جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir

شناسایی و کاربرد آنتوسیانیدین موجود در پوسته بذر گیاه دارویی گلرنگ وحشی (*Carthamus oxyacanthus* M. Bieb.)

محمدرضا سبزعلیان [۱*]، فرهنگ تیرگیر [۲]، آقافخر میرلوحی [۱]، قدرت اله سعیدی [۱]

۱. دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶ ، اصفهان، ایران؛

[*] مسئول مکاتبات (**E-mail:** *Sabzalian@cc.iut.ac.ir*)

۲. گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

شناسه‌ی مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۲/۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۴/۳۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: فیتوشیمی

کلید واژگان:

- *آنتی بیوز*
- *فلاونول گلیکوزید*
- *گلرنگ وحشی*
- *مگس گلرنگ*

چکیده

مقدمه هدف: با توجه به خواص دارویی بسیار ارزنده گیاه دارویی گلرنگ اهلی، و هم‌چنین به دلیل عدم وجود تنوع کافی برای برخی صفات شاخص مانند مقاومت به برخی آفات و بیماری‌ها به‌ویژه مقاومت به مگس گلرنگ، باعث شده است که به‌نژادی گلرنگ و توسعه کشت گلرنگ محدود شود. در این تحقیق ابتدا ارزیابی ژرم پلاسم گلرنگ وحشی *C. oxyacanthus* از مناطق غربی، مرکزی و جنوبی ایران برای مقاومت به مگس گلرنگ *Acanthiophilus helianthi* (آفت اصلی گلرنگ)، در گونه وحشی انجام شد و آن‌گاه نسبت به شناسایی عامل موثر در این مقاومت اقدام گردید. در نهایت بررسی و شناسایی ترکیب شیمیایی موثر بر مقاومت به مگس گلرنگ مورد مطالعه قرار گرفت.

روش تحقیق: ژرم پلاسم گلرنگ وحشی گونه *C. oxyacanthus* از مناطق مرکزی، جنوبی و غربی ایران (استان‌های فارس، کهکیلویه و بویراحمد، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، مرکزی، تهران، لرستان، کردستان، ایلام، کرمانشاه و همدان) جمع آوری گردید. در هر استان ۳ تا ۵ نمونه از مناطقی با فاصله ۵۰ تا ۱۰۰ کیلومتر از یک‌دیگر جمع آوری گردید. در هر منطقه ۳۰ تا ۵۰ گیاه به طور تصادفی انتخاب و غوزه‌های جمع آوری شده مخلوط شد. بذور جمع آوری شده در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف آباد در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار کشت گردید و مقاومت گیاهان نسبت به مگس گلرنگ از نظر تعداد لارو مرده در غوزه های گلرنگ وحشی انجام شد.

نتایج و بحث: مواد رنگی استخراج شده از بذر نارس با دو نوع پوسته سفید (گلرنگ اهلی) و رنگی (مشکی-قهوه ای) از نمونه های گونه وحشی *C. oxyacantha* کشت شده در مزرعه به صورت جداگانه انتخاب شد و پوسته بذرها با استفاده از حلال دی متیل فرمامید (DMF) در سه تکرار، استخراج رنگ گردید و توسط روش کروماتوگرافی ستونی جداسازی و توسط دستگاه‌های شناسایی ساختمان هیدروژن (H-NMR) و اسکلت کربن (C-NMR) مورد شناسایی قرار گرفت. نتایج بررسی طیف‌های ترکیب رنگی استخراج شده از پوسته بذر نشان داد که احتمالاً این ترکیب از خانواده آنتوسیانیدین می باشد. از آن‌جایی که ترکیب مورد شناسایی حاوی گروه عاملی بسیار فعال دی انی می باشد که به اکسیژن حاوی بار مثبت متصل شده است، بنابراین به محض قرار گرفتن این ماده اولیه در پوسته بذر نارس گلرنگ اصلاح شده در مجاورت هوا تمایل به پلیمر شدن شبکه ای که همان تغییر رنگ قهوه ای (رنگ اولیه) به رنگ سیاه و مشکی خواهد شد. در نهایت پس از تغذیه لاروها از پوسته‌های بذر رنگی به‌دلیل عدم هضم گوارشی این پلیمرها موجب مرگ آن‌ها می‌شود.

