

بررسی گیاهشناسی و فیتوشیمیایی گیاه *Hyoscyamus reticulatus* L. موجود در فلور ایران

دکتر نصراله قاسمی دهکردی، دکتر سید ابراهیم سجادی، دکتر فیروزه ستایی
دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

خلاصه:

باتوجه به اهمیت الکالوئیدهای هیوسیامین (*Hyoscyamine*) و اسکوپولامین (*Scopolamine*) موجود در برگهای جنس هیوسیاموس (*Hyoscyamus*) که دارای خواص آنتی کلینرژیکی میباشند، گیاه *H. reticulatus* موجود در فلور ایران جمع آوری گردید و پس از بررسی خصوصیات مورفولوژی درصد هیوسیامین که الکالوئید اصلی این گیاه است، از نظر کمی با گونه *H. niger* مقایسه شد. در بررسی میکروسکوپی مشخص شد که شکل برگ در گونه رتیکولاتوس متفاوت از نیجر است. به این ترتیب که پهنک آن دارای تقسیمات عمیق بوده و گاهی نیز کامل میباشد. رنگ گلها و شبکه تزئینات بنفش رنگ روی گلبرگها نسبت به گونه نیجر تیره تر و واضح تر است. مقایسه میکروسکوپی این دو گونه حضور ترکیبهای بیشتری را در گونه رتیکولاتوس نشان می دهد. در آزمایشات فیتوشیمیایی مشاهده شد که درصد هیوسیامین در برگ نمونه جمع آوری شده کمتر از درصد موجود در برگ گونه نیجر میباشد.

مقدمه:

را دارا میباشند. اما در این راستا تعداد محدودی از گیاهان دارویی شناخته شده از لحاظ فارماکولوژیکی بررسی شده اند و بالطبع بایستی دامنه تحقیقات در این زمینه توسعه بیشتری یابد. از جمله مواد دارویی مهم میتوان از انواع الکالوئیدهای دارای اثرات آنتی کلینرژیکی نام برد که در گیاهان تیره سولاناسه (*Solanaceae*)

پیوند انسان با گیاهان همواره با رمز و رازهایی ناشناخته همراه بوده و اقوام مختلف سعی نموده اند تا با استفاده از اطلاعات پیشینیان و تجربیات علمی و عملی راز دنیای اسرار آمیز گیاهان را کشف کنند. خوشبختانه بعثت شرایط اقلیمی مناسب و سایر فاکتورهای خاص جغرافیایی گیاهان متنوع و زیادی در بیشتر مناطق ایران می رویند که اکثر آنها خواص درمانی مهمی

پراکنده میباشند و مهمترین آنها هیوسيامین واسکوپولامين میباشند. گیاهان این تیره بطور وسیعی در ایران پراکنده واز دیرباز شناخته شده‌اند ولی به لحاظ خواص سمی وکشنده کاربرد درمانی چندانی در بین مردم ندارند. اماترکیبات متفاوتی از آنها درکارخانجات داروسازی تهیه ودر بازار دارویی عرضه ومصرف میشوند. گرچه هیوسيامین واسکوپولامين بطور سنتتیک نیز تهیه گردیده‌اند ولی هزینه استخراج آنها از گیاه کمتر بوده و بدین منظور در مناطق مختلف کشت داده میشوند. باتوجه به پراکندگی وسیع گیاهان این تیره از جمله *Hyoscyamus reticulatus* L. در ایران به بررسی آن پرداخته شد.

بخش تجربی:

الف - تهیه وجمع آوری گیاه هیوسياموس رتیکولاتوس:

جمع آوری این گیاه در دو سال متوالی در اوایل خردادماه ۱۳۷۳ و ۱۳۷۲ از سه منطقه در استان چهارمحال وبختیاری انجام گرفته و سپس توسط کارشناس گیاهشناسی گروه فارماکوتکونوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران شناسایی گردید. نمونه گیاهی پس از جمع آوری بلافاصله تمیز و سپس برگها جدا گردید.

