بررسی کمیت تروپان آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام‌های هوایی و زیرزمینی چند گونه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus* spp.) در ایران

فرنوش فتاحی[1]، عبدالعلی شجاعیان[2*]، حسین عسکری[3]، حسنعلی نقدی‌بادی[4]، مهدی عیاری[2]، علی مختصی‌بیدگلی[5]، خاویر پالازون[6]

۱. دانشجوی دکتری تخصصی علوم باغبانی - گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی انرژی و فن‌آوری‌های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
۵. استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۶. استاد، گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده فارماکولوژی، دانشگاه بارسلونا، بارسلونا، اسپانیا
*آدرس مکاتبه: تهران، اتوبان تهران - کرج، بلوار پژوهش، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، گروه علوم باغبانی، تلفن: ۴۸۲۹۲۱۱۱ (۰۲۱)، نمابر: ۴۸۲۹۲۲۰۰ (۰۲۱)
پست الکترونیک: Shojaeiyan@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۸ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۲/۲۰

چکیده

مقدمه: گونه‌های مختلف جنس ***Hyoscyamus*** منبع غنی از تروپان آلکالوئیدها بویژه هیوسیامین و اسکوپولامین هستند. این ترکیبات از نظر دارویی جزء تروپان آلکالوئیدهای مهم هستند که به طور منحصر به فرد توسط گیاهان تولید می‌شوند.

هدف: بررسی میزان تروپان آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام‌های زیرزمینی و هوایی گونه‌های جنس بنگ‌دانه شامل گونه‌های ***H. kotschyanus***، ***H. squarrosus***، ***H. pusillus***، ***H. kurdicus***، ***H. scoparia*** و ***H. orthocarpus***.

روش بررسی: این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بذور گونه‌های هیوسیاموس بعد از کشت، در اتاق رشد تحت دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. نمونه‌ها از اندام‌های خشک شده زیرزمینی و هوایی گیاهان ۶ الی ۷ ماهه عصاره‌گیری و پس از آن میزان آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین توسط دستگاه **HPLC** ارزیابی شد.

نتایج: میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در گونه ***H. orthocarpus*** نسبت به سایر گونه‌ها بیشتر بود و مجموع این دو ترکیب در این گونه (۱۵/۸۱ میلی‌گرم برگرم وزن خشک) حدود دو برابر گونه ***H. kotschyanus*** (۷/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و چندین برابر سایر گونه‌های مورد بررسی بود. هیوسیامین ترکیب اصلی گونه ***H. orthocarpus*** بود. کمترین میزان هیوسیامین و اسکوپولامین مربوط به گونه ***H. pusillus*** بود.

نتیجه‌گیری: دو گونه ***H. orthocarpus*** و ***H. kotschyanus*** به دلیل داشتن مقادیر بیشتر هیوسیامین و اسکوپولامین می‌توانند به عنوان منبع غنی از این تروپان آلکالوئیدها با مطالعات بیشتر در صنایع دارویی مورد توجه قرار گیرند.

گل‌واژگان: ***Hyoscyamus*** spp.، اسکوپولامین، تروپان آلکالوئید، هیوسیامین

www.SID.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر ترکیبات گیاهی به دلیل خصوصیات دارویی منحصر به فرد، توجه دنیا را به خود جلب کرده‌اند و بر این اساس ۴۰ درصد داروهای رایج مورد استفاده به طور کامل یا جزئی از ترکیبات گیاهی مشتق شده‌اند [۱]. هیوسیامین (Hyoscyamine) و اسکوپولامین (Scopolamine) از نظر دارویی جزء تروپان آلکالوئیدهای مهم هستند که به طور منحصر به فرد توسط گیاهان تولید می‌شوند و به طور پیوسته تقاضای صنعتی زیادی برای آنها وجود دارد [۱]. این ترکیبات به دلیل تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و فعالیت‌های آنتی‌کلینرژیک (Anticholinergic)، در زمینه‌های گوناگون مانند بیماری‌های چشم، قلب، معده، روده و غیره مورد استفاده قرار گرفته و به عنوان داروهای مهارکننده اعصاب پاراسمپاتیک کاربرد دارند [۴ – ۲].

به طور طبیعی هیوسیامین، آلکالویید فراوان‌تری در گیاهان است در حالی که اسکوپولامین فقط در گونه‌های محدودی به مقدار بیشتر تولید می‌شود. اسکوپولامین با ارزش‌ترین تروپان آلکالویید است و به دلیل فعالیت فیزیولوژیک بیشتر و اثرات جانبی کمتر ترجیح داده می‌شود. به طوری که درخواست جهانی برای این آلکالویید ۱۰ برابر بیشتر از هیوسیامین می‌باشد. تروپان آلکالوئیدها عمدتاً در سلول‌های جوان ریشه ساخته شده و سپس به اندام‌های هوایی گیاهان منتقل می‌شوند [۶، ۵].

