

استخراج و اندازه‌گیری ترکیبهای فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین در گلبرگ ده ژنوتیپ از گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) از مناطق غربی ایران

کامکار جایمند^{۱*}، محمدباقر رضایی^۲، محمدحسن عصاره^۳، سیدرضا طبایی عقدایی^۴ و سعیده مشکی‌زاده^۵

۱- نویسنده مسئول، دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
پست الکترونیک: jaimand@rifr-ac.ir

۲- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۳- استاد، گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۴- دانشیار، گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۵- کارشناس، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۸

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۸۸

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۷

چکیده

فلاونوئیدها یکی از بزرگترین گروه‌های فنلی طبیعی هستند. ترکیبهای فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین دارای خواص دارویی هستند و برای مقابله با ویروسها و سلولهای سرطانی استفاده می‌شوند. هدف از این تحقیق، استخراج و اندازه‌گیری ترکیبهای فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین در گلبرگ نمونه‌های مختلف گل محمدی کشت شده در باغ گیاه‌شناسی ایران (تهران) با منشأ مناطق غربی بود. پنج گرم نمونه تازه گل محمدی توسط دستگاه آسیاب برقی خرد و توسط مخلوط متانول و اسید استیک (۹۰:۱۰) عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل به ۳۰ میلی‌لیتر حجم رسانده شده و جهت تجزیه به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تزریق شد. مقدار دو ترکیب کامفرول و کوئرستین در ده نمونه عصاره‌های گل محمدی تعیین شد. بیشترین میزان کامفرول در نمونه‌های کردستان (۵۹۵ ppm)، قزوین (۵۰۵ ppm)، آذربایجان غربی (۴۸۴ ppm) و ایلام (۴۸۳ ppm) بود و کمترین میزان در نمونه‌های کرمانشاه (۷۴ ppm)، همدان (۸۸ ppm) و لرستان (پل دختر) (۲۵۲ ppm) وجود داشت. در رابطه با ترکیب کوئرستین، بالاترین میزان در نمونه‌های اردبیل (۳۲۲ ppm)، آذربایجان غربی (۳۱۲ ppm)، ایلام (۳۰۲ ppm) و چهار محال بختیاری (۲۳۹ ppm) بود و کمترین میزان در نمونه‌های لرستان (پل دختر) (۷۷ ppm)، همدان (۸۰ ppm)، کرمانشاه (۱۱۷ ppm) و کهگیلویه و بویر احمد (گچساران) (۱۵۸ ppm) بدست آمد. با توجه به نتایج بدست آمده، بهترین اکسکشن‌ها از نظر میزان ترکیبهای کامفرول و کوئرستین به ترتیب شامل آذربایجان غربی (۴۸۴ ppm و ۳۱۲ ppm)، ایلام (۴۸۳ ppm و ۳۰۲ ppm) و اردبیل (۴۴۷ ppm و ۳۲۲ ppm) بودند.

واژه‌های کلیدی: گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.)، فلاونوئید، کامفرول، کوئرستین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC).

مقدمه

گل محمدی با نام علمی *Rosa damascena* Mill. از خانواده Rosaceae و از جنس *Rosa* می‌باشد که در شرایط مختلف آب و هوایی کشور می‌روید. این گیاه ابتدا به صورت وحشی روئیده و هنوز هم به صورت خودرو در مراکش، سوریه، قفقاز و اندلس رویش دارد. در حال حاضر در نقاط مختلف ایران از گلبرگ گل محمدی با استفاده از روشهای سنتی، گلاب استخراج می‌شود، ولی مرکز اصلی تولید عطر و گلاب، کاشان و میمند فارس می‌باشد.

هدف از این تحقیق، استخراج و اندازه‌گیری ترکیبهای فلاونویدی کامفرول (Kaempferol) و کوئرستین (Quercetin) در گلبرگ گل محمدی جمع‌آوری شده از مناطق غربی ایران و کشت شده در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور می‌باشد. با توجه به اینکه تحقیقی در این زمینه در ایران صورت نگرفته و ترکیبهای فلاونویدی کامفرول و کوئرستین دارای خواص دارویی هستند و برای مقابله با ویروسها و سلولهای سرطانی استفاده می‌شوند، بررسی میزان این ترکیبها در این گیاه از اهمیت خاصی برخوردار است (Middleton & Kandaswami, 1993). ترکیب تتراهیدروکسی فلاونن (کامفرول-۱) که از عصاره آبی یا الکلی گل محمدی بدست می‌آید به واسطه ممانعت از فعالیت پروتئازهای ویروس ایدز دارای خاصیت ضد ایدز (HIV) می‌باشد (Mahmood et al., 1996). همچنین عصاره گل محمدی دارای فعالیت ضد باکتری و آنتی‌اکسیدان است (Ozkan et al., 2004).

