مطالعه فلاونوئیدهای برگ اعضای جنس *Chrozophora* Neck (Euphorbiceae) در استان مرکزی با روش‌های کروماتوگرافی

میترا نوری[1]*، حسن زارع مایوان[2]، افشان مظاهری[2]

۱- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک
۲- دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
*آدرس مکاتبه: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، صندوق‌پستی: ۸۷۹ کدپستی: ۳۸۱۵٦
تلفن: ۵ - ٤١٧٣٤٠١ (٠٨٦١)، ٠٩١٨١٦٢٣٨٦٨، نمابر: ٤١٧٣٤٠٦ (٠٨٦١)
پست الکترونیک: m-noori@araku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲۲ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۱/۲٤

چکیده

مقدمه: فلاونوئیدها دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه و از جمله ترکیبات پلی‌فنلیک هستند که در اندام‌های مختلف برخی از گیاهان وجود داشته و از جنبه‌های شیمیوتاکسونومی و فارماکوگنوزی دارای اهمیت می‌باشند. آنها در چرخه زندگی گیاهان آنتوموفیل، انتشار و بقای آنها نقش دارند.

هدف: هدف از انجام این پژوهش بررسی ترکیبات فلاونوئیدی برگ در جمعیت‌های جنس ***Chrozophora*** **Neck** در استان مرکزی می‌باشد.

روش بررسی: مطالعات فیتوشیمیایی بر روی برگ ۲۵ جمعیت از دو گونه جنس ***Chrozophora*** (***C. hierosolymitana*** و ***C. tinctoria***) متعلق به خانواده فرفیون جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان مرکزی در تابستان ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی و لایه نازک انجام شد. نمونه‌های شاهد از هر جمعیت به عنوان مرجع تهیه و در هرباریوم نگهداری شدند.

نتایج: نتایج نشان داد فلاونوئیدهای موجود در همه جمعیت‌ها از نوع فلاونوئید سولفات، فلاونوئید ***C*** و ***C-/O*** گلیکوزید و آگلیکون می‌باشند. آپی‌ژنین و کوئرستین در همه جمعیت‌های مورد مطالعه از هر دو گونه وجود داشت در حالی که روتین فقط در چهار جمعیت گونه ***C. tinctoria*** که برای اولین بار از استان مرکزی گزارش می‌شود، یافت شد.

نتیجه‌گیری: همه جمعیت‌های مورد مطالعه دارای ترکیبات فلاونوئیدی بوده اما نوع و تعداد آنها در نمونه‌های مورد مطالعه متفاوت است.

گل‌واژگان: ***Chrozophora***، خانواده فرفیون، فلاونوئیدها، کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی، کروماتوگرافی لایه نازک، استان مرکزی

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]

مقدمه

خانواده Euphorbiaceae دارای ۳۱۷ جنس و حدود ۸۰۰۰ گونه در دنیا می‌باشد [۱]. جنس *Chrozophora* از زیر خانواده *Acalyphoideae* با ۱۲ گونه در جهان [۲] و ٤ گونه در ایران متعلق به این خانواده است [۳، ۲]. اعضای این جنس گیاهان علفی یا درختچه‌ای بوده، دارای کرک‌های ستاره‌ای یا فلسی شکل متراکم هستند و اغلب در مناطق خشک زندگی می‌کنند [۲]. این جنس در مرکز، جنوب، غرب و نواحی حاره‌ای آسیا، جنوب اروپا تا شرق آفریقا گسترش یافته [۲،٤،٥] و چهار گونه *C. tinctoria, C. obliqua, C. gracilis* و *C. hierosolymitana* در ایران وجود دارد [٦ - ۲]. *C. tinctoria* در ایران به نام‌های گل عقربی، گوش بره، کرکی و وسمه و *C. verbasifolia* با نام مترادف *C. obliqua* به نام‌های علف پیرمرد، قیطران و آنکورزا شناخته می‌شوند [۱،٦،۷،۸].

