

بررسی فلاونوئیدهای موجود در گلها و برگهای کراتاگوس های آذربایجان

فلاونوئیدهای *Crataegus meyeri* Pojark (*Rosaceae*)*

دکتر حسین ناظمیه^۱ - دکتر جلیل افشار^۲

Title: Studies on flavonoid contents in the leaves and flowers of Azarbaijani *Crataegus*: II
Crataegus meyeri Pojark

Authors: Hosseain Nazemiyeh¹, Jalil Afshar²

Abstract: The air dried leaves, flowers and fruits of *Crataegus meyeri* were ground to powder and each sample was extracted with pethrolum ether (30-60), Chloroform and Methanol/Water mixture (70/30), respectively. Concentration of methanolic extract under reduced pressure at 50°C gave a brown syrup which after dillution with water, was reextracted with Chloroform, Ethylacetate and n-Butanol, respectively. Separation and purification of polyphenoles of these extractes were carried out using different techniques and yeilded 10 different compounds such as Hyperoside, Isoquercitroside, Vitexin, 2"-rhamnosyl-vitexin...

Key Words: *Crataegus meyeri* Pojark, Hyperosid, Rutosid, Vitexin, Vitexin-rhamnosid, Acetyl-Vitexin rhamnosid.

*-نتایج نخست این مطالعات که بر روی ترکیبات شیمیایی *Crataegus curvisepala* انجام گرفته است در رفرانس ۱ درج شده است.

۱- استادیار دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز.

1- Assistant Professor, School of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences.

۲- استاد دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز.

2- Professor, School of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences.

خلاصه

پودر گلها و برگهای خشک کراتاگوس میه ری به ترتیب توسط حلالهای با قطبیت بالا روند عصاره گیری شد. عصاره های حاصل به کمک روشهای مختلف کروماتوگرافی مورد بررسی قرار گرفت و فلاونوئیدهای عمده موجود در این عصاره ها جدا و خالص سازی شد. ترکیبات بدست آمده توسط روشهای UV، IR، ^{13}C -NMR، ^1H -NMR و هیدرولیز تعیین ساختمان گردیدند که از جمله آنها می توان به هیپروزید، ایزوکرسیتروزید، روتوزید، ویتکسین، ویتکسین رامنوزید و استیل ویتکسین رامنوزید اشاره نمود. همچنین ترکیبات فلاونوئیدی دیگر نیز بدست آمده است که ساختمان آنها در حال بررسی می باشد.

گل واژگان : هیپروزید، ویتکسین رامنوزید، استیل ویتکسین رامنوزید، روتوزید ایزوکرسیتروزید.

مقدمه

گونه های مختلف کراتاگوس و عصاره های آنها به عنوان داروهای گیاهی در طب سنتی و طب نوین معروف بوده و عموماً در فرآورده های دارویی به دلیل داشتن اثر سداتیو، محافظ عروقی، افزایش دهنده جریان خون کرونری و پایین آورنده فشارخون وارد میگردند. این فرآورده ها با اصلاح عملکرد قلب در نارسائی های قلبی (مراحل I و II طبقه بندی NYHA)، نارسائی جریان خون کرونری و آریتمی های متوسط مورد مصرف دارند. گر چه اثرات ذکر شده ملایم می باشند اما فعالیت های فارماکولوژیکی ذکر شده کاملاً مستدل و ثابت شده اند (۱۳-۲).

مناطق کوهستانی اطراف شهرهای مراغه و ارومیه از جمله رویش گاههای طبیعی کراتاگوس محسوب شده و گونه های مختلف این گیاه به خوبی در آب و هوای این مناطق رشد می نمایند. از جمله گونه های شایع و جالب توجه آن می توان به C. curvisepala lindman و بخصوص C. meyeri اشاره نمود. بررسی مقالات انتشار یافته نشان می دهد که تاکنون هیچ گونه مطالعه ای در مورد ترکیبات شیمیایی و اثرات فارماکولوژیک C. meyeri صورت

نگرفته است و پژوهش حاضر می تواند نخستین گزارش در این مورد تلقی گردد. مطالعاتی که بطور همزمان بر روی اثرات فارماکولوژیک و ترکیبات شیمیایی C. meyeri در دانشکده داروسازی تبریز صورت پذیرفته نشان می دهد که عصاره های مختلف این گیاه در صورت استاندارد شدن قادرند فشار خون و آریتمی های قلبی را به مقدار قابل توجهی کاهش دهند (۱۴). بررسی حاضر که بخشی از آن در قالب طرح مصوب و با حمایتهای مادی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز صورت گرفته است بطور عمده به جداسازی، خالص سازی و شناسایی ترکیبات فلاونوئیدی اختصاص دارد.

بخش تجربی

نمونه های گیاهی

گلها و سرشاخه های گلدار گیاه کراتاگوس میه ری در اواسط خرداد ماه و قبل از شکوفائی کامل گلها و میوه های آن در اواخر مهر ماه از منطقه گوشیر مراغه جمع آوری گردید. نمونه های هر باریومی توسط محققین مرکز تحقیقات سازمان جنگلها و مراتع

جداسازی و خالص سازی فلاونوئیدهای عصاره

استات اتیلی گلها

باقیمانده عصاره استات اتیلی (۹/۳ گرم) در مقدار کافی متانول حل و در یخچال قرار داده شد. از این عمل ۱/۹ گرم ترکیب کریستالین بدست آمد. پس از جداسازی کریستالها، باقیمانده عصاره تحت دما و فشار کم تا حصول باقیمانده خشک و تبخیر گردید.

کریستالهای حاصل مطابق روش قبل (۱)

مورد جداسازی و خالص سازی قرار گرفت و بدین ترتیب ۷۰ میلی گرم ترکیب II و ۱/۴ گرم ترکیب VI بدست آمد. سپس ۴ گرم از باقیمانده خشک عصاره استات اتیلی در ۱۵۰ میلی لیتر متانول حل و بر روی آن ۲۰ گرم سیلیکاژل مخصوص کروماتوگرافی ستونی (سیلیکاژل Merck با مش ۴۰۰-۲۳۰) افزوده و کاملاً مخلوط شد. متانول مخلوط به کمک اوپوراتور (دمای °C ۵۰) تا حصول پودر کاملاً خشک و روان تبخیر گردید و پودر حاصل بر روی ستون سیلیکاژل (۲۰۰ گرم سیلیکاژل با مش ۴۰۰-۲۳۰) توسط گرادیان حلالهای استات اتیل* - متانول- آب (۱۰:۳۰:۱۰۰) → (۵:۳:۵۰) فرآکسیون (لوله) هر کدام به حجم ۱۰ میلی لیتر جمع آوری گردید. فرآکسیون های حاصل بر روی پلیت سیلیکاژل (۲۵/۰ میلی متر) به کمک سیستم های حلال استات اتیل*: متانول: آب (۵/۰:۱۰:۸۵) و استات اتیل*: اسید فرمیک: آب (۱:۱:۸) مورد بررسی قرار گرفت و فرآکسیون های یکسان مخلوط شد. بدین ترتیب در مجموع ۱۰ فرآکسیون عمده بدست آمد.

