الباب الثالث

صبغات الألوان في أعضاء النبات

- أشباه الفلافون (الفلافونويدات)
- الأنثوسيانينات

obeikandl.com

obeikandl.com

الفصل الرابع

أشباه الفلافون (الفلافونويدات)

• المقدمة • التركيب الكيميائي • تصنيف أشباه الفلافون • أهمية أشباه الفلافون • صبغات الأزهار والثمار • تحوير ألوان الزهرة بتقنية الهندسة الوراثية • طرق التعرف على أشباه الفلافون

المقدمة

تمثل أشباه الفلافون (الفلافونويدات) flavonoids مجموعة من المركبات التي تذوب في الماء ومشتقة من الفينول لتكوين مركبات عديدة الفينول ذات الوزن الجزيئي الصغير. تعد مركبات أشباه الفلافون من الفينولات المتعددة هيكلها مكون من ١٥ ذرة كربون، حلقتي بنزين مرتبطة بسلسلة من ثلاث ذرات كربون مستقيمة (انظر الشكل رقم ٤,١). إن العديد من هذه المركبات ذات ألوان ساطعة. غالبية الفينولات لا توجد حرة في النسيج النباتي بل مرتبطة مع غيرها مثل بقية الجلوكوز وتسمى جلوكوسيدات ، وقد يعود ذلك إلى سميتها في الحالة الحرة . إن هذه المواد الأيضية واسعة الانتشار في المملكة النباتية من الحزازيات إلى كاسيات البذور . وعادة توجد هذه المركبات في المجموع الخضري والقلف وخشب الأشجار . يختلف المحتوى من هذه المركبات بين أنواع النباتات اختلافاً كبيراً وغالبا في النباتات الإستوائية يكون المحتوى أكبر منه في النباتات

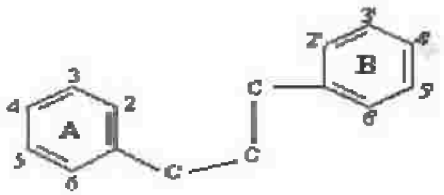
النامية في المناطق الأخرى . وفي النوع النباتي الواحد يختلف المحتوى فيما بين الأعضاء وكذلك تختلف كمية هذه المركبات بين فصول السنة . تساهم هذه المركبات في تكوين ألوان الأزهار لجذب الملقحات بالإضافة إلى كونها تساهم في حماية العضو النباتي من ضرر الأشعة فوق البنفسجية ومقاومة الآفات والمُمْرضات (Gronquist, *et al.*, 2001) . تعد مركبات أشباه الفلافون مهمة للإنسان والحيوان لكونها تؤدي وظائف متعددة في مجالات كيمياء النبات الحيوية وفسيولوجيته وبيئته (Forkmann and Martens, 2001) .

التركيب الكيميائي

تتكون أشباه الفلافون كيميائيا من مركب ذو ثلاث حلقات فينولية (حلقتان ذات روابط ثنائية مرتبطة برابطة أحادية بحلقة أخرى) . تتميز أشباه الفلافون بتركيب γ-pyrone وهي من مركبات أشباه فينيل البروبان من المنتجات الطبيعية ، تُبْني أشباه الفلافون في مسار حمض الشيكيميك shikimic acid أو قد يسمى مسارها مسار أشباه فينيل البروبان كالتالي

D-erythrose + PEP ⟶ phenylalanine ⟶ phenylpropanoids

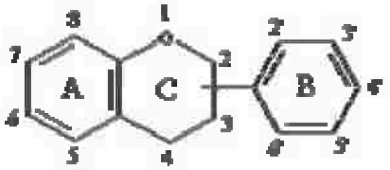
تتميز أشباهه الفلافون بأنها تتكون من هيكل كربوني أساسي موضح بالشكل رقم (٤,١) .



الشكل رقم (٤,١) . الهيكل الكربوني الأساسي لأشباه الفلافون ونظام ترتيب الذرات .

يلاحظ في الشكل السابق وجود الأرقام وهو نظام متبع في علوم الكيمياء لتسهيل تحديد موقع ارتباط أي مجموعة بالهيكل الأساسي والشكل رقم (٤,٢) يوضح

نظام الترتيب مع تحديد الحلقات ويطلق عليه نظام الذرات ٦كربون-٣كربون-٦كربون $C_6 - C_3 - C_6$ system .



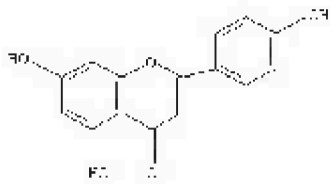
الشكل رقم (٤,٢) . تسمية الحلقات في أشباه الفلافون .

في التركيب الأساسي لأشباه الفلافون تسمى الحلقة A حلقة الكرومين chromane والحلقة الثانية عطرية B مرتبطة بذرة الكربون ٢ أو ٣ أو ٤ كما في الترقيم أعلاه .

