

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

فروش فتاحی<sup>۱</sup>، عبدالعلی شجاعیان<sup>۲\*</sup>، حسنی نقدی بادی<sup>۳</sup>، علی مختصی بیدگلی<sup>۴</sup>، خاویز پالازون<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری تخصصی علوم باغبانی - گیاهان دارویی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۳- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی. کرج، ایران ۴- استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۵- استادیار، گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده فارماکولوژی، دانشگاه بارسلونا، بارسلونا، اسپانیا  
\* نویسنده مسئول: Shojaeiyan@modares.ac.ir

### چکیده

در این پژوهش میزان تروپان آلکالوئیدهای هیوسيامین و اسکوپولامین در اندام‌های زیرزمینی و هوایی گونه‌های جنس بنگ‌دانه شامل گونه‌های *H. orthocarpus*، *H. scoparia*، *H. kurdicus*، *H. pusillus*، *H. squarrosus*، *H. Kotschyanus* مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش بصورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نمونه‌ها از اندام‌های خشک شده زیرزمینی و هوایی گیاهان ۶ الی ۷ ماهه عصاره‌گیری و پس از آن میزان آلکالوئیدهای هیوسيامین و اسکوپولامین توسط دستگاه HPLC ارزیابی شد. نتایج نشان داد که میزان هیوسيامین و اسکوپولامین در گونه *H. orthocarpus* نسبت به سایر گونه‌ها بیشتر بود و مجموع این دو ترکیب در این گونه حدود دو برابر گونه *H. kotschyanus* و چندین برابر سایر گونه‌های مورد بررسی بود.

**کلمات کلیدی:** *Hyoscyamus spp.*، تروپان آلکالوئید، هیوسيامین، اسکوپولامین.

### مقدمه

هیوسيامین<sup>۱</sup> و اسکوپولامین<sup>۲</sup> از نظر دارویی جزء تروپان آلکالوئیدهای مهم هستند که به طور منحصر به فرد توسط گیاهان تولید می‌شوند (Banerjee et al., 2008) و به عنوان داروهای مهارکننده اعصاب پاراسمپاتیک کاربرد دارند (Shalabi et al., 2014; Adibfar et al., 2009). بنگ‌دانه (هیوسياموس<sup>۳</sup>) یکی از جنس‌های مهم تیره سیب‌زمینی می‌باشد. این جنس در فلور ایرانیکا ۱۸ گونه دارد. تمام پیکر گیاه حاوی آلکالوئیدهای تروپان است که کمیت و کیفیت آن در اندام‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Omidbaigi, 2006). تفاوت‌های کمی مشخص آلکالوئیدهای اسکوپولامین و هیوسيامین درون جنس هیوسياموس نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی زیادی در میان گونه‌های این جنس وجود دارد که می‌تواند در تولید تروپان آلکالوئیدها به کار رود. (Bahmanzadegan et al., 2008). بنابراین پژوهش حاضر، با در نظر گرفتن اهمیت دارویی تروپان آلکالوئیدها و شناسایی و حفظ ذخایر ژنتیکی کشور از لحاظ توانایی تولید این دسته از ترکیبات دارویی و کیفیت آن‌ها در اندام‌های زیرزمینی و هوایی، روی چند گونه از جنس بنگ‌دانه‌های ایران، انجام شد.

### مواد و روش‌ها

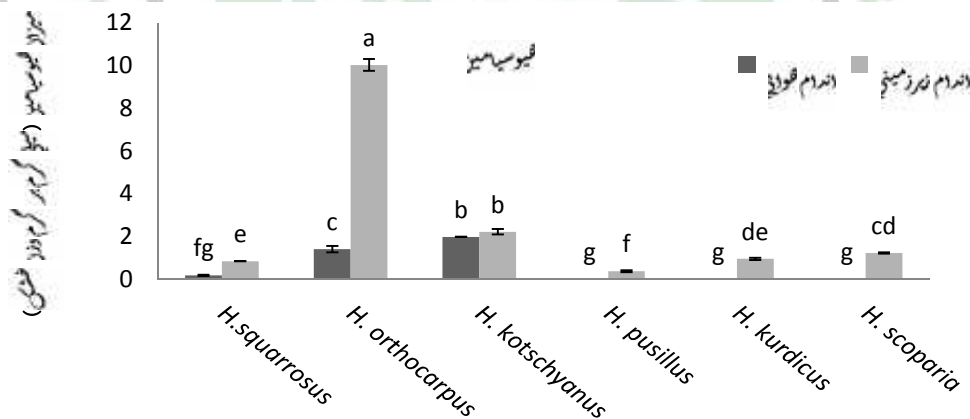
این پژوهش در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس و دانشکده داروسازی دانشگاه بارسلونا واقع در کشور اسپانیا، بصورت فاکتوریل شامل فاکتور اول در ۶ سطح (۶ گونه جنس *Hyoscyamus*) و فاکتور دوم در دو سطح (۲ اندام زیرزمینی و هوایی) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تحقیق حاضر روی ۶ گونه از جنس بنگ‌دانه‌های ایران شامل گونه‌های

