تاثیر قندهای فروکتوز، گلوکز و ساکارز بر تولید فلاونولیگنان‌ها در کشت کالوس گیاه خارمریم

غلامرضا اصغری[1*]، طاهره سلیمیان ریزی [2]

۱- استاد مرکز تحقیقات علوم دارویی اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲- داروساز، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی اصفهان
*آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده داروسازی
کدپستی: ۷۳٤٦۱ – ۸۱۷٤٦، تلفن: ۷۹۲۲٦٤٤ (۰۳۱۱)، نمابر: ٦٦۸۰۰۱۱ (۰۳۱۱)
پست الکترونیک: asghari@pharm.mui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۲۵ **تاریخ تصویب:** ۸٦/۱/۲۵

چکیده

مقدمه: گیاه خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn)، به عنوان گیاه مؤثر در درمان مسمومیت‌های کبدی شناخته شده است. ترکیبات مؤثر این گیاه، شامل گروهی از فلاونولیگنان‌هاست که مجموعاً به عنوان سیلی‌مارین شناخته می‌شوند. تولید فلاونولیگنان‌ها با استفاده از کشت سلولی گیاه خار مریم با موفقیت انجام شده است. تحقیقات نشان داده است که عوامل فیزیکوشیمیایی می‌تواند تولید فلاونولیگنان‌ها را در کشت سلولی گیاه خار مریم تحت تأثیر قرار دهد.

هدف: در این تحقیق تاثیر نوع و میزان قند بر تولید فلاونولیگنان‌ها در کشت سلولی گیاه خار مریم بررسی می‌شود.

روش بررسی: با انتقال دانه رست به محیط کشت جامد موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی ۲ و ٤ دی کلروفنوکسی استیک اسید با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و کینتین با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کشت کالوس به دست آمد. کالوس مطلوب به محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های ۱/۵ و ۳ و ٦ درصد فروکتوز، گلوکز و ساکارز منتقل شد. بعد از ۲۸ روز، کالوس‌ها جمع‌آوری، خشک و با متانول عصاره‌گیری شدند. آنالیز کمی، جهت تعیین مقدار فلاونولیگنان‌های تولید شده در سلول‌های خشک، با استفاده از روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت.

نتیجه‌گیری: بیشترین غلظت فلاونولیگنان در کالوس‌های کشت شده در محیط‌های کشت حاوی ٦ درصد فروکتوز، گلوکز، و ساکارز مشاهده شد. به نظر می‌رسد که در کشت سلولی گیاه خار مریم تولید فلاونولیگنان تحت تأثیرغلظت قند قرار می‌گیرد و به نوع قند بستگی ندارد.

گل‌واژگان: خار مریم، کشت کالوس، قند، فلاونولیگنان

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]

مقدمه

خار مریم[1] با نام علمی *Silybum marianum* (L.) Gaertn، گیاهی دو لپه‌ای پیوسته گلبرگ علفی، یک یا دو ساله از خانواده کاسنی[2]، که میوه گیاه، بخش دارویی آن‌را تشکیل می‌دهد [۱]. میوه خار مریم دارای ۸/۲-۶/۱ درصد فلاونویید تام است که ترکیبات اصلی گیاه را مخلوطی از فلاونولیگنان‌ها، با نام کلی سیلی‌مارین به خود اختصاص داده‌اند [۲].

سیلی‌مارین، شامل طیف وسیعی از فلاونولیگنان‌ها است که عبارتند از: سیلی‌بین[3]، ایزوسیلی‌بین، سیلی‌دیانین[4]، سیلی‌کریستین[5]، سیلی‌مونین[6]، ایزوسیلی کریستین، سیلاندرین[7]، سیلی‌هرمین[8]، نئوسیلی هرمین A و B، ۲ و ۳ دهیدروسیلی‌بین[9]، دزوکسی سیلی‌کریستین، دزوکسی سیلی‌دیانین، سیلی‌بینوم[10] [۳]. فلاونولیگنان عمده و غالب موجود در سیلی‌مارین، سیلی‌بین است که ۵۰ درصد مقدار را به خود اختصاص داده است. سیلی‌کریستین و سیلی‌دیانین، در مراتب بعدی قرار دارند [٤].

