

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

کلیه امتیازهای این پایان‌نامه به دانشگاه بوعلی سینا تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب این پایان‌نامه در مجلات، کنفرانس‌ها و یا سخنرانی‌ها، باید نام دانشگاه بوعلی سینا یا استاد راهنمای پایان‌نامه و نام دانشجو با ذکر مأخذ و ضمن کسب مجوز کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر این صورت مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت. درج آدرس‌های ذیل در کلیه مقالات خارجی و داخلی مستخرج از تمام یا بخشی از مطالب این پایان‌نامه در مجلات، کنفرانس‌ها و یا سخنرانی‌ها الزامی می‌باشد.

....., Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

..... گروه دانشکده، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

مقالات خارجی

مقالات داخلی



دانشگاه گیلان
دانشکده علوم

گروه آموزشی زیست شناسی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان:

مطالعه ساپونین‌ها و ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برخی از
گونه‌های جنس *Silene*L.

استاد راهنما:

دکتر رویا کریمیان

استاد مشاور:

دکتر مسعود رنجبر

دکتر عذرا صبورا

نگارش:

راحله جمالی



عنوان:

مطالعه ساپونین‌ها و ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برخی از گونه‌های جنس *Silene L.*

نام نویسنده: راحله جمالی

نام اساتید راهنما: دکتر رویا کریمیان

نام اساتید مشاور: دکتر مسعود رنجبر، دکتر عدرا صبور

دانشکده: علوم پایه

گروه آموزشی: زیست‌شناسی

رشته تحصیلی: زیست‌شناسی

گرایش تحصیلی: فیزیولوژی گیاهی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد

تاریخ تصویب: ۱۳۸۹/۱۰/۱۱

تاریخ دفاع: ۹۰/۰۹/۰۸

تعداد صفحات: ۱۴۰

چکیده:

جنس *Silene* یکی از بزرگترین جنس‌های تیره میخکیان (Caryophyllaceae) با بیش از ۲۲۰۰ گونه است که اغلب در نیمکره شمالی گسترش دارند. دو مرکز اصلی تنوع این جنس آسیای جنوب غربی (بخصوص نواحی مدیترانه و خاورمیانه) و منطقه جنوب بالکان می‌باشند. در حدود ۱۱۰ گونه از این جنس در محدوده جغرافیایی ایران می‌رویند که حدود ۳۵ گونه آن انحصاری هستند. از متابولیت‌های ثانویه فراوان در این گیاه ترکیبات ساپونینی هستند. مطالعات نشان داده‌است که گیاهان این تیره و بویژه جنس *Silene* دارای مقادیر قابل توجهی ساپونین در بخش هوایی و ریشه خود می‌باشند. ساپونین‌ها کاربردهای دارویی، تجاری و غذایی فراوانی دارند. در این پژوهش، ساپونین چهار گونه مختلف (*Silene chlorofolia*، *S. bupleuroides*، *S. noctiflora* و *S. spergulifolia*) که از نواحی شمال شرق و غرب ایران از استان‌های خراسان، زنجان و آذربایجان شرقی جمع آوری شده بودند، به صورت کمی و کیفیتوسط روش‌های اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی لایه نازک مطالعه شد. نتایج نشان داد که گونه *S. bupleuroides* دارای پنج نوع ساپونین استو لکه شماره ۲ با $R_f = 0.33$ ، اصلی‌ترین ترکیب ساپونینی آن می‌باشد. محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و نیز خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در چهار گونه مورد بررسی به روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از حضور ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه در این چهار گونه بود. اثرات ضدباکتریایی ساپونین گیاهان مورد بررسی در برابر ۴ سویه و اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آن‌ها در برابر ۶ سویه باکتری گرم مثبت و منفی به روش انتشار دیسک مورد بررسی قرار گرفت و خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌ها و ساپونین در برابر برخی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: اسپکتروفتومتری، روش انتشار دیسک، ساپونین، فلاونوئید، فنل، کروماتوگرافی لایه نازک، *Silene*.

