..... ۳۸

- ۳۹..... ۸-۲. اندازه‌گیری میزان فلانوئید تام عصاره ها.....
- ۴۰..... ۹-۲. اندازه‌گیری رزمارینیک اسید.....
- ۴۰..... ۱۰-۲. بهینه سازی پاسخ ها(توتال فنول ، توتال فلانوئید و رزمارینیک اسید).....

فصل سوم: نتایج

- ۴۳..... ۱-۳. اندازه‌گیری میزان مواد موثر موجود در عصاره‌های بدست آمده.....
- ۴۴..... ۱-۳-۱. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱.....
- ۴۵..... ۱-۳-۲. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۲.....
- ۴۶..... ۱-۳-۳. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۳.....
- ۴۷..... ۱-۳-۴. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۴.....
- ۴۸..... ۱-۳-۵. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۵.....
- ۴۹..... ۱-۳-۶. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۶.....
- ۵۰..... ۱-۳-۷. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۷.....
- ۵۱..... ۱-۳-۸. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۸.....
- ۵۲..... ۱-۳-۹. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۹.....
- ۵۳..... ۱-۳-۱۰. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۰.....
- ۵۴..... ۱-۳-۱۱. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۱.....
- ۵۵..... ۱-۳-۱۲. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۲.....
- ۵۶..... ۱-۳-۱۳. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۳.....
- ۵۷..... ۱-۳-۱۴. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۴.....
- ۵۸..... ۱-۳-۱۵. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۵.....
- ۵۹..... ۱-۳-۱۶. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۶.....
- ۶۰..... ۱-۳-۱۷. مواد موثره موجود در عصاره شماره ۱۷.....
- ۶۱..... ۲-۳. مدل سازی و آنالیز آماری با استفاده از روش RSM.....

- ۳-۳. تاثیر متغیرهای مستقل بر پاسخ اول..... ۶۲
- ۳-۴. بهینه سازی پاسخ اول..... ۶۵
- ۳-۵. تاثیر متغیرهای مستقل بر پاسخ سوم..... ۶۸
- ۳-۶. بهینه سازی پاسخ سوم..... ۷۱
- ۳-۷. بهینه سازی پاسخ های دوم و چهارم (فلاونوئیدها و کافئیک اسید)..... ۷۹

فصل چهارم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات

- ۴-۱..... ۸۲
- بحث..... ۸۲
- ۴-۲. نتیجه گیری ۸۴
- ۴-۳..... ۸۴
- پیشنهادات..... ۸۴
- منابع..... ۸۵

فهرست جدول ها

- جدول ۱-۲. مواد، حلال ها، دستگاه ها و وسایل مورد استفاده..... ۲۸
- جدول ۲-۲. نمایش متغیرهای مستقل و مقادیر آنها..... ۳۲
- جدول ۳-۲. ماتریس طراحی شده برای عصاره گیری به روش ماسراسیون..... ۳۷
- جدول ۱-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱..... ۴۴
- جدول ۲-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۲..... ۴۵
- جدول ۳-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۳..... ۴۶
- جدول ۴-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۴..... ۴۷
- جدول ۵-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۵..... ۴۸
- جدول ۶-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۶..... ۴۹
- جدول ۷-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۷..... ۵۰
- جدول ۸-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۸..... ۵۱
- جدول ۹-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۹..... ۵۲
- جدول ۱۰-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱۰..... ۵۳
- جدول ۱۱-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱۱..... ۵۴
- جدول ۱۲-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱۲..... ۵۵
- جدول ۱۳-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱۳..... ۵۶
- جدول ۱۴-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱۴..... ۵۷
- جدول ۱۵-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱۵..... ۵۸
- جدول ۱۶-۳. مواد موثره موجود در عصاره ۱۶..... ۵۹

- جدول ۳-۱۷. مواد موثره موجود در عصاره ۱۷..... ۶۰
- جدول ۳-۱۸. نمایش متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آنها..... ۶۱
- جدول ۳-۱۹. ماتریس اصلی طرح باکس بنکن..... ۶۲
- جدول ۳-۲۰. نتایج جدول آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ باکس بنکن برای پاسخ اول..... ۶۳
- جدول ۳-۲۱. مقادیر ضرایب مدل های درجه دوم کاسته بر پاسخ اول..... ۶۶
- جدول ۳-۲۲. نتایج بهینه سازی عددی برای فنول تام..... ۶۶
- جدول ۳-۲۳. نتایج جدول آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ باکس بنکن برای پاسخ سوم..... ۶۸
- جدول ۳-۲۴. مقادیر ضرایب مدل های درجه دوم کاسته بر پاسخ سوم..... ۷۲
- جدول ۳-۲۵. نتایج بهینه سازی عددی برای رزمارینیک اسید..... ۷۲
- جدول ۳-۲۶. مقادیر فنول و فلاونوئید تام..... ۷۹
- جدول ۳-۲۷. مقادیر کل عصاره‌ها، رزمارینیک اسید و کافئیک اسید..... ۸۰