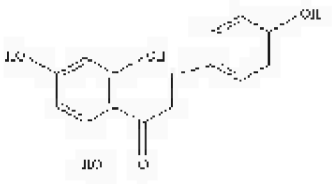
في الشكل السابق يلاحظ وجود حلقة سداسية متغايرة (وجود ذرة الأكسجين) وهي الحلقة C والتي يمكن أن تكون مفتوحة (أيزومير isomeric) أو يحل محلها حلقة أو غير ذلك من التركيبات والمجاميع . وتتميز هذه الحلقات بامكانية تحوير التركيب بإضافة مجموعة هيدروكسيلية لأحد المواقع في أي حلقة (Hydroxylation) أو تحويل المجموعة الهيدروكسيلية إلى مجموعة ميثيلة (Methylation) أو الارتباط بجزيء مثل الجلوكوز (Glycosylation) أو الأستيل (acylation) إلى غير ذلك من التفاعلات التي قد يطول شرحها ، لكن النهاية هو العدد الهائل من المركبات أو المشتقات (Forkmann and Martens, 2001). وللتوضيح انظر الشكل رقم (٤,٤) الذي يمثل مخططاً لعلاقة التحول بين مركبات أشباه الفلافون حيث تتكون معظم المركبات الأخرى .

تصنيف أشباه الفلافون

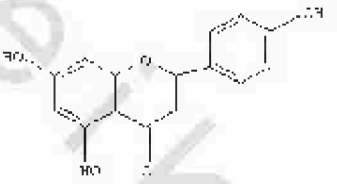
تصنف أشباه الفلافون طبقاً لخاصية (أو خواص) معينة إلى مجاميع تشترك في خصائص معينة والشكل رقم (٤,٣) يوضح التركيب الكيميائي لأمثلة المجاميع الست الرئيسة .



