

بررسی ویژگی‌های ماکروسکوپی، خرده‌نگاری، شیمیایی و استفاده از آنها در مطالعات سیستماتیک شیمیایی زالزالک گرجی (*Crataegus pontica* C. Koch)

نصراله قاسمی دهکردی، علیرضا قنادی* و علیرضا خباز مهرجردی
گروه فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

جنس *Crataegus* در ایران پراکندگی وسیعی دارد. این جنس متعلق به خانواده Rosaceae بوده، ۱۷ گونه آن در ایران موجود است، که یکی از آنها گونه زالزالک گرجی (*Crataegus pontica* C. Koch) است. در این مطالعه ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی این گیاه بررسی و این خصوصیات با آنچه در منابع ذکر شده است، مقایسه شد. با بررسی ترکیبات پلی فنلیک موجود در گیاه *C. pontica* طبق روش کروماتوگرافی لایه نازک، نوع احتمالی برخی از فلاونوئیدها و اسیدهای هیدروکسی سینامیک موجود در گیاه مشخص شد. هیپروزید، روتین و کلروژنیک اسید مهم‌ترین فلاونوئیدها و هیدروکسی سینامیک اسید موجود در این گونه هستند. همچنین، در بررسی کمی فلاونوئیدهای گیاه، طبق روش پیشنهادی فارماکوپه آلمان، میزان فلاونول‌های کل اجزای مهم گیاه، شامل برگ، گل و میوه بر اساس هیپروزید اندازه‌گیری شد. با توجه به این که فلاونوئیدها به طور مشخص برای تعیین رابطه‌های سیستماتیک شیمیایی در برخی از گیاهان استفاده می‌شوند، در این تحقیق به بررسی و مقایسه گونه زالزالک گرجی با سه گونه دیگر از همین جنس شامل *C. monogyna* Jacq.، *C. melanocarpa* M. Bieb.، *C. curvisepala* Lind. که در ایران موجود هستند و همچنین گونه استاندارد دارویی این گیاه؛ یعنی *C. oxyacantha* L. پرداخته شد. طی این بررسی‌ها، مشخص شد که در تمام این گونه‌ها هیپروزید، روتین و کلروژنیک اسید سه ترکیب اصلی و مشترک هستند.

واژه‌های کلیدی: *Crataegus pontica*، کلروژنیک اسید، روتین، سیستماتیک شیمیایی، هیپروزید

مقدمه

پراکندگی زیادی است و ۱۷ گونه آن در ایران وجود دارد (مظفریان، ۱۳۷۵). گیاه زالزالک گرجی با نام علمی *Crataegus pontica* C. Koch گونه‌ای متعلق به این جنس است (Ozcan et al., 2005). از گیاهان این جنس به طور وسیع در طب سنتی و گیاه درمانی

بیش از ۲۸۰ گونه از جنس (*Crataegus*-Ching) (Yee et al., 2010) در سراسر جهان، شامل اروپا، خاور میانه، آسیای جنوب شرقی و آمریکای شمالی وجود دارد (Raul et al., 2009). این جنس در ایران دارای

همچنین، این ترکیبات معمولاً به راحتی شناسایی می‌شوند (Lai Fang *et al.*, 2001). با توجه به موارد فوق، فلاونوئیدها بیش از همه ترکیبات ثانویه گیاهی در مطالعات تاکسونومی استفاده می‌شوند (Svehlikova *et al.*, 2002; Albach *et al.*, 2005; Husain *et al.*, 1982).

زالزالک گرجی با نام علمی *C. pontica* C. Koch درختی است با ارتفاع ۶ تا ۱۰ متر که دارای ساقه باریک و محکم با پوست قهوه‌ای مایل به خاکستری و دارای شکاف‌های عمیق طولی است و برگ‌های آن تخم‌مرغی-بادبزی شکل است، دم‌برگ آن کوتاه و گل آن سفید و میوه آن تقریباً کروی و به رنگ زرد طلایی (قهرمان، ۱۳۷۶) و نارنجی (Donmez, 2005) است. انتشار این گونه از ارمنستان و قفقاز و ایران تا ترکیه پیش می‌رود (ثابتی، ۱۳۷۳) و پراکندگی آن شامل قسمت‌های شمال غرب و غرب و مرکز ایران است (خاتمساز، ۱۳۷۱).