هیوسیامین و اسکوپولامین (هیوسین) آلکالوئیدهایی هستند که عمدتاً از گیاهان خانواده سیب‌زمینی (Solanaceae) استخراج می‌شوند و در گونه جنس‌های *Duboisia* spp.، *Datura* spp.، *Hyoscyamus* spp. ، *Atropa* spp. و *Scopolia* spp. یافت می‌شوند [۷].

بنگ‌دانه یا هیوسیاموس (Hyoscyamus) یکی از جنس‌های مهم تیره سیب‌زمینی‌سانان می‌باشد. این جنس در فلور ایرانیکا، دو زیرجنس به نام‌های *Dendrotrichon* و *Hyoscyamus* و ۱۸ گونه دارد. ولی در مطالعات گیاه‌شناسی خاتم‌ساز (۱۹۹۸) تعداد گونه‌های این جنس در ایران ۱۳ گونه گزارش شده است [۱۰ – ۸]. گونه‌های مختلف هیوسیاموس منبع غنی از تروپان آلکالوئیدها بخصوص هیوسیامین و اسکوپولامین هستند. تمام پیکر گیاه حاوی آلکالوییدهای تروپان است که کمیت و کیفیت آن در اندام‌های مختلف متفاوت می‌باشد [۱۱]. در مطالعه صورت گرفته روی گونه *H. pusillus* L. از دو منطقه آذربایجان مشاهده شد که میزان آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین در مراحل مختلف رشد و در بخش‌های مختلف گیاه تفاوت داشتند. آلکالوئید غالب در بخش‌های گوناگون این گیاه در مراحل مختلف رشد، به استثنای بذرها، هیوسیامین بود [۱۲]. همچنین بررسی‌های انجام شده روی گونه *H. muticus* نشان داد هیوسیامین آلکالوئید غالب در همه بخش‌های این گیاه بود در حالی که اسکوپولامین (هیوسین) به مقدار کم، بویژه در ریشه‌های آن وجود داشت [۱۳]. بهمن‌زادگان و همکاران (۱۳۸۷) با پژوهش روی گونه‌های *H. pusillus* و *H. reticulatus* در مرحله گل‌دهی، مشاهده کردند که برخلاف نتایج به دست آمده از تحقیق دیلمقانی و همکاران (۱۳۸۵)، آلکالویید اصلی در اندام‌های مختلف گونه *H. pusillus* شامل ریشه، برگ و ساقه، اسکوپولامین بود و آلکالویید غالب در همه بخش‌های گونه *H. reticulatus* هیوسیامین بود [۱۴].

تفاوت‌های کمی مشخص آلکالوییدهای اسکوپولامین و هیوسیامین درون جنس هیوسیاموس نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی زیادی در میان گونه‌های این جنس وجود دارد که می‌تواند در تولید تروپان آلکالوییدها به کار رود. این تفاوت مزیتی برای انتخاب گونه تولیدکننده هیوسیامین یا اسکوپولامین به عنوان فرآورده اصلی می‌باشد [۱۴]. لذا برای رسیدن به این هدف تعیین ویژگی‌های ژنتیک، مورفولوژیک، اکولوژیک و بیوشیمیایی این دسته از گیاهان به منظور بهره‌برداری اقتصادی، بهداشتی و همچنین حفظ تنوع موجود در عرصه‌های منابع طبیعی کشور ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین پژوهش حاضر، با در نظر گرفتن اهمیت دارویی تروپان آلکالوئیدها و شناسایی و حفظ ذخایر ژنتیک کشور از لحاظ توانایی تولید این دسته از ترکیبات دارویی و کیفیت آنها در اندام‌های مختلف زیرزمینی و هوایی در چند گونه از جنس بنگ‌دانه ایران، انجام شد.

Archive of SID
www.SID.ir

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس و دانشکده داروسازی دانشگاه بارسلونا واقع در کشور اسپانیا، بصورت فاکتوریل شامل فاکتور اول در ۶ سطح (۶ گونه جنس *Hyoscyamus*) و فاکتور دوم در دو سطح (۲ اندام زیرزمینی و هوایی) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس از طریق مدل خطی تعمیم یافته (GLM) و بعد از حصول اطمینان از نرمال بودن توزیع باقیمانده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

مواد گیاهی

تحقیق حاضر روی ۶ گونه از جنس بنگ‌دانه‌های ایران شامل گونه‌های *H. kotschyanus*، *H. squarrosus*، *H. pusillus*، *H. kurdicus*، *H. scoparia* و *H. orthocarpus* انجام شد. بذرهای این گونه‌ها از بخش بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شد که مشخصات محل جمع‌آوری این گونه‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است.

