Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
سال دوازدهم ـ شماره دوم ـ خرداد - تیر ۱۳۸٤
www.magiran.com/jasnr

تعیین میزان و پراکنش دیوزژنین و ساپونین درگیاه تمیس *(Tamus Communis L.)* و ارتباط آنها با ترکیبات قندی

غلامرضا حدادچی[1] و زهره مرادی[2]

[1]عضو هیأت علمی، [2]دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۲/۱۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/۹/٤

چکیده

دیوزژنین به‌عنوان ماده اولیه کاربرد گسترده‌ای در تولید نیمه‌سنتیتک داروهای استروئیدی دارد. این ماده بطور عمده از ریزوم گیاهانی از تیره دیوسکوراسه که در مناطق جنگلی می‌رویند همچون دیورسکورا کمپوزیتا، دیوسکورا فلوریبوندا، دیوسکورا دلتوئیدا و گونه‌هایی از تاموس به‌دست آمده است. گونه تاموس‌کومونیس هم به‌عنوان منبعی از این ترکیبات ساپوژنینی گزارش شده است. در این پژوهش، گیاه مذکور که در نواحی جنگلی شمال ایران موسوم به تمیس و یا رزک است از ناحیه‌ای موسوم به افراتخته (شهرعلی‌آباد، استان گلستان با طول شرقی ٥٤ درجه و٥٨ دقیقه و عرض شمالی٣٦ درجه و ٥٣ دقیقه و٢٠ ثانیه) جمع‌آوری شده است. بخش‌هایی از گیاه که جهت استخراج ترکیبات ساپونین و دیوزژنین مورد استفاده قرار گرفتند عبارت بودند: از ریزوم، برگ و میوه. پس از هیدرولیز اسیدی نمونه‌ها، عمل استخراج توسط کلروفرم صورت گرفت. جهت هیدرولیز اسیدی، سه روش مورد استفاده قرار گرفت، که در بین آنها، روش C (اسید سولفوریک در ایزوپروپانول) مقدار بیشتری از دیوزژنین را به‌دست داد. میانگین داده‌ها در سطح ۱ درصد نشان داد مقدار ساپوژنین و دیوزژنین در ریزوم بیشتر از اعضاء دیگر است. در بررسی مربوط به شناسایی نوع قند متصل به دیوزژنین، کرماتوگرافی از نوع TLC و معرف‌ها نشان داد که در برگ و ساقه، قندهای هگزز و پنتوز وجود دارد. ولی در ریزوم و میوه پنتوز وجود نداشته و تنها هگزز است. در ضمن در ریزوم مقادیر قندهای محلول و نامحلول بیش از بخش‌های دیگر است.

واژه‌های کلیدی : گیاه رزک (تمیس)، دیوزژنین، ساپونین، قند

مقدمه

امروزه متابولیت‌های ثانوی گیاهی جایگاه رفیعی را در صنایع داروسازی احراز کرده و بسیاری از داروهای سنتیک براساس فرمول ساختاری آنها تولید می‌شوند. دیوزژنین که یک نوع سایونین استروئیدی است، ماده اولیه اصلی برای تولید هورمون‌های استروئیدی از قبیل پروژسترون است که در تهیه داروهای ضدبارداری از آن استفاده می‌شود.به‌علت ساختمان پیچیده این ترکیبات دارویی و نیز دشوار و پرهزینه بودن ساخت مستقیم صنعتی آنها، متخصصین مربوطه هسته اولیه این مواد را از گیاهانی همچون دیوسکورا استخراج می‌نمایند.

تیره تمیس با داشتن گونه‌ها و ارقام متعدد یکی از منابع مهم برای استخراج ساپونین‌های استروئیدی بخصوص دیوزژنین می‌باشد (باکو و همکاران، ۱۹۷۷). از این تیره در ایران تنها جنس تمیس گزارش شده است (قهرمان، ۱۳۷۳). از اسامی انگلیسی این گیاه می‌توان Black Bryony و Black eye را

