------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العدد 9، خاص بعلوم الحياة، ص40-49، 2006 ------

الفلافينويدات وأهميتها التصنيفية في الأنواع التابعة لجنس الحور *Populus* L. في العراق

عامر محسن المعاضيدي
قسم علوم الحياة
كلية التربية
جامعة الموصل

طلعت راجح الرمضاني
فرع العلوم الصيدلية
كلية الصيدلة
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2005/2/15 ؛ تاريخ القبول 2005/6/13)

الملخص

استندت الدراسة الحالية على تشخيص مركبات الفلافينويد وكلايكوسيداتها في مستخلصات الأوراق والنهايات الطرفية من سيقان النباتات المزهرة لخمسة أنواع من الجنس *Populus* L. النامية بصورة برية ومستزرعة ومن بيئات مختلفة في العراق ، باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (T.L.C)، وقد شخصت سبع مركبات فيها وهي: Myricetine و Luteolin-7-glucoside و Quercetin-3-rhamnoside و Kaempferol و Apigenin و Kaempferol-3-glucoside و Quercetin-3-glucoside. واتضح أن لهذه المركبات أهمية تصنيفية يمكن أن تدعم الدراسات التصنيفية الأخرى، حيث أظهر النوعان *P. deltoids* L. و *P. xeuamericana* (Dode) Guinier اختلافا واضحاً عن بقية الأنواع الأخرى، والتي شخصت فيها مركبات Myricetine و Quercetin-3-rhamnoside و Kaempferol.

Taxonomic Value of Flavonoids in the Species of the Genus *Populus* L. In Iraq

Amer M. Al-Maa'thidy
Department of Biology
College of Education
Mosul University

Talat R. Al - Ramadhany
Department of Pharrmaceutical Sciences
College of Pharmacy
Mosul University

ABSTRACT

The work presented in this paper was undertaken to identify the flavonoids with their glycosides in leaves and terminal flowering stems of five wild and cultivated species of *Populus* L. genus in Iraq. Materials were collected from different habitat.

Thin layer chromatography (T.L.C) technique was used for identification. Seven Flavonoid compounds were identified they were: Myricetine, Luteolin-7-glucoside,Quercetin-3-rhamnoside, Kaempferol, Apigenin, Kaempferol-3- glucoside and

Quercetin-3-glucoside. Results revealed that flavonoid compounds could have a good taxonomic value in this genus. The species *P.deltoides* and *P.xeuamericana* clearly distinguished from the others, by the production of Myricetine, Quercetin-3-rhamnoside and Kaempferol.

المقدمة

يعد جنس الحور *Populus* L. من الأجناس التابعة إلى العائلة الصفصافية Salicaceae والذي يضم (50) نوعاً منتشرة بصورة طبيعية في النصف الشمالي من الكرة الأرضية، حيث تمتد من غابات شمال إفريقيا إلى ما بعد الدائرة القطبية في آسيا وأوربا نامية بشكل أشجار تعــرف بـــ Poplars و Cotton wood و Aspens (Raeder- Roitzsch, 1969; Harlow and Harrar, 1996) و(الموسوي، 1987) ، وتتمثل في العراق بـــ (5) أنواع نامية بصورة طبيعية ومستزرعة وهي (*Populus euphratica* Oliv. ، *P. nigra* L. ، *P. alba* L. ، *P. datoides* L. و *P. xeuamericana* (Dode) Guinier).

بالرغم من أن الصفات المظهرية هي الأساس في الدراسات التصنيفية إلا أن المحتويات الكيميائية يمكن أن تعد أدلة تصنيفية مهمة مما شجعت المصنفين على الاستفادة منها فـــي دراســـاتهم وبحـــوثهم، فأصبحت مصدراً واسعاً وجديداً للصفات ذات القيمة التصنيفية في أي محاولة لإيجاد نظام تصنيفي طبيعي (Davis and Heywood, 1963).