ابتدا به منظور شکستن رکود، بذور به مدت ۱۲ ساعت در اسید جیبرلیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمار شدند. سپس بذور در سینی کشت حاوی ۲ قسمت تورب و ۱ قسمت ورمی‌کولایت، کشت شدند و در اتاق کشت تحت دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. در نهایت گیاهچه‌ها در مرحله ۲ الی ۳ برگی به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهنه ۱۰ سانتی‌متر، که حاوی ۲ قسمت تورب و ۱ قسمت ورمی‌کولایت بودند انتقال یافتند. گیاهان به دست آمده پس از رشد به گلدان‌هایی با یک سایز بزرگ‌تر، منتقل شدند.

استخراج آلکالوئیدها

اندام‌های هوایی (برگ و دمبرگ) و زیرزمینی (ریشه) گیاهان ۶ الی ۷ ماهه بیساگ که در مرحله رشد رویشی بودند به طور جداگانه در آون تحت دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ الی ۳ روز، خشک شدند. سپس ۱۰۰ میلی‌گرم از مواد گیاهی در لوله آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۵ درصد، ریخته شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریوفیوژ شدند. محلول رویی برداشته شده پس از عبور از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۵]. به منظور تجزیه کمی و کیفی عصاره استخراج شده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد.

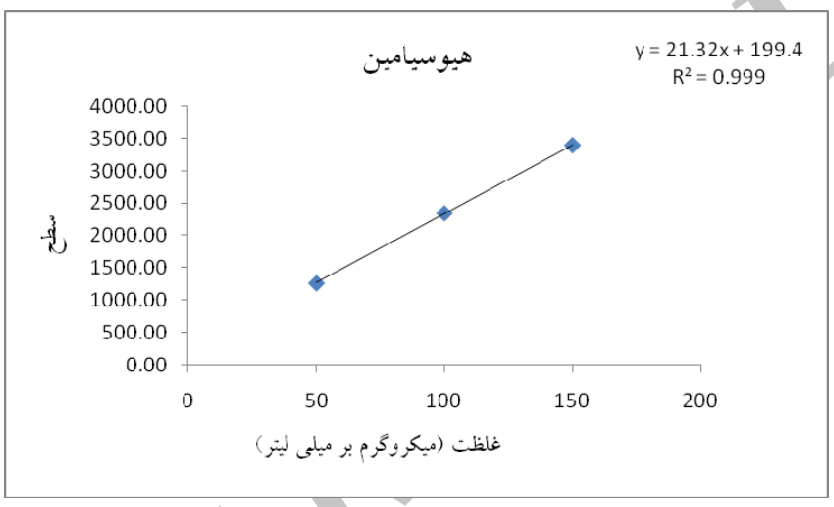
جدول شماره ۱- مشخصات جغرافیایی محل جمع‌آوری گونه‌های جنس *Hyoscyamus* spp.

نام علمی	محل جمع‌آوری	مختصات جغرافیایی		ارتفاع از سطح دریا (متر)
		عرض	طول	
H. kotschyanus	چهارمحال و بختیاری- لردگان	۳۱° ۲۶′	۵۰° ۴۹′	۱۷۰۰
H. orthocarpus	خوزستان- بهبهان	۳۰° ۳۶′	۵۰° ۱۴′	۳۳۵
H. pusillus	یزد- تفت	۳۱° ۳۰′	۵۳° ۱۵′	۱۵۷۵
H. kurdicus	کردستان- دهگلان	۳۵° ۱′	۴۷° ۷′	۱۹۰۶
H. scoparia	قم	۳۴° ۸′	۵۰° ۸′	۹۳۰
H. squarrosus	کرمان- بردسیر	۲۹° ۵۵′	۵۶° ۳۴′	۲۰۴۴

Archive of SID
www.SID.ir

مشخصات دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

برای سنجش آلکالوئید از دستگاه HPLC، Agilent 1100 با آشکارساز ماوراءبنفش با طول موج ۱۹۰ نانومتر استفاده شد. ستون مورد استفاده 125* 4 mm (4 microns) PR- 80 بود. سرعت جریان حلال، ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه و فاز متحرک به صورت ایزوکراتیک، حاوی بافر ۱۰ میلی‌مولار پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) و استونیتریل (Acetonitril) (۸۵ : ۱۵) تنظیم شده بود. مقدار عصاره استفاده شده برای هر تزریق، ۱۰ میکرولیتر و میزان دو آلکالوئید هیوسیامین و اسکوپولامین، بر اساس سطح زیر منحنی به دست آمده با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. منحنی استاندارد نیز بر اساس سطح زیر منحنی دو ترکیب سولفات هیوسیامین (Hyoscyamine Sulfate) و هیدروبروماید اسکوپولامین (Scopolamine Hydrobromide) (محصولات شرکت سیگما (Sigma)) در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسم شد (منحنی‌های شماره ۱ و ۲).