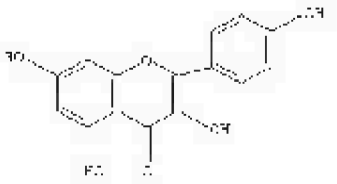
الفلافـــون
Flavone



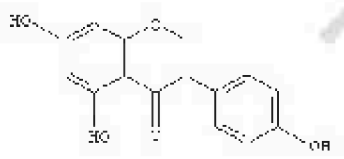
الشـــالكون
Chalcone



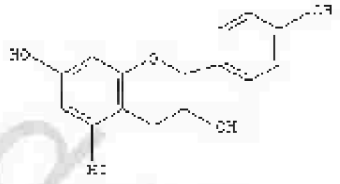
الفلافانون
. Flavanone



الفلافونـول
Flavonol

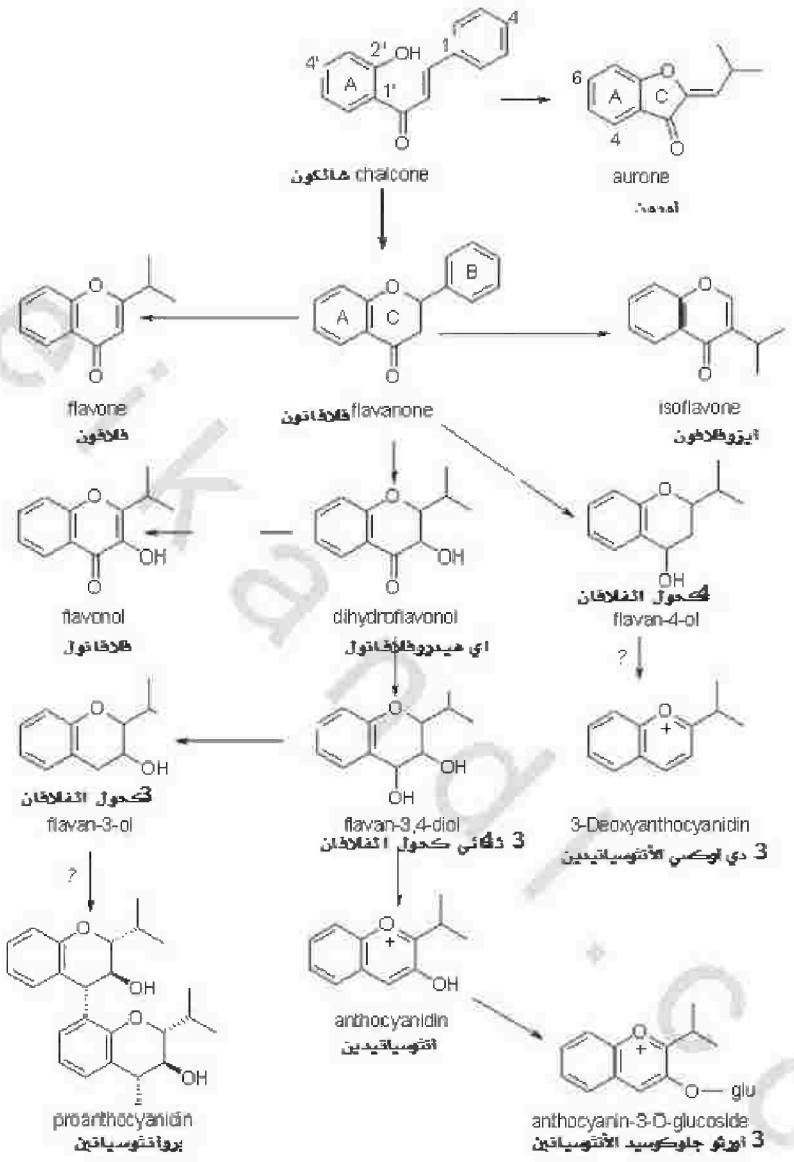


أشبا الأيزوفلافون
Isoflavonoids



الأنثوسيانينات
Anthocyanins

الشكل رقم (٤,٣) . يوضح تركيب ست مجموعات رئيسية في مركبات أشباه الفلافـــون . يلاحـــظ أن معظم هذه المركبات يكون ارتباط الحلقة في الموقع ٢ بينما في أيزو أشباه الفلافون يكون الارتباط في الموقع ٣ .



الشكل رقم (٤,٤) . علاقة التحولات بين مركبات أشباه الفلافون ويلاحظ أن جزء من حلقة B لم يرسم (لتوفير المساحة) ، ولا حظ اختلاف ترقيم الحلقة في الشالكون.

المصدر : http://www.herbalchem.net/index.html

تتمثل أهمية هذه المركبات في أوراق النباتات (خاصة إذا وجدت في خلايا البشرة) في كونها توقف الأشعة فوق البنفسجية القصيرة ذات التأثير المدمر على الأحماض النووية والبروتينات وتسمح بمرور الضوء في المنطقة الزرقاء والحمراء من الطيف المرئي (وهي المهمة في البناء الضوئي).

تذكر مراجعة لهذه المركبات أن هناك نحو ٣٠٠٠ مركب معروفة في المملكة النباتية (Kuhnau, 1976) . لكن مراجعة أخرى (Harborne and Baxter, 1999) أدرجت ٦٤٦٧ من المركبات أشباه الفلافون والصيغة والتركيب الكيميائي ومراجع نشاط هذه المركبات الأحيائي . هناك أنماط مختلفة من الروابط بين أشباه الفلافونات وبقية جزيء الجلوكوز مما يجعل مشتقاتها عديدة.

تصنف هذه المركبات إلى عدد من المجاميع طبقا لخاصية محددة كالوظيفة المتوقعة أو التركيب أو غير ذلك لكن الأساس هو نمط الإحلال في الحلقة C وموقع الحلقة B . وعلى سبيل المثال ، تصنف أشباه الفلافون (Narayana, *et.al.* 2001) طبقا لموقع المجاميع المرتبطة بالمركب الأصلي (الهيكل الأساسي وهو نواة الفلافان flavan-nucleus) إلى ست مجاميع ، لكن طبقا لتحوير الحلقة الوسطى (Schijlen, *et. al.*, 2004) فتصنف إلى خمس مجموعات. وقد تصنف هذه المركبات (أشباه الفلافون) بشكل عام (Nijveldt, et. al. 2001) وعند دراسة آلية التأثير لمركبات أشباه الفلافون فتصنف إلى أربع مجاميع رئيسية . وبالنظر إلى خاصية تركيبية مثل عدم وجود ذرة أكسيجن في موقع معين أو وجود الهيدروكسيل فتصنف إلى ثمان مجاميع (Kuhnau, 1976) وللمقارنة انظر الجدول رقم (٤,١) .

الجدول رقم (٤,١) . تصنيف أشباه الفلافون

The Photochemistry of Herbs*** (Lisa Ganora 2005)	Kühnau J.(1976)	Narayana, et.al. 2001	Schijlen, et. al., 2004	Nijveldt, et. al. 2001
الأنثوسيانيدينات** anthocyanidins	الفلافون* flavones	الفلافونولات flavonols	الفلافانولات flavanones	الفلافون Flavones
الأنثوسيانينات** Anthocyanins	الفلافانونات* flavanones	الفلافونونات flavonones	أشباه الفلافون isoflavones	الفلافونون Flavanones
الأورونات Aurones	الأيزوفلافونات* isoflavones	الفلافونات flavones	الفلافونات flavones	الكاتيكينات[1] Catechins
الشالكونات Chalcones	النيوفلافونات* neoflavones	الفلافانولات flavanols	الفلافونولات flavonols	الأنثوسيانينات[2] Anthocyanins
الفلافانولات Flavanols	الفلافونولات** flavonols	الفلافان-٣-أولات flavan-3-ols	الفلافانولات flavanols	
الفلافانونات* Flavanones	الأنثوسيانينات** anthocyanins	أشباه الفلافونات isoflavones		
الفلافونات Flavones	الفلافان ٣،٤- دايئولات** flavan-3,4-diols			
الفلافونولات** Flavonols	الفلافان-٣-أولات** flavan-3-ols			
أشباه الفلافونات Isoflavones				
البروأنثوسيانيدينات** Proanthocyanidins				