أن أهم المركبات الكيميائية ذات الأهمية التصنيفية هي الفلافينويدات (Flavonoids) وكلوكوسيدات الزيوت الخردلية (Mustard oil glucoside) والقلويدات (Alkaloids)، وتعد الفلافينويدات من المـــواد الكيميائية المعروفة ذات الاستخدامات الواسعة في مجال تصنيف النبات وتقييم العلاقات التطورية وتوجد عادة هذه المركبات في الأوراق والأزهـــار والبـــذور(Ficarra et al., 1990 ; Mullen et al., 2002)، وهي من المركبات الاوكسجينية الحلقية غير المتجانسة المهمة والأساسية في النباتات حيث توجـــد فيهـــا على شكل صبغات، إن معظم هذه المركبات قطبية وذائبة فـــي المـــاء بـــسبب وجودهـــا علـــى شـــكل كلايكوسيدات لذا يمكن استخلاصها من النبات باستخدام مذيب قطبي مثل الكحـــول (أيـــوب والحمـــداني، 1990).

تمثل الكلايكوسيدات إحدى المركبات الأساسية الموجودة في النبات والتي تكون عادة ذائبـــة فـــي الماء وتترسب عند إضافة الكحول إلى مستخلصاتها النباتية المركزة وان الطرائق التي اتبعت في دراسة هذه الكلايكوسيدات تنطلق جميعها من مبدأ تحللها بواسطة الحامض اللاعضوي إلـــى الكحـــول المقابـــل (الكلايكون) والسكر.

$$\text{Ar–O–glycoside} + H^+ \longrightarrow \underset{\text{(Aglycone)}}{\text{ArOH}^*} + \text{Sugar}$$

(• ArOH = فلافينويد أو أي مركب يمكن أن يكوّن آصرة كلايكوسيدية مع الكاربوهيدرات.

ونظراً لأن الفلافينويدات تمتلك خواص فينولية، لذا يمكن تشخيصها بتغير لونها عند تعرضها إلى القاعدة أو الامونيا فضلاً عن امتلاكها حزماً متباينة بين المنطقة فوق البنفسجية والمرئية (λ max 300-560 nm).

الهدف من هذه الدراسة هو تشخيص بعض الفلافينويدات بغية استعمالها كصفات تصنيفية مساعدة في عزل أنواع هذا الجنس بالإضافة إلى الصفات التصنيفية الأخرى والتي يدرس لأول مرة في القطر.

المواد وطرائق العمل

أولاً. المادة النباتية:

أخذت الأوراق والنهايات الطرفية من سيقان النباتات المزهرة لكل نوع من الأنواع المدروسة والتي جمعت من مواطن بيئية مختلفة من شمال العراق، وسحقت في مطحنة كهربائية، ثم أخذت كمية (3) غرامات من كل عينة وأجري عليها عملية استخلاص مكونات النبات من خلال جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhlet) وبواسطة مذيب الايثانول 95% (500 مل) ولمدة (48) ساعة، وبعد سحب معظم المكونات العضوية تم تبخير المذيب إلى النصف باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل وبدرجة (45-50° م)، ثم أجراء عملية استخلاص بسيط باستخدام قمع الفصل (Separating funnel) لكل عينة من العينات النباتية المفصولة وبواسطة مذيب الكلوروفورم لغرض التخلص من مكونات الكلوروفيل والصبغات الأخرى التي تكون ذائبة في طبقة الكلوروفورم. أما مكونات الفلافينويد فتكون ذائبة في الطبقة القطبية (الايثانول) بشكل كلايكوسيدات. تم تركيز المستخلصات النباتية للأنواع المدروسة باستخدام التقطير تحت الضغط المخلخل للحصول على مستخلصات زيتية بنية اللون للأنواع المدروسة بعدها وضعت المستخلصات في الثلاجة طوال فترة التحليل، ثم أجري الكشف عليها للتأكد من وجود الفلافينويد في هذه المستخلصات باستخدام كاشف ($FeCl_3$) حيث تغير لون الكاشف إلى اللون الأزرق أو الأخضر الغامق.

ثانياً: التحليل الكيميائي قبل التحلل الحامضي:

تم استخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (T.L.C) لأجراء عملية التحليل ، حيث شمل الاختبار الأول استخدام نظام رقم (1) (ثلاثي البيوتانول : حامض الخليك الثلجي : ماء) (TBA ، 3:1:1) ثم أظهار البقع بواسطة بخار اليود ، ولغرض التأكد من النتائج تم إعادة اختبار (T.L.C) باستخدام نفس النظام (نظام رقم 1) ولكن تم أظهار البقع برش الصفائح بكاشف فولن وتعريضها لبخار الامونيا .