امروزه برای حل روابط بین گیاهان و فیلوژنی آنها داده‌های شیمیایی کاربرد دارد که شیمو تاکسونومی نامیده می‌شود [۹]. در خانواده Euphorbiaceae نیز مطالعات فیتوشیمیایی برای رده بندی سیستماتیک اعضای این خانواده بسیار ارزشمند می‌باشد (Simpson & Levin, 1994) [۱۰]. متابولیت‌های ثانویه به خصوص فلاونوئیدها به نحو مؤثری در شیمیو تاکسونومی دخالت دارند [۱۱]. فلاونوئیدها گروه متنوعی از مواد طبیعی فنلی هستند که در میوه‌ها، سبزیجات، دانه‌ها، پوست، ریشه و ساقه گیاهان وجود دارند [۱۲،۱۳]. تأثیر فلاونوئیدها در سلامتی انسان قبل از اینکه به عنوان ترکیبات مؤثر از گیاهان جدا شوند، شناخته شده بود. بر اساس مطالعات Williams و Grayer در سال ۲۰۰٤ تقریباً ۹۰۰۰ فلاونوئید مختلف از منابع گیاهی گزارش شده است [۱٤]. مطالعات اولیه این ترکیبات را زاید، فاقد نقش مشخص و بخشی از تولیدات نهایی متابولیت‌ها دانسته که سمی بوده و گیاه برای کاهش اثرات سمی آنها را در واکوئل ذخیره می‌کند. علاوه بر این، فلاونوئیدها فعالیت‌های بیولوژیکی وسیعی داشته و اثر مثبت آنها در سلامتی انسان سبب شده که در ۱۰ سال گذشته مورد توجه بیشتری قرار گیرند [۱٥]. اثرات فارماکولوژیک بسیاری از گیاهان دارویی به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی در آنها می‌باشد [۱٦]. فلاونوئیدها برای گیاهان به عنوان ترکیبات فیزیولوژیکی فعال محسوب شده، سبب مقاومت آنها در برابر استرس گردیده و گیاهان را در برابر علفخواران محافظت می‌کنند [۱۷]. فلاونوئیدها سبب گرده افشانی و پراکنش دانه گیاهان شده و از جمله عوامل مؤثر در تولید مثل می‌باشند. همچنین فلاونوئیدها در ایجاد رنگ گل‌ها در بسیاری از گیاهان نقش داشته و سلول‌های برگ را از خسارت‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند، بنابراین در هنگام پیری بازده جذب مواد غذایی را در گیاه افزایش می‌دهند [۱۸]. فلاونوئیدها ترکیبات ارزشمندی برای شیمیو تاکسونومی خانواده‌ها و جنس‌های گیاهی هستند. مطالعات گذشته حضور فلاونوئیدها و مواد شیمیایی دیگر را در گونه‌های جنس *Chrozophora* تأیید می‌کند. Abdel-Sattar در سال ۱۹۸٥ وجود فلاونوئیدها را در جنس *Chrozophora* گزارش کرد [۱۹]. Hashim و همکاران او در سال ۱۹۹۰ از گونه‌های جنس *Chrozophora* گلیکوزیدهای کامفرول (Kampferol)، آکاستین (Acacetin)، لوتئولین (Luteolin) و آپی جنین (Apigenin) را گزارش کردند [۲۰]. Mohemad در سال ۲۰۰۱ گلیکوزیدهای ایزورامنتین (Isoramnetin) و کوئرستین (Quercetin) را از گونه *C. obliqua* جدا کردند [۲۱]. در سال ۲۰۰٥ طلسچی و همکاران او از عصاره متانولی بخش‌های هوایی *C. tinctoria* فلاونوئید گلیکوزیدهای آپی جنین و کوئرستین را گزارش کردند [۲۲]. در سال ۲۰۰٦ دل‌آذر و همکارانش از عصاره متانولی بخش‌های هوایی گونه *C. tinctoria* ٥ فلاونوئید گلیکوزید استخراج کردند [٦]. از *C. sabulosa* ۷ فلاونوئید گلیکوزید گزارش شده است [۲۳]. Vassallo و همکاران او در سال ۲۰۰٦ از عصاره متانولی برگ‌های *C. senegalensis* سه فلاون گلیکوزید جدید جدا کردند [۲٤]. Hawas در سال ۲۰۰۷ گلیکوزیدهای آپی جنین

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]

و لوتئولین را از عصاره آبی اتانولی برگ‌های *C. brocchiana* استخراج کردند [۲۵]. اهمیت فلاونوئیدها در مطالعات شیمیوتاکسونومی به دلیل وجود آنها در اغلب گیاهان آوندی، تنوع ساختمانی، آسانی تشخیص و شناسایی می‌باشد [۲٦]. همچنین ارزش فلاونوئیدها در تمام سطوح رده‌بندی گیاهان گلدار از راسته تا واحدهای رده‌بندی پایین‌تر به عنوان شاهد تاکسونومیکی به اثبات رسیده است [۱۱]. به علاوه فلاونوئیدها از جمله کوئرستین و آپی ژنین از مواد شیمیایی گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند که در پزشکی و داروسازی کاربرد دارند. تحقیقات نشان می‌دهد کوئرستین به عنوان یک آنتی‌هیستامین و ضدالتهاب طبیعی برای رفع علائم آسم و آلرژی به کار می‌رود. این فلاونوئید به جلوگیری از سرطان، خصوصاً سرطان پروستات کمک نموده و کاهنده دردهای آرتریت، علائم خستگی، افسردگی و اضطراب می‌باشد [۲۷]. مطالعات In vitro نشان داده است که کوئرستین در تنظیم ژنی آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک سیستم دفاعی دخیل بوده و سنتز آنها را افزایش می‌دهد [۲۸]. مطالعات Geraets و همکاران او در ۲۰۰۹ نشان داد آپی جنین در درمان بیماری‌های مزمن ریوی مؤثر است [۲۹].

هدف از این مطالعه مقایسه فلاونوئیدهای ۲۵ جمعیت از جنس *Chrozophora* در استان مرکزی و رسم کلاستر داده‌های فیتوشیمی با استفاده از نرم‌افزار (Statistical Pacages for Social Scientists) (SPSS) که روابط بین تاگزون‌ها (Cophenetic correlation) را براساس غلظت و نوع فلاونوئیدها نشان می‌دهد، می‌باشد. این ویژگی‌های شیمیو تاگزونومی و فارماکوگنوزی برای رده‌بندی و کاربرد اعضای خانواده Euphorbiaceae اهمیت دارد.