منحنی شماره ۱- منحنی کالیبراسیون ترکیب هیوسیامین

منحنی شماره ۲- منحنی کالیبراسیون ترکیب اسکوپولامین

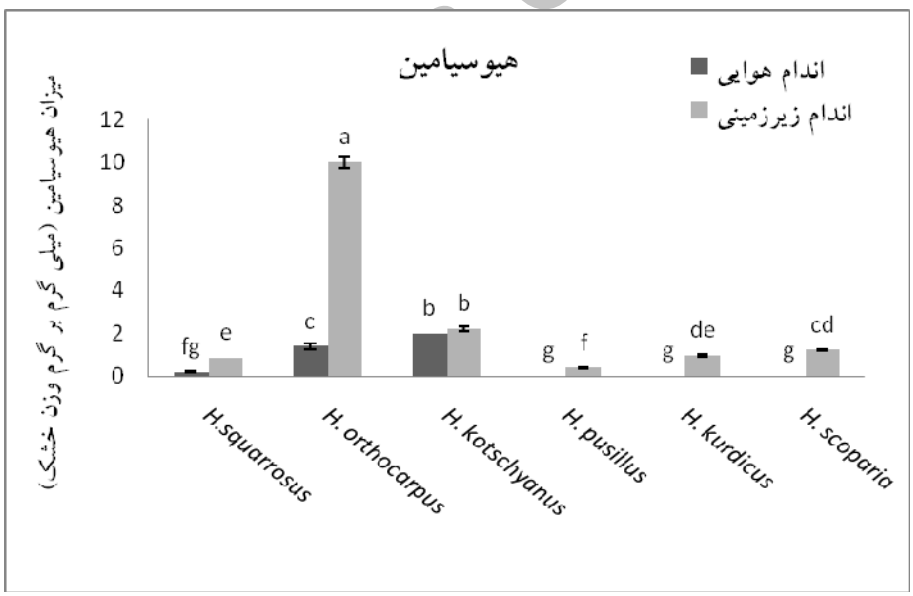
www.SID.ir

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه عصاره‌های تهیه شده از اندام‌های هوایی و زیرزمینی گونه‌های هیوسیاموس مورد ارزیابی در مرحله رشد رویشی نشان داد که هیوسیامین در اندام‌های زیرزمینی تمام گونه‌ها و اندام‌های هوایی سه گونه *H. kotschyanus*، *H. orthocarpus* و *H. squarrosus* وجود داشت (نمودار شماره ۱). به طور کلی، مقدار هیوسیامین در اندام‌های زیرزمینی نسبت به اندام‌های هوایی بیشتر بود.

بین اندام‌های هوایی و زیرزمینی این ۶ گونه اختلاف معنی‌داری از لحاظ مقدار هیوسیامین مشاهده شد (جدول شماره ۲). بیشترین میزان هیوسیامین به مقدار ۱۰/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در اندام زیرزمینی گیاه *H. orthocarpus* وجود داشت (نمودار شماره ۱). همچنین با توجه به نمودار شماره ۱ بین اندام‌های زیرزمینی گونه‌های مورد ارزیابی، بیشترین مقدار هیوسیامین در اندام زیرزمینی گیاه *H. orthocarpus* و کمترین مقدار در اندام زیرزمینی گیاه *H. pusillus* مشاهده شد. در بین اندام‌های هوایی، بیشترین مقدار هیوسیامین در گونه *H. kotschyanus* مشاهده شد و سه گونه *H. pusilus*، *H. kurdicus* و *H. scoparia* فاقد هیوسیامین بودند.

همچنین نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که ترکیب اسکوپولامین در اندام زیرزمینی و هوایی تمام گونه‌ها وجود دارد و از لحاظ مقدار، بین اندام‌های گونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول و نمودار شماره ۲). به طور کلی می‌توان بیان کرد که اندام‌های زیرزمینی نسبت به اندام‌های هوایی، حاوی اسکوپولامین بیشتری بودند.



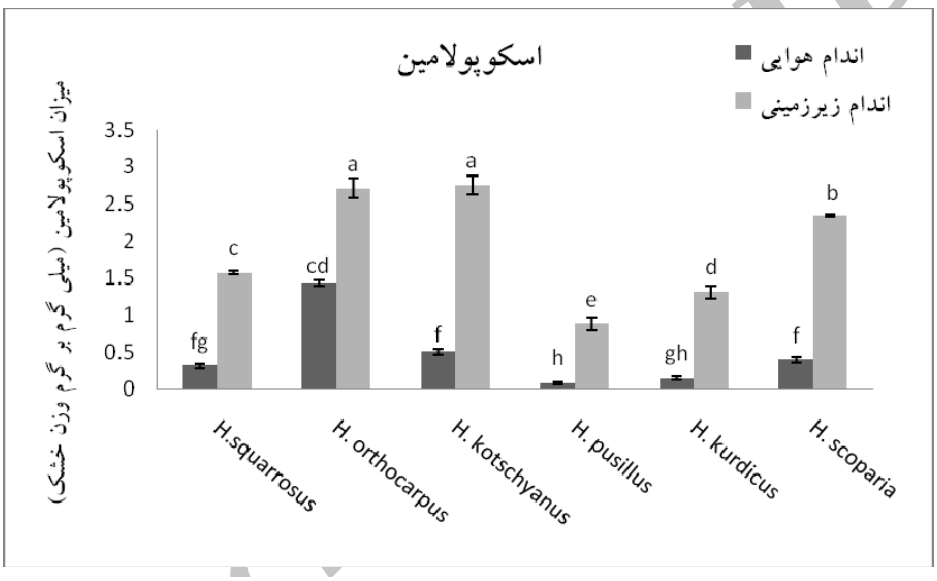
نمودار شماره ۱- میزان هیوسیامین در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گونه‌های مختلف جنس *Hyoscyamus* spp.. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