www.SID.ir

Archive of SID

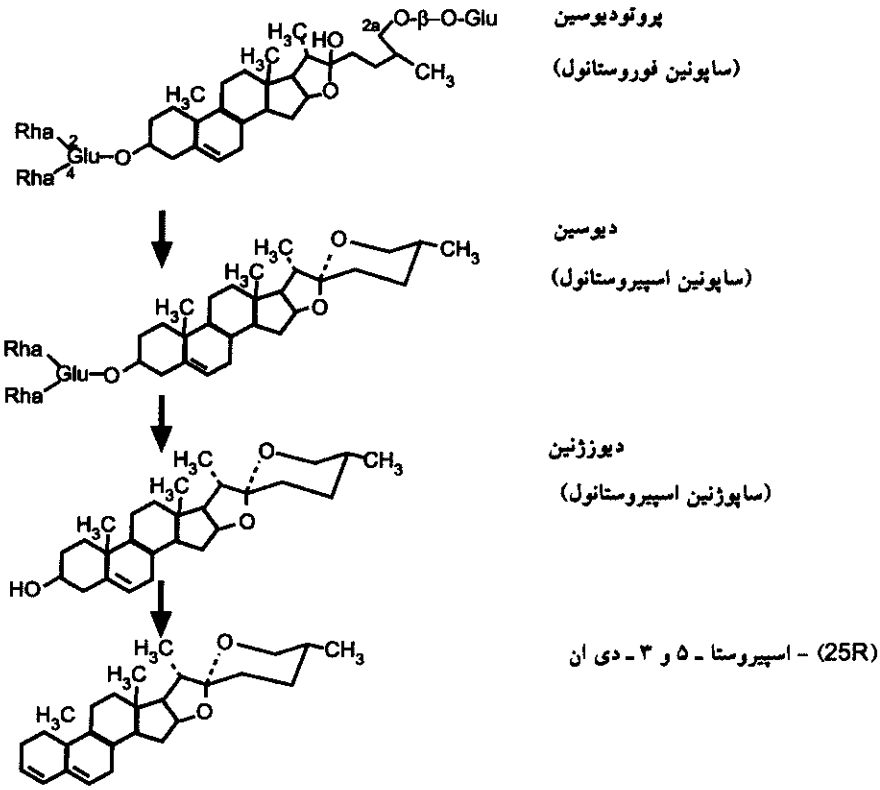
نام برد. تمیس (رزک) گیاهی است علفی با ساقه بالارونده تا حدود سه متر، تک جنسی، دوپایه، چندساله با ریزوم قوی و ضخیم و ساقه‌های پیچان (قهرمان، ۱۳۷۳) شکل (۱). گیاه تمیس جزء گیاهان سمی طبقه‌بندی شده که میزان سم موجود در میوه و ریزوم نسبت به برگ و ساقه بیشتر است. این مواد سمی بطور عمده از ساپونین‌ها بوده که دو نوع مهم آن دیوسین و گراسیلین است (دراپو و همکاران، ۱۹۸۶). از بخش غیرقندی ملکول ساپونین می‌توان، ساپوژنین را نام برد. قندهایی که معمولاً در ساختمان ساپونین‌ها به‌کار می‌روند عبارتند از: آرابینوز، گالاکتوز، گلوکوز، رامنوز، گزیلوز، گالاکتورونیک اسید و گلوکورونیک اسید (نیک‌نام، ۱۳۷۱ و آمینودین، ۱۹۸۳). در گیاه مشهور *Dioscorea deltoidea* نوعی ساپونین موسوم به دیوسین وجود دارد که قندهای موجود در آن عبارتند از یک ملکول گلوکوز و دو ملکول رامنوز. از این ترکیب پس از هیدرولیز، ملکول‌های قند جداشده و دیوژنین به‌دست می‌آید (دراپو و همکاران، ۱۹۸۶). ساپونین‌ها از یک ترکیب هیدروکربوری دارای ۳۰ اتم کربن بنام اسکوالن تشکیل شده که این خود از اسید موالونیک تشکیل می‌شود. اسید موالونیک نیز طی چندین مرحله از استیل کوآنزیم A ایجاد می‌شود (دی و هاربورن، ۱۹۹۷). ساپونین‌ها معمولاً به دو شکل فوروستانولی و اسپیروستانولی یافت می‌شوند. در گیاه دیوسکورا شکل فوروستانولی در محل هیدروکسیل ۲۶ دارای یک اتصال گلیکوزیدی با β-D- گلوکوز است. این ترکیب در واقع پروتودیوسین است که از هیدرولیز آن قند مذکور جدا شده و دیوسین به‌وجود می‌آید که شکل اسپیروستانول ساپونین است و از هیدرولیز قندی این ترکیب، سه ملکول دیگر قند جدا شده و دیوژنین به‌دست می‌آید (شکل ۲) (دراپو و همکاران، ۱۹۸۶).

در این تحقیق بر آن شدیم مشخص نمائیم که آیا گیاه *Tamus communis* بومی ایران که موسوم به تمیس یا رزک است، چنانچه دارای ترکیباتی همچون دیوسین و دیوژنین است، به چه مقدار بوده و در کدام عضو گیاه بیشتر است. در ضمن از بین روش‌های هیدرولیز قندی متفاوتی که دراپو و همکاران (۱۹۸۶) برروی ساپونین‌های مولد دیوژنین در گیاه *Dioscorea deltioidea* انجام داده‌اند تا بالاترین مقدار دیوژنین را به‌دست آورند، نوعی را برگزینیم که در این گیاه هم بالاترین بیلان را داشته باشد. علاوه برآن تا حدودی مشخص نمائیم که قندهای متصل به دیوژنین که می‌بایست از آن جدا شوند از چه گروهی‌اند.

شکل ۱- گیاه تمیس(Tamus communis).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- ساختمان‌های متفاوت پروتودیوسین، دیوسین، دیوزژنین و 25R – اسپیروستا – ۵و۳ – دی ان.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه تمیس در دو نوبت صورت گرفت. نوبت اول در اواسط بهار جهت جمع‌آوری بخش‌های هوایی و ریزوم و نوبت دوم در اواخر تابستان به‌منظور جمع‌آوری میوه آن. محل جمع‌آوری استان گلستان، ۲۵ کیلومتری جنوب شرقی محور علی‌آباد به آزادشهر، منطقه‌ای موسوم به افراتخته و ایستگاه تمیزچال بوده است. جهت اطمینان از مشخصات گیاه تمیس از هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی استفاده شد. بعد از تعیین وزن‌تر بخش‌های مختلف، جهت تعیین وزن خشک از آون با دمای ٤٠ درجه‌سانتی‌گراد استفاده گردید و آنگاه به‌صورت پودر در آورده شد. اندازه‌گیری قندها به روش پارک و جانسون (١٩٤٩) انجام پذیرفت. قندها با استفاده از کرماتوگرافی با لایه نازک آنها شناسایی شد. در این روش سیستم حلال از بوتانول، اسید استیک، اتر و آب مقطر به نسبت‌های ۹، ۳، ٦ و ۹ و معرف نفتورزورسینول ۲ درصد در بوتانول واجد اسیدفسفریک ۱۰ درصد بوده است.

