



جمهوری اسلامی ایران
وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

فصلنامه پژوهشی
تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

جلد ۲۰ شماره ۱ سال ۱۳۸۳

فهرست مطالب

- شناسایی و بررسی اکولوژیکی دو جنس از گیاهان معطر (*Thymus, Ziziphora*)
در استان کردستان جمال حسینی
۱
- استخراج، جداسازی و شناسایی فلاونوئیدهای کونترستین و روپینین از گیاه
Robinia pseudoacacia L.
۱۹
- فاطمه سفیدکن، اعظم آقا ولی جماعت، مختار علی‌نیا رودسری و کامکار چاپمند
معرفی گیاهان دارویی کوهستان زیارت گرگان
۳۹
- معصومه مازندرانی، مهرداد کسایی و محمدباقر رضایی
شناسایی ترکیبهای اسانس گیاه *Geranium rotundifolium L.*
۵۹
- محمد مهدی برزننده
بررسی پراکنش جغرافیایی و ویژگیهای مورفولوژیکی توده‌های مختلف گیاه
Zizyphus jujuba Mill از ایران حسین خاکفامن و عباس پورمیلانی
۶۹
- بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانس گل و برگ گیاه *Achillea eriophora DC* با
روشهای تقطیر
۸۹
- کامکار چاپمند و محمد باقر رضایی
بررسی تأثیر بهره‌برداری در ادامه حیات گیاه *Ferula gumosa Boiss* در شرایط
مزرعه
۹۹
- محمد ددپس، پرویز باباخانیلو، محمدعلیها، مصطفی گنویپر و فرهنگ جعفری
بررسی عملکرد گل و صفات مورفولوژیکی در تعدادی از ژنوتیپهای گیاه
Rosa damascena Mill
۱۱۱
- سیدرضا طباطبائی نقیایی، محمد باقر رضایی و مریم جلیلی

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فصلنامه پژوهشی تمقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

- صاحب امتیاز: مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
- مدیر مسئول: عادل جلیلی (دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع)
- سردبیر: محمد باقر رضایی (دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع)

- هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا)

پرویز باباخانلو استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع	کامکار جابمند استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع	پرویز اولیاء دانشیار، دانشگاه شاهد
حسین حیدری شریف آباد دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع	محمدجواد رسایی استاد، دانشگاه تربیت مدرس	نادر حسن زاده دانشیار، مؤسسه تحقیقات و بیماری‌ها
محمدباقر رضایی دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع	فاطمه سفیدکن دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع	ایرج رسولی دانشیار، دانشگاه شاهد
پیمان صالحی دانشیار، دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده گیاهان دارویی	عباس صیامی استادیار، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم پایه	محمدرضا شمس اردکانی دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران
محسن کافی استادیار، دانشگاه تهران	ابوالقاسم متین استاد سازمان تحقیقات و آموزش وزارت جهاد کشاورزی	سید رضا طبائی عقدائی استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
مه‌لقا قربانلی استاد، دانشگاه تربیت معلم	غلامرضا نبی دانشیار، دانشگاه تهران، دانشکده محیط زیست	فریبرز معطر استاد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

مدیر اجرایی و داخلی: کامکار جابمند استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

دبیر کمیته انتشارات مؤسسه: شاهرخ کریمی

تیراژ: ۱۵۰۰ جلد

ویراستار ادبی: هوشنگ فرخجسته

صفحه‌آرا: سارا شیراسب

ناظر چاپ: حسن سالارنیا

لینوگرافی، چاپ و صحافی: فرشیوه

هیأت تحریریه، در رد، مختصر کردن و ویرایش مقالات مجاز است. همچنین مقالات ارسالی عودت داده نمی‌شود.

* نقل مطالب و تصاویر نشریه با ذکر ماخذ بلامانع است.

نحوه اشتراک: تکمیل فرم اشتراک و ارسال آن به آدرس فصلنامه از طریق پست.

نشانی: تهران، کیلومتر ۵ آزاد راه تهران - کرج، خروجی پیکان‌شهر، انتهای ۲۰ متری دوم، بلوار مؤسسه تحقیقات

جنگلها و مراتع، فصلنامه پژوهشی تمقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵، تلفن: ۰۵-۴۱۹۵۹۰۱، شماره: ۴۱۹۵۹۰۷

پست الکترونیکی: ijmapr@rifr-ac.ir

بهاء: ۱۸۰۰۰ ریال

خلاصه مقاله‌های انگلیسی این مجله در سایت اینترنتی *CABI Publishing* به آدرس زیر قرار گرفته است:

www.Cabi-Publishing.org

اساتید محترمی که جهت داوری مقالات جلد ۱۹ شماره‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ در سال ۱۳۸۲ با فصلنامه
تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران همکاری داشته‌اند

دکتر حسن ابراهیم‌زاده	دکتر سودابه احمد کروی	مهندس محمد بابایی
مهندس زهرا باهرنیک	مهندس محمد مهدی برازنده	دکتر مهرداد تبریزیان
دکتر فریدون ترمه	دکتر امیررضا جاسبی	دکتر علی جعفری مفیدآبادی
دکتر زیبا جمزاد	مهندس محمد دینی	دکتر طیبه رجیبیان
مهندس اسماعیل رهبر	دکتر عباس زارع	دکتر محمد حسین سالاری
دکتر مرتضی ستاری	دکتر ابراهیم شریفی عاشورآبادی	دکتر هوریه صادری
دکتر محمد طلائیان	دکتر شهربانو عریان	دکتر حسن عسگری
دکتر علیزاده	دکتر یوسف فیلی‌زاده	دکتر مسعود لاریجانی
دکتر محمد حسین لباسچی	دکتر ولی‌ا... مظفریان	دکتر علی اصغر معصومی
دکتر مهدی میرزا	دکتر غلامعلی نادری	دکتر محبت‌علی نادری شهاب
دکتر محسن ناصری	مهندس مهردخت نجف پورنوایی	

بسمه تعالی

راهنمای نگارش مقاله

- رعایت دستورالعمل زیر در نگارش مقاله‌های ارسالی ضروری است.
- مقاله‌های اصیل (Original) پژوهشی در یکی از زمینه‌های تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران که برای نخستین بار منتشر می‌شود جهت چاپ در مجله مورد بررسی قرار خواهند گرفت.
 - عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی، سمت و آدرس کامل نویسنده (گان) در یک صفحه جداگانه درج گردد.
 - مقاله در کاغذ A4 تحت نرم‌افزار WORD، فونت لوتوس، سایز ۱۲، با حاشیه ۳ سانتیمتر از چهار طرف تایپ و در ۳ نسخه همراه با دیسکت یا از طریق پست الکترونیک ارسال شود.
 - فاصله بین خطوط دو برابر در نظر گرفته شود.
 - تا حد امکان از بکاربردن کلمات و اصطلاحات خارجی خودداری و در صورت نیاز با قید شماره به صورت پاورقی ارائه شود.
 - جداول و اشکال باید دارای عنوان گویا بوده و هرگز به صورت دیگری در مقاله تکرار نشوند. ذکر منبع، واحد و مقیاس برای آنها ضروری است، عنوان جداول در بالا و عنوان اشکال در پایین ارائه می‌شوند. جداول و اشکال در صفحات مستقل و در انتهای مقاله ارائه شوند.
 - نامهای علمی لاتینی به صورت ایتالیک تایپ شوند.

