ارزیابی صفات فیتوشیمیایی و آلکالوئیدهای کدیین و پاپاورین گونه‌های جنس شقایق در غرب و مرکز ایران: کاربرد تحلیل مولفه‌های اصلی و تحلیل خوشه‌ای

ناصر نظری[1]، فریبا شریف‌نیا[2]*، فهیمه سلیم‌پور[3]، محمد مهرنیا[4]، افسانه گران[5]

۱- دانشجوی دکتری زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- استادیار، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴-استادیار پژوهش، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خرم آباد، ایران

۵-استادیار، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه پزشکی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

یافته / دوره ۲۶ / شماره ۱ / بهار ۱۴۰۳ / مسلسل ۹۹

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۶/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۱

مقدمه: گیاه شقایق دارای آلکالوئیدهای متنوع بوده که در ساخت داروهای شل‌کننده ماهیچه و ... استفاده می‌شود. به همین منظور، این پژوهش جهت بررسی تغییرات فیتوشیمیایی و آلکالوئیدهای گیاه شقایق انجام شد.

مواد و روش‌ها: جمع‌آوری نمونه‌های ۶ گونه شقایق از استان‌های کرمانشاه، تهران، خوزستان و لرستان انجام شد. ترکیبات فیتوشیمیایی مورد بررسی در پژوهش، برای اندازه‌گیری آلکالوئیدها روش HPLC، فنول، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان از دستگاه اسپکتوفتومتری و از روش‌های آماری چند متغیره مولفه‌های اصلی و آنالیز خوشه‌ای به روش وارد استفاده شد.

یافته‌ها: بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فنول کل به ترتیب در نمونه‌های ***Papaver hybridum*** و ***P.rhoeas*** از لرستان، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فلاونوئید کل به ترتیب در نمونه لرستان از گونه ***P.bracteatum*** و نمونه استان خوزستان از گونه ***P.rhoeas*** و بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در استان کرمانشاه از گونه ***P.bracteatum*** و نمونه استان خوزستان از گونه ***P.rhoeas*** گزارش شد. نتایج آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که دو عامل اصلی و مستقل در مجموع ۷۰/۶ درصد واریانس کل را تبیین نمودند. نتایج آنالیز خوشه‌ای، نشان داد که تمام استان‌های مورد مطالعه از نظر ***P.rhoeas*** تشابه بسیاری داشتند و همچنین استان‌های لرستان، کرمانشاه و خوزستان از نظر گونه‌های ***P.dubium***، ***P.macrostomum***، ***P.hybridum*** و ***P.bracteatum*** تا حدوی مشابه بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: میزان فنول، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آلکالوئیدهای گیاه شقایق در این مطالعه، تحت تاثیر شرایط محیطی محل جمع‌آوری و نوع گونه قرار داشت. بطور کلی، گونه ***P.bracteatum*** از نظر خصوصیات فیتوشیمیایی مورد مطالعه غنی‌تر بوده و می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: شقایق، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنول کل، HPLC.

***آدرس مکاتبه:** تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

پست الکترونیک: fa.sharifnia@gmail.com

مقدمه

گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع تامین دارو برای انسان از گذشته مورد استفاده قرار می‌گرفتند و از خواص مهم این گیاهان در صنایع دارویی و بهداشتی استفاده می‌شود (۱). در طی دو دهه اخیر پژوهش‌های زیادی روی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی به‌دست آمده از منابع گیاهی مختلف، انجام شده است. از رایج‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توان به فلاونوئیدها، مشتقات اسید سینامیک، توکوفرول، اسیدهای آمینه، پپتیدها و اسیدهای آلی چند عاملی اشاره کرد (۲). از جمله گیاهان دارویی مهم در کشور می‌توان به گیاهان تیره خشخاش اشاره کرد که اغلب در اندام‌های خود مجاری ترشحی دارند (۳). شقایق (*Papaver* L.) متعلق به خانواده Papaveraceae با حدود ۱۰۰ گونه پراکنده در نیمکره شمالی (۴). در فلور ایران، تیره پاپاور دارای ۲۸ گونه یکساله و چند ساله است و دو جنس پاپاور و گلوسیوم از تیره خشخاش بوده که به شکل وحشی در ایران یافت می‌شوند (۵). Papaveraceae برای اهداف پزشکی و اقتصادی قابل توجه استفاده می شود. آلکالوئیدهای مورد استفاده در صنعت داروسازی مانند مورفین و کدئین (مسکن و ضددرد)، پاپاورین (سست‌کننده‌ی ماهیچه و گشادکننده رگ‌ها)، نوسکاپین (ضدسرفه و ضدتومور) و سنگوئینارین (نوعی آنتی بیوتیک) و چندین آلکالوئید دیگر که برای درمان طیف وسیعی از بیماری ها ضروری هستند (۶). به‌طور کلی از مواد مؤثره خشخاش و مشتقات به‌دست آمده از آن در صنعت داروسازی در ساخت داروهای شل‌کننده ماهیچه، آرام‌بخش‌ها، تسکین‌دهنده-های درد و روان‌گردان‌ها و بعضی از آنتوبیوتیک‌ها استفاده می‌شود (۷). با افزایش تقاضای جهانی، نیاز به دریافت ارقام حاوی سطح بالایی از آلکالوئیدهای شقایق وجود دارد، آلکالوئیدهای شقایق به عنوان سرکوب کننده سرفه، ضد سرطان، ضد مالاریا و ضد فشار خون استفاده می شود. تقاضای جهانی برای گیاهان شقایق، که حاوی مقادیر بالایی از آلکالوئیدهای خاص هستند، در حال افزایش است (۸). از این رو دانش شناسایی ژنوتیپ‌ها و طراحی اصلاحی کارآمد برنامه‌هایی برای دستیابی به اهداف اصلاح نژادی تنوع فیتوشیمیایی ترکیبات هدف برای مناسب مورد نیاز است (۹). تنوع ژنتیکی و فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف شقایق توسط محققان گزارش شده است (۱۰-۱۲). ترکیبات آلکالوئیدهایی قوی با فعالیت مهار رادیکال مانند نوسکاپین، مورفین، کدئین، تباین از گونه‌های شقایق هستند و مشخص شده که نوسکاپین می‌تواند به عنوان یک عامل مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو ظاهر شود (۱۳). آلکالوئیدهای پاپاور دارای خواص درمانی قابل توجهی در درمان بیماری‌های مختلف و نشان دادن برخی از خواص ضد میکروبی هستند. از این آلکالوئیدها در پزشکی سرطان، سرفه و فشار خون بالا استفاده شده است. همانطور که در مطالعات قبلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را برای برخی از گونه‌های گیاهی حاوی آلکالوئیدهای نشان داده است (۱۷-۱۴). گزارش شده است که آلکالوئیدهای مختلف تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرند. عواملی مانند عناصر محیطی می‌توانند بیان ژن های خاص مورد نیاز در بیوسنتز آلکالوئید را تنظیم کنند. علاوه بر این، دما یک عامل محیطی حیاتی است که بیش‌ترین فایده را بر روی تجمع و ترکیبی از آلکالوئیدها دارد. یانگ و همکاران (۱۸) توضیح دادند دما بر بیوسنتز مورفین در *P.somniferum* تأثیر می‌گذارد و همچنین نیتروژن از ارزش قابل توجهی بر روی تجمع آلکالوئید برخوردار است. در نتیجه، تفاوت ارزش نیتروژن در خاک‌های مناطق مختلف می‌تواند بر غلظت آلکالوئید شقایق تأثیر بگذارد. در نتیجه عوامل ژنتیکی و محیطی در بیوسنتز آلکالوئیدهای شقایق نقش دارند (۱۹). نشان داده شده که جمعیت شقایق دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی بوده که احتمالاً به