در این تحقیق به بررسی ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی مقدماتی گیاه پرداخته شد، سپس با بررسی کیفی و کمی فلاونوئیدها و اسیدهای هیدروکسی سینامیک موجود در آن به بررسی رابطه‌های سیستماتیک شیمیایی آن با گونه‌های *C. melanocarpa* M., *C. monogyna* Jacq. و *C. curvisepala* Lind. و Bieb. که در ایران موجود هستند و همچنین، گونه استاندارد دارویی آن یعنی *C. oxyacantha* L. که در بیشتر نقاط دنیا از آن به عنوان داروی اصلی این جنس گیاهی استفاده می‌شود؛ پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه: اندام‌های مختلف دارویی گیاه *C. pontica* از شهرستان ایوان غرب، در اردیبهشت و

کشورهای اروپایی برای درمان برخی از بیماری‌های قلبی-عروقی استفاده می‌شود (فارماکوپه گیاهی ایران، ۱۳۸۱؛ Xiao-Ping *et al.*, 2010). آثار درمانی گونه‌های زالزالک به خاطر ترکیبات پلی‌فنلیک موجود در آن است (Xiao-Ping *et al.*, 2010). عصاره این گیاه غنی از فلاونوئید و اسیدهای هیدروکسی سینامیک است (Predrag *et al.*, 2005). بیشتر محصولات حاصل از برگ و گل این گیاه بر اساس فلاونوئید تام آن استاندارد شده‌اند (Wieland *et al.*, 2008). نوع، میزان و درصد فلاونوئیدها نشانه کیفیت گیاه است (Urbonaviciute *et al.*, 2006). کلمه فلاونوئید از واژه لاتین فلاوس به معنای زرد رنگ مشتق شده است (Goodwin, 1976)، تا کنون بیش از هزاران ترکیب از دسته فلاونوئیدها از گیاهان مختلف شناسایی و استخراج شده است (Craker and Simon, 1992). آثار بیولوژیک متعددی را در گیاهان به فلاونوئیدها نسبت می‌دهند. این ترکیبات نقش دفاع در برابر پاتوژن‌های گیاهی (Street and Cockburn, 1972)، تأثیرگذار در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و همچنین، نقش احتمالی در فتوسنتز را دارا هستند (Goodwin, 1976; Harborne *et al.*, 1976).

الگوی کیفی و کمی فلاونوئیدها به طور مشخص در شناسایی سیستماتیک شیمیایی استفاده می‌شود (Husain *et al.*, 1982; Ringl *et al.*, 2007). این ترکیبات به طور گسترده‌ای نسبت به سایر ترکیبات ثانویه در گیاهان پراکندگی دارند، در نتیجه استفاده از آنها به عنوان مارکر در مطالعات سیستماتیک شیمیایی محدود نیست. علاوه بر این، به نظر می‌رسد فلاونوئیدها جزو پایدارترین مواد مؤثره گیاهی باشند و همچنین تغییرات کیفی آنها در سطح گونه‌ها بسیار محدود است.

عصاره‌گیری: پودر اندام‌های مختلف در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد مخلوط و در داخل یک ارلن عصاره‌گیری و سپس صاف گردید (Wagner *et al.*, 1999).

کروماتوگرافی لایه نازک (TLC): با بهره‌گیری از روش کروماتوگرافی لایه نازک و استفاده از فاز ثابت سیلیکاژل 60G و فاز متحرک اتیل استات-فرمیک اسید-اسید استیک گلاسیال-آب (۱۰۰-۱۱-۱۱) (۲۷) اقدام به کاشت عصاره حاصله از مرحله قبل بر روی صفحات شد. پس از گسترش حلال بر روی صفحات از معرف Natural product/Polyethylenglycol 4000 برای ظهور لکه‌های فلاونوئیدی موجود در گیاه استفاده شد (Wagner *et al.*, 1999).

تعیین کمی فلاونوئیدها (فلاونول‌ها) بر اساس هیپروزید: با استناد به وجود فلاونول گلیکوزیدها در گونه‌های گیاه زالزالک گرجی (Wagner, 1988; Wichtl, 1989) و با استفاده از روش مندرج در فارماکوپه گیاهی ایران، درصد فلاونوئیدهای قسمت‌های مختلف گیاه اندازه‌گیری شد (احمدی، ۱۳۷۴؛ فارماکوپه گیاهی ایران، ۱۳۸۱؛ Ghassemi Dehkordi and Ghannadi, 1993) هر تعیین مقدار سه مرتبه تکرار گردید.