ب - آزمایشات ماکروسکوپی:

گونه جمع آوری شده از نظر شکل ظاهری، فرم برگها، گل، ساقه و دانه بانمونه استاندارد

مقایسه گردید. در این بررسی دانه هر دو نمونه

در زیر ذره بین مشاهده شد (۱).

ج - آزمایشات میکروسکوپی:

از برگهای نمونه جمع آوری شده برش تهیه و خردنگاری بامحلول کلرال هیدراته انجام وبوسیله میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت (۱).

د - روشهای بررسی فیتوشیمیایی:

۱- شناسایی کیفی

الف - تین لایر کروماتوگرافی:

تهیه عصاره: پس از خشک وآسیاب کردن برگها، ۱۰ گرم پودر را با ۱۰ سی سی اسید سولفوریک ۱/۰ نرمال خوب مخلوط نموده و برای مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. به محلول حاصل آمونیاک غلیظ افزوده تا قلیایی گردد، سپس محلول را دوبار هر بار با ۱۰ سی سی کلروفرم استخراج نموده وفاز کلروفرمی را جدا کرده وتوسط سولفات سدیم بدون آب آگیری گردید (۲).

روش تین لایر کروماتوگرافی: محلول حاصل را تغلیظ نموده و پس از سرد شدن حجم آنرا با کلروفرم به یک میلی لیتر رسانده و به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر (همراه ۲۰ میکرو لیتر محلول ۵/۰٪ آتروپین سولفات و ۱۵/۰٪ اسکوپولامين بر مایند در حلال متانول بعنوان شاهد) بصورت بانندی بر روی پلیت های TLC کاشته گردید.

فاز ثابت: سیلیکاژل GF۲۵۴ ۶۰

فاز متحرک: استون - آب - آمونیاک غلیظ (۳-۷-۹۰).

شناسایی: الف - طول موج ۳۶۵ نانومتر در زیر لامپ ماوراء بنفش

ب - معرف دراژندورف (۳)

باتوجه به رنگ، محل و Rf لکه های ظاهر شده در مقایسه با استاندارد ترکیبات تروپان الکا لویید در برگ گیاه هیوسياموس رتیکولاتوس شناسایی

گردید.

۳۶۵ نانومتر که ها از روی پلیت TLC جدا و توسط متانول الکالوئید مورد نظر جدا شده و میزان جذب آن در طول موج ۲۵۴ نانومتر در دستگاه UV-Vis خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد واسکوپولامین میزان هیوسیامین واسکوپولامین موجود در برگ گیاه تعیین گردید. (درصد بازیابی الکالوئید از روی صفحه TLC در این روش ۹۴/۴٪ بود).

نتایج:

الف- نتایج حاصل از بررسی خصوصیات گیاهشناسی:

۱- خصوصیات ماکروسکوپی گیاه هیوسیاموس رتیکولاتوس:

هیوسیاموس رتیکولاتوس گیاهی است از تیره سولاناسه، دوساله به ارتفاع ۱۰۰-۲۰ سانتی متر و دارای ساقه ضخیم میباشد که پوشیده از کرک است. برگها دراز پهن - نیزه ای و پهنک آن منقسم به تقسیمات عمیق بوده و گاهی کامل است. برگهای فوقانی فاقد دم برگ و برگهای پایینی دم برگ دار است. گلهایی زرد رنگ و منقوش به شبکه ای از تزیینات ظریف بنفش رنگ دارد.

طول گلبرگها ۳-۲۰ میلی متر است و گلهای بصورت مجتمع در خوشه های یک طرفه دیده شده و دارای ۵ پرچم میباشد. جام خارج از کاسه بالبه شکافدار منظم به نظر میرسد. دانه آن دارای پوسته ای مشبک به رنگ قهوه ای روشن و چروکیده میباشد (۷ و ۸).

