دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. Malvaceae) النامية بريا في العراق .

خزعل ضبع وادي الجبوري
قسم علوم الحياة والاحياء المجهرية
كلية العلوم /جامعة ديالى

خالد ضياء عبدالواحد
قسم علوم الحياة والاحياء المجهرية
كلية العلوم /جامعة ديالى

جوهر فتاح سعيد
كلية التربية الاساسية
جامعة صلاح الدين

Abstract الخلاصة

تضمن هذا البحث دراسة تصنيفية كيميائية تم الكشف فيها عن المركبات الفينولية Phenolic compound في الاجزاء الهوائية (الساق والاوراق) لنباتات انواع الجنس *Alcea* L. التي جمعت خلال جولاتنا الحقلية الى مقاطعات العراق الجغرافية الطبيعية، أستعمل جهاز كروموتوغرافيا السائلة عالي الاداء High performance liquid chromatography (HPLC) في الكشف ،أذ استعمل ١٢ مركبا قياسيا Standard compounds للمقارنة ، أظهرت النتائج ان أنواع الجنس أبدت تغايرات مهمة من حيث احتواءها على المركبات الفينولية و تراكيز هذه المركبات فيها مما يمكن عدها كدلائل تصنيفية تدعم وتسند الدراسات المظهرية والتشريحية والخلوية والبيئية وحبات الطلع ،وتعد هذه الدراسة هي الاولى في العراق عن هذا الجنس في هذا المجال.

الكلمات المفتاحية: تصنيف كيميائي، المركبات الفينولية، الجنس *Alcea* ، العائلة الخبازية

Introduction المقدمة

يعود الجنس *Alcea* L. الى العائلة الخبازية Malvaceae ويضم خمس انواع حسب الموسوعة النباتية العراقية الا ان (الجبوري ،٢٠٠٤) اشار الى وجود ١١ نوعا تنمو بريا في مقاطعات العراق الجغرافية الطبيعية مسجلا نوعا جديدا للعلم هو *A. longipeduncularis* و (٥) انواع تسجل لأول مرة في العراق هي *A. digitata , A. dissecta , A. guestii , A. koelzii , A. setosa* لقد ذكر (Davis&Heywood,1973) بأن هناك علاقة بين التصنيف النباتي والمحتوى الكيميائي للنبات حيث استخدمت المركبات الكيميائية لعزل النباتات تبعا لأستعمالاتها الطبية والاقتصادية واشار (Radford *et al.* ,1974) الى ان اضافة معلومات التصنيف الكيميائي الى المعلومات الاخرى كالمعلومات المظهرية والتشريحية والخلوية يمكن ان تهيء لنا اساسا رصينا لقرارات علم التصنيف النباتي . واكد (Stace,1980) على ان التصنيف الكيميائي يكون مجديا على مختلف مستويات الهرم التصنيفي Taxonomic hierarety وبين (Judd et al. ,1999) ان استخدام الصفات البيوكيميائية تصنيفيا يعود الى قبل حوالي ١٠٠ سنة ، وكتب (الموسوي ،١٩٨٧) ان المركبات الكيميائية تختلف اختلاف النباتات وقد تطورت هذه المركبات وتخصصت مع تطور النباتات كالقلويدات والزيوت الاساسية والكلايكوسيدات والفلافونات كما ان (Harborne,1966) اكد على ان الفلافونات ذات اهمية تصنيفية لكونها ليست مركبات اولية Primary metabolitic وان المركبات الفينولية من المواد الكيميائية المهمة في تصنيف النبات وتوجد عادة في الاوراق والازهار والبذور ، واستخدمت المركبات الفينولية من قبل العديد من الباحثين لحل المشاكل التصنيفية (Sandor,1994)

أن المواد الفعالة التي تتركز في أنسجة النبات هي المواد المخاطية Mucilage وهي مادة غروية بشكل مركب كاربوهيدراتي معقد تتراوح نسبتها بين ٢٥-٣٥% من الوزن الرطب (عرموش ،١٩٩٩) وتتركز المواد المخاطية في الجذور بنسبة ٢٢% وفي الوراق٦٣% وفي الازهار ٢% ،كما تحتوي الازهار على مواد لعابية بنسبة عالية تصل الى ٣٥% ونشأ وسكريات خماسية وسداسية ومواد بكتينية Pictins وتانينيات Tannins وقليل من الزيت ثابت Fixed oil فضلا عن المالفاسين Malvacin والهبيسين Hepicin والمالفادين Malvadin والمالفابيدول Malvabidol والمالفين Malvin (الزبيدي واخرون،١٩٩٦ وعقيل،١٩٩٦)

وتهدف الدراسة الحالية الى التحري عن المركبات الفينولية في انواع الجنس *Alcea* لغرض الاستفادة من المعلومات المستقاة منها في اسناد وتعزيز التصنيف المظهري والتشريحي والخلوي لأنواع هذا الجنس ،وتعد هذه الدراسة الرائدة في دراسة انواع هذا الجنس وهي الأولى في العراق على هذا الجنس .