۰/۲ گرم از اندام مورد نظر گیاه را در بالن ریخته، مخلوطی از ۱ میلی‌لیتر متنامین یا هگزامتیلن تترآمین ۰/۵ درصد در آب، ۲۰ میلی‌لیتر استون و ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲۵ درصد به آن افزوده شد و پس از رفلکس به مدت نیم ساعت، صاف شده و در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و مجدداً پودر در دو مرحله و هر بار ده دقیقه با ۲۰ میلی‌لیتر استون رفلکس و به مخلوط قبلی اضافه گردید و نهایتاً با استون به حجم رسانده شد. به ۲۰ میلی‌لیتر از این محلول، مخلوطی از

شهریورماه ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ جمع‌آوری شد. این شهر دارای طول جغرافیایی ۴۶ و ۱۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۴۹ دقیقه است، که در شمال غرب استان ایلام واقع شده و متوسط ارتفاع آن از سطح دریا ۱۱۷۰ است. منطقه ایوان غرب، منطقه‌ای از حوزه زاگرس با چین‌خوردگی‌های وسیع است (نوری، ۱۳۷۹). شناسایی سیستماتیک گیاه در دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام پذیرفت.

خشک کردن نمونه‌ها: گیاهان پس از جمع‌آوری در سایه و در معرض جریان هوا خشک شدند. اندام‌های مختلف گیاهی شامل گل، برگ و میوه به قطعات کوچکتر تقسیم شده، پس از خشک شدن در محل خنک قرار گرفته تا از فساد و پوسیدگی آنها جلوگیری شود (عسگری، ۱۳۷۸؛ صمصام شریعت، ۱۳۷۲).

بررسی ماکروسکوپی: در بررسی‌های ماکروسکوپی، ویژگی‌های ظاهری گل، برگ و میوه گیاه *C. pontica* مشخص و با گیاه *C. oxyacantha* مقایسه شد، سپس نمونه‌ها برای خشک کردن آماده شدند (Ghassemi Dehkordi *et al.*, 1996).

شناسایی میکروسکوپی: به منظور انجام آزمایش‌های میکروسکوپی و خرده‌نگاری، پودر گل و برگ گیاهان مورد مطالعه، توسط روش‌های میکروسکوپی معمول و با استفاده از محلول کلرال هیدراته بررسی شد (Ghassemi Dehkordi *et al.*, 1996; Eschrich, 1986).

آزمایش‌های فیتوشیمیایی: با توجه به وجود فلاونوئیدها و اسیدهای هیدروکسی سینامیک به عنوان اصلی‌ترین مواد متشکله گیاه، بررسی دقیق‌تر، شامل شناسایی و تعیین کمی بر روی این دسته از مواد گیاه صورت گرفت.

فرمول تجربی (۱):

$$\text{جذب } 625 \times \frac{\text{درصد فلاونولها بر اساس هیپروزید}}{A 1\%_{1cm} \times \text{وزن } (g)}$$

نتایج

نتایج ماکروسکوپی: نتایج حاصل از بررسی

ماکروسکوپی در جدول شماره ۱ گزارش شده است.

نتایج میکروسکوپی: نتایج حاصل از این بررسی در

شکل شماره ۱ آورده شده است.

نتایج حاصل از کروماتوگرافی لایه نازک

عصاره: طبق روش ارائه شده در قسمت مواد و روش‌ها،

پس از انجام کروماتوگرافی وجود لکه‌هایی با R_f معادل

۰/۳۵، ۰/۴۵ و ۰/۵۵ در مخلوط گُل و برگ

C. pontica و *C. oxyacantha* اثبات شد که با توجه

به رنگ لکه در طول موج ۳۶۵ نانومتر و مقایسه R_f و

رنگ حاصله با استانداردهای موجود، این لکه‌ها به

ترتیب مربوط به روتین، کلروژنیک اسید و هیپروزید

است (Wagner *et al.*, 1999).

نتایج حاصل از تعیین کمی فلاونول‌های

گیاهی: نتیجه حاصل از اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدها

طبق روش کار در جدول ۲ ارائه شده است.

۲۰ میلی‌لیتر آب و ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات اضافه شد و

پس از به هم زدن، فاز اتیل استانی به یک ارلن ۵۰

میلی‌لیتر منتقل گردید. فاز آب و استون نیز در سه

مرحله و هر بار با ۱۰ میلی‌لیتر اتیل استات استخراج شد

و فازهای اتیل استاتی به اتیل استات قبلی افزوده گردید.

مجموعه فازهای اتیل استاتی، دوبار و هر مرتبه با ۵۰

میلی‌لیتر آب مخلوط و تکان داده شده (دکانه)، در

نهایت در یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد.