Velioglu و Mazza (۱۹۹۱) فلاونویدهای گلبرگ گل محمدی را توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

(HPLC) با آشکارساز آرایه فتودیودی (photodiode array) برای جداسازی و اندازه‌گیری ترکیبهای آنتوسیانینها و دیگر فلاونوئیدها در گلبرگ گل محمدی مورد ارزیابی قرار داده‌اند. در این بررسی بیش از ۲۵ پیک ردیابی شده و جداسازی در کمتر از ۵۰ دقیقه انجام شده است. بیشتر طیفهای HPLC جداسازی شده، جمع‌آوری و دوباره توسط HPLC مورد آنالیز و شناسایی قرار گرفتند. غلظت مجموع ترکیبهای آنتوسیانینها، ۲۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گلبرگ تازه بود. ترکیب اصلی آنتوسیانین، سیانیدین ۳،۵-دی‌گلیکوزید بود که ۹۵ درصد از مجموع آنتوسیانینها را شامل می‌شد. همچنین چندین ترکیب دیگر مثل کامفرول، کوئرستین، گالاکتوزید، آرابینوزید و رهامنوزیدها شناسایی شده‌اند (Velioglu & Mazza, 1991).

Schieber و همکاران (۲۰۰۵) فلاونول گلیکوزیدها را از پس‌مانده گلبرگ گل محمدی بعد از استخراج صنعتی گلاب و اسانس مورد استخراج قرار داده و توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا متصل به طیف‌سنج جرمی (HPLC/MS)، آنالیز و شناسایی نموده‌اند. در میان ۲۲ ترکیب اصلی آنالیز شده، فقط ترکیبهای کامفرول و کوئرستین گلیکوزید ردیابی شدند. براساس اطلاعات داده شده، وجود ترکیب کوئرستین ۳-اُ-گالاکتوزئید (quercetin 3-O-galactoside) و ترکیب کوئرستین ۳-اُ-زیلوزئید (quercetin 3-O-xyloside) تا آن زمان در این گونه گزارش نشده بود. همچنین، براساس عطر گل، چندین کوئرستین استیل شده و کامفرول (کامفرول گلیکوزیدها، کامفرول دی‌ساکاریدها) برای اولین بار شناسایی شدند. ترکیب کامفرول گلیکوزید، به همراه آگلیکون کامفرول، برای ۸۰ درصد از مجموع ترکیبهای که شناسایی شدند، با مقدار بیشتری از ترکیب کامفرول

زنان بیشتر از مردان از فواید ویژه دریافت کوئرستین در پیشگیری از بیماری قلبی و عروقی سود می‌برند. در مطالعه‌ای که بر روی فلاونوئیدها به مدت ۲۶ سال انجام شده نشان می‌دهد که افرادی که دریافت بالای فلاونوئیدها را داشتند مرگ و میر ناشی از بیماریهای قلبی و عروقی در آنها به‌طور قابل توجهی کمتر بود. منبع اصلی فلاونوئیدها در این مطالعه پیاز و سیب بود که هر دو غنی از کوئرستین هستند. به نظر می‌رسد این ماده کاهش خطر بیماریهای قلبی و عروقی را به وسیله جلوگیری از صدمه به کلسترول LDL و جلوگیری از تولید لخته خون انجام می‌دهد. کشیدن تنباکو یکی از دلایل اصلی سرطان مثانه در افراد می‌باشد. دانشمندان معتقدند که فلاونوئیدهایی مثل کوئرستین موجود در پیاز پوشش مثانه را از سرطانی شدن محافظت می‌کنند. دریافت منظم پیاز می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی پیشگیری کننده از سرطان بویژه در افراد سیگاری باشد (Harborn, 1986).