توصیه کاربردی/ صنعتی: استفاده از ژرم پلاسم گلرنگ وحشی در مقاوم کردن دانه گلرنگ اهلی به آفت مگس گلرنگ می‌تواند به عنوان یک روش بسیار کاربردی در اصلاح نژاد این خانواده از ترکیبات روغنی شود. دانه‌های حاصل از به نژادی گلرنگ اهلی می‌تواند از آفت حشرات در امان باشد که باعث بالا بردن کیفیت محصولات و صرفه جویی در هزینه های نگهداری آن‌ها خواهد شد.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۱. مقدمه

گلرنگ، *Carthamus tinctorius*، امروزه بیشتر برای تولید دانه به منظور استخراج روغن خوراکی و نیز تغذیه پرندگان کشت می‌شود، ولی در برخی کشورها از جمله چین، هند و حتی ایران این گیاه به خاطر گل‌های آن که در رنگ و طعم دادن به غذاها و تهیه رنگ پارچه استفاده می گردد و هم‌چنین به دلیل کاربردهای دارویی متعدد در طب سنتی نیز کشت می‌شود (Li & Mundel, 1996). نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که عصاره گل گلرنگ منجر به کاهش فشار خون، انقباض رگ‌های خونی، انعقاد خون، کاهش کلسترول بد (یا LDL) و افزایش کلسترول خوب (یا HDL) شده است. نتیجه آزمایش روی موش نشان داده است که مصرف گلرنگ باعث افزایش وزن موش و نیز تسکین درد و تشنج می‌گردد. التهاب و ورم معده، شیزوفرنی، تب خونی، سنگ کلیه، ضعف ماهیچه‌ها و ضرب دیدگی اعضا و خون مردگی، ورم کلیه، ورم دستان و ورم مغز استخوان و ورم خونی مغزی از دیگر بیماری‌هایی است که توسط عصاره گل یا بذر گلرنگ تخفیف داده شده یا درمان شده‌اند. به نظر می‌رسد در بیماری‌های پوستی هم گلرنگ کاربردهای متنوعی دارد. التهاب‌های پوستی، خال‌های پوستی، جوش‌های غرور جوانی و کچلی و طاسی و هم‌چنین پینه ایجاد شده روی پا با عصاره گل گلرنگ برطرف شده است. التهاب حنجره و حلق، عفونت گوش، خون‌ریزی داخلی، یرقان و هپاتیت ویروسی، نزدیک‌بینی چشم، عفونت چشمی تراخم، پیری، سرطان خون، گواتر، سردردهای میگرنی و خون‌ریزی قاعدگی از دیگر بیماری‌هایی است که ظاهراً گلرنگ در درمان آن‌ها کمک می‌کند(Li & Mundel, 1996).

با وجود کشت گیاه گلرنگ در نواحی خشک و نیمه خشک مانند هند، مکزیک، آمریکا و استرالیا، کل تولید روغن از این گیاه تنها شامل ۰/۵ درصد کل روغن‌های گیاهی است (Salunkhe & Chavan, 1991). این در حالی است که روغن گلرنگ به‌دلیل داشتن مقادیر بالای اسید لینولئیک و اسید اولئیک، عدد یدی بالا، رنگ روغن زرد شفاف و طعم مطلوب برای مصرف آشپزی بسیار مناسب است. این روغن حتی به صورت روغن سالاد، روغن هیدروژنه، مارگارین، مایونز و چندین نوع غذای آماده دیگر نیز قابل استفاده می‌باشد (Li & Mundel, 1996).

در واقع عدم وجود تنوع کافی برای برخی صفات مثل مقاومت به برخی آفات و بیماری‌ها به‌ویژه مقاومت به مگس گلرنگ، به نژادی گلرنگ و توسعه کشت گلرنگ را محدود نموده است (امیدی تبریزی و احمدی، ۱۳۷۸). اشری (Ashri, 1971) گزارش نمود که گونه های وحشی و دارویی گلرنگ از جمله *Carthamus oxyacanthus* به مگس گلرنگ مقاومت نسبی دارند. شواهد عینی نشان داد که این موضوع می‌تواند به رنگ بذر مربوط باشد و احتمالاً رنگ بذر و ترکیبات شیمیایی و دارویی آن عامل مقاومت به مگس گلرنگ است. لذا ابتدا ارزیابی ژرم پلاسم گلرنگ وحشی *C. oxyacanthus* از مناطق غربی، مرکزی و جنوبی ایران برای مقاومت به مگس گلرنگ *Acanthiophilus helianthi* (آفت اصلی گلرنگ)، در گونه وحشی انجام شد و سپس نسبت به شناسایی عامل موثر در این مقاومت اقدام گردید. هدف از این مطالعه بررسی و شناسایی ترکیب شیمیایی موثر بر مقاومت به مگس گلرنگ بود.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. ژرم پلاسم گیاهی