المواد وطرائق العمل Meterial & methods

اعتمدت الدراسة على العينات الجافة لأنواع الجنس التي تم الحصول عليها من المعاشب العراقية عدا النوع *A. moselensis* لعدم توفر عيناته (اللوحة ١). استخدمت طريقة Harborne (١٩٧٣) لاستخلاص المركبات الفينولية من الاجزاء الخضرية في بداية التزهير مع التحوير وبالشكل الاتي:

١-اخذت الاوراق والنهايات الطرفية من سيقان النباتات المزهرة لكل الانواع المدروسة و طحنت في مطحنة كهربائية .

٢- وزن (٤) غم من كل عينة واضيف اليها (٤٠-٥٠) مل من كحول اثيلي ٧٠%وتركت في درجة حرارة الغرفة لمدة(٢٤-٤٨) ساعة وأخذ وزن ٢ غم لبعض العينات وذلك لعدم توفرها بكمية كافية .

٣- تم ترشيح المادة باستخدام ورقة الترشيح من النوع Ederolmedium pores filtering

٤- ركز الراشح Extract للتخلص من الكحول باستعمال مجفف هوائي عند درجة حرارة معتدلة(حرارة الغرفة).

٥-اضيف الى الراشح قدر يناسب حجمه تقريباً ايثر نفطي Petroleum ether ذو درجة غليان(٤٠-٦٠) م ، رج الخليط جيداً ثم وضع في قمع فصلٍ Separation funnel وترك الى ان تم فصله الى طبقتين وبذلك تم التخلص من جزء كبير من مادة اليخضور الذائبة في الايثر النفطي الذي يطفو للأعلى لأنه اقل كثافة من المستخلص المائي للمركبات الفينولية التي تميل الى الذوبان في الماء وتكون الطبقة السفلى التي سحب من اسفل القمع.

٦- تم تركيز مستخلص المركبات الفينولية الى نصف الحجم تقريباً وذلك بتيار هواء جاف.

٧-استخدمت طريقة التحليل الكروموتوغرافي السائل عالي الاداء High performance liquid chromotography (HPLC) لعزل المركبات الفينولية وتشخيصها بأستخدام جهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الاداء ، اذ استخلص المركز المحضر في الخطوه (٦) من طريقة Harborne (١٩٧٣) لكافة الانواع فضلا عن المركبات القياسية(الجدول ١) وذلك بهدف تشخيص المركبات الفينولية لتفسير النتائج وعزل الانواع وتشخيصها ، أجري التحليل في المركز الوطني للبحوث والرقابة الدوائية ، أذ حقن المستخلص من الخطوة (٦) في الجهاز HPLC وتحت الظروف ادناه :

طور عكسي Reversed phase مكون من : C-18 (250 ×4.6mm) و Particle size = 5um

وطور متحرك Mobile phase مكون من : Acetonitrile + ١% Acetic acid و 40 : 60 V/V

وبسرعة جريان: 1ml/ min. عند درجة حرارة الغرفة و U. V Detection : 275 nm

الجدول (١) يبين خصائص المركبات القياسية المستعملة في الدراسة الحالية باستخدام جهاز HPLC

ت	اسم المركب	زمن الاحتجاز
١	Chlorogenic acid	1.683
2	Caffeine	2.267
3	Cumaric acid	2.633
4	Ferulic acid	2.750
5	Vanillin	3.000
6	4-Methyl phenol	3.483
7	2-6 Dimethyl Pheno	3.867
8	Salicylic acid	4.250
9	P-cresol	4.800
10	t-zimt-savve	5.350
11	4-allyl anisole	7.750
12	Eugenol	10.150