فهرست مطالب

۱۴	۱ بررسی منابع
۱۵	۱-۱ مشخصات گیاهشناسی جنس <i>Silene</i> L
۱۵	۱-۱-۱ معرفی راسته Caryophyllales
۱۶	۲-۱-۱ معرفی تیره میخکیان (Caryophyllaceae)
۱۸	۳-۱-۱ مصارف و اهمیت اقتصادی
۱۸	۴-۱-۱ اختصاصات عمومی تبار Sileneae
۱۹	۵-۱-۱ جنس <i>Silene</i> L
۲۰	۶-۱-۱ تاریخچه تاکسونومی جنس <i>Silene</i> L
۲۱	۷-۱-۱ پراکنش جغرافیایی جنس <i>Silene</i> L
۲۸	۸-۱-۱ معرفی گونه های مورد بررسی
۲۹	۲-۱ متابولیت های ثانویه
۳۱	۱-۲-۱ ساپونین ها
۴۰	۲-۲-۱ ترکیبات فنلی یا پلی فنل ها
۴۶	۳-۱ آنتی اکسیدان ها
۴۷	۱-۳-۱ رادیکال های آزاد
۴۹	۲-۳-۱ منشاء رادیکال های آزاد
۵۱	۳-۳-۱ خاصیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی
۵۲	۴-۳-۱ خواص ضدباکتری عصاره گیا هان
۵۳	۵-۳-۱ باکتری های مورد بررسی
۵۷	۴-۱ اهداف پژوهش
۵۸	۲ مواد و روش ها
۵۹	۱-۲ مواد گیاهی
۶۰	۲-۲ مطالعه کیفی و کمی ساپونین ها
۶۰	۱-۲-۲ تعیین شاخص اندیس کف کنندگی ساپونین ها
۶۰	۲-۲-۲ استخراج ساپونین های تری ترپنوئیدی
۶۳	۳-۲-۲ مطالعه کمی ساپونین
۶۴	۴-۲-۲ مطالعه کیفی ساپونین ها به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)
۶۵	۳-۲ تهیه عصاره متانولی گیاهان
۶۷	۴-۲ سنجش میزان فنل کل
۶۸	۵-۲ سنجش میزان فلاونوئید کل
۶۹	۶-۲ مطالعه میزان فعالیت آنتیاکسیدانی
۶۹	۱-۶-۲ مهار رادیکال های آزاد DPPH
۷۰	۲-۶-۲ فعالیت کلات کنندگی فلزات

۳-۶-۲	مهار آنیون سوپراکسید.....	۷۱
۷-۲	بررسی اثرات آنتی باکتریایی عصاره_ها.....	۷۱
۱-۷-۲	باکتری_های مورد استفاده.....	۷۱
۲-۷-۲	تهیه محیط کشت.....	۷۲
۳-۷-۲	کشت باکتری.....	۷۳
۴-۷-۲	روش انتشار دیسک.....	۷۴
۸-۲	بررسی اثرات ضدباکتریایی ساپونین_ها.....	۷۵
۳	نتایج.....	۷۶
۱-۳	نتایج ساپونین_ها.....	۷۷
۱-۱-۳	نتایج حاصل از مطالعه میزان شاخص اندیس کف کنندگی.....	۷۷
۲-۱-۳	نتایج حاصل از استخراج ساپونین_ها.....	۷۹
۳-۱-۳	نتایج حاصل از مطالعه کیفی ساپونین_ها به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC).....	۸۸
۴-۱-۳	نتایج حاصل از مطالعه فعالیت ضدباکتریایی ساپونین_ها.....	۹۱
۲-۳	نتایج حاصل از مطالعه محتوای فنل کل.....	۱۰۰
۳-۳	نتایج حاصل از سنجش محتوای فلاونوئید کل.....	۱۰۱
۴-۳	نتایج حاصل از مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گونه_های <i>Silene</i> مورد مطالعه با استفاده از آزمون_های مختلف.....	۱۰۳
۱-۴-۳	نتایج حاصل از مطالعه مهار رادیکال_های آزاد DPPH.....	۱۰۳
۲-۴-۳	نتایج حاصل از مطالعه فعالیت کلات_کنندگی فلزات.....	۱۰۴
۳-۴-۳	نتایج حاصل از مطالعه مهار آنیون سوپراکسید.....	۱۰۵
۵-۳	رابطه میان خواص آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی و سایر آنتی اکسیدان_های مورد بررسی.....	۱۰۶
۶-۳	نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره گونه_های مختلف <i>Silene</i>	۱۱۱
۱-۶-۳	فعالیت ضدباکتریایی عصاره <i>Silene bupleuroides</i>	۱۱۱
۲-۶-۳	فعالیت ضدباکتریایی عصاره <i>Silene chlorofolia</i>	۱۱۲
۳-۶-۳	فعالیت ضد باکتریایی عصاره <i>Silene noctiflora</i>	۱۱۳
۴-۶-۳	فعالیت ضد باکتریایی عصاره <i>Silene spergulifolia</i>	۱۱۳
۴	بحث.....	۱۱۶
۱-۴	استخراج ساپونین_ها.....	۱۱۶
۲-۴	نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضدباکتری ساپونین_ها.....	۱۱۸
۳-۴	مطالعه محتوای فنلی کل گونه های مورد بررسی.....	۱۱۹
۴-۴	مطالعه محتوای فلاونوئید کل گونه های مورد بررسی.....	۱۲۰
۵-۴	مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی گونه های مورد بررسی.....	۱۲۰
۶-۴	مطالعه خواص آنتی باکتریایی گونه های مورد بررسی.....	۱۲۲