[1] catechins (flavan-3-ols)

[2] في وجود السكر مع الصبغة ولكن بدون سكر يطلق عليها Anthocyanidins

* عبارة عن 3-deoxyflavonoids

** عبارة عن 3-hydroxyflavonoids

*** http://www.herbalchem.net/PhenolicsInterm.htm

على أية حال ، فإن تركيب (C_6-C_3-C_6) عام لأشباه الفلافون ، فإذا شغل الموقع C_3 من الشكل رقم (٤,٢) بمجموعة هيدروكسيلية فتسمى المجموعة حينئذ بمركبات ٣-هيدروكسي أشباه الفلافون 3-hydroxyflavonoids (مثل الفلافونولات

flavonols والأنثوسيانينات anthocyanins والفلافان ٣-٤ ثنائي الكحول flavan-3,4-diols والفلافان أحادي الكحول flavan-3-ols) ، وعندما لا يرتبط به مجموعة الهيدروكسيل فيطلق عليها مركبات ٣-أشباه الفلافون ناقصة ذرة الأكسجين flavones (مثل الفلافونات flavones والفلافانونات flavanones والأيزوفلافونات isoflavones والنيوفلافونات neoflavones) ، (Häkkinen, 2000).

وفي تصنيف سابق مع ذكر للأهمية الحيوية وعدد المركبات المعروفة آنذاك انظر الجدول رقم (٤,٢) .

الجدول رقم (٤,٢). معظم المجاميع الرئيسية المهمة لأشباه الفلافون وأهميتها الأحيائية .

المجموعة	عدد المركبات المعروفة	الدور الأحيائي
الأنثوسيانيات anthocyanin(s)	250	صبغات زرقاء وحمراء
الشالكونات chalcons	60	صبغات صفراء
الأورونات aurones	20	صبغات صفراء
الفلافونات flavones	350	صبغات الأصفر الشاحب
الفلافونولات flavonols	350	صد الآكلات ؟ للأوراق
ثنائي هيدروجين الشالكونات dihydrochalcons	10	بعضها مر المذاق
البروأنثوسيانيدينات proanthocyanidins	50	مواد قابضة ، تجعل الأنسجة تنقبض
الكاتيكينات catechins	40	بعضها ذو خواص مشابة لخواص التنينات
أشباه ثنائي الفلافون ? biflavonoids	65	؟
أشباه الأيزوفلافون isoflavonoids	15	سامة للفطريات مثل الأويستروجين oestrogen

المصدر : (Harborne, 1980)

أهمية أشباه الفلافون

إن الـدور المحتمـل لفعاليـة هـذه المركبـات (Goodwin and Mercer,1983) و (Harborne 1988) يشمل :

١- مضادة للأكسدة antioxidant .

٢- مضادة للإلتهابات anti-inflammatory .

٣- مضادة لنشاط بعض الفيروسات antiviral .

٤- وسيلة دفاعية ضد آكلات الأعشاب herbivore repelant .

٥- تنظيم نقل الأكسين regulation of auxin transport .

٦- ذات دور في التلقيح وانتشار البذور بجذب الحشرات والطيور. pollination and seed dispersal .

لكن آخرون (Schijlen, *et.al.*, 2004) يجملون الأدوار المحتملة لأشباه الفلافون كالتالي :

١- العمل كصبغات في الأزهار والثمار والبذور لجلب الملقحات والناثرات من الحيوانات .

٢- الحماية من الأشعة فوق البنفسجية .

٣- وسيلة دفاعية ضد المُمرضات من الأحياء الدقيقة .

٤- وسيلة اخصاب وانبات حبوب اللقاح .

٥- العمل كجزيئات إشارة في تفاعل النبات-الأحياء الدقيقة .

وتـضيف مراجعـة أخـرى (Forkmann and Martens, 2001) دوراً آخـر لأشـباه الفلافون وهو تنشيط إنزيمات النبات ومنها تنشيط تكوين العقد الجذرية وبالتالي تنشيط نمو النبات.