تهران و دانشکده کشاورزی تبریز شناسایی و نامگذاری گردیدند.

مواد بکار رفته

در این پژوهش از حلالهای ساخت کارخانه مرک آلمان جهت استخراج، کروماتوگرافی ر جداسازی استفاده به عمل آمد.

تجهیزات

دستگاه اسپکتروفتومتر UV مدل Shimadzu 2100 دستگاه اسپکتروفتومتر FT-IR مدل Shimadzu، دستگاه اسپکترومتر NMR ۸۰ مگا هرتز مدل Bruker AC-8.

استخراج

مقدار ۳۹۵ گرم از پودر غنچه ها و ۳۰۰ گرم از برگ های خشک گیاه کراتاگوس میه ری بطور جداگانه مطابق روش ارائه شده در فرانس (۱) توسط حلالهای اتر پترول (°C ۶۰-۳۰)، کلروفرم، متانول ۷۰٪ و استات اتیل و بوتانول نرمال عصاره گیری گردید. حلال عصاره های حاصل تحت شرایط خلاء و دمای °C ۵۰ تبخیر و باقیمانده خشک آنها (جدول ۱-۱) جهت بررسی بیشتر در یخچال نگهداری شد. عصاره های حاصل به کمک سیستم های مختلف TLC بررسی و انواع دارای بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی یعنی عصاره استات اتیل گلها و n-بوتانول بر گها جهت مطالعه انتخاب شد.

سیستمهای حلال اسید استیک ۱۰٪ و BAW (۴۱۵) جداسازی و نهایتاً ۸ میلیگرم ترکیب II بدست آمد. باند واقع در ناحیه $Rf_1 = ۰/۵۶ - ۰/۵۳$ بر روی پلیت سیلیکاژل با استفاده از سیستم حلال استات اتیل* - متانول - آب (۲ : ۱۰ : ۸۲) دو مرتبه کروماتوگرافی شد. بدین ترتیب طی دو بار پیشروی دو ترکیب ایزومر VI (۲۰ میلی گرم) و VII (۱۷ میلی گرم) از هم جدا شد.

فراکسیون های ۳ (لوله های ۸۰ تا ۲۰۰) و ۴ (لوله های ۲۰۱ تا ۲۵۰) بوسیله متانول کریستالیزه شد و پس از جداسازی کریستالهای ترکیب VI، محلول باقیمانده مجدداً بوسیله کروماتوگرافی بر روی ستون سیلیکاژل (سیستم حلال اولیه) و TLC پره پاراتیو بر روی سیلیکاژل (استات اتیل* - متانول - آب، ۲ : ۱۰ : ۸۲) جداسازی و خالص سازی گردید. در نتیجه ۲۶۰ میلی گرم ترکیب VI، ۳۰ میلی گرم ترکیب VII و ۲۰ میلی گرم ترکیب III بدست آمد. همچنین از خالص سازی فراکسیون ۵ (لوله های ۲۵۱ تا ۴۰۰) توسط پلیت سیلیکاژل (استات اتیل* - متانول - آب ۵ : ۱۵ : ۸۰) ۱۰ میلی گرم ترکیب IV حاصل شد.

فراکسیون ۱ (لوله های ۱۰ تا ۵۵) بطور مجدد به کمک ستون سیلیکاژل با استفاده از سیستم های حلال کلروفرم* - متانول - استات اتیل (۱ : ۱ : ۸) \rightarrow ۳ : ۰/۲ : ۰/۵ (۹/۵* x) و کلروفرم* - متانول (۵ : ۵ : ۸) و TLC پره پاراتیو بر روی سیلیکاژل (سیستم حلال کلروفرم* - متانول - استات اتیل (۱ : ۱ : ۸) مورد جداسازی و خالص سازی قرار گرفت. از مجموع عملیات فوق ۳۰ میلی گرم ترکیب V، ۱۰ میلی گرم ترکیب I و ۷ میلی گرم ترکیب IX بدست آمد. فراکسیون ۲ (لوله های ۵۶ تا ۸۰) چندین مرتبه توسط متانول کریستالیزه گردید. کریستالهای حاصل (ترکیب II، ۱۴ میلی گرم) جمع آوری شده و محلول باقیمانده به کمک پلیت پره پاراتیو سلولز و سیستم حلال بوتانول* : اسید استیک : آب (۲ : ۱ : ۴) BAW به سه باند عمده با مقادیر $Rf_1 = ۰/۵۳ - ۰/۵۶$ ، $Rf_2 = ۰/۶۴ - ۰/۶۸$ ، $Rf_3 = ۰/۷۷ - ۰/۸$ ، تقسیم شد. باند واقع در $Rf_3 = ۰/۷۷ - ۰/۸$ بوسیله سیستم حلال استات اتیل* - هگزان - متانول - آب (۱ : ۵ : ۵ : ۹) بر روی پلیت سیلیکاژل کروماتوگرافی شد و در نتیجه ۱۰ میلی گرم ماده V بدست آمد. باند واقع در $۰/۶۸ - ۰/۶۴$ به کمک پلیت پره پاراتیوسلولز و

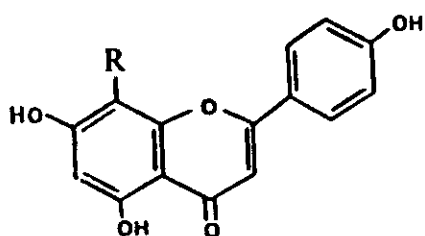
جدول ۱ - باقیمانده خشک عصاره های مختلف گلها و برگهای کراتاگوس میه ری بر حسب گرم و نحوه توزیع فلاونوئیدها در آنها

نوع عصاره		گل (۳۹۵ گرم)		برگ (۳۰۰ گرم)	
	باقیمانده خشک (%)	نحوه توزیع فلاونوئیدها	باقیمانده خشک	نحوه توزیع فلاونوئیدها	
اتر پترولی	۱/۹۷۸	-	۱/۴۰۲	-	
کلروفرمی	۲/۷۱۲	+	۲/۱۱۳	+	
استات اتیلی	۹/۳۱۵	++++	۸/۲۵۶	+++	
بوتانولی	۲۶/۱۰۷	+++	۱۷/۵۹۸	++++	