مواد و روش‌ها

مواد و وسایل

۱. کابینت UV از شرکت Camag (Camag UV Cabinet 254 & 366 nm)

۲. اسپکتروفتومتر از شرکت Perkin-Elmer Lambda 15 UV/Viz) Perkin-Elmer (Spectrophotometer

۳. دستگاه تقطیر در خلاء از شرکت Heidolph ((Heidolph laborrita 4000 efficient)

٤. کروماتوتانک‌های مشابه شاندون (طراحی و تهیه توسط دکتر میترا نوری)

۵. کلیه مواد شیمیایی و معرف‌های مورد استفاده از شرکت‌های MERCK و FLUKA از طریق ایراناکِم تهیه شدند.

روش‌ها

نمونه‌برداری، شناسایی و آماده‌سازی

نمونه‌برداری از ۲۵ جمعیت از جنس *Chrozophora* در مناطق مختلف استان مرکزی در تابستان سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ به روش randome انجام شد (جدول شماره ۱). گونه‌های جنس موردنظر با استفاده از منابع قابل دسترس شناسایی شدند [۷، ٦، ۳] که گونه *C. tinctoria* برای اولین‌بار از استان مرکزی گزارش شد. نمونه‌های شاهد از هر جمعیت تهیه و در هرباریوم دانشگاه اراک نگهداری شدند. برای شناسایی فلاونوئیدها، برگ‌های مناسب از هر جمعیت به طور جداگانه جمع‌آوری و پس از خشک کردن به صورت پودر درآمدند. ۲۰۰ میلی‌گرم از برگ‌های خشک هر جمعیت وزن و به روش آبی – الکلی (جوشاندن، ماسراسیون، فیلتراسیون) و تقطیر در خلاء (Heidolph laborrita 4000 efficient) عصاره‌گیری شدند. عصاره‌های هر جمعیت و همچنین معرف روتین به طور جداگانه بر روی کاغذ کروماتوگرافی واتمن شماره یک در ابعاد ۲۹ × ۲۳ لکه‌گذاری شد.

کروماتوگرافی دو بعدی (Tow-Dimensional Paper Chromatography) (2-DPC)

کروماتوگرام‌های هر جمعیت به ترتیب در کروماتوتانک‌های شاندون حاوی BAW (Butanul, Acetic

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]

جدول شماره ۱- اطلاعات نمونه‌های جمع‌آوری شده و تعداد، تراکم و نوع فلاونوئیدها بر مبنای داده‌های حاصل از TLC و 2-DC از جمیت‌های جنس *Chrozophora* در استان مرکزی

Vocher Sample	Taxon	locality	Latitude	Longitude	Identification: Rutin	Identification: Quercetin	Identification: Apigenin	Flavonoid type: Number of flavonoid sulphates	Flavonoid type: Number of flavone – *C* and *C-/O* – glycosides	Flavonoid type: Number of Aglycones	Flavonoid type: Number of Total flavonoides
*CAM1	*C. tinctoria*	Saveh	35° 20′ N	50° 33′ E	-	+++++	+++++	2	1	2	5
CAM2	*C. tinctoria*	Naragh	34° 01 N	50° 31′ E	++	+++	++++	3	3	2	8
CAM3	*C. tinctoria*	Arak	34° 08′ N	49° 42′ E	++	+++	++++	3	3	2	8
CAM4	*C. tinctoria*	Pole doab	33° 13′ N	49° 21′ E	++++	++++	++++	3	3	2	8
CAM5	*C. tinctoria*	Mahalat	33° 05′ N	50° 20′ E	++	+++	++++	3	3	2	8
CAM6	*C. hierosolymitana*	Khomein	33° 38′ N	50° 05′ E	-	++	++	2	3	4	7
CAM7	*C. hierosolymitana*	Arak	34° 08′ N	49° 42′ E	-	++	+++++	2	0	3	5
CAM8	*C. hierosolymitana*	Nymvar	33° 05′ N	50° 33′ E	-	++	++++	2	3	4	7
CAM9	*C. hierosolymitana*	Hossein abad	34° 14′ N	49° 48′ E	-	++	++	2	1	4	7
CAM10	*C. hierosolymitana*	Saveh	35° 08′ N	50° 22′ E	-	++	++++	2	1	4	7
CAM11	*C. hierosolymitana*	Arak	34° 14′ N	49° 48′ E	-	++++	++++	3	2	3	8
CAM12	*C. hierosolymitana*	Komijan	34° 42′ N	49° 19′ E	-	++	++++	2	1	4	7
CAM13	*C. hierosolymitana*	Arak North	34° 08′ N	49° 42′ E	-	++++	++++	3	2	3	8
CAM14	*C. hierosolymitana*	Hakim abad-e Saveh	35° 20′ N	50° 33′ E	-	++++	+++++	1	0	3	4
CAM15	*C. hierosolymitana*	Shazand	33° 58′ N	49° 33′ E	-	++++	++++	3	2	3	8
CAM16	*C. hierosolymitana*	Milajerd	34° 23′ N	49° 11′ E	-	++	++++	2	1	4	7
CAM17	*C. hierosolymitana*	5 Km to Khomein	33° 05′ N	50° 20′ E	±	++++	++++	1	2	2	5
CAM18	*C. hierosolymitana*	Delijan	33° 47′ N	50° 41′ E	-	++++	++++	3	2	3	8
CAM19	*C. hierosolymitana*	Ashtian	34° 25′ N	50° 10′ E	-	++	++++	2	1	4	7
CAM20	*C. hierosolymitana*	Hak	34° 13′ N	49° 21′ E	-	++	++++	2	0	5	7
CAM21	*C. hierosolymitana*	Farahan	34° 34′ N	49° 38′ E	-	++	++++	2	0	5	7
CAM22	*C. hierosolymitana*	Naragh	34° 01′ N	50° 31′ E	-	++++	++++	3	2	3	8
CAM23	*C. hierosolymitana*	Arak-Modar	34° 44′ N	49° 38′ E	-	++	++++	2	1	4	7
CAM24	*C. hierosolymitana*	Arak East	34° 05′ N	49° 45′ E	-	+++++	++++	2	0	2	4
CAM25	***C. hierosolymitana***	**Darestan**	**34° 34′ N**	**49° 49′ E**	-	++	++++	**2**	**0**	**5**	**7**