ونظراً لأن أشباه الفلافون متوافرة في عدد كبير من الثمار والخضراوات فإن هذه المركبات مهمة من ناحية تكامل الغذاء البشري. بصورة عامة تعد هذه المركبات بالإضافة إلى الفلافانولات Flavanols و الأنثوسيانينات Anthocyanins و البروأنثوسيانيدينات Proanthocyanidins من المركبات المضادة للأكسدة والأكثر توافراً في الوجبة الغذائية. فالألوان الزاهية في بعض الثمار والخضراوات مثل عنب الدب blueberries و العليق blackberries والفراولة strawberries والباذنجان eggplant تدل على وفرة هذه المركبات . من المصادر الأخرى المميزة لهذه المركبات البصل والثوم وبودرة الكاكاو.

من هنا فقد تزايد الإهتمام بتأثير أشباه الفلافون على الصحة العامة، فبالإضافة إلى نشاط هذه المركبات كمضادات للأكسدة (وهو أمر مطلوب صحياً) فهناك احتمال لتأثير بعض هذه المركبات الجانبي ومدى الخطورة في أمراض الأوعية القلبية cardiovascular disease والسرطان وأمراض الشيخوخة كما تشير إليه دراسات علوم الأوبئة epidemiology.

إن قدرة هذه المركبات في التأثير جعلتها هدفاً جذاباً للهندسة الوراثية الهادفة إلى الحصول على نباتات ذات قيمة غذائية عالية. وللمزيد من المعلومات المتعلقة بذلك يمكن الاطلاع على المراجعة العامة حول استخدام الهندسة الوراثية لتحوير بناء هذه المركبات في بعض نباتات المحاصيل Schijlen, *et. al.*, 2004 مما يضيف أداة أخرى مع برامج تربية النباتات plant breeding للوصول إلى الهدف. تجدر الإشارة إلى أنه في المؤتمر الذي عقد في مينة تاكوما في ولاية واشنطن عام ٢٠٠٦م (2006 Northwest Naturopathic Physicians Conference in Tacoma, Wash.) للمهتمين بمثل هذه المركبات ودورها، حدد أحد المحاضرين المميزين وهي الدكتورة نيتا بيشوب Nita Bishop دور هذه المركبات في مضادة الأكسدة باقتناص أنواع الأكسجين الفعالة ROS والناتجة من فعل الأشعة فوق البنفسجية UV وهي أكثر فاعلية من مضادات الأكسدة الأخرى مثل

الفيتامينات C و E وبيتا كاروتين والسيلينيوم والزنك علاوة على أنها ذات مدى أوسع وقد يكون لها تأثيرات أخرى في الكائن الحي انظر (Harborne and Williams, 2000) ومقالة الملوحة ومضادات الأكسدة (Al-Whaibi, 2008) . فوق ذلك هناك ما يدل على تعاضد أشباه الفلافون مع الفيتامينات C و E . ومن تجارب مزارع الخلايا برزت أدلة جديدة تشير إلى أن العديد من تأثيرات أشباه الفلافون الأحيائية متعلقة في الحقيقة بقدرة هذه المركبات في تعديل modulation مسارات الإشارات الخلوية ؛ وبتعبير آخر فإن أشباه الفلافون قد تؤثر في مستقبلات الخلية وبالتالي في مسار الإشارة حتى الوصول إلى الحمض النووي DNA ، وبالطبع فإن مسارات تحويل الإشارة / مسارات الإشارة الخلوية تنظم العديد من العمليات الخلوية بما في ذلك النمو والتكاثر وغيرها الكثير . مع أن جميع هذه المعلومات مهمة وذات علاقة بصحة الإنسان إلا أن النتائج التي يتم التوصل إليها باستخدام المركب أو المركبات المستخلصة أو المصنعة خارج جسم الإنسان لا تمثل الواقع دائماً . عند استهلاك الفواكه والخضراوات فالإنسان يهضم خليط معقد من المركبات الفينولية حيث أن أكبر فائدة من مضادات الأكسدة تكون نتيجة للتوازن والتركيز لعديدات الفينول ومضادات الأكسدة الأخرى كما هي موجودة في المنتجات الطبيعية . انظر "أشباه الفلافون المضادة للأكسدة" على العنوان التالي : <http://www.herbalchem.net/index.html>

على أية حال مهما كان التصنيف فالمهم هو دور الثلاث مجموعات الفلافونات والفلافونولات والأنثوسيانيات وارتباطها مع مركبات أخرى من حيث أنها صبغات نباتية في الأزهار والثمار والبذور لجلب الملقحات والناثرات من الحيوانات . يعد هذا الدور مع أهمية المقترحات الأخرى كأدوار من أفضل الأدوار الرئيسية الثابتة لهذه المركبات (Harborne and Williams, 2000; Salisbury and Ross, 1992) .