سیلی‌مارین کمپلکسی از ترکیبات فعال آنتی‌هپاتوتوکسیک است که به طور رقابتی، فعالیت سموم کبدی مانند تتراکلرید کربن، تیواستامید، گالاکتوز آمین، اتانول، پاراستامول، فلزات سنگین، توکسین‌های قارچ آمانیتا (فالوییدین[11] و آلفا آمانیتین[12])، آزاتیوپورین و ایندومتاسین را مهار می‌کند [۵،٦،۷،۸]. هم‌چنین سیلی‌مارین، در آسیب کبدی ناشی از اشعه گاما و ایسکمی مؤثر است [۹].

با توجه به اثرات درمانی و کاربرد گیاه خارمریم در بیماری‌های کبدی با اتیولوژی مختلف و هم‌چنین تقاضای جهانی سیلی‌مارین که طبق آخرین گزارش‌ها ۲۰-۱۸ تن در سال است، اهمیت بررسی برای تولید هرچه بیشتر فلاونولیگنان با کشت سلولی گیاه مشخص می‌شود [۱۰].

تحقیقات فراوانی برای تولید فلاونولیگنان در کشت سلولی گیاه انجام شده است. در سال ۱۹۷۷، تلاش برای جداسازی فلاونولیگنان از سوسپانسیون سلولی خار مریم موفقیت‌آمیز نبود [۱۱]. با افزودن کانیفریل الکل و تاکسی‌فولین به کشت سوسپانسیون سلولی خار مریم، به عنوان پیش ساز بیوسنتز فلاونولیگنان، سیلی‌بین از محیط کشت جداسازی شد. هم‌چنین با افزودن کانیفریل الکل و لوتئولین به کشت سوسپانسیون سلولی خار مریم، هیدنوکارپین[1] فلاونولیگنان سنتز شد [۱۲]. طی تحقیقات بعدی با بهبود شرایط کشت، محققان توانستند علاوه بر سیلی‌بین، سیلاندرین و سیلی‌کریستین و ۳ دزوکسی سیلی‌کریستین، سیلی‌مونین و سیلی‌دیانین و ترکیبات شبه سیلی بین را از کشت سوسپانسیون سلولی جدا کنند، البته هیچ فرم گلیکوزیدی از سیلی‌بین در این کشت‌ها به دست نیامد [۱۳].

در بررسی انجام شده در سال ۱۹۹۹ مشخص شد که حضور KNO3, KH2PO4 و آهن برای تولید فلاونولیگنان در کشت سلولی خار مریم، الزامی است [١٤]. تحقیقات بعدی نشان داد، دمای ۲ ± ۲۰ درجه سانتی‌گراد، pH خنثی و تاریکی مطلق در میزان رشد و تولید متابولیت ثانویه حاصل از کشت، اثر مثبت دارد [۱۵]. در سال ۲۰۰۵، محققان به این نتیجه رسیدند که حذف یون کلسیم، محتوای سیلی‌مارین را تا ۲۰۰ درصد افزایش داده است. پس مهار کلسیم داخلی و خارجی، نقش عمده‌ای در متابولیسم فلاونولیگنان ایفا می‌کند [١٦]. با این حال، تعدادی از نتایج نشان می‌دهد که مقادیر فلاونولیگنان تولید شده در کشت سلولی خار مریم کمتر از میوه است [۱۷،۱۸]. نکته جالب توجه اینکه کشت سلولی خار مریم دارای توانمندی تبدیلات بیوشیمیایی برای تبدیل آلدیید به الکل بوده و بیشترین میزان تبدیل بنزآلدیید در کشت تثبیت شده در فیبر گیاهی صورت گرفته است [۱۹].

گزارش‌های متعددی منتشر شده است که نشان می‌دهد غلظت و نوع کربوهیدرات، نقش عمده‌ای در رشد کالوس و تولید متابولیت‌ها در کشت سلولی گیاهان دارد. زنک[2] و همکارانش در ۱۹۷۵ با بررسی چهارده کربوهیدرات مختلف با

[1] Milk thistle
[2] Asteraceae
[3] Silybin
[4] Silidianin
[5] Silichristin
[6] Silimonin
[7] Silandrin
[8] Silihermin
[9] 2, 3 dehydrosilibin
[10] Silibinom
[11] Phalloidin
[12] α amanitin

[1] Hydnocarpine
[2] Zenk

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]