فهرست جدول‌ها و نمودارها

- جدول ۱-۱: پراکنش جغرافیایی جنس *Silene* L ۲۲
- جدول ۲-۱: ترکیبات فنلی و منابع آن‌ها (Halvorsen, et al., 2006) ۴۲
- جدول ۳-۱: اکسیدان‌های رادیکال و غیررادیکال مهم در شرایط *in vitro* (Huang, et al., 2005) ۴۹
- جدول ۱-۲: مشخصات گونه‌های مورد مطالعه از جنس *Silene* L. ۵۹
- جدول ۲-۲: هشت گونه باکتری بررسی شده ۷۲
- جدول ۱-۳: مقدار کف ایجاد شده بر اساس حجم جوشانده گیاهی در گونه *Silene noctiflora* ۷۷
- جدول ۲-۳: مقدار کف ایجاد شده بر اساس حجم جوشانده گیاهی در دو گونه *Silene chlorofolia* و *Silene spergulifolia* ۷۸
- جدول ۳-۳: مقدار کف ایجاد شده بر اساس حجم جوشانده گیاهی در گونه *Silene bupleuroides* ۷۹
- جدول ۴-۳: مقدار ساپونین استخراج شده از سه روش مورد بررسی در جنس *Silene bupleuroides* ۸۰
- جدول ۵-۳: مقایسه مقدار ساپونین استخراج شده از سه روش مورد بررسی در جنس *Silene chlorofolia* ۸۲
- جدول ۶-۳: مقدار ساپونین استخراج شده از سه روش مورد بررسی در جنس *Silene noctiflora* ۸۴
- جدول ۷-۳: مقایسه مقدار ساپونین استخراج شده از سه روش مورد بررسی در جنس *Silene spergulifolia* ۸۶
- جدول ۸-۳: محتوای ساپونین کل سه روش استخراج انجام شده از گونه‌های مورد مطالعه ۸۷
- جدول ۹-۳: لکه های R_f مربوط به ساپونین در گیاه *Silene bupleuroides* ۸۹
- جدول ۱۰-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene bupleuroides* حاصل از روش اول ۹۱
- جدول ۱۱-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene bupleuroides* حاصل از روش دوم ۹۲
- جدول ۱۲-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene chlorofolia* به روش اول ۹۳
- جدول ۱۳-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene chlorofolia* به روش دوم ۹۳
- جدول ۱۴-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene noctiflora* به روش اول ۹۵
- جدول ۱۵-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene noctiflora* به روش دوم ۹۵
- جدول ۱۶-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene spergulifolia* به روش اول ۹۷
- جدول ۱۷-۳: قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین *Silene spergulifolia* به روش دوم ۹۷
- جدول ۱۸-۳: مجموع قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین گونه‌های مورد بررسی بر باکتری‌های مختلف از روش اول ۹۹
- جدول ۱۹-۳: مجموع قطر هاله (mm) ناشی از اثر ساپونین گونه‌های مورد بررسی بر باکتری‌های مختلف از روش دوم ۹۹
- جدول ۲۰-۳: مقایسه محتوای فنل کل در چهار گونه مختلف *Silene* ۱۰۰
- جدول ۲۱-۳: مقایسه محتوای فلاونوئید کل در چهار گونه مختلف *Silene* ۱۰۱
- جدول ۲۲-۳: مقایسه درصد فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره چهار گونه گیاه *Silene* ۱۰۳
- جدول ۲۳-۳: درصد فعالیت کلاتکنندگی فلزات توسط عصاره چهار گونه *Silene* ۱۰۵
- جدول ۲۴-۳: مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد آنیون سوپراکسید توسط عصاره چهار گونه *Silene* ۱۰۶

جدول ۳-۲۵: مقایسه قطر هاله (mm) ناشی از اثر عصاره *Silene bupleuroides* بر باکتری‌های مختلف ۱۱۲

نمودار ۳-۱ مقایسه مقدار کف ایجاد شده بر اساس غلظت عصاره گیاه *Silene noctiflora* ۷۷

نمودار ۳-۲ مقایسه مقدار کف ایجاد شده بر اساس غلظت عصاره گیاه *Silene chlorofolia* و *Silene*

spergulifolia ۷۸

نمودار ۳-۳ مقایسه مقدار کف ایجاد شده بر اساس غلظت عصاره گیاه *Silene bupleuroides* ۷۹

نمودار ۳-۴ مقایسه محتوای ساپونین کل گونه‌های مورد بررسی ۸۸

نمودار ۳-۵ رابطه میان فنل کل و فلاونوئید کل در چهار گونه جنس *Silene* ۱۰۲

نمودار ۳-۶ مقدار فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره چهار گونه گیاه *Silene* ۱۰۴

نمودار ۳-۷ مقادیر IC_{50} عصاره چهار گونه گیاه *Silene* در برابر آسکوربیک اسید ۱۰۴