www.SID.ir

جدول شماره ۲- تجزیه واریانس مقادیر هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام‌ها و گونه‌های مختلف جنس *Hyoscyamus* spp.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		هیوسیامین	اسکوپولامین
اندام گیاه	۱	۰/۳۳**	۱۸/۹۵**
گونه گیاه	۵	۰/۲۰**	۲/۱۲**
اندام گیاه × گونه گیاه	۵	۰/۰۵**	۰/۴۴**
خطای آزمایش	۲۴	۰/۰۰	۰/۰۱
ضریب تغییرات (درصد)		۲/۹۹	۹/۶۳

**، * و ns به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار



نمودار شماره ۲- میزان اسکوپولامین در اندام‌های هوایی و زیرزمینی گونه‌های مختلف جنس *Hyoscyamus* spp.. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

بیشترین مقدار اسکوپولامین در اندام‌های زیرزمینی دو گونه *H. orthocarpus* و *H. kotschyanus* به ترتیب به مقدار ۲/۷۱ و ۲/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک وجود داشت و کمترین مقدار اسکوپولامین در اندام هوایی *H. pusillus* به مقدار ۰/۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد (نمودار شماره ۲). در بین اندام‌های زیرزمینی ۶ گونه، بیشترین مقدار اسکوپولامین در اندام‌های زیرزمینی دو گونه *H. orthocarpus* و *H. kotschyanus* و کمترین مقدار در اندام زیرزمینی *H. pusillus* وجود داشت (نمودار شماره ۲). همچنین با مقایسه اندام‌های هوایی، می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین مقدار اسکوپولامین به ترتیب در *H. orthocarpus* و *H. kotschyanus* و کمترین مقدار در *H. pusillus* تولید شده است (نمودار شماره ۲).

با توجه به جدول شماره ۳، گونه *H. orthocarpus* با اختلاف معنی‌داری از دیگر گونه‌های مورد بررسی در این پژوهش، حاوی بیشترین میزان هیوسیامین کل (۱۱/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)، اسکوپولامین کل (۴/۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و در نتیجه بالاترین مقدار

www.SID.ir

مجموع هیوسیامین و اسکوپولامین (۱۵/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) بود. این گونه از لحاظ نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در رتبه اول نسبت به سایر گونه‌ها قرار داشت. گونه *H. kotschyanus* در رتبه دوم بعد از *H. orthocarpus*، دارای بیشترین مقدار هیوسیامین کل، اسکوپولامین کل و مجموع هیوسیامین و اسکوپولامین نسبت به سایر گونه‌ها بود و از لحاظ نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در رتبه دوم قرار گرفت. بدین‌ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که هر دو گونه فوق از گونه‌های تولیدکننده هیوسیامین می‌باشند.

بعد از دو گونه ذکر شده به ترتیب گونه‌های *H. scoparia*، *H. squarrosus*، *H. kurdicus* و *H. pusillus* دارای بیشترین مقدار هیوسیامین کل، اسکوپولامین کل و مجموع هیوسیامین و اسکوپولامین بودند. همچنین در بررسی نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین گونه‌های اخیر مشاهده شد که همه گونه‌ها حاوی اسکوپولامین بیشتری نسبت به هیوسیامین بودند و در واقع، همگی گونه‌های تولید کننده اسکوپولامین می‌باشند (جدول شماره ۳).

بحث

تروپان آلکالوئیدها در همه بخش‌های گیاهان حاوی آن یافت می‌شوند و نسبت هریک از آنها در بین گونه‌ها، در مراحل مختلف رشد، محل رویش و اندام‌های مختلف یک گونه گیاهی متفاوت است [۱۴].