دلیل به اجزای پلی فنولی و آلکالوئیدی است (۲۰). در تحقیقی مقدار آلکالوئیدهای مختلف در نمونه‌های شقایق جمع‌آوری شده از مناطق مختلف بررسی شد. بنابر نتایج ارائه شده، حداکثر محتویات نوسکاپین (۲۱/۰۲ میلی گرم در کیلوگرم بر وزن خشک)، مورفین (۳۴/۵۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک)، تباین (۶/۹۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک)، پاپاورین (۱۰۳/۷۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک) و کدئین (۳/۶۳ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک) به ترتیب در *G. oxylobum*، *P. rhoeas*، *P. fugax* و *G. oxylobum*، *P. fugax* گزارش شدند (۲۱). در مطالعات زیادی متفاوت بودن مواد مؤثره گونه‌های مختلف شقایق، در شرایط محیطی مختلف به اثبات رسیده است. دیف و همکاران (۲۲) ترکیبات پلی‌فنولی از جمله فنول کل، فلاونوئید کل و تانن را در اندام‌های مختلف (گلبرگ، کاسبرگ، برگ و ریشه) گونه *P.rhoeas* را مورد مطالعه قرار دادند. تفاوت‌های معنی‌داری از لحاظ ترکیبات پلی‌فنولیک در بین اندام‌ها مشاهده شد. گلبرگ‌ها حاوی میزان بالایی از این ترکیبات بودند. در مطالعه‌ای اثر عوامل محیطی (شیب، ارتفاع و خاک) و مرحله رشدی روی ماده مؤثره شقایق گونه *P.bracteatum* مورد بررسی قرار گرفت. بیش‌ترین میزان مواد مؤثره در مرحله قبل از تکامل گرز در شیب زیاد و ارتفاعات پایینی تولید شد (۲۳). در مطالعه‌ای که به ارزیابی فنول کل، فلاونوئید و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف دو جنس Papaver و Glaucium جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران پرداختند، مشاهده شد که از نظر فنول کل، پیکره هوایی گونه *P.bracteatum*، فلاونوئید کل، پیکره هوایی گونه *G.mathiolifolium* و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، ریشه گونه *P.dubium* اندام‌ها و گونه‌ها شاخص بودند (۲۴). با وجود مطالعات بسیار کمی از گونه‌های مختلف تیره خشخاش، تاکنون پژوهش جامعی مبنی بر ارزیابی ترکیبات فنول و فلاونوئید، میزان آنتی‌اکسیدانی و روند تغییرات آلکالوئید در گلبرگ این گیاه در منابع علمی انجام نشده است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، علاوه بر اندازه‌گیری محتوای فنول و فلاونوئید کل، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان آلکالوئید پاپاورین و کدیین گونه‌های مختلف جنس شقایق جمع‌آوری شده از مناطق غرب و مرکز ایران، طبقه‌بندی نمونه‌های جمع‌آوری شده از نظر ویژگی‌های فوق، با استفاده از روش تحلیل خوشه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۴۰۰ با استفاده از جمع‌آوری و تهیه نمونه‌های گیاهی شقایق از ۴ استان ایران شامل: کرمانشاه، تهران، خوزستان و لرستان، طی دو مرحله در بهار و تابستان انجام شد. پس از شناسایی، نمونه‌ها در شرایط دمایی و نور مناسب به‌صورت هرباریومی درآمده و سپس جهت فرآیند عصاره‌گیری اندام‌های مورد نظر شامل گلبرگ، کاسبرگ، برگ و ساقه به آزمایشگاه منتقل و نمونه‌ها پودر شدند. سپس استخراج عصاره گیاهی با روش خیساندن (۲۵) انجام شد. برای این منظور ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۵ گرم گلبرگ خشک پودر شده که ۵۰ میلی لیتر حلال متانول- آب (۸۰ درصد) به آن اضافه شده بود، به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق روی شیکر قرار داده شدند. سپس محتویات ارلن‌ها را از کاغذ صافی عبور داده و به‌منظور خارج کردن متانول از عصاره و تغلیظ آن، محلول متانولی به‌دستگاه روتاری تحت خلاء انتقال داده شد. در پایان عصاره خالص به‌دست آمده تا زمان آنالیزهای مورد نظر در شیشه‌های کوچک تیره رنگ و در دمای ۴°C نگهداری شدند. از عصاره حاصل جهت اندازه‌گیری آلکالوییدهای کدیین و پاپاورین با دستگاه HPLC (Agilent 1290 Infinity II) استفاده شد. در مرحله بعد جهت اندازه‌گیری آلکالوییدهای پاپاورین و کدیین استانداردهای با غلظت های ۱۵ و ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد و به دستگاه تزریق شد. منحنی‌های

کالیبراسیون برای پاپاورین و کدیین بر اساس سطح زیر پیک آلکالوییدمد نظر بر حسب غلظت رسم گردید. میزان ۵۰ میلی‌گرم از عصاره خشک با ۱ میلی لیتر حلال متانول (با خلوص HPLC) مخلوط گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد تا ترکیبات آلکالوییدی در متانول حل شوند. مخلوط بدست آمده توسط فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری فیلتر شد و محلول نهایی به دستگاه HPLC (Agilent 1290 Infinity II) تزریق گردید. بر اساس سطح زیر پیک پاپاورین و کدیین و با استفاده از منحنی‌های کالیبراسیون میزان این دو آلکالوییدد در محلول‌های تزریق شده توسط نرم افزار دستگاه محاسبه گردید. در نهایت با توجه به میزان عصاره خشک مصرف شده در تهیه محلول نمونه‌ها میزان این دو آلکالوییدد در عصاره‌های خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فنول کل

ارزیابی فنول با روش فولین-سیوکالتیو انجام گرفت. ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد را به ۲۵۰ میلی‌گرم بافت گیاهی خشک شده اضافه کرده و استخراج با استفاده از دستگاه اولتراسونیک (TODOM 3IN1 intelligent ultrasonic I 638A cure instrument 368A) انجام گرفت. سپس عصاره متانولی استخراج‌شده را با ۱۲۵ میکرولیتر معرف فولین (۱۰ درصد) مخلوط کرده و پس از پنج دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌متر، ۲ میکرولیتر محلول هفت درصد بیکربنات سدیم به آن اضافه شده و هم زده شد. مقدار جذب در طول ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-3200, MAPADA, Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., China) قرائت گردید. نتایج به بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم بافت خشک بیان شد (۲۶).

ارزیابی فلاونوئید کل

مقدار فلاونوئید کل با روش آلومینیوم کلراید اندازه-گیری شد. به ۱۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی استخراج شده به ترتیب ۱/۷ میلی‌لیتر اتانول ۳۰ درصد، ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۰/۵ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۰/۳ میلی‌مولار اضافه و بلافاصله بهم زده شد. پس از گذشت پنج دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید سدیم یک میلی‌مولار اضافه شد. سپس با دستگاه اسپکترفتومتری (UV-3200, MAPADA, Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., China) در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. سپس مقدار فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم بافت خشک (mg QUE g^{-1}DW) بیان شد (۲۷).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت انتی‌اکسیدانی گیاه، از طریق خاصیت خنثی-کنندگی رادیکال آزاد ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) با استفاده از روش اسپکتروفتومتری (UV-3200, MAPADA, Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., China) تعیین شد (۲۸). برای این منظور، به ۲۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی استخراج شده نمونه‌ها، ۸۰۰ میکرولیتر محلول DPPH اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی نگهداری شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به‌صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه ۱ زیر محاسبه شد.

$$\text{DPPH (\%)} = \left[\frac{A1 - A2}{A1}\right] * 100$$ رابطه ۱)

DPPH: درصد بازدارندگی رادیکال آزاد، A_1: میزان جذب DPPH و متانول، A_2: میزان جذب عصاره

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ و آمار توصیفی شامل میانگین، انحراف معیار، حداکثر و حداقل دادها انجام شد. آنالیز چند متغیره شامل تجزیه به

مولفه‌های اصلی و آنالیز خوشه‌ای به روش وارد انجام شد. تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) یک روش آماری تحلیل چند متغیره است که به منظور تفسیر ارتباط میان پارامترها، کاهش ابعاد متغیرهای ورودی و خروجی و گروه‌بندی آن‌ها استفاده می‌شود تا بدین طریق عوامل پنهانی که موجب پدید آمدن ساختار خاص ماتریس همبستگی‌ها یا کوواریانس گردیده‌اند مشخص گردد (۲۹). تحلیل خوشه‌ای یک روش چندمتغیری است که هدف آن طبقه‌بندی یک نمونه از آزمودنی‌ها یا اشیاء بر اساس مجموعه‌ای از متغیرها است که نتیجه‌ی آن تشکیل گروه-هایی با اعضاء مشابه است (۲۹).