غلظت ۲ درصد به این نتیجه رسیدند که ساکارز، بیشترین بازده تولید آنتراکینون را در کشت سلولی *Morinda citrifolia* به دنبال دارد [۲۰]. گزارش شده است که تولید سولاسودین، در کشت‌های *Solanum aviculare* در محیط کشت حاوی ساکارز مهار می‌شود ولی در محیط کشت حاوی گلوکز افزایش می‌یابد [۲۱]. تولید پودوفیلوتوکسین، در کشت *Juniperus chinensis* با افزودن کیتوالیگوساکارید، پانزده برابر می‌شود [۲۲]. هم‌چنین، پلی‌ساکاریدهای اسیدی، تولید فلاونون را در کشت کالوس *Sophra flavescens* پنج برابر می‌کنند [۲۳].

غلظت و نوع قند به عنوان منبع کربن، اثر قابل توجهی بر تولید دیوسژنین در کشت *Dioscorea deltoida* دارد. به گونه‌ای که بیشترین مقدار تولید، در غلظت ۱/۵ درصد ساکارز به دست آمد. در محیط حاوی گلوکز و فروکتوز هم کالوس تولید شد ولی بازده متابولیت ثانویه مطلوب نبود [۲٤]. هم‌چنین غلظت قند، نقش مهمی در تولید اجمالسین و سرپنتین، توسط کشت سلولی *Catharanthus roseus* دارد، به گونه‌ای که با افزایش غلظت ساکارز تولید هم افزایش می‌یابد. در عین حال ساکارز ۲ درصد، تولید را محدود به سرپنتین با مقادیر کم می‌کند [۲۵،۲٦]. در کشت سلولی *Rheum palmatum*، اثر قندهای مالتوز و ساکارز و گلوکز با غلظت ۲ درصد بررسی شد که در نهایت، مالتوز مناسب ارزیابی شد [۲۷].

در تحقیقی که بر روی کشت سلولی *Datura stramonium* و *Hyoscyamus niger* در سال ۱۹۸۸ انجام شد، نتایج به دست آمده، حاکی از آن بود که غلظت ساکارز به اندازه غلظت ترکیبات معدنی محیط بر محتوای تولید آلکالوئید تاثیرگذار است [۲۸]. گزارش شده است که ساکارز ٦ درصد، مطلوب‌ترین رشد کالوس را در *Ambrosia tenuifolia* فراهم می‌آورد، در حالی‌که بیشترین مقدار سزکویی‌ترپن لاکتون در غلظت ۲ درصد ساکارز به دست می‌آید. هم‌چنین، غلظت بیش از ۲ درصد، تولید را مهار می‌کند [۲۹]. افزایش ساکارز، اثر مثبتی در تولید پلی‌فنل‌ها در کشت سلولی گل سرخ، به جای گذاشته است [۳۰]. نشان داده شده است که غلظت بالای ساکارز (۱۸-٦ درصد) در حضور فیتو هورمون‌ها رشد سلولی *Rubia tinctorum* را مهار می‌کند، در حالی‌که در محیط بدون فیتو هورمون، بیشترین رشد و تولید آنتراکینون را موجب می‌شود [۳۱].

بیشترین مقدار هیوسیامین و رشد کالوس هم در کشت سلولی *Hyoscyamus muticus* با غلظت ۳ درصد ساکارز به دست آمد [۳۲]. ساکارز ۲/۵ و ۷/۵ درصد باعث تولید ۰/۸ و ۳/۳ گرم در لیتر رزمارینیک اسید در کشت سلولی *Coleus blumei* می‌شود [۳۳].

غلظت‌های ۱۲-٤ درصد ساکارز در کشت سلولی *Catharanthus roseus* مورد ارزیابی قرار گرفته و در غلظت ۸ درصد، بیشترین مقدار ایندول آلکالویید جمع‌آوری شده است [۳٤]. هم‌چنین مقدار بنزوفنانتریدین[1] آلکالوئید در کشت سلولی *Escholtzia colifornica* با ۸ درصد ساکارز، ده برابر می‌شود [۳۵].