خصوصیات شیمیایی ترکیبهای کامفرول و کوئرستین

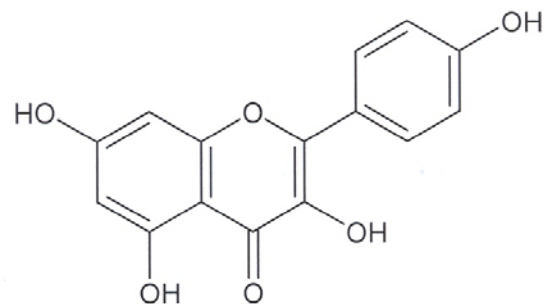
ترکیب کامفرول (Kaempferol) با نام 3,5,7-Trihydroxy-2[4-hydroxyphenyl]-4H-1-benzopyran-4-one دارای فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_6$ است (شکل ۱). جرم مولکولی آن ۲۸۶/۲۴ و به فرم سوزنهای زرد و دارای نقطه ذوب ۲۷۸-۲۷۶ درجه است. همچنین به‌عنوان پودر زرد روشن از اتانول-آب ردیابی شده با نقطه ذوب ۲۷۸-۲۸۰ درجه گزارش شده است (Merck Index, 2001).

ترکیب کوئرستین (Quercetin) با نام

2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one

۳-ا-گلوکزئید (kaempferol 3-O-glucoside) ارزیابی شد. بالاترین مقدار فلاونول تقریباً ۱۶ گرم در کیلوگرم براساس وزن خشک دوباره ارزیابی شده از تقطیر گلبرگ گل محمدی نشان می‌دهد که این گیاه منبعی از ترکیبهای فنلی می‌باشد که ممکن است به‌عنوان جزئی از غذا و همچنین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یا به‌عنوان افزودن رنگ بکار رود (Schieber *et al.*, 2005).

فلاونولهای کامفرول و کوئرستین در خیلی از میوه‌ها و سبزی‌ها مثل اسفناج، پیاز، کرفس و سیب یافت می‌شود. پیاز یک منبع غنی از کوئرستین می‌باشد. کوئرستین فیتونوترینت در پیاز موجود است که مانند ویتامین C و ویتامین E یک آنتی‌اکسیدان قوی است. پیاز قادر است رادیکالهای آزاد در بدن را که باعث سرطان و بیماریهایی از قبیل آترواسکلروز می‌شوند، پاک‌سازی کند. با وجودی که کوئرستین در سیب و چای هم وجود دارد ولی جذب این ماده در پیاز ۳۲ درصد مؤثرتر و سریعتر از سایر منابع می‌باشد. کوئرستین جذب شده از پیاز تقریباً ۲۴ ساعت در بدن باقی می‌ماند (Rice-Evans *et al.*, 1996).



شکل ۱- ساختمان گسترده ترکیب کامفرول

مراتع کشور کشت شدند. در هر تکرار ۳ بوته از هر نمونه در چاله‌هایی با قطر و عمق یک متر کشت شدند. فاصله نهالها روی ردیف ۲/۵ متر و فاصله ردیف‌ها از همدیگر ۲ متر در نظر گرفته شد. بستر کاشت با مخلوطی از خاک زراعی، ماسه و کود حیوانی فراهم و برای عملیات آبیاری از روش قطره‌ای استفاده شد. در مواقع لازم و جین علفهای هرز با دست انجام شد. کنترل کرم شاخه‌خوار گل رُز با قطع شاخه‌های آلوده و انهدام آنها صورت گرفت. لازم به یادآوری است که ژنوتیپهای تهیه شده از هر استان به صورت نهال کامل بوده است.

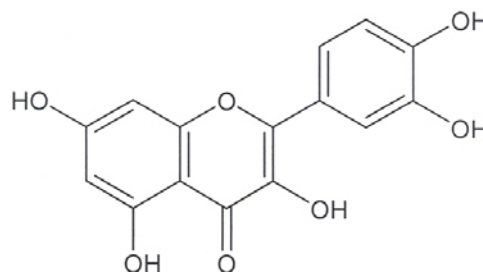
جمع‌آوری نمونه‌های مورد آزمایش

با توجه به فصل رویش گل در مزرعه تحقیقات گل محمدی (واقع در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور) پایه‌ها از اواسط فروردین‌ماه به‌طور تدریجی شروع به گلدهی کردند و جمع‌آوری گل محمدی از مزرعه در اوایل اردیبهشت‌ماه صورت گرفت. گلها در صبح زود به آزمایشگاه منتقل و بعد نسبت به استخراج عصاره جهت بررسی ترکیبها اقدام شد.