روش تدوین

- عنوان مقاله: باید مختصر، گویا و بیانگر محتوی مقاله باشد.
 - چکیده: مجموعه فشرده‌ای (حداکثر ۲۵۰ کلمه) از مقاله شامل تشریح مسئله، روش کار و نتایج بدست‌آمده است. از بکاربردن نامهای خلاصه شده و ارائه منبع، جدول و شکل در چکیده پرهیز شود.
 - واژه‌های کلیدی: حداکثر ۶ واژه درباره موضوع مقاله ارائه شود.
 - مقدمه: شرحی بر موضوع مورد بررسی شامل اهمیت، فرضیه، هدف و پیشینه تحقیق است.
 - مواد و روشها: شامل مواد و وسایل بکاررفته، مشخصات منطقه مورد مطالعه، شیوه اجرای پژوهش، طرح آماری، روشهای شناسایی و تجزیه داده‌هاست.
 - نتایج: در این بخش تمامی یافته‌های کمی و کیفی با استفاده از جدول و شکل ارائه می‌گردند. از بحث و مقایسه با یافته‌های سایر تحقیقات اکیداً خودداری شود.
 - بحث: شامل تحلیل و تفسیر یافته‌ها و مقایسه با نتایج سایر تحقیقات است. نقصها و پیشنهادها می‌توانند در صورت نیاز در این بخش ارائه شوند.
 - سپاسگزاری: در صورت نیاز از کلیه افراد و سازمانهای حمایت کننده تحقیق، تشکر گردد.
 - منابع مورد استفاده:
- فقط منابع استفاده شده در متن قید شوند. ابتدا منابع فارسی و سپس منابع خارجی ارائه شوند.
 - منابع به ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی نویسنده مرتب و به صورت پیوسته شماره گذاری شوند.

- ارائه منبع در متن تنها با ذکر نام خانوادگی نویسنده و سال انتشار منبع صورت می‌گیرد. در منابع با بیشتر از دو نویسنده، نام نویسنده اول و کلمه «همکاران» یا «et al.» نوشته شود.
- در صورتی که مقاله‌های منفرد و مشترک از یک نگارنده ارائه شوند، ابتدا مقاله‌های منفرد و سپس مقاله‌های مشترک به ترتیب حروف الفبای نام سایر نویسندگان مرتب شوند.
- چنانچه نویسنده (گان) چند مقاله مشابه باشند، منابع برحسب سال انتشار از قدیم به جدید تنظیم شوند.
- از ذکر واژه‌های «و همکاران» یا «et al.» در فهرست منابع خودداری شود.

روش ارایه منبع

۱- مقاله: نام خانوادگی، حرف اول نام نویسنده اول، ... و نام خانوادگی، حرف اول نام نویسنده آخر، سال انتشار. عنوان مقاله. نام کامل مجله، شماره جلد (شماره سری): شماره صفحات اول و آخر
 مثال: سلاجقه، ع، جعفری، م. و سرمدیان، ف.، ۱۳۸۱. مطالعه خاکشناسی منطقه طالقان با روش ژئومرفولوژی. مجله منابع طبیعی ایران، ۵۵(۲): ۱۴۳ - ۱۲۳.

Wayne, P.M., Waering, P. and Bazzaz, F.A., 1993. Birch seedling responses to daily time courses of light in enyperimental forest gaps and shadehouses. *Journal of Ecology*, 74(5): 1500 - 1515.

۲- کتاب: نام خانوادگی، حرف اول نام، ... نام خانوادگی، حرف اول نام نویسنده آخر، سال انتشار. عنوان کامل کتاب. ناشر، محل انتشار، تعداد کامل صفحات.

مثال: طباطبائی عقدایی، س.ر. و جعفری مفیدآبادی، ع.، ۱۳۷۹. مقدمه‌ای بر اصلاح درختان جنگلی. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ۱۴۹ صفحه.

Jalili, A. and Jamzad, Z., 1999. Red Data Book of Iran. A Preliminary Survey of Endemic, Rare and Enudangered Plants species in Iran. *Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR) Publication*, Tehran, 750 p.

۳- کتاب یا مجموعه مقاله‌ای که هر فصل یا مقاله آن توسط یک یا چند نویسنده نوشته شده باشد: ارائه نام نویسنده (گان) فصل یا مقاله مطابق دستورالعمل بند ۲ (کتاب)، سال. عنوان فصل یا مقاله، صفحات اول و آخر. در (In): نام خانوادگی، حرف اول نام مؤلف اصلی کتاب، (eds. یا ed.). عنوان کتاب. ناشر، محل انتشار، تعداد کامل صفحات.

مثال:

Agestam, E., 1995. Natural regeneration of beech in Sweden - Some results from a field trial. 117 - 124. In: Madsen. F., (ed.). *Genetics and Silviculture of Beech. Forskingscentret for Skov & Landskab*. 272 p.

خلاصه انگلیسی (Abstract): می‌تواند معادل چکیده فارسی و یا بیشتر از آن و شامل عنوان مقاله، نام خانوادگی، حرف اول نام، سمت و آدرس نویسنده (گان) و واژه‌های کلیدی حداکثر ۶ کلمه (Key words) بوده و در یک صفحه جداگانه ارائه شود.

* جزئیات کاملتر روش نگارش در سایت اینترنتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع www.rifr-ac.ir قابل دسترس است.

استخراج، جداسازی و شناسایی فلاونوئیدهای کوئرستین و روبینین از گیاه
Robinia pseudoacacia L.

فاطمه سفیدکن^۱، اعظم آقا ولی جماعت^۲، مختار علی نیا رودسری^۳
و کامکار جایمند^۴

چکیده

عصاره گل و برگ گیاه از روش استخراج با سوکسله (به کمک حلالهای پترولیوم اتر، بنزن، کلروفرم، استون و متانول) و همچنین روش خوابانیدن در حلال (متانول - آب) به نسبت (۹ به ۱) و سپس حلال (متانول - آب) به نسبت (۱ به ۱) و پس از آن استخراج با کلروفرم و هگزان بدست آمد. پس از خالص سازی و جداسازی عصاره های حاصل توسط HPLC, P.C, کروماتوگرافی ستونی و کروماتوگرافی تابش لحظه ای (Flash chromatography) دو فلاونوئید کوئرستین (Quercetin) و روبینین (Robinin) به صورت خالص بدست آمد. از تمامی عصاره ها و فراکسیونهای حاصل از ستون طیف HPLC و از نمونه های خالص بدست آمده طیف HPLC, ¹HNMR و UV تهیه گردید و ساختمان دو فلاونوئید ذکر شده تأیید گردید.

واژه های کلیدی: *Robinia pseudo acacia*، استخراج، فلاونوئید، کوئرستین، روبینین.

-
- ۱- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، پست الکترونیکی: frsef@rifr-ac.ir.
 - ۲- کارشناس ارشد دانشکده علوم دانشگاه زنجان.
 - ۳- عضو هیأت علمی دانشکده علوم دانشگاه زنجان.
 - ۴- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع.

مقدمه

Robinia pseudoacacia L. درختی است زینتی با گل‌های زیبا، خاردار و به ارتفاع ۶ تا ۲۰ متر که ساقه‌ای پوشیده از پوست خاکستری رنگ با شکافهای عمیق دارد. برگ‌های آن در بهار به رنگ سبز زیبایی در می‌آید. گل‌های آن از ۴ تا ۶ سالگی ظاهر می‌شوند و معمولاً هر ساله در اردیبهشت ماه (در مناطق معتدله) بیرون می‌آیند. گل‌های افاقیا سفیدرنگ، معطر، مجتمع به صورت خوشه‌های پرگل به طول ۲۰ تا ۳۰ سانتیمتر به حالت آویخته هستند. منطقه اصلی انتشار افاقیا، آمریکای شمالی است. ولی امروزه در نواحی مختلف اروپا، آسیای معتدله و ایران نفوذ یافته و در ایران بومی شده و عملاً در تمام مناطق می‌روید.

گل‌های درخت افاقیا، نوش فراوان و عسل معطر و مرغوب ایجاد می‌کنند. افاقیا دارای وارینه‌هایی با گل‌های قرمز و ارغوانی نیز می‌باشد. افاقیا از درختان بسیار مقاوم به خشکی می‌باشد (آزادبخت، ۱۳۷۸ و زرگری، ۱۳۶۷). گل درخت افاقیا، دارای اثرات خفیف آرام کننده، مقوی، قابض، نرم کننده و صفرا بر است و برگ درخت افاقیا اثر صفرا بر و ملین دارد. در طب سنتی از دم کرده گل و برگ درخت افاقیا در رفع سردردهای ناشی از مسمومیتها، سوءهاضمه، استفراق‌های سبک و احساس کسالت‌های عادی استفاده می‌شده است (زرگری، ۱۳۶۷).