استخراج ساپونین‌های استروئیدی هم براساس تجربیات آمینودین و چاودهری (۱۹۸۳) بوده است. مطابق این روش، رنگیزه کلروفیل در نمونه‌های ساقه و برگ توسط کلروفرم جدا شد و آنگاه نمونه‌های خشک شده پس از توزین به مدت ۲ ساعت و توسط اسید سولفوریک ۷ درصد، رفلاکس شدند. پس از سرد شدن و شستشو با آب مقطر و صاف نمودن با کاغذ صافی خشک شده و با حلال کلرفرم، به مدت ٢٤ ساعت در سوکسله قرار داده شده و عصاره کلرفرمی به‌دست آمد و آنگاه توسط دستگاه روتواواپوراتور تغلیظ شد.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری ساپونین‌های استروئیدی با روش لامبرت و باکو (۱۹۷۷) انجام پذیرفت.

شناسایی دیوزژنین توسط کرماتوگرافی با لایه نازک انجام شد (آکینو، ۱۹۸٦ و کاول، ۱۹٦۸). در روش اول از سیستم حلالی n - هگزان- استن با نسبت ۲۰: ۸۰ و معرف اسیدسولفوریک ۵۰ درصد و در روش دوم ؛ سیستم حلالی بنزن- اتیل استات به نسبت ۳ : ۱ و معرف آنیزالدئید - اسیدسولفوریک - اسیداستیک به نسبت ۵۰ : ۲ : ۱ استفاده شد. اسیدسولفوریک با دیوزژنین رنگ گلبهی می‌دهد و معرف آنیزالدئید رنگ زرد مایل به سبز ایجاد می‌کند.

اندازه‌گیری میزان دیوزژنین به‌روش سوتو و سانچز (۱۹۷۲) انجام گرفت. صد میکرولیتر از عصاره استخراج شده و ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه استاندارد دیوزژنین با غلظت یک میکروگرم در میلی‌لیتر برروی پلیت سیلیکاژل نمونه‌گذاری شد. برای کرماتوگرافی از سیستم حلال n- هگزان و استن به نسبت ۸۰ و ۲۰ استفاده شد. پس از انجام کرماتوگرافی، پلیت‌ها در حمام ید قرار داده شد و منطقه مربوط به دیوزژنین علامت‌گذاری گردیدند. جهت حذف ید، پلیت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در آون ۱۰۰ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آن منطقه مربوط به نمونه تراشیده و در لوله آزمایش ریخته شد و به آن ۵ میلی‌لیتر متانول اضافه گردید و پس از بهم زدن در ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول حاصل در بن‌ماری جوش قرار داده شد تا پس از تبخیر، دیوزژنین در ته لوله آزمایش باقی بماند. جهت تعیین مقدار دیوزژنین به لوله سرد شده محتوی آن، ٤ میلی‌لیتر محلول اسیدسولفوریک غلیظ- متانول به نسبت ۲۰ : ۸۰ اضافه شد و پس از بهم زدن کامل و بعد از ۲ ساعت مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu مدل A 160) در طول موج ٤۰٦ نانومتر تعیین و آنگاه از نمودار استاندارد دیوزژنین خالص استفاده شد.

مطابق بررسی‌های دراپو و همکاران (۱۹۸٦) که در آن سه روش هیدرولیز قندی ترکیبات ساپونینی حاصل از کشت سلول «دیوسکورا دلتوئیدا» جهت به‌دست آوردن بالاترین مقدار دیوزژنین عمل شده بود. برروی ریزوم گیاه تمیس هم آزمایش گردید. در این تجربه در روش A از اسیدکلرئیدریک ۲ نرمال و رفلاکس حرارتی پودر ریزوم به مدت ۲ ساعت، در B از اسیدکلرئیدریک ۳ نرمال و ۸۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت سه ساعت و در روش C از اسید سولفوریک ۲ نرمال در ایزوپروپانول ۷۰درصد و به مدت ۸ ساعت رفلاکس، استفاده شد.

نتایج و بحث

وجود دیوزژنین با استفاده از معرف اسیدسولفوریک که در TLC مربوط به عصاره ساپوژنینی ریزوم در کنار دیوزژنین خالص کرماتوگرافی شده بود با رنگ گلبهی لکه مربوطه و با آنیزالدئید به رنگ زرد متمایل به سبز مشخص گردید (شکل‌های ٤ و۳). در تعیین مقدار ساپونین‌های استروئیدی که در بخش‌های مختلف گیاه و در سه تکرار انجام شده بود، مشخص گردید در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد که بیشترین مقدار مربوط به ریزوم است و ۰/۷٦ درصد وزن خشک بوده و در برگ و ساقه کمترین مقدار است. در این خصوص تال و همکاران (۱۹۸۳) مقدار ساپونین‌های استروئیدی را در برخی جنس‌های دیگر تیره تاموس نزدیک به ۲ درصد گزارش نموده‌اند. مقدار دیوزژنین که تنها در ریزوم گیاه تمیس به‌دست آمد معادل ۰/۰۳۷ درصد وزن خشک است. در این ارتباط گیاه «دیوسکورا باربازا» که مشهور به Yam مکزیکی وحشی است، بالاترین مقدار دیوزژنین یعنی ۵ درصد وزن خشک را دارا می‌باشد، بدین لحاظ است که مکزیک را به‌عنوان مرکز جهان برای تولید هورمون‌های استروئیدی می‌دانند. در خصوص گیاه

www.SID.ir

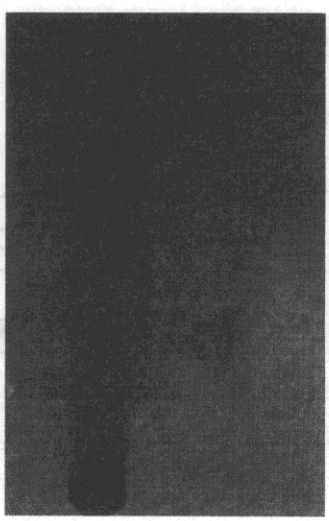
Archive of SID

«دیوسکورا دلتوئیدا» با استفاده از کشت بافت و اضافه نمودن ترکیباتی همچون کولسترول به‌عنوان محرک تولید دیوزژنین مقدار آنرا به ۳/۸ درصد وزن خشک رسانده‌اند (سارما، ۱۹۸٤).