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که در تمام گونه‌های مورد بررسی که همگی در مرحله رشد رویشی قرار داشتند اندام‌های زیرزمینی حاوی مقدار بیشتری از اسکوپولامین و هیوسیامین در مقایسه با اندام هوایی بودند. در تحقیقی که توسط ادیب‌فر (Adibfar) و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد نیز مشاهده شد که ریشه‌های گیاهان ۲ تا ۵ ماهه *H. niger* در مقایسه با برگ‌های گیاه دارای اسکوپولامین و هیوسیامین بیشتری بودند. این تفاوت تا حدی به دلیل اثرات انتقال، ذخیره و پتانسیل بیوسنتز در این دو اندام می‌باشد [۳]. ریشه، محل اصلی بیوسنتز آلکالوئیدهای تروپان است و تبدیل هیوسیامین به اسکوپولامین در سلول‌های پریسیکل ریشه اتفاق می‌افتد. سپس آلکالوئیدهای سنتز شده به اندام‌های هوایی منتقل می‌شوند [۱۶]. احتمالاً با تشکیل بخش‌های هوایی (ساقه گل‌دهنده)، انتقال آلکالوئیدها از ریشه‌ها به ساقه و برگ‌ها صورت می‌گیرد و به این ترتیب میزان آلکالوئیدها در اندام زیرزمینی کاهش می‌یابد. البته در برخی منابع به سنتز تروپان آلکالوئیدها در بخش‌های هوایی طی مرحله گل‌دهی، نیز اشاره شده است [۱۴].

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین میزان هیوسیامین کل، اسکوپولامین کل، نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین و مجموع هیوسیامین و اسکوپولامین در گونه‌های مختلف جنس *Hyoscyamus* spp.

نام گونه گیاهی	هیوسیامین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	اسکوپولامین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین	مجموع هیوسیامین و اسکوپولامین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)
H. squarrosus	۱/۰۲± ۰/۰۲ cd	۱/۸۸± ۰/۰۵ d	۰/۵۴± ۰/۰۲ cd	۲/۹۰± ۰/۰۴ d
H. orthocarpus	۱۱/۶۷±۰/۱۶ a	۴/۱۴± ۰/۰۹ a	۲/۸۲± ۰/۰۸ a	۱۵/۸۱± ۰/۱۷ a
H. kotschyanus	۴/۲۰± ۰/۱۳ b	۳/۲۵± ۰/۱۲ b	۱/۲۹± ۰/۰۱ b	۷/۴۵± ۰/۲۴ b
H. pusillus	۰/۳۷± ۰/۰۴ e	۰/۹۷± ۰/۰۸ f	۰/۳۸± ۰/۰۲ e	۱/۳۴±۰/۱۲ f
H. kurdicus	۰/۹۵± ۰/۰۵ d	۱/۴۷± ۰/۱ e	۰/۶۵± ۰/۰۱ c	۲/۴۲± ۰/۱۵ e
H. scoparia	۱/۲۳± ۰/۰۳ c	۲/۷۳± ۰/۰۵ c	۰/۴۵± ۰/۰۲de	۳/۹۷± ۰/۰۴ c

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند

Archive of SID
www.SID.ir

در این پژوهش بیشترین مقدار هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام زیرزمینی گیاه *H. orthocarpus* وجود داشت و پیکره رویشی این گونه نسبت به سایر گونه‌ها، حاوی بیشترین میزان هیوسیامین، اسکوپولامین و مجموع هر دو تروپان آلکالوئید بود. همچنین آلکالوئید غالب آن هیوسیامین بود. همسو با نتیجه به دست آمده، الشیخ (Al Shaikh) و همکاران (۱۹۸۲) با بررسی گونه *H. muticus* گزارش کرده‌اند که هیوسیامین، آلکالوئید اصلی در همه بخش‌های این گیاه بود. در حالی که اسکوپولامین در مقادیر کم بویژه در ریشه‌ها وجود داشت [۱۳].

نتایج حاصل از پژوهش اخیر نشان داد که پس از گونه *H. orthocarpus*، گونه *H. kotschyanus* دارای بیشترین مقدار هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام زیرزمینی بود و از لحاظ نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در رتبه دوم قرار داشت لذا یک گونه تولید کننده هیوسیامین محسوب می‌شود. دیلمقانی (Dialmaghani) و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه میزان تروپان آلکالوئید گونه‌های *H. reticulatus* و *H. Arachnoideus* مشاهده کردند که این آلکالوئیدها، در همه اندام‌های هر دو گونه طی مراحل مختلف رشد وجود داشتند. همچنین ایشان گزارش کردند که آلکالوئید اصلی در همه بخش‌های هر دو گونه در مراحل مختلف رشد، هیوسیامین بود به استثنای بذرها که در آنها اسکوپولامین، آلکالوئید غالب محسوب می‌شد و در ضمن در هر دو گونه کمترین میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در ساقه وجود داشت در حالی که بالاترین میزان هیوسیامین و اسکوپولامین به ترتیب در برگ‌های مرحله گل‌دهی و بذرها مشاهده شد [۱۷].