صبغات الأزهار والثمار

يساهم العديد من المركبات في تكوين ألوان الأزهار والثمار ، ومن أكثر ما درس من هذه المركبات مجموعة الأنثوسيانينات anthocyanins (Forkmann 1993) . وتم

التعرف على عدد كبير آخر من المركبات يساهم في تكوين اللون في الأزهار ومنها أشباه الكاروتين carotenoids والبيتالينات betalain والشالكونات chalcons والأورونات aurones وأشباه الفلافون الصفراء yellow flavonoids والفلافون flavones والأيزوفلافون isoflavones . تساهم الأنثوسيانينات والشالكونات والأيزوفلافون أيضا في تكوين الألوان في الثمار . من الأمثلة التقليدية وأسمائها العامة والنبات الذي توجد فيه الصبغة انظر الجدول رقم (٤,٣) .

الجدول رقم (٤,٣) . بعض الأمثلة التقليدية لأسماء الصبغات المتداولة والنبات الذي توجد فيه الصبغة والمجموعة التي تنسب إليها .

المجموعة	الصبغة	النبات	المرجع
الشالكونات chalcons	كوريوبسين coreopsin	*Coreopsis tinstoria*	HARBORNE, 1980
	بيتوين Butein	*Acacia*	في الخشب** heartwood
		Coreopsis gigantean	في التويجات على هيئة جلوكوسيد**
الأورونات aurones	أوريوبسين aureusin	*Anthirrhinum majus*	HARBORNE, 1980
	Sulphuretin	*Cosmos sulphurous*	**
الفلافونات flavones	جلوكوسيد الأبيجينين apigenin-7-glucoside	*Bellis perennis*	HARBORNE, 1980
وأشباه الفلافون الصفراء yellow flavonoids	جلوكوسيد الجوسيبيتين gossypetine-7-glucoside	*Gossypium*	HARBORNE, 1980
الأيزوفلافون isoflavones	Daidzein Genistein biochanin A,	بعض البقوليات	Liu et al 2006
الفلافونولات flavonols	Kaempferol Quercetin myricetin	onion ، Grape	Park and Cha 2008

** المرجع

http://demo.ort.org.il/clickit2/files/forums/833855980/859340184.pdf

يلاحظ في الجدول السابق رقم (٤,٣) وجود بعض الصبغات في زهرة النبات على هيئة جلوكوسيد وهو في الحقيقة الوضع السائد في تكوين الألوان في الأزهار حيث توجد صبغة رئيسية للون ترتبط بها صبغات أو حتى أيونات لتغير لون الصبغة الأساسية. على سبيل المثال صبغة الديلفينيدين delphinidin من الأنثوسيانينات جلوسيدها ذو لون ضارب إلى الزرقة mauve (صبغة أساسية) ويرتبط بها جلوكوسيد فلافون (صبغة مساعدة) مما يزيح اللون إلى منطقة الأزرق كما في بعض النباتات (Harborne and Williams, 2000). في نبات *Salvia patens* من الفصيلة الشفوية حيث الصبغة المكونة للون الأزرق معقد لصبغة أساسية (الديلفينيدين) والصبغة المساعدة الأبيجينين 7,40- apigenin 3-(p-coumarylglucoside)-5-malonylglucoside, (Dp diglucoside) ، (Takeda et al., 1994) . وللمزيد من الأمثلة انظر ما ورد في الجدول رقم (٤,١) من مراجعة لأشبان الفلافون (Harborne and Williams, 2000). بالإضافة إلى الصبغات المساعدة فإن تكوين اللون النهائي للزهرة يتأثر ببعض العوامل ومنها نسبة أنواع الصبغات المشاركة في تكوين اللون ودرجة التعقيد مع الأيونات وتراص الجزيئات ووجود النشا وتواجد البروتينات المنظمة لبناء الصبغات والرقم الهيدروجيني لفجوة الخلية التي تتراكم بها الصبغة وشكل خلايا التويجيات (Mol, et al., 1998) . وبصورة عامة يتأثر تركيز المركبات الفينولية بنوع النبات وصنفه والظروف المناخية ونوع التربة والمنطقة الجغرافية (Sellappan and Akoh 2002) . ونظرا لكثرة مركبات الأنثوسيانينات وهي من أشباه الفلافون سوف تعالج في الفصل التالي.

تساهم أشباه الفلافون في تكوين الألوان في الثمار وبقية أعضاء النبات. لقد تم التعرف على جلوكوسيدات صبغات الأورون من نمط الإرتباط مثل صبغات البراكتياتين bracteatin والسلفيوريتين sulfuretin والماريتايماتين maritimetin في بعض