علایم اختصاری: - (عدم وجود فلاونوئید)، ± (وجود یا عدم وجود فلاونوئید)، + (وجود فلاونوئید)، ++ (غلظت فلاونوئید کم)، +++ (غلظت فلاونوئید متوسط)، ++++ (غلظت فلاونوئید زیاد)، +++++ (غلظت فلاونوئید خیلی زیاد)

acid, Water) و HOAc (اسید استیک ۱۵ درصد) به طور جداگانه قرار داده شده، پس از پایان کروماتوگرافی خشک و به وسیله UV در طول موج ۳٦٦ نانومتر (Camag UV Cabinet 254 & 366 nm) خوانده و لکه‌ها بر روی آنها علامت‌گذاری شدند. مقادیر RF لکه‌های هر یک از کروماتوگرام‌ها در BAW (بوتانول، اسید استیک، آب مقطر به نسبت ٤: ۱: ۵) و HOAc ۱۵ درصد محاسبه و سپس با استفاده از کلید شناسایی اولیه لکه‌ها شناسایی شدند [۳۰،۳۱].

هیدرولیز اسیدی و شناسایی فلاونوئیدهای آگلیکون

مقدار ۰/۵ میلی‌گرم از عصاره‌های مورد استفاده در 2-DPC هر جمعیت در ۰/۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل شدند و در لوله‌های آزمایش برچسب‌دار ریخته شدند. به هر لوله آزمایش ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ مولار افزوده و مخلوط به مدت ۰/۵ ساعت در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از بیرون آوردن و سرد شدن لوله‌ها ۲ میلی‌لیتر اتیل استات به هر لوله اضافه شد. پس از تشکیل دو فاز مجزا، محلول رویی برداشت شد و بعد از تبخیر، در ۵ میلی‌لیتر اتانول حل شد و به همراه استانداردهای قابل دسترس کوئرستین، روتین و آپی جنین (تهیه شده از MERCK و FLUKA) در متانول ۸۰ درصد برای کروماتوگرافی لایه نازک (Tow-Dimensional Paper Chromatography) (TLC) در سه حلال مختلف استفاده شد. کروماتوگرام‌ها در حلال‌های BAW، CAW (3:0.4:6 Chlorophorm, Acetic acid, Water) و فروستال قرار داده شدند. در پایان کروماتوگرام‌ها خشک و با UV در طول موج ۳٦٦ نانومتر خوانده شدند. مقادیر RF برای هر لکه محاسبه و با مقایسه با استانداردهای مورد استفاده،

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]

شناسایی و غلظت هر یک از فلاونوئیدهای شناسایی شده بر اساس ابعاد لکه‌ها و شدت رنگ آنها در UV366 nm (Camag UV Cabinet 254 & 366 nm) با استفاده از Chrogramatographic Map & UV Spectroscopy و منابع معتبر ۳۰ و ۳۱ انجام شد. شناسایی و ارزشیابی نهایی به وسیلهٔ Rf، از روی ترسیم کروماتوگرافی، اندازه‌گیری لکه‌های منظم دارای hRf یکسان، نقشه کروماتوگرافی مکان و رنگ لکه، طیف‌ها (Perkin-Elmer Lambda 15 UV/Viz Spectrophotometer)، مراجعه به منابع مناسب و تجربه صورت گرفت.

آنالیز داده‌ها

داده‌های حاصل از کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی و کروماتو گرافی لایه نازک پس از کد گذاری با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز مؤلفه‌های اصلی(Principal Components Analysis) (PCA) مورد بررسی قرار گرفتند (جدول شماره‌های ۲ و ۳) و کلاستر مربوطه رسم شد (شکل شماره ۱).