به ۱۰ میلی‌لیتر از این محلول، ۱ میلی‌لیتر از محلول ۲

درصد کلرور آلومینیوم در استیک اسید ۵ درصد در

متانول افزوده گردید و در یک بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری

به حجم رسانده شد. جذب محلول حاصله پس از نیم

ساعت در طول موج ۴۲۵ نانومتر در مقابل محلول شاهد

اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول تجربی (۱)، درصد

فلاونول‌ها بر اساس هیپروزید محاسبه گردید. برای تهیه

محلول شاهد، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول نمونه اتیل استاتی

در بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری ریخته و با محلول ۵ درصد

استیک اسید در متانول به حجم رسانده شد. جذب

محلول یک درصد از هیپروزید معادل ۵۰۰ در نظر

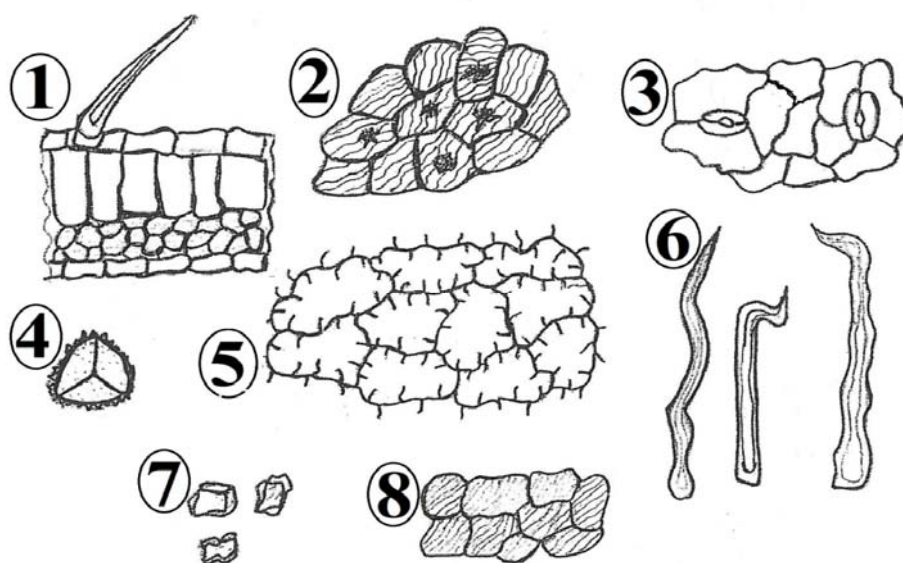
گرفته شد. جذب محلول یک درصد از هیپروزید

معادل ۵۰۰ در نظر گرفته شد و از این فرمول تجربی

برای محاسبه فلاونول‌ها در گیاه استفاده گردید.

جدول ۱- ویژگی‌های ظاهری گیاهان *C. pontica* و *C. oxyacantha*

نام گیاه	<i>C. pontica</i>
برگ	بادبونی تا تخم‌مرغی، به طول ۳ تا ۶ و عرض ۵/۲ تا ۵/۶ سانتی‌متر، دارای ۵ لوب عمیق، دمبرگ کوتاه، با سطح پشتی کرکینه پوش
گل	گل سفید، مجتمع در گل‌آذین‌های حامل تا ۱۴ گل، کاسبرگ‌ها مثلثی، گلبرگ‌ها تخم‌مرغی تا تقریباً مدور، دارای ۲ خامه و به ندرت ۳ تا
میوه	تقریباً کروی، به قطر ۱۲ تا ۱۸ میلی‌متر، به رنگ زرد طلایی و نارنجی و خوراکی، دارای ۲-۳ دانه
نام گیاه	<i>C. oxyacantha</i>
برگ	واژ تخم‌مرغی تا تخم‌مرغی پهن، به طول ۳ تا ۷ سانتی‌متر و دارای ۳ تا ۷ لوب، دمبرگ ۱ تا ۳ سانتی‌متر و کوتاه، با سطح پشتی کرکینه پوش
گل	گل سفید و صورتی، گل‌آذین‌های دیهیمی حامل تا گل زیاد، گل به قطر ۱۲ تا ۱۷ میلی‌متر، دارای ۱ تا ۳ خامه
میوه	تقریباً کروی، به قطر ۱۰ میلی‌متر و به رنگ قرمز روشن تا ارغوانی تیره و خوراکی، دارای ۱-۳ دانه



شکل ۱- خرده‌نگاری پودر اندام هوایی گیاه *C. pontica*. 1) از برگ در نمای عرضی با تریکوم غیر ترش‌حی نوک تیز؛ 2) اپیدرم برگ در نمای سطحی با شکل موج همراه با کریستال‌های انزالات کلسیم؛ 3) اپیدرم برگ همراه با با روزه‌های هوایی آنموسیتیک؛ 4) گرده‌های گل سه گوش با سطح خارجی پرزی، از نوع *tricolpat*؛ 5) بافت اپیدرم گلبرگ؛ 6) تریکوم‌های غیر ترش‌حی، خمیده و کرم رنگ؛ 7) ذرات کریستال مکعبی به صورت منفرد؛ 8) بافت اندوتسیوم که در محلول کلرال هیدراته سرد قرمز رنگ است.