طی بررسی‌هایی که در گیاه «دیوسکورا دلتوئیدا» صورت گرفته است، مشخص گردید ترکیبات ساپونینی آن به‌صورت فوروستانول و اسپیروستانول بوده که بعد از هیدرولیز، بخش‌های قندی آن جدا شده و تبدیل به دیوزژنین می‌شوند. سه روش هیدرولیز A, B, C که از آن نام برده شد برروی مجموعه سلولی حاصل از کشت بافت گیاه مذکور انجام شد و در روش C بالاترین مقدار دیوزژنین به‌دست آمد، در این تجربه پودر ریزوم مطابق این روش بالاترین مقدار دیوزژنین با روش C بوده است (شکل‌های ٦ و ۷). در ضمن ساپونین‌های استروئیدی در ریزوم نیز بالاترین مقدار را نشان داد (شکل۹ و جدول ۱).

در ارتباط با بالابودن بیلان دیوزژنین در روش C، مطابق تحقیقات (دراپو، ۱۹۸٦) مشخص شده است که مراحل هیدرولیز قندی به‌صورت پروتودیوسین (ساپونین فوروستانول) ← دیوسین (ساپونین اسپیروستانول) ← دیوزژنین (ساپوژنین اسپیروستاتول) است و در نهایت از دیوزژنین ترکیب (25R) - اسپیروستا - ۳، ۵ دی ان به وجود می‌آید. مطابق شکل ۲، در حالت فوروستاتول قند گلوکوز در موقعیت C_{26} و در اسپیروستانول در موقعیت ۳ است. به هنگام هیدرولیز قندی در فوروستانول می‌بایست قندها از موقعیت‌های ۲٦ و ۳ جدا شوند و در اسپیروستانول در موقعیت ۳ و حلقه‌ای شدن حلقه F این عمل انجام شود. در هیدرولیز اسیدی با HCl (روش‌های A و B) ترکیبات فوروستانول و اسپیروستانول می‌توانند به دیوزژنین تبدیل شوند که بالطبع در قیاس با اینکه فقط فورستانول باشد میزان دیوزژنین پائین‌تر خواهد بود (کریوساوا و همکاران، ۱۹۸٦). محققین دیگری همچون (پاس‌شنی‌چنک، ۱۹۷۳) گزارش نموده‌اند. از ساپونین‌های اسپیروستانولی به میزان ۹۲-۸۵ درصد و از فوروستانولی به مقدار ۷۰-٦۰ درصد، دیوزژنین به‌دست می‌آید. در نهایت دراپو این استدلال را دارد که در روش C که اسیدسولفوریک و ایزوپروپانول وجود دارد توانایی تولید دیوزژنین از فوروستانول بالا می‌رود. در ضمن در این تجربه مشخص گردید چنانچه هیدرولیز طولانی شود ترکیب اسپیروستا-۳ و ۵ دی آن هم به‌وجود می‌آید (شکل ۱۱).

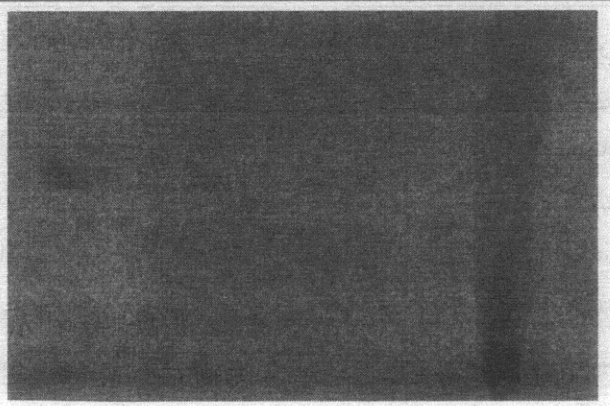
در این تحقیق بالاترین مقدار دیوزژنین در ریزوم در روش C به میزان ۰/۰۳٤ گرم بر صد گرم وزن خشک بوده است. درخصوص قندها، ساپونین‌ها از یک بخش قندی و یک آگلیکون استروئیدی تشکیل شده‌اند (نیک‌نام، ۱۳۷۱ ؛ آمینودین، ۱۹۸۳).