استخراج عصاره

مقدار ۵ گرم گلبرگ تازه گل محمدی را وزن نموده و توسط آسیاب برقی با حلال (با ۳۰ میلی‌لیتر حلال متانول و اسید استیک به نسبت ۹ به ۱) خرد و حلال توسط کاغذ صافی، صاف گردیده و در آخر حجم محلول به ۳۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل یاد شده دارای ترکیبهای کامفرول و کوئرستین می‌باشد. سپس عصاره‌ها در یخچال نگهداری و برای تعیین میزان ترکیبهای کوئرستین و کامفرول به دستگاه HPLC تزریق شد و طبق روش Daigle و Conkerton (۱۹۸۲) تجزیه انجام شد.

دارای فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_7$ است (شکل ۲). جرم مولکولی آن ۳۰۲/۲۴ و به فرم سوزنهای زرد از الکل غلیظ، در ۹۵ تا ۹۷ درجه آبگیری می‌شود. یک گرم آن در ۲۹۰ میلی‌لیتر الکل خالص و در ۲۳ میلی‌لیتر الکل جوش حل می‌شود. در اسید استیک گلاسیال محلول، در محلول آلکالین مایع با رنگ زرد می‌باشد. مخصوصاً در آب غیر محلول است. مزه محلول الکلی آن خیلی تلخ است (Merck Index, 2001).



شکل ۲- ساختمان گسترده ترکیب کوئرستین

مواد و روشها

موقعیت جغرافیایی

این طرح در مزرعه تحقیقاتی گل محمدی در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور واقع در ۱۵ کیلومتری شمال غربی تهران با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا به اجرا درآمد.

کشت ژنوتیپ‌های گل محمدی

در این بررسی ژنوتیپ‌های گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) از مناطق غربی ایران (جدول ۱) جمع‌آوری شده و در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و

جدول ۱- اکسشنهای گل محمدی مورد استفاده

در مطالعه کامفرول و کوئرستین

ردیف	اکسشن جمع آوری شده	استان مبدأ
۱	آذربایجان شرقی ۱	آذربایجان شرقی
۲	آذربایجان غربی ۱	آذربایجان غربی
۳	اردبیل ۱	اردبیل
۴	ایلام ۱	ایلام
۵	چهارمحال ۱	چهارمحال و بختیاری
۶	زنجان ۱	زنجان
۷	قزوین ۱	قزوین
۸	کردستان ۱	کردستان
۹	کرمانشاه ۱	کرمانشاه
۱۰	همدان ۱	همدان

شرایط دستگاهی HPLC

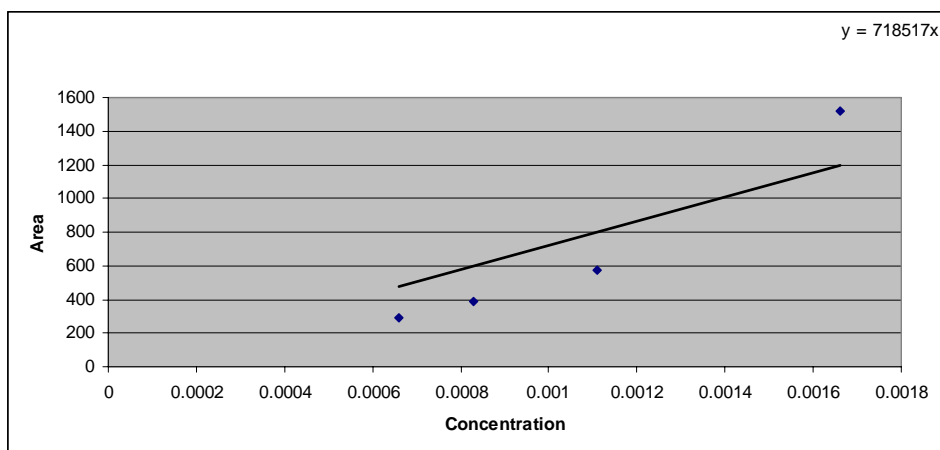
کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه‌گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. یکی از روشهای دقیق جهت اندازه‌گیری ترکیبهای کامفرول و کوئرستین استفاده از HPLC است. دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Knauer مدل Well Chrom 2000، دارای پمپ مدل Maxi-star K-1000 و دتکتور آن از نوع اسپکتروفتومتر مدل K-2500 بود که در ۲۹۰ نانومتر تنظیم شد. ستون مورد استفاده Erospher C₁₈ 100 به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴ میلی‌متر بود. به‌عنوان فاز متحرک از متانول: آب: اسید استیک (۵۰:۴۵:۵) با شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ μ l بود و انجام آزمایش ۳۰ دقیقه به طول انجامید.