جدول ۲- درصد فلاونول‌ها در گیاهان مورد بررسی

نمونه	درصد فلاونول بر اساس هیپروزید
مخلوط گل و برگ <i>C. oxyacantha</i>	0.67 ± 0.08
مخلوط گل و برگ <i>C. pontica</i>	0.81 ± 0.10
گل <i>C. pontica</i>	0.34 ± 0.05
برگ <i>C. pontica</i>	0.95 ± 0.10
میوه <i>C. pontica</i>	0.15 ± 0.03

از فرآورده‌های دارویی گیاه زالزالک عمدتاً در درمان بیماری‌های قلبی استفاده می‌شود. خواص آنتی‌اکسیدانت (Xiao-Ping et al., 2010; Ching- Yee et al., 2010)، ضد التهاب و ضد سرطان (Erl-Shyh et al., 2007)، کاهنده قند خون (Alarcon-Aguilara et al., 1998) و کاهنده کلسترول خون در مدل‌های حیوانی (Wieland et al., 2008) برای آن گزارش شده است.

بحث

امروزه علی‌رغم پیشرفت علمی بشر و دستیابی او به داروهای جدید و با تأثیر سریع‌تر، نه تنها توجه به گیاهان دارویی کمتر نشده، بلکه روز به روز بیشتر هم شده است (اصغری، ۱۳۸۵). نزدیک به ۳۰۰ گونه از جنس زالزالک در دنیا شناخته شده است که از نظر زیستی فعال هستند و می‌توانند در علوم مختلف استفاده و بهره‌برداری شوند.

محدود است (Lai Fang et al., 2001).

این شرایط سبب شده است این ترکیبات با موفقیت در مطالعات تاکسونومی در جنس‌های مختلف استفاده شوند. نمونه‌هایی از این جنس‌ها عبارتند از: *Crataegus* (Sinnott and Phipps, 1983)، *Potentilla* (Asker and Frost, 1970)، *Rubus* (Bammi and Olmo, 1966)، *Hierochloe* (Weimarck, 1970)، *Trichosonrhes* (Masao et al., 1987) و گونه‌هایی از سرخس‌ها (Haufler and Giannasi, 1982).

در مطالعه حاضر با بررسی کیفی فلاونوئیدهای موجود در گونه *C. pontica* به روش TLC مشخص شد که این گونه احتمالاً حاوی فلاونوئیدهای هیپروزید، روتین و کلروژنیک اسید است که به صورت لکه‌هایی با R_f معادل ۰/۳۵ (روتین)، ۰/۴۵ (کلروژنیک اسید) و ۰/۵۵ (هیپروزید) روی صفحه سیلیکاژل در بررسی عصاره‌های گیاه ظاهر شدند.

گونه‌های *C. monogyna* و *C. melanocarpa* (محسنی‌فرد، ۱۳۷۴) و *C. curvisepala* (محتاج، ۱۳۷۴) نمونه‌های دیگری از جنس زالزالک هستند که در ایران موجود بوده و قبلاً مورد مطالعاتی مشابه قرار گرفته‌اند. در این مطالعات، فلاونوئیدهای این گونه‌ها از نظر کیفی و کمی بررسی شده‌اند. با مقایسه‌ای که بین نتایج حاصل از این گونه و گونه‌های نامبرده و نیز گونه استاندارد دارویی گیاه یعنی *C. oxyacantha* صورت گرفت، مشخص شد که در همه این گونه‌ها، هیپروزید، روتین و کلروژنیک اسید به عنوان فلاونوئیدها و هیدروکسی سینامیک اسید شاخص موجود هستند.

در بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی اندام‌های گیاه، مشخص شد که برخی از این خصوصیات با آنچه

تأثیرات درمانی زالزالک، به ویژه به واسطه وجود ترکیبات پلی فنلیک موجود در آن است (Xiao-Ping, 2010). فلاونوئیدها به طور وسیعی در سیستماتیک گیاهی نیز به کار گرفته شده‌اند (جود و همکاران، ۱۳۸۶؛ Husain et al., 1982). سیستماتیک شیمیایی یا کموسستماتیک علم کاربرد و استفاده از اطلاعات ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه در مسائل مختلف سیستماتیک گیاهی است (جونز و لوچ سینگر، ۱۳۶۹). مواد شیمیایی به طور وسیعی در سیستماتیک گیاهی از تحلیل تنوعات فرگونه‌ای گرفته تا تعیین روابط تبارشناختی خانواده‌ها و گروه‌های تاکسونومیک بالاتر استفاده می‌شوند (جود و همکاران، ۱۳۸۶). پلی فنل‌ها در میان مارکرهای شیمیایی موجود در گیاهان، گسترده‌ترین استفاده را در مطالعات سیستماتیک شیمیایی دارند. در میان گروه‌های مختلف فنلی، فلاونوئیدها ترکیباتی هستند که با بیشترین موفقیت به کار رفته و شاید مفیدترین دسته از ترکیبات ثانویه گیاهی از دیدگاه سیستماتیک باشند. در طول ۳۰ سال گذشته، مشخص شده است که فلاونوئیدها می‌توانند در تمام سطوح تاکسونومی تعیین کننده باشند و حتی اثبات شده است که می‌توانند در تشخیص هیبریدهای گیاهی به کار روند.