أجناس من كاسيات البذور مثل أجناس *Antirrhinum* و *Dahlia* و *Oxalis* و *Linaria* و *Limonium* و *Coreopsis* و *Bidens* و *Zinnia* و *et al.*, Yu, Harborne and Baxter, 1999; (2006. كما سيرد في فقرة الهندسة الوراثية فإنه قد يكون من الممكن الحصول على أصناف من هذه الأجناس التي ليس بها أزهارا صفراء بطريقة تقنية الهندسة الوراثية (Ono et al 2006). تساهم صبغات الشالكون في تلوين أزهار بعض النباتات من الفصائل النباتية ومنها الفصيلتين البقولية والمركبة مثل نبات *Cosmos* ونبات *Dahlia* ونبات *Coreopsis* ونبات *Bidens* حيث الصبغة الرئيسية هي دي أوكسي الشالكون 6′-hydroxychalcones (Bohm, 1993; Davies and Schwinn, 1997) . كشفت دراسة على ثمار التفاح *Malus domestica* Borkh. بأن الفلورتين phloretin هو ثنائي هيدروكسي الشالكون الرئيسي dihydrochalcone في هذه الثمار (Escarpa and Gonzalez, 1998). تتوافر صبغة الأبيجينين {وهي فلافون ثلاثية المجموعة الهيدروكسيلية Apigenin (5,7,4'-trihydroxyflavone)} في كثير من النباتات ؛ الأعشاب (ومنها القرنفل clove والهندباء endive) ، والثمار (مثل التفاح والكرز والعنب apples, cherries, grapes) والخضراوات [مثل الفاصوليا والقرنبيط اللارؤيسي (البروكيلي) والكرفس والثوم والبصل والشعير والمقدونس والطماطم beans, broccoli, celery, leeks, onions, barley, parsley, tomatoes] والمرطبات (الشاي والنبيذ tea, wine) (Afaq and Mukhtar, 2002; Svobodova, *et al.*, 2003).

تشكل صبغة حمراء مستخلصة من سيقان نبات الذرة الرفيعة *Sorghum bicolor* (L.) Moench subsp, *americanum caudatum* نحو ٢٠٪ من مجموع الأصباغ وتحوي كيميائياً كل من الأنثوسيانيدين : أبيجينيدين apigeninidin وإثنان من أشباه الفلافون : ليوتيولين luteolin والأبيجينين apigenin (Rey, *et al.*, 1993) .

تتميز الفلافونولات (مثل كيمبفيرول Kaempferol والكورسيتين Quercetin والمايريستين myricetin) بكونها شحيحة الذوبان وصفراء باهتة ولكنها موجودة في أزهار وثمار وأوراق نحو ٨٠٪ في الأقل من النباتات الزهرية (Kühnau 1976) .

تحوير ألوان الزهرة بتقنية الهندسة الوراثية

من أهم الصفات الأساسية في علوم البساتين Horticulture لون الزهرة وطرق تربية النباتات التقليدية قد أستغلت إستغلالاً واسعاً للوصول إلى أصناف زراعية ذات أزهار ملونة ومتباينة (Hanumappa, *et al.*, 2007). تاريخياً منذ أكثر من ١٥٠ عاماً رصدت جمعيتي علوم البساتين في إنجلترا وبلجيكا جائزة لأول شخص ينتج وردا بأزهار زرقاء حيث توصلت شركتان (شركة فلوريجين .Florigene Ltd وشركة سنتوري .Suntory Ltd) إلى ذلك عام ٢٠٠٥م باستخدام ثلاثة مورثات لم يكشف عن تفاصيلها (Yu, *et al.*, 2006) الشكل رقم (٤,٥) .

الشكل رقم (٤,٥). زهرة الورد الزرقاء إلى اليسار والقرنفل الأرجواني إلى اليمين وهي محصلة تحوير ألوان الزهور بالتقنية الحيوية .

المصدر : عن (Yu, *et al.*, 2006)

لقد كان لهذا العرض أثراً كبيراً في الأوساط العلمية حيث نتج عن ذلك من الناحية الأكاديمية نشاط كبير في دراسة أشباه الفلافون . توافرت خلال هذه الفترة معلومات قيمة مثل تعريف مورثات أشباه الفلافون وحددت تقريبا جميع الإنزيمات الداخلة في مسار بناء أشباه الفلافون وقد تم تنسيل وتشخيص عدد كبير من مورثات أشباه الفلافون والمورثات المسئولة عن تحويرها (Forkmann and Martens, 2001).

وباستخدام الهندسة الوراثية الأيضية (تعديل المسار) لمسار بناء الصبغات (معالجة تنشيط أو تثبيط المورثات أو إضافتها) يمكن الحصول على أزهار بألوان جديدة لم يكن ممكناً الحصول عليها باستخدام تربية النباتات التقليدية (Ono et al 2006) . لقد جرب ذلك، فأزهار القرنفل carnation ذات الألوان الزرقاء والبنفسجية تباع في الأسواق وتم التوصل إلى ورد rose ذي أزهار زرقاء (Tanaka, *et al.*, 2005). وفي دراسة على الأزهار الصفراء لوجود صبغات الأوريون (aureusisin و bracteatin) في نبات حنك السبع *Antirrhinum majus* من الفصيلة السكروفيولارية Scrophulariaceae توصل الباحثون إلى معرفة أساسيات مسار بناء هذه الصبغات (Ono et al 2006). إن مثل هذه النتيجة تتيح هندسة مسار تكوين الصبغات الصفراء في غالبية نباتات الزينة المهمة التي لم يعرف لها أصناف تكون أزهاراً صفراء مثل نبات الجيرانيوم geranium و البسلة الحلوة sweet pea و سايكلامن cyclamen و saintpaulia و morning glory. من وسائل استخدام هندسة الأيض الناجحة لتكوين أزهار صفراء ثابتة الصبغة ما نشر عن إدخال المورث CHR cDNA (و CHR اختصار لإنزيم مختزل الشالكون) من نبات البرسيم *Medicago sativa* في نبات البتونيا *Petunia axillaris* X (*P. axillaris X P. hybrida*) لتوجيه بناء أشباه الفلافون لتكوين أنماط صبغة الشالكون الثابتة والجديدة في هذا النوع