Results & Discussion النتائج والمناقشة

أظهرت الدراسة ان انواع الجنس أبدت تغايرات مهمة من حيث احتوائها على المركبات الفينولية (الاشكال ٢,٣,٤) والتي يمكن الاستفادة منها كدلائل تصنيفية تدعم وتعزز الدراسات الاخرى المظهرية و التشريحية والخلوية وغيرها من الدراسات التصنيفية ، فقد تضمنت هذه الدراسة تشخيص (١٢) مركبا تعود لمجاميع فينولية مختلفة استنادا الى ما توافر من المركبات القياسية Standard compound ، وقد اظهرت الانواع المدروسة اختلافات واضحة في احتوائها من المركبات الفينولية أذ شخصت المركبات الاتية (الجدول ٢) :

١- Chlorogenic acid شخص هذا الحامض في جميع انواع الجنس المدروسة
٢- Caffeine اشتركت جميع انواع الجنس في احتوائها على هذا المركب
٣- Cumaric acid هذا المركب من الاحماض الفينولية وجد في نوعين هما *peduncularis* *A. kurdica* , *A.*
٤- Ferulic acid شخص هذا الحامض الفينولي في نوعين هما *A. dissecta* , *A. kurdica*
٥- Vanillin اشتركت جميع انواع الجنس في هذا المركب عدا النوع *A. kurdica*
٦- 4- Methyl phenol وجد هذا المركب في ثلاثة انواع هي *A. guestii* , *A. peduncularis* *sulphuria*
٧- 2,6-Dimethyl phenol شخص هذا المركب في الانواع *A. digitata* , *A. longipeduncularis* , *A.setosa*
٨- Salicylic acid من الاحماض الفينولية انفرد فيه النوع *A. peduncularis*
٩- P-Cresol وجد المركب في نواع واحد فقط هو *A. peduncularis*
١٠- t- zimt-savve شخص هذا المركب في الانواع

A. guestii , A. peduncularis , *A. digitata , A. longipeduncularis ,A. setosa , A.arbelensis ,*

١١- 4-allyl anisole وجد المركب في نواع واحد فقط هو *A. peduncularis*

١٢- Eugenol وجد المركب في نواع واحد فقط هو *A. guestii*

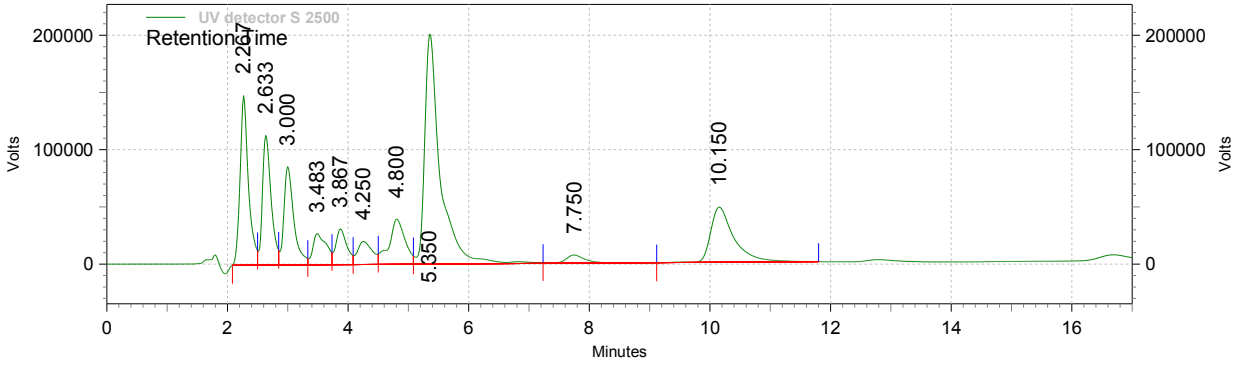
وتبين نتائج الدراسة ان جميع انواع الجنس اشتركت في احتوائها على المركبات Chlorogenic acid و Caffeine و Vanillin بينما اقتصر المركب Eugenol على نوع واجد فقط *A. guestii* والمركب4-allyl anisole على النوع *A. peduncularis* واختلفت بقية الانواع في عدد المركبات التي تحتويها (الجدول ٢)، ان اشتراك انواع الجنس الواحد او الاجناس المختلفة باحتوائها على المركبات الفينولية نفسها يمكن ان يعطي مؤشرا على وجود رابطة تطورية مشتركة من حيث الخصائص الكيميائية مما يعزز كونها تعود الى مرتبة تصنيفية واحدة (الزبيدي ، ١٩٩٨). ان التغايرات في المركبات الفينولية بين انواع الجنس لها اهمية في عزل وتشخيص الانواع المتشابهة مظهريا مثل الانواع *A. kurdica , A. peduncularis , A. setosa* حيث اشتركت هذه الانواع في المركبات Chlorogenic acid و Caffeine و Vanillin لكن الاول احتوى على 2,6-Dimethyl phenol و t- zimt-savve بينما الثاني وجد فيه جميع المركبات عدا Ferulic acid و2,6-Dimethyl phenol و Eugenol الا ان الثالث احتوى على المركبين Ferulic acid و Cumaric acid ان مثل هذه الاختلافات في المحتوى الكيميائي يساعد ويساند التشخيص المظهري .هذا ولابد من الاشارة الى وجود مركبات اخرى لم يستدل عليها وذلك لعدم توافر المركبات القياسية الخاصة بها لذلك يتطلب الامر توافر مركبات قياسية إضافية للكشف عنها ، أذ اشارت الدراسات الخاصة بالمكونات الكيميائية لأنواع الجنس الغير عراقية الى ان هناك العديد من المركبات فيها مثل Hepicin , Malvacin , Malvabidol , Malvadin , Malvin وغيرها والتي تعذر الكشف عنها لعدم توافر المركبات القياسية الخاصة بها ونأمل مستقبلا ان يتم الكشف عنها عند توافر مركباتها القياسية وباستخدام اجهزة حديثة ومتطورة مثل Gas Chromatography - Mass System (GC-MS) والتي ستعطي نتائج أكثر دقة تعزز الدراسات التصنيفية المختلفة . وعلى وجه العموم يمكن أن تعد نتائج هذه الدراسة ذات قيمة تصنيفية مهمة يمكن استخدامها في عزل انواع الجنس .

دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. (Malvaceae) النامية بريا في العراق .

خزعل ضبع وادي الجبوري خالد ضياء عبدالواحد جوهر فتاح سعيد

الجدول (٢) توزيع المركبات الفينولية في أنواع الجنس *Alcea*

النوع	Chlorogenic acid	Caffeine	Caumaric acid	Ferulic acid	Vanillin	4-Methyl phenol	2-6 2,6-Dimethyl phenol	Salicylic acid	P-cresol	t-zimt-savve	4-allyl anisol	Eugenol
A.arbelensis	+	+			+					+		
A.digitata	+	+					+			+		
A.dissecta	+	+		+	+							
A.guestii	+	+				+				+		+
A. koelzii	+	+			+							
A.kurdica	+	+	+	+								
A.longipeduncularis	+	+			+		+			+		
A.peduncularis	+	+	+			+				+		
A.setosa	+	+			+		+			+		
A.sulphurea	+	+	+		+	+				+		

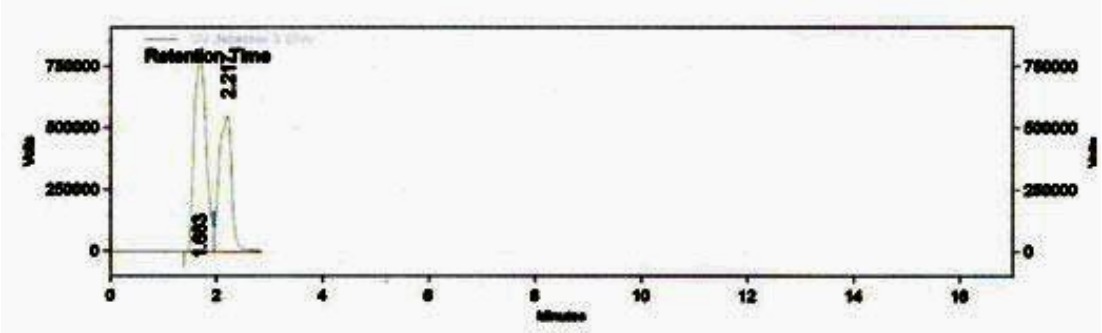


دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. (Malvaceae)

النامية بريا في العراق .

