دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال سیزدهم شماره‌ی ۵۰
تابستان ۱۴۰۱، صفحات ۵-۱

بررسی فیتوشیمیایی میزان ترکیب آلی آلکالوئید گیاه دارویی (Peganum harmala L.) جمع‌آوری شده از چند منطقه رویشی استان اردبیل

حجت اقبال *
گروه فیتوشیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
Email: hojat.eg@gmail.com

سولماز موسوی‌نیا
گروه شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

مهدی احمدی‌سابق
گروه شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

ارسال ۱۴۰۱/۰۸/۰۳ بازنگری ۱۴۰۱/۰۹/۱۶ پذیرش ۱۴۰۱/۰۹/۲۰

چکیده

گیاهان به‌عنوان موجودات زنده، متابولیت‌های ثانویه را به‌عنوان ابزار سازگاری به شرایط و پدیده‌های مختلف اکولوژیکی پیرامون خود جهت حفظ خود و نسل‌های آینده تولید می‌نماید. کشور ایران با داشتن تنوع بالای اقلیمی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان است. گیاه دارویی (Peganum harmala L.) از گیاهان دارویی مهم شمال‌غرب ایران دارای پراکنش گسترده در اکثر مناطق کشور می‌باشد. بذر این گیاه دارویی غنی از آلکالوئید می‌باشد که در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، روماتیسم، دیابت، فشار خون، قلب و عروق و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیبات دارویی گیاهان تحت تأثیر عوامل محیطی از جمله شوری و ارتفاع قرار می‌گیرد. بدین منظور بذر گیاه دارویی اسپند از سه منطقه مشگین‌شهر، گرمی و پارس‌آباد از شهرستان‌های استان اردبیل جمع‌آوری گردید و تعیین آلکالوئید کل آن در آزمایشگاه فیتوشیمی بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز مورد سنجش قرار گرفت. تعیین آلکالوئید کل از روش اسپکتروفتومتری با استفاده از بروموکروزول گرین با ۳ تکرار انجام گرفت. نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که مقدار آلکالوئید کل بذر گیاه از منطقه گرمی بیش‌تر از بقیه مناطق بود و کم‌ترین مقدار آلکالوئید در بذر گیاه از منطقه پارس‌آباد یافت شد. نتایج بدست آمده در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

کلیدواژه: اسپند، آلکالوئید، فیتوشیمیایی، استان اردبیل، بذر.

مقدمه

گیاهان به‌عنوان موجودات زنده، متابولیت‌های ثانویه را به‌عنوان ابزار سازگاری به شرایط و پدیده‌های مختلف اکولوژیکی پیرامون خود جهت حفظ خود و نسل‌های آینده تولید می‌نماید. کشور ایران با داشتن تنوع بالای اقلیمی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان است. گیاه اسپند گیاه گلدار از تیره قره‌داغیان به حالت خودرو در بسیاری از اراضی بایر شمال آفریقا و منطقه مدیترانه، اروپا، مغولستان، چین، عربستان، ترکیه، شوروی سابق، افغانستان، پاکستان، هند، عراق، سوریه، اردن، لبنان، فلسطین و ایران می‌روید(Bently and Alias, 1983; Mahmoudian et al., 2002; Abbott et al., 2007; Frison et al. 2008; Kartal et al., 2003).