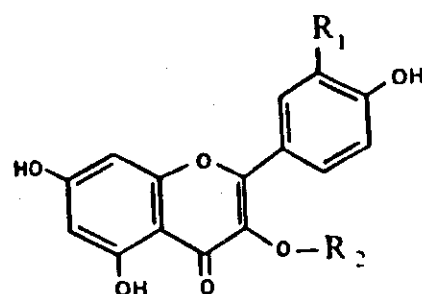
اسید استیک: آب (فاز فوقانی ۵ : ۱ : ۴*) BAW خالص سازی گردید و ۲۰ میلی گرم ترکیب IV حاصل شد. فراکسیون ۴ (لوله های ۱۰۰ تا ۱۴۰) به کمک مخلوط متانول - استات اتیل* (۳ : ۷) کریستالیزه و ۳۰۰ میلی گرم ترکیب IV بدست آمد. از تکرار عملیات فوق بر روی فراکسیون ۵ (لوله های ۱۴۱ تا ۲۲۰) دو ترکیب IV (۵۰ میلی گرم) و VII (۸۵ میلی گرم) حاصل گردید. و نهایتاً از کروماتوگرافی فراکسیون ۶ (لوله های ۲۲۱ تا ۴۰۰) مجدداً ۲۰ میلی گرم ترکیب VIII و ۲۵ میلی گرم ترکیب X بدست آمد.

جداسازی فلاونوئیدهای عصاره بوتانولی برگها

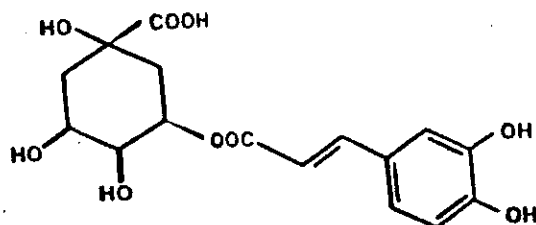
۶ گرم از باقیمانده خشک عصاره بوتانولی برگها به کمک متانول حل و بر روی ۳۰ گرم سیلیکاژل جذب گردید. سپس پودر حاصل توسط گرادیان حلالهای استات اتیل* - متانول - آب (۲۵ : ۴۵ : ۱۳۰) \rightarrow (۷ : ۱ : ۱۳۰) بر روی ۳۰۰ گرم سیلیکاژل کروماتوگرافی و در مجموع ۸ فراکسیون عمده بدست آمد. از کریستالیزاسیون فراکسیون ۲ (لوله های ۳۰ تا ۵۰) ۱۰ میلی گرم ترکیب II تولید شد. فراکسیون ۳ (لوله های ۵۱ تا ۱۰۰) بوسیله کاغذ واتمن شماره ۳ و سیستم حلال بوتانول نرمال*:



- I) R = H.
 II) R = Glu.
 III) R = Acetyl (4'), Rha-O-(1 \rightarrow 2) Glu.
 IV) R = Rha-O-(1 \rightarrow 2) Glu



- V) R₂ = H R₁ = OH
 VI) R₂ = Glucosyl R₁ = OH
 VII) R₂ = Galctosyl R₁ = OH
 VIII) R₂ = Rutinosyl R₁ = OH
 IX) R₂ = H R₁ = H



X

+ تری کلرور آلومینیوم: ۳۸۱/۲ و ۳۴۶/۶ و ۳۰۱/۴ و ۲۷۴/۸
 + تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۳۸۱/۲ و ۲۷۴/۸ و ۳۰۱/۴ و ۳۴۶/۶
 + استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۷۳ و (شانه) ۲۹۷ و ۲۷۴/۸
 + استات سدیم / اسید بوریک: ۳۳۵/۱ و (شانه) ۳۰۱ و ۲۶۷

طیف $^1\text{H-NMR}$ (δppm):

δ ۷/۹۵ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز)
 معادل ۲ پروتون، H_2^- و H_2^+
 δ ۶/۹ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز)
 معادل ۲ پروتون، H^- و H^+
 δ ۶/۶۷ یک پیک تک شاخه معادل ۱ پروتون H^3
 δ ۶/۴۵ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵ هرتز)
 معادل ۱ پروتون H_A
 δ ۶/۲۷ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵ هرتز)
 معادل ۱ پروتون H_B

ترکیب II:

طیف UV (λ_{max} , nm)

متانول: ۳۳۱/۲ و (شانه) ۳۰۰/۴ و ۲۶۷/۶
 + متیلات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۹۳/۲ و شانه ۲۷۹/۶ و ۳۳۰/۶
 + تری کلرور آلومینیوم: ۳۸۲/۴ و ۳۴۲/۲ و ۳۰۲/۶ و ۲۷۷/۲
 + تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۳۸۲/۴ و ۳۴۲/۲ و ۳۰۲/۶ و ۲۷۷/۲

طیف NMR, IR, UV

ترکیبات بدست آمده در متانول حل و طیف UV آنها مطابق روش های استاندارد (۱۵) تهیه شد. طیف $^1\text{H-NMR}$ نمونه ها به کمک حلال DMSO-d_6 و CD_3OD و طیف $^{13}\text{C-NMR}$ نمونه ها به کمک حلال DMSO-d_6 و طیف IR آنها توسط دیسک KBr تهیه گردید.

هیدرولیز

حدود ۲ میلی گرم از نمونه مورد آزمایش در چند قطره متانول حل و توسط روش های استاندارد، هیدرولیز (تام و ترتیبی) گردید (۱۶). ژنین حاصل به کمک اتر اتیلیک استخراج و محلول هیدرولیز تحت خلاء و دمای کم تا خشک شدن کامل تبخیر شد. باقیمانده خشک به کمک متانول حل و در حضور شاهد قندها بر روی پلیت سلولز (سلولز F آماده مرک، ضخامت ۰/۲۵ میلی متر) به کمک سیستم های حلال بوتانول* نرمال: بنزن: پیریدن: آب (۳:۳:۱:۵) و بوتانول نرمال*: اسید استیک: آب (۵:۱:۴) فاز فوقانی) کروماتوگرافی شد. در این بررسی ها از معرف آنیلین فتالات (۱۶) و معرف تیمول (۱۷) جهت آشکار سازی قندها استفاده گردید.