نمودار ۳-۸ درصد فعالیت کلاتکنندگی فلزات توسط عصاره چهار گونه گیاه *Silene* ۱۰۵

نمودار ۳-۹ مقایسه درصد مهار رادیکال‌های آزاد آنیون سوپراکسید توسط عصاره چهار گونه *Silene* ۱۰۶

نمودار ۳-۱۰ رابطه میان مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH و فعالیت کلات کنندگی فلزات ۱۱۰

نمودار ۳-۱۱ رابطه میان مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH و فعالیت مهاری آنیون سوپراکسید ۱۱۰

نمودار ۳-۱۲ رابطه میان فعالیت کلات کنندگی فلزات و فعالیت مهاری آنیون سوپراکسید ۱۱۱

فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۱ نمونه‌هایی از جنس *Silene* L. ۲۰
- شکل ۲-۱ ساختار پایه فلاونوئید ۴۴
- شکل ۱-۲ روش اول استخراج ساپونین ۶۲
- شکل ۲-۲ روش دوم استخراج ساپونین ۶۲
- شکل ۳-۲ روش سوم استخراج ساپونین ۶۳
- شکل ۴-۲ تانک TLC ۶۴
- شکل ۵-۲ ظهور لکه‌های مورد نظر بعد از اسپری حلال روی صفحات TLC ۶۵
- شکل ۶-۲ دستگاه سوکسله ۶۶
- شکل ۷-۲ دستگاه روتاری اواپوریتور ۶۷
- شکل ۸-۲ دستگاه اسپکتروفتومتر ۶۸
- شکل ۹-۲ تلقیح کردن سطح پلیت توسط باکتری ۷۴
- شکل ۱۰-۲ تقسیم سطح پلیت به چهار قسمت و قرار دادن دیسک بلنک_ها در آن ۷۴
- شکل ۱-۳ مقایسه محتوای ساپونین کل در ۳ روش عصاره‌گیری در گیاه *Silene bupleuroide* ... ۸۱
- شکل ۲-۳ مقایسه محتوای ساپونین کل در ۳ روش مختلف عصاره‌گیری
- در گیاه *Silene chlorofolia* ۸۳
- شکل ۳-۳ مقایسه محتوای ساپونین کل در ۳ روش مختلف عصاره‌گیری
- در گیاه *Silene noctiflora* ۸۵
- شکل ۴-۳ مقایسه محتوای ساپونین کل در هر یک از روش‌های عصاره‌گیری
- در گیاه *Silene spergulifolia* ۸۷
- شکل ۵-۳ تصاویر کروماتوگرام مربوط به فرکشن‌های مختلف روش اول استخراج ساپونین ۸۹
- شکل ۶-۳ تصاویر کروماتوگرام مربوط به فرکشن‌های مختلف روش دوم و سوم استخراج ساپونین ۹۰
- شکل ۷-۳ قطراله (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene bupleuroides* به روش دوم بر روی باکتری *Enterobacter aerogenes* ۹۲

- شکل ۳-۸ قطرهایه (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene bupleuroides* به روش اول بر روی باکتری *Proteus vulgaris* ۹۲
- شکل ۳-۹ قطرهایه (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene chlorofolia* به روش دوم بر روی باکتری *Bacillus cereus* ۹۴
- شکل ۳-۱۰ قطرهایه (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene chlorofolia* به روش اول بر روی باکتری *Bacillus cereus* ۹۴
- شکل ۳-۱۱ قطرهایه (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene noctiflora* به روش دوم بر روی باکتری *Citrobacter amalonaticus* ۹۶
- شکل ۳-۱۲ قطرهایه (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene noctiflora* به روش اول بر روی باکتری *Citrobacter amalonaticus* ۹۶
- شکل ۳-۱۳ قطرهایه (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene spergulifolia* به روش دوم بر روی باکتری *Enterobacter aerogenes* ۹۸
- شکل ۳-۱۴ قطرهایه (mm) ناشی از اثر ساپونین حاصل از فرکشن‌های مختلف *Silene spergulifolia* به روش اول بر روی باکتری *Enterobacter aerogenes* ۹۸
- شکل ۳-۱۵ منحنی استاندارد گالیک اسید ۱۰۰
- شکل ۳-۱۶ منحنی استاندارد کوئرستین ۱۰۱
- شکل ۳-۱۷ نسبت مقایسه مقادیر فنل کل و فلاونوئید کل در گونه‌های *Silene* مورد مطالعه ۱۰۲
- شکل ۳-۱۸ رابطه میزان فنل کل با فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH ۱۰۷
- شکل ۳-۱۹ رابطه میزان فنل کل با فعالیت کلات‌کنندگی آهن ۱۰۷
- شکل ۳-۲۰ رابطه میزان فنل کل با فعالیت مهار آنیون سوپراکسید ۱۰۸
- شکل ۳-۲۱ رابطه میزان فلاونوئید کل با فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH ۱۰۸
- شکل ۳-۲۲ رابطه میزان فلاونوئید کل با فعالیت کلات‌کنندگی آهن ۱۰۹
- شکل ۳-۲۳ رابطه میزان فلاونوئید کل با فعالیت مهار آنیون سوپراکسید ۱۰۹