آماده‌سازی استانداردها و رسم منحنی کالیبراسیون

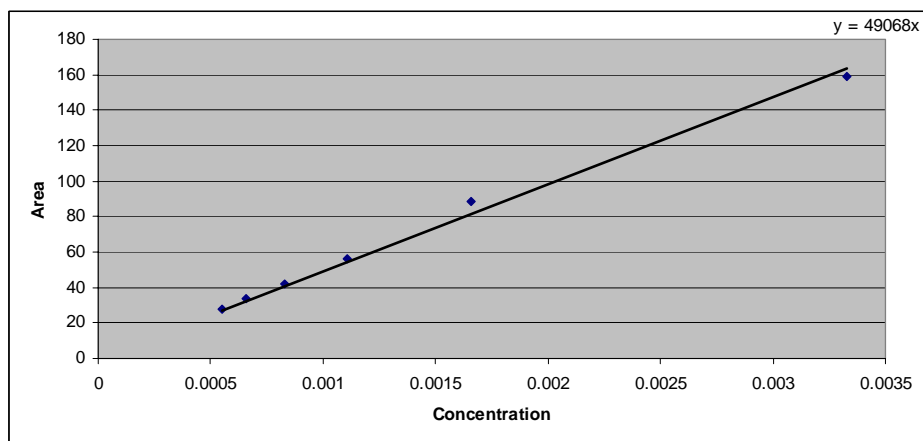
استانداردهای مورد استفاده در این طرح، ترکیبهای کامفرول با فرمول مولکولی C₁₅H₁₀O₆ و با جرم مولکولی 286.2 گرم از شرکت Sigma خریداری شد. ترکیب کوئرستین دی‌هیدرات با فرمول مولکولی C₁₅H₁₀O₇, 2H₂O، با جرم مولکولی 338.27 از شرکت Fluka خریداری شد. میزان ترکیبهای کامفرول و کوئرستین با تهیه منحنی استانداردها به صورت زیر بررسی شد. برای رسم منحنی خط کالیبراسیون جهت ترکیب کامفرول با غلظتهای متفاوتی از پنج نمونه استاندارد با غلظتهای ۶۶، ۸۳، ۱۱۱ و ۱۶۶ (ppm) تهیه و برای رسم منحنی کالیبراسیون ترکیب کوئرستین با غلظتهای متفاوتی از شش نمونه استاندارد با غلظتهای ۵۵، ۶۶، ۸۳، ۱۱۱، ۱۶۶ و ۳۳۳ (ppm) تهیه و بعد به دستگاه تزریق گردید. سپس میزان ترکیبهای کامفرول و کوئرستین در گلبگ گل محمدی محاسبه شدند (شکل ۳ و ۴).

نتایج

بررسی‌های صورت گرفته روی اکسشن‌های موجود در مزرعه تحقیقات گل محمدی نشان دادند که هر ژنوتیپ دارای میزان متفاوتی از دو ترکیب کامفرول و کوئرستین می‌باشد (جدول ۲). از آنجا که حضور این دو ترکیب در گل محمدی برای ما ارزشمند می‌باشد، انتخاب ژنوتیپ مناسب برای صنایع جهت استخراج ترکیبهای فوق از اهمیت خاصی برخوردار است.