نتایج

ترکیب I:

طیف UV (λ_{max} , nm)

متانول: ۳۳۴/۲ و (شانه) ۳۰۰ و ۲۶۷/۲
 + متیلات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۹۰/۸ و ۳۲۲/۸ و ۲۷۴/۲

+ تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۴۲۳/۴۸
(شانه) ۲۷۳/۷ و ۳۰۳/۲

+ استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۸۷ و ۳۲۱ و
۲۷۲/۲

+ استات سدیم / اسید بوریک: ۳۲۸ و (شانه) ۲۹۳ و
۲۶۱/۲

طیف IR (KBr cm⁻¹):

۸۴۰ و ۱۱۸۰ و ۱۵۱۰ و ۱۵۷۰ و ۱۶۱۵ و
۱۶۶۰ و ۱۷۲۱ و ۳۴۰۰-۳۰۰۰

طیف ¹H-NMR(δppm):

۱۳/۱۵ δ یک پیک تک شاخه یک پروتون OH

۸ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز)

معادل دو پروتون، ۶⁻ و ۲⁻ H

۶/۹۲ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز)

معادل ۲ پروتون، ۵⁻ و ۳⁻ H

۶/۷ δ یک پیک تک شاخه معادل پروتون H^۳

۶/۲۵ δ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون ۶

H

۵/۰۵ δ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون

H^۳ (رامنوز)

۴/۹ δ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون H^۳

(گلکز)

۱/۹۷ δ یک پیک تک شاخه معادل سه پروتون

CH^۳ (استیل)

۰/۸۳ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲ هرتز)

معادل سه پروتون CH^۳ (رامنوز)

+ تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۳۸۲/۴ و
۲۷۷/۲ و ۳۰۲/۶ و ۳۴۲/۲

+ استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۷۹/۸ و ۳۰۳/۶ و
۲۷۹

+ استات سدیم / اسید بوریک: ۳۲۶/۸ و ۲۶۹/۸

طیف IR (KBr cm⁻¹):

۸۴۰ و ۱۱۸۰ و ۱۵۱۵ و ۱۵۷۰ و ۱۶۱۰ و ۱۶۶۰ و
۳۲۰۰-۳۴۵۰

طیف ¹H-NMR(δppm):

۱۳/۲ δ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون

OH-۵

۸/۰۲ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز)

معادل ۲ پروتون، ۶⁻ و ۲⁻ H

۶/۹ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز)

معادل دو پروتون، ۵⁻ و ۳⁻ H

۶/۶۷ δ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون

H^۳

۶/۲۷ δ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون ۶

H

۴/۷۳ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۱۱ هرتز)

معادل یک پروتون H^۱

ترکیب III:

طیف UV (λ.max. nm)

متانول: ۳۳۱/۴ و (شانه) ۳۰۱/۸ و ۲۶۸/۶

متیلات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۹۲ و ۳۳۰ و ۲۷۹/۱

+ تری کلرور آلومینیوم: ۴۲۳/۴۸ و (شانه) ۳۰۳/۲

و ۲۷۳/۷

ترکیب IV:

طیف UV (λ.max. nm)

+ تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۳۸۵/۸

و ۳۴۳/۱ و ۲۷۶/۴ و ۳۰۴/۲

+ استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۸۵/۸ و ۳۰۹

۲۷۹/۲

متانول: ۳۳۱/۸ و (شانه) ۳۰۱/۲ و ۲۶۹/۸

+ متیلات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۲۹ و ۳۹۵

۲۷۹/۸

+ تری کلرور آلومینیوم: ۳۸۵/۸ و ۳۴۷/۶

۲۷۶/۴ و ۳۰۴/۲

+ استات سدیم / اسید بوریک: ۳۳۰ و ۲۷۰

جدول ۲- جایگاهی های شیمیایی کربن های ترکیبات VI-VIII و IV و بر حسب ppm (حلال DMSO-d₆)

شماره کربن	II	II(I)	VI	VII	VIII
۲	۱۶۳/۸۲۳	۱۳/۷۴۰	۱۵۶/۳۰۴	۱۵۶/۲۰۱	۱۵۶/۳۹۶
۳	۱۰۲/۴۶۶	۱۲/۱۰۴	۱۳۳/۸۷۵	۱۳۳/۵۶۵	۱۳۳/۳۱۴
۴	۱۸۴/۵	۱۲/۹۰۹	۱۷۷/۴۸۹	۱۷۷/۵۰۹	۱۷۷/۳۲۷
۵	۱۶۱/۰۹۱	۶۱/۱	۱۶۱/۲۲۷	۱۶۱/۱۳۰	۱۶۱/۱۶۹
۶	۹۸/۲۴۴	۹/۹۶۰	۹۸/۶	۹۸/۶۰۴	۹۸/۶۹۴
۷	۱۶۲/۵۷	۱۱/۹۴۴	۱۶۴/۱۴۸	۱۶۴/۱۳۴	۱۶۴/۱۲۴
۸	۱۰۴/۵۱۸	۱۱/۳۸۵	۹۳/۵۱۶	۹۳/۸۷۵	۹۳/۵۴۹
۹	۱۵۸/۵۰۳	۱۲/۵۰۲	۱۵۶/۳۰۴	۱۵۶/۲۰۱	۱۵۶/۳۹۶
۱۰	۱۰۴/۰۷۴	۱۲/۵۲۳	۱۰۳/۹۳۸	۱۰۳/۸۷۵	۱۰۳/۹۱۸
۱'	۱۲۱/۷۵	۱۲/۳۴۳	۱۲۱/۱۴۷	۱۲۱/۰۶	۱۲۱/۱۶۹
۲'	۱۲۸/۸۳۱	۱/۸۸۰	۱۱۵/۲۰۸	۱۱۵/۲۷۱	۱۱۵/۲۲۷
۳'	۱۱۵/۸۳۲	۱/۹۸۹	۱۴۴/۷۹۲	۱۴۴/۸۹۲	۱۴۴/۷۰۳
۴'	۱۶۰/۳۹۰	۱۰/۴	۱۴۸/۴۳۷	۱۴۸/۳۶۷	۱۴۸/۳۶۷
۵'	۱۱۵/۸۳۲	۱۱/۹۸۹	۱۱۶/۰۵۲	۱۱۵/۹۵۴	۱۱۶/۲۷۰
۶'	۱۲۸/۸۳۱	۱۱/۰۴۱	۱۲۱/۹۶۱	۱۲۱/۶۶۰	۱۲۱/۵۶۰
۱''	۷۳/۳۹۸	۷۳/۹۸	۱۰۱/۹۶۰	۱۰۰/۸۶۰	۱۰۱/۲۲۲
۲''	۷۰/۸۷۵	۷۱/۰۱	۷۱/۲۵۸	۱۷۲/۱۸۶	۷۵/۹۰۹
۳''	۷۸/۶۸۵	۷۱/۵۳	۷۳/۲۵۴	۷۴/۵۵۰	۷۷/۲۰۱
۴''	۷۰/۴۱	۶۹/۱۱	۶۷/۹۵۱	۶۷/۸۴۹	۷۰/۱۵۳
۵''	۸۱/۴۱	۸۲/۵۸	۷۵/۸۲۱	۷۵/۷۳۷	۷۶/۵۰۸
۶''	۶۱/۲۹۵	۶۲/۵۳	۶۰/۱۷۲	۶۰/۰۵۱	۶۶/۶۹۷
۱'''		۱۰/۰۳			۱۰۰/۸۸۱
۲'''		۷/۴			۷۰/۳۴۳
۳'''		۷/۵			۷۱/۶۸۲
۴'''		۷۱/۶۲۷			۷۴/۰۶۹
۵'''		۶۸/۱۶۹			۶۸/۱۶۹
۶'''		۱۷/۷۸۸			۱۷/۶۳۲