از دیرباز به عنوان یک گیاه دارویی مهم حائز اهمیت بوده است. دانه این گیاه دارای خواص هایپوترمی و هالووسینوژنیک توهم‌زا می‌باشد (Sharaf et al., 1997; Lamchouri et al., 1999). مشخص شده است که دانه گیاه اسپند قی آور، سمی است. هم‌چنین ضد نفخ، ضد یبوست، مقوی غرایز جنسی، آرامش آور، از بین برنده کرم انگل، افزاینده شیر مادر و ادرار آور بوده و برای درمان بیماری صرع، بیماری های روانی، از دست دادن حافظه، تقویت بینایی، سردردهای مزمن، سنگ کلیه، سیاتیک و ورم نیز مفید می‌باشد (Li et al., 2017). در خاورمیانه در کشورهای عراق، افغانستان، پاکستان و بخش‌هایی از ترکیه، تاجیکستان و ایران دانه‌های خشک اسپند همراه یکسری مواد دیگر سوزانده شده و این کار به منظور دفع چشم زخم، تولید دود خوشبو و آرام کننده ذهن استفاده می‌شود (Frison et al., 2008). در زمان‌های دور در ترکیه و کشورهای آسیای شرقی از دانه اسپند برای رنگ‌آمیزی الیاف قالی‌های فرسوده استفاده می‌شده است (Khan, 1990). در خاورمیانه در کشورهای عراق، افغانستان، پاکستان و بخش‌هایی از ترکیه، تاجیکستان و ایران دانه‌های خشک اسپند همراه یک‌سری مواد دیگر سوزانده شده و این کار به منظور دفع چشم زخم، تولید دود خوشبو و آرام کننده ذهن استفاده می‌شود (Frison et al., 2008). در زمان‌های دور در ترکیه و کشورهای آسیای شرقی از دانه اسپند برای رنگ‌آمیزی الیاف قالی‌های فرسوده استفاده می‌شده است (Khan, 1990).

در پزشکی معاصر از گیاه اسپند به عنوان ضد آلزایمر، ضد پلاسمودیال، باز کننده رگ‌های خونی، تومور و بازدارنده فعالیت مونو آمین اکسیداز استفاده می‌شود (Marwat and Rehman., 2011).

آلکالوئیدها به گروهی از متابولیت‌های ثانویه با وزن مولکولی کم گفته می‌شود که از آمینواسیدها یا فرآیندهای ترانس آمیناسیون ساخته شده و دارای یک یا چند اتم نیتروژن Transamination در ساختار هتروسیکلیک خود هستند و غالباً به عنوان ترکیبات دفاعی در برابر حمله‌ی جانوران و میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. این ترکیبات یکی از بزرگترین گروه ترکیبات طبیعی می‌باشند که فرآورده‌های دارویی متنوعی از آن‌ها تولید می‌شود. تعداد آلکالوئیدهای شناخته شده ۱۲۰۰۰ است. آلکالوئیدها از پرکاربردترین ترکیبات مورد استفاده بشر در عهد باستان بوده است به عنوان مثال برگ somiferum Papaver، ترکیبات فعال مورفین و کدئین را دارد و برای مقابله با درد و سرفه، ۵۰۰ سال مورد استفاده بوده است. استفاده دیگری که از این گونه‌ی گیاهی صورت گرفته، کاربرد آن به عنوان داروهای روانی است (Mazandarani et al., 2012).

هارمالین آلکالوئید اصلی موجود در دانه اسپند باعث افت فشار خون و حالت سمیت در پروتوزواها می‌شود (Mazandarani et al., 2012) همچنین عصاره آلکالوئیدی دانه گیاه دارای فعالیت ضد سرطانی، ضد درد، خواص هیپوترمی، بعنوان مسکن و بازشدن رگ‌های خونی می‌باشد (Asgarpanah and Ramezanloo, 2012). دانه و ریشه بالاترین سطح آلکالوئید، ساقه و برگ کم‌ترین سطح آلکالوئید را دارند و میوه فاقد آن می‌باشد (Asgarpanah and Ramezanloo., 2012). آلکالوئیدهای گیاه اسپند از گروه ایندول‌ها و شامل بتاکاربولین‌ها مانند هارمان، هارمالین، هارمالول و هارمین و مشتقات کوئینازولین مانند ویزین و

واسکینون می‌باشد(Mahmoudian et al., 2002; Asgarpanah and Ramezanloo., 2012). مقدار آلکالوئید دانه‌های رسیده بیش‌تر از دانه‌ای نارس می‌باشد (Du et al., 1997).

شوری خاک یکی از عوامل تنش زیست محیطی است که باعث تغییرات شدید در رشد، فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان شده و تهدیدی برای کشت گیاهان در سراسر جهان می‌باشد (Jaleel et al., 2007). شوری بعد از خشکی دومین عامل محیطی فراگیر و محدود کننده تولیدات کشاورزی است که سطح قابل توجهی از زمین‌های کشاورزی ایران را فرا گرفته است و در حقیقت یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به شمار می‌رود (Parvaiz and Satyawati, 2008).