جدول شماره ۲- دو جزء از آنالیز PCA و رابطه ویژگی‌های فیتوشیمیایی در ۲۵ جمعیت از گونه‌های *Chrozophora* در استان مرکزی.

ماتریس مؤلفه‌های گردش یافته

صفات	مؤلفه‌ها ۱	۲
تعداد فلاون C و C/O گلیکوزید	۰/۹٤۷	
تراکم روتین	۰/۸۳۳	
وجود روتین	۰/۸۲۹	
تعداد فلاونوئید سولفات ها	۰/۸۰۲	
تعداد کل فلاونوئیدها	۰/٦۹۹	-۰/٦۲۰
تراکم فلاونوئیدها		۰/۷۷٦
تعداد آگلیکون ها	-۰/٥٦۸	-۰/۷۷٦
تراکم آپی جنین		۰/٦٦۹

توجه: روش آنالیز: تجزیه به مؤلفه های اصلی. روش چرخشی: نرمال سازی واریماکس با کازیبر.

مقادیر پر رنگ شده ارتباط معنی دار مثبت هستند p≥۰/۷

a. چرخش در ۳ تکرار متمرکز شده است.

جدول شماره ۳- واریانس کل در آنالیز PCA برای ترکیبات فلاونوئیدی ۲۵ جمعیت مورد مطالعه از گونه‌های *Chrozophora* در استان مرکزی

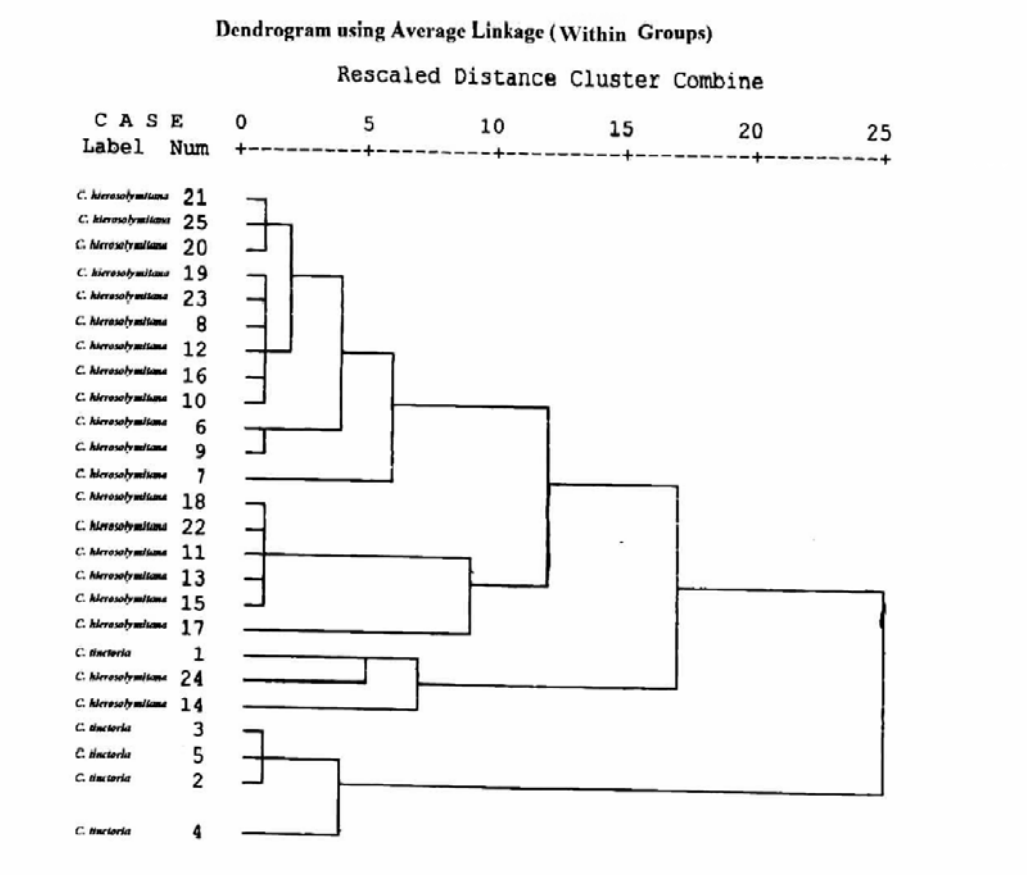
توضیح واریانس کل

مؤلفه ها	ارزش اولیه مؤلفه ها			حاصل مقادیر مجذور داده ها			چرخش مقادیر مجذور داده ها		
	کل	واریانس ٪	کل ٪	تراکم	واریانس ٪	کل ٪	کل ٪	واریانس ٪	کل ٪
۱	۳/۹۱۹	٤۸/۹۸۹	٤۸/۹۸۹	۳/۹۱۹	٤۸/۹۸۹	٤۸/۹۸۹	۳/۸۱۳	٤۷/٦٦۲	٤۷/٦٦۲
۲	۲/۰٥۱	۲٥/٦۳٥	۷٤/٦۲٤	۲/۰٥۱	۲٥/٦۳٥	۷٤/٦۲٤	۲/۱٥۷	۲٦/۹٦۲	۷٤/٦۲٤
۳	۰/۹۹۹	۱۲/٤۸٦	۸۷/۱۱۰						
٤	۰/۷۰۳	۸/۷۹۰	۹٥/۹۰۰						
٥	۰/۱۷٦	۲/۲۰٤	۹۸/۱۰٤						
٦	۰/۱۲٤	۱/٥٤۹	۹۹/٦٥۳						
۷	۰/۰۲۸	۰/۳٤۷	۱۰۰/۰۰۰						
۸	۰/۰۲۱	۰/۰۰۷	۱۰۰/۰۰۰						