مزیت فلاونوئیدها نسبت به ترکیبات ثانویه دیگر، این است که این ترکیبات تغییرات ساختاری را نشان می‌دهند و آنها را می‌توان به چندین نوع تقسیم کرد. همچنین توزیع گسترده آنها در گیاهان، باعث عدم محدودیت استفاده از آنها به عنوان مارکر در مطالعات سیستماتیک می‌شود. پایداری شیمیایی و شناسایی راحت و سریع از مزایای دیگر فلاونوئیدهاست و همچنین، تغییرات کیفی آنها در سطح گونه‌ها بسیار

قرمز رنگ بودند نیز دیده شد. بسیاری از خصوصیات میکروسکوپی یاد شده در سایر گونه‌های زالزالک نیز دیده شده است.

به نظر می‌رسد بتوان از فلاونوئیدهای هیپروزید و روتین و نیز کلروژنیک اسید در مطالعات آتی سیستماتیک شیمیایی جنس زالزالک یا حتی سایر جنس های گیاهی گیاهان متعلق به خانواده گل‌سرخیان استفاده نمود، خصوصاً با توجه به این نکته که این سه ترکیب در چندین جنس گیاهی دیگر از زالزالک نیز موجود بوده‌اند (محتاج، ۱۳۷۴؛ محسنی فرد، ۱۳۷۴؛ Sinnott and Phipps, 1983).

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان برای تأمین هزینه این طرح تحقیقاتی به شماره ۳۸۹۳۶۸ تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین، از آقای دکتر سید محمد معصومی (دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه) جهت شناسایی گیاه مورد بررسی در این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

در منابع در مورد سایر گونه‌های گیاه ذکر شده است، یکسان است. نتایج ریخت‌شناسی گیاه نیز تشابهاتی را با سایر گونه‌ها نشان داد (قهرمان، ۱۳۷۶؛ عبدالی، ۱۳۸۹؛ Donmez, 2005, 2009). تفاوت‌های بارزی که در مقایسه با گونه استاندارد دارویی گیاه؛ یعنی *C. oxyacantha* مشاهده شد، شامل شکل برگ و عمیق‌تر بودن لوب‌های آن در *C. pontica* بود. همچنین، دمبرگ‌ها در این گونه نسبت به گونه استاندارد کوتاه‌تر است. گل‌آذین در این گونه متراکم‌تر و رنگ گل‌ها متفاوت بود. گونه زالزالک گرجی دارای میوه‌های کم رنگ و تعداد دانه‌های میوه آن بیشتر بود.

در خرده‌نگاری اندام هوایی *C. pontica*، اپیدرم برگ با روزنه‌های هوایی و گاهی سلول‌های حاوی کریستال‌های اگزالات کلسیم مشاهده شد. گرده‌های گل نیز از نوع *tricolpat* به تعداد زیاد موجود بودند. ترکیب‌های غیرترش‌حی در شکل‌های خمیده و کرم‌رنگ، به تعداد فراوان مشاهده شدند. قطعاتی از بافت اندوتسیوم که در محلول کلرال هیدراته سرد

منابع

- احمدی، ل. (۱۳۷۴). بررسی مورفولوژی و فیتوشیمیایی گونه‌ای از زالزالک *Crataegus pentagyna* در فلور ایران. رساله دکترای عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان.
- اصغری، غ. (۱۳۸۵). گیاهان دارویی و تولید داروهای گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی، اصفهان.
- ثابتی، ح. (۱۳۷۳). جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات دانشگاه یزد، یزد.
- جود، و.، کمپل، ک.، کلوگ، الف. و استیونس، پ. (۱۳۸۶). سیستماتیک گیاهی (دیدگاهی تبارشناختی). ترجمه سعیدی، ح. سازمان انتشارات جهاد دانشگاهی، واحد صنعتی اصفهان، اصفهان.
- جونز، س. و لوچ سینگر، آ. (۱۳۶۹). سیستماتیک گیاهی (اصول و روش‌های رده‌بندی). ترجمه رحیمی‌نژاد، م. مرکز نشر دانشگاهی، تهران.