ژرم پلاسم گلرنگ وحشی گونه *C. oxyacanthus* از مناطق مرکزی، جنوبی و غربی ایران جمع آوری گردید. استان‌هایی که بذور گلرنگ‌های وحشی از آنها جمع آوری شد شامل فارس، کهکیلویه و بویراحمد، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، مرکزی، تهران، لرستان، کردستان، ایلام، کرمانشاه و همدان بود. در هر استان ۳ تا ۵ نمونه از مناطقی با فاصله ۵۰ تا ۱۰۰ کیلومتر از یک‌دیگر جمع آوری گردید. در هر منطقه ۳۰ تا ۵۰ گیاه به طور تصادفی انتخاب و غوزه‌های جمع آوری شده مخلوط شد. بذور جمع آوری شده در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف آباد در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار کشت گردید و مقاومت گیاهان نسبت به مگس گلرنگ از نظر تعداد لارو مرده در غوزه های گلرنگ وحشی انجام شد.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۲-۲. استخراج و شناسایی ترکیبات شیمیایی

مقدار ۱۰ گرم بذر نارس با دو نوع پوسته سفید (گلرنگ اهلی) و رنگی (مشکی- قهوه ای) از نمونه های گونه وحشی کشت شده در مزرعه به صورت جداگانه انتخاب شد (شکل ۱) و پوسته بذرها با استفاده از دی متیل فرمامید (DMF) به مدت ۲۴ ساعت و در سه تکرار استخراج رنگ گردید. مواد رنگی استخراج شده از هر نوع پوسته با استفاده از واکنش‌گر فولین (Folin Ciucalteu) به روش سینگ و هم‌کاران (Singh *et al.*, 2002) اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از محلول استخراج شده با ۱ میلی لیتر واکنش‌گر فولین با غلظت ۱۰ درصد مخلوط گردید و سپس ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲/۵ درصد به آن اضافه شد. محلول به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری شد و سپس با استفاده از طیف سنجی محلول آبی رنگ در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از طیف سنج (Spectrophotometer, Beckman 7200) و مقایسه با غلظت‌های استاندارد، غلظت مواد فنلی به‌دست آمد. هم‌چنین مواد رنگی استخراج شده با دی متیل فرمامید ابتدا با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی بر روی TLC قرار گرفت و تعداد لکه های رنگی مورد بررسی و شناسایی قرار گرفت که شامل چهار لکه بود. پس از آزمون‌های شناسایی با استفاده از شاهد (دانه گلرنگ داری رنگ سفید) سه لکه که حاوی اسیدهای چرب با باند دوگانه (اسید لینولنیک، اسید اولئیک و غیره) بود حذف گردید و یک لکه متمایز بین دو نوع پوسته توسط روش ^{1}H-NMR مورد شناسایی قرار گرفتند. بدین منظور ماده رنگی با استفاده از تبخیر حلال رسوب داده شد و سپس در دی متیل سولفوکساید (DMSO) حل شده و توسط NMR Bruker Avance طیف کربن و هیدروژن آن به‌دست آمد. با تفسیر طیف‌های حاصل، ترکیب رنگی موجود در پوسته بذر شناسایی گردید.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. ترکیبات فنلی و مقاومت به مگس گلرنگ

مقایسه غلظت مواد فنلی موجود در عصاره استخراج شده از پوسته بذر مشکی - قهوه‌ای و نیز پوسته بذر سفید به عنوان شاهد نشان داد که در محلول استخراج شده با استفاده از دی متیل فرمامید، غلظت ترکیبات فنلی موجود در پوسته‌های مشکی- قهوه‌ای به طور معنی داری بیشتر از پوسته سفید بود (تقریباً دو برابر). این نتایج نشان می‌دهد که مقدار کل مواد پلی فنلی در پوسته‌های رنگی مشکی- قهوه‌ای بیشتر از پوسته سفید است. رنگ بذر احتمالاً در اثر اکسید شدن ترکیبات پلی فنولی موجود در پوسته بذر و به دلیل خشک شدن بذر در زمان رسیدگی اتفاق می افتد. این فرآیند منجر به قهوه‌ای شدن و سپس تیره شدن پوسته (رنگ مشکی) می‌گردد (شکل ۲). ارزیابی های مزرعه ای هم نشان داد که کاهش تعداد لارو زنده و افزایش تعداد لاروهای مرده مگس گلرنگ در غوزه‌های آلوده مربوط به ژنوتیپ‌های وحشی به همراه کمتر بودن درصد غوزه‌های آلوده آن‌ها و هم‌چنین کمتر بودن درصد خسارت به تعداد دانه و عملکرد دانه در بوته نشان دهنده مقاومت گونه وحشی به مگس گلرنگ است. این مطلب مشخص می‌کند که ترکیبات پلی فنولی- فلاونوئیدی موجود در پوسته بذر در آنتی بیوز لارو مگس گلرنگ نقش دارد که پس از تغذیه لاروها از پوسته‌های بذر موجب مرگ آن‌ها می شود و احتمالاً بتوان با تلاقی بین گونه ای، ژن های مقاومت به مگس گلرنگ را از گونه دارویی گلرنگ وحشی به گونه اهلی گلرنگ منتقل نمود.