- طیف IR (KBr cm^{-1}):
 ۸۴۰ و ۱۴۶۰ و ۱۵۱۰ و ۱۵۷۰ و ۱۶۱۰ و ۱۶۶۰ و ۳۰۰۰-۳۵۰۰
- طیف $^1\text{H-NMR}(\delta\text{ppm})$:
 ۷/۹۵ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز) معادل دو پروتون، $6'$ و $2'$ H
 ۶/۹۵ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز) معادل دو پروتون، $5'$ و $3'$ H
 ۶/۶ δ یک یک تک شاخه معادل یک پروتون $3'$ H
 ۶/۳۲۴ δ یک یک تک شاخه معادل یک پروتون H ۸
 ۵/۰۷۴ δ یک یک تک شاخه معادل یک پروتون $3''$ H (رامنوز)
 ۴/۹۶ δ یک یک تک شاخه معادل یک پروتون $4''$ H (گلوکز)
 ۰/۶۹ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۷ هرتز) معادل سه پروتون CH_3 (رامنوز)
- طیف IR (KBr cm^{-1}):
 ۸۴۲ و ۱۱۶۸ و ۱۳۱۹ و ۱۵۲۳ و ۱۶۱۳ و ۱۶۶۴ و ۳۰۰۰-۳۶۰۰
- طیف $^1\text{H-NMR}(\delta\text{ppm})$:
 ۷/۶۵ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵ هرتز) معادل یک پروتون $2'$ H
 ۷/۵۵ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ و ۲/۵ هرتز) معادل یک پروتون، $6'$ H
 ۶/۸۱ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز) معادل یک پروتون، $5'$ H
 ۶/۳ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵ هرتز) معادل یک پروتون، H ۸
 ۶/۱ δ یک یک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵ هرتز) معادل یک پروتون، $6'$ H
- طیف $^{13}\text{C-NMR}$:
 به جدول ۲ مراجعه شود.
- ترکیب V:
 طیف UV (λ_{max} , nm)

δ ۶/۸۳ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاز ۸/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۵'

δ ۶/۴ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاز ۲/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۸

δ ۶/۲۱ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاز ۲/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۶'

δ ۵/۴ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاز ۷/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H 1" (گالاکتوز)

طیف $^{13}\text{C-NMR}$:

به جدول ۲ مراجعه شود.

ترکیب VII:

طیف UV (λ_{max} , nm)

متانول: ۳۵۹/۱ (شانه) و ۳۰۰ (شانه) و ۲۶۷/۷ (شانه) و

۲۵۶/۸

+ متیلات سدیم: (بدون تجزیه) ۴۰۶/۱ و ۳۲۸ و

۲۷۱/۹

+ تری کلرور آلومینیوم: ۴۲۳/۱ (شانه) و ۳۰۳/۲ (شانه) و

۲۷۲/۸ و

+ تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۳۹۹ و

۳۶۰ (شانه) و ۳۰۱ و ۲۶۷/۲

+ استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۸۷ و ۳۲۱ و

۲۷۲/۲

+ استات سدیم / اسید بوریک: ۳۷۷ (شانه) و ۲۹۱ و

۲۶۱/۲

ترکیب VI:

طیف UV (λ_{max} , nm)

متانول: ۳۵۸/۲ (شانه) و ۳۰۰ (شانه) و ۲۶۸/۴ (شانه) و

۲۵۶/۸

+ متیلات سدیم: (بدون تجزیه) ۴۰۶/۸ و ۳۲۸ و

۲۷۱/۴

+ تری کلرور آلومینیوم: ۴۲۳/۸ و ۳۰۳/۲ و

۲۷۲/۷

+ تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۳۹۹ و

۳۶۰ (شانه) و ۳۰۰ و ۲۶۷/۲

+ استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۸۷ و ۳۲۱ و

۲۷۲/۲

+ استات سدیم / اسید بوریک: ۳۷۵ (شانه) و ۲۹۳ و

۲۶۱/۲

طیف IR (KBr cm^{-1}):

۱۶۰۶ و ۱۵۰۵ و ۱۴۴۷ و ۱۳۶۵ و ۱۱۵۰ و ۸۸۵

و ۱۶۵۷ و ۳۴۰۰-۳۰۰۰

طیف $^1\text{H-NMR}$ (δ ppm):

δ ۱۲/۶ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون

OH

δ ۷/۶۸ یک پیک دو شاخه دو شاخه (ثابت کوپلاز

۸/۵ و ۲/۵ هرتز) معادل یک پروتون، H ۶'

δ ۷/۵۵ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاز ۲/۵

هرتز) معادل یک پروتون، H ۲'

متانول: ۳۵۶/۸ و (شانه) ۲۹۹/۸ و (شانه) ۲۶۴/۲
و ۲۵۵/۸

+ متیلات سدیم: (بدون تجزیه) ۴۱۱/۴ و ۳۲۵/۲
و ۲۷۱/۱

+ تری کلرور آلومینیوم: ۴۳۰/۴ و (شانه) ۳۰۲/۶ و
۲۷۴

+ تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۴۰۲ و
۳۶۰/۸ و (شانه) ۲۹۸/۴ و ۲۶۹/۴

+ استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۸۸/۸ و ۳۲۳ و
۲۷۰/۲

+ استات سدیم / اسید بوریک: ۳۷۹/۲ و (شانه)
۳۰۰ و ۲۶۴/۱

طیف IR (KBr cm⁻¹):

۸۲۰ و ۱۰۳۰ و ۱۲۰۰ و ۱۳۶۰ و ۱۴۵۰ و ۱۵۰۰ و
۱۶۱۰ و ۱۶۶۰ و ۳۴۰۰-۳۱۰۰

طیف ¹H-NMR(δppm):