خزعل ضبع وادي الجبوري خالد ضياء عبدالواحد جوهر فتاح سعيد

Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
2.267	1431862	13.64	148278	20.54
2.633	1143472	10.89	113410	15.71
3.000	987904	9.41	85987	11.91
3.483	422675	4.03	27225	3.77
3.867	397920	3.79	31267	4.33
4.250	345305	3.29	20168	2.79
4.800	720149	6.86	39437	5.46
5.350	3601790	34.32	200790	27.81
7.750	159507	1.52	7150	0.99
10.150	1285652	12.25	48200	6.68
Totals	10496236	100.00	721912	100.00



UV detector S
2500 Results

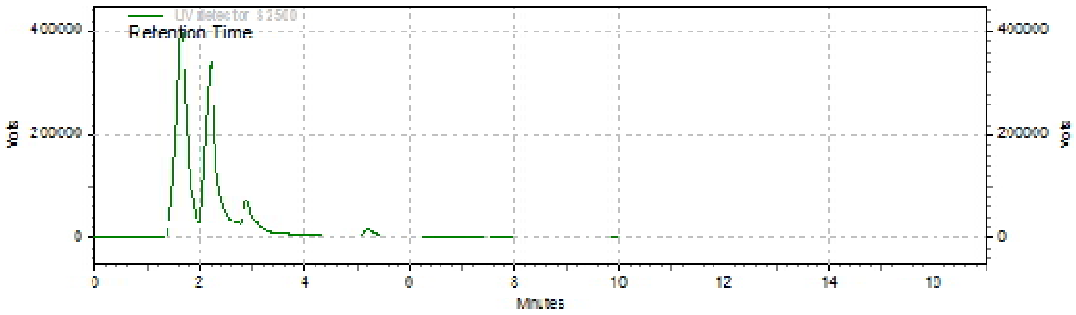
Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1.683	12568495	58.22	805739	59.51
2.217	9020256	41.78	548121	40.49
Totals	21588751	100.00	1353860	100.00

الشكل (١) التحليل الكروموتوغرافي السائل عالي الاداء (HPLC) للمركبات القياسية

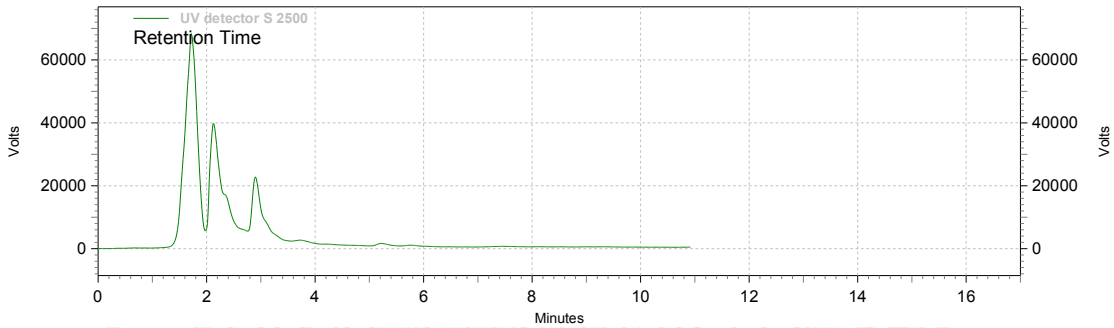
دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. (Malvaceae)

النامية بريا في العراق .

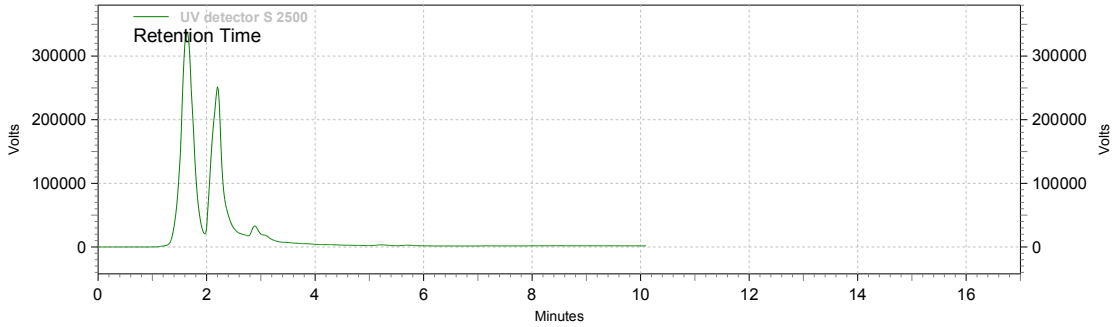
خزعل ضبع وادي الجبوري خالد ضياء عبدالواحد جوهر فتاح سعيد