توجه: روش آنالیز: روش تجزیه به مؤلفه های اصلی (**Principal Component Analysis**) PCA

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]



شکل شماره ۱- دندروگرام حاصل از آنالیزPCA بر اساس اطلاعات حاصل از مطالعه فلاونوئیدها با استفاده از نرم‌افزار SPSS به روش Within Group. ویژگی‌های کدگذاری شده: -۰ (عدم وجود فلاونوئید)، ۱ ± (وجود یا عدم وجود فلاونوئید)،۲ + (وجود فلاونوئید)، ۳ ++ (غلظت فلاونوئید کم)، ٤ +++ (غلظت فلاونوئید متوسط)، ٥ ++++ (غلظت فلاونوئید زیاد)، ٦ +++++ (غلظت فلاونوئید خیلی زیاد).

نتایج

در جدول شماره ۱ فهرست جمعیت‌های جمع‌آوری شده جنس *Chrozophora* از نقاط مختلف استان مرکزی و تراکم و نوع فلاونوئیدهای موجود در برگ جمعیت‌های مذکور به روش TLC و 2-DPC ذکر شده است. جدول شماره ۲ ارتباط دو ترکیب از تست PCA و فلاونوئیدهای جمعیت‌های مورد مطالعه جنس *Chrozophora* در استان مرکزی را نشان می‌دهد. جدول شماره ۳ کل واریانس ترکیبات فلاونوئیدی مورد مطالعه از جمعیت‌ها را در PCA نشان داده است. داده‌های فلاونوئیدی به سه روش آنالیز کلاستر، آنالیز شدند، ولی روش within group بهترین آنالیز را نشان داد.

بحث

مطالعات فیتوشیمیایی خانواده Euphorbiaceae می‌تواند در بررسی روابط سیستماتیکی این خانواده بسیار مفید باشد [۱۰]. مطالعات زیادی در زمینه تأثیر فلاونوئیدها در شیمیوتاکسونومی جنس‌ها و خانواده‌های گیاهی صورت گرفته است. Mues و Zinsmeister در سال ۱۹۸۸ تنوع ترکیبات فنلیک را در خزه‌ها و هپاتیک‌ها مورد بررسی قرار دادند. آنها نشان دادند که تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر فلاونوئید بین دو زیر خانواده *Marchantiidae* و *Jungermanniidae* وجود دارد [۳۲]. مطالعات شیمیوتاکسونومی در مورد سرخس‌ها نیز توسط Harbone در سال ۱۹۸٦ گرفت [۳۲]. در مطالعات

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]