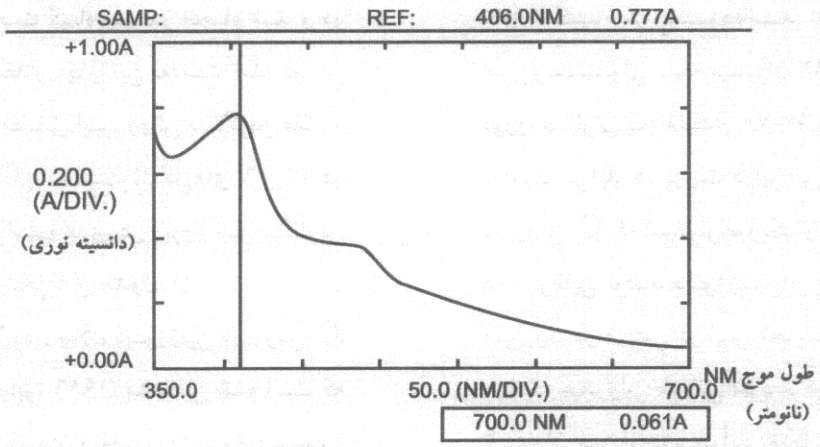
شکل ۳- معرف آنیزالدئید که دیوزژنین را مشخص نموده است سمت راست دیوزژنین استاندارد است. سمت چپ نمونه ریزوم است.

www.SID.ir

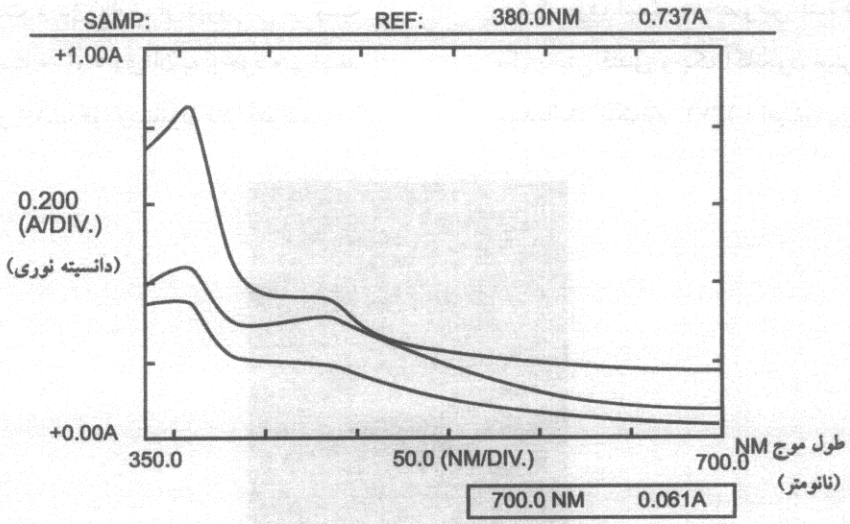
Archive of SID



شکل ٤- معرف اسید سولفوریک که دیوزژنین را مشخص نموده است. لکه‌های سمت چپ دو غلظت از دیوزژنین استاندارد است. سمت راست مربوط به ریزوم است.



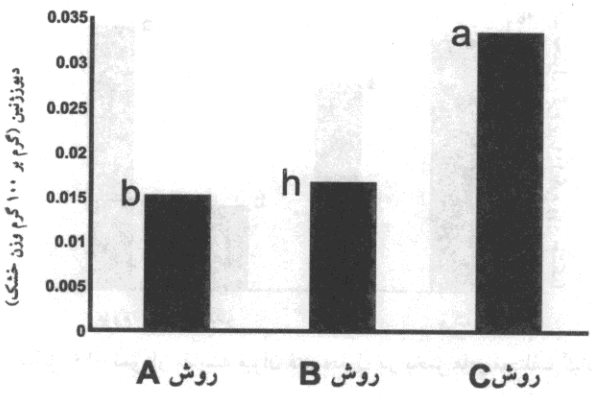
شکل ٥- طیف مربوط به اندازه‌گیری میزان دیوزژنین در نمونه ریزوم در روش C. میزان جذب در طول موج ٤٠٦ نانومتر ٠/٧٨ می‌باشد.



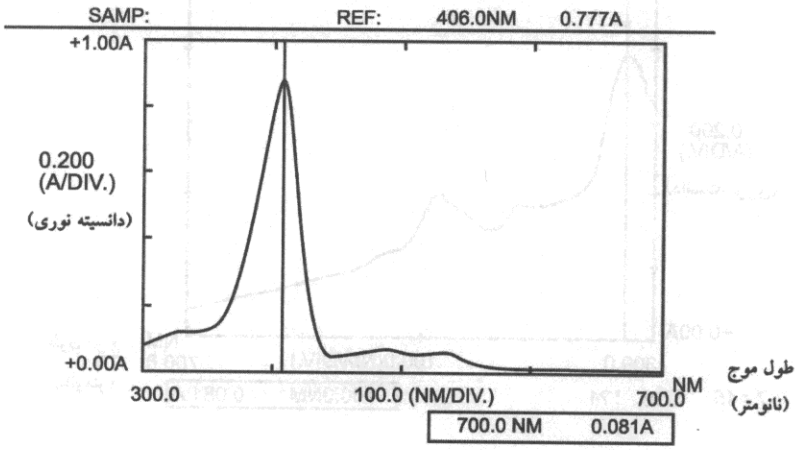
شکل ٦- مقایسه طیف‌های مربوط به اندازه‌گیری دیوزژنین در سه هیدرولیز C, B, A در ریزوم گیاه. طیف پایین مربوط به‌روش A، طیف وسط مربوط به روش B و طیف بالا مربوط بـــه روش C می‌باشد.

www.SID.ir

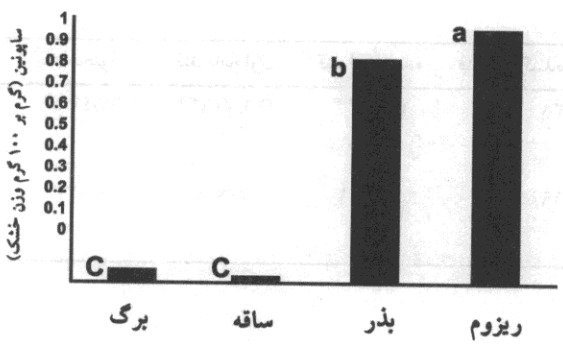
Archive of SID



شکل ۷- نمودار مقایسه میزان دیوزژنین با سه روش هیدرولیز متفاوت در ریزوم گیاه.