- خاتمساز، م. (۱۳۷۱) فلور ایران. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران.
- صمصام شریعت، ه. (۱۳۷۲) عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان و روش های شناسایی ارزشیابی آنها. انتشارات مانی، تهران.
- عبدالی، م. (۱۳۸۹) جمع آوری و شناسایی گیاهان مناطقی از شهرستان ایوان غرب در استان ایلام و بررسی گیاهشناسی و فیتوشیمیایی مقدماتی منتخبی از آنها. رساله دکترای عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان.
- عسگری، غ. (۱۳۷۸) جمع آوری بررسی مقدماتی گیاهان منطقه شاندیز در استان خراسان. رساله دکترای عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان.
- فارماکوپه گیاهی ایران (۱۳۸۱) انتشارات وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران.
- قهرمان، الف. (۱۳۷۶) فلور ایران. جلد ۱۶. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران.
- محتاج، ف. (۱۳۷۴) بررسی مورفولوژی و فیتوشیمیایی گونه ای از زلزاک (*Crataegus curvisepala*) در فلور ایران. رساله دکترای عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان.
- محسنی فرد، پ. (۱۳۷۴) بررسی فارماکونوزی چند گونه *Crataegus* روئیده شده در ایران. رساله دکترای عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان.
- مظفریان، و. (۱۳۷۵) فرهنگ نام های گیاهان ایران. فرهنگ معاصر، تهران.
- نوری، ش. (۱۳۷۹) مطالعه زمین شناسی و جغرافیایی ایوان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه اصفهان، اصفهان.
- Alarcon-Aguilara, F., Roman-Ramos, R. and Perez-Gutierrez, S. (1998) Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 61: 101-110.
- Albach, D., Grayer, R., Kite, G. and Jensen, S. (2005) Veronica: Acylated flavone glycosides as chemosystematic markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 33: 1167-1177.
- Asker, S. and Frost, S. (1970) The "Potentilla collina problem": a chemotaxonomic approach. *Hereditas* 66: 49-69.
- Bammi, R. and Olmo, H. (1966) Cytogenetics of *Rubus*. V. Natural hybridization between *R. procerus* P. J. Muell. and *R. laciniatus* Willd. *Evolution* 20: 617-633.
- Ching-Yee, K., Candy, N., Mabel, Y. and Peter, H. (2010) Consumption of dried fruit of *Crataegus pinnatifida* (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Journal of Functional Foods* 2: 179-186.
- Craker, L. and Simon, J. (1992) Herbs, spices and medicinal plants: Recent advances in botany, horticulture and pharmacology. Oryx Press, Phoenix.
- Donmez, A. (2005) A new species of *Crataegus* (Rosaceae) from Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society* 148: 245-249.
- Donmez, A. (2009) *Crataegus Zarrei* (Rosaceae), A new species from Iran. *Annales Botanici Fennici* 46: 439-442.
- Erl-Shyh, K., Chau-Jong, W and Wea-Lung, L. (2007) Effects of polyphenols derived from fruit of *Crataegus pinnatifida* on cell transformation, dermal edema and skin tumor formation by phorbol ester application. *Food and Chemical Toxicology* 45: 1795-1804.
- Eschrich, W. (1986) *Pulver atlas der drogen*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