دیگر فلاونوئیدهای ۲۸ گونه از خانواده Polygonaceae مورد آنالیز قرار گرفتند [۳۳]. همچنین در سال ۱۹۸۸ محتویات فلاونوئیدی برگ‌های ۲۵ گونه از جنس *Avena* (Poaceae) توسط Saleh و همکاران او مورد بررسی قرار گرفت [۳٤]. بر اساس مطالعاتی که Harborne و همکارانش در سال ۱۹۸٦ انجام دادند گونه‌های *Triticum* دیپلوئید، بر اساس حضور یا عدم حضور دی – *C* – گلیکوزیل فلاون (Di-C-glycosylflavones) به دو گروه تقسیم شدند [۳۵]. Moore و Giannasi در سال ۱۹۹٤ جنس *Vitis* را با توجه به نوع فلاونوئیدها به سه گروه تقسیم کردند [۳٦]. این مطالعات کاربرد فلاونوئیدها را برای رده‌بندی جنس‌ها و گونه‌های گیاهان به اثبات می‌رساند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در برگ همه جمعیت‌های *Chrozophora* مورد مطالعه فلاونوئید وجود دارد. فلاونوئیدهای موجود در گونه *C. hierosolymitana* کوئرستین و آپی جنین و در گونه *C. tinctoria* کوئرستین، آپی جنین و روتین می‌باشند. حضور و یا عدم حضور روتین این دو گونه را از هم متمایز می‌کند. نتایج حاصل از آنالیز PCA صفات مورد مطالعه فیتوشیمی (جدول شماره‌های ۲ و ۳) نشان داد که دو فاکتور اول (فلاون – *C* و *C/O* گلیکوزید (Flavone-c-& c/o-glycosides) و روتین) ۷۵ درصد کل واریانس را شامل می‌شوند. مؤلفه اول که ٤۷ درصد کل واریانس را در برمی‌گیرد، با صفات وجود یا عدم وجود روتین، غلظت روتین و تعداد فلاون سولفات‌ها ارتباط معنی‌دار مثبت را نشان می‌دهد. مؤلفه دوم که ۲٦ درصد کل واریانس را توجیه می‌کند با وجود یا عدم وجود غلظت کوئرستین ارتباط معنی‌دار مثبت و با تعداد آگلیکون‌ها (Aglycone) ارتباط معنی‌دار منفی را نشان می‌دهد ($p\geq$۰/۷). فلاونوئیدهای برگ یک ویژگی مورد استفاده در روابط بین تاگزون‌هاست. بیوستنز، توزیع و تجمع فلاونوئیدها تحت تأثیر عوامل محیطی مختلف مانند اشعه UV، خشکی، درجه حرارت پایین و سرمازدگی، آسیب‌دیدگی، پاتوژن‌ها، استرس‌های غذایی و سایر عوامل محیطی متغیر است [۳۷،۳۸]. جمعیت‌های جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان مرکزی به علت شرایط مختلف محیطی تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر غلظت و نوع فلاونوئیدها نشان دادند. بررسی دندروگرام حاصل از آنالیز PCA (شکل شماره ۱) نشان داد که دو خوشه (Clade) اصلی وجود دارد که جمعیت‌های ۲ و ۳ و ۵ و ٤ (گونه *C. tinctoria*) به علت وجود فلاونوئید روتین از خوشه دوم جدا می‌شوند. در خوشه اول جمعیت ٤ با حضور غلظت زیاد روتین و کوئرستین از سایر جمعیت‌های موجود در این خوشه مجزا می‌شود. در خوشه دوم غلظت زیاد کوئرستین، جمعیت‌های ۱ و ۲٤ و ۱٤ را از خوشه خواهری آن متمایز می‌کند. این صفت همچنین در جدایی جمعیت ۱٤ از جمعیت ۲٤ و ۱ مؤثر است. خوشه شامل جمعیت‌های ۱۷، ۱۵، ۱۳، ۱۱، ۲۲ و ۱۸ از خوشه خواهریش توسط تعداد فلاون سولفات‌ها (Flavonoid sulphate) مجزا می‌شود. عامل جداکننده جمعیت ۱۷ از سایر جمعیت‌های موجود در این خوشه تعداد کل فلاونوئیدها است. جمعیت‌های ٦ و ۹ به دلیل تفاوت در غلظت آپی جنین از خوشه خواهری مجزا شده و عامل متمایز کننده خوشه دارای جمعیت‌های ۱۰، ۱٦، ۱۲، ۸، ۲۳، ۱۹ از خوشه خواهری تعداد فلاون – *C* و *C/O* گلیکوزید می‌باشد.

ضروری است که در تحقیقات آینده فلاونوئیدهای همه گونه‌های جنس *Chrozophora* موجود در ایران مورد بررسی قرار گرفته و همچنین با استفاده از کروماتوگرافی تدارکی (Preparative Paper Chromatography) (PPC)، کروماتوگرافی مایع باتشخیص بالا (High Performance Liquid Chromatography) (HPLC) و نیز روش‌های HPLC با Diode Arrey Detection (HPLC/DAD)، ئیدرولیز اسیدی قندها و APCI LC-MS (Atmospheric Pressure Chemical Ionization Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy) به بررسی دقیق‌تر فلاونوئیدها پرداخته شود.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]

منابع

1. Carneiro-Tores DS, Santos FAR and Giulietti AM. A tribe Euphorbieae dumort (Euphorbiaceae) na chapada diamantine. Bahia. Brasil: palinologia e implicacoes taxonomicas. *Polibotanica* 2002; 13: 83 – 96.

2. Shu S ،Huaxing Q and Gilbert M. Chrozophora Neker ex A. Jussieu, Euphorb. Gen. 27. ["Crozophora"]. Nom. Cons, China. 2008; 11: 223 - 4.

3. Mobayen S. Iran Vegetation (Vascular Plant Flora). Tehran University Publications. No. 1500/2, 1979; 2: 85- 152.

4. Delazar A, Talischi B, Nazemiyeh H, Rezazadeh H, Nahar L, Sarker SD. Chrozophorin: a new acylated flavone glucoside from Chrozophora tinctoria (Euphorbiaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia. *Brazilian J. Pharmacol.* 2006; 16 (3): 286 - 90.

5. GRIN Database. Germplasm Resources Information Network. National Germplasm Resources Laboratory. Beltsville. Maryland. Available online at: http://www.ars grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl? 400209, 2007.

6. Rechinger KH and Schiman-Czeika H. Ephurbiaceae in flora Iranica, 1963. No. 6 - Graz.

7. Ghahreman A. Flora of Iran. Research Institute of Forests and Ranglands. Botany Department, 1993, No. 158 Code 005 003 001.

8. Karimi H. A dictionary of Iran's vegetation plants, Tehran: Parcham Publisher, 2002.

9. Jones SB and Luchsinger AE. Plant Systematics, London: McGraw-Hill, 1987.

10. Simpson MG and Levin GA. Pollen ultra-structure of the biovulate Euphorbiaceae. *Int. J. Plant Sci*. 1994; 155: 313 – 41.