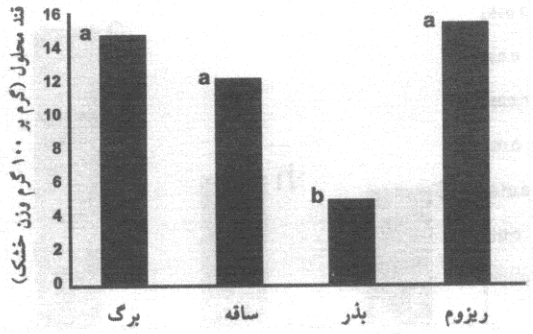
شکل ۸- طیف مربوط به نمونه استاندارد دیوزژنین، مشاهده می‌شود که حداکثر جذب در طول موج ٤٠٦ نانومتر می باشد.



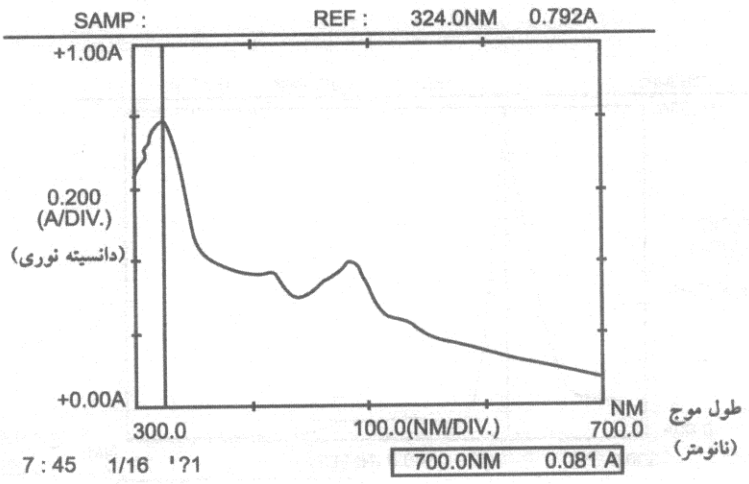
شکل ۹ – نمودار مقایسه میزان ساپونین در بخشهای مختلف گیاه.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۰- نمودار مقایسه میزان قندمحلول در بخش‌های مختلف گیاه.



شکل۱۱- طیف مربوط به نمونه استاندارد دیوزژنین پس از۴۸ ساعت. پس از گذشت زمان اولاً قله مربوط به دیوزژنین پایین‌ترآمده، ثانیاً از ٤٠٦ به ٤١٩ نانومتر انتقال یافته و ثالثاً قله جدیدی در طول موج ۳۲۵ نانومتر تشکیل شده که مربوط به اسپیرواستا۳ و۵ دی آن است.

جدول ۱ – تجزیه واریانس میانگین مربعات مقادیر قند محلول ، قند نامحلول، قندهای احیاکننده پس از هیدرولیز و ساپونین در قسمت‌های مختلف گیاه تمیس.

منابع تغییر	درجه آزادی	قند محلول	قند نامحلول	قند احیاکننده	قند احیاکننده پس از هیدرولیز	ساپونین
بخش‌های مختلف گیاه	۳	٦٧/٤٧**	٢٣٦/٧٠٦**	٢/١٦٨**	۰/۰۰۰۳۸	۰/۰۰۷۱**
خطا	٦	۰/۰۳۳	۰/۰۹۰۵	۰/۰۰٦۱	۰/۰۰۰۱۹	۰/۰۰۰۰٦
کل	۱۱					

** معنی‌دار در سطح ۱٪ .

جدول۲- تجزیه واریانس میانگین مربعات مقادیر دیوزژنین با سه روش هیدرولیز متفاوت در ریزوم.

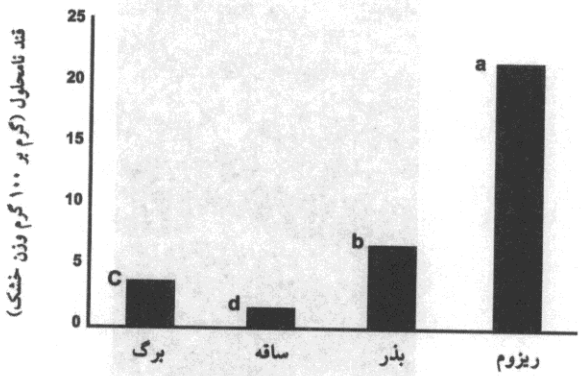
منابع تغییر	درجه آزادی	دیوزژنین
روش‌های متفاوت	۲	۰/۰۰۰٤**
خطا	٤	۰/۰۰۰۰۰۷
کل	۸	

