

## مقایسه میزان آلکالوئید تروپان گونه‌های *Hyoscyamus reticulatus* L. و *Hyoscyamus Arachnoideus* Pojark در مراحل مختلف رشد

کمال الدین دیلمقانی، حمید فهیمی

گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

رمضان علی خاوری نژاد\*

گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران

حسن حکمت شعار

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

### چکیده

گیاهان جنس هیوسياموس از خانواده سيب زمینی تولید کننده آلکالوئیدهای تروپان می‌باشند. برای بررسی میزان آلکالوئیدهای تروپان در دو گونه از این جنس نمونه‌های گیاهی از رویشگاه‌های طبیعی آنها در سه منطقه جمع آوری شدند. جمع آوری گیاهان در سه مرحله رویشی، گل‌دهی و میوه‌دهی انجام گرفت. پس از استخراج و خالص‌سازی آلکالوئیدهای بخش‌های مختلف گیاهان به طور جداگانه، میزان آلکالوئیدهای هیوسيامین و اسکوپولامین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین در هر منطقه تاثیر بعضی عوامل محیطی روی میزان این آلکالوئیدها بررسی شد. بیشترین میزان آلکالوئید هیوسيامین در برگ‌های این دو گونه در مرحله گل‌دهی و بیشترین میزان اسکوپولامین در بذرهای این گیاهان مشاهده شد، در حالی که ساقه‌ها از نظر این آلکالوئیدها فقیرتر از بخش‌های دیگر گیاه بودند. آلکالوئید غالب در بخش‌های گوناگون این گیاهان در مراحل مختلف رشد، به استثنای بذرها، هیوسيامین بود. به علاوه، میزان هیوسيامین و اسکوپولامین در بخش‌های مختلف این گیاهان و در مراحل مختلف رشد آنها تفاوت داشت. به طوری که بالاترین میزان آنها در ریشه، ساقه و برگ در مرحله گل‌دهی دیده شد. در هر سه منطقه گیاهان *H. arachnoideus* Pojark هیوسيامین و اسکوپولامین بیشتری نسبت به گیاهان *H. reticulatus* L. دارا بودند. بیشترین مقدار این آلکالوئیدها در گیاهان جمع آوری شده از اطراف روستای سفیده‌خوان دیده شد. نتایج حاصل از بررسی تاثیر برخی عوامل محیطی روی میزان هیوسيامین و اسکوپولامین نشان داد که با افزایش ارتفاع و میزان

\* عهده دار مکاتبات

نیترژن و فسفر خاک میزان هیوسيامین و اسکوپولامین هر دو گونه افزایش می‌یابند، در حالی که بر عکس، کاهش پتاسیم خاک باعث افزایش آنها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: *H. reticulatus L.*، *H. arachnoideus Pojark.*، هیوسيامین، اسکوپولامین.

#### مقدمه

اهمیت اقتصادی هیوسيامین و اسکوپولامین (هیوسین) به کاربردهای دارویی آنها متکی است. هر دو آلکالوئید به دلیل توانایی شان برای مهار فعالیت سیستم عصبی پاراسمپاتیک به عنوان سد کننده فعالیت رشته‌های عصبی پاراسمپاتیک استفاده می‌شوند. تا امروز، مواد گیاهی یگانه منبع این ترکیبات باقی مانده‌اند<sup>(۱)</sup>. آنها جزء گروهی از آلکالوئیدها به نام آلکالوئیدهای تروپان می‌باشند که عمدتاً در گیاهان تیره سیب‌زمینی یافت می‌شوند<sup>(۲ و ۳)</sup>. در این تیره، گونه‌های جنس هیوسياموس دارای ارزش دارویی و تجارتي ویژه‌ای می‌باشند و اثرات دارویی آنها از زمان‌های بسیار قدیم شناخته شده است<sup>(۴)</sup>. تشکیل این آلکالوئیدهای تروپان در سلولهای کشت شده گیاهان تیره سیب زمینی گزارش شده است، اما محتویات آلکالوئیدی آنها عموماً خیلی کمتر از محتویات آلکالوئیدی گیاهی است<sup>(۳)</sup>.

کلان<sup>۱</sup> (۱۹۳۱) اعلام کرد که میزان آلکالوئیدهای تروپان در اندام‌های گیاه *H. niger L.* با رشد آن کاهش می‌یابد<sup>(۵)</sup>. رومئیکه<sup>۲</sup> (۱۹۶۰) با مطالعه آلکالوئیدهای تروپان گونه‌های تاتوره<sup>۳</sup> و سپس هاشیموتو<sup>۴</sup> و همکاران (۱۹۹۱) با تحقیق روی گونه‌های هیوسياموس نشان دادند که ریشه‌ها جایگاه بیوستنز آلکالوئیدهای تروپان هستند<sup>(۶ و ۷)</sup>. اکسمان - کالدنتی<sup>۵</sup> و همکاران (۱۹۸۷)، با تحقیق روی گیاه *H. muticus* اعلام کردند که بالاترین میزان اسکوپولامین در برگ‌ها درست پیش از گل‌دهی و بیشترین مقدار هیوسيامین در طی مرحله اوج گل‌دهی در برگ‌ها وجود دارند<sup>(۸)</sup>. بررسی‌های پار<sup>۶</sup> و همکاران (۱۹۹۰) روی دمبرگ‌های *H. pusillus L.* نشان داد که میزان اسکوپولامین آنها بسیار کم است<sup>(۹)</sup>. دمیر<sup>۷</sup> و دژاگرا<sup>۸</sup> (۱۹۹۲) نیز اعلام کردند که به نظر می‌رسد که میزان اسکوپولامین در *D. stramonium* توسط مرحله نموی گیاه تحت تاثیر واقع می‌شود<sup>(۱۰)</sup>. تحقیقات دورک - اشمیتز<sup>۹</sup> و همکاران (۱۹۹۳) روی گیاه *H. albus* نشان داد که ریشه نه تنها جایگاه بیوستنز آلکالوئیدها، بلکه جایگاه مهم ذخیره آنها است و در این گیاه اندام‌های سبز تنها یک نقش فرعی در ذخیره آلکالوئید بازی می‌کنند<sup>(۱۱)</sup>. گزارش شده است که اسکوپولامین ریشه‌های فرعی *H. niger L.* بیشتر از ریشه‌های اصلی می‌باشد<sup>(۱۱)</sup>. نسبت هر یک از آلکالوئیدهای تروپان در بین گونه‌ها، زمان‌های مختلف سال، محل رویش و بخش‌ها و اندام‌های مختلف یک گونه گیاهی متفاوت است<sup>(۱۲)</sup>.