یافته‌ها

محتوای فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فنول کل در نمونه‌های مختلف از ۲۲/۳۳-۵۱/۷۳ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک متغیر بود (جدول ۱). بیش-ترین میزان فنول کل در نمونه لرستان از گونه *P.hybridum* و کم‌ترین میزان فنول کل هم در نمونه لرستان (*P.rhoeas*) مشاهده شد. نتایج مقایسات میانگین نشان داد که میزان فلاونوئید کل در بین نمونه‌های مختلف از ۰/۹۱۷-۲/۹۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک متغیر بود. بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل در نمونه لرستان از گونه *P.bracteatum* و کم‌ترین میزان فلاونئید کل در نمونه *P.rhoeas* استان خوزستان مشاهده شد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در استان کرمانشاه و گونه *P.bracteatum* (۷۴/۹۰ درصد) و کم‌ترین در استان خوزستان و گونه *P.rhoeas* (۲۵/۰۳ درصد) گزارش شد. نتایج نشان داد که ترکیبات فنولی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در گونه‌های مختلف جنس‌های پاپاور هستند. همان‌طور که در نتایج مشاهده شد میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدای بسته به جنس، گونه، محل جمع‌آوری و نوع اندام مختلف هست. در مقایسه فنول کل بین اندام‌های جنس پاپاور اندام پیکره هوایی میزان بالاتری از این ترکیبات دارا بود. همچنین، از نظر جنس، پاپاورها میزان‌های بیش‌تری از ترکیبات فنولی نسبت به جنس گلسیوم برخوردار بودند.

جدول ۱. توصیف صفات فیتوشیمیایی در گونه¬های جنس پاپاور و مناطق مختلف.

متغیر	گونه	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
		خوزستان			
محتوای فنول کل (mg GA/gr DW)	*P.armeniacum*	۴۵/۶۷	۱/۸۹	۴۳/۵۰	۴۷/۰۰
	P.bracteatum	۳۲/۸۰	۰/۶۰	۳۲/۴۰	۳۳/۵۰
	P.dubium	۳۶/۶۳	۳/۱۳	۳۴/۰۰	۴۰/۱۰
	P.hybridum	۵۰/۲۷	۴/۰۹	۴۵/۶۰	۵۳/۲۰
	P.macrostomum	۳۵/۶۳	۳/۲۶	۳۲/۰۵	۳۹/۰۰
	P.rhoeas	۲۳/۵۰	۱/۰۰	۲۲/۵۰	۲۴/۵۰
		خوزستان			
محتوای فلاونوئید کل (mg QA/gr DW)	*P.armeniacum*	۲/۲۶	۰/۱۲۳	۲/۱۲	۳/۳۵
	P.bracteatum	۲/۷۲	۰/۳۲	۲/۳۵	۲/۹۵
	P.dubium	۱/۴۷	۰/۲۰	۱/۲۵	۱/۶۵
	P.hybridum	۲/۴۸	۰/۰۳	۲/۴۵	۲/۵۲
	P.macrostomum	۲/۵۸	۰/۰۶	۲/۵۱	۲/۶۵
	P.rhoeas	۰/۹۱	۰/۲۳	۰/۶۵	۱/۱۲
		خوزستان			

	P.armeniacum	۴۷/۸۷	۲/۶۱	۴۵/۸۰	۵۰/۸۰
	P.bracteatum	۶۸/۲۰	۱/۰۰	۶۷/۲۰	۶۹/۲۰
آنتی اکسیدان	*P.dubium*	۵۴/۳۶	۱/۳۲	۵۳/۲۰	۵۵/۸۰
(% DPPH)	*P.hybridum*	۷۰/۴۰	۲/۰۱	۶۸/۵۰	۷۲/۵۰
	P.macrostomum	۴۶/۷۳	۱/۸۶	۴۵/۰۰	۴۸/۷۰
	P.rhoeas	۲۵/۰۳	۰/۴۰	۲۴/۶۰	۲۵/۴۰
	لرستان				
	P.armeniacum	۴۹/۰۳	۳/۱۲	۴۵/۵۰	۵۱/۴۰
	P.bracteatum	۲۹/۳۷	۲/۵۵	۲۶/۵۰	۳۱/۴۰
محتوای فنول کل	*P.dubium*	۳۹/۱۷	۳/۰۶	۳۶/۵۰	۴۲/۵۰
(mg GA/gr DW)	*P.hybridum*	۵۱/۷۳	۱/۷۲	۵۰/۲۰	۵۳/۶۰
	P.macrostomum	۴۱/۳۳	۰/۷۶	۴۰/۵۰	۴۲/۰۰
	P.rhoeas	۲۲/۳۳	۱/۷۶	۲۰/۵۰	۲۴/۰۰
	لرستان				
	P.armeniacum	۲/۴۶	۰/۰۴	۲/۴۱	۲/۵۱
	P.bracteatum	۲/۹۴	۰/۰۸	۲/۸۵	۳/۰۱
محتوای فلاونوئید کل	*P.dubium*	۱/۷۵	۰/۱۳	۱/۶۲	۱/۸۹
(mg QA/gr DW)	*P.hybridum*	۲/۵۲	۰/۰۳	۲/۴۸	۲/۵۶
	P.macrostomum	۲/۶۶	۰/۰۸	۲/۵۸	۲/۷۵
	P.rhoeas	۱/۲۷	۰/۰۵	۱/۲۳	۱/۳۵
	لرستان				
	P.armeniacum	۵۴/۳۰	۱/۶۰	۵۲/۸۰	۵۶/۰۰
	P.bracteatum	۶۵/۶۳	۲/۳۸	۶۳/۵۰	۶۸/۲۰
آنتی اکسیدان	*P.dubium*	۵۳/۲۳	۱/۳۰	۵۲/۰۰	۵۴/۶۰
(% DPPH)	*P.hybridum*	۷۴/۷۳	۳/۰۴	۷۲/۵۰	۷۸/۲۰
	P.macrostomum	۴۷/۰۶	۱/۵۱	۴۵/۷۰	۴۸/۷۰
	P.rhoeas	۳۵/۹۳	۰/۸۰	۳۵/۲۰	۳۶/۸۰
	تهران				
	P.armeniacum	۳۸/۲۳	۲/۱۱	۳۶/۰۰	۴۰/۲۰
	P.bracteatum	۲۸/۱۲	۲/۵۱	۲۵/۵۰	۳۰/۵۰
محتوای فنول کل	*P.dubium*	۳۳/۹۷	۲/۲۴	۳۲/۲۵	۳۶/۵۰
(mg GA/gr DW)	*P.hybridum*	۴۲/۵۷	۲/۴۷	۴۰/۳۰	۴/۲۰
	P.macrostomum	۳۵/۳۰	۰/۸۵۴	۳۴/۵۰	۳۶/۲۰
	P.rhoeas	۲۵/۱۰	۱/۴۰۰	۲۳/۷۰	۲۶/۵۰
	تهران				
	P.armeniacum	۱/۷۷	۰/۰۸	۱/۶۸	۱/۸۵
	P.bracteatum	۲/۲۸	۰/۱۲	۲/۱۰	۲/۴۰
محتوای فلاونوئید کل	*P.dubium*	۲/۱۲	۰/۰۲	۲/۱۰	۲/۱۴
(mg QA/gr DW)	*P.hybridum*	۱/۶۲	۰/۲۴	۱/۳۶	۱/۸۵
	P.macrostomum	۲/۳۷	۰/۰۴۷	۲/۳۲	۲/۴۱