در تحقیقاتی که قبلاً در مورد استخراج و شناسایی مواد مؤثر افاقیا انجام شده است مشخص گردیده که چوب این گیاه با خاصیت مقاومت در برابر پوسیدگی حاوی ۴٪ از یک ماده بیرنگ، فعال نوری با نقطه ذوب ۲۲۸ تا ۲۳۰ درجه سانتیگراد می‌باشد. همچنین در برگ‌های افاقیا گلیکوزید آکاستین یافت شد (Freudenberg (a) et al, ۱۹۵۳). همچنین از عصاره گل‌های افاقیا ترکیب دی هیدرو روبینین استخراج شده است (Freudenberg(b) et al, ۱۹۵۳).

در تحقیقی دیگر (Kubota et al, ۱۹۶۶) از عصاره متانولی برگ‌های افاقیا در

کروماتوگرافی کاغذی چهار لکه دیده شده است که دو تا از آنها آکاسیین (acaciin) و آکاستین شناسایی شده و دو لکه دیگر شناسایی نشده‌اند. در پژوهش دیگری جهت بررسی فلاونوئیدهای موجود در میوه نارس و خشک اقاچیا، عصاره‌گیری از یک کیلوگرم میوه طی دوبار استخراج با ۱۰ لیتر آب و طی مراحل مفصل جداسازی و خالص‌سازی و هیدرولیز اسیدی، کوئرستین، d-گالاکتوز و l-رامنوز شناسایی شد (Maksyutina, ۱۹۶۸). همچنین از ریشه اقاچیا ۴ و ۷- دی هیدروکسی فلاون، آپی جنین، نارنجین و ایزولیکورتی جنین استخراج و جداسازی شده است (Wetzel et al, ۱۹۹۵). یک ترکیب فلاونوئیدی دیگر تحت نام رامنوروبین از گلهای اقاچیا جداسازی و شناسایی شده است (Mun et al, ۱۹۷۸). این ترکیب که به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک با سیستم حلالی بوتانول- اسیداستیک- آب تفکیک شده و به وسیله متانول استخراج گردیده است یک جامد سوزنی زرد روشن با نقطه ذوب ۴-۲۳۱ درجه بوده است. براساس تحقیق دیگری که در روسیه بر روی گل‌آذین ۱۲ گونه اقاچیا انجام شده بود، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و ۹ آمینو اسید متیونین، والین، بتا- فنیل - آلفا- آلانین، آمینوآستیک اسید، آسپاراژین، سیستئین، آلانین و پرولین جداسازی و شناسایی شده است. گلهای اقاچیا حاوی کمفرول-۳- اورتو- بتا- دی گالاکتوپیرانوزید، ۷- اورتو- آلفا- ال- رامنوپیرانوزید بود (Osipovich et al, ۱۹۷۵). گلهای اقاچیا همچنین حاوی ترکیبهای معطر خوشبویی هستند که در تحقیقات دیگری به استخراج و شناسایی آنها پرداخته شده است. از جمله اسانس گلهای اقاچیا در روسیه مورد بررسی قرار گرفته و ۹ ترکیب در آن شناسایی شده که عمده‌ترین آنها لیمونن، لینالول، ژرانیول و سیترونلول بوده‌اند (Ismailov et al, ۱۹۸۰). در تحقیق دیگری ترکیبهای فرار گلهای اقاچیا ۲۲ ترکیب گزارش شده که عمده‌ترین آنها دلتا- ۳- کارن و لینالول بوده‌اند (Kamdem et al, ۱۹۹۴). در گزارش دیگری تعداد ترکیبهای معطر گلهای اقاچیا ۱۵ مورد ذکر شده که اجزای اصلی آمینوبنزالدئید، متیل آنترانیلات و لینالول بوده‌اند (Joulain et al, ۱۹۸۶).

ذکر همین نتایج نشان می‌دهد که نوع و درصد ترکیبهای معطر و همچنین فلاونوئیدهای موجود در گل و برگ ااقیا در کشورها و شرایط آب و هوایی مختلف به شدت متفاوت هستند.

به همین دلیل تصمیم گرفتیم تا در این تحقیق به استخراج و اندازه‌گیری ترکیبهای فرار و نیز فلاونوئیدهای ااقیا در ایران بپردازیم. ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس و عصاره مطلق (استخراج با هگزان) گیاه ااقیا را قبلاً گزارش نموده‌ایم (Sefidkon et al, ۲۰۰۲). در این پژوهش ترکیبهای فلاونوئیدی گل و برگ گیاه ااقیا مورد نظر بوده‌اند. لازم به ذکر است که فلاونوئیدها یکی از بارزترین دسته‌های ترکیبهای طبیعی هستند که به دلیل خواص دارویی ویژه مورد توجه هستند. در طی ۵۰ سال گذشته تاثیرات فارما کولوژیکی فلاونوئیدها و مشتقاتشان با روند رو به افزایشی شناخته شده است. تاثیرات اسپاسمی، ضد گلو درد، ضد تومور، ضد زخم، ضد ورم سمی، ضد آلرژی، ضد میکروبی، ممانعت از شکنندگی و خونریزی عروق (Cody et al, ۱۹۸۶) ضد ویروس (Pusztai et al, ۱۹۶۶) و ضد سرطان (Kupchan et al, ۱۹۷۱) این ترکیبها قابل ملاحظه می‌باشد.

مواد و روشها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه

سرشاخه‌های گلدار گیاه *Robinia pseudoacacia* L. در اواخر فروردین و اوایل اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۰ از باغ ملی گیاه‌شناسی ایران واقع در غرب تهران جمع‌آوری گردید. پس از تهیه نمونه هرباریومی نام علمی گونه گیاهی توسط گیاه‌شناسان مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع تأیید شد. گلها و برگهای گیاه از یکدیگر جدا و در دمای محیط و سایه خشک گردید و به طور مجزا توسط آسیا پودر گردید.

استخراج و تهیه عصاره

روش استخراج با سوکسله به کمک حلالهای پترولیوم اتر، بنزن، کلروفرم، استون و متانول برای پودر گل‌های افاقیا (500 g) و برگ‌های آن (270 g) به طور مجزا بکار برده شد. به حاصل هر مرحله (به استثنای عصاره متانولی) پس از تبخیر حلال در خلا و توزین عصاره اولیه، جهت جدا نمودن هیدروکربنهای روغنی سنگین و مومها، به مقدار لازم متانول افزوده شده و پس از هم زدن شدید و نگهداری به مدت یکساعت در دمای 15°C - و صاف نمودن و تبخیر متانول باقیمانده، در نهایت 5 عصاره مطلق برای گل و 5 عصاره مطلق برای برگ بدست آمد.

همچنین برای پودر گل‌های افاقیا (500 g) و برگها (290) به طور مجزا روش خوابانیدن در حلال (متانول - آب) به نسبت (9 به 1) به مدت 12 ساعت و بعد (متانول - آب) به نسبت (1 به 1) به مدت 12 ساعت بکار برده شد. سپس حاصل دو مرحله بهم اضافه شده و به وسیله تقطیر در خلاء، حجم کل به 1/3 رسانده شد. آنگاه با استفاده از قیف جدا کننده و حجمهای 50cc از کلروفرم طی پنج مرحله استخراج صورت گرفت. پس از تبخیر حلال در خلا عصاره مطلق نهایی به وزن (57/ 150 گرم) برای گل و 38/ 57 گرم برای برگ بدست آمد. مراحل فوق بار دیگر، برای 500 گرم پودر گل انجام گردید و این بار جهت استخراج و حذف کلروفیل و چربیها از حلال هگزان استفاده شد. عصاره مطلق این مرحله 26/ 121 گرم بود.

جداسازی و خالص‌سازی

در مرحله استخراج به روش خوابانیدن در حلال و کلروفیل و چربی‌زدایی با هگزان قبل از رساندن حجم به 1/3 جامد زرد مایل به سبزی جداسازی شد که با استفاده از حلالهای پترولیوم اتر، بنزن، کلروفرم، استون و متانول شستشو و خالص‌سازی گردید. در نهایت جامد زرد رنگ خالصی بدست آمد که HD نامگذاری شد.