- Ghassemi Dehkordi, N. and Ghannadi, A. (1993) A study on the morphology and phytochemistry of some Iranian Equisetum species. *Planta Medica* 59: 63.
- Ghassemi Dehkordi, N., Ghannadi, A. and Mohtaj, F. (1996) Morphological and phytochemical investigations on *Crataegus curvisepala* and *Crataegus oxyacantha*. *Daru Journal of Pharmaceutical Sciences* 6: 25-36.
- Goodwin, T. (1976) Chemistry and biochemistry of plant pigments. Academic Press, London.
- Harborne, J., Mabry, T. and Mabry, H. (1975) The Flavonoids. Chapman and Hall, London.
- Haufler, C. and Giannasi, D. (1982) A chemosystematic survey of the fern genus *Bommeria*. *Biochemical Systematics and Ecology* 10: 107-110.
- Husain, S. Z., Heywood, V. H. and Markham, K. R. (1982) Distribution of flavonoids as chemotaxonomic markers in the genus *Origanum* L. and related genera in Labiatae. In: Aromatic plants- basic and applied aspects. (eds. Margaris, N., Koedam, A. and Vokou, D.) 141-153. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague.
- Lai Fang, N., Bahorun, T. and Khittoo, G. (2001) Chemosystematics: a new source of evidence for the classification of the endemic flora of Mauritius. In: AMAS 2001, Food and Agricultural Research Council, Reduit.
- Masao, Y., Hiroharu, F., Mihoko, M., Munehisa, A. and Naokata, M. (1987) A chemosystematic study of flavonoids in the leaves of six *Trichosonrhes* species. *Phytochemistry* 26: 2557-2558.
- Ozcan, M., Hacıseferogulları, H. and Marakoglu, H. (2005) Hawthorn (*Crataegus* spp.) fruit. some physical and chemical properties. *Journal of Food Engineering* 69: 409-413.
- Predrag, L., Irina, P. and Uri, C. (2005) Antioxidant activity of *Crataegus aronia* aqueous extract used in traditional Arab medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 101: 153-161.
- Raul, N., Sergio, A. and Carlos, A. (2009) Seed and endocarp traits as markers of the biodiversity of regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from Central and Southern Mexico. *Scientia Horticulturae* 121: 166-170.
- Ringl, A., Prinz, S., Huefner, A., Kurzmann, M. and Kopp, B. (2007) Chemosystematic Value of Flavonoids from *Crataegus x macrocarpa* (Rosaceae) with special Emphasis on (*R*)- and (*S*)-Eriodictyol-7-*O*-glucuronide and luteolin-7-*O*- glucuronide. *Chemistry and Biodiversity* 4: 154-162.
- Sinnott, Q. and Phipps, J. (1983) Variation patterns in *Crataegus* series Pruinosa (Rosaceae) in Southern Ontario. *Systematic Botany* 8: 59-70.
- Street, H. and Cockburn, W. (1972) Plant Metabolism. Pergamon Press, Oxford.
- Svehlikova, V., Mraz, P., Piacente, S. and Marhold, K. (2002) Chemotaxonomic significance of flavonoids and phenolic acids in the *Hieracium rohacsense* group (*Hieracium* sect. *Alpina*; Lactuceae, Compositae). *Biochemical Systematics and Ecology* 30: 1037-1049.
- Urbonaviciute, A., Jakstas, V. and Kornysova, O. (2006) Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. *Journal of Chromatography A* 1112: 339-344.
- Wagner, H. (1988) Pharmazeutische biologie, 2, Drogen und ihre Inhaltsstoffe, 4 auflage. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Wagner, H., Baldt, S. and Zaginski, E. (1999) Plant drug analysis. Springer-Verlag, New York.
- Weimarck, G. (1970) Spontaneous and induced variation in some chemical leaf constituents in *Hierochloe* (Graminae). *Botanical Notiser* 123: 231-266.
- Wichtl, M. (1989) Teedrogen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mit beschränkter Haftung.

Stuttgart.

Wieland, P., Christine, B. and Andreas, P. (2008) Variability of total flavonoids in *Crataegus* - Factor evaluation for the monitored production of industrial starting material. *Fitoterapia* 79: 6-20.

Xiao-Ping, D., Xin-Tang, W. and Lin-Lin, C. (2010) Quality and antioxidant activity detection of *Crataegus* leaves using on-line high-performance liquid chromatography with diode array detector coupled to chemiluminescence detection. *Food Chemistry* 120: 929-933.

Microscopical, macroscopical and chemical investigations and their uses in chemotaxonomy of *Crataegus pontica* C. Koch

Nasrollah Ghassemi Dehkordi, Alireza Ghannadi * and Alireza Khabbaz Mehrjardi

Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,
Isfahan University of Medical Sciences and Health Services, Isfahan, Iran

Abstract

The *Crataegus* genus is widely distributed in Iran. This genus belongs to Rosaceae family and has 17 species in Iran one of which is *Crataegus pontica* C. Koch. In this paper, we analyzed some microscopic and macroscopic characteristics of this plant, then compared them with other features that were presented previously in previous reports. We analyzed all components in *C. pontica*, using thin layer chromatography method and then specified the type of flavonoids and hydroxycinnamic acid in *C. pontica*. Hyposide, rutin and chlorogenic acid were the main flavonoids and hydroxycinnamic occurred acid in this plant. Also, we analyzed its flavonoids quantitatively based on Deutsch Pharmacopoeia method according to hyposide content. Because, to determine the chemosystematic relevancies in some species flavonoids are used, so in this paper we compared *C. pontica* with 3 other species of its genus such as *C. monogyna*, *C. melanocarpa* and *C. curvisepala* that are found in Iran, and also with the medicinal standard species of *Crataegus* genus which is called *C. oxyacantha*. Finally we concluded that hyposide, rutin and chlorogenic acid were the main and common structural components in all species of that genus which were mentioned above.

Key words: *Crataegus pontica*, Chlorogenic acid, Rutin, Chemotaxonomy, Hyposide

*Corresponding Author: ghannadi@pharm.mui.ac.ir