	P.rhoeas	۱/۱۱	۰/۱۲۹	۰/۹۸	۱/۲۴
	تهران				
	P.armeniacum	۴۲/۰۶	۱/۶۹۲	۴۰/۲۰	۴۳/۵۰
	P.bracteatum	۶۷/۶۰	۲/۳۹	۶۵/۵۰	۷۰/۲۰
آنتی اکسیدان	*P.dubium*	۴۹/۴۱	۱/۰۶	۴۸/۲۰	۵۰/۲۰
(% DPPH)	*P.hybridum*	۶۰/۴۲	۴/۷۰	۵۵/۸۰	۶۵/۲۰
	P.macrostomum	۴۹/۷۰	۲/۹۱	۴۶/۵۰	۵۲/۲۰
	P.rhoeas	۳۴/۹۳	۲/۱۴	۳۲/۵۰	۳۶/۵۰
	کرمانشاه				
	P.armeniacum	۴۱/۴۰	۲/۷۰	۳۸/۹۰	۴۲/۸۰
	P.bracteatum	۲۹/۱۳	۳/۰۰	۲۶/۵۰	۳۲/۴۰
محتوای فنول کل	*P.dubium*	۳۷/۴۰	۲/۷۶	۳۵/۲۰	۴۰/۵۰
(mg GA/gr DW)	*P.hybridum*	۴۶/۶۰	۲/۵۵	۴۵/۱۰	۴۸/۲۰
	P.macrostomum	۳۷/۷۷	۱/۷۶	۳۶/۱۰	۳۹/۶۰
	P.rhoeas	۲۷/۵۷	۲/۰۶	۲۵/۲۰	۲۸/۹۰
	کرمانشاه				
	P.armeniacum	۲/۳۲	۰/۱۶	۲/۱۵	۲/۴۷
	P.bracteatum	۲/۸۲	۰/۱۵	۲/۶۸	۲/۹۸
محتوای فلاونوئید کل	*P.dubium*	۱/۶۹	۰/۱۴	۱/۵۶	۱/۸۵
(mg QA/gr DW)	*P.hybridum*	۲/۴۵	۰/۱۱	۲/۳۳	۲/۵۶
	P.macrostomum	۲/۵۵	۰/۱۰	۲/۴۵	۲/۶۵
	P.rhoeas	۱/۲۴	۰/۰۲	۲/۲۱	۱/۲۶
	کرمانشاه				
	P.armeniacum	۵۶/۸۷	۱/۷۵	۵۵/۴۰	۵۸/۸۰
	P.bracteatum	۷۴/۹۰	۴/۱۸	۷۰/۲۰	۷۸/۲۰
آنتی اکسیدان	*P.dubium*	۵۲/۶۰	۳/۹۰	۴۸/۶۰	۵۶/۴۰
(% DPPH)	*P.hybridum*	۷۰/۳۳	۱/۹۰	۶۸/۵۰	۷۲/۳۰
	P.macrostomum	۶۳/۵۴	۲/۹۵	۵۲/۵۰	۵۸/۰۰
	P.rhoeas	۳۸/۷۷	۴/۷۲	۳۳/۵۰	۴۲/۶۰

آنالیز آلکالوئید

نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌ها با دستگاه HPLC در جدول ۲ مشاهده می‌شود. بیش‌ترین میزان آلکالوییـد پاپاورین در گونه *P.dubium* مربوط به استان تهران (۲۸ میلی‌گرم در لیتر) و کم‌ترین مقدار آلکالوییـد پاپاورین در گونه *P.bracteatum* و *P.rhoeas* و متعلق به استان‌های تهران و لرستان (۳ میلی‌گرم در لیتر) بود. همچنین بیش-ترین میزان آلکالوییـد کدیین در گونه *P.hybridum* مربوط به استان خوزستان (۶۸ میلی‌گرم در لیتر) و کم‌ترین مقدارآلکالوییـد کدیین در گونه *P.rhoeas* مربوط به استان خوزستان (۱۴ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد.

جدول ۲. میزان آلکالوئیدهای کدئین و پاپاورین در نمونه های جمع آوری شده

ردیف	نام گونه	محل جمع آوری	مقدار کدئین	مقدار پاپاورین
۱	*P.hybridum*	تهران	۲۳/۱۳	۷/۰۰
۲	*P.bracteatum*	تهران	۳۸/۲۰	۳/۳۲
۳	*P.dubium*	تهران	۳۶/۳۲	۲۷/۹۰
۴	*P.macrostomum*	تهران	۲۰/۵۸	۵/۹۱
۵	*P.armeniacum*	تهران	۳۲/۰۱	۴/۸۵
۶	*P.rhoeas*	تهران	۲۴/۴۸	۶/۲۷
۷	*P.hybridum*	کرمانشاه	۲۳/۲۶	۹/۳۸
۸	*P.bracteatum*	کرمانشاه	۳۳/۹۵	۱۶/۲۰
۹	*P.dubium*	کرمانشاه	۵۴/۷۹	۸/۵۲
۱۰	*P.macrostomum*	کرمانشاه	۲۸/۳۱	۹/۳۶
۱۱	*P.armeniacum*	کرمانشاه	۳۳/۳۵	۵/۵۱
۱۲	*P.rhoeas*	کرمانشاه	۲۵/۳۶	۸/۰۶
۱۳	*P.hybridum*	لرستان	۱۹/۰۵	۵/۷۸
۱۴	*P.bracteatum*	لرستان	۲۴/۳۱	۷/۵۸
۱۵	*P.dubium*	لرستان	۲۹/۵۱	۱۶/۲
۱۶	*P.macrostomum*	لرستان	۵۶/۱۴	۱۹/۶۱
۱۷	*P.armeniacum*	لرستان	۳۲/۱۰	۱۹/۰۳
۱۸	*P.rhoeas*	لرستان	۴۲/۷۱	۳/۰۰
۱۹	*P.hybridum*	خوزستان	۶۸/۲۵	۱۶/۶۶
۲۰	*P.bracteatum*	خوزستان	۵۲/۸۷	۱۲/۱۰
۲۱	*P.dubium*	خوزستان	۱۴/۰۰	۶/۱۴
۲۲	*P.macrostomum*	خوزستان	۱۹/۷۲	۹/۳۱
۲۳	*P.armeniacum*	خوزستان	۲۰/۴۲	۷/۵۸
۲٤	*P.rhoeas*	خوزستان	۱۴/۷۳	۷/۰۱

تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA)

مزیت تجزیه عامل‌ها بر تجزیه مولفه‌های اصلی این است که اگر متغیر یا عامل جدیدی خلق شد، در این روش تفسیر آسان‌تری خواهد داشت و در صورتی که محقق قصد ایجاد تعداد عامل کم‌تری با در نظر داشتن بیش‌ترین اطلاعات را داشته باشد این روش مفیدتر است (۲۹). در این تحقیق تجزیه عامل‌ها به روش مولفه‌های اصلی بر روی میانگین گونه‌ها و مناطق مختلف انجام گردید. برای ۵ صفت کمی، دو عاملی اصلی و مستقل در مجموع ۷۰/۶ درصد واریانس کل را تبیین نمود (جدول ۳). مقدار ویژه برای یک عامل اصلی، سهم واریانس آن عامل را از واریانس کل نشان می‌دهد. مولفه اول که مرتبط با محتوای فنول، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر سهم را در توجیه مولفه اول داشتند و به تنهایی توانستند ۴۸/۳ درصد از واریانس کل را توجیه کنند. عامل دوم صفات مرتبط با کدئین و پاپاورین بیشتر با ضرایب ۰/۶۴۷ و ۰/۵۹۰ را شامل شدند (جدول ۴).