شکل ۳-۲۴ قطر هاله ناشی از اثر عصاره

۱۱۴..... *Bacillus cereus* بر باکتری *Silene bupleuroides*

مقدمه

گیاهان از ابتدای تمدن بشر تاکنون کاربردهای متنوعی داشته اند. گروهی به عنوان ماده غذایی تامین کننده نیازهای تغذیه‌ای هستند، گروهی خاصیت دارویی داشته و تسکین دهنده آلام جسمی می‌باشند. گیاهان دارویی اگرچه از دیرباز برای بشر آشنا و در بسیاری از مواقع مرهم درد-های او بوده است، اما پیشرفت‌های علمی و فناوری طی دودهه اخیر اهمیت و نقش سازنده گیاهان دارویی در تامین نیازهای بشر به ویژه در حیطه دارو و درمان دوچندان ساخته است. ایران از سالیان دور یکی از مراکز تولید و عرضه گیاهان دارویی به شمار می‌رفته و تلاش دانشمندان ایرانی برای شناسایی و معرفی گیاهان دارویی، بی‌اثر نبوده است. همچنین با توجه به عوارض جانبی ناشی از استفاده داروهای شیمیایی، بیشتر کشورهای دنیا به داروهای گیاهی و گیاه درمانی رو آورده‌اند، تا آنجا که ۸۰ درصد داروهای عرضه شده در برخی کشورها منشأ گیاهی و طبیعی دارد. دانشمند بزرگ ایرانی بوعلی سینا در کتاب (قانون در طب)، از بیش از ۵۵۰ گیاه دارویی نام برده است. ساپونین‌ها گروه متنوعی از متابولیت‌های ثانویه هستند که به طور گسترده در قلمرو گیاهی پراکنده شده‌اند. ساختار آن‌ها متشکل از یک آگلیکون تری‌ترپنوئیدی یا استروئیدی و یک یا چند زنجیره قند می‌باشد. ساپونین‌های استروئیدی اغلب در گیاهان تک‌لپه و ساپونین‌های تری‌ترپنوئیدی عمدتاً در دولپه‌ها حضور دارند. بدلیل وجود بخش آگلیکون محلول در چربی و زنجیره قند محلول در آب و طبیعت آمفی‌فیلیک، ساپونین‌ها رفتاری شبیه صابون دارند. آن‌ها در بسیاری از گیاهان دارویی وجود دارند و خاصیت فیزیکی اصلی آن‌ها کاهش شدید فشار سطحی آب است. تمام ساپونین‌ها کف زیادی دارند و از پاک‌کننده‌های عالی هستند. از خواص دیگر آن‌ها توانایی همولیز کردن گلبول‌های قرمز است، به این ترتیب که هموگلوبین موجود در آن‌ها را آزاد می‌سازند و این چیزی است که غیر قابل مصرف بودن برخی از آن‌ها را به علت سمی بودنشان توجیه می‌کند. ساپونین‌ها مخاط را تحریک می‌کنند و سبب شل شدن مخاط روده می‌شوند و همراه با مصرف گیاهانی نظیر بنگ سفید، ریشه شیرین بیان و چوبک باعث افزایش ترشحات شش‌ها یا به عبارتی خلط‌آور (اکسپکتورانت) می‌شوند. از آن‌ها به عنوان مسهل و ضد عفونی کننده مجاری ادرار نیز استفاده

می‌شود. تحقیقات گسترده‌ای در مورد خواص ساپونین‌ها از جمله افزایش نفوذپذیری غشا، تحریک سیستم ایمنی، کاهش کلسترول، خواص ضدسرطانی، ضدویروسی، ضدقارچی، ضدالتهاب، ضدحشره و ضدتهوع انجام شده است. ساپونین‌ها از طریق اعمال برخی از مکانیسم‌های حفاظتی علیه رادیکال‌های آزاد تولید شده در بدن جانداران اثر می‌کنند. متابولیت‌های ثانویه گیاهان به سرعت در خاک تجزیه می‌شوند و معمولاً بر روی پستانداران اثر سمی ندارند. به علاوه می‌توانند اثرات مفیدی در افزایش ظرفیت تولید گیاهان زراعی داشته باشند. در میان این ترکیبات، ساپونین‌ها به خاطر خاصیت قارچ‌کشی خود در سیستم دفاعی گیاهان نقش ویژه‌ای ایفا می‌کنند. این ترکیبات از نظر تجاری، ترکیبات مهمی هستند و در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی کاربرد وسیعی دارند.