أما الاختبار الثاني للمستخلصات الكحولية لأنواع الجنس المدروسة، فقد تم باستخدام نظام رقم (2) (حامض الخليك الثلجي: ماء)(v/v 85: 15, HOAc) وإظهار البقع بعد تعرضها لبخار اليود. في حين أن الاختبار الثالث قد تم باستخدام نظام رقم (3) (بيوتانول: حامض الخليك الثلجي: ماء) (BAW، 4:1:5)وإظهار البقع بعد تعريض صفائح (T.L.C) لكاشف فولن وبخار الامونيا.

ثالثاً: التحليل الكيميائي بعد التحلل الحامضي:

تم تحليل المستخلصات الكحولية للأنواع المدروسة باستخدام (2M) حامض الهيدروكلوريك واستخلاص الاكلايكونات المتكونة من خلال خلات الأثيل (Ethyl acetate) على صفيحة هلام السليكا (Silica gel) باستخدام نظام رقم (3) (BAW) وإظهار البقع عند تعريض الصفائح لكاشف فولن وبخار الامونيا.

وقد تم تشخيص مركبات الفلافينويدات في الأنظمة المذكورة سابقاً اعتماداً على قيم السريان النسبي(Relative flow) والخصائص اللونية للبقع المشاهدة في الضوء الاعتيادي وبواسطة الأشعة فوق البنفسجية والتغير اللوني الذي طرأ عليها بعد استعمال بخار الامونيا وذلك بمقارنة قيم (R_f) مع مماثلاتها المنشورة باستخدام الظروف نفسها، (Mabry et al., 1970; Harborn, 1973; Crawford, 1974).

النتائج والمناقشة

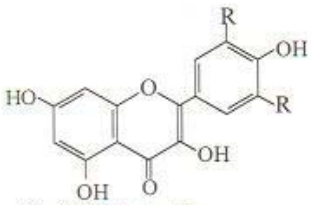
أظهرت نتائج تحليل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (T.L.C) لأنواع الجنس المدروسة تغايرات من حيث ما تحتويها من مركبات الفلافينويدات والموضحة في الجدول رقم (1) والشكل رقم(2) والذي يوضح فيه قيم السريان النسبي (R_f) لهذه المركبات باستخدام الأنظمة الثلاثة وهي , BAW , HOAc TBA والتي أثبتت كفاءة جيدة في عملية التشخيص، حيث تم تشخيص (5) مركبات في الأنواع لمدروسة باستخدام نظام(1)(TBA) وهي الميرستين (Myricetine)(1)، لوتيلن-7- كلايكوسيد (-Luteolin-7)(2) glucoside، كورستين -3- رمانوسيد (Quercetin-3-rhamnoside)(3)، كامفيرول(Kaempferol) (4) والابجنين (Apigenin)(5)، حيث أحتوى النوعين *P. nigra* و *P. euphratica* على جميع المركبات المذكورة آنفاً ، أما النوع *P. alba* فقد شخصت فيه المركبات (Myricetine)(1)،(Luteo-7-glu.)(2) و(Kaempferol)(4) في حين شخص المركبين (Myricetine)(1) و(Kaempferol)(4) في النوعين *P. xeuamericana, P. deltoides*. وعند استخدام نظام HOAc تم تشخيص (Myricetine)(1)، (Lut.-7-glu.)(2)، (Q.-3-rhamnoside)(3)، (Kaempferol) (4)، (Apigenin)(5) و كامفيرول-3- كلايكوسيد (Kaempferol-3-glucoside)(6) في النوعين *P. euphratica* و *P. nigra* ، في حين وجدت المركبات (Myricetine)(1)، (Lut.-7-glu.)(2) و (Kaempferol)(4) في النوع *P. alba* ، أما النوعين *P. xeuamericana* و *P. deltoides* فقد شخص فيهما المركبين (Myricetine)(1) و(Kaempferol)(4). أما في النظام رقم (3) (BAW) فقد تم تشخيص (Myricetine)(1)، (-Lut.-7 glu.)، (Q.-3-rhamnoside)(3)، (Kaempferol)(4)، (Apigenin)(5) و كورستين -7- كلايكوسيد (Quercetin-7-glucoside)(7) في النوعين *P. euphratica* , *P. nigra* أما مركبات (Myricetine) (1)،(Lut.-7-glu.)(2)، (Kaempferol)(4) و(Q.-7-glu)(7) فقد شخصت في النوع

P. alba، أمـــا النـــوعين *P. xeuamericana, P. deltoides* وجـــد فيهمـــا (Myricetine)(1)، (Q.-3-rhamnoside)(3) و (Kaempferol)(4).