<sup>1</sup> Klan

<sup>2</sup> Romeike

<sup>3</sup> Datura

<sup>4</sup> Hashimoto

<sup>5</sup> Oksman-Caldenty

<sup>6</sup> Parr

<sup>7</sup> Demeyer

<sup>8</sup> Dejaegere

<sup>9</sup> Doerk-Schmitz

## مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی از رویشگاه‌های طبیعی آنها، جنوب تبریز در ارتفاع ۱۳۰۰ متر، کوه میشوداغ (مرند) در ارتفاع ۱۹۰۰ متر و روستای سفیده‌خوان، به طرف کوه سهند در ارتفاع ۲۶۰۰ متر، جمع‌آوری شدند. جمع‌آوری گیاهان در سه مرحله رویشی، گل‌دهی و میوه‌دهی انجام گرفت. بخش‌های مختلف گیاهان جمع‌آوری شده (ریشه، ساقه، برگ، سرشاخه‌های گل‌دار و بذر) به طور جداگانه در ۴۵ درجه سانتیگراد خشک و سپس آسیاب شده و پس از گذراندن از الک، پودر یکنواختی از نمونه‌ها تهیه شد که در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند.<sup>(۱۰)</sup>

برای اطمینان از وجود آلکالوئیدهای تروپان در بخش‌های گوناگون گیاهان نمونه‌برداری شده از روش کین<sup>۱</sup> استفاده شد<sup>(۱۳)</sup>. برای استخراج آلکالوئیدها ماده گیاهی خشک پودر شده (۰/۵ g) با ۱۵ ml اسیدسولفوریک ۰/۲ M تکان داده و به مدت یک ساعت به حال خود رها شد. پس از گذراندن محلول از صافی با افزایش یک میلی‌لیتر  $\text{NH}_3$  غلیظ محلول قلیایی شد و با افزایش ۱۵ ml اتر آلکالوئیدهای تروپان استخراج شدند. هر مرحله برای اطمینان از استخراج کامل دوبار تکرار شد. عصاره‌های اتری تبخیر و باقیمانده برای آنالیز بعدی استفاده شد<sup>(۱۴)</sup>. شناسایی آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین در عصاره‌های اتانولی اندام‌های گیاهی با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) انجام شد. فاز ثابت سیلیکاژل  $\text{GF}_{254}$ ،  $20 \times 20 \text{ cm}$  و فاز متحرک کلروفرم: اتانول:  $\text{NH}_4$  ۲۸٪ (۱: ۱۴: ۸۵) بود<sup>(۷)</sup>. برای آشکارسازی موقعیت آلکالوئیدها از معرف دراژندروف<sup>۲</sup> استفاده شد<sup>(۷)</sup>. برای سنجش میزان آلکالوئیدها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) نوع Kmuer استفاده گردید. در این روش از فاز ثابت ستون  $\text{C}_{18}$  با دکتور UV در  $210 \text{ nm}$  و فاز متحرک دی‌اکسان ۲٪ در بافر فسفات (pH = ۲/۶) - متانول (۵: ۹۵) و میزان جریان ۰/۵ ml/min استفاده شد. سیستم با هیوسیامین ( $R_t = 16/3 \text{ min}$ ) و اسکوپولامین ( $R_t = 12/5 \text{ min}$ ) استاندارد در گستره غلظت ۵-۵۰  $\mu\text{g/ml}$  تنظیم شد.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی میزان هیوسیامین و اسکوپولامین با محاسبه سطح زیر منحنی‌های HPLC و مقایسه آنها با منحنی‌های استاندارد با میانگین سه تکرار برای هر نمونه به دست آمد. نتایج حاصل از آنالیز عصاره‌های تهیه شده از اندام‌های گوناگون گیاهان جمع‌آوری شده در سه منطقه در مراحل مختلف رشد نشان دادند که آلکالوئیدهای تروپان در همه بخش‌های گیاهان هر دو گونه در هر مرحله رشدی وجود دارند. هیوسیامین آلکالوئید اصلی در همه بخش‌های گیاهان هر دو گونه در مراحل مختلف رشد بود، به استثنای بذرها که در آنها اسکوپولامین غالب بود (جداول ۱-۶). نتیجه بدست آمده مبنی بر زیاد بودن میزان هیوسیامین نسبت به اسکوپولامین در اندام‌های گیاهان این دو گونه، به استثنای بذر، با نتایج تحقیقات شیمومورا<sup>۳</sup> و همکاران (۱۹۹۱) سازگار است.<sup>(۱۵)</sup> طبق نتایج الشیخ<sup>۴</sup> و همکاران (۱۹۸۲) هیوسیامین آلکالوئید اصلی در همه بخش‌های گیاه *H. muticus* است و اسکوپولامین

<sup>1</sup> Cain<sup>2</sup> Dragendroff<sup>3</sup> Shimomura<sup>4</sup> El Sheikh

(هیوسین) در مقادیر کم به ویژه در ریشه‌ها وجود دارد<sup>(۱۶)</sup>. همچنین نتایج تحقیقات کلان (۱۹۳۱) روی گیاهان *H. L. niger* نشان دادند که اسکوپولامین در این گیاهان همیشه در مقدار کمتر وجود دارد و افزایش میزان هیوسیامین مقدار اسکوپولامین را نیز افزایش می‌دهد<sup>(۵)</sup>.