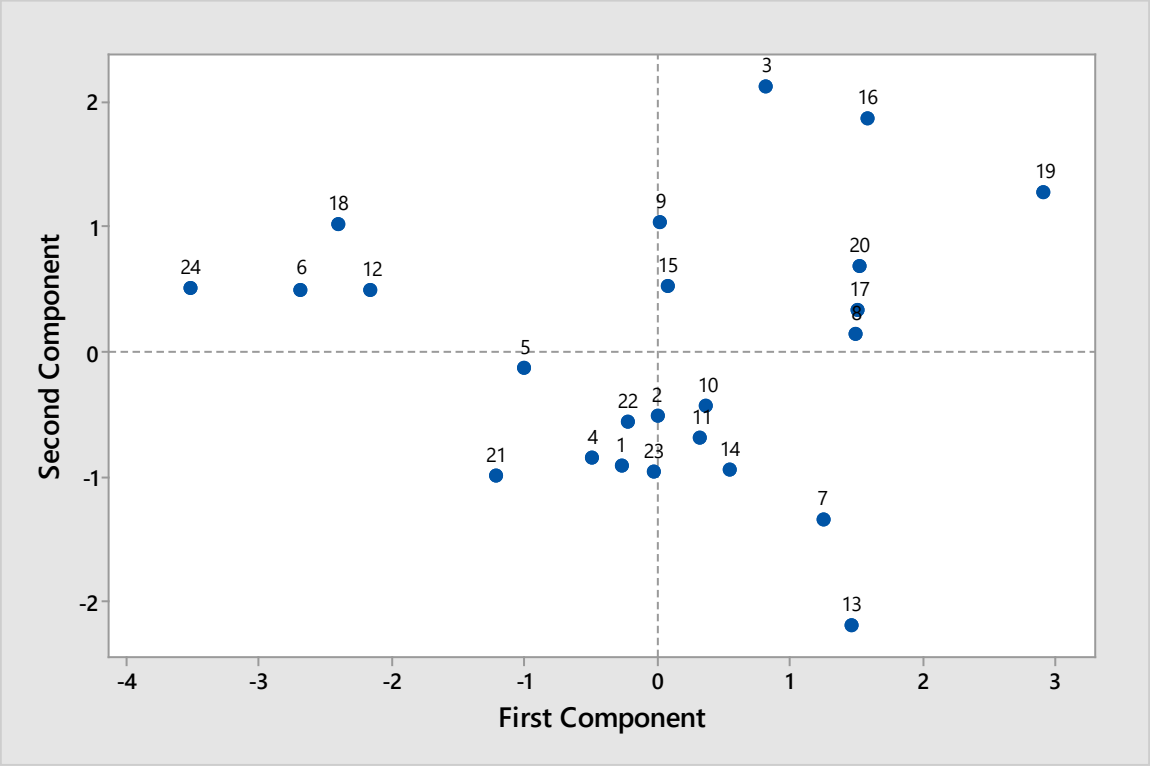
جدول ۳. مقادیر ویژه، درصد واریانس و درصد واریانس تجمعی مرتبط با دو مولفه اصلی

عامل	مقادیر ویژه	واریانس	درصد تجمعی
اول	۱/۴۱	۴۸/۳۰	۴۸/۳۰
دوم	۱/۱۱	۲۲/۳۰	۷۰/۶۰

جدول ۴. ضرایب مربوط به مولفه‌های اصلی اول و دوم گونه‌های شقایق در مناطق مختلف

متغیر	عامل اول	عامل دوم
محتوای فنول کل	۰/۴۴۳	-۰/۲۷۲
محتوای فلاونوئید کل	۰/۵۴۹	-۰/۱۹۱
فعالیت آنتی اکسیدان (DPPH)	۰/۵۲۴	-۰/۳۵
کدئین	۰/۳۱۹	۰/۶۴۷
پاپاورین	۰/۳۵۴	۰/۵۹۰

دیاگرام پراکنش گونه‌های مختلف شقایق در استان‌های محل جمع‌آوری نمونه‌ها نشان داد که استان‌های لرستان، کرمانشاه و خوزستان از نظر گونه‌های *P.dubium*، *P.macrostomum*، *P.hybridum* و *P.bracteatum* بالاترین ضرایب مثبت را داشتند و بر اساس این دو مولفه نسبت به سایر گونه‌ها و استان‌ها در فاصله دورتر و بالاتری قرار داشتند که نشان‌دهنده ضرایب مثبت بالاتر نسبت به سایر می‌باشد (شکل ۱).

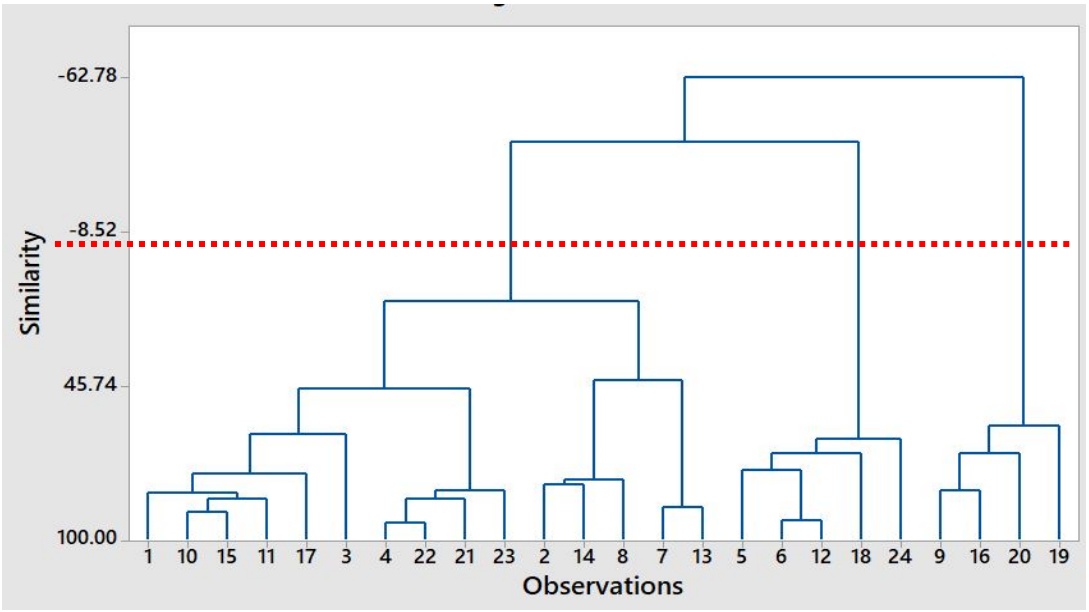


شکل ۱. نمودار پراکنش گونه‌های مختلف شقایق در مناطق مختلف بر اساس دو عامل اصلی اول و دوم.

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات فیتوشیمیایی و آنالیز HPLC اندازه‌گیری به روش حداقل واریانس وارد صورت گرفت (شکل ۲). برای ۲۴ گونه و مناطق مختلف شقایق مورد بررسی در فاصله اقلیدسی ۸/۵۲-، در سه گروه اصلی دسته‌بندی شدند، که جزئیات این خوشه بندی در دندروگرام شکل ۲ آورده شده است (شکل ۲). برای

اجتناب از تکرار نام گونه و مناطق مختلف در متن، شماره هر گونه و رقم مطابق با جدول ۱ آمده است. در خوشه اول ۱۵، کلاستر دوم ۵ و کلاستر سوم ۴ گونه و منطقه، قرار گرفتند. در کلاستر اول گونه‌های *P.bracteatum*، *P.dubium* و *P.macrostomum* در استان‌های تهران و کرمانشاه در یک گروه با هم قرار گرفتند. همچنین دو گونه *P.bracteatum* و *P.dubium* در استان لرستان و گونه *P.dubium* در استان خوزستان با تشابه فراوان در صفات فیتوشیمیایی در این کلاستر قرار گرفتند. نتیجه قابل‌توجه در کلاستر دوم نشان داد که استان‌های تهران، کرمانشاه، لرستان و خوزستان از نظر گونه *P.rhoeas* تشابه بسیاری داشتند به طوری که از نظر پاپاورین و کدئین تشابه بسیاری داشتند. کلاستر سوم نشان داد، استان‌های لرستان، کرمانشاه و خوزستان از نظر گونه‌های *P.dubium*، *P.macrostomum*، *P.hybridum* و *P.bracteatum* بالاترین تشابه را با هم داشتند.