نقش ساکارز به عنوان مبنع کربن و عامل اسمزی در کشت سلولی *Solanum melongena* مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است [۳٦]. گزارش شده است که فشار اسمزی ایجاد شده به وسیله ساکارز تنها یا همراه سایر عوامل اسمزی، تولید آنتوسیانین را در *Vitis vinifera* تنظیم می‌کند [۳۷]. هم‌چنین ساکارز ۵ درصد، تولید آنتوسیانین را در سوسپانسیون سلولی *Aralia cordata* کاهش می‌دهد، در حالی‌که ۳ درصد ساکارز، مطلوب ارزیابی می‌شود [۳۸].

تلاش‌ها برای افزایش تولید فلاونولیگنان‌ها در کشت سلولی خار مریم با دستکاری اجزای محیط کشت، هم‌چنان ادامه دارد، ولی گزارشی از تأثیر نوع و میزان قند بر تولید فلاونولیگنان منتشر نشده است. بنابراین در این تحقیق، به بررسی این مورد پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی و تولید کالوس

میوه خار مریم از واحد هرباریوم گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی اصفهان تهیه شد. میوه‌های خار مریم به مدت ۲۰ دقیقه درون آب مقطر قرار داده شد. سپس توسط یک

[1] Benzophenanthridin

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]

صافی فلزی استریل، میوه‌های خار مریم به داخل بشر حاوی آب اکسیژنه ۳۰ درصد و یک قطره توین ۸۰ منتقل شدند. پس از ۳ دقیقه شستشوی دقیق، آن‌ها را با آب مقطر استریل در زیر لامینار ایرفلو شستشو داده و جهت انتقال به درون پتری دیش‌ها آماده شدند. با رعایت تمام شرایط سترون، پتری دیش‌های استریل، به داخل لامینار ایرفلو وارد شد. در کنار شعله گاز، درب آن‌ها به آرامی نیمه باز شده و توسط پنس استریل، میوه‌ها به درون پتری دیش‌ها منتقل شد. سپس پتری دیش‌ها در اتاق کشت با حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۲٤ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بعد از گذشت ۸ روز دانه رست ایجاد ودانه رست مناسب به یک شیشه حاوی محیط کشت منتقل و در شرایط تاریکی مطلق و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد شدند [۱۹].

واکشت نمودن کالوس[1]

بعد از ایجاد کالوس طی ٥-٤ هفته، قطعاتی خوش رشد با وزن حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از قسمت‌های جوان، به وسیله اسپاتول استریل جدا شده و وارد محیط کشت جدید شدند و سپس مانند مرحله قبلی با ذکر مشخصات محیط کشت، بر روی شیشه در شرایط تاریکی مطلق و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

تیمارهای فروکتوز و گلوکز و ساکارز

۱۰۰ میلی‌گرم از کالوس‌های خوش رشد از نسل دوم انتخاب شدند و طی شرایط سترون به محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های ۱/٥ و ۳ و ٦ درصد فروکتوز، گلوکز و یا ساکارز به صورت جداگانه منتقل و انکوبه شدند. برای هر غلظت و هر قند، ۳ تکرار انجام شد.

تعیین غلظت فلاونولیگنان‌ها

بعد از گذشت یک ماه و رشد کالوس بر محیط کشت‌های مورد نظرکالوس‌ها ابتدا از محیط کشت خارج شده، توزین شده و به مدت دو روز در هوای معمولی خشک شدند. تولید فلاونولیگنان در کشت کالوس با روش کروماتوگرافی لایه نازک تایید شد [۱٥].