از ویژگی‌های مطرح جنس *Silene*، وجود ترکیبات ساپونینی در آن‌ها است. جنس *Silene* L. بزرگترین جنس از تیره Caryophyllaceae است. این جنس بیش از ۹۲ گونه در ایران دارد. در فلور ایرانیکا این جنس به ۲۳ بخش تقسیم شده است و برای شناسایی از طریق کلید شناسایی، در ۱۰ گروه در فلور جای گرفته است. در مورد استخراج و شناسایی ساپونین‌های گیاهان جنس *Silene* اطلاعات محدودی در دسترس است و در مورد اعضاء موجود در ایران گزارشی وجود ندارد. مطالعات انجام شده بر روی ترکیبات ساپونینی برخی گونه‌های *Silene* و جنس نزدیک آن *Dianthus* حاکی از آن است که آزمون عصاره‌گیری در شرایط مختلف pH و دما و با استفاده از حلال‌های مختلف، می‌تواند در میزان ساپونین استخراج شده و پایداری آن موثر باشد. اما متأسفانه در ایران تحقیقات مدونی در مورد ساپونین‌های این گیاه و اثرات دارویی آن گزارش نشده است. با توجه به فراوانی این گیاه در نواحی مختلف ایران و جهان، مطالعه در این زمینه و شناسایی ترکیبات آن ضروری به نظر می‌رسد. نظر به اهمیت فراوان ترکیبات موثر موجود در گیاهان این جنس در این پژوهش محتوای ساپونین، فنل کل، فلاونوئید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به روش اسپکتروفوتومتری مورد بررسی قرار گرفت. اثرات ضدباکتریایی ساپونین گیاهان مورد بررسی در برابر ۴ گونه و اثر ضدباکتری عصاره‌های آن‌ها بر روی ۶ گونه از باکتری‌های گرم مثبت و منفی مورد بررسی قرار گرفت.

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱ مشخصات گیاه‌شناسی جنس *Silene* L.

۱-۱-۱ معرفی راسته Caryophyllales

راسته میخکیان (Caryophyllales) آن‌گونه که از بسیاری سین‌آپومورفی‌های مشخص مانند ساقه‌های غالباً دارای حلقه‌های متحدالمرکز از چوب و آبکش یا حلقه‌های متحدالمرکز از دستجات آوندی، گره‌های تک‌حفره‌ای، لوله‌های تک‌غربالی آوند آبکش دارای پلاستیدهایی با حلقه پیرامونی از رشته‌های پروتئینی و غالباً یک بلور پروتئین مرکزی (در حالی که لوله‌های غربالی اکثر گیاهان سه-شیاری پلاستیدهای نشاسته‌ای دارند) رنگیزه‌های قرمز تا زرد تشکیل شده از بتالائین‌ها (اما در Caryophyllaceae آنتوسیانین‌ها)، فقدان اینترون *rbcL* در *cpDNA*، یک حلقه منفرد از تپال‌ها، تمکن آزاد مرکزی تا قاعده‌ای، رویان خمیده و وجود پریسپرم همراه با آندوسپرم کم یا بدون آندوسپرم آشکار است، تک‌نیایی بودن این گروه قویاً به وسیله توالی‌های *atpB rbcL* و *rDNA* S ۱۸ تأیید شده‌است. این راسته متشکل از ۱۵ تیره و ۸۶۰۰ گونه است. تیره‌های عمده آن عبارتند از: Caryophyllaceae، Phytolaccaceae، Petiveriaceae، Nyctaginaceae، Amaranthaceae (شامل Chenopodiaceae)، Cactaceae و Portulacaceae. این راسته آن‌گونه که ریخت‌شناسی، DNA کلروپلاستی (توالی‌های *rbcL* و بازآرایی ساختاری) و توالی‌های *rDNA* ۱۸S نشان می‌دهند، با Polygonales خویشاوندی نزدیکی دارد.

روابط تبار شناختی موجود در Caryophyllales بسیار مطالعه شده است، لیکن هنوز کاملاً شناخته شده نیست. تیره Caryophyllaceae اغلب تیره خواهری بقیه اعضای این راسته منظور می‌شود، زیرا این تیره آنتوسیانین دارد (به صورت رنگیزه‌های قرمز یا زرد)، در حالی که سایر تیره‌های این راسته بتالائین دارند. اگر این فرض درست باشد آن‌گاه بتالائین‌ها برای راسته Caryophyllales سین-

آپومورفی نخواهند بود و در مقابل کلاد دربرگیرنده تمام اعضای راسته بجز Caryophyllaceae و Molluginaceae را مشخص می‌کند.

تحلیل‌های کلادیستیک اخیر نشان می‌دهند که Caryophyllaceae از اجداد بتالائین‌دار تکامل یافته است و بتالائین‌ها را از دست داده است (همراه با اکتساب مجدد آنتوسیانین‌ها احتمالاً دو تغییر بیوشیمیایی دخیل است).