۳-۲. شناسایی ترکیب موثر در پوسته بذر

طیف ^{1}H-NMR (شکل ۳) ترکیب رنگی مورد نظر در حلال DMSO دوتره شده نشان داد که با توجه به پیک‌های رزونانسی و بر اساس جابه جایی شیمیایی و تعداد پروتون‌های این ترکیب و مقایسه با ساختار ترکیب‌های گزارش شده از این خانواده احتمالاً این ترکیب از نوع مواد آنتوسیانیدین[1] می‌باشد. هم‌چنین شکل ۴ طیف ^{13}C-NMR و ساختار اسکلت کربنی این ترکیب نشان می‌دهد. با استفاده از تفسیر اطلاعات جابجایی شیمیایی از طیف‌های H-NMR و ^{13}C-NMR می‌توان به این نتیجه رسید که مولکول مونومر اولیه رنگی دارای دو فرم کانفورمری می باشد که به دلیل فرآیند رزونانس می‌توانند به هم‌دیگر تبدیل شوند و این اتفاق در شکل ۱ نشان داده شده است.

[1]- Anthocyanidins

شکل ۱. بذر اولیه دانه گلرنگ اهلی (پوسته سفید رنگ) و بذر دانه گلرنگ اهلی اصلاح شده با گونه گلرنگ وحشی (پوسته سیاه رنگ)

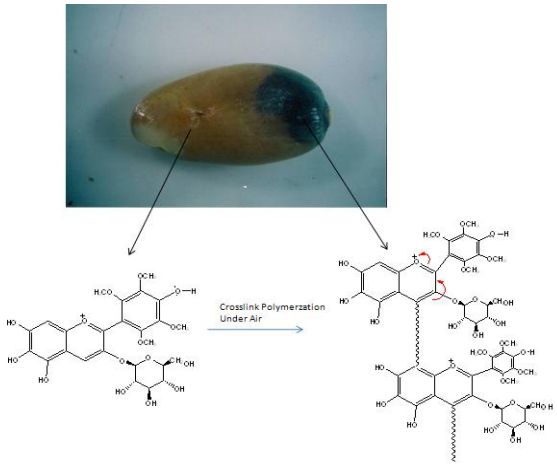
داده های مربوط به طول موج‌های ارتعاشی از طیف مادون قرمز نیز گروه‌های عاملی موجود در این ترکیب را مشخص کرد. از آن-جایی که ترکیب آنتوسیانیدین مورد نظر حاوی گروه عاملی بسیار فعال دی انی می‌باشد که به اکسیژن حاوی بار مثبت متصل شده است، بنابراین به محض قرار گرفتن این ماده اولیه در مجاورت هوا تمایل به پلیمر شدن دارد که از طریق واکنش پلیمر شدن رادیکالی حلقه بنزنی با ساختار دی انی انجام خواهد شد و به دلیل پلیمر شدن از رنگ قهوه ای رنگ به رنگ سیاه و مشکی تبدیل وضعیت خواهد داد. این پلیمر که از پلیمر شدن عرضی به وجود آمده است در اکثر حلال‌های آلی حل نخواهد شد.

بر اساس این اطلاعات، احتمالاً نام ترکیب 2' ,3',5',6'- tetramethoxy anthocyanidine-3-O-glycoside می‌باشد که در پوسته بذر گیاه دارویی گلرنگ وحشی موجود بوده و در آنتی بیوز لارو مگس گلرنگ نقش دارد و پس از تغذیه لاروها از پوسته‌های بذر رنگی موجب مرگ آن‌ها می‌شود. ممکن است این ترکیب نیز دارای خواص دارویی باشد که مطالعات تکمیلی در این زمینه در حال انجام است.