در گونه نیجر برگهای بالایی و پایینی هردو مشابه، فاقد دم برگ و دارای بریدگیهای کم عمق در حاشیه و نیز کمی سطح میباشد. رنگ

ب- تهیه طیف های NMR, IR, UV

به منظور استخراج و تهیه طیفهای فوق از هیوسیامین موجود در گیاه طبق روش اختصاصی استخراج هیوسیامین از گیاهان تیره سولاناسه (۴)، هیوسیامین استخراج و طیف های NMR, IR, UV آن تهیه و با طیف های استاندارد که در شرایط یکسان تهیه شده بود مقایسه گردید.

استخراج هیوسیامین بر مبنای جداسازی ترکیبات لیپوفیل توسط اتر پترول، عصاره گیری توسط قلیایی کردن و پرکولاسیون بادی کلرومتان بوده که پس از این مراحل مواد زائد توسط اسید سولفوریک ۵٪ نرمال حذف شده و بعد از صاف و تغلیظ کردن محلول دی کلرومتانی با افزودن اتر پترول و قرار دادن بمدت چندین ساعت در دمای ۴۰ C کریستالهای خالص هیوسیامین ظاهر میگردد (۴).

۲- تعیین مقدار هیوسیامین واسکوپولامین: جهت تعیین مقدار هیوسیامین واسکوپولامین از دو روش تیترومتری و اسپکتروفتومتری استفاده گردید.

- در روش تیترومتری که مبنی بر تیتراسیون برگشتی است پس از استخراج الکالوئید ها توسط روش قلیایی کردن، با بکار بردن اسید سولفوریک ۰/۰۲ نرمال استاندارد شده برای خنثی کردن الکالوئید ها و سپس بکار بردن سود ۰/۰۲ نرمال استاندارد برای تیترو کردن مابقی اسید سولفوریک میزان تام الکالوئید بر حسب هیوسیامین محاسبه میگردد (۵ و ۶).

- روش اسپکتروفتومتری: در این متد پس از کاشت عصاره نمونه گیاهی مورد نظر روی پلیت TLC و جداسدن هیوسیامین واسکوپولامین روی صفحه و مکانیابی آنها زیر لامپ در طول موج

۱۸/۰ و اسکوپولامین برابر ۷۵/۰ تعیین شد (۳).
۲- آنالیز دستگاهی هیوسیامین استخراجی از گیاه:

طیف ماوراء بنفش، مادون قرمز و طیف رزونانس مغناطیس هسته پروتون فراکسیون استخراجی تایید کننده کامل ساختمان هیوسیامین در این گیاه میباشد (طیفهای شماره ۱ و ۲ و ۳)

۳- نتایج تعیین مقدار کمی هیوسیامین و اسکوپولامین برگ هیوسیاموس رتیکولاتوس: جهت تعیین مقدار هیوسیامین و اسکوپولامین از دوروش تیتریمتری و اسپکتروفتومتری استفاده گردید. در روش تیتریمتری میزان الکالوئید تام برحسب هیوسیامین ۵۳/۰٪ و میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در روش اسپکتروفتومتری به ترتیب ۳۱/۰٪ و ۲۵/۰٪ میباشد.

لازم به یادآوری میباشد که، درگونه نیجرکه حاوی حداکثر ۱۵/۰ - ۵/۰٪ الکالوئید تام در برگ گیاه است سه چهارم آن (۱۱۲/۰ - ۳۷۵/۰٪) هیوسیامین و مابقی اسکوپولامین میباشد (۹).

گل زرد روشن و تزئینات بنفش رنگ آن بسیار ظریف تر میباشد. متوسط طول ساقه ۵۰-۶۰ سانتی متری و دانه آن رنگ قهوه‌ای تیره متمایل به سیاه با چروکیدگی بسیار در سطح میباشد (۱). تصویر (۱) مقایسه بخشهایی از این دو گیاه را نشان میدهد.