در پژوهش حاضر، بعد از دو گونه ذکر شده به ترتیب گونه‌های *H. scoparia*، *H. squarrosus*، *H. kurdicus* و *H. pusillus* دارای بیشترین مقدار هیوسیامین کل، اسکوپولامین کل و مجموع هیوسیامین و اسکوپولامین بودند. در بررسی نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین مشاهده شد که در تمام گونه‌های فوق، هر دو اندام هوایی و زیرزمینی دارای مقدار بیشتری از اسکوپولامین هستند و در واقع همه این گونه‌ها تولیدکننده اسکوپولامین می‌باشند. همسو با نتایج به دست آمده در این تحقیق، بهمن‌زادگان (Bahmanzadegan) و همکاران (۲۰۰۹) با انجام بررسی کمی هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام‌های مختلف ۴ گونه *H. niger*، *H. reticulates*، *H. pusillus* و *H. kurdicus* به ترتیب ۲ گونه اول در مراحل انتهای گل‌دهی و آغاز تشکیل میوه و ۲ گونه دوم درمراحل گل‌دهی کامل، گزارش کردند که همه ۴ گونه هیوسیاموس حاوی دو تروپان آلکالوئید ذکر شده بودند. اسکوپولامین، آلکالوئید غالب در سه گونه *H. pusillus*، *H. niger* و *H. kurdicus* و هیوسیامین، آلکالوئید غالب در همه اندام‌های گونه *H. reticulatus* بود و بذرهای گونه *H. reticulates* حاوی بیشترین مقدار هیوسیامین نسبت به اندام‌های دیگر این گیاه بودند. همچنین نتایج آزمایش این محققان نشان داد که بیشترین مقدار اسکوپولامین در برگ‌های گونه‌های *H. pusillus* و *H. kurdicus* و همچنین در بذور گونه *H. niger* می‌باشد [۱۸، ۱۴].

دیلمقانی و همکاران (۲۰۰۷) مغایر با نتیجه به دست آمده در این تحقیق، با مطالعه بر تروپان آلکالوئیدهای اندام‌های مختلف *H. pusillus* به این نتیجه رسیدند که هیوسیامین آلکالوئید اصلی در همه بخش‌های این گونه در مراحل مختلف رشد است، به استثنای بذرها که در آنها اسکوپولامین غالب بود [۱۲].

در بررسی دیگری روی گیاهان ۲، ۳/۵ و ۵ ماهه گونه *H. niger* مشاهده شد که میزان تولید اسکوپولامین در ریشه و برگ‌ها بیشتر از هیوسیامین بود و در مرحله گل‌دهی، نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در اندام‌های مختلف گیاهی کاهش یافت که این تغییر می‌تواند به دلیل ورود گیاه به مرحله گل‌دهی و تأثیر آن بر فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز اسکوپولامین از هیوسیامین باشد [۳]. همچنین در آزمایش دیگری روی گیاه ۵ ماهه *H. niger* مشاهده شد که میزان اسکوپولامین در برگ و ریشه گیاه شاهد، بیشتر از هیوسیامین بود و برگ‌ها حاوی مقدار بیشتری اسکوپولامین و هیوسیامین، نسبت به ریشه بودند [۱۹].

در مقایسه انجام شده توسط دهقان (Dehghan) و همکاران (۲۰۱۳) بین دو گونه *H. senecionis* و *H. muticus* که در مرحله گل‌دهی کامل بودند نیز مشاهده شد که این دو

www.SID.ir

گونه، نیم‌رخ و سطح متفاوت آلکالوئید در برگ‌ها را دارند. در حالی که هیوسیامین، آلکالوئید اصلی در برگ و ریشه گونه *H. muticus* و همچنین ریشه گونه *H. senecionis* می‌باشد، ولی اسکوپولامین تروپان آلکالوئید اصلی در برگ‌های گونه *H. senecionis* است [۱۶].

نتیجه‌گیری

به دلیل آنکه دو آلکالوئید هیوسیامین و اسکوپولامین ازمیان تروپان آلکالوئیدها در داروسازی کاربرد بیشتری دارند و به دلیل سنتز اسکوپولامین از هیوسیامین در گیاه، میزان و نسبت این دو آلکالوئید در گیاهان مورد ارزیابی، اهمیت زیادی دارند. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌توان اذعان نمود که دو گونه *H. orthocarpus* و *H. kotschyanus* به لحاظ داشتن میزان بالایی از هیوسیامین و اسکوپولامین، می‌توانند به عنوان منبع غنی از این تروپان آلکالوئیدها در صنایع دارویی مورد توجه قرار گیرند. همچنین گونه *H. orthocarpus* با توجه به تولید بیشترین مقدار هیوسیامین و اسکوپولامین در بین گونه‌های مورد مطالعه را می‌توان با مطالعات تکمیلی بیشتر از جمله مطالعات به‌زراعی، به‌نژادی و بیوتکنولوژیک به عنوان گونه ارزشمند دارویی در صنایع دارویی مورد استفاده قرار داد.

منابع

1. Banerjee S, Madhusudanan KP, Chattopadhyay SK, Rahman L U and Khanuja SP. Expression of tropane alkaloids in the hairy root culture of *Atropa acuminata* substantiated by DART mass spectrometric technique. *Biomed. Chromatogr*. 2008; 22: 830 - 4.