فهرست شکل‌ها

گل‌گاوزبان	گیاه	دانه‌های	و	هوایی	اندام	۱-۱.	شکل
							ایرانی..... ۴
لینولنیک	گاما	شیمیایی	ساختار			۲-۱.	شکل
							اسید..... ۹
ترکیبات	شیمیایی	بندی	تقسیم			۳-۱.	شکل
							فنولی..... ۱۰
کلی	ساختار				۴-۱.	شکل	
							فلانوئیدها..... ۱۱
کافئیک	شیمیایی	ساختار				۵-۱.	شکل
							اسید..... ۱۲
رزمارینیک	شیمیایی	ساختار				۶-۱.	شکل
							اسید..... ۱۳
HPLC	دستگاه	شماتیک	شکل			۷-۱.	شکل
						 ۱۸
سطح	روش	انجام	مراحل			۸-۱.	شکل
							پاسخ..... ۲۳
سطح	روش	گرافیکی	های	طرح			۹-۱.
							پاسخ..... ۲۴
		گل‌گاوزبان (<i>Echium amoenum</i>)		گیاه			۱-۲.
						 ۲۹
گل‌گاوزبان	هرباریومی	نمونه				۲-۲.	شکل
							ایرانی..... ۳۰
پودر	گیاه	و	سایه	در	گل‌گاوزبان	گیاه	کردن
							خشک
							۳-۲.
							شکل
							شده..... ۳۱

گیاه	شده	خشک	از گل‌های	عصاره‌گیری و	اندازه‌گیری	۴-۲	شکل
							گل‌گاوزبان.....۳۳
جمع‌آوری	و	کردن	صاف	۵-۲	شکل		عصاره‌ها.....۳۵
روش	انجام	کلی	مراحل	۶-۲	شکل		کار.....۴۱
گالیک	اولیه	استاندارد	نمودار	۱-۳	شکل		اسید.....۴۳
اولیه	استاندارد	نمودار		۲-۳	شکل		کوئرستین.....۴۳
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۳-۳	شکل		۱.....۴۴
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۴-۳	شکل		۲.....۴۵
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۵-۳	شکل		۳.....۴۶
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۶-۳	شکل		۴.....۴۷
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۷-۳	شکل		۵.....۴۸
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۸-۳	شکل		۶.....۴۹
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۹-۳	شکل		۷.....۵۰
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	۱۰-۳	شکل		۸.....۵۱

عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۱-۳	شکل
				۵۲.....	۹
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۲-۳	شکل
				۵۳.....	۱۰
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۳-۳	شکل
				۵۴.....	۱۱
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۴-۳	شکل
				۵۵.....	۱۲
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۵-۳	شکل
				۵۶.....	۱۳
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۶-۳	شکل
				۵۷.....	۱۴
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۷-۳	شکل
				۵۸.....	۱۵
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۸-۳	شکل
				۵۹.....	۱۶
عصاره	از	حاصل	کروماتوگرام	.۱۹-۳	شکل
				۶۰.....	۱۷
و	حلال	مستقل	متغیرهای	برهمکنش	نمودار
				.۲۰-۳	شکل
				۶۴.....	دما
					شکل
				.۲۱-۳	نمایش نمودار سه بعدی اثر همزمان دو متغیر حلال و دما بر مقدار فنول
				۶۴.....	تام
پاسخ	برای	مدل	اغتشاشی	نمودار	شکل
				.۲۲-۳	شکل
				۶۵.....	اول
و	حلال	براساس	تمام	مقدار	ساز
				فنول	بهبینه
				تمودار	نمودار
				.۲۳-۳	شکل
				۶۷.....	دما

شکل ۳-۲۴. نمودار برهمکنش متغیرهای مستقل دما و زمان، حلال و زمان و حلال و دما بر پاسخ
سوم.....۶۹

شکل ۳-۲۵. نمایش نمودارهای سه بعدی؛ اثر همزمان دو متغیر حلال و زمان، دما و زمان، دما و حلال بر
مقدار رزمارینیک اسید استخراج شده از گیاه گل گاوزبان
ایرانی.....۷۰

شکل ۳-۲۶. نمودار اغتشاشی مدل برای پاسخ
سوم.....۷۱

شکل ۳-۲۷. نمودارهای بهینه سازی مقدار رزمارینیک اسید براساس دما و زمان طی اعمال سطوح مختلف
حلال.....۷۳

شکل ۳-۲۸. نمودارهای بهینه سازی مقدار رزمارینیک اسید براساس حلال و زمان طی اعمال سطوح مختلف
دما.....۷۵

شکل ۳-۲۹. نمودارهای بهینه سازی مقدار رزمارینیک اسید براساس دما و حلال طی اعمال سطوح مختلف
زمان.....۷۷