شکل ۳- منحنی کالیبراسیون ترکیب کامفرول



شکل ۴- منحنی کالیبراسیون ترکیب کوئرستین

جدول ۲- میزان ترکیبهای کامفرول و کوئرستین در گلبرگ گل محمدی از مناطق غربی کشور

Quercetin (ppm)	Kaempferol (ppm)	اکسشن جمع‌آوری شده	ردیف
۲۳۱	۴۶۱	آذربایجان شرقی ۱	۱
۳۱۲	۴۸۴	آذربایجان غربی ۱	۲
۳۲۲	۴۴۷	اردبیل ۱	۳
۳۰۲	۴۸۳	ایلام ۱	۴
۲۳۹	۲۵۹	چهارمحال ۱	۵
۱۷۶	۳۴۵	زنجان ۱	۶
۱۶۶	۵۰۵	قزوین ۱	۷
۱۷۵	۵۹۵	کردستان ۱	۸
۱۱۷	۷۴	کرمانشاه ۱	۹
۸۰	۸۸	همدان ۱	۱۰

بحث

گل محمدی با نام علمی *Rosa damascena* Mill. از خانواده Rosaceace می‌باشد. ترکیبهای فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین دارای خواص دارویی هستند و برای مقابله با ویروسها و سلولهای سرطانی استفاده می‌شوند (Middleton & Kandaswami, 1993). اصولاً استخراج ترکیبهای کامفرول و کوئرستین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یا به‌عنوان رنگ طبیعی صورت می‌گیرد. این ترکیبها رادیکالهای آزاد در بدن را که باعث سرطان و بیماریهایی از قبیل آترواسکلروز می‌شود، پاکسازی نموده و در پیشگیری از بیماریهای قلبی و عروقی سودمند هستند (Rice-Evans et al., 1996). بررسی میزان این ترکیبها در گیاه به جهت اثرهای دارویی از اهمیت خاصی برخوردار است. در گزارشی بر روی ارزیابی فلاونوئیدهای گلبرگ گل محمدی توسط Mazza و Velioglu (۱۹۹۱) برای جداسازی و اندازه‌گیری فلاونوئیدها در گلبرگ گل محمدی، بیش از ۲۵ پیک ردیابی شده‌اند که ترکیبهایی مانند کامفرول و کوئرستین شناسایی شدند (Middleton & Kandaswami, 1993). فلاونول گلیکوزیدهای استحصالی از پس‌مانده گلبرگ گل محمدی استفاده شده در صنعت برای استخراج اسانس و گلاب توسط Schieber و همکاران (۲۰۰۵) آنالیز و شناسایی شده است. در میان ۲۲ ترکیب اصلی آنالیز شده فقط ترکیبهای کامفرول و کوئرستین گلیکوزید ردیابی شدند. همچنین، براساس عطر گل، چندین کوئرستین استیل شده و کامفرول گلیکوزیدها و بعضی از دی‌ساکاریدها برای اولین بار شناسایی شدند. ترکیب کامفرول گلیکوزید، به همراه آگلیکون کامفرول، ۸۰ درصد از مجموع ترکیبهای شناسایی شده را تشکیل

می‌دادند. بالاترین مقدار فلاونول تقریباً ۱۶ گرم در کیلوگرم براساس وزن خشک دوباره ارزیابی شده از تقطیر گلبرگ گل محمدی نشان داد که این گیاه منبعی از ترکیبهای فنلی می‌باشد که ممکن است به‌عنوان جزئی از غذا و همچنین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یا به‌عنوان افزودن رنگ بکار رود (Schieber et al., 2005). در این مطالعه، استخراج و اندازه‌گیری دو ترکیب فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین از گلبرگهای گل محمدی با توجه به بررسی منابع مورد نظر انجام شد. این روش براساس مقاله‌ای که توسط Daigle و Conkerton در سال ۱۹۸۲ روی ۳۴ فلاونوئید توسط دستگاه HPLC انجام شده بود و شامل ترکیبهای کامفرول و کوئرستین نیز می‌شد، انجام گردید. با توجه به اینکه اکسشن‌های گل محمدی از مناطق غربی ایران در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در سال ۱۳۷۸ کشت شده بودند و نمونه‌برداری در سال ۱۳۸۵ انجام گردید نتایج حاصل از این تحقیق در یک شرایط محیطی یکسان بدست آمده است.

نتایج بدست آمده نشان داد که در شرایط کشت موجود بیشترین میزان کامفرول در نمونه‌های کردستان (۵۹۵ ppm)، قزوین (۵۰۵ ppm)، آذربایجان غربی (۴۸۴ ppm) و ایلام (۴۸۳ ppm) بود و بیشترین میزان کوئرستین در نمونه‌های اردبیل (۳۲۲ ppm)، آذربایجان غربی (۳۱۲ ppm)، ایلام (۳۰۲ ppm) و چهارمحال بختیاری (۲۳۹ ppm) وجود دارد.