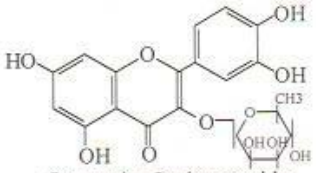
ومن الجدول رقم (2) أظهرت قياسات (T.L.C) باســتخدام هــلام الســليكا ونظــام (BAW) (4:1:5) على الطبقة العضوية وبعد مقارنة قيم (R_f) بمثيلاتها المنشورة شخصت (5) مركبــات فــي الفلافينويدات في النوعين *P. nigra , P. euphratica* وهــي (Myricetine)(1)، (Kaempferol)(4)، (Apigenin)(5)، (Quercetin)(8) و(Luteolin)(9)، أما في النوع *P. alba* شخص فيه (Myricetine)(1)، (Kaempferol)(4) و(Luteolin)(9) في حين النوعين *P. deltoides* و *P. xeuamericana* وجد فيهما مركبات (Myricetine)(1)،(Kaempferol)(4) و(Quercetin)(8).

ويستدل من نتائج الاختبارات الثلاثة والموضحة في الجدولين رقم (1و2) بــأن أنــواع الجــنس المدروسة تحتوي على (7) مركبات من الفلافينويدات والمشار إليها في الجدول رقم(3) والشكل رقم(2)، حيــث لــوحظ فــي النــوعين *P. euphratica* و *P . nigra* أنهمــا يحتويــان علــى جميــع هذه المركبات أما المركبات (Myricetine)(1)، (Lut.-7-glu.)(2)، (Kaempferol)(4)، (Kaemp-3-glucoside)(6) و (Q.-7-glu) (7) وجدت في النوع *P. alba* أما النــوعين *P. xeuamericana , P . deltoides* فقد أظهرا اختلافاً واضحاً عن بقية الأنواع الأخرى حيث شخص فيهما (Myricetine)(1)، (Q.-3-rhamnoside)(3) و(Kaempferol)(4) فقط ، كما يتضح أيضاً من الجدول رقم (3) أن الأنــواع المدروسة أظهرت ارتباطاً بعدد مــن هــذه المركبــات حيــث يتواجــد المــركبين (Myricetine)(1) و(Kaempferol)(4) في جميع أنواع الجنس التي تمت دراستها وهذه الحالة تشكل ظاهرة تطورية علــى جانب من الأهمية حيث إن مثل هذا التواجد يؤيد وجود رابطة تطورية مشتركة بين أنواع الجــنس مــن حيث خصائصها الكيميائية مما يعزز كونها تعود لمرتبة تصنيفية واحدة لهذا الجنس. وان هذا الحضــور لهذين المركبين المذكورين سابقــاً يتوافق مع ما جاء بــه (Crawford, 1974) والذي أشــار إلــى أن أنواع جنس *Populus* L. غنية بوجود هذين المركبين ومن المركبات الواسعة الانتشار فيه.

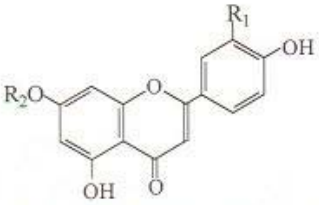
من النتائج السابقة أيضاً نجد أن الأنواع التــي تمــت دراســتها أظهــرت تغــايرات واضــحة من حيث احتوائها على مركبات الفلافينويدات ويمكن اعتماد هذه التغايرات كأدلة تصنيفية تسهم في حــل العديد من الإشكالات والتداخلات بين الأنواع التابعة لهذا الجنس لارتباطها بالنظام الجيني وبذا فهي تعطي مؤشرات تصنيفية مهمة لكونها ليست مركبات أولية وبالتالي ستوفر معطيات جديدة لدراسة علاقة النباتات بعضها بالبعض الأخر وهذا ما أكده (Harborne, 1966 ; Sumuel and Luchingger, 1987)، كمــا أنها تدعم الدراســات التصــنيفية الأخــرى ولا ســيما المظهريــة والتشــريحية والخلويــة والبيئيــة وحبوب اللقاح (المعاضيدي، 2003).