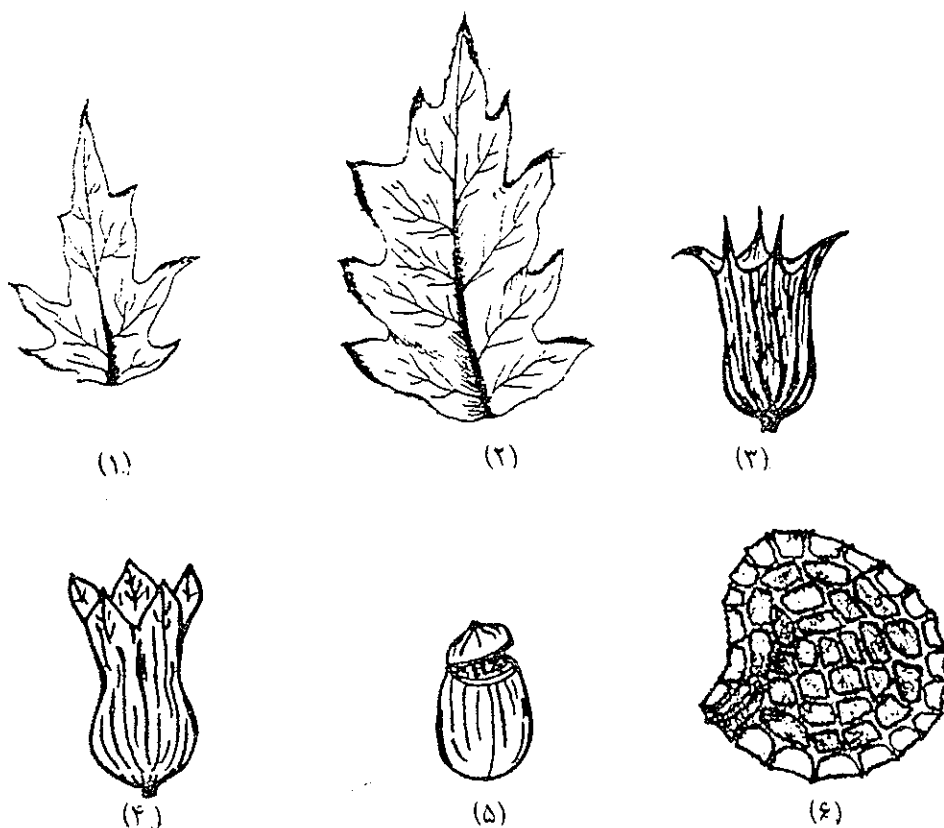
۲- خصوصیات میکروسکوپی برگ هیوسیاموس رتیکولاتوس:

بررسی میکروسکوپی مقطع و خردنگاری برگ هیوسیاموس رتیکولاتوس بابرگ گیاه استاندارد نشان دهنده مشابهت خصوصیات میکروسکوپی هر دو است. تنهاتفاوت موجود در این زمینه حضور ترکیبهای ترشحاتی و غیرترشحاتی بیشتری در گونه هیوسیاموس رتیکولاتوس میباشد (۱). برش عرضی و سطحی و خردنگاری برگ هیوسیاموس رتیکولاتوس در اشکال (۲، ۳، ۴) نشان داده شده است.

ب- نتایج حاصل از بررسی فیتوشیمی:

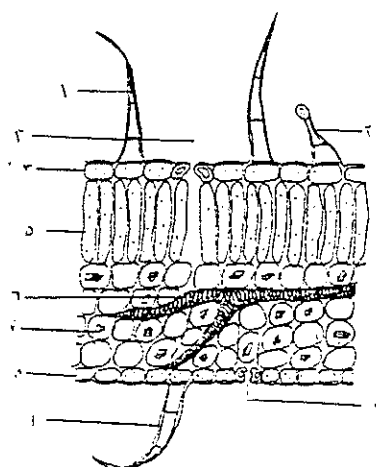
۱- بررسی تین لایر کروماتوگرافی برگ هیوسیاموس رتیکولاتوس:

از برگهای گیاه مورد نظر عصاره تهیه و سپس محلولهای ۵/۰٪ و ۱۵/۰٪ اتروپین سولفات و اسکوپولامین بر مایه در متانول بعنوان استاندارد تهیه و روی صفحه‌های مخصوص تین لایر کروماتوگرافی کاشته شد. لکه‌های رنگی روی پلایت توسط لکه‌های محلول استاندارد و مقایسه R_f آنها شناسایی گردید، هیوسیامین و اسکوپولامین هر دو در طول موج ۳۶۵ نانومتر در زیر لامپ اولترایوله بصورت نقاط فلورسانس آبی متمایل به بنفش مشاهده گردید و همچنین هر دو در مجاورت معرف دراژندورف در نور معمولی بصورت نقاط نارنجی رنگ مشاهده شدند. محدوده R_f هیوسیامین برابر



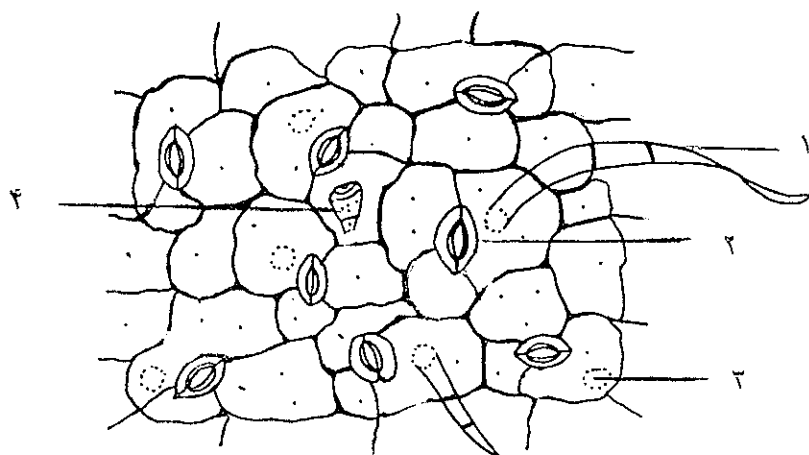
تصویر (۱): مقایسه قسمتهایی از *H. niger* , *H. reticulatus*

- ۱- برگ هیوسیاموس رتیکولاتوس ۲- برگ هیوسیاموس نیجر
۳- کاسه گل هیوسیاموس رتیکولاتوس ۴- کاسه گل هیوسیاموس نیجر
۵- میوه هردو ۶- دانه هردو



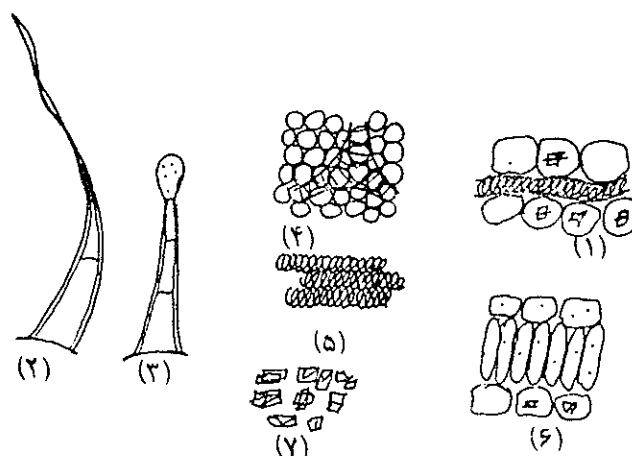
تصویر (۲): نمای میکروسکوپی برش عرضی برگ *H. reticulatus*

- ۱- تار غیر ترشحی ۲- تار ترشحی ۳- روزنه ۴- اپیدرم فوقانی
۵- پارانشیم نردبانی ۶- آوند چوبی
۷- پارانشیم حفره ای حاوی بلورهای منشوری اگسالات کلسیم ۸- اپیدرم تحتانی