همچنین بر روی مقداری از عصاره حاصل از روش خوابانیدن در حلال و استخراج با هگزان با استفاده از سیلیکاژل و حلال متانول کروماتوگرافی تابش لحظه‌ای (FlashChromatography) انجام شد و لایه‌ای که در مقابل نور UV مشخص بود (لایه‌ای صورتی) جدا گردید. بعد از جدا کردن سیلیکاژل و تبخیر حلال متانول نمونه زرد مایل به نارنجی بدست آمد که نمونه A نامیده شد. به علاوه جهت جداسازی بهتر روی مقداری از عصاره حاصل از روش خوابانیدن در حلال و استخراج با هگزان کروماتوگرافی ستونی بر روی بستر سیلیکاژل ۶۰ در ستونی به طول ۵۰ Cm و قطر ۲ Cm انجام گردید و حلالهایی از قطبیت کم به زیاد به ترتیب شامل کلروفرم، اتر، اتیل استات، استون، متانول - آب (۱ به ۱) و آب بکار برده شد و هشت فراکسیون در حجمهای ۵۰ میلی لیتر جمع‌آوری گردید و به ترتیب برای حلالهای فوق فراکسیونها C1 تا C8 کدگذاری شد. از رسوبهای جدا شده و همچنین از فراکسیونهای C2 تا C8 حاصل از کروماتوگرافی، طیفهای HPLC تهیه گردید. به علاوه از عصاره‌های حاصل از استخراج با سوکسله و عصاره‌های حاصل از روش خوابانیدن در حلال و محلولهای زیر صافی حاصل از شستشوی جامدهای حاصل نیز طیف HPLC تهیه گردید.

شناسایی

برای تشخیص وجود فلاونوئید در عصاره‌های حاصل و جامدهای A، HD آزمون شینودا (۶)، انجام گردید. نتیجه آزمون برای عصاره‌های حاصل از سوکسله رضایتبخش نبود. اما برای بقیه عصاره‌ها و تمامی جامدهای حاصل نتیجه آزمون مثبت و وجود فلاونوئیدها را تأیید می‌نمود.

با استفاده از روش کروماتوگرافی کاغذی (p.c) (کاغذ واتمن شماره ۱) و حلالهای بنزن، دی اتیل اتر و مخلوط کلروفرم و دی اتیل اتر و همچنین واکنشگر افشانه‌ای آمونیاک و مقایسه با جداول استاندارد مربوط (۶)، وجود فلاونوئیدها و فلاونها برای

عصاره‌هایی که آزمون شینودای آن مثبت بود، تأیید شد. طیفهای HPLC با تهیه نمونه‌ها به غلظت ۱ میلی‌گرم نمونه در ۲ میلی‌لیتر متانول، برای استانداردها و عصاره‌های حاصل و نمونه‌های جامد، تهیه گردید. همچنین طیفهای ¹HNMR و UV از نمونه‌های A و HD تهیه گردید.

دستگاهها و مواد

سیستم HPLC مدل: Well Chrom 2000 از شرکت Knuer آلمان مجهز به پمپ مدل Stark – 1000 – Maxi، دتکتور از نوع UV مدل طیف نورسنج (که در ۲۹۰ نانومتر تنظیم گردیده بود). ستون مورد استفاده Eurosphere 100 C18 به قطر ۴ میلیمتر و طول ۲۵ سانتیمتر با ستون اولیه انتگرال ۵/۰ μm. به عنوان فاز متحرک از (متانول – آب – اسید استیک) به نسبت (۵۰ به ۴۵ به ۵) استفاده شده است. زمان هر تحلیل ۶۰ دقیقه بوده و حلالها با حمام فرا صوتی مدل Branson گاززدایی گردید و همچنین فاز متحرک قبلاً بوسیله فیلترهای غشایی PTFE با اندازه سوراخ ۰/۴۵ μm از شرکت Sartorius صاف گردید. دمای آون ۳۰ °C و شدت جریان حلال در ستون 1 ml/min بوده است. مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ میکرولیتر بود.

دستگاه ¹HNMR (500MHZ) و حلال مورد استفاده DMSO – d 6 بوده است. حلالهای مورد استفاده از شرکت Merck خریداری گردید.

نمونه‌های استاندارد

Qurecti (کوئرستین) (۳، ۳، ۵، ۷ – پنتا هیدروکسی فلاون) از شرکت Fluka خریداری گردید. Kaempferol (کمفرول) (۳، ۴، ۵، ۷ ترا هیدروکسی فلاون)، Apigenin (آپی جنین) (۴، ۵، ۷، تری هیدروکسی فلاون) و Acacetin (آکاستین)

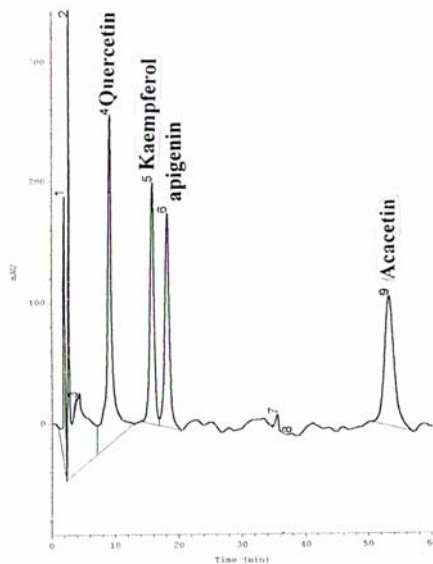
(۵، ۷، دی هیدروکسی - ۴ - متوکسی فلاون) هر سه از شرکت SIGMA خریداری گردید.

سیلیکاژل (۶۰) مورد استفاده در کروماتوگرافی ستونی و تابش لحظه‌ای مشخصات زیر را داشت:

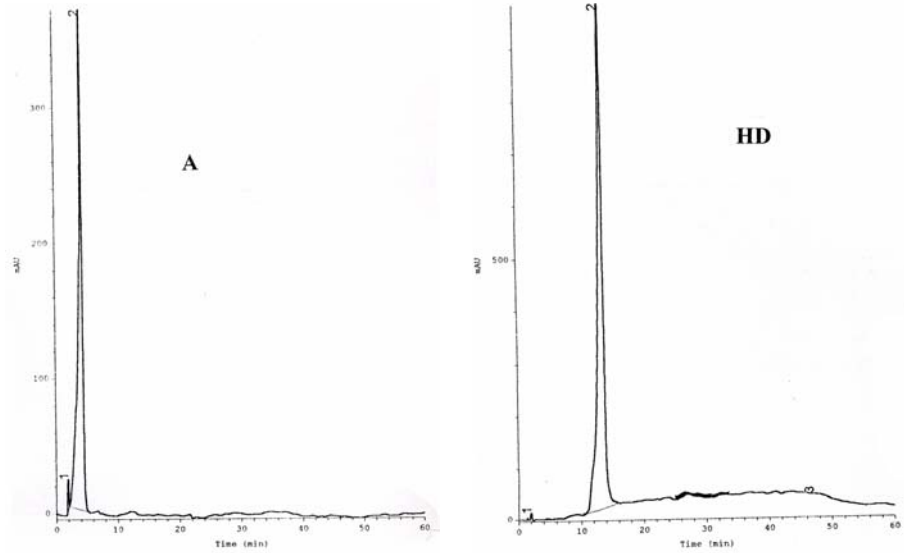
(0.2 - 0.5 mm / 35 - 70 mesh ASTM)
MACHERY NAGEL 6 160 DORREN GERMANY

نتایج

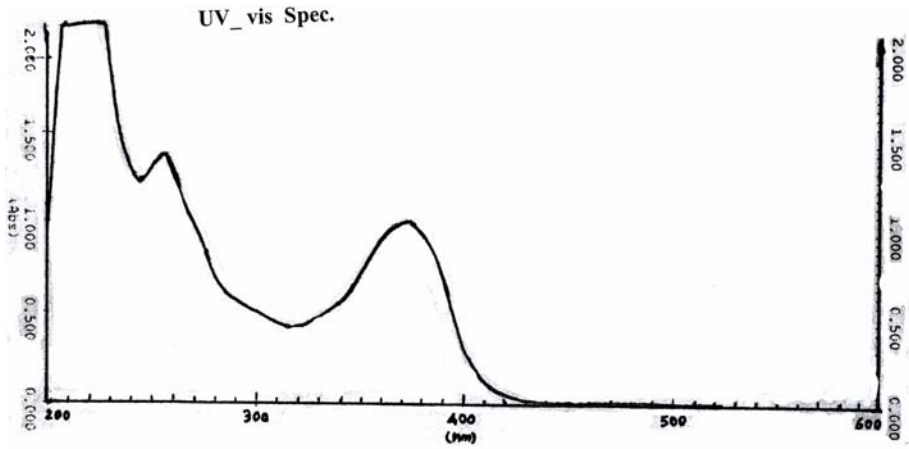
طیفهای HPLC، از مخلوط نمونه‌های استاندارد و ترکیبهای خالص شده A و HD در شکل‌های شماره ۱ و ۲ آورده شده‌اند. همچنین طیفهای UV-Visible در شکل‌های شماره ۳ و ۴ و نیز طیفهای رزونانس مغناطیس هسته ($^1\text{H-NMR}$) در شکل‌های شماره ۵ و ۶ آورده شده‌اند.