تیره‌های Phytolaccaceae، Petiveriaceae و Nyctaginaceae یک کلاد را تشکیل می‌دهند که به وسیله وجود بلورهای سوزنی و ویژگی‌های ژنوم کلروپلاستی حمایت می‌شود، و Portulacaceae، Cactaceae و Aizoaceae بر مبنای وجود فیتوفریتین در پارانشیم آبکش، متابولیسم اسیدی کراسولاسه‌ای (CAM) و ظاهر گوشتی، کلاد دیگری را تشکیل می‌دهند. اما شواهد مولکولی نشان می‌دهند که Aizoaceae در واقع شاید به کلاد Petiveriaceae Phytolaccaceae Nyctaginaceae تعلق داشته باشد. این گروه‌بندی با وجود بلورهای سوزنی در Aizoaceae حمایت می‌شود (قهرمان، ۱۳۷۳).

۱-۱-۲ معرفی تیره میخکیان (Caryophyllaceae)

گیاهانی علفی و بوته‌ای هستند و گاه دارای انشعابات و شاخه‌های فشرده و متراکم به صورت بوته-های بالشتی (کوسنی) شکل هستند. برگ‌های آن‌ها ساده، بدون دندانه، باریک، کشیده یا درفش‌مانند، فاقد گوشوارک و یا به ندرت دارای آن، معمولاً متقابل و فاقد دم‌برگ و در قاعده به هم پیوسته‌اند. ساقه در محل اتصال برگ‌ها متورم و برجسته است. گل‌آذین عموماً گرزنی دوسویه، با گل‌های نر و ماده، گاهی نیز تک جنس و یا پلی گام است. گلپوش ساده یا مضاعف، کاسه دارای پنج قطعه آزاد یا کم و بیش به هم چسبیده‌اند. جام همیشه آزاد، گلبرگ‌ها ناخنک‌دار یا بدون آن و جام در سطح درونی و در ناحیه گلو دارای زائده‌ای ناخنکی است که از کاسه قابل تشخیص است. تعداد پرچم‌ها

(نافه گل) متغیر و برابر با قطعات سایر حلقه‌ها، یا کمتر از آن‌ها و همراه با ناپرچمی‌هاست و غالباً مضاعف بوده و حالت ابدیپلوستمون^۱ دارند. مادگی دارای تخمدان زیرین یا نیمه‌زیرین، مرکب از ۴،۳،۲ و ۵ برچه به هم پیوسته و یا در حد فاصل پیوستگی آن‌ها نیز از بین می‌رود و یا کم و بیش باقی می‌ماند. در حالت اول، تخمدان دارای یک حفره و در حالت دوم دارای ۲ تا ۵ خانه است. تعداد تخمک‌ها از یک تا بی‌شمار تغییر می‌کند. در صورتی که حفره تخمدان یکی باشد، نوع تمکن مرکزی - پایه‌ای^۲ است و اگر دارای چند حفره بوده و دیواره‌های آن باقی‌مانده باشند، محوری است. خامه متناسب با تعداد برچه‌ها بین ۲ تا ۵ متغیر، کم و بیش به هم متصل یا کاملاً آزاد هستند. میوه کپسول، در بخشی رأسی به وسیله دریچه یا دندان‌ها و یا به وسیله شکاف‌های طولی باز می‌شود. در برخی از میخکیان نیز میوه فندقه یا سته‌مانند است. در گیاهان این تیره گرده‌افشانی معمولاً به وسیله حشرات انجام می‌گیرد. میخکیان غالباً دارای ساپونین^۳ (گروهی از گلیکوزیدها) و گاهی هم آلکالوئیدهای هتروزیدی هستند. تیره میخک در جهان دارای ۸۰ جنس و بیش از ۲۰۰۰ گونه است که در نواحی معتدل و سرد نیمکره شمالی می‌رویند، فسیل برخی از آن‌ها مانند جنس اسکرانتوس^۴ به دوره‌ی پالئوسن تعلق دارد (قهرمان، ۱۳۷۳).

به طور سنتی این تیره به سه زیرتیره Paronychioideae، Alsinoideae و Caryophylloideae تقسیم‌بندی می‌گردد (Bittrich, et al., 1993). زیرتیره Caryophylloideae دارای دو تبار Caryophylleae و Sileneae است. مطالعات فیلوژنتیک اخیر بر اساس داده‌های مولکولی در تبار Sileneae، ناکارآمدی رده‌بندی حاضر و مشکلات تشخیص و تمایز دقیق جنس‌های تک‌نیا را روشن کرده است (Oxelmann, et al., 2001). محققان از داده‌های مورفولوژیکی و مولکولی برای مرزبندی جنس‌های بزرگ و روابط درون تیره‌های گیاهی استفاده کرده‌اند.