به علاوه، نتایج به دست آمده از بررسی میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در مراحل مختلف رشد گیاهان نشان دادند که مرحله رشد و نمو گیاه نقش مهمی در میزان این آلکالوئیدها دارد، به طوری که میزان آنها در مرحله گل‌دهی در اندام‌های ریشه، ساقه و برگ گیاهان هر دو گونه به بیشینه مقدار خود می‌رسد (جداول ۱-۶). نتایج همچنین نشان دادند که در مرحله گل‌دهی با افزایش میزان هیوسیامین نسبت به مرحله رویشی میزان اسکوپولامین گیاهان نیز افزایش می‌یابد. با این حال، به علت افزایش بیشتر میزان اسکوپولامین نسبت به هیوسیامین در این مرحله نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در اندام‌های مورد مطالعه در مقایسه با مرحله رویشی کاهش می‌یابد (جداول ۱-۶). نتایج مشابهی با این یافته که میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در مرحله گل‌دهی به بیشینه مقدار خود می‌رسند توسط اکسمان- کالدنتی و همکاران (۱۹۸۷) با تحقیق بر روی گیاه *H. muticus* گزارش شده است<sup>(۸)</sup>. نتایج تحقیقات دورک - اشمیتز و همکاران (۱۹۹۳) روی گیاه *H. albus* نیز نشان داد که میزان هیوسیامین در ریشه‌ها، برگ‌ها و ساقه‌ها در مرحله گل‌دهی بیشتر از دو مرحله رویشی و میوه‌دهی می‌باشد<sup>(۶)</sup>. با این حال، نتایج تحقیقات کیتامورا<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که در گیاه *H. niger L.* میزان هیوسیامین برگ‌ها در هر سه مرحله رویشی، میوه‌دهی و گل‌دهی بدون تغییر بوده و میزان آن در ریشه‌ها در مرحله گل‌دهی نسبت به مرحله رویشی کاهش می‌یابد. اما در مورد اسکوپولامین، افزایش میزان در برگ‌ها در مرحله گل‌دهی نسبت به مرحله رویشی دیده می‌شود، با این حال میزان اسکوپولامین ریشه‌ها در هر دو مرحله یکسان می‌باشد<sup>(۱۷)</sup>.

کاهش مشاهده شده در نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در مرحله گل‌دهی ممکن است نتیجه نمودن (به سبب مرحله نمو گیاهان) روی فعالیت آنزیم مسئول در تبدیل هیوسیامین به اسکوپولامین باشد. به علاوه، هنگامی که گیاهان بالغ می‌شوند نیتروژن نسبتاً بیشتری وارد ساختار هیوسیامین (و در نتیجه اسکوپولامین) می‌شود. زیرا گیاهان جوان‌تر بخش بزرگتری از اسیدآمین‌هایشان را برای متابولیسم اولیه به کار می‌برند، در حالی که گیاهان بالغ‌تر می‌توانند متابولیسم ثانویه را بهتر حمایت کنند.

نتایج این بررسی نشان دادند که مقادیر هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام‌های مختلف این گیاهان تفاوت دارند. در هر دو گونه مورد مطالعه کمترین میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در ساقه وجود داشت (جداول ۱-۶)، در حالیکه بالاترین میزان هیوسیامین و اسکوپولامین به ترتیب در برگ‌های مرحله گل‌دهی و بذرها دیده شد. بالاترین میزان هیوسیامین به ترتیب در برگ‌ها، سرشاخه‌های گل‌دار، ریشه‌ها، بذرها و ساقه‌ها و بیشترین مقادیر اسکوپولامین به ترتیب در بذرها، برگ‌ها، سرشاخه‌های گل‌دار، ریشه‌ها و ساقه‌ها دیده شد.

نتایج تحقیقات کلان (۱۹۳۱) روی گیاهان *H. niger L.* ترتیب محتوای آلکالوئیدی اندام‌های مختلف گیاه را به ترتیب در ریشه‌ها، سرشاخه‌های گل‌دار، میوه‌ها، برگ‌ها و ساقه نشان داد<sup>(۵)</sup>. نتایج اکسمان- کالدنتی و همکاران (۱۹۸۷) بر روی گیاه *H. muticus* نیز نشان داد که مقادیر آلکالوئیدها در ساقه‌ها کمتر از ریشه‌ها و برگ‌ها است<sup>(۸)</sup>.

<sup>1</sup> Kitamura

نتایج‌الشیخ و همکاران (۱۹۸۲) نشان داد که در گیاه *H. muticus* بیشترین میزان آلکالوئید به ترتیب در برگ‌ها، سرشاخه‌های گل‌دار، ریشه‌ها و ساقه‌ها وجود دارد<sup>(۱۶)</sup>. نتایج پار و همکاران (۱۹۹۰) و دورک - اشمیتز و همکاران (۱۹۹۳) به ترتیب حاصل از مطالعه گیاهان *H. pusillus L.* و *H. albus* نشان دادند که در جنس هیوسیاموس اندام‌های سبز تنها نقش کوچکی در ذخیره آلکالوئیدها بازی می‌کنند<sup>(۶ و ۹)</sup>.