A. arbelensis .*A*



A.digitata

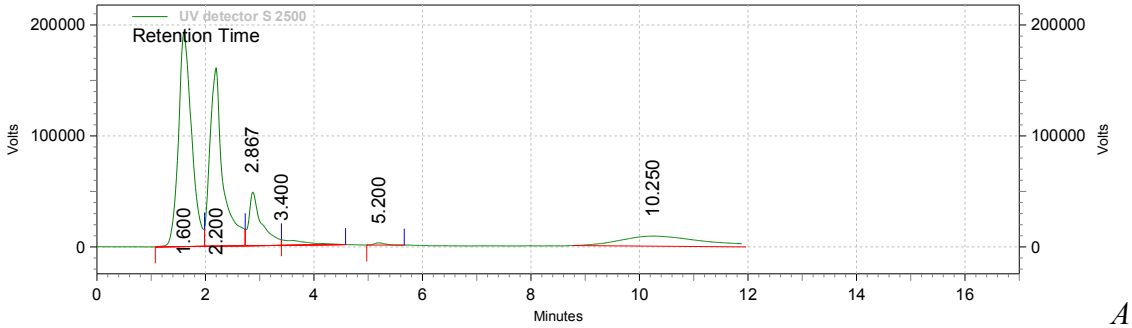


A.dissecta

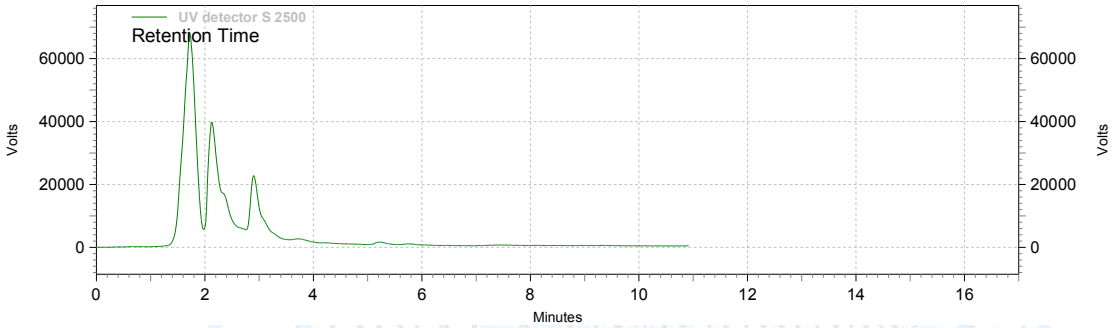
الشكل(٢) التحليل الكروموتوغرافي السائل عالي الاداء لبعض انواع الجنس

دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. (Malvaceae) النامية بريا في العراق .

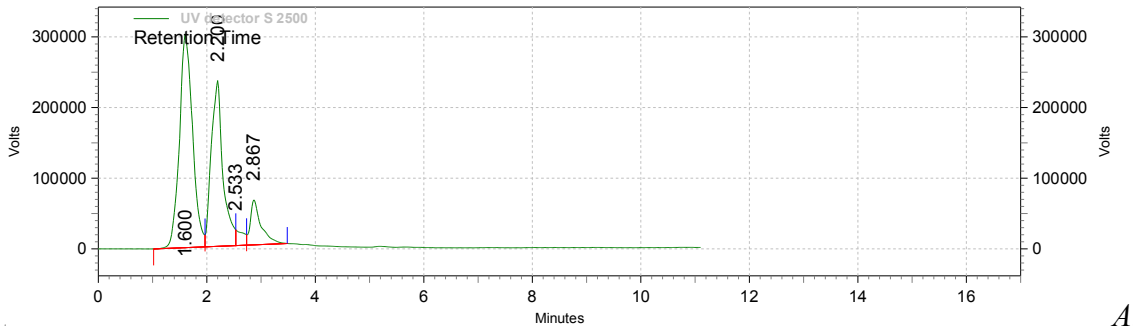
خزعل ضبع وادي الجبوري خالد ضياء عبدالواحد جوهر فتاح سعيد