1. Hyoscyamine
2. Scopolamine
3. Hyoscyamus

شکستن رکود به وسیله اسید جیبرلیک (۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) در گلدان‌های مناسب حاوی ۲ قسمت تورب و ۱ قسمت ورمی کولایت، کشت شدند و در اتاق کشت تحت دمای ۲۵ درجه، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. اندام‌های هوایی (برگ و دمبرگ) و زیرزمینی (ریشه) گیاهان ۶ الی ۷ ماهه بیساک که در مرحله رشد رویشی بودند به طور جداگانه در آون تحت دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس ۱۰۰ میلی گرم از مواد گیاهی در لوله آزمایش حاوی ۲ میلی لیتر 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 سانتریفیوژ شدند. (Moyano et al., 2002). به منظور تجزیه کمی و کیفی عصاره استخراج شده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۱</sup> استفاده شد.

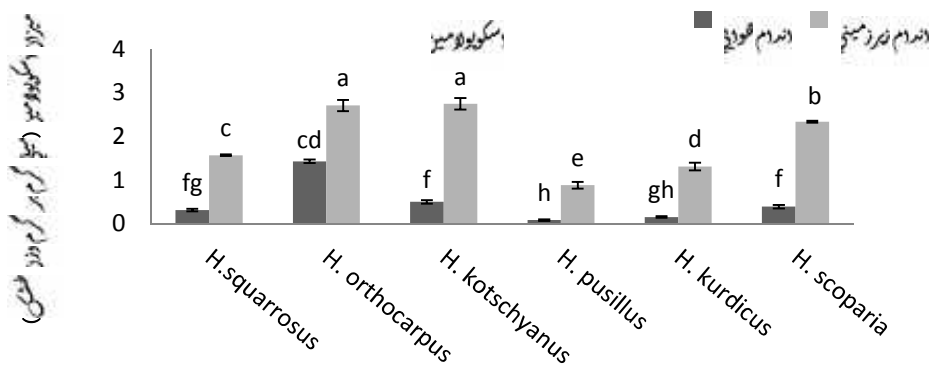
## نتایج

نتایج حاصل از آنالیز 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 (شکل ۱). به طور کلی، مقدار هیوسیامین در اندام‌های زیرزمینی نسبت به اندام‌های هوایی بیشتر بود. بین اندام‌های هوایی و زیرزمینی این ۶ گونه اختلاف معنی داری از لحاظ مقدار هیوسیامین مشاهده شد. بیشترین میزان هیوسیامین به مقدار ۱۰/۲۷ میلی گرم بر گرم وزن خشک در اندام زیرزمینی گیاه *H. orthocarpus* وجود داشت (شکل ۱) در بین اندام‌های هوایی، بیشترین مقدار هیوسیامین در گونه *H. kotschyanus* مشاهده شد. همچنین نتایج بدست 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 معنی داری مشاهده شد (شکل ۲). به طور کلی می‌توان بیان کرد که اندام‌های زیرزمینی نسبت به اندام‌های هوایی، حاوی اسکوپولامین بیشتری بودند.



شکل ۱- میزان هیوسیامین در اندام هوایی و اندام زیرزمینی گونه‌های مختلف جنس *Hyoscyamus* spp. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری 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 میلی گرم بر گرم وزن خشک وجود داشت و کمترین مقدار اسکوپولامین در اندام هوایی *H. pusillus* به مقدار ۰/۰۸ میلی گرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد. در بین اندام‌های هوایی نیز گونه *H. orthocarpus* حاوی بیشترین مقدار اسکوپولامین بود (شکل ۲).



شکل ۲- میزان اسکوپولامین در اندام هوایی و اندام زیرزمینی گونه‌های مختلف جنس *Hyoscyamus* spp. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

## 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 (Bahmanzadegan et al., 2008). نتایج بدست 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 هیوسيامین در مقایسه با اندام هوایی بودند. در تحقیقی که توسط 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 هیوسيامین بیشتری بودند. این تفاوت تا حدی به دلیل اثرات انتقال، ذخیره و پتانسیل بیوسنتز در این دو اندام می‌باشد (Adibfar et al., 2009). ریشه محل اصلی بیوسنتز آلکالوئیدهای تروپان است و تبدیل هیوسيامین به اسکوپولامین در سلول‌های پریسیکل ریشه اتفاق می‌افتد. سپس آلکالوئیدهای سنتز شده به اندام‌های هوایی منتقل می‌شوند (Dehghan et al., 2013) در این پژوهش بیشترین مقدار هیوسيامین و اسکوپولامین در اندام زیرزمینی گیاه *H. orthocarpus* وجود داشت و بیکره رویشی این گونه نسبت به سایر گونه‌ها، حاوی بیشترین میزان هیوسيامین، اسکوپولامین و مجموع هر دو تروپان آلکالوئید بود. همچنین آلکالوئید غالب آن هیوسيامین بود. همسو با نتیجه بدست آمده، Al Shaikh و همکاران (۱۹۸۲) با بررسی گونه *H. muticus* گزارش کرده‌اند که هیوسيامین آلکالوئید اصلی در همه بخش‌های این گیاه بود. درحالی که هیوسین در مقادیر کم به ویژه در ریشه‌ها وجود داشت (Al sheikh et al., 1982).