شکل ۲. دندروگرام تحلیل خوشه‌ای سلسله مراتبی بر روی ۲۴ نمونه شقایق جمع‌آوری شده از گونه‌ها و مناطق مختلف

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تاثیر شرایط محیطی محل جمع‌آوری و همچنین نوع گونه و اندام قرار دارد که با نتایج سایر پژوهشگران در گیاهان دارویی مختلف مطابقت دارد. مطالعات انجام شده نقش اکوفیزیولوژی این ترکیبات را به‌عنوان یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی و همچنین، یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی نشان می‌دهد (۳۰). همانند فنول کل، در پیکر هوایی جنس پاپاور میزان‌های بیش‌تری از فلاونوئید کل نسبت به سایر اندام‌ها (میوه و ریشه) گزارش شد. با مقایسه نمونه‌های مختلف از نظر جنس و اندام، نتایج نشان داد که پیکره هوایی جنس گلسیوم میزان بیش‌تری از ترکیبات فلاونوئیدی را دارا می‌باشد. تولید مواد مؤثره در گیاهان دارویی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی (مانند ارتفاع از سطح دریا، شیب و عرض جغرافیای، دما، نور و رطوبت نسبی) قرار می‌گیرد (۳۱). از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر میزان اسانس و مواد مؤثره گیاهان، ویژگی-های محل رویش و موقعیت جغرافیایی گیاه در طبیعت می‌باشد. گزارش شده که همبستگی بالایی بین منشاء جغرافیایی گیاهان و ترکیبات مؤثره وجود دارد، همچنین مطالعات انجام شده در بررسی بازده اسانس گیاهان دارویی در شرایط خاکی مختلف نشان داده که با افزایش مقدار فسفر خاک بازده اسانس موجود در گیاه افزایش

می‌یابد (۳۲). میزان کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی یک گیاه نیز با توجه به نوسانات فعالیت متابولیکی انجام شده در آن تحت تأثیر عوامل اقلیمی و محیطی محل رویش متفاوت است (۳۳). کمیت و کیفیت ترکیبات مؤثره به طور کلی تحت تأثیر عوامل بوم شناختی (محیطی)، مدیریتی، وراثتی (ژنتیکی) و مراحل رشد نمونه گیاهی قرار دارد (۳۴). از جمله مهم‌ترین عوامل بوم شناختی مؤثر در تغییر متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان می‌توان به خصوصیات خاک (پتانسیل اسید خاک، بافت خاک، عناصر پرمصرف و کم مصرف)، شرایط اقلیمی و آب و هوایی (بارش، نور، دما و باد) و تغییرات جغرافیایی (ارتفاع از سطح دریا، جهت و مقدار شیب و عرض جغرافیایی) اشاره کرد (۳۵). رشد و عملکرد کلی یک گونه گیاهی متأثر از عوامل مختلفی مانند اقلیم منطقه، ارتفاع از سطح دریا، نوع گونه، محیط خاک (ماده آلی، پتانسیل اسیدی و هدایت الکتریکی خاک) و موقعیت جغرافیایی است (۳۶). محققان نشان داده‌اند که مقدار آنتی‌اکسیدان کل ارتباط مستقیمی با دیگر ترکیبات ثانویه گیاهی مانند: فلاونوئیدها، ترکیبات فنولی و اسیدآسکوربیک موجود در گیاهان دارویی دارد (۳۷). در مطالعه‌ای اثر ارتفاع بر ترکیبات مؤثره گیاه آویشن خزنده جنوب ترکیه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ارتفاع تأثیر مثبت و معنی‌داری بر میزان کارواکرول و تیمول اندازه‌گیری شده داشت (۳۸). پژوهشگران گزارش کرده‌اند که تفاوت در رویشگاه می‌تواند بر مقدار ترکیبات ثانویه اثرگذار باشد. به طوریکه با افزایش ارتفاع مقدار ترکیبات آلکالوئیدی و آنتوسیانینی موجود در گیاه گل گاوزبان ایرانی افزایش یافته است (۳۹). ترکیبات فنولی از جمله ترکیبات ثانویه گیاهی می‌باشند که با مقدار توانمندی آنتی‌اکسیدانی گیاه همبستگی مثبت دارند. پژوهش‌های نتایج متفاوتی را در زمینه ارتباط رویشگاه و شرایط اقلیمی حاکم بر آن و کمیت و کیفیت ترکیبات مؤثره موجود در گیاهان نشان داده است. به طور مثال در پژوهشی میزان تجمع ترکیبات فنولی موجود در گیاه جمع‌آوری شده از جهت شیب‌های درمنه کوهی مختلف مراتع خراسان جنوبی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیش‌ترین بازه اسانس و همچنین میزان تجمع ترکیبات فنولی در شیب شرقی و در ارتفاعات پایین‌تر مشاهده شد (۴۰). عوامل خاکی محیط کشت گیاهان بر خصوصیات شیمیایی و فیزیکی ترکیبات موجود در گونه‌های گیاهی تأثیر گذارند. پتانسیل اسیدی خاک، رطوبت اشباع، ظرفیت تبادل کاتیونی و بافت و مواد آلی خاک از جمله مهم‌ترین عوامل خاکی مؤثر بر تجمع متابولیتی گیاهان دارویی هستند (۴۱). در همین خصوص، در پژوهشی اثر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک بر کمیت و کیفیت ترکیبات آلکالوئیدی در گیاه زرشک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش میزان کربن، فسفر و پتاسیم باعث افزایش مقدار ترکیبات آلکالوئیدی موجود در این گیاه می‌شود (۴۲). همچنین در بسیاری از مناطق به دلیل رشد جمعیت و به دنبال آن افزایش رشد صنعت، با مشکلات عدیده‌ی آلودگی‌های زیست محیطی رو به رو هستند. آلودگی‌های شیمیایی از خطرناکترین نوع آلودگی‌هاست، این آلودگی‌ها اثرات بسیار زیادی بر موجودات زنده از جمله گیاهان دارند (۴۳). حضور سرب و کادمیوم به دلیل اختلال در همئوستازی سلول منجر به افزایش پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، در سلول گیاهی می‌شود. دیگر گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال سوپراکسید (O_2)، رادیکال هیدروکسیل (OH) و ... که قادرند به مولکول‌های بیولوژیک نظیر DNA، پروتئین‌ها، اسید آمینه‌های آزاد، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها آسیب وارد کنند، در هنگام رویارویی با فلزات سنگین از جمله کادمیوم و سرب تولید می‌شوند. مکانیسم‌های متفاوتی برای مقاومت و سمیت زدایی فلزات سنگین در گیاهان مشاهده شده است. یکی از این مکانیسم‌ها، تحریک فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌هاست.

فلاونوئید به عنوان یک ترکیب پیچیده در گیاه شناخته می‌شود که این فاکتور در زمان حضور عناصر سنگین منجر به بروز حالت دفاعی در گیاه می‌شود (۴۴). در گیاهان دارویی به دلیل سازگاری بیوشیمیایی جهت حفاظت و پیشگیری از بیماری‌ها و مقاومت یا سازگاری به شرایط خاص اکولوژیکی، ادافیکی و یا اقلیمی در نیچ خاصی، میزان زیادی متابولیت ثانویه مانند فلاونوئید، مواد فنولیکی، تانن‌ها و بسیاری دیگر تولید می‌شود که منجر به ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های محیطی مانند وجود آلاینده‌ها در محیط می‌شود (۴۵).