۷/۵۲۲ δ یک توده چند شاخه (تفکیک نشده)

معادل دو پروتون، ۶' و H ۲'

۶/۷۵ δ یک پیک دو شاخه دو شاخه (ثابت کوپلاژ

۸/۵ هرتز) معادل یک پروتون، H ۵'

۶/۳۸۵ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵

هرتز) معادل یک پروتون، H ۸

۶/۱۸۹ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵

هرتز) معادل یک پروتون، H ۶

۵/۳۳ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۷ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۱' (گلوکز)

طیف IR (KBr cm⁻¹):

۸۸۵ و ۱۱۵۰ و ۱۴۲۰ و ۱۵۱۵ و ۱۶۲۰ و ۳۴۰۰ -
۳۰۰۰

طیف ¹H-NMR(δppm):

۱۲/۶۱ δ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون

۵ OH

۷/۶۸ δ یک پیک دو شاخه دو شاخه (ثابت کوپلاژ

۸/۵ و ۲/۵ هرتز) معادل یک پروتون، H ۶'

۷/۵۲ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵

هرتز) معادل یک پروتون، H ۲'

۶/۸۳ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۵'

۶/۴ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۸

۶/۲۱ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۶

۵/۴ δ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۷/۵ هرتز)

معادل یک پروتون، H ۱' (گلوکز)

طیف ¹³C-NMR:

به جدول ۲ مراجعه شود.

ترکیب VIII:

طیف UV (λ.max. nm)

δ ۶/۴ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲ هرتز)
معادل یک پروتون، H ۸

δ ۶/۲ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۲ هرتز)
معادل یک پروتون، H ۶

δ ۴/۳۹۱ یک پیک تک شاخه معادل یک پروتون،
H ۱ (رامنوز)

δ ۰/۹۸۸ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۵ هرتز)
معادل سه پروتون، CH₃ (رامنوز)

طیف ¹³C-NMR :

به جدول ۲ مراجعه شود.

ترکیب X:

طیف UV (λ .max. nm)

متانول ۳۲۵/۱ و ۲۹۸/۵

ترکیب IX:

طیف UV (λ .max. nm)

متانول: ۳۶۶/۸ و (شانه) ۳۲۵/۸ و (شانه) ۲۹۵ و
۲۶۵ و (شانه) ۲۵۴

+ متیلات سدیم: (تجزیه در زمان طولانی) ۴۲۰ و
۳۱۶ و ۲۹۷

+ تری کلرور آلومینیوم: ۴۲۲/۲ و ۳۹۹/۶ و (شانه)
۳۰۵ و ۲۶۸ و (شانه) ۲۶۰

+ تری کلرور آلومینیوم / اسید کلریدریک: ۴۲۲ و
۳۴۹ و (شانه) ۳۰۵ و ۲۶۸ و (شانه) ۲۵۶/۷

+ استات سدیم: (بدون تجزیه) ۳۹۴/۸ و ۳۱۱/۴ و
۲۷۴/۲

+ استات سدیم / اسید بوریک: ۳۶۹ و (شانه) ۲۹۷ و
۲۶۵

طیف ¹H-NMR(δ ppm):

δ ۷/۹ یک پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸ هرتز)
معادل دو پروتون، ۶' و ۲'

δ ۶/۸۳ یک پیک دو شاخه دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۸
هرتز) معادل دو پروتون، ۵' و ۳'

طی مطالعاتی که برای نخستین بار در مورد
پلی فنل های کراتاگوس میه ری انجام شد مشخص
گردید که بطور عمده دو دسته از ترکیبات فلاونوئیدی
در این گونه یافت می شوند. دسته ای از این ترکیبات
دارای هسته آپی ژنین بوده و — مشتقات
C- گلیکوزید آن تعلق دارند و دسته دیگر جزو
مشتقات کرسٹین می باشند. بررسی طیف های UV
ترکیب I وجود گروه های هیدروکسیل را در موقعیت
های C۵ و C۷ و C۴ به اثبات رسانده (۱۵) و یافته
های حاصل از طیف H-NMR این ترکیب حضور
پروتونها C۶' و C۲' و C۵' و C۴' و در نتیجه استخلاف
متقارن حلقه B (پیکهای دو شاخه واقع در ppm
۷/۱۵ و ۶/۹) و حضور پروتون C۳ (ppm
۶/۶۷) و پروتونهای C۸ و C۶ حلقه A (پیکهای دو
شاخه واقع در ppm ۶/۴۵ و ppm ۶/۲۷) را نباید
می نماید (۱۶ و ۱۵). لذا با توجه به اطلاعات فوق
ساختمان ترکیب I آپی ژنین تعیین گردید. بررسی
طیف های UV ترکیبات II-IV و مقایسه آنها با طیف
های UV ترکیب I وجود تشابه کلی میان طیف های

کربن ۸ به میزان تقریبی ۱۱ ppm به طرف میدانها ی ضعیف تر موید C- گلیکوزیلاسیون در این کربن می باشد. پیک های مربوط به کربن های قند نیز بخوبی با اطلاعات منتشر شده مطابقت داشته و حضور قند گلوکز را به اثبات می رساند (۲۰-۱۸) عدم هیدرولیز ترکیب II در شرایط گوناگون و ایزومریزاسیون آن با دیگر ساختمان C- گلیکوزیدی را تایید مینماید. لذا با توجه به اطلاعات بدست آمده می توان ساختمان آپی ژنین را برای هسته فلاونی، گلوکز را برای قسمت قندی و نهایتاً ویتکسین را برای ترکیب II پیشنهاد نمود. از طرف دیگر مقایسه طیف های $^{13}\text{C-NMR}$ و ^1H ترکیب IV با ترکیب II (ویتکسین) الگوی استخلاف مشابهی را برای هسته فلاونوئیدی آن نشان می دهد و تنها اختلاف موجود مربوط به حضور پیک پروتونهای متیل (۶۱/۵۰ ppm) و پروتون آنومریک (۷۴/۵۵ ppm) قند رامنوز در ترکیب IV می باشد. در این طیف پیک مشاهده شده در ۹۶/۸۴ ppm در اصل به دلیل کوپلاژ بنزلیک (پروتون آنومریک گلوکز، ثابت کوپلاژ حدود ۱۰ هرتز) دو شاخه بوده اما به دلیل همپوشانی یکی از شاخه های آن با پیک پروتون آنومریک رامنوز به صورت تک شاخه دیده میشود. از طرف دیگر این همپوشانی سبب افزایش انتگراسیون پیک $\text{H}1''$ رامنوز شده است. با در نظر گرفتن اینکه سیگنال پروتون آنومریک C- گلیکوزیدها در میدانهای بالاتری نسبت به O- گلیکوزیدها ظاهر می گردد و با توجه به میزان کوپلاژ پروتون آنومریک گلوکز، ساختمان C- گلیکوزیدی ترکیب IV کاملاً به اثبات می رسد. از طرف دیگر محل ظهور پیک $\text{H}1''$ ، نشانگر اتصال هیدروکسیل $1''$ رامنوز به کربن $2''$