A. guestii



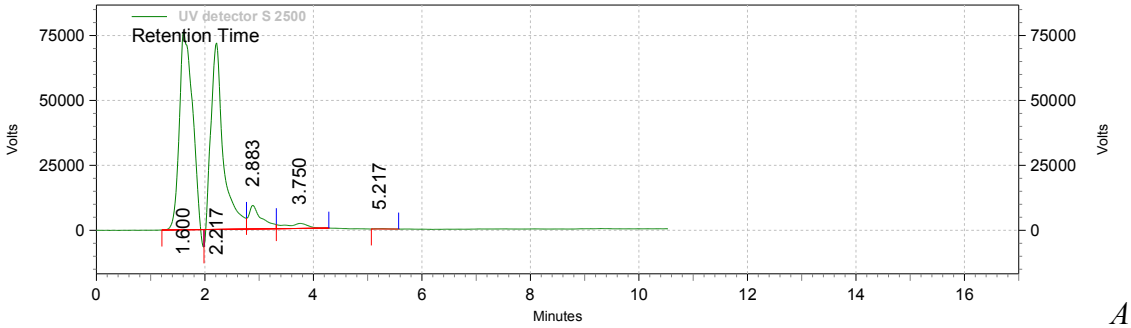
A. koelzii



A. kurdica

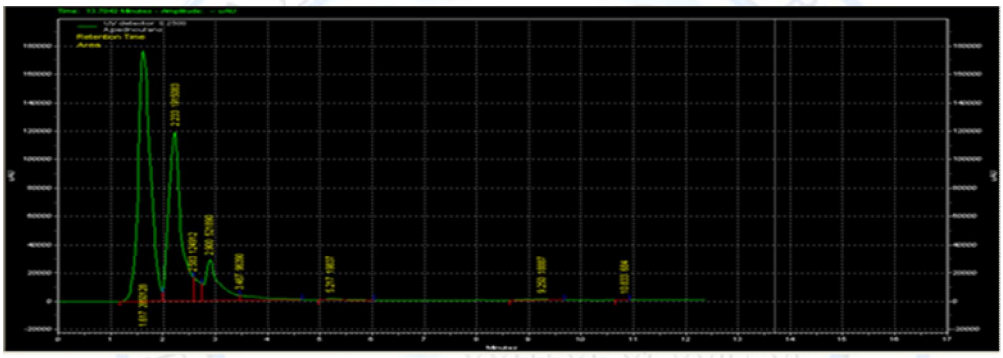
دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. (Malvaceae) النامية بريا في العراق .

خزعل ضبع وادي الجبوري خالد ضياء عبدالواحد جوهر فتاح سعيد

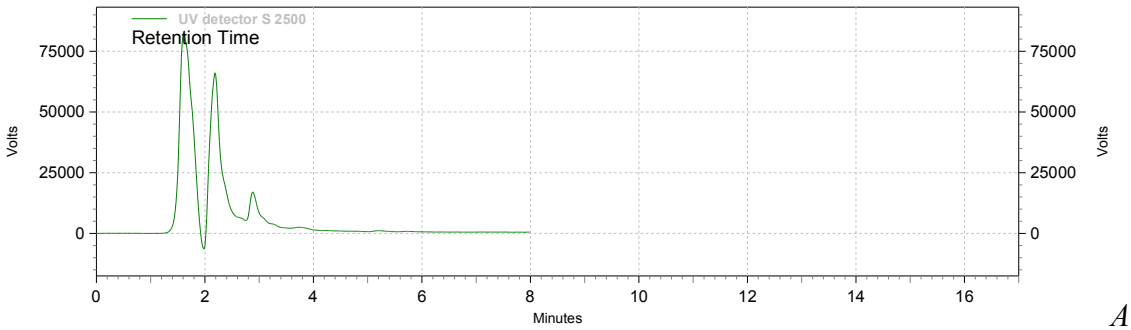


A. longipeduncularis

الشكل(٣) التحليل الكروموتوغرافي السائل عالي الاداء لبعض انواع الجنس



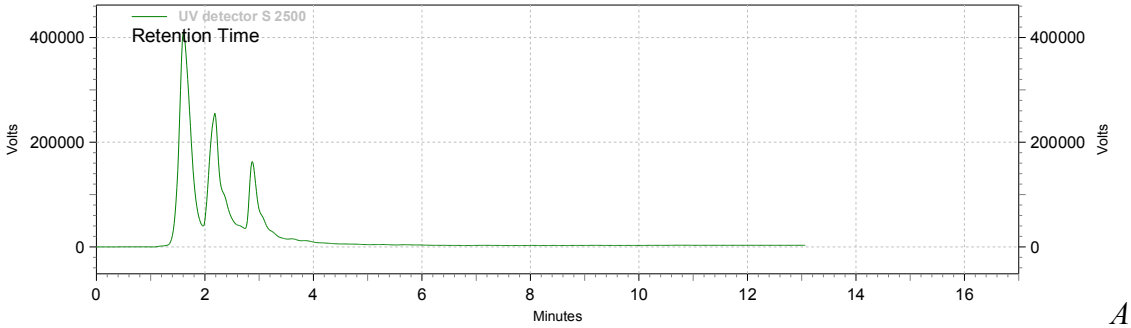
A. peduncularis



A. setosa

دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. (Malvaceae) النامية بريا في العراق .