** معنی دار در سطح ۱٪ .

www.SID.ir

Archive of SID

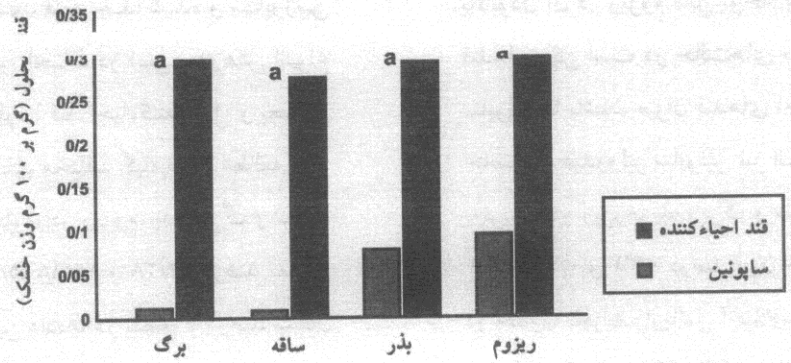
با هیدرولیز اسیدی، قند جدا شده و ساپوژنین حاصل می‌شود، بدین لحاظ در این پژوهش انواع قندها (محلول، نامحلول، قند احیاءکننده قبل و بعد از هیدرولیز) در بخش‌های مختلف گیاه مورد مطالعه قرار گرفت. میزان قند محلول در ریزوم، بذر، برگ و ساقه به‌ترتیب ۱۵/۶۹، ۵/۱۸، ۱٤/٦۸ و ۱۲/۲۸ درصد تعیین شد که مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۱ درصد نشان داد، حداکثر در ریزوم است. مقدار قند نامحلول در اعضای مذکور به‌ترتیب ۲۱/۳۵، ٦/۸۷، ۳/۸۵ و ۱/٦۱ است. از آنجایی که برگ محل ساخته شدن انواع قندها می‌باشد، انتظار می‌رود بیشترین مقدار قند در برگ باشد ولی نتایج نشان داد که میزان آن در ریزوم حداکثر است. در مورد ساپوژنین نیز ریزوم بیشترین مقدار را داراست، در نتیجه امکان دارد بین سنتز ساپونین‌ها و قندهای محلول ارتباط وجود داشته باشد. طبق گزارش‌ها (دراپو، ۱۹۸٦ و کریوساوا، ۱۹۸٦) قندهای موجود در ساپونین‌ها اغلب آرابینوز، گالاکتوز، گلوکوز و رامنوز می‌باشند که احیاء کننده‌اند. میزان قندهای احیاءکننده نشان داد در ریزوم، بذر، برگ و ساقه به‌ترتیب ۲/۵۳، ۰/۸٦۳، ۲/۵۷ درصد وزن خشک است. البته این مقادیر در جدول مقایسه میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول۲ و شکل ۱۰)، ولی بالابودن آن در ریزوم قابل توجه است. از آنجا که این قندها ممکن است در حالت‌های مختلف از جمله در ساپونین‌ها باشند، میزان قندهای احیاء کننده در عصاره حاصل از هیدرولیز ساپونین نیز اندازه‌گیری شد که به‌ترتیب در ریزوم، بذر، برگ و ساقه به‌ترتیب ۰/۳۲، ۰/۳۲، ۰/۳٤ و ۰/۳۱ درصد وزن خشک به‌دست آمد و در جدول تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲ و شکل ۱۳). در این خصوص احتمالاً میزان ساپونین کل (استروئیدی، تری‌ترپنی و آلکالوئیدی) در بخش‌های مختلف گیاه تقریباً یک اندازه است، ولی ساپونین‌های استروئیدی در ریزوم بیشتر است. جهت شناسایی نوع قندها نتایج کرماتوگرافی با لایه نازک (TLC) نشان داد که در بذر و ریزوم تنها قندهای ٦ کربنه وجود دارند و در برگ و ساقه علاوه بر قندهای مذکور قندهای ۵ کربنه نیز موجود است. در این تجربه قندهای ٦ کربنه به رنگ آبی و ۵ کربنه به رنگ سبز مشخص گردید. مطابق تحقیقات دراپو (۱۹۸٦) نیز مشخص شده بود که قندهای ساپونین‌های مولد دیوزژنین «دیوسکورا دلتوئیدا» ٦ کربنه‌اند. بعد از هیدرولیز قندی، قندهای حاصل نیز در TLC، لکه‌های آبی رنگ را که موید قندهای هگزز است، نشان داد (شکل‌های ۱٤ و ۱۵).



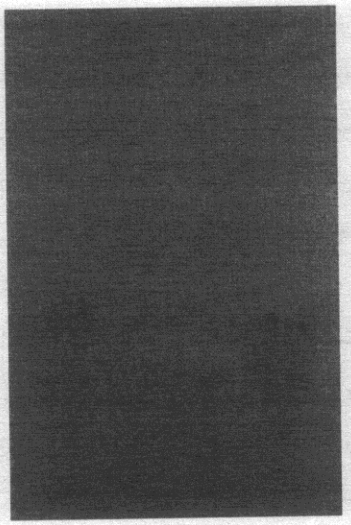
شکل ۱۲- نمودار مقایسه میزان قند نامحلول در بخش‌های مختلف گیاه.

www.SID.ir

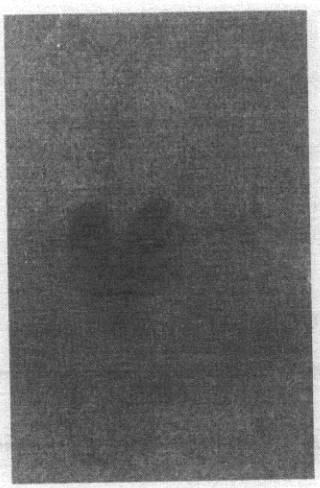
Archive of SID



شکل ۱۳- نمودار مقایسه میزان قند احیاکننده پس از هیدرولیز و ساپونین در بخش‌های مختلف گیاه.



شکل ١٤- کرماتوگرافی لایه نازک عصاره کربوهیدراته بذر و ریزوم. نمونه سمت راست مربوط به بذر و نمونه سمت چپ مربوط به ریزوم است. قندهای هگزوز به رنگ آبی مشاهده می‌شود.