نتایج به دست آمده همچنین نشان‌دهنده این مساله است که میزان آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین در مرحله میوه‌دهی در ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌های گیاهان مورد مطالعه کاهش می‌یابد، به طوری که در این اندام‌ها بیشترین مقدار این آلکالوئیدها در مرحله گل‌دهی و سپس به ترتیب در مرحله میوه‌دهی و رویشی دیده شد (جدول ۱-۶). کاهش مشاهده شده در میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در اندام‌های گیاهی در مرحله میوه‌دهی احتمالاً به سبب انباشته شدن آلکالوئیدها در بذرها در طی این دوره است. این یافته با نتایج بدست آمده از تحقیقات دمیر و دژاگر (۱۹۹۲) همسو است<sup>(۱۰)</sup>. در بعضی اندام‌ها بین نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در گیاهان این دو گونه در هر سه منطقه تفاوت وجود داشت (جدول ۱-۶). نتایج نشان دادند که گیاهان *H. arachnoideus Pojark* نسبت به گیاهان *H. reticulatus L.* مقادیر هیوسیامین و اسکوپولامین بالاتری دارند (جدول ۱-۶). تفاوت میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در گیاهان *H. arachnoideus Pojark* نسبت به *H. reticulatus L.* تا اندازه‌ای بازتاب توانایی بیوستز ریشه‌های گیاه و نیز اثرات انتقال و ذخیره گیاهان می‌باشد. در گیاهان تیره سیب‌زمینی، آلکالوئیدهای تروپان در ریشه ساخته و از آنجا مقادیر زیادی، گاهی با تغییر همزمان، به بخش‌های هوایی منتقل می‌شوند. بنابراین برآورد توان بیوستزی گیاه بدون آنالیز گیاه کامل غیرممکن است. همچنین بیشترین مقدار هیوسیامین و اسکوپولامین در گیاهان متعلق به هر دو گونه در گیاهان جمع آوری شده از اطراف روستای سفیده‌خوان دیده شد (جدول ۱ و ۴).

جدول ۱- مقادیر هیوسیامین، اسکوپولامین و نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در گیاه *H. arachnoideus Pojark* در روستای سفیده‌خوان بر حسب درصد وزن خشک (D.W.%)

| مرحله جمع‌آوری | اندام گیاهی       | هیوسیامین       | اسکوپولامین     | نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین |
|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| رویشی          | ریشه              | ۰/۱۳۳۶ ± ۰/۰۱۰۳ | ۰/۰۷۴۴ ± ۰/۰۰۶۸ | ۱/۷۹۹ ± ۰/۱۱۵۳                |
|                | ساقه              | ۰/۰۴۱۱ ± ۰/۰۰۳۷ | ۰/۰۳۲۵ ± ۰/۰۰۳۶ | ۱/۲۶۲ ± ۰/۱۰۴۳                |
|                | برگ               | ۰/۱۷۴۲ ± ۰/۰۱۲۴ | ۰/۰۹۵۸ ± ۰/۰۰۷۹ | ۱/۸۱۸ ± ۰/۱۲۳۷                |
| گل‌دهی         | ریشه              | ۰/۱۸۱۰ ± ۰/۰۱۵۹ | ۰/۱۰۸۰ ± ۰/۰۱۱۶ | ۱/۶۷۵ ± ۰/۱۵۰۹                |
|                | ساقه              | ۰/۰۶۰۰ ± ۰/۰۰۶۷ | ۰/۰۴۹۳ ± ۰/۰۰۴۴ | ۱/۲۲۴ ± ۰/۱۴۲۳                |
|                | برگ               | ۰/۲۳۰۹ ± ۰/۰۱۷۸ | ۰/۱۴۴۵ ± ۰/۰۱۳۵ | ۱/۵۴۶ ± ۰/۱۳۱۰                |
|                | سرشاخه‌های گل‌دار | ۰/۲۰۶۷ ± ۰/۰۲۳۰ | ۰/۱۳۳۷ ± ۰/۰۱۰۷ | ۱/۳۹۱ ± ۰/۱۱۵۰                |
| میوه‌دهی       | ریشه              | ۰/۱۵۱۰ ± ۰/۰۱۳۷ | ۰/۰۸۷۰ ± ۰/۰۰۹۵ | ۱/۷۳۶ ± ۰/۱۲۸۶                |
|                | ساقه              | ۰/۰۵۰۷ ± ۰/۰۰۳۵ | ۰/۰۳۳۶ ± ۰/۰۰۴۷ | ۱/۵۵۱ ± ۰/۱۴۶۳                |
|                | برگ               | ۰/۱۹۵۲ ± ۰/۰۲۸۱ | ۰/۱۲۳۲ ± ۰/۰۱۰۰ | ۱/۵۸۵ ± ۰/۱۲۶۸                |
|                | بذر               | ۰/۱۳۶۸ ± ۰/۰۲۲۱ | ۰/۱۹۱۴ ± ۰/۰۱۴۵ | ۰/۷۱۵۲ ± ۰/۰۷۶۹               |

جدول ۲- مقادیر هیوسیامین، اسکوپولامین و نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در گیاه *H. arachnoideus* Pojark در میشوداغ (مرند) بر حسب درصد وزن خشک (%D.W.)

| مرحله جمع‌آوری | اندام گیاهی       | هیوسیامین       | اسکوپولامین     | نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین |
|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| رویشی          | ریشه              | ۰/۱۱۰۱ ± ۰/۰۱۰۸ | ۰/۰۵۵۱ ± ۰/۰۰۵۸ | ۱/۹۹۷ ± ۰/۳۱۷۰                |
|                | ساقه              | ۰/۰۳۴۸ ± ۰/۰۰۳۹ | ۰/۰۱۷۶ ± ۰/۰۰۱۶ | ۱/۹۷۶ ± ۰/۱۶۳۳                |
|                | برگ               | ۰/۱۵۵۷ ± ۰/۰۱۳۸ | ۰/۰۸۲۱ ± ۰/۰۰۶۸ | ۱/۸۹۳ ± ۰/۱۴۰۲                |
| گل‌دهی         | ریشه              | ۰/۱۵۹۶ ± ۰/۰۱۲۶ | ۰/۰۸۶۸ ± ۰/۰۰۴۹ | ۱/۸۴۴ ± ۰/۲۲۴۹                |
|                | ساقه              | ۰/۰۴۴۸ ± ۰/۰۰۳۴ | ۰/۰۳۱۷ ± ۰/۰۰۲۱ | ۱/۴۳۳ ± ۰/۱۲۴۷                |
|                | برگ               | ۰/۱۹۵۲ ± ۰/۰۱۶۰ | ۰/۱۱۹۱ ± ۰/۰۱۲۸ | ۱/۶۵۰ ± ۰/۱۷۹۳                |
|                | سرشاخه‌های گل‌دار | ۰/۱۶۹۳ ± ۰/۰۱۸۸ | ۰/۱۰۲۳ ± ۰/۰۱۷۶ | ۱/۶۵۳ ± ۰/۲۳۹۶                |
| میوه‌دهی       | ریشه              | ۰/۱۴۰۵ ± ۰/۰۱۹۵ | ۰/۰۵۷۲ ± ۰/۰۰۳۶ | ۲/۴۸۴ ± ۰/۲۵۳۵                |
|                | ساقه              | ۰/۰۳۸۹ ± ۰/۰۰۵۷ | ۰/۰۲۵۷ ± ۰/۰۰۱۸ | ۱/۵۸۰ ± ۰/۲۸۷۳                |
|                | برگ               | ۰/۱۶۶۲ ± ۰/۰۲۲۰ | ۰/۰۸۴۶ ± ۰/۰۰۶۴ | ۱/۹۸۱ ± ۰/۱۵۸۵                |
|                | بذر               | ۰/۱۱۸۰ ± ۰/۰۱۳۹ | ۰/۱۴۴۷ ± ۰/۰۲۶۳ | ۰/۸۱۴۹ ± ۰/۰۶۲۲               |

جدول ۳- مقادیر هیوسیامین، اسکوپولامین و نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در گیاه *H. arachnoideus* Pojark در جنوب تبریز بر حسب درصد وزن خشک (%D.W.)

| مرحله جمع‌آوری | اندام گیاهی       | هیوسیامین       | اسکوپولامین     | نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین |
|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| رویشی          | ریشه              | ۰/۰۸۴۷ ± ۰/۰۰۳۲ | ۰/۰۴۹۷ ± ۰/۰۰۳۷ | ۱/۷۱۵ ± ۰/۲۱۷۱                |
|                | ساقه              | ۰/۰۲۴۸ ± ۰/۰۰۱۷ | ۰/۰۱۳۹ ± ۰/۰۰۱۴ | ۱/۷۹۱ ± ۰/۲۰۳۵                |
|                | برگ               | ۰/۱۱۲۷ ± ۰/۰۲۰۹ | ۰/۰۶۶۷ ± ۰/۰۰۲۴ | ۱/۶۹۰ ± ۰/۲۶۰۰                |
| گل‌دهی         | ریشه              | ۰/۱۱۳۵ ± ۰/۰۱۱۵ | ۰/۰۶۸۹ ± ۰/۰۰۴۵ | ۱/۶۵۰ ± ۰/۱۴۸۶                |
|                | ساقه              | ۰/۰۳۷۴ ± ۰/۰۰۲۸ | ۰/۰۲۲۴ ± ۰/۰۰۲۷ | ۱/۶۸۶ ± ۰/۱۸۳۳                |
|                | برگ               | ۰/۱۴۹۵ ± ۰/۰۱۸۲ | ۰/۰۹۳۶ ± ۰/۰۰۵۳ | ۱/۶۰۲ ± ۰/۲۱۳۶                |
|                | سرشاخه‌های گل‌دار | ۰/۱۲۶۳ ± ۰/۰۲۶۳ | ۰/۰۸۶۷ ± ۰/۰۰۴۱ | ۱/۴۶۰ ± ۰/۱۲۰۷                |
| میوه‌دهی       | ریشه              | ۰/۱۰۲۷ ± ۰/۰۱۵۳ | ۰/۰۴۷۶ ± ۰/۰۰۱۹ | ۲/۱۵۶ ± ۰/۳۹۲۰                |
|                | ساقه              | ۰/۰۳۱۸ ± ۰/۰۰۸۲ | ۰/۰۱۵۰ ± ۰/۰۰۱۲ | ۲/۱۲۳ ± ۰/۱۷۹۹                |
|                | برگ               | ۰/۱۳۰۰ ± ۰/۰۲۲۸ | ۰/۰۷۶۰ ± ۰/۰۰۵۱ | ۱/۷۰۷ ± ۰/۲۰۰۸                |
|                | بذر               | ۰/۰۹۲۰ ± ۰/۰۰۶۹ | ۰/۱۱۸۳ ± ۰/۰۲۹۶ | ۰/۷۷۷۶ ± ۰/۰۵۹۸               |

جدول ۴- مقادیر هیوسیامین ، اسکوپولامین و نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در گیاه *H. reticulatus L.* در روستای سفیده‌خوان بر حسب درصد وزن خشک (%D.W.)

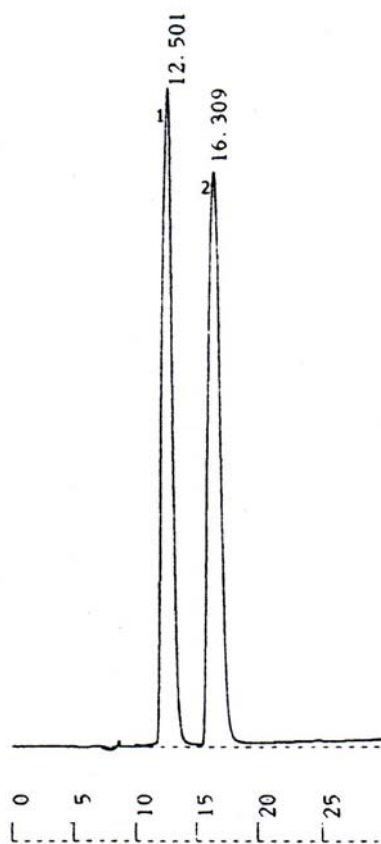
| مرحله جمع‌آوری | اندام گیاهی       | هیوسیامین       | اسکوپولامین     | نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین |
|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| رویشی          | ریشه              | ۰/۱۰۶۴ ± ۰/۰۱۲۱ | ۰/۰۴۵۶ ± ۰/۰۰۴۹ | ۲/۳۳۳ ± ۰/۲۸۸۰                |
|                | ساقه              | ۰/۰۲۶۰ ± ۰/۰۰۳۶ | ۰/۰۱۲۰ ± ۰/۰۰۱۸ | ۲/۲۴۸ ± ۰/۱۹۸۹                |
|                | برگ               | ۰/۱۴۴۷ ± ۰/۰۱۵۲ | ۰/۰۷۸۴ ± ۰/۰۰۶۴ | ۱/۸۴۴ ± ۰/۲۵۲۶                |
| گل‌دهی         | ریشه              | ۰/۱۳۹۸ ± ۰/۰۲۴۵ | ۰/۰۹۶۰ ± ۰/۰۰۳۸ | ۱/۴۵۶ ± ۰/۱۵۸۳                |
|                | ساقه              | ۰/۰۴۲۵ ± ۰/۰۰۳۸ | ۰/۰۳۱۵ ± ۰/۰۰۴۷ | ۱/۳۵۱ ± ۰/۱۴۲۲                |
|                | برگ               | ۰/۱۷۱۱ ± ۰/۰۳۳۵ | ۰/۱۱۹۰ ± ۰/۰۲۴۸ | ۱/۴۳۸ ± ۰/۱۶۳۴                |
|                | سرشاخه‌های گل‌دار | ۰/۱۴۶۳ ± ۰/۰۱۷۸ | ۰/۱۰۵۳ ± ۰/۰۳۴۰ | ۱/۳۹۰ ± ۰/۱۲۹۹                |
| میوه‌دهی       | ریشه              | ۰/۱۲۱۳ ± ۰/۰۲۵۳ | ۰/۰۴۰۳ ± ۰/۰۰۶۲ | ۳/۰۳۲ ± ۰/۲۶۳۷                |
|                | ساقه              | ۰/۰۳۳۳ ± ۰/۰۰۲۲ | ۰/۰۲۰۱ ± ۰/۰۰۱۴ | ۱/۶۰۹ ± ۰/۲۲۶۶                |
|                | برگ               | ۰/۱۵۶۸ ± ۰/۰۲۰۱ | ۰/۰۷۷۹ ± ۰/۰۰۸۹ | ۲/۰۲۹ ± ۰/۱۶۵۰                |
|                | بذر               | ۰/۰۹۹۷ ± ۰/۰۰۹۶ | ۰/۱۲۸۰ ± ۰/۰۳۷۶ | ۰/۷۷۸۹ ± ۰/۸۱۱                |

جدول ۵- مقادیر هیوسیامین ، اسکوپولامین و نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در گیاه *H. reticulatus L.* در میشوداغ (مرند) بر حسب درصد وزن خشک (%D.W.)

| مرحله جمع‌آوری | اندام گیاهی       | هیوسیامین       | اسکوپولامین     | نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین |
|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| رویشی          | ریشه              | ۰/۰۷۹۲ ± ۰/۰۰۹۴ | ۰/۰۳۳۱ ± ۰/۰۰۲۲ | ۲/۴۰۲ ± ۰/۳۱۱۹                |
|                | ساقه              | ۰/۰۲۰۳ ± ۰/۰۰۲۲ | ۰/۰۱۱۰ ± ۰/۰۰۱۳ | ۱/۸۶۰ ± ۰/۲۰۲۲                |
|                | برگ               | ۰/۱۰۴۷ ± ۰/۰۱۰۹ | ۰/۰۶۹۷ ± ۰/۰۰۷۶ | ۱/۵۱۱ ± ۰/۱۳۶۱                |
| گل‌دهی         | ریشه              | ۰/۱۱۳۱ ± ۰/۰۱۹۵ | ۰/۰۷۱۹ ± ۰/۰۰۶۱ | ۱/۵۷۴ ± ۰/۱۲۹۰                |
|                | ساقه              | ۰/۰۳۲۷ ± ۰/۰۰۲۸ | ۰/۰۱۹۰ ± ۰/۰۰۶۰ | ۱/۷۱۵ ± ۰/۱۵۵۸                |
|                | برگ               | ۰/۱۳۰۹ ± ۰/۰۱۳۸ | ۰/۰۹۶۶ ± ۰/۰۱۰۲ | ۱/۳۵۲ ± ۰/۱۴۲۳                |
|                | سرشاخه‌های گل‌دار | ۰/۱۲۴۱ ± ۰/۰۱۱۱ | ۰/۰۸۸۲ ± ۰/۰۰۷۳ | ۱/۴۲۴ ± ۰/۱۱۱۲                |
| میوه‌دهی       | ریشه              | ۰/۰۹۶۸ ± ۰/۰۱۲۷ | ۰/۰۵۱۶ ± ۰/۰۰۶۶ | ۱/۸۷۸ ± ۰/۱۷۵۵                |
|                | ساقه              | ۰/۰۲۵۲ ± ۰/۰۰۲۹ | ۰/۰۱۴۰ ± ۰/۰۰۱۰ | ۱/۷۸۸ ± ۰/۱۱۷۶                |
|                | برگ               | ۰/۱۱۵۷ ± ۰/۰۱۶۵ | ۰/۰۸۴۹ ± ۰/۰۰۶۲ | ۱/۳۶۶ ± ۰/۱۹۸۰                |
|                | بذر               | ۰/۰۸۵۴ ± ۰/۰۰۹۳ | ۰/۱۰۸۸ ± ۰/۰۱۶۵ | ۰/۷۸۴۲ ± ۰/۰۹۴۵               |

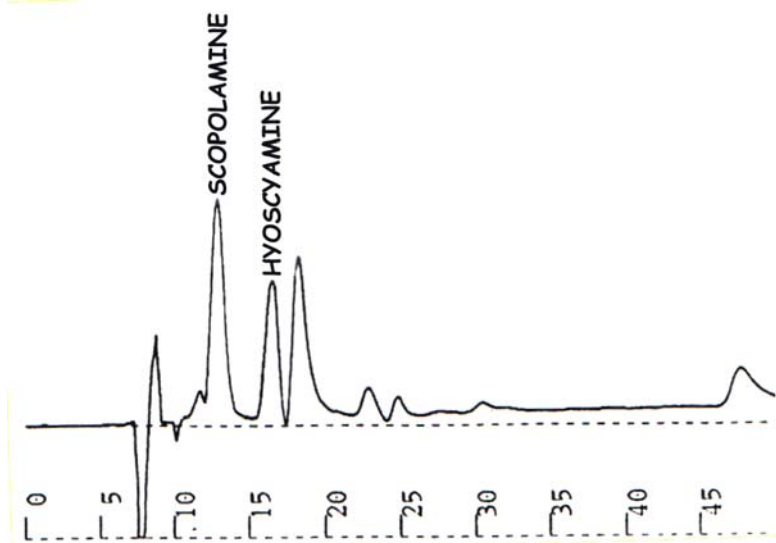
جدول ۶- مقادیر هیوسیامین ، اسکوپولامین و نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین و در گیاه *H. reticulatus L.* در جنوب تبریز بر حسب درصد وزن خشک (%D.W.)

| مرحله جمع‌آوری | اندام گیاهی       | هیوسیامین       | اسکوپولامین     | نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین |
|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| رویشی          | ریشه              | ۰/۰۵۷۶ ± ۰/۰۰۴۴ | ۰/۰۳۴۸ ± ۰/۰۰۴۶ | ۱/۶۷۲ ± ۰/۱۳۲۷                |
|                | ساقه              | ۰/۰۱۸۲ ± ۰/۰۰۱۳ | ۰/۰۱۱۶ ± ۰/۰۰۱۰ | ۱/۵۸۹ ± ۰/۱۲۱۳                |
|                | برگ               | ۰/۰۸۰۳ ± ۰/۰۰۷۲ | ۰/۰۵۰۲ ± ۰/۰۰۵۸ | ۱/۶۰۵ ± ۰/۱۰۹۲                |
| گل‌دهی         | ریشه              | ۰/۰۹۳۱ ± ۰/۰۰۶۹ | ۰/۰۶۹۷ ± ۰/۰۰۵۴ | ۱/۳۳۷ ± ۰/۱۵۵۵                |
|                | ساقه              | ۰/۰۲۶۴ ± ۰/۰۰۱۹ | ۰/۰۲۲۵ ± ۰/۰۰۲۲ | ۱/۱۷۱ ± ۰/۱۲۵۹                |
|                | برگ               | ۰/۱۰۷۶ ± ۰/۰۱۱۴ | ۰/۰۷۹۲ ± ۰/۰۰۹۵ | ۱/۳۵۹ ± ۰/۱۲۰۳                |
|                | سرشاخه‌های گل‌دار | ۰/۰۸۵۸ ± ۰/۰۰۶۴ | ۰/۰۵۹۱ ± ۰/۰۰۴۸ | ۱/۴۵۳ ± ۰/۱۹۳۷                |
| میوه‌دهی       | ریشه              | ۰/۰۷۰۸ ± ۰/۰۰۴۸ | ۰/۰۴۲۵ ± ۰/۰۰۳۹ | ۱/۶۸۸ ± ۰/۱۴۴۳                |
|                | ساقه              | ۰/۰۲۲۰ ± ۰/۰۰۱۲ | ۰/۰۱۳۷ ± ۰/۰۰۱۳ | ۱/۶۵۳ ± ۰/۱۱۸۹                |
|                | برگ               | ۰/۰۹۰۷ ± ۰/۰۰۵۶ | ۰/۰۶۵۰ ± ۰/۰۰۳۵ | ۱/۳۹۷ ± ۰/۱۱۱۸                |
|                | بذر               | ۰/۰۷۲۷ ± ۰/۰۰۶۶ | ۰/۰۸۸۰ ± ۰/۰۰۵۸ | ۰/۸۲۵۸ ± ۰/۶۹۴                |

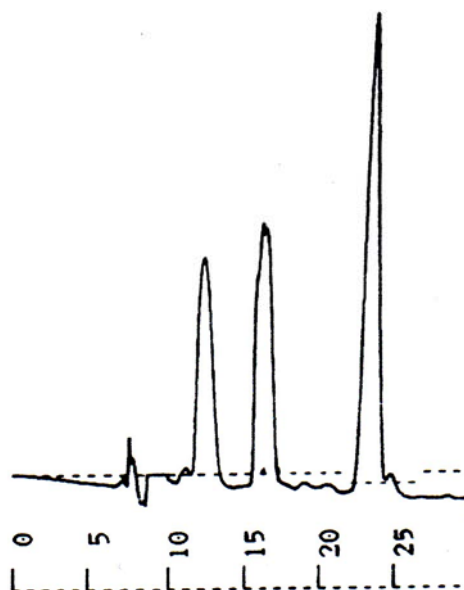


شکل شماره ۱- کروماتوگرام حاصل از HPLC محلول استاندارد هیوسیامین (1) و اسکوپولامین (2)

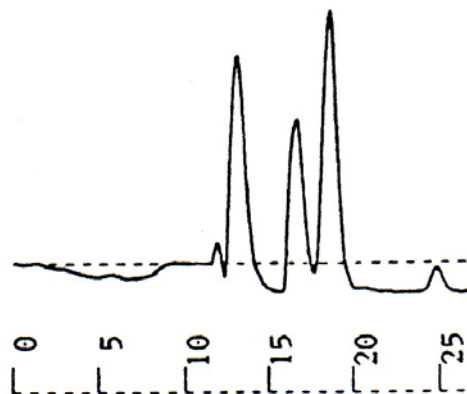




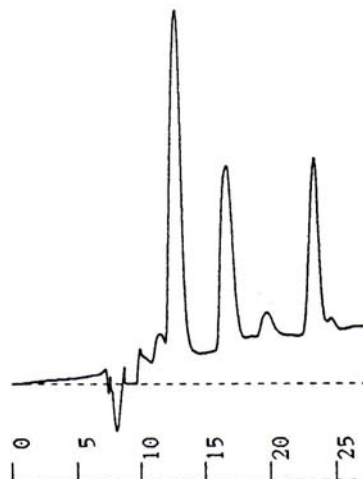
شکل ۲ - کروماتوگرام حاصل از یک نمونه عصاره ریشه *H. arachnoideus* Pojark در مرحله رویشی



شکل شماره ۳- کروماتوگرام حاصل از یک نمونه عصاره برگ *H. reticulatus* L. در مرحله گل دهی



شکل شماره ۴- کروماتوگرام حاصل از یک نمونه عصاره بذر *H. arachnoideus* Pojark



شکل شماره ۵- کروماتوگرام حاصل از یک نمونه عصاره ریشه *H. reticulatus* L. در مرحله گل‌دهی

### نتیجه‌گیری

بیشترین میزان هیوسیامین در برگها در مرحله گل‌دهی و بیشترین میزان اسکوپولامین در بذرهای این دو گونه وجود داشت، در حالی که در هر سه مرحله مورد مطالعه کمترین میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در ساقه‌ها یافت شد. در هر دو گونه آلکالوئید غالب در بخش‌های گوناگون گیاهان، به استثنای بذرها، هیوسیامین بود. هر دوی هیوسیامین و اسکوپولامین مورد علاقه تجارتهی هستند و وجود این اختلاف می‌تواند مزیتی برای انتخاب اندام دارنده هیوسیامین یا اسکوپولامین بیشتر به عنوان فرآورده اصلی باشد. بیشترین میزان این دو آلکالوئید در مرحله گل‌دهی وجود داشت. گیاهان *H. arachnoideus* Pojark از نظر تراز این آلکالوئیدها غنی‌تر از گیاهان *H. reticulatus* L. بودند و از نظر ژنتیکی توان بیوستز آلکالوئیدی بالاتری داشتند. تأیید تفاوت‌های کمی مشخص درون گونه‌های یک جنس به روشنی می‌تواند نشان دهد که خزانه اختلاف‌های ژنتیکی بزرگی در میان

گونه‌های جنس هیوسیاموس وجود دارد که می‌تواند در تولید آلکالوئیدهای تروپان به کار گرفته شود. عوامل اکولوژیکی تولید این آلکالوئیدها را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اگرچه، سنتز این مواد در اصل تحت کنترل فرآیندهای ژنتیکی است، ولی به طور آشکار تحت تاثیر عوامل محیطی و تغییرات آنها قرار می‌گیرد. برای مثال، تراز پایین‌تر پتاسیم به افزایش میزان آلکالوئیدها منجر می‌شود. این مسأله نشان می‌دهد که کاهش یون پتاسیم عرضه پیش‌ساز آلکالوئید را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آرژینین دکربوکسیلاز و ارنیتین دکربوکسیلاز که مسئول سنتز پوترسین هستند، افزایش می‌دهد. این یون به طور مستقیم فعالیت تعداد زیادی از آنزیم‌ها، از جمله آنزیم‌های مربوط به بیوسنتز آلکالوئیدها را با تاثیر روی کنفورماسیون پروتئین تنظیم می‌کند. اگرچه، این مسأله به بررسی‌های بیشتر نیاز دارد. زیرا اطلاعات محدودی درباره تاثیر مواد معدنی بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه وجود دارد.

## References

- 1- Sikuli, N. N. and Demeyer, K., *Plant cell, tissue and organ culture*, **47**, 261 (1997).
- 2- Cordell, G. A., *Introduction to alkaloids*. John Willey and Sons, New York (1981).
- 3- Hashimoto, T. and Yamada, Y., *Planta Medica*, **47**, 195 (1983).
- 4- Chevallier, A., *The encyclopedia of medicinal plants*. Dorling Kindersely Publishing, New York (1996).
- 5- Klan, Z. F., *American Pharmaceutical Association*, **20** (11), 1163(1931).
- 6- Doerk - Schmitz, K., Witte, L. and Alfermann, W., *Phytochemistry*, **33** (4), 107 (1993).
- 7- Hashimoto, T., Hagashi, A., Amono, Y., Kohono, J., Jwanari, H., Usada, S. and Yamada, Y., *The Journal of Biological Chemistry*, **266** (7), 4648 (1991).
- 8- Oksman- Caldenty, K. M., Vrurela, H., Straub, A. and Hiltunen, R., *Planta Medica*, **53**(4), 349 (1987).
- 9- Parr, A. J., Payne, J., Eagles, J., Chapman, B. T., Robins, R. J. and Rhodes, M. J. C., *Phytochemistry*, **29**(8), 2545 (1990).
- 10- Demeyer, K. and Dejaegere, R., *Plant and Soil*, **147**, 79 (1992).
- 11- Woo, S. H., Park, T. M. and Yang, T. W., *Plant cell, tissue and organ culture*, **48**, 131 (1997).
- 12- Samsam Shariat, H., *Extraction of secondary metabolites of medicinal plants and methods of determination and quantification*. Mani Publication, Esfahan (1992).
- 13- Maldoni, B., *Alkaloids: isolation and purification*. *Journal of Chemical Education*, **68**(8), 700 (1991).
- 14- Bashir Khan, M. and Harborne, J. B., *Phytochemistry*, **30** (11), 3559 (1991).
- 15- Woo, S. H., Park, J. M. and Yang, J-W, *Biotechnology letters*, **17**(9), 921 (1995).
- 16- El Sheikh, M. O. A., El Hassan, G. M., Tayeb Abdel Hafeez, A. R., Abdalla, A. A. and Antoun M. D., *Planta Medica*, **45**, 116 (1982).
- 17- Kitamura, Y., Sato, M. and Miura, H., *Phytochemistry*, **31**(4), 1191 (1992).