11. Noori M. Characterization of the Iranian species of Sophora and Ammodendron (Leguminosae- Sophoreae). PhD Thesis, University of London and Royal Botanic Gardens. Kew. UK, 2002.

12. Middleton EJ. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in Experimental Med. and Biol.* 1998; 439: 175 – 82.

13. Robles C, Greff S, Pasqualini V, Garzino S, Bousquet-Melou A, Fernandez C, Korboulewsky N and Bonin G. Phenols and flavonoids in Aleppo pine needles asbioindicators of air pollution. *J. Environ Quality* 2003; 32: 2265 – 71.

14. Williams CA and Grayer RJ. Anthocyanins and other flavonoids. The Royal Society of Chemistry. 2004, pp: 539 – 73.

15. Parr AJ and Bolwell GP. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. the Science of Food and Agri*. 2000; 80: 985 – 1012.

16. Yilmaz Y and Toledo RT. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends in Food Science and Technol*. 2004; 2: 15422 – 33.

17. Treutter D. Significance of flavonoids in plant resistance: A review. *Environ Chem. Letters* 2006; 4 (3): 147 – 57.

18. Field TS ،Lee DW and Holbrook NM. Why leaves turn red in autumn? The role of anthocyanins in senescing leaves of Red-Osier Dogwood. *Plant Physiol.* 2001; 127: 566 – 74.

19. Abdel-Sattar EA. A Pharmacognostical Study of *Chrozophora plicata* (Vahl.) Growing in Egypt. MSc thesis. Faculty of Pharmacy. Cairo University. Cairo Egypt, 1985.

20. Hashim OK، Abouzaid MM ،Abdelgalil FM and Saleh NAM. The flavonoids of Egyptian Chrozophora species. *Biochem. Syst. Ecol.* 1990; 18: 151 - 2.

21. Mohamed KS. Phenylpropanoid glucosides from Chrozophora oblique. *Phytochem*. 2001; 58: 615 - 8.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]

22. Talischi B, Modarresi M, Bamdad Moghadam S, Asnaashari S, Nazemiyeh H, Rezazadeh H and Delazar A. Antioxidant Activity of Methanol Extract of Chrozophora tinctoria and Identification of Two O - Glycoside Flavons Isolated from it. In: First Seminar of Medicinal and Natural Products Chemistry Shiraz. Iran, 2005.

23. Shi XH ،Liu YQ and Kong LY. Studies on the flavones in of Chrozophora sabulosa. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2006; 31 (5): 395 - 7.

24. Vassallo A, Cioffi G, De Simone F, Braca A, Sanogo R, Vanella A, Russo A and De Tommasi N. New flavonoid glycosides from Chrozophora senegalensis and their antioxidant activity. *Nat. Product Commun.* 2006; 1 (12): 1089 - 95.

25. Hawas UW. Antioxidant activity of brocchlin carboxylic acid and its methyl ester from Chrozophora brocchiana. *Natural Product Res*. 2007; 21 (7): 632 – 40.

26. Harborne JB and Turner BL Plant Chemosystematics. London: Academic Press. 1984.

27. Jegtvig S. Quercetin. Medical Review Bord. Nutrition. 2008 (http://nutrition.about com).

28. Moskaug J, Carlsen H, Myhrstand M and Blomhoff R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am. J. Clin. Nutr*. 2005; 81: 277S - 83S.

29. Geraets L, Haegens A, Brauers K, Haydock J, Vernooy J, Wouters E, Bast A and Hageman G. Inhibition of LPS-induced pulmonary inflammation by specific flavonoids. *Biochem. and Biophys Res. Commun.* 2009; 382: 598 – 603.

30. Mabry TJ Markham KR and Thomas MB. The Systematic Identification of Flavonoids. Berlin: Springer Verlag. 1970.

31. Markham KR. Techniques of Flavonoid Identification. London: Academic Press. 1982.

32. Mues R. and Zinsmeister HD. The chemotaxonomy of phenolic compounds in Bryophytes. *J. Hattori Bot. Lab*. 1988; 64: 109 – 41.

33. Harborne JB and Turner BL. Plant Chemosystematics. London: Academic Press, 1984.

34. Saleh AM ،Nozzolillo C and Altosaar I. Flavonoid variations in Avena species. *Biochem. Syst. Ecol*. 1988; 16: 597 – 9.

35. Harborne JB ،Heywood VH and Chen XY. Separation of ostericum from Angelica on the basis of leaf and mericarp flavonoids. *Biochem. Syst. Ecol*. 1986; 14: 81 – 3.

36. Moore MO and Giannasi DE. Foliar flavonoids of eastern North American Vitis (Vitaceae) north of Mexico. *Pl. Syst. Evol*. 1994; 193: 21 – 36.

37. Carvalho I. S, Cavaco T, Carvalho LM and Duque P. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (Ipomoe batatas (L.) Lam) leaves. *Food Chem*. 2009; doi: 10. 1016.

38. Guo J, Han W and Wang M. Ultraviolet and environmental stresses involved in the induction and regulation of anthocyanin biosynthesis. A review, *African J. Biotech*. 2008; Vol. 7 (25): 4966 - 72.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.20.6]