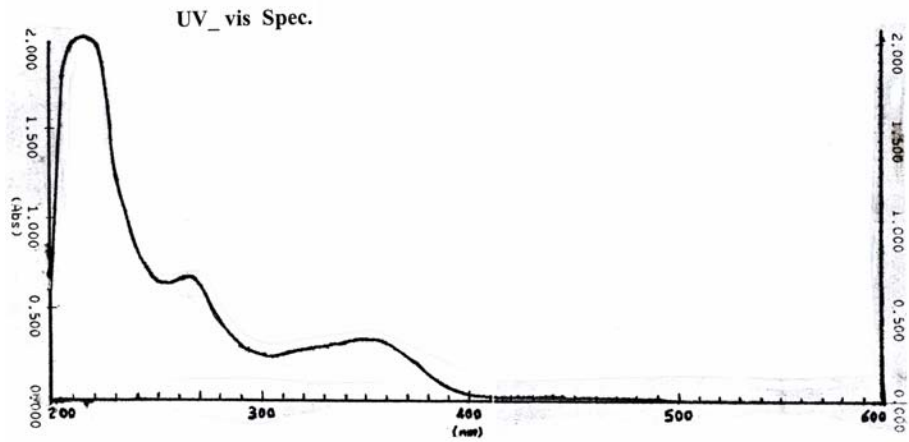
شکل شماره ۱- طیف HPLC از مخلوط استانداردها



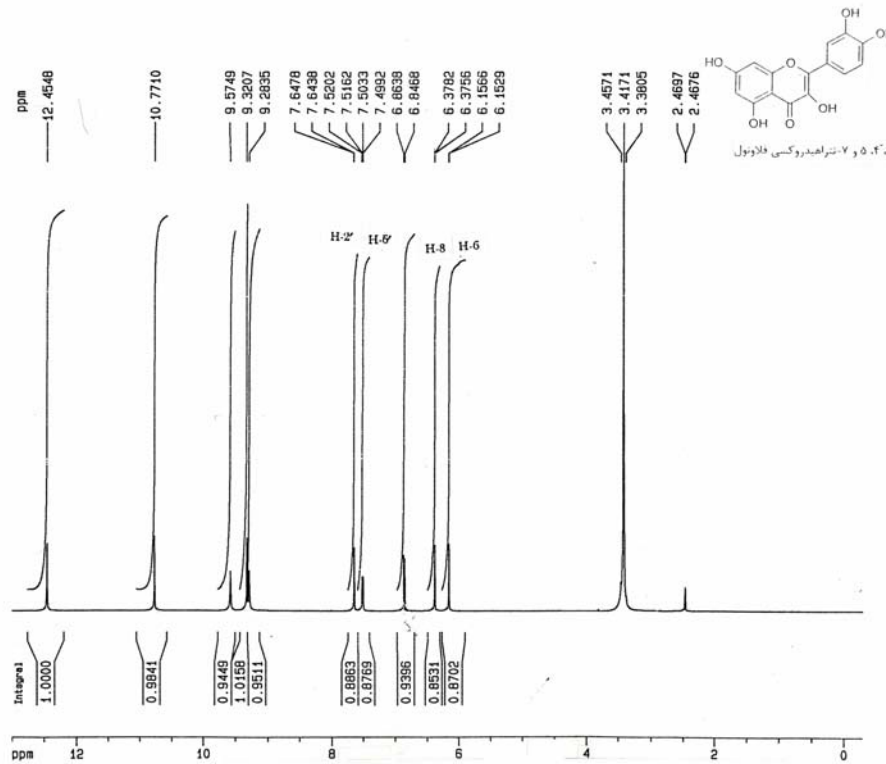
شکل شماره ۲- طیف HPLC از نمونه A و HD



شکل شماره ۳- طیف U.v.-Visible ترکیب A در حلال متانول



شکل شماره ۴- طیف U.v.-Visible ترکیب HD در حلال متانول



Current Data Parameters
 NAME jahad
 EXPNO 30
 PROCNO 1

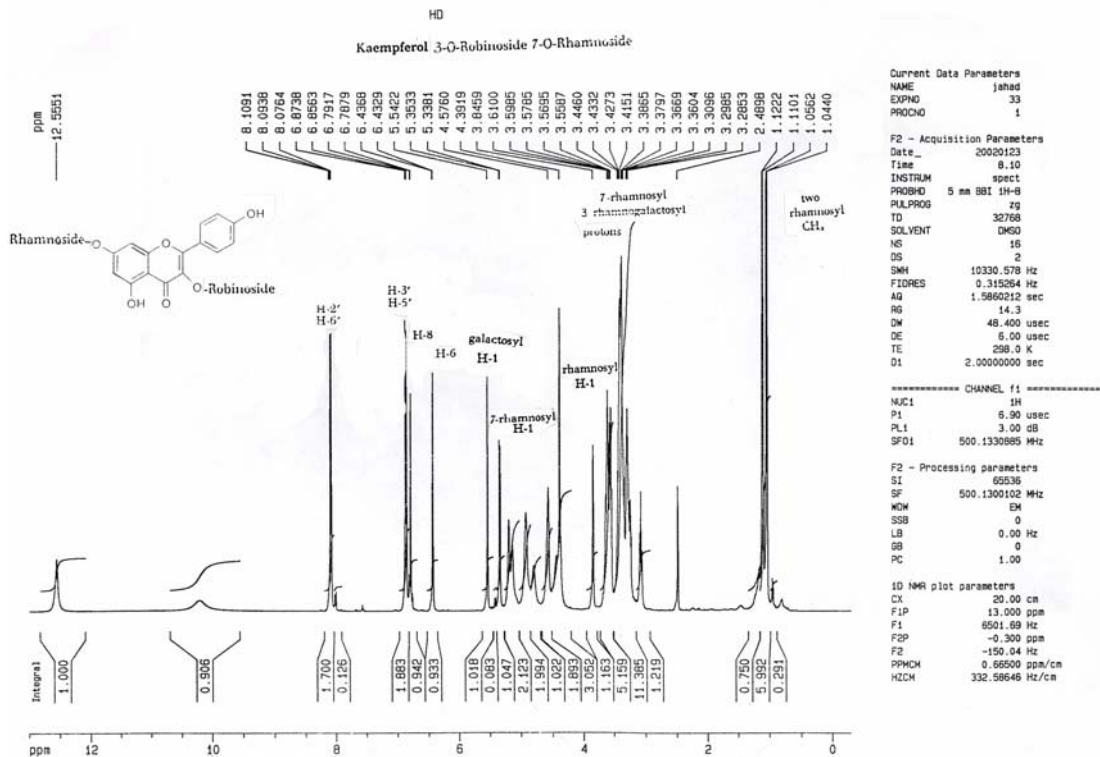
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20011226
 Time 11.21
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-B
 PULPROG zg
 TD 32768
 SOLVENT DMSO
 NS 16
 DS 2
 SMH 10330.578 Hz
 FIDRES 0.315264 Hz
 AQ 1.58660212 sec
 RG 28.5
 DW 48.400 usec
 DE 5.00 usec
 TE 298.0 K
 D1 2.00000000 sec

----- CHANNEL f1 -----
 NUC1 1H
 P1 6.90 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 500.1330685 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 500.1300207 MHz
 MCM EM
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 SB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 20.00 cm
 F1 13.000 ppm
 F1P 6501.69 Hz
 F2P -0.300 ppm
 F2 -150.04 Hz
 PRMCH 0.66500 ppm/cm
 HZCM 332.58649 Hz/cm

شکل شماره ۵- طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب A در حلال DMSO-D_6



شکل شماره ۶- طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب HD در حلال DMSO-D_6

بحث

طیفهای HPLC نمونه‌های استاندارد، پیکهای قوی را در زمانهای بازداری زیر نشان داد. زمان بازداری استانداردهای کوئرستین در ۹/۱۳ دقیقه، کمفرول در ۱۵/۸۲ دقیقه، آپی جنین در ۱۸/۱۸ دقیقه و آکاستین در ۵۳/۲۳ دقیقه بود.