خزعل ضبع وادي الجبوري خالد ضياء عبدالواحد جوهر فتاح سعيد



A. sulphurea

الشكل(٤) التحليل الكروموتوغرافي السائل عالي الاداء لبعض انواع الجنس

دراسة تصنيفية كيميائية (المركبات الفينولية) لأنواع الجنس *Alcea* L. (Malvaceae) النامية بريا في العراق .

خزعل ضبع وادي الجبوري خالد ضياء عبدالواحد جوهر فتاح سعيد

A.arbelensis

A.digitata

A.dissecta

A.guestii

A.koelzii

A.kurdica

A.mosulensis

A.longipeduncularis

A.peduncularis

30cm

A.sulphurea

A.setosa

اللوحة رقم (١) صور العينات المعشبية لأنواع الجنس *Alcea* L.

References المصادر

الجبوري ، خزعل ضبع وادي (٢٠٠٤) الجنس *Alcea* L. في العراق ، دراسة تصنيفية مقارنة . رسالة ماجستير .جامعة بغداد - كلية العلوم .

الزبيدي ، زهير نجيب وهدى عبدالكريم بابان وفارس كاظم فليح (١٩٩٦) دليل العلاج بالأعشاب العراقية . وزارة الصحة . منظمة الصحة العالمية .

الزبيدي ، عادل موحان عداي (١٩٩٨) دراسة تصنيفية للاجناس (*Ajuga* L. , *Marrubium* L. , *Lallemantia* Fisch.&C.A.Mey. , *Lamium* L.) العائده للعائلة الشفوية Labiatae في العراق . اطروحة دكتوراه . جامعة بغداد - كلية العلوم .

الموسوي ، علي حسين عيسى (١٩٨٧) علم تصنيف النبات . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . ٣٧٩ ص .

عرموش ،هاني (١٩٩٩) الاعشاب / الاستخدامات الطبية – العلاجية – التجميلية – التصنيفية . دار النفائس للطباعة والنشر والتوزيع . دمشق – سوريا .

عقيل ، محسن (١٩٩٦) طب الامام علي ،دار المحجة البيضاء ،بيروت – لبنان .

- Davis, P. H. and V. H. Heywood. (1973) Principles of Angiosperm Taxonomy. Robert. E. Krieger publishing Company Huntington, New York. 558 PP.
- Harborne, J. B. (1966) The Evolution of Flavonoid in plants. Swain,T. ,Comparative phytochemistry. In Acadimic press London. 271-295.
- Harborne, J.B. (1973) Phytochemicl meethods. Aguide to modern techniques of plant analysis. London, New york, Chapman &Hall. 278pp.
- Judd, W.S.; C.S. Compbell; E.A. Kellogg and P.F. Stevens. (1999) Plant systematic. Sinauer associates , INC. publishers , Sunderland , Massachusetts , U.S.A. 543 pp.
- Radford, A. E., W. C. Dikson, J. R. Massy and C. R. Bell. (1974). Vascular plant Systamatic. Harper & Row. 891 PP.
- Sandor,M. (1994) Biochemical Systematics and Ecology. Vol. 22 (1), pp. 85-94.
- Stace ,C. A. (1980) Plant taxonomy and biosystematic. Edward Arnold.London. 279 pp.

Chemotaxonomic study (phenolic compound) of the genus *Alcea* L. spp. (Malvaceae) wild grown in Iraq.

Khazal Dh. Wadi AL-Jibouri Khalid Dh. Abdul Wahid Jawhar Fattah Saeed

A chemotaxonomic study has been detected to the phenolic compounds in aerial parts (stem and leaves) of plants species belonging the genus *Alcea* L. which were collected during field trips to the districts of Iraq. Phenolic compounds have been identified by using High performance liquid chromatography (HPLC), 12 standard compounds used for comparison, the results showed that the species vary in containing phenolic compounds and also in concentration, which can be counted as a taxonomic evidence supporting the taxonomic studies like morphology, anatomical ,cytology, ecology , and palynology. This study is the first in Iraq to the genus *Alcea* in this subject.

Key words : Chemotaxonomy , Phenolic compounds , *Alcea* , Malvaceae