این ترکیبات را نشان می دهد. در طیف NMR ترکیب II (ناحیه آروماتیک) دو پیک دو شاخه با ثابت کوپلاژ ۸/۵ هرتز در ۸۸/۰۲ ppm و ۹/۵۶ ppm مشاهده می گردد که به ترتیب مربوط به $\text{H}2'$ -۶' و $\text{H}3'$ -۵' می باشد. پیک دیگری در ۶۷/۵۶ ppm مربوط به $\text{H}3'$ بوده و در نهایت تک شاخه واقع در ۲۰/۵۶ ppm مربوط به $\text{H}6'$ می باشد. تک شاخه بودن این پیک همچنین عدم مشاهده پیک دیگر در ناحیه آروماتیک موید استخلاف کربن ۸ می باشد. علاوه بر آن پیک دو شاخه (ثابت کوپلاژ ۱۱ هرتز) موجود در ۷۳/۵۴ ppm (ناحیه آلیفاتیک) حضور پروتون آنومریک قند را نشان می دهد و بزرگی ثابت کوپلاژ آن نشانگر یک پروتون بنزلیک و به عبارت بهتر یک پروتون آنومریک به حالت بتا در ترکیب II می باشد (۱۶ و ۱۸). لذا جسم مورد نظر بایستی به حالت C- گلیکوزیدی به مولکول قند اتصال یافته باشد. در طیف $^{13}\text{C-NMR}$ پیک مشاهده شده در ضعیف ترین میدان یعنی ۵/۱۸۴ ppm مربوط به کربن گروه کربونیل بوده و پیک های موجود در ۹/۱۶۱ ppm و ۷/۱۶۲ ppm و ۳۹۰/۱۶۰ ppm به ترتیب مربوط به کربن های ۵ و ۷ و ۴ است که در اثر هیدروکسیلاسیون به طرف میدان ضعیف جابجا شده اند. به دلیل عدم وجود استخلاف در کربن ۳، پیک مربوط به کربن ۲ بخوبی از پیک کربن ۹ تفکیک یافته و در میدانهای ضعیف تر ظاهر شده است لذا پیک کربن ۳ در ۳۶۶/۱۰۲ ppm، کربن ۲ در ۲۳/۸۲۳ ppm و کربن ۹ در ۳/۵۸۸ ppm مشاهده میشود. دو پیک دو شاخه در ۳۲/۱۱۵ ppm و ۳۱/۱۲۸ ppm به ترتیب نشانگر کربن های (۵' و ۳') و (۶' و ۲') هستند. شیفت پیک

همانگونه که قبلاً اشاره شد دسته دیگر ترکیبات به مشتقات کرسستین تعلق دارند. بررسی طیف های UV ترکیب V، حضور سیستم بسیار حساس به قلیا یعنی 4^+ و 3^+ و 3^+ تری هیدروکسی فلاون به همراه گروه هیدروکسیل ۷- آزاد را در ساختمان این ترکیب به اثبات می رساند. یافته های طیف $^1\text{H-NMR}$ حضور سه پروتون در حلقه B و دو پروتون در حلقه A را تایید می نماید لذا می توان نتیجه گرفت که ترکیب V کرسستین است. طیف های UV ترکیبات VI، VII و VIII مشابه یکدیگر و تقریباً مشابه کرسستین (V) بوده و تنها اختلاف موجود ناشی از استخلاف هیدروکسیل کربن ۳ می باشد. طیف های $^1\text{H-NMR}$ دو ترکیب VI و VII کاملاً یکسان است اما یافته های حاصل از هیدرولیز این دو ترکیب و بررسی ساختمان قندهای حاصل به کمک TLC (در حضور قندهای شاهد) و همچنین اطلاعات ناشی از طیف $^{13}\text{C-NMR}$ وجود قند گالاکتوز را در ترکیب VI و گلوکز را در ترکیب VII نشان می دهد. بنابر این ترکیب VI که عمده ترین فلاونوئید موجود در برگها و گلهای کراتاگوس میه ری است هیپروزید یا کرسستین ۳-گالاکتوزید و ترکیب VII، ایروکرسیتروزید یا کرسستین ۳-گلوکوزید می باشد (۲۰).

طیف های $^{13}\text{C-NMR}$ و ^1H یافته های حاصل از هیدرولیز (تام و ترتیبی) حضور قند روتینوز را در ساختمان ترکیب VIII نشان می دهد بنابراین ترکیب مزبور روتوزید یا کرسستین ۳- روتینوزیل خواهد بود. علاوه بر موارد یاد شده ترکیب IX به عنوان کامفرول و ترکیب X به عنوان اسید کلروژنیک شناسایی شدند.

گلوکز می باشد (۲۰-۱۶). طیف $^{13}\text{C-NMR}$ بخوبی ساختمان آپی ژنین را تایید نموده و شیفت مشاهده شده در سیگنال کربن ۸ بیانگر اتصال C- گلیکوزیدی می باشد. همچنین بررسی پیکهای موجود در محدوده ۸۰-۶۰ ppm و ۲۰-۱۵ ppm وجود دو قند گلوکز و رامنوز را در ساختمان گلیکوزید به اثبات می رساند. با توجه به اینکه پیک مربوط به 2^+ C گلوکز به میزان ۴ ppm به طرف میدان ضعیف تر و پیک 3^+ C آن حدود ۱ ppm به طرف میدان قوی تر جابجا شده است می توان نتیجه گرفت که محل اتصال بین قندها، کربن 2^+ گلوکز می باشد (۲۳-۲۱). بنابراین با توجه به یافته های مذکور برای ترکیب IV ساختمان 2^+ - رامنوزیل ویتکسین پیشنهاد می شود.

در طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب III یک پیک با انتگراسیون سه پروتون در ۱/۹۶ ppm مشاهده میشود که مربوط به پروتونهای گروه استیل است. از طرف دیگر در طیف IR این جسم پیک موجود در 1721 cm^{-1} مربوط به گروه کربونیل بوده و ماهیت استری آن را به اثبات می رساند. هیدرولیز ملایم جسم III سبب حذف گروه استیل و تبدیل آن به ترکیب IV می شود. با مراجعه به مقالات انتشار یافته در خصوص نحوه و میزان جابجائی گروههای اسیل متصل به قندهای مختلف (۲۱) مشخص می گردد که گروه استیل به هیدروکسیل 4^+ رامنوز متصل بوده و بنابر این ساختمان آن 4^+ استیل - 2^+ رامنوزیل ویتکسین خواهد بود. ویتکسین رامنوزید (III) عمده ترین ترکیب فاز بوتانولی برگها (گلها) محسوب شده و به مقدار اندک در عصاره استات اتیلی وجود دارد.

آزمایشات فارماکولوژیک مختلف می توان اظهار داشت که تهیه فرآورده های دارویی استاندارد از گیاه کراتاگوس میه ری امکان پذیر می باشد.

تعیین مقدار فلاونوئیدهای تام به روش رنگ سنجی (۲۴) به عمل آمد و بر این اساس گلشای کراتاگوس میه ری دارای ۱/۷٪ فلاونوئید می باشد. لذا با توجه به نتایج بررسی های شیمیایی مذکور و

References:

- ۱- ناظمیه حسین و افشار. جلیل بررسی ترکیبات پلی فنولیک Crataegus curvisepala Lindman، علوم دارویی، مجله دانشکده داروسازی تبریز، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ۱۳۷۶، جلد ۴، شماره ۱، ص. ۵۵-۴۵.
- 2- Ammon H.P. T and Handel M.; Crataegus, toxicology and pharmacology, Part 1. Toxicity., Plant. Med., 1981, 43(2), P 105-120.
- 3- Ammon H.P.T and Handel M.; Crataegus, toxicology and pharmacology, Part 2. Pharmacodynamics., Planta Med., 1981, 43(2), P 209-239.
- 4- Ammon H.P.T and Handel, M.; Crataegus, toxicology and pharmacology, Pharmacodynamics and Pharmacokinetics, Planta Med., 1981, 43(2), P 313-322.
- 5- Occhiuto F., Circosta C., Costa R., Briguglio F., Tommasini A., Depsquele A.; Comparative cardiovascular activities of young leaves and flowers of Crataegus oxyacantha, II. effects of extracts and of isolated pure components on isolated rabbit heart., Plant Med. Phytoter., 1986, 20(1), P 52-63.
- 6- Costa R., Occhiuto F., Circosta C., Ragusa S., Busa G., Briguglio F.; Comparison of young shoots, leaves and flowers of Crataegus oxyacanta for cardiovascular activity. III. protective effect on isolated rat heart against arrhythmia-inducing agents and in reperfusion arrhythmias. Plant. Med. Phytoter., 1986 20(2), P 115-128.
- 7- Hanak T.H. and Bruckel M.H.; Treatment of mild stable forms of angina pectoris with a standardized Crataegus extract, Therapiwoshe, 1983, 33(34), 4331-4333.
- 8- Iwamoto M., Ishizake T., Sato T.; Klinische Wirkung von Crataegutt bei Herzerkrankungen ischämischer und/oder Hypertensiver Genese, Planta. Med., 1981, 42(1), P 1-16.
- 9- Thompson E.B., Aynilian G.H., Gora P., Farnsworth N.R.; Preliminary study of potential anti-arrhythmic effects of Crataegus monogin, J. Pharm. Sci, 1974, 63, P 1936-1937.
- 10- Lievre M., Andrieu J.L., Baconin A.; Assessment in the anesthetized dog of the cardiovascular effects of a pure extract (hyperoside) from hawthorn., Ann. Pharm. Fr., 1985, 43(5), P 471-477.
- 11- Schuessler M., Fricke U., Holz J., Nikolov N.; Effects of flavonoids from Crataegus species in Langendorff Perfused Isolated Guinea Pig Hearts, Planta Med., 1992, 58 (supple 1): P A646-A647.

- 12-Schuessler M., Holzl J., Frick U.; Myocardial effects of Flavonoids from *Crataegus* species, *Arzneimittel.*, 1995, 45(8), P842-5.
- 13-Garjani A., Nazemiyeh H., Valizadeh H., Maleki N.; Effects of Extrats from flowering tops of *Crataegus meyeri* A. Pojark. On Ischaemic Arrhythmias in Anaesthetized Rats., *Phytotherapy Research.* 2000, 14, 428-431.
- 14-Garjani A., Nazemiyeh H., Maleki N., Afshar DJ.; Antiarrhythmic effects of *Crataegus meyeri* on ischaemic arrhythmias in rat, "XVIII" European section meeting of the International society for Heart research, 1997, Feb. 1-5, Versailles, France.
- 15-Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B.; *The systematic Identification of Flavonoids*, Springer-verlage, New York, 1970, 37-61.
- 16-Markham KR.; *Techniques of flavonoid identification*, Academic Press, London, 1982, 20-80.
- 17- Karting Th. and Wegschaider, O.; Eine möglichkeit zur Identifizierung von Zuckern aus kleinsten Mengen von Glykosiden oder aus Zuckergemischen, *J. Chromatogr.*, 1971, 61, 375-377.
- 18- Hillis W.E. and Horn H.S.; Nuclear Magnetic Resonance spectra and structures of some C-Glycosylflavonoids, *Aust. J. Chem.*, 1965, 18, 531-42.
- 19- Markham K.R. and Geiger H., in *The flavonoids (Advances in research Since 1986)*, Harborne J.B. Ed.; chapt. 10, Chapman and Hall, London, 1994, 441-497.
- 20-Beitmaire E. and Coelter W.; *Carbon-13NMR Spectroscopy*, VCH, Weinheim, 1990, PP 450-6.
- 21-Maurice J., in *The flavonoids (Advances in research since 1986)*. Harborne J.B., Ed.; chapt. 3, Chapman and Hall, London, 1994, 57-93.
- 22-Nikolov N., Dellamonica G., Chopin J., Di-C-Glycosyl flavones from *Crataegus monogyna*, *Phytochem.*, 1981, 20(12), 2780-2781.
- 23- Oelrichs P., Marshall J.T.B., Williams D., H.; 7-O- β -D-Glucosyl-8-C- β -D-glucosyl-4'-O-methylapigenin, A New Flavone from *Trema aspera*, *J. Chem. Soc. (C)*, 1968, 941-947.
- 24-Lamaison J.L. and carant A.; The amount of main flavonoids in flowers and leaves of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poiret)DC. (Rosaceae), *Pharm. Acta. Helv.*, 1996, 65(11), 315-320.