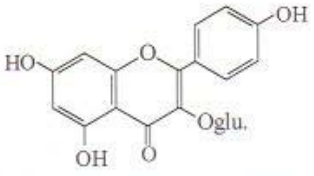
R = OH, Myricetine
R = H, Kaempferol



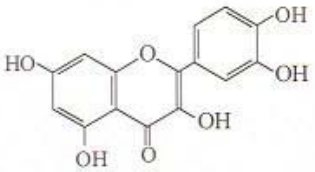
Quercetin -3- rhamnoside



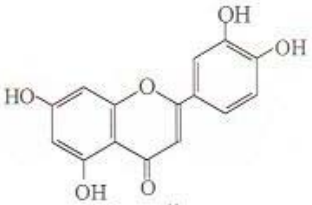
R_1= OH, R_2= glu. ; Luteolin -7- glucoside
R_1= R_2 = H, Apigenin



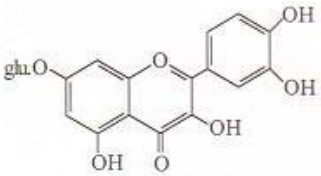
Kaempferol- 3- 0-glucoside



Quercetin



Luteolin



Quercetin-7- glucoside

الشكل 1: الصيغ الكيميائية للمركبات المشخصة في أنواع جنس *Populus* L.

الجدول 1: قيم(R_f) لمركبات الفلافينويدات التي تم الكشف عنها في أنواع جنس *Populus* L. باستخدام أنظمة (BAW, HOAc, TBA)

ت	الأنواع	R_f (x 100)																
		نظام (TBA)					نظام (HOAc)						نظام (BAW)					
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	7
I	Populus euphratica	27	35	58	75	84	4	22	50	7	12	64	43	56	70	83	88	26
II	Populus nigra	27	37	58	76	84	4	23	48	7	12	66	44	56	70	80	89	25
III	Populus alba	28	35	*	75	*	5	22	*	7	*	65	42	55	*	81	*	25
IV	Populus deltoids	28	*	*	78	*	5	*	*	8	*	*	44	*	72	81	*	*
IIV	Populus xeuamericana	29	*	*	78	*	3	*	*	6	*	*	43	*	72	80	*	*

(*): غيـــر موجـــــود

الجدول 2: قيم(R_f) لمركبات الفلافينويدات التي تم الكشف عنها في أنواع جنس *Populus* L. بعد التحلل الحامضي

R_f (x 100)					الأنواع	ت
Luteolin	Quercetin	Apigenin	Kaempferol	Myricetine		
77	63	88	82	43	Populus euphratica	I
78	63	89	83	40	Populus nigra	II
77	*	*	80	42	Populus alba	III
*	65	*	80	42	Populus deltoids	IV
*	65	*	80	43	Populus xeuamericana	IIV