به طور کلی نتایج نشان داد که گونه‌های مختلف جنس پاپاور جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران دارای تنوع بسیار وسیعی از نظر خصوصیات مورد مطالعه داشته و ترکیبات فنولی، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات آلکالوئیدی قابل توجهی دارند. این نتایج گویای این است که گونه‌های مختلف جنس‌های پاپاور دارای منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و می‌توانند در داروسازی و طب سنتی مورد استفاده قرار گیرند. در بین نمونه‌های مورد مطالعه گونه‌های مختلف جنس پاپاور از نظر متابولیت‌های ثانویه غنی‌تر می‌باشند، که می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی این گیاه مورد توجه قرار گیرند. نتایج این بررسی نشان داد گونه‌های *P.dubium* و *P.hybridum* از نظر ترکیبات آلکالوئیدی پاپاورین و کدیین در مرکز (تهران) و جنوب غرب (خوزستان) ایران غنی می‌باشند. بنابراین ترکیبات کمی و کیفی ثانویه گیاه شقایق تحت تاثیر عوامل محیطی زیادی از جمله دما، رطوبت، عرض جغرافیایی، نوع خاک، پستی و بلندی منطقه و.....قرار گرفت. با توجه به اثرات نامطلوب آنتی-اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، پژوهش‌های بیش-تر در زمینه استخراج، خالص‌سازی و کاربرد پیکر هوایی (گلبرگ) پاپاور در صنایع دارویی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان و دانشگاه علوم پزشکی لرستان واحد خرم‌آباد، جهت در اختیار گذاشتن امکانات لازم و مساعدت بی دریغشان در زمینه پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی در نگارش این پژوهش ندارند.

حمایت مالی

در این پژوهش، نویسندگان از هیچ حمایت مالی استفاده نکرده‌اند.

مشارکت نویسندگان

طراحی مطالعه و ایده اولیه: فریبا شریف‌نیا، ناصر نظری، جمع‌آوری داده‌ها: ناصر نظری، آنالیز آماری: فریبا شریف‌نیا، ناصر نظری، نگارش دست نویس اولیه: ناصر نظری، تائید نسخه نهایی مقاله: فریبا شریف‌نیا، فهیمه سلیم‌پور، محمد مهرنیا، افسانه گران.

ملاحظات اخلاقی

نتایج مقاله حاضر، حاصل از پایان نامه مقطع دکتری زیست شناسی، سیستماتیک گیاهی با کد اخلاق IR.IAU.TNB.REC.1402.106 بوده است.

References

1. Akçam O. Alkaloid Production in Tissue Cultures of Papaver somniferum L. cv. Office-95. Plant Tissue Culture and Biotechnology. 2006; 16: 1-4.
2. Azadmard Damirchi S. Edible oils. Amidi. Press. 2010; 475p.
3. Jafari A. Plant anatomy. Jihad of university of Mashhad. Press. 2004; 640p. (In Persian)
4. Labanca F, Ovesna J, Milella L. Papaver somniferum L. taxonomy, uses and new insight in poppy alkaloid pathways. Phytochemical Review. 2018; 17: 853–871. https://doi.org/ 10.1007/s11101-018-9563-3.
5. Shaghaghi A, Alirezalu A, Nazarianpour E, Sonboli A, Nejad-Ebrahimi S. Opioid alkaloids profiling and antioxidant capacity of Papaver species from Iran Industrial Crops & Products. 2019; 142: 111870.
6. Yu X, Gao X, Zhu Z, Cao Y, Zhang Q, Tu P, et al. Alkaloids from the tribe Bocconieae (Papaveraceae): a chemical and biological review Molecules. 2014; 19.
7. Simon J.E, Chedwck A.F, Craker L.E. Poppy. Available from: URL: http://www.newcrop.hort.pardue.edu. 2017.
8. Alves De Almeida A.C, De-Faria F.M, Dunder R.J, Manzo L.P.B, Souza-Brito A.R.M, Luiz-Ferreira A. Recent trends in pharmacological activity of alkaloids in animal colitis: potential use for inflammatory bowel disease. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2017; 8528210. https://doi.org/10.1155/2017/8528210.
9. Shukla S, Bhargava A, Chatterjee A, Pandey A.C, Mishra B.K. Diversity in phenotypic and nutritional traits in vegetable amaranth (Amaranthus tricolor), a nutritionally underutilised crop. Journal Science Food Agriculture. 2010; 90: 139–144. https://doi.org/10. 1002/jsfa.3797.
10. Lal R.K, Gupta V, Gupta P, Sarkar S, Singh S. Genetics and inheritance pattern of heterosis in impact of genetic divergence in opium poppy (Papaver somniferum L.). Journal of Herbs Spices Medicinal Plants. 2014; 20: 70–82. https://doi.org/10.1080/ 10496475.2013.822842.
11. Rezaei M, Naghavi MR, Hoseinzade A.H, Abbasi A. Developmental accumulation of thebaine and some gene transcripts in different organs of Papaver bracteatum. Ind. Crops Production. 2016; 80: 262–268. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016. 11.009.
12. Verma N, Jena S.N, Shukla S, Yadav K. Genetic diversity, population structure and marker trait associations for alkaloid content and licit opium yield in India-wide collection of poppy (Papaver somniferum L.). Plant Gene. 2016; 7: 26–41. https://doi.org/10. 1016/j.plgene.2016.08.001.
13. Karajibani M, Montazerifar F, Feizabad A.K. Study of oxidants and antioxidants in addicts. International Journal of High-

Risk Behavior. Addict. 2016; 101: 657–660. https://doi.org/10.5812/ ijhrba.35057.
14. Li C.Y, Meng Y.H, Ying Z.M, Xu N, Hao D, Gao M.Z, et al. Three novel alkaloids from Portulaca oleracea L. and their antiinflammatory effects. Journal of Agriculture Food Chemistry. 2016; 64: 5837–5844. https://doi.org/10.1021/ acs. jafc.6b02673.
15. Zhang D.Y, Wan Y, Hao J.Y, Hu R.Z, Chen C, Yao X.H, et al. Evaluation of the alkaloid, polyphenols, and antioxidant contents of various mulberry cultivars from different planting areas in eastern China. Ind. Crops Production. 2018; 122: 298–307.
16. Kruzselyi D, Vetter J, Ott P.G, Darcsi A, Beni S, Gomory A, et al. Isolation and structural elucidation of a novel brunnein-type antioxidant β-carboline alkaloid from Cyclocybe cylindracea. Fitoterapia. 2019; 137: 104180.
17. Belyagoubi-Benhammou N, Belyagoubi L, Gismondi A, Di Marco G, Canini A, Atik Bekkara F. GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of Anabasis articulata. Medicinal Chemistry Research. 2019; 28: 754–767.
18. Yang L, Wen K.S, Ruan X, Zhao Y.X, Wei F, Wang Q. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. Molecules. 2018; 27 (4): 23.
19. Gurkok T, Ozhuner E, Parmaksiz I, Ozcan S, Turktas M, Ipek A, et al. Functional Characterization of 4′OMT and 7OMT Genes in BIA Biosynthesis. Front. Plant Science. 2016; 16 (7): 98.
20. Shaghaghi A, Alirezalua A, Nazarianpour E, Sonboli A, Nejad-Ebrahimi S. Opioid alkaloids profiling and antioxidant capacity of Papaver species from Iran. Industrial Crops & Products. 2019; 142: 111870.
21. Torkian F, Saadati F, kheiry A, Zamani A. Importance of Opium Alkaloids of Papaveraceae Family in Iran. The Journal of Medicinal Plants and By-Products Original Article. 2023.
22. Dif M.M, Benchiha H, Mehdadi Z, Benali-Toumi F, Bouterfas K. Quantification study of polyphenols in different organs of Papaver rhoeas L. Phytotherapie. 2015; 13: 314-319.
23. Dianati-Tilki G, Mirzaei A, Rezaei M.B, Tabari M. Effect of Environmental Factors on Poppy active substances (Papaver bracteatum L.) in Mazandaran Province. EJMP. 2013; 1: 1-9.
24. Shaghaghi A, Nejad Ebrahimi S, Sonboli A. Study of total phenolic, total flavonoid content and antioxidant potential in various organs of genus Papaver and Glaucium collected from Iran. Journal of Plant Production Research. 2019; 26(2): 195-214.
25. Garcia-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. Molecules. 2010; 15(12): 8813-8826.