برای تعیین غلظت فلاونولیگنان‌ها مقادیر مناسب از کالوس‌های خشک شده در هاون چینی پودر شدند. ٦۰۰ میلی‌گرم از کالوس‌های پودر شده، داخل یک بالن ۲٥۰ سی‌سی ریخته شده، با افزودن ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۱٥ دقیقه بر روی بن ماری با دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد جوشانیده شد. سپس عصاره متانولی، روی بن‌ماری تا حجم ۳۰ میلی‌لیتری تغلیظ شده و پس از صاف کردن، داخل یک بالن ژوژه ٥۰ سی‌سی ریخته شده و برای بار دوم بالن محتوی پودر، با کمی متانول، شسته شده و پس از صاف کردن به محتویات بالن ژوژه ٥۰ سی‌سی اضافه شد. حجم بالن ژوژه با متانول به ٥۰ میلی‌لیتر رسانده و به خوبی مخلوط شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول حاصل، به داخل یک بالن ژوژه ۱۰ سی‌سی منتقل شده و ۲ میلی‌لیتر از معرف ۲ و ٤ دی نیتروفنیل هیدرازین به آن اضافه شد. سپس در بالن ژوژه بسته شده و به مدت ٥۰ دقیقه، بر روی بن‌ماری با دمای ٥۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سرد کردن، حجم بالن ژوژه با محلول پتاس الکلی ۱۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اختلاط کامل، محلول با رنگ قرمز تیره ایجاد شد. بعد از ۲ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر از محلول حاصل به داخل لوله سانتریفیوژ ریخته شده و به آن ۲۰ میلی‌لیتر متانول افزوده و برای ٥ دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. بعد از ٥ دقیقه، فاز رنگی جدا شد و داخل یک بالن ژوژه ٥۰ سی‌سی ریخته شد. به باقی مانده حاصل از سانتریفیوژ، ۲۰ میلی‌لیتر دیگر متانول اضافه شد و مجدداً برای ٥ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس قسمت رنگی جدا و به محتویات بالن ژوژه اضافه شد. در نهایت حجم محلول رنگی با متانول به ٥۰ میلی‌لیتر رسانده و به خوبی مخلوط شد و جذب محلول نهایی در دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل محلول شاهد که متانول است، در طول موج ٤۹۰ نانومتری اندازه‌گیری شد. درصد سیلی‌مارین طبق محاسبات زیر تعیین شد [۳۹].

$$\text{درصد سیلی‌مارین} = \frac{100\times E\times 50\times 50\times 10}{E^{1\%}_{1cm}\times 100\times b} = \frac{25000E}{537b}$$

$E^{1\%}_{1cm} = 537$ جذب محلول ۱ درصد سیلی‌مارین در کوت ۱ سانتی‌متری

[1] Subculturing

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]

E: جذب محلول نمونه

b: گرم پودر مورد آزمایش

آنالیز آماری داده‌ها، توسط نرم افزار SPSS 12 انجام گرفت. Tow way ANOVAT و Tuckey test جهت مشخص نمودن اختلافات معنی‌دار بین نتایج استفاده شد. سطح اطمینان برای وجود اختلاف معنی‌دار آماری، ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

همان‌طور که جدول شماره ۱ نشان می‌دهد، با افزایش غلظت قندهای فروکتوز، گلوکز و ساکارز در محیط کشت، غلظت فلاونولیگنان تولید شده، افزایش یافته است. بیشترین غلظت فلاونولیگنان در محیط‌های کشت دارای ٦ درصد فروکتوز، گلوکز و ساکارز به ترتیب ۰/۸۲±۵/۹۰ و ۰/۸۲±٦/۱۳ و ۰/۲۷±٦/٦۷ درصد به دست آمد و کمترین غلظت فلاونولیگنان در محیط‌های کشت دارای ۱/۵ درصد فروکتوز، گلوکز و ساکارز به ترتیب ۰/٦۲±۱/۸٦، ۰/٤۸±۱/٤۷ و ۰/۹۳±۲/۳۳ درصد به دست آمد. در مقایسه بین غلظت‌های یکسان فروکتوز، گلوکز و ساکارز، تفاوت معنی‌داری بین میانگین تولید فلاونولیگنان مشاهده نشد ولی اختلاف بین میانگین غلظت فلاونولیگنان در هر سه غلظت ۱/۵، ۳ و ٦ درصد ساکارز، فروکتوز و گلوکز معنی‌دار است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج جدول شماره ۱ بیانگر این نکته است که میزان تولید فلانولیگنان در محیط کشت حاوی ٦ درصد فروکتوز و ساکارز، بیشتر از میزان تولید در محیط کشت‌های حاوی ۱/۵ و ۳ درصد دو قند مذکور است. با توجه به اینکه غلظت بالای منبع کربن، باعث دستیابی بیشتر سلولی به آن و در نتیجه تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه می‌شود، این نتایج دور از انتظار نیست. با افزایش غلظت گلوکز، میزان تولید فلاونولیگنان به صورت قابل توجهی افزایش یافته و با آنالیز آماری، اختلاف معنی‌داری بین هر سه غلظت ۱/۵، ۳ و ٦ درصد مشاهده شده است. بر خلاف این نتیجه غلظت کمتر گلوکز باعث تولید بیشتر آزاد پراکتین از کشت سوسپانسیون *Azadirachta indica* شده است [٤۰]. این تفاوت، می‌تواند به علت تفاوت ژنتیکی دو گیاه و یا به علت ماهیت ترکیب تولید شده باشد.