2. Shalabi K, Abdallah YM, Hassan HM and Fouda AS. Adsorption and corrosion inhibition of *Atropa belladonna* extract on carbon steel in 1 M HCl solution. *Int. J. Electrochem. Sci*. 2014; 9: 1468 - 87.

3. Adibfar E, Dilmaghani K and Shoar HH. Alkaloids contents of *Hyoscyamus niger* L. at different organs in different growth stages. *Ijpp*. 2009; 1: 187 - 92.

4. Kursinszki L, Hank H, Laszlo I and Szoke E. Simultaneous analysis of hyoscyamine, scopolamine, 6β-hydroxyhyoscyamine and apoatropine in Solanaceous hairy roots by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 2005; 1091: 32 - 9.

5. AlJaber-Vazdekis N, González C, Ravelo ÁG and Zárate R. Cloning, characterization and analysis of expression profiles of a cDNA encoding a hyoscyamine 6β-hydroxylase (H6H) from *Atropa baetica* Willk. *Plant Physiol. Bioch*. 2009; 47: 20 - 5.

6. Palazon J, Navarro-Ocana A, Hernandez-Vazquez L and Mirjalili MH. Application of metabolic engineering to the production of scopolamine. *Molecules*. 2008; 13: 1722 - 42.

7. Ashtiania F and Sefidkon F. Tropane alkaloids of *Atropa belladonna* L. and *Atropa acuminate* Royle ex Miers plants. *J. Med. Plants Res*. 2011; 5: 6515 - 22.

8. Sheidai M, Mosallanejad M and Khatamsaz M. Karyological studies in *Hyoscyamus* species of Iran. *Nord. J. Bot*. 1999; 19: 369 - 74.

9. Hajrasouliha S, Massoumi AA, TaherNejadSattar SM, Hamdi M and Mehregan I. A phylogenetic analysis of *Hyoscyamus* L. (Solanaceae) species from Iran based on ITS and trnL-F sequence data. *Jbes*. 2014; 5: 647 - 54.

10. Nejadhabibvash F, Rahmani F, Heidari R and Jamei R. Heritability and correlation studies of fatty acid composition within *Hyoscyamus* accessions. *Irjabs*. 2012; 3: 1837 - 44.

Archive of SID
www.SID.ir

11. Omidbaigi R. Production and processing of medicinal plants.1st ed. Astan Quds Razavi press. Iran. 2006, pp: 243 - 50.

12. Dialmaghani K, Karvari- Nejad R, Fahimi H and Hekmat-shoar H. Extraction and determination of tropanalkalids, hyoscyamine and scopolamine from different parts of *Hyoscyamus pusillus* L. in different stages of plant growth. *Ijmap*. 2006; 22: 1 - 10.

13. Al Shaikh MO, Al Hassan GM, Hafiez AR, Al Tayib AR, Abd Allah AA and Antoun MD. Studies on Sudanese medicinal plants II: Indigenous *Hyoscyamus muticus* as possible commercial source for hyoscyamine. *Planta Med*. 1982; 45: 116 - 9.

14. Bahmnazadegan A, Sefidkon F, Sonboli A and Jaimand K. Extraction and determination of tropane alkaloids, hyoscyamine and scopolamine, form different parts of *Hyoscyamus reticulatus* L. and *Hyoscyamus pusillus* L. *Pajouhesh and Sazandegi* 2008; 79: 145 - 53.

15. Moyano E, Fornale S, Palazon J, Cusido RM, Bagni N and Pinol MT. Alkaloid production in *Duboisia hybrid* hairy root cultures overexpressing the *pmt* gene. *Phytochem.* 2002; 59: 697 - 702.

16. Dehghan E, Ahmadi FS, Ravandi EG, Reed DW, Covello PS and Bahrami AR. An atypical pattern of accumulation of scopolamine and other tropane alkaloids and expression of alkaloid pathway genes in *Hyoscyamus senecionis*. *Plant Physiol. Bioch*. 2013; 70: 188 - 94.

17. Dialmaghani K, Karvari- Nejad R, Fahimi H and Hekmat-shoar H. Comparison of tropane alkaloids content of *Hyoscyamus reticulatus* .L and *Hyoscyamus arachnoideus* Pojark at different growth stages. *J. Siau*. 2007; 66: 51 - 61.

18. Bahmanzadegan A, Sefidkon F and Sonboli A. Determination of hyoscyamine and scopolamine in four *Hyoscyamus* Species from Iran. *Iran. J. Pharm. Res*. 2009; 8: 65 - 70.

19. Alaghemand A, Ghorbanpour M, Eradatmand-Asli D and Moghaddasian B. Influence of urea fertilization on tropane alkaloids content of henbane (*Hyoscyamus niger* L. under hydroponic culture conditions. *Adv. Environ. Biol.* 2013; 7: 301 - 7.

Archive of SID

www.SID.ir