26. Meyers K.J, Watkins C.B, Pritts M.P, Hai-Liu R. Antioxidant and anti-proliferative activities of strawberries. Journal of Agriculture Food Chemistry. 2003; 51: 6887-6892.
27. Du G, Li M, Ma F, Liang D. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. Food Chemistry. 2009; 113: 557-562.
28. Bystricka J, Vollmannova A, Margitanova E, Cicova I. Dynamics of polyphenolics formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. Acta Agriculture Slov. 2010; 95: 225-229.
29. Taghipour S, Ehteshamnia A. Evaluation Genetic Diversity of some Tall Chrysanthemum (Chrysanthemum morifolium Ramat.) using Morphological Traits in Khorramabad conditions. Journal of Plant Production Research. 2017; 24(3): 95-107.
30. Razali N, Razab R, Junit S, Abdulaziz A. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (Anacardium occidentale L.). Food Chemistry. 2008; 111: 38-44.
31. Urbonaviciute A, Jakstas V, Kornysova O, Janulis V, Maruska A. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (Crataegus monogyna Jacq.) ethanolic extracts. Journal of Chromatography. 2006; 1112: 339-344.
32. Mahmoudzadeh Tilami Z. Effect of some ecological factors on the quantity and quality of essential oil of Marrubium vulgare in Chahar Bagh rangelands of Golestan province. Master thesis. Gonbad Kavous University. Agricultural National Research. 2014; 4-25. (In Persian)
33. Saneyi M, Ghasemnejad A, Ghorbani K.h, Sadeghi Mahonek A, Masoumi S.M. Investigating the effect of environmental parameters on the antioxidant activity of medicinal plants collected from Paveh and Ormanat regions. Plant Production Research Journal. 2019; 27 (4): 262-241. (In Persian)
34. Omidbaigi R. Production and manufacturing the herbs. Tehran University Iran. 2005; 1: 347. (In Persian)
35. Qasemi A. Medicinal and aromatic plants (their identification and study). Islam Azad Uni Shahr-e Kord Publication Iran. 2009; 542p. (In Persian)
36. Davazdahemami S. Production of Medicinal Plants Basics, Botany. Talk Publishing. Iran. 2017; 215p. (In Persian)
37. Barreca D, Bisignano C, Ginestra G, Bisignano G, Bellocco E, Leuzzi U, et al. Polymethoxylated, C-and O-glycosyl flavonoids in tangelo (Citrus reticulata× Citrus paradisi) juice and their influence on antioxidant properties. Journal of Food Chemistry. 2013; 141: 2. 1481-1488.
38. Ayse B. Chemical Variation on the essential oil of Thymus Praecox ssp. Scorpilli Var. laniger. Journal of Agriculture Biology. 2011; 13: 607-610.
39. Babakhanzadeh Sajirani A, Hadian J, Abdosi V, Larijani K. Investigation of some effects of different habitats on

flavonoid and anthocyanin content (Echium amoenum fisch & mey) in shkhorat area of Guilan province. National Conference of Medicinal Plants. Amol. 2013; 883p. (In Persian)

40. Arianfar M, Akbari Nodehi D, Hemmati K.h, Rostampour M. Effect of height and direction on essential oil yield and some phytochemical properties of Artemisia aucheri Boiss. And Artemisia sieberi Besser. In the rangelands of South Khorasan. Rang. Science Journal. 2017; 12: 3. 281-294. (In Persian)
41. Curado M.A, Oliveira C.B.A, Suzana J.G, Jose S.C, Pedro S.C, Ferri H. Environmental Factors Influence on Chemical Polymorphism of the Essential Oils of Lychnophora ericoides. Phytochem. 2006; 67: 2363-2369.
42. Yahyapour R, Rahdari P. Impact of soil physical and chemical properties on the quantity and quality of plant alkaloids (Berberis vulgaris L.). National Conference Medicinal Plant. 2013; 889p. (In Persian)
43. Rashid A, Schutte J, Ulery A, Deyholos M.K, Sanogo S, Lehnhoff E, et al. Heavy Metal Contamination in Agricultural Soil: Environmental Pollutants Affecting Crop Health. Agronomy. 2023; doi:10.3390/13061521
44. Chen S, Wang Q, Lu H, Li J, Yang D, Liu J, et al. Phenolic metabolism and related heavy metal tolerance mechanism in Kandelia Obovat under Cd and Zn stress. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2019; 169: 134-143. doi: 10.1016/j.econv.2018.11.004
45. Ghada M. Efficacy of some Sudanese Medicinal Plants Extracts to Remove Heavy Metals from Water. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 2017; 11(3): 51-55.

Evaluation of phytochemical traits and codeine and papaverine alkaloids of Papaver species in west and central Iran: application of principal component analysis and cluster analysis

Nazari N[1], Sharifnia F[2*], Salimpour F[3], Mehrnia M[4], Graan A[5]

1. Biology PhD Student, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Tehran Branch, Iran

2. Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Tehran Branch, Iran, fa.sharifnia@gmail.com

3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Tehran Branch, Iran

4. Assistant Professor of Research, Lorestan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Khorramabad, Iran

5. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

Received: *2023/9/19* Accepted: *2024/5/21*

Abstract

Background: Papaver plant has various alkaloids that are used in the manufacture of muscle relaxant drugs. For this purpose, this study aimed to assess phytochemical changes and alkaloids of Papaver.

Materials and Methods: The samples of 6 species of Papaver were collected from Kermanshah, Tehran, Khuzestan, and Lorestan provinces. Phytochemical compounds investigated in the research were used to measure alkaloids by the HPLC method, phenol, flavonoid, and antioxidants by spectrophotometric device and multivariate statistical methods of principal components, and cluster analysis by the Ward method.

Results: The highest and lowest amounts of total phenol were reported in *Papaver hybridum* and *P.rhoeas* samples from Lorestan, respectively. The highest and lowest amounts of total flavonoid were detected in Lorestan from *P.bracteatum* and in Khuzestan province from *P. rhoeas* species, respectively. The highest and lowest antioxidant activity was reported in *P. bracteatum* species in Kermanshah province and *P. rhoeas* species in Khuzestan province, respectively. The results of the principal component analysis illustrated that two main and independent factors explained a total of 70.6% of the total variance. The results of the cluster analysis also indicated that all the studied provinces were very similar in terms of *P.rhoeas*. Moreover, Lorestan, Kermanshah, and Khuzestan provinces were somewhat similar in terms of *P.dubium, P.macrostomum, P.hybridum,* and *P. bracteatum* species.

Conclusion: The amount of phenol, flavonoid, antioxidant activity, and alkaloids of *Papaver* in this study was affected by the environmental conditions of the collection site and the type of species. In general, the species *P. bracteatum* is richer in terms of phytochemical properties studied and can be considered in breeding and domestication programs.

Keywords: Antioxidant activity, Flavonoid, HPLC, *Papaver*, Total phenol.

Citation: Nazari N, Sharifnia F, Salimpour F, Mehrnia M, Graan A. Evaluation of phytochemical traits and codeine and papaverine alkaloids of Papaver species in west and central Iran: application of principal component analysis and cluster analysis. Yafte. 2024; 26(1):56-72.