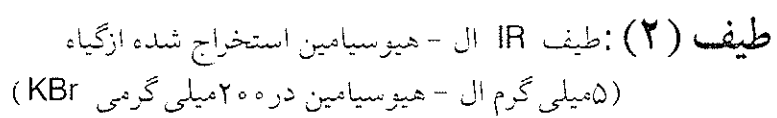
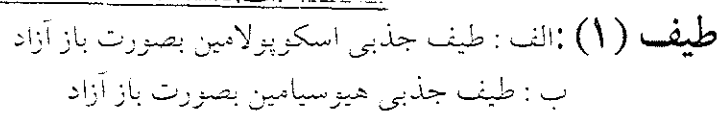
تصویر (۳): برش سطح زیرین برگ *H. reticulatus* :

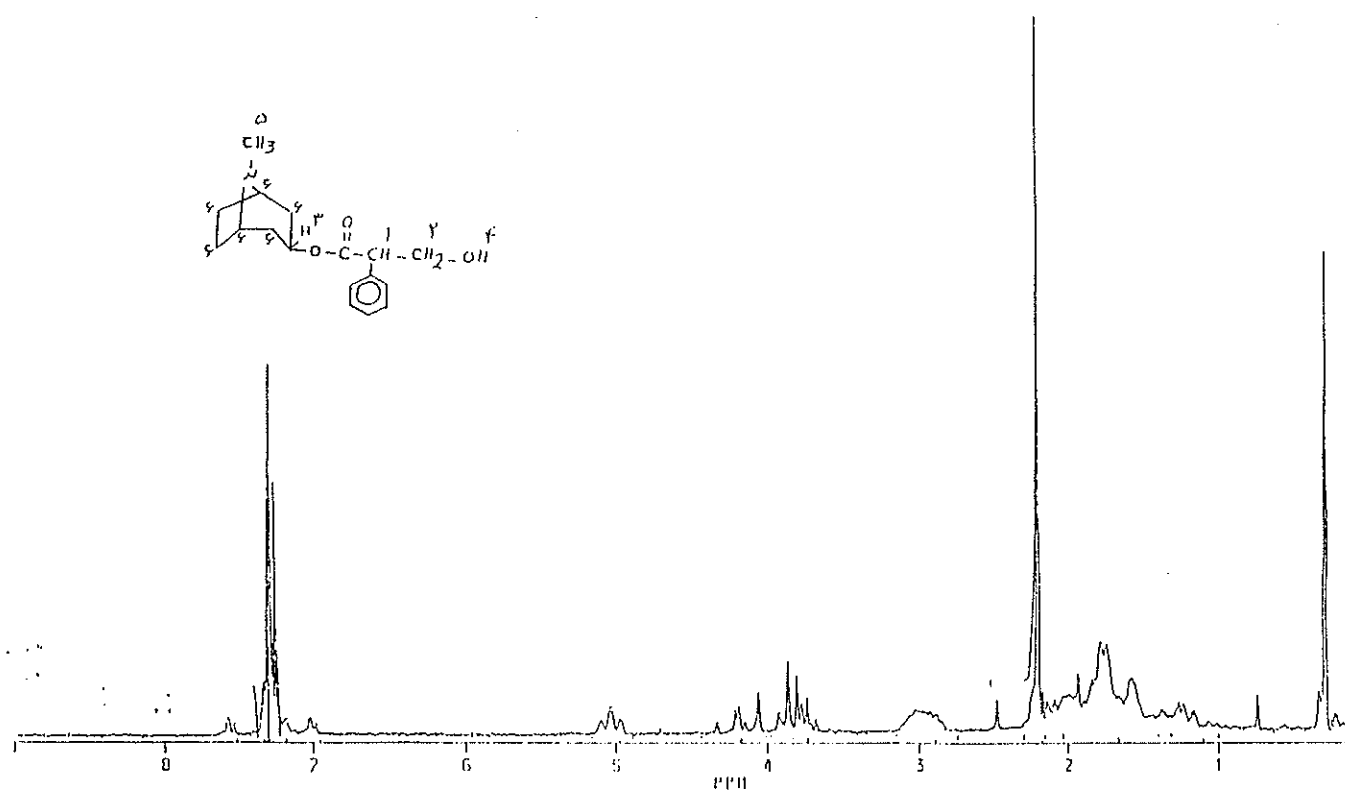
- ۱- تار غیر ترش‌حی
- ۲- روزنه انیسوسیتیک
- ۳- پایانه تارهای غیر ترش‌حی و ترش‌حی
- ۴- تار ترش‌حی