در بررسی ما، با افزایش غلظت ساکارز میزان تولید فلاونولیگنان به صورت قابل توجهی افزایش یافته است. در بررسی‌های مشابهی، افزایش غلظت ساکارز باعث تولید بیشتر آجمالسین و سرپنتین در کشت سلولی پروانش و تولید بالای پیروات در کشت سلولی پیاز شده است [۲۵]. هم‌چنین، تولید بنزوفنانتریدین آلکالویید، در کشت سلولی *Escholtzia californica* با افزایش غلظت ساکارز تا ۸ درصد، به میزان ده برابر مقدار معمول خود، افزایش یافته است [۳۵]. در کشت سلولی گیاه روناس نیز، افزایش غلظت ساکارز باعث تولید بیشتر آلیزارین شده است [۳۱]. این نتایج را می‌توان با اثر مثبت فشار اسمزی ایجاد شده توسط ساکارز و یا ارزش غذایی آن مرتبط دانست. گزارش شده است که کربوهیدرات‌های محیط کشت، می‌تواند بیان تعداد قابل توجهی ژن، به ویژه ژن آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز و استفاده از ذخایر غذایی را تنظیم و از این طریق، بر تولید متابولیت‌های ثانویه اثر گذار باشد. هم‌چنین، پتانسیل اسمزی ایجاد شده بوسیله کربوهیدرات تنها یا همراه سایر عوامل اسموتیک، می‌تواند تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تاثیر قرار دهد [٤۰،٤۱].

جدول شماره ۱- اثر غلظت و نوع قند بر غلظت فلاونولیگنان‌ها در کالوس گیاه خارمریم

غلظت و نوع قند	غلظت فلاونولیگنان‌ها (درصد)		
	ساکارز*	گلوکز*	فروکتوز*
۱/۵ درصد	^{a}۲/۳۳±۰/۹۳	^{a}۱/٤۷±۰/٤۸	^{a}۱/۸٦±۰/٦۲
۳ درصد	^{b}٤/۵٤±۰/٤۲	^{b}۳/۷۳±۰/۱۲	^{b}۳/۵۱±۰/۵۵
٦ درصد	^{c}٦/٦۷±۰/۲۷	^{c}٦/۱۳±۰/۸۲	^{c}۵/۰۹±۰/۸۲

- آزمایش ۳ مرتبه تکرار شده و نتایج به صورت Mean ± SD بیان شده است.
- در گروه‌های (a , b, c) تفاوت‌ها معنی‌دار است

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، در مقایسه بین غلظت‌های یکسان از قندهای مختلف شامل فروکتوز، گلوکز و ساکارز، تفاوت معنی‌دار آماری از نظر تولید فلاونولیگنان در غلظت‌های ۱/۵ و ۳ و ٦ درصد مشاهده نشد. پس، نوع قند در این بررسی، تأثیر متفاوت قابل توجهی بر میزان تولید فلاونولیگنان نداشته است. در بررسی مشابهی که در ۱۹۸۷ انجام شده بود، در کشت گونه‌ای از سیب‌زمینی، تفاوت چندانی از نظر تولید متابولیت ثانویه بین گلوکز و ساکارز به عنوان منبع کربن، مشاهده نشد [۲۱].

یه طور کلی در مورد غلظت‌های فلاونولیگنان تولید شده، غلظت‌های مختلف قندهای فروکتوز و گلوکز و ساکارز، دارای آثاری متفاوت هستند. به طوریکه در غلظت ٦ درصد قندهای مزبور، فلاونولیگنان بیشتری تولید شد. نتایج نشان داد، با افزایش غلظت قند در محیط کشت، غلظت فلاونولیگنان افزایش می‌یابد. اما در مقایسه بین غلظت‌های یکسان قندهای مختلف، نوع قند اثر متفاوتی بر غلظت فلاونولیگنان تولید شده، ندارد.