طیف HPLC عصاره‌های گل و برگ حاصل از استخراج با سوکسله هیچ‌کدام از ترکیبهای فلاونوئیدی مورد نظر را نشان نداد.

در مورد سایر عصاره‌ها طیفهای HPLC اطلاعات زیر را حاصل نمود:

عصاره گل حاصل از خوابانیدن در حلال و استخراج با کلروفرم، حاوی ۳۱/۹۶٪ از ترکیبی با زمان بازداری ۳/۶ دقیقه بود. عصاره برگ حاصل از خوابانیدن در حلال و استخراج با کلروفرم، حاوی ۵۳/۲۳٪ از ترکیب با زمان بازداری ۳۱/۰۸ دقیقه و ۲۳/۹۸٪ از ترکیبی با زمان بازداری ۱/۸۶ دقیقه بود. نمونه A حاوی ۸۹/۶۴٪ کوئرستین و نمونه HD حاوی ۹۸/۰۲٪ از ترکیبی با زمان بازداری ۴/۳ دقیقه بود.

نتایج طیفهای HPLC فراکسیونهای حاصل از کروماتوگرافی ستونی به صورت زیر

بود:

فراکسیون C2 (حاصل از شستشوی ستون با حلال کلروفرم) فقط حاوی کوئرستین بود. فراکسیون C3 (حاصل از شستشوی ستون با حلال اتر) حاوی ۲۷/۹۹٪ کوئرستین بود. فراکسیون C4 (حاصل از شستشوی ستون با حلال اتیل استات) فقط حاوی کوئرستین بود. فراکسیون C5 (حاصل از شستشوی ستون با حلال استون) حاوی ۹۹/۲۲٪ کوئرستین بود. فراکسیون C6 (حاصل از شستشوی ستون با حلال متانول) حاوی ترکیبی با زمان بازداری ۲/۷۸ دقیقه و فراکسیون C7 حاصل از شستشوی ستون با حلال (متانول - آب) (۱ به ۱) حاوی ۱۰/۲۱٪ کمفرول و ۸۰/۶۵٪ از ترکیبی با زمان بازداری ۲/۴۷ دقیقه بود.

بررسی ساختمان ترکیب A

نقطه ذوب ترکیب A، 310°C بوده و طیف ماوراء بنفش (UV) و $^1\text{H-NMR}$ به صورت زیر بود:

UV: λ max (MeOH) ($254/2\text{nm}$) و ($370/2\text{nm}$), $^1\text{H-NMR}$ (500MHZ, DMSO - d₆), $12/5$ ppm (1H, s, OH -_ه), $10/77$ ppm (1H, s, OH -_و), $9/57$ ppm (1H, s, OH -_ز), $9/8$ ppm (1H, s, OH -_ح), $7/6$ ppm (1H, d, 2HZ, H -_ط), $7/5$ ppm (1H, dd, 8/5 & 2HZ, H -_ث), $6/27$ ppm (1H, d, 2HZ, H -_ج)

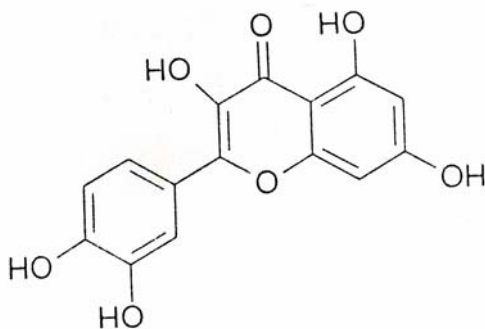
طیف HPLC این ترکیب دارای یک پیک بسیار نزدیک به زمان بازداری استاندارد کوئرستین است. λ max این ترکیب در طیف UV نیز $254/2$ و $370/2$ نانومتر بسیار نزدیک به λ max اعلام شده در منابع برای کوئرستین (255nm , 370nm) می باشد. همچنین نقطه ذوب این ترکیب 310°C بود که با نقطه ذوب گزارش شده در منابع (315°C) همخوانی دارد. طیف $^1\text{H-NMR}$ این ترکیب نیز موید کوئرستین است که بررسی طیف پس از مطالعه مرجع مربوط به مشخصات طیفهای $^1\text{H-NMR}$ بیانگر ترکیبات فلاونوئیدی می باشد (۷). ترکیب A یک آگلیکون است، زیرا خطوط طیفی مربوط به گلیلوئیدها در ناحیه ($8/5 - 0/5$) ppm مشاهده نمی شود و دو شاخه موجود مربوط به حلال می باشد.

ترکیب A دارای ۵ استخلاف هیدروکسیل است که شاخه مربوط به آنها به صورت یگانه (Singlet) هر کدام با انتگرال یک پروتون در ناحیه بالای ۹ ppm ظاهر شده اند و به طور مشخص شاخه ظاهر شده در $12/45$ مربوط به OH -_ه می باشد و شاخه طیفی در $10/77$ ppm مربوط به OH -_و و شاخه $9/57$ ppm مربوط به OH -_ز و دو شاخه OH دیگر در $9/28$ ppm و $9/36$ ppm مربوط به حلقه B می باشد که با بررسی شاخه های طیفی هیدروژنهای حلقه B موقعیت این دو OH تعیین می شود.

علاوه بر تأیید استخلاف دو گروه $\text{OH} - ۵$ و $\text{OH} - ۷$ وضعیت دو پروتون $\text{H} - ۶$ و $\text{H} - ۸$ نیز به صورت دو شاخه دوگانه با $\text{cps} = ۲$ و $\text{J} = ۸$ و $\text{J} = ۶$ هر کدام با انتگرال حدود یک و مربوط به شکافتگی متا برای پروتونهای $\text{H} - ۶$ و $\text{H} - ۸$ در $۱۵/۶$ و $۳۷/۶$ مشاهده می‌شود.

همچنین یک دو شاخه در $۸/۶$ ppm با $\text{cps} = ۵/۸$ و $\text{J} = ۳$ با انتگرال حدود یک، وجود پروتون $\text{H} - ۵'$ و یک دو شاخه با $\text{cps} = ۲$ و $\text{J} = ۶$ در نتیجه جفت شدن متا پروتونهای $۲'$ و $۶'$ با انتگرال حدود یک، در $۶/۷$ ppm وجود پروتون $\text{H} - ۲'$ و یک دو شاخه که به چهار شاخه انشعاب یافته به ترتیب با $\text{cps} = ۸/۵$ و $\text{J} = ۳$ و $\text{cps} = ۲$ و $\text{J} = ۴$ مربوط به شکافتگی ارتو پروتونهای $۵'$ و $۶'$ و همچنین شکافتگی متا برای پروتونهای $۲'$ و $۶'$ و انتگرال حدود یک در $۷/۵$ ppm وجود پروتون $\text{H} - ۶$ را تأیید می‌کنند. و در نهایت با توجه بوجود پروتونهای $۲'$ و $۵'$ و $۶'$ وجود دو گروه هیدروکسیل در موقعیتهای $۳'$ و $۴'$ و همچنین اتصال حلقه B از موقعیت ۲ به حلقه C تأیید می‌شود. با توجه به نتایج حاصل و توضیحات فوق ساختار ذیل برای این ترکیب ارائه می‌گردد که همان ساختار کوئرستین است:

بنابراین ترکیب A کوئرستین می‌باشد.