تصویر (۴): خرده‌نگاری برگ *H. reticulatus* L. :

- ۱- پارانشیم اسفنجی
- ۲- تار غیر ترش‌حی سه سلولی
- ۳- تار ترش‌حی
- ۴- پارانشیم کلروفیلی
- ۵- آوند چوبی
- ۶- پارانشیم نردبانی
- ۷- بلور منشوری اگزالات کلسیم





طیف (۳): طیف NMR هیوسيامین آزاد استخراج شده از گیاه در حلال CDCl_3 بارفرانس
استاندارد و استفاده از دستگاه Brucker 80/AC

References

1. Deutschmann, F.; Hohmann, B.; Sprecher, E., Stahl, E.: Pharmazeutische Biologie, 3, Drogenanalyse, 1, Morphologie und Anatomie. Gustav Fischer Verlag., Stuttgart, New York, 234-237 (1984).
- ۲- قاسمی، ن.، دستور کار آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی و علوم دارویی اصفهان (۱۳۷۱).
3. Wagner, H.; Bladt, S., and Zgainski, E.M.: Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromotography Atlas., 300, 88, 89 (1984).
- ۴- قاسمی، ن.، دستور کار آزمایشگاه، استخراج، شناسایی و کنترل مواد گیاهی دانشکده داروسازی و علوم دارویی اصفهان (۱۳۷۳).
5. Hartk, K.; Mutschler, E., DAB 9, Kommentar, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH Stuttgart, Govi-Verlag GmbH, Frankfurt, Band 2, 933 (1986).
6. Stahl, E.; Schild, W.: Pharm. Biologie, 4. Drogenanalyse II, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 68 (1981).
7. Rechinger. K.H.: Flora Iranica, Akademische Druck-u., Verlagsantatt Graz austria. Vol (100), 54-50, (1984).
- ۸- زرگری، ع.، گیاهان دارویی، جلد ۳. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۵۷۹ (۱۳۶۸).
9. Tyler, V.; Brady, L. and Roberts, I.: Pharmacognosy, 9th.ed., Lea and Febiger, Philadelphia, 189-199 (1988).

**Title : A study on the Morphology and Phytochemistry of
Hyoscyamus reticulatus L.**

Authors : N.Ghassemi, S.E.Sajjadi and f.saghai.

**Address : Pharmacognosy Department, Faculty of
Pharmacy, Isfahan University of Medical
Sciences, Isfahan, IRAN.**

Abstract

Hyoscyamus reticulatus L. (Solanaceae) is a plant containing hyoscyamine and scopolamine which is of interest due to its potential conversion to pharmaceutically valuable tropane alkaloids (1).

In this study, H. reticulatus L. was collected from the Bakhtiari province. This plant is found wild in most areas of Iran (2).

The plant was examined botanically and phytochemically. Morphological as well as microscopical characteristics of the plant were examined and some differences distinguished from H. niger (e.g. shape and number of stomata and glandular trichomes) (3).

Hyoscyamine and scopolamine were isolated from the plant and their structures were elucidated using spectroscopic techniques.

The quantitative determinations of hyoscyamine and scopolamine were performed by titrimetry and UV spectroscopy methods (4).

The quantitative estimation of hyoscyamine and scopolamine gave the following results:

Hyoscyamine 0.031%

Scopolamine 0.025%