غلظت فلاونولیگنان تولید شده در محیط کشت‌های حاوی ٦ درصد ساکارز، گلوکز و فروکتوز (به ترتیب ٦ و ٦ و ۵ درصد) بیشتر از غلظت فلاونولیگنان موجود در میوه گیاه زراعی خارمریم (۱ تا ۳ درصد) است [۳۹]. نتیجه مذکور نشان می‌دهد که با بهینه کردن عوامل موثر بر کشت سلولی می‌توان متابولیت‌ها را با درصد بیشتر از گیاه زراعی تولید نمود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش به عنوان طرح تحقیقاتی در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تصویب شده و از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه برخوردار بوده که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Zargari A. *Medicinal Plants*, Tehran, Markaz Nashr Daneshgahi, 1991, Vol 3, pp: 35 - 8.

2. Bruneton J. *Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants*. Paris: Lavoisier Publishing; 1995, pp: 40 – 1.

3. Foster S. *Milk thistle* (*Silybum marianum) Botanical Series*. Texas: American Botanical Council Austin; 1996, pp: 3 - 7.

4. Foster S, Tyler VE. *Tyler's Honest Herbal*: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies. New York: Haworth Herbal Press; 1999. p. 253 - 5.

5. Caducci R. Silibinin and acute poisioning with Amanita phalloides. *Minerva Anestesiol* 1996; 62: 187 - 93.

6. Letteron P, Labbe G, Degotto C, Berson A, Fromenty B, Delaforge M, et al. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 2027 - 34.

7. Shear NH, Malkiewicz IM, Klein D. Acetaminophen induced toxicity to human epidermoid cell line A431 and hepatoblastoma cell line G2 in vitro is diminished by silymarin. *Skin Pharmacol* 1995; 8: 279 - 91.

8. Wange M, Lagrange L, Tao J, Reyes E. Hepatoprotective properties of *Silybum marianum*, herbal preparation of ethanol induced liver damage. *Fitotherapia* 1996; 67: 2.

9. Kropacova K. Protective and therapeutic effect of silymarin on the development of latent liver damage. *Radiant Biol Radioecol* 1998; 38: 411 - 5.

10. Ram G, Bhan MK, Gupta KK. Variability pattern and correlation studies in *Silybum marianum*. *Fitoterapia* 2005; 76: 143 - 7.

11. Becker H, Schrall R. Tissue and suspension cultures of *Silybum marianum*: Isolation and growth of tissue and suspension cultures and the study of flavonoid content. *Planta Medica* 1977; 31: 185 - 92.

12. Becker H, Schrall R. Tissue and suspension

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]

culture of *Silybum marianum*: The formation of flavonolignans by feeding suspension culture with flavoids and coniferyl alcohol. *Planta Medica* 1977; 32: 27 - 32.

13. Evans WC. Pharmacognosy. London: Saunders Company Ltd; 2002. p. 250, 414 - 5.

14. Cacho M, Moran M, Corchete P, Fernandez J. Influence of medium composition on the accumulation of flavonolignans in cultured cells of *Silybum marianum*. *Plant Science* 1999; 144: 63 - 8.

15. Asghari G, Ghasemi N, Shafei M. Influence of light, temperature, and pH on the accumulation of flavonolignans in cultured cells of *Silybum marianum*. *Research in Medical Sciences*, 2002; 100 - 2.

16. Sanchez-Sampedro MA, Fernandez-Tarrago J. Enhanced silymarin accumulation is related to calcium deprivation in cell suspension cultures of *Silybum marianum. J Plant Physiol* 2005, 1 - 6.

17. Ferreiro P, Pais MSS, Cabral JMS. Production of silybin like compounds in cell suspension culture of *silybum marianum*. *Planta Medica* 1991; 57: 2 - 3.

18. Tumova L, Gallova K, Rimakova. J. *Silybum marianum* in vitro. *Geska Slov Farm* 2004; 53: 135.

19. Asghari G, Saeedfar G, Mahmudi SH. The effect of Culture system on benzaldehyde biotransformation by cultured cell of *Silybum marianum*. *Iranian J Pharm Sci* 2005; 1: 91 - 4.

20. Zenk MH, Shagi EL, Schulte U. Anthraquinone. production by cell suspension cultures of *Morinda citrifolia*. *Planta Medica Supplement* 1975; 79 - 101.