در این مطالعه با هدف اینکه گیاه اسپند یکی از گیاهان دارویی مهم ایران می‌باشد و بواسطه ترکیبات دارویی مهمی که دارد در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد در صنعت، پزشکی، طب سنتی حائز اهمیت می‌باشد و مقدار این ترکیبات دارویی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد، بذر گیاه از سه منطقه استان کرمان جمع‌آوری شد و مقدار آلکالوئید کل در بذر هر منطقه با روش اسپکتروفتومتریک با استفاده از بروموکروزول گرین انجام شد.

مواد و روش‌ها

– تهیه نمونه‌های گیاهی

بذرهای گیاه اسپند از سه منطقه رویشی مشگین‌شهر دارای خاک‌های معمولی (منطقه شماره ۱)، منطقه گرمی دارای خاک‌های نیمه شور (منطقه شماره ۲) و منطقه پارس‌آباد دارای خاک‌های شور (منطقه شماره ۳) از شهرستان‌های توابع استان اردبیل واقع در شمال‌غربی ایران جمع‌آوری شد و بذرها در هر باریوم بخش تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل شناسایی و مورد تطبیق قرار گرفتند.

برای تعیین دوز شوری خاک از هر ۳ منطقه خاک جمع‌آوری شد و در آزمایشگاه خاکشناسی شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز آنالیز شد.

– عصاره‌گیری

ابتدا صد گرم ماده گیاهی خشک با متانول به مدت ۲۴ ساعت با دستگاه عصاره‌گیری استخراج شد. عصاره فیلتر شد و متانول با دستگاه روتاری تحت خلأ در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی تبخیر شد. بخشی از عصاره باقی مانده را در اسید کلریدریک ۲ نرمال (2NHCl) حل و سپس فیلتر شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از این محلول را به فونل‌های جداکننده انتقال داده شد و با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم سه بار شسته شد. pH محلول با NaOH ۰/۱ نرمال به حالت خنثی رسانده شد. سپس BGC ml ۵ و ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات به مخلول اضافه گردید و خوب هم زده شد. کمپلکس شکل گرفته با ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌لیتر کلروفرم استخراج گردید. عصاره را فلاسک‌های با حجم ۱۰ میلی‌لیتر ریخته شد و با کلروفرم به حجم رسانده شد. جذب کمپلکس در کلروفرم در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار آلکالوئید کل بر حسب میلی‌گرم گرم وزن خشک ($mg\ g^{-1}.dw$) محاسبه گردید (Shamsa, et al., 2008).

– آماده‌سازی محلول

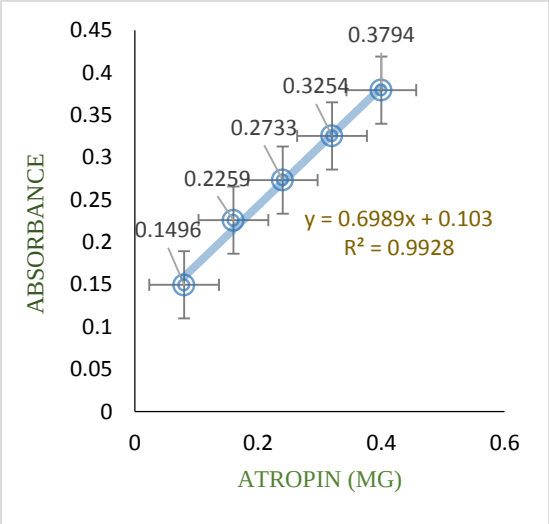
محلول بروموکروزول گرین (BGC) ۶۹/۸ میلی‌گرم بروموکروزول گرین را با ۳ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید ۲ نرمال (NaOH) و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به طور کامل حل شد و محلول به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول بافر فسفات (۴/۷) محلول با ترکیب سدیم فسفات ۲ مولار (۷۱/۶ گرم Na_2HPO_4 در ۱ لیتر آب مقطر) با سیتریک اسید ۰/۲ مولار (۴۲/۰۲ گرم سیتریک اسید در ۱ لیتر آب مقطر) تهیه شد.

– محلول استاندارد آتروپین

۱ میلی‌گرم آتروپین را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد.

- منحنی استاندارد