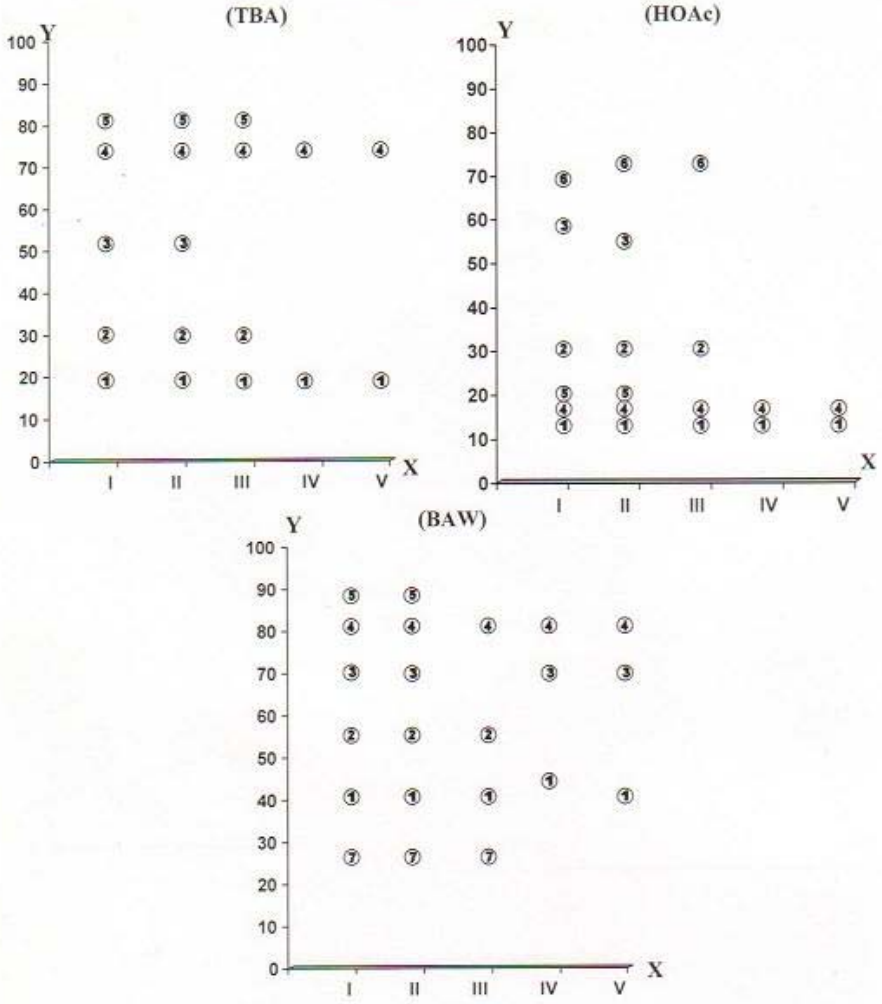
(*): غيـــر موجـــــود

الجدول 3: توزيع مركبات الفلافينويدات لأنواع الجنس *Populus* L.

Q. -7- glu.	Kaemp. - 3- 0-glu.	Apigenin	Kaempferol	Q. – 3 - rhamnoside	Lut. -7- glucoside	Myricetine	الأنواع	ت
7	6	5	4	3	2	1		
+	+	+	+	+	+	+	Populus euphratica	I
+	+	+	+	+	+	+	Populus nigra	II
+	+	*	+	*	+	+	Populus alba	III
*	*	*	+	+	*	+	Populus deltoids	IV
*	*	*	+	+	*	+	Populus xeuamericana	IIV

(+): موجـــــــــود

(*): غيـــر موجـــــود



الشكل 2: مواقع الفلافينويدات على صفيحة كورماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (T.L.C) باستخدام نظام TBA، HOAc، BAW.

X= انواع الجنس المدروسة حسب تسلسلها في الجدول رقم (1).

Y= قيم السريان النسبي (R_f) حسب تسلسلها في الجدول رقم (1).

المصادر العربية

أيوب، مقداد توفيق والحمداني، رعد إسماعيل، 1990. الكيمياء العضوية المتقدمة مديريـــة دار الكتـــب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

المعاضيدي، عامر محسن، 2003. دراسة تصنيفية مقارنة لأنواع الجنس *Prunus* L. (Rosaceae) فـــي العراق، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

الموسوي، علي حسين، 1987. علم تصنيف النبات، دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل، العراق.

المصادر الأجنبية

Crawford, D.J., 1974. A morphological and chemical study of *"Populus cuminate* Rydberg". Brittonia 26: pp.74-89.

Davis, P.H. and Heywood, V.H., 1973. Principles of Angiosperms taxonomy. Robert, E. Krieger publishing Company Huntington, New York : pp.558.

Ficarra, P., Ficarra, R., Depausaual, A., Monferte, M.T. and Calabro, M.I., 1990. High-Performance Liquid Chromatography of flavonoids in *Crataequs oxyacantha* L. Farmaco. Feb. 45(2): pp.247-255.

Harborne, J.B., 1966. The evolution of Flavonoid pigments in plants. In swain, T. Comparative phytochemistry, Academic Press, London: pp.271-295.

Harborne, J.B., 1973 . Phytochemical methods: A guide to modern technique of plant analysis, 1st Ed., Cox and Wyman, London: pp.52-73.

Harlow, W.M. and Harrar, E.S., 1996. Textbook of Dendrology 8th ed. McGraw-Hill Co. New York: 520 p.

Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B., 1970. The systematic Identification of Flavonoids, Springer – Verlag, Berlin: 253p.

Mullen, W., McGinn, J., Lean, M.E. and Gardenar, P., 2002. flavonoids and other phenolics in red rasberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaction properties. J. Agric. Food chem. Aug. 28; 50(18): pp.5191-5196.

Raeder- roitzsch, J.E., 1969. Forest Trees in Iraq. Pub. Fac. Agric. Univ. of Mosul: 169 p.

Samuel, B.J and Luchsinger, A.E., 1987. Plant System, 2nd. Ed. McGraw-Hill Co. New York: 512 p.