21. Mantell SH, Smith H. Cultural Factors that Influence Secondary Metabolites Accumulation in *Plant Cell and Tissue Cultures*. New York: Marcel Depaker; 1987, pp: 100 - 8.

22. Muranula T, Migata M, Ito K, Tashibana S. Production of podophylotoxin in *Juniperus chinensis* callus cultures treated with oligosacharides. *Phytochemistry* 1998; 49: 491 - 6.

23. Yamamato H, Ichimura M, Inone K. Stimulation of prenylated flavanone production by mannas and acidic polysaccharide in callus cultures of *Sophra flavacens. Phytochemistry* 1995; 40: 77 - 81.

24. Tal B, Gressel J, Goldberg I. The effect of medium constituents on growth and diosgenin production by *Dioscorea deltoida*. *Planta Medica* 1982; 44: 111 - 5.

25. Merillon JM, Rideau M, Chenien JC. Ajmalcine and serpentine and tryptamine in *Catharanthus roseus* cell in vitro. *Planta Medica* 1984; 46: 497.

26. Morris P. Regulation of product synthesis in cell cultures of *catharanthus roseus*. *Planta Medica* 1986; 2: 121 - 4.

27. Ohsima Y, Takahashi K, Shibata S. Tissue culture of Rhubarb and isolation of sennoside from the culture. *Planta Medica* 1988; 1: 20 - 4.

28. Jaziri M, Legros M, Homes J, Vanhaelen M. Tropine alkaloid production by hairy root culture of *Datura stramonium* and *Hyoscyamus niger*. *Phytochemistry* 1998; 27: 419 - 20.

29. Goleniowski ME, Silva GL, Trippi VS. Sesquiterpene lactone production callus culture of *Ambrosia tenuifolia*. *Phytochemistry* 1990; 29: 2889 - 91.

30. Davis ME. Polyphenol synthesis in cell suspension cultures of Paul's Scarlet Rose. *Planta Medica* 1972; 50: 65.

31. Sato K, Yamazaki T, Okagama E, Yoshihira K, Shimomora K. Anthraquinone production by transformed root cultures of *Rubia tinctorum*: influence of phytohormones and sucrose concentration. *Phytochemistry* 1991; 30: 1507 - 9.

32. Sevon N, Varjonen T, Hiltunen R. Effect of sucrose, nitrogen and copper on the growth and alkaloid production of transformed root cultures of *Hyoscyamus muticus*. *Planta Medica* 1992; 75: 609.

33. Misawa M. Production of Useful Metabolites. In: Feichter *Adv Biochem Eng Biotechnol*. Berlin: Springer-Verlag; 1985, pp: 59 - 88.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]

34. Knobloch KH, Berlin J. Influence of medium composition on the formation of the secondary compounds in cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*. *Z Natur Forsch* 1980; 35: 551 - 6.

35. Berlin J, Forche E, Wary V, Hammer J, Hosel W. Formation of benzophenanthridine alkaloid by suspension culture of *Escholtzia colifornica*. *Z Natur Forsch* 1983; 38: 346 - 52.

36. Mukherjee SK, Sabapathi RB, Gupta N. Low sugar and osmotic requirements for shoot regeneration from leaf pieces of *Solanum melongena. Plant cell Tissue Org Cult* 1991; 25: 13 - 6.

37. Do CB, Cormier F. Accumulation of anthocyanins enhanced by a high osmotic potential in grape (*Vitis vinifera*) cell suspension. *Plant cell Rep* 1990; 9: 143 - 6.

38. Sakamoto K, Iida K, Sawamura K, Hajiro K, Asada Y, Yoshikawa T. Effect of nutrients on anthocyanin production in cultured cells of *Aralia cordata. Phytochemicals* 1993; 33: 357 - 60.

39. Iranian Herbal Pharmacopoeia Committee, *Iranian Herbal Pharmacopoeia,* Ministry of Health and Medical Sciences, Deputy of Food and Drugs, Tehran, 2002, pp: 277 - 85.

40. Prakrash G, Srivastava AK. Statistical media optimization for cell growth and azadirachtin production in *Azadirachta indica* suspension cultures. *Process Biotech* 2005; 40: 3795.

41. Koch KE. Carbohydrate modulated gene expression in plants. *Ann Rev Plant Physiol* 1996; 47: 509.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.26.3.1]