ساختار ترکیب A ۳، ۳'، ۴'، ۵، ۷ پنتا هیدروکسی فلاون (کوئرستین)

بررسی ساختمان ترکیب HD

نقطه ذوب این ترکیب ۲۴۸ درجه سانتیگراد بود. از طیف UV و NMR اطلاعات زیر بدست آمد:

UV: λ max (MeOH) (۲۶۷/۲nm) و (۳۵۱/۶nm), $^1\text{HNMR}$: ۱۲/۵۵ ppm (1H, S, OH_۰), ۱۰ ppm (1H, S, OH_۱), ۸/۱ ppm (۲H, t, ۸/۵۱ & ۸ HZ, H_۲, H_۶), ۶/۹ ppm (۲H, m, ۲/۳ & ۷HZ, H_۳, H_۵), ۶/۷ ppm (1H, d, ۲HZ, H_۸), ۶/۴ ppm (1H, d, ۲HZ, H_۶) ۱/۲ppm (۶H, d, ۶HZ, ۲Me), ۵/۵ ppm (1H, S, H_۱), ۵/۳ppm (1H, d, H_{۱,۲}), ۴/۴-۵/۲ ppm (1H, m, H_۱), ۴/۶ppm (1H, S, H_۱), ۳-۳/۸ ppm (۱H, m)

طیف HPLC این ترکیب یک پیک قوی در زمان بازداری ۳ / ۴ دارد. طیف UV این ترکیب با λ max (۲۶۷ / ۲ nm) و (۳۵۱ / ۶ nm) با طیف UV استاندارد روبی نین. (۲۶۵nm و ۳۵۰nm) همخوانی دارد. همچنین نقطه ذوب این ترکیب ۲۴۸ °C با نقطه ذوب گزارش شده در منابع برای روبی نین (۲۵۴° - ۲۵۰°) همخوانی دارد. طیف $^1\text{HNMR}$ این ترکیب نیز جذبه‌های مختلف روبی نین یعنی کمفرول - ۳ - O - روبینوزید - ۷ - O - رامنوزید را نشان می‌دهد که در تفسیر طیف می‌توان موارد ذیل را ذکر نمود:

- ترکیب HD یک فلاونوئید گلیکوزید است، زیرا خطوط طیفی مربوط به گلیکوزیدها در ناحیه (۵/۸ - ۰/۸) ppm مشاهده می‌شود.

- ترکیب HD دارای دو استخلاف OH است که مشخصاً شاخه ظاهر شده در ppm ۱۲/۵۵ با انتگرال یک به گروه ه - OH نسبت داده می‌شود. و یک تک شاخه هم در ۱۰ ppm با انتگرال حدود یک، وجود استخلاف OH دیگر در ترکیب را نشان می‌دهد.

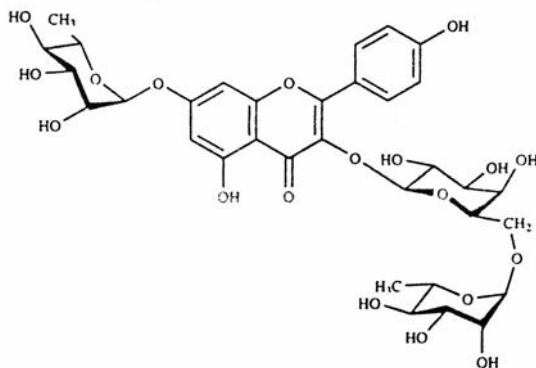
همچنین دو شاخه با cps = ۲ J_{۶,۸} = ۴ در ۶/۴ ppm و ۶/۷ ppm مربوط به جفت

شدن متا در پروتونهای $C-6$ و $C-8$ مشاهده می‌شود. که وجود استخلاف OH در موقعیت $C-5$ تأیید و همچنین وجود استخلاف در موقعیت $C-7$ با اتصال به قند از آن موقعیت را نشان می‌دهد. یک چند شاخه در $9/6$ ppm با انتگرال دو پروتون مربوط به پروتونهای $H-3'$ و $H-5'$ شامل یک دو شاخه با $2/3$ cps $J_{3,5'} = 4$ مربوط به جفت شدن متا در این پروتونها و یک سه شاخه با 7 cps $J_{3,2'} = 7$ و 7 cps $J_{5',6'}$ و 6 cps $J_{3,2'}$ مربوط به جفت شدن ارتو این دو پروتون مشاهده می‌شود.

همچنین یک سه شاخه در $8/1$ ppm δ با انتگرال دو پروتون مربوط به جفت شدن ارتو پروتونهای $H-2'$ و $H-3'$ با $8/5$ cps $J_{2',3'} = 3$ و یک جفت شدن ارتو پروتونهای $H-6'$ و $H-5'$ و 8 cps $J_{6',5'} = 3$ می‌باشد. که موید پروتونهای $H-2'$ و $H-6'$ است. و همچنین وجود پروتونها در موقعیتهای $C-3$ و $C-5$ و $C-2$ و $C-6$ وجود استخلاف OH یا اتصال قند در موقعیت $C-4$ را نشان می‌دهد. که با بررسی بخش مربوط به قند در طیف، اتصال قند و گروه OH مشخص می‌شود در ناحیه مربوط به جذب گلیکوزیدهای ترکیب HD دو دو شاخه در $1/2$ ppm که با 6 cps $J = 6$ و انتگرال شش پروتون مشاهده می‌شود که اتصال دو قند منوز را نشان می‌دهد. یک تک شاخه در $5/5$ ppm مربوط به $H=1$ در B-گالاکتوزیل می‌باشد که به یک رامنوز متصل است. یک دو شاخه با $7/6$ cps $J = 5/3$ ppm δ مربوط به جفت شدن پروتونهای $H-1''$ و $H-2''$ (پروتونهای قند) در 7 - O - رامنوزید می‌باشد. که به علاوه چندتایی پیچیده در $5/2$ - $4/4$ ppm نیز اتصال 7 - O - رامنوزیل را تأیید می‌کند. لازم به ذکر است که قند رامنوز به طور طبیعی در فلاونوئید به صورت $\alpha-L$ می‌باشد. یک علامت طیفی تک شاخه نیز در $4/6$ ppm δ مربوط به پروتون $C=1''$ در 3 - O - رامنوزیل می‌باشد. علائم طیفی پیچیده در $3/8$ - 3 ppm مربوط به پروتونهای قندهای متصل شده با 11 و 5 با پروتونهای گالاکتورامنوزیل و پیرانوزیل همخوانی دارد.

با توجه به نتایج بدست آمده ساختار زیر برای ترکیب HD یعنی روبی نین پیش‌بینی

می‌شود:



ساختار ترکیب HD (روبی نین) [کمبرول - ۳-O-β-D - گالکتوفورانوزیل - L - رامنوپیرانوزیل] - ۷-O-α-L - رامنوپیرانوزیل]
Kaempferol 3-rhamnosyl-(1 →6)-galactoside-7-rhamnoside

علاوه بر تعیین ساختار ترکیبات A و HD نتایج ذیل نیز جمع‌بندی می‌شود:

- روش سوکسله روش مناسبی برای استخراج فلاونوئید از گیاه اقاچیا نیست و روش خوابانیدن در حلال ضمن اینکه در مدت کوتاه‌تری فلاونوئیدهای گیاه را استخراج می‌کند به دلیل نداشتن حرارت باعث حفظ بهتر کیفیت این ترکیبها می‌شود.
- مناسبترین حلال برای استخراج فلاونوئیدهای اقاچیا، متانول و آب است.
- علاوه بر روبی نین به عنوان فلاونوئید اصلی تشکیل‌دهنده عصاره اقاچیا، کوئرستین به میزان بالایی در این گیاه وجود دارد.
- میزان عصاره مطلق و در نتیجه میزان کوئرستین در گل‌های اقاچیا بیشتر از برگ‌های آن است.

- کمبرول موجود در گل‌های اقاچیا به فرم گلیکوزیدی از نوع گمبرول - ۳ - O - روبینوزید - ۷ - O - رامنوزید است و کمبرول آزاد به صورت اگلیکون در گل‌های اقاچیا موجود نمی‌باشد.

مقایسه نتایج حاصل از استخراج و شناسایی فلاونوئیدهای موجود در گل و برگ افاقیا با تحقیقات انجام شده قبلی (Maksyutina, ۱۹۶۸) نشان داد که کوئرستین که در میوه خشک و نارس افاقیا وجود داشته از برگ و گل این گیاه نیز قابل استخراج است. نتایج این تحقیق در مورد وجود آکاستین در برگ و گل افاقیا نیز با تحقیقات قبلی (Kubota *et al*, ۱۹۶۶) در مورد برگ این گیاه نیز مطابقت دارد.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع به خصوص بخش تحقیقات گیاهان دارویی به دلیل فراهم نمودن هزینه، امکانات و تجهیزات لازم تشکر می‌نمایم.