با توجه به اثرهای دارویی ذکر شده در بالا، شرکتهای دارویی که این نوع مواد را در محصولات خود استفاده می‌نمایند، می‌توانند با استفاده از نتایج نسبت به استحصال صنعتی این ترکیبها برای محصولات خود اقدام نمایند.

منابع مورد استفاده

- Middleton, J.R.E. and Kandaswami, C., 1993. The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity in inflammation and cancer. 619-659, In: Harborne J.B. (ed.), The flavonoids. Advances in Research Science, Chapman & Hall, London, 733p.
- Ozkan, G., Sagdic, O., Baydar, N.G. and baydar, H., 2004. Antioxidant and anti bacterial activities of *Rosa damascene* flower extracts. Food Science and Technology International, 10: 277-281.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Pagange, G., 1996. Free radical biology and medicine, 20: 933-956.
- Schieber, A., Mihalev, K., Berardini, N., Mollov, P. and Carle, R., 2005. Flavonol glycosides from distilled petals of *Rosa damascena* Mill. Zeitschrift fur Naturforschung [C], 60(5/6): 379-384.
- Velioglu, Y.S. and Mazza, G., 1991. Characterization of flavonoids in petals of *Rosa damascena* by HPLC and spectral analysis. Journal of Agriculture Food Chemistry, 39: 463-467.
- Daigle, D.J. and Conkerton, E.J., 1982. High-performance liquid chromatography of 34 selected flavonoids. Journal of Chromatography, 240: 202-205.
- Harborn, J.B., 1986. Plant flavonoids in biology and medicine. 231-242, In: Cody V., Middleton, E. and Harborne, J.B., (eds.), Progress in clinical and biological research, Alan R. Liss, New Yourk, 614p.
- Mahmood, N.S., Piacente, C., Pizza, A., Bueke, A., Khan, I. and Hay, A.J., 1996. The anti-HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from *Rosa damascene*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 229(1): 73-79.
- Merck Index, 2001. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 13th Edition, Kaempferol., page 944, Merck Research Laboratories Division of Merck Company, Whitehouse Statio, USA, 5293p.

Extraction and determination of Kaempferol and Quercetin in petals of 10 genotypes of *Rosa damascena* Mill. from western Iran

K. Jaimand^{1*}, M.B. Rezaee², M.H. Asareh³, S.R. Tabaei Aghdai³ and S. Meshkizadeh²

1*- Corresponding author, Department of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Iran
E-mail: Jaimand@rifir-ac.ir

2- Department of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Iran

3- Department of Biotechnology, Research Institute of Forests and Rangelands, Iran

Received: August 2008

Revised: August 2009

Accepted: August 2009

Abstract

Flavonoid components are the largest phenolic groups in nature. Pigments are primarily responsible for the color of rose petals (the colorless flavonoids aid the intensification and stabilization of petals color). The aim of this research was extraction and determination of flavonoid compounds kaempferol and quercetin in petals of *Rosa damascena* from western of Iran and cultivated in Research Institute of Forests and Rangelands. Samples were collected on late April 2006. A 5 g fresh flower petals was blended with 30 ml of 9:1 methanol:acetic acid, the extract was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Two flavonoids kaempferol and quercetin glycoside compounds were extracted from ten samples. The highest kaempferol content were obtained from Kordestan (595 ppm), Qazvine (505 ppm), West Azarbaijan (484 ppm), and Ilam (483 ppm), and the lowest from Kermanshah (74 ppm), Hamedan (88 ppm) and Lorestan (Poldokhtar) (252 ppm). The highest quercetin glucoside contents were obtained from Ardabil (322 ppm), West Azarbaijan (312 ppm), Ilam (302 ppm), and Chahar Mehal (239 ppm), and lowest were from Lorestan (Poldokhtar) (77 ppm), Hamedan (80 ppm), Kermanshah (117 ppm) and Kohkiluyeh (Gachsaran) (158 ppm). According to these results, the best samples were obtained from west Azarbaijan (484 ppm kaempferol, 312 ppm quercetin), Ilam (483 ppm kaempferol, 302 ppm quercetin) and Ardabil (447 ppm kaempferol, 322 ppm quercetin).

Key words: *Rosa damascena* Mill., flavonoids, kaempferol, quercetin, high performance liquid chromatography (HPLC).