ومنها جلوكوسيد البيوتين butein 4-*O*-glucoside، وهي وسيلة بديلة تفتح المجال للتحكم في خفض نسب الصبغات الأخرى (Davies, *et al.*, 1998).

يُعد لون الزهرة من أهم خصائص محاصيل علم الأزهار ولآن النوع *Nierembergia* sp. من الأنواع الشائعة كمحصول ولكون هذا النوع يتميز بأزهار بيضاء وبنفسجية ويفتقر إلى بقية الألوان من الأرجواني إلى الأحمر، فقد تمت محاولة هندسته أيضياً بتنسيل المورثات التي تشفر لإنزيمات مسار البناء من الحمض النووي cDNAs (Ueyama, *et al.*, 2006). تشير نتائج هذه الهندسة إلى أن النبات يحوي صبغات الأنثوسيانين والتي أساسها الديلفينيدين علاوة على فلافونولات flavonols. كما تشير النتائج أيضاً إلى أن تعبير المورثات منظم ومتوازياً مع تراكم الأنثوسيانينات في التويجات، ولكن لون الزهرة المهندسة أيضياً تغير من اللون البنفسجي إلى اللون الأبيض بدلاً من إعطاء اللون المائل للإحمرار وقد يكون ذلك إستثنائي.

ومن الجدير بالذكر أن تكوين الأزهار والثمار ذات الألوان الصفراء كما هو موجود في بعض النباتات مثل نبات *Chrysanthemum* والزنبق *Tulipa* والطماطم *Lycopersicum* ليس محصوراً على وجود أشباه الفلافون بل تساهم فيه أشباه الكاروتين التي لا تذوب في الماء بل تتراكم في البلاستيدات ، ولهذا فهي مختلفة لكن قد يكون هناك إمكانية لهندستها وراثياً (Giovanni, et al., 1993; Ono, *et al.*, 2006) .

طرق التعرف على أشباه الفلافون

يمكن التعرف على وجود مركبات أشباه الفلافون كيفياً باستخدام طريقة الكشف على أساس أنها مشتقة من الفينولات أي أنه يمكن الكشف عن المركبات الفينولية بالطرق اللونية ولكن الفصل اللوني الورقي أكثر شيوعاً لتمييز المجموعات.

والمثل على ذلك تقدر الفينولات الكلية بالاعتماد على تكوين معقد مع الكاشف، كالطريقة التي أوردها أمورم وآخرون (Amorim, et. al. 1977).

لقد سادت طرق الفصل اللوني الورقي Paper Chromatography في العقدين الخامس والسادس من القرن الماضي ولكن الفصل اللوني على الطبقات الرقيقة Thin Layer Chromatography (TLC) لا يزال شائعاً للفصل التحضيري (Lee and Widmer 1996) وكطريقة سريعة وقليلة التكاليف لتحديد مجموعة أشباه الفلافون الموجودة في مستخلص الثمار (Fernández de Simón et al. 1992) والعسل (Sabatier et al. 1992).

لقد استخدت طريقة الفصل اللوني بطريقة السائل- غاز Gas Liquid Chromatography (GLC) قليلا لكن طريقة الفصل اللوني ذو الكفاءة العالية High Performance Liquid Chromatography (HPLC) استخدمت كثيراً في تحليل مركبات أشباه الفلافون خلال العشرين سنة الماضية (Merken and Beecher 2000) خاصة في مستخلصات الأغذية لعدة أسباب منها :

١- تحسن الإظهار في خليط المركبات مقارنة بالطرق الأخرى.

٢- الحصول على معلومات كيفية وبيانات كمية دقيقة في عملية واحدة .

٣- سرعة التحليل .

هناك عدد من الخيارات لتقدير مركبات الأيزوفلافون الشائعة في الفصيلة البقولية Fabaceae لكن أكثرها شيوعاً هي استخدام طريقة الفصل اللوني ذو الكفاءة العالية HPLC كما ذكر في إحدى المراجعات (Grynkiewicz, *et al*., 2005).