شکل ۱۵- کرماتوگرافی لایه نازک عصاره کربوهیدراتی پس از هیدرولیز ساپونین‌های ریزوم.

www.SID.ir

Archive of SID

در ادامه این پژوهش عمده‌ترین موارد پیشنهادی که ارائه می‌شود عبارتند از:

۱- جمع‌آوری نمونه‌های وحشی گیاه تمیس و کشت انبوه آن.

۲- کشت بافت گیاه تمیس و تلاش در جهت افزایش دیوزژنین آن با استفاده از اضافه نمودن برخی ترکیبات قندی و کولسترول.

منابع

۱.حدادچی، غ. ر. ۱۳٦٥. بیوشیمی و فیزیولوژی گیاهی (عملی). جهاد دانشگاهی مرکز. ۲۸٦ صفحه.

۲.قهرمان، ا. ۱۳۷۳. کرموفیت‌های ایران- جلد چهارم- انتشارات مرکز نشر دانشگاهی. ٦۱۸ صفحه.

۳.نیک نام، و. ۱۳۷۸. بررسی برخی از متابولیت‌های ثانوی در گیاه و کشت بافت گون‌های ایران. پایان‌نامه دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم- دانشگاه تهران. ۲۹٦ صفحه.

٤.نیک نام، و. ۱۳۷۱. بررسی کمی و کیفی ساپوژنین‌های استروئیدی در گیاه کامل و کشت بافت شنبلیله. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم- دانشگاه تهران. ۳۳٤ صفحه.

5.Aminoddin, A., and Chowdhyry, A.R. 1983. Production of diosgenin in Somatic callus tissue of Dioscorea deltoidea, Plant Media, 48: 92-93.

6.Aquino, R., Behar, I. De Simone, Agostino., F.M., and Pizza, C. 1986. Furostanol Oligocene's from *Tamus Communis*. Journal of Natural Products. Vol. 49, No. 6, PP: 1096-1101.

7.Baccou, j. C., Lambert, F. and Sauvaire. Y. 1977. Spectrophotometric methods for the determination of total steroidal saponin. Analyst, 102: 458-465.

8.Cappaso, F., Mascolo, N., Autor, G. and Desimone, F. 1983. Anti-inflammatory and analgestic activity in alcoholic extract of *Tamus Communis L.* Journal of Ethnopharmacology; 8: 321-325.

9.Dey, P.M., and Harborne, J.B. 1997. Plant Biochemistry Academic Press. UK.

10.Drapeau, D., Y. Sauvari, Blanch, H.W., and Wilke, C.R. 1986. Improvement of diosgenin Yeild from *Dioscorea deltoidea* plant cell Cultures by use of a non-traditional hydrolysis method. Plant media 474-478.

11.Johnson, M.J., and Park, J.T. 1949. A Submicro determination of glucose. Journal of Biological Chemistry, 181: 149-151.

12.Kaul, B., and Staba, E.J. 1968. Dioscorea tissue Cultures. I: Biosynthesis and isolation of diosgenin from *Dioscorea deltoidea* callus and suspension cells. Lloyida, 31: 171-179.

13.Kryosawa, S., Hutoh, M., Komori, and Hosokawa, T. 1986. Chem. Pharm. Bull. 16: 1162-1164.

14.Paseshnichenk.o, V.A. 1973. Prikl. Biokhim. Microbiol, 9: 583-587 (English translation).

15.Sanchez, G.L., Acovedo, J.C.M. and Sodo, R.R. 1972. Spectrophotometric determination of diosgenin in *Dioscorea Composit* a following thin Layer chromatography. Analyst, 97: 973-976.

16.Sarma, P. 1984. Changes in diosgenin content in Dioscorea tuber during Pathogenesis by Fusarium Solani. Trans Br. Mycol. Soc. 82, 3: 563-564.

17.Tal, B., Rokem, J.S., and Goldberg, I. 1983. Factors affecting growth and product formation in Plant cells grown in continuous culture, Plant cell Reports, 2: 219-222.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 12(2), June-July 2005
www.magiran.com/jasnr

The amounts and distribution of diosgenin and saponin and their Carbohydrate moiety of *Tamus Communis L.*

Gh. Haddadchi[1] and Z. Moradi[2]
[1]Academic member, [2]M.Sc. Student of biology Dept. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

Abstract

Diosgenin is a widely-used starting material for the semi-synthetic production of steroid drugs. It is obtained mainly from the tubers of *Dioscorea composite*, *D.Floribunda*, *D.deltoidea* and some species of *Tamus* (Dioscoraceae) in the tropical forest areas. *Tamus Communis* has been reported as a source of steroidal sapogenin. The plant used in this study named *Tamis* (or *Razak*) was collected in Afra Tapeh forest (Ali-Abad city, Golestan Province), north of Iran. The sample of plant material was seperated into rhizome, leaves and berries. Acid hydrolyzed tissue was dried and extracted with chloroform. We used three different hydrolysis methods. Among them, method C (sulphuric acid in isopropanol) showed more diosgenin. In this study we showed, the sapogenin mixture and diosogenin concentration in rhizome is higher than other organs but there was no significant difference ($P < 0.1$). About the catbohydrate moiety, the TLC indicated the hexoses and pentoses in the leaves and stem, but no pentoses in the rhizome and seeds. In the rhizome, the amounts of soluble and insoluble sugars are more than other parts.

Keywords: *Tamus communis*; Diosgenin; Saponin; Carbohydrate

www.SID.ir