منابع

- آزادبخت، م.، ۱۳۷۸. رده‌بندی گیاهان دارویی. انتشارات تیمورزاده، تهران.
- زرگری، ع.، ۱۳۶۷. گیاهان دارویی. جلد دوم، ص ۶۳ انتشارات دانشگاه تهران.
- Cody, V, Middleton, E. and Harborn, J. B., 1986. Plant flavonoids in Biology and Medicine, Alan R. Liss, New York.
- Freudenberg(a), K., and Hartmann, L., 1953. Constituents from Robinia pseudoacacia L., Naturwissen schaften, 40, 413.
- Freudenberg(b), K., and Hartmann, L., 1953. Extractives of Robinia pseudoacacia L., 587, 207-212.
- Kupchan, S. M, and Beuerschmidt E, 1971. Rthochem. 10 pp 664.
- Pusztai, R, Beladi, I, Bakay, M., 1966. Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 13, 113.
- Freudenberg(a), K., and Hartmann, L., 1953. Constituents from Robinia pseudoacacia L., Naturwissen schaften, 40, 413.
- Freudenberg(b), K., and Hartmann, L., 1953. Extractives of Robinia pseudoacacia L., 587, 207-212.
- Ismailov, N. M. and Achmedova, E. R., 1980. Main components of Robinia pseudoacacia oil, Maslo-Zhir. Prom., 12, 27-28.
- Joulain, D., 1986. Progress in essential oil research (Proc. Intern. Symp. Ess. Oils) Berlin, 57-67.
- Kamdem, D. P., 1994. Characterization of black locust floral fragrance, J. Essent. Oil Res., 6, 199-200.
- Kubota, T., and Hase t., 1966. Constituents of the leaves of Robinia pseudoacacia L., Nippon Kagaku Zasshi, 87 (11), 1206-8.

- Mabry, T. J., Markham, K. R., and Thomas, M.B., 1970. Systemic Identification of Flavonoids, Spring –Verlag, New York.
- Maksyutina, N. P., Litvinenko, V. I., 1968. Flavonoid carboxylic acid, Symp. 1st 1966 (Pub 1968), 60-63, (Russ).
- Markham, K. R., 1982. Techniques of Flavonoid Identification, Academic Press, London.
- Mun, G. S., Song, H. Y., Jang, S. G., 1978. Paper and thin layer chromatographic study of some flavonoid compounds. Kim. In Gi. Punsok Hwahak, 16(3), 107-114 (Korean).
- Osipovich, L. I., 1975. Comparative characteristics of biologically active substances of inflorescences of Robinia species. Fitokhim. Izuch. BSSR Biofarm. Issled. 77-80 (Russ).
- Sefidkon, F., Alinia, M., Aghavali Jamaat, A., 2002. Volatile components of *Robinia pseudoacacia* L., J. Essent. Oil, Bearing Plants, 5(3), 169-172.
- Wetzel, A., Scheidemann, P. and Werner, D., 1955. Flavonoids in the root space of *Robinia pseudoacacia* L., isolation, identification and interactions, Wurzelraumes, 5th 1994 (Pub 1995), 119-122 (Ger).

Extraction, Separation and Identification of Flavonoides (Quercetine and Robinine) from *Robinia pseudoacacia* L.

F. Sefidkon¹, A. Agha-Vali Jamaat², M. Alinia Rodsari³ and K. Jimand⁴

Abstract

Robinia pseudoacacia (Black locust) is an ornamental tree with beautiful flowers. Its main distribution is North America which spreads to Europe, Asia and Iran. Today, it is naturalized in Iran and grows in every where.

Previously, we reported chemical composition of the essential oil and absolute of hexan extract of *R. pseudoacacia*.

In this research, the flavonoids from flowers and leaves of *Robinia pseudoacacia* were investigated. The extracts of flowers and leaves of *R. pseudoacacia* were obtained by Soxhlet apparatus (by petroleum ether, benzen, chlorform, acetone and methanol) and also by maceration in methanol-water (9:1) and then methanol-water (1:1) and extraction with chlorform and hexan. After purification and separation of the extracts by P.C, HPLC, column and flash chromatography, two flavonoids, Quercetine and Robinine were obtained as pure compounds. Structure of the compounds were characterized by HPLC (using standards), U.V. and ¹HNMR.

Key words: *Robinia pseudoacacia*, Flavonoids, Quercetin, Robinine.

1- Research Institute of Forests and rangelands, P. O. Box: 13185-116, Tehran.

E-mail: frsef@rifr-ac.ir

2- Zanjan University, Faculty of Science, Chemistry Department, Zanjan.

3- Zanjan University, Faculty of Science, Chemistry Department, Zanjan.

4- Research Institute of Forests and rangelands, P. O. Box: 13185-116, Tehran.

In the Name of God

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

Director in chief: Adel Jalili
(Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands)

Chief editor: Mohammad Bagher Rezaee
(Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands)

Editorial Board:

Parviz Babakhanloo
MS.C., Research Institute of Forests and Rangelands

Nader Hassanzadeh
Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands

Kamkar Jaimand
Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands

Abolghassem Matin
Ph.d. Agricultural Research Education and Extension Organization

Mohammad Javad Rassaei
Ph.D., Tarbiat Moddares University

Gholam Reza Nabi
Ph.D., University of Tehran

Mohammad Bagher Rezaee
Ph.d. Research Institute of Forests and Rangelands

Fatemeh Sefidkon
Ph.d. Research Institute of Forests and Rangelands

Abbas Siami
Ph.D., University of Urmia

Mahlagha Ghorbanli
Ph.D., Tarbiat Moallem University

Hossein Heidari Sharif Abad
Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands

Mohsen Kafae
Ph.D., Faculty Agriculture, University of Tehran

Fariborz Moatar
Ph.D., Faculty of Pharmacy, University of Medical Science, Isfahan

Iraj Rasooli
Ph.D., Shahed University

Parviz Owlia
Ph.D., Shahed University

Peyman Salehi
Ph.D., Shahid Beheshti University

Mohammad Reza Shams Ardecani
Ph.D., Faculty of Pharmacy, University of Medical Science, Tehran

Reza Tabaei Aghdaei
Ph.d. Research Institute of Forests and Rangelands

Technical editor: Kamkar Jaimand
(Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands)

Editorial office:

Research Institute of Forests and Rangelands
P.O. Box 13185-116, Tehran, Iran.
Tel: 4195901-5 Fax: 4195907
Email: ijmapr@rifr-ac.ir

Abstracts are available on CABI Publishing:

[www.Cabi - Publishing.org](http://www.Cabi-Publishing.org)



Islamic Republic of Iran
Ministry of Jihad-e-Agriculture
Agricultural Research and Education Organization
Research Institute of Forests and Rangelands

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants

Vol. 20 No.(1), 2004

Content

- The Identification and Ecological study of two Genus of aromatic plants (*Thymus* & *Ziziphora*) in Kurdistan Province 130
J. Hasany
- Extraction, Separation and Identification of Flavonoides (Quercetine and Robinine) from *Robinia pseudoacacia* L. 129
F. Sefidkon, A. Agha-Vall Jamaat, M. Alinia Rodsari and K. Jimand
- Medicinal plants in Ziarat Mountain Gorgan..... 128
M. Mazandarani, M. kassaei and M. B. Rezaee
- Essential Oil Composition of *Geranium rotundifolium* L. 127
M. M. Barazandeh
- The study of Geografic Distribution and Morphologic characteres of Jujube in Iran 126
H. Khakdaman and A. pourmeydani
- Investigation on Chemical Constituents of Essential oils from *Achillea eriophora* DC by Distillation methods 125
K. Jaimand and M. B. Rezaee
- The effect of Gum extraction on The survival of *Ferula gumosa* Boiss. In field 124
M. Dini, P. Babakhanlou, M. Aliha, M. Golipur and F. Jafari
- Flower yield and Morphological characteristics in some Genotypes of *Rosa damascena* Mill. 123
S. R. Tabaei-Aghdai, M. B. Rezaee and M. Jebelly