1-obdiplostemon
2-central-basilaris
3-saponine
4-scleranthus

۱-۱-۳ مصارف و اهمیت اقتصادی

گیاهان تیره میخک اهمیت اقتصادی زیادی ندارند، ضمن اینکه برخی از آنها زینتی هستند ولی همه آنها تقریباً سرشار از ماده‌ی ساپونین می‌باشند که ماده‌ای سمی است. از دانه‌های آگروستماژیتوزا که سمی است، در بعضی موارد استفاده می‌شود. از ساپوناریا (گل صابونی) به عنوان پاک‌کننده استفاده می‌شود و در زمان‌های گذشته از این گیاه، به مقدار خیلی کم، به عنوان تصفیه‌کننده خون استفاده می‌شد. از ریشه چوبک‌ها هم به عنوان شوینده و هم در ساخت حلوا ارده‌ای استفاده می‌شود (قهرمان، ۱۳۷۳).

۱-۱-۴ اختصاصات عمومی تبار Sileneae

تبار Sileneae در حدود ۷۰۰ گونه دارد که در مناطق معتدله نیمکره شمالی می‌رویند. به طور غالب گروهی از گیاهان هستند که به صورت درختچه و کوتاه هستند. بخش بزرگی از این تبار شامل گونه‌های زیادی از جنس *Silene* است که دارای پراکندگی جهانی هستند. بقیه جنس‌های این تبار در اروپا و آسیا پراکنده‌اند. اکثر رده‌بندی‌های اخیر ۸ جنس را در این تبار تشخیص داده‌اند (Oxelman, et al., 2001).

این رده‌بندی بر پایه فیلوژنی مولکولی است که حداقل به حل بخشی از پیچیدگی‌های ویژگی‌های مورفولوژیکی متناقض که قبلاً برای رده‌بندی بکار برده می‌شد، کمک می‌کند. تعداد خامه‌ها، تعداد دندان‌های کاسه، ساختار داخلی تخمدان، تورم کاسه مانند دانه و ویژگی‌های گلبرگ به میزان زیادی تلاش شده که در رده‌بندی راه‌گشا باشند، اما بررسی‌های انجام شده متفاوت بوده و نشان داده‌اند که این ویژگی‌ها در درون گونه‌ها خیلی متغیر هستند. برای تعیین حدود بین‌گونه‌ای Sileneae از ویژگی‌های مورفولوژیکی برای رده‌بندی بکار برده شده است (Oxelman, et al., 2000; Chowdhuri, 1957).

۱-۱-۵ جنس *Silene* L.

جنس *Silene* L. بزرگترین جنس از تیره Caryophyllaceae می‌باشد. علف‌های یکساله یا چند ساله و پایا، گاهی در پایه چوبی، با کاسه لوله‌ای، فشرده یا در بالا وسیع و گشاده، مجهز به رگبرگ‌های برجسته و خط درز مشخص و دارای پنج دندانه است. گلبرگ‌های جام پنج عدد، با ناخنک، بدون زاویه و گلوی آن دارای تاجی از فلس‌هاست. پرچم‌ها ده عدد خامه، سه عدد کیسول، در پایین دارای سه-خانه یا فقط یک‌خانه، در انتها دارای شش دندانه محتوی دانه‌های متعدد و پوشیده از برجستگی‌های غده‌ای است. این جنس بیش از ۱۰۰ گونه در ایران دارد. در فلور ایرانیکا این جنس به ۲۳ بخش تقسیم شده است و برای شناسایی از طریق کلید شناسایی در ۱۰ گروه در فلور جای گرفته است (قهرمان، ۱۳۷۳).

از گذشته‌های دور تاکنون مطالعات تاکسونومیکی مختلفی در سطح دنیا در تبار *Sileneae* و جنس *Silene* صورت گرفته که با وجود تمامی تلاش‌ها هنوز رده‌بندی این جنس با مسائل زیادی روبه‌رو است که اغلب مولفان فلورها به آن اعتراف دارند. جنس *Silene* L. یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های این تیره از جنس‌های بزرگ فلور دنیا محسوب می‌گردد. بر اساس نظر و توافق همه مولفان، این جنس مهم‌ترین تاکسون در تبار است که هنوز مزربندی دقیق و تعداد گونه‌های آن ناشناخته است. گونه‌های جنس *Silene* ارگانسیم مدل برای مطالعات سیستم‌های زادآوری و الگوهای گرده‌افشانی بوده و تعدادی از گونه‌ها نیز سیستم مدل برای مطالعات ژنتیکی (کروموزوم‌های جنسی) و فرایندهای تکاملی هستند (Rabeler, et al., 2002). ارزش‌های اکولوژیکی گونه‌های مختلف این خانواده موضوعی است که کمتر به آن پرداخته‌شده، به ویژه گونه‌های صخره‌زی این تیره که در تولید خاک نقش بسزایی دارند.