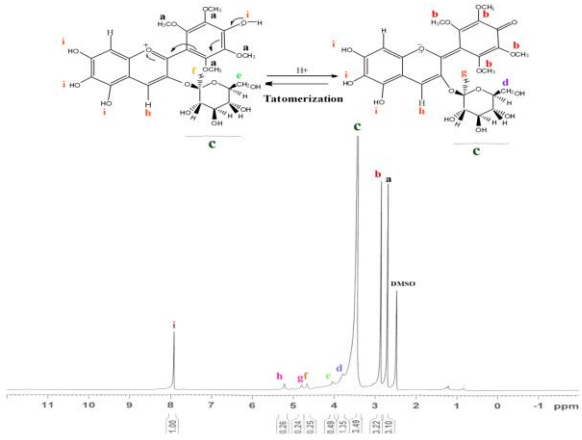
FT-IR (KBr): 3436 (m, br), 2955 (w), 1614 (w), 1595 (w), 1516 (s), 1016 (m), 833 (m), 802 (m), 734 (m).

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6): δ 2.71-3.20 (dd, 2H, J_1 = 13.72 Hz, J_2 = 11.55 Hz,), 3.37-3.41 (dd, 2H, J_1 = 14.10 Hz, J_2 = 4.64 Hz), 3.69 (s, 6H), 5.18-5.22 (dd, 2H, J_1 = 11.14 Hz, J_2 = 4.86 Hz), 6.53-6.55 (d, 4H, Ar-H, J = 8.5 Hz), 6.92-6.94 (d, 4H, Ar-H, J = 8.5), 8.24-8.25 (s, 2H, Ar-H), 9.17 (s, 2H, OH).

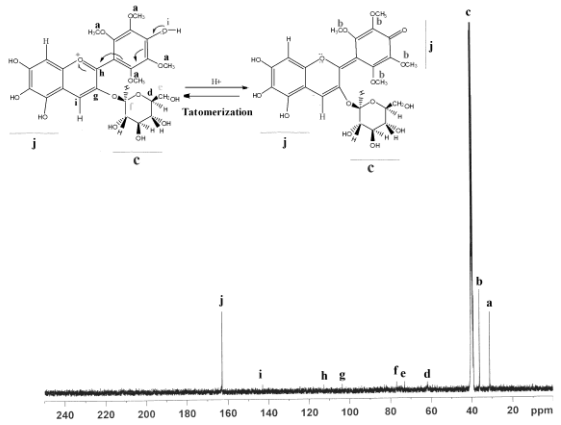
^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d6): 33.93(CH_2), 53.61 (CH, chiral center), 54.35 (CH_3-O), 115.95 (4CH, aromatic), 119.08 (2CH, aromatic), 128.12 (2CH, aromatic), 130.32 (4C, aromatic), 136.95 (4C, aromatic), 155.08 (2C, aromatic), 165.74 (4C=O, imidic), 169.74 (2 C=O, ester).



شکل ۲. تغییر رنگ پوسته قهوه‌ای رنگ اولیه بذر نارس گلرنگ اصلاح شده به رنگ مشکی پس از مجاورت با هوای محیط



شکل ۳. طیف حاصل از ^{1}H-NMR (500 MHz) از ماده رنگی موجود در پوسته بذر گلرنگ وحشی



شکل ۴. طیف حاصل از ^{13}C-NMR (125 MHz) از ماده رنگی موجود در پوسته بذر گلرنگ وحشی

۴. منابع

امیدی تبریزی، ا. ح. و احمدی، م. ۱۳۷۸. *چکیده سه دهه تحقیقات گلرنگ*، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، بخش تحقیقات دانه‌های روغنی، کرج.

Ashri, A. 1971. Evaluation of the world collection of safflower, *Carthamus tinctorius* L. II. Resistance to the safflower fly, *Acanthiophilus helianthi* R. *Euphytica*. 20: 410-415.

Li, D. and Mundel, H. H. 1996. Safflower. *Carthamus tinctorius* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 7. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Salunkhe, D. K., . Chavan, J. K, Adsule, R. N. and Kadam, S. S. 1991. World oilseeds. Chemistry, technology, and utilization. Van Nostrand Reinhold Press. New York.

Singh, R. P., Murthy, K. N. C and Jayaprakasha, G. K. 2002 Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50: 81–86.