## منابع

- Adibfar E, Dilmaghani K and Shoar HH. 2009. Alkaloids contents of *Hyoscyamus niger* L. at different organs in different growth stages. *Ijpp*. 1: 187-192.
- Al Shaikh MO, Al Hassan GM, Hafiez AR, Al Tayib AR, Abd Allah AA and Antoun MD. 1982. Studies on Sudanese medicinal plants II: Indigenous *Hyoscyamus muticus* as possible commercial source for hyoscyamine. *Planta Med*. 45: 116-119.
- Bahmanzadegan A, Sefidkon F, Sonboli A and Jaimand K. 2008. Extraction and determination of tropane alkaloids, hyoscyamine and scopolamine, from different parts of *Hyoscyamus reticulatus* L. and *Hyoscyamus pusillus* L. *Pajouhesh and Sazandegi*. 79: 145- 153.
- Banerjee S, Madhusudanan KP, Chattopadhyay SK, Rahman L U and Khanuja SP. 2008. Expression of tropane alkaloids in the hairy root culture of *Atropa acuminata* substantiated by DART mass spectrometric technique. *Biomed.Chromatogr*. 22: 830-834.

5. Dehghan E, Ahmadi FS, Ravandi EG, Reed DW, Covello PS and Bahrami AR. 2013. An atypical pattern of accumulation of scopolamine and other tropane alkaloids and expression of alkaloid pathway genes in *Hyoscyamus senecionis*. *Plant Physiol Bioch.* 70: 188-194.
6. Dialmaghani K, Karvari- Nejad R, Fahimi H and Hekmat-shoar H. 2007. Comparison of tropane alkaloids content of *Hyoscyamus reticulatus* .L and *Hyoscyamus arachnoideus* Pojark at different growth stages. *Jsiaw.* 66: 51-61.
7. Moyano E, Fornale S, Palazon J, Cusido RM, Bagni N and Pinol MT. 2002. Alkaloid production in *Duboisia hybrid* hairy root cultures overexpressing the *pmt* gene. *Phytochemistry*, 59: 697-702.
8. Omidbaigi R. 2006. Production and processing of medicinal plants. 1st ed. *Astan Quds Razavi press*. Iran. pp: 243-250.
9. Shalabi K, AbdallahYM, Hassan HM and Fouda AS. 2014. Adsorption and corrosion inhibition of *Atropa belladonna* extract on carbon steel in 1 M HCl solution. *Int. J. Electrochem. Sci.* 9: 1468-1487.

### Quantitative assessment of hyoscyamine and scopolamine tropane alkaloids in root and shoot of *Hyoscyamus* spp. from Iran.

F. Fattahi<sup>1</sup>, A. Shojaeiyan<sup>2\*</sup>, H. A. Naghdi Badi<sup>3</sup>, A. Mokhtassi-Bidgoli<sup>4</sup>, J. Palazon Barandela<sup>5</sup>

1-Ph.D. student in horticultural sciences - Medicinal plants. Department of Horticultural sciences. Agriculture faculty. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. 2-Assistant professor. Department of Horticultural sciences. Agriculture faculty. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran 3-Research associate professor. Cultivation & Development Department of Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran. 4- Assistant professor. Department of Agronomy. Agriculture faculty. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran 5-Professor. Department of Plant physiology. Pharmacy faculty. University of Barcelona. Barcelona. Spain.

\*Corresponding author: Shojaeiyan@modares.ac.ir

#### Abstract

In this project the hyoscyamine and scopolamine tropane alkaloids content in shoots and roots of *Hyoscyamus* species including *H. kotschyanus*, *H. squarrosus*, *H. pusillus*, *H. kurdicus*, *H. scoparia*, *H. orthocarpus* was evaluated. This research was down as a factorial experiment with completely randomized design in three replications. Samples of dried shoot and underground organs of 6 to 7 month plants were extracted and then content of hyoscyamine and scopolamine was evaluated by HPLC. The results indicated that, Hyoscyamine and scopolamine content in *H. orthocarpus* were more than the other species and total of these two compounds in *H. orthocarpus* was approximately 2 times more than *H. kotschyanus* and manifold of the other studied species.

**Key words:** *Hyoscyamus* spp, Tropane alkaloid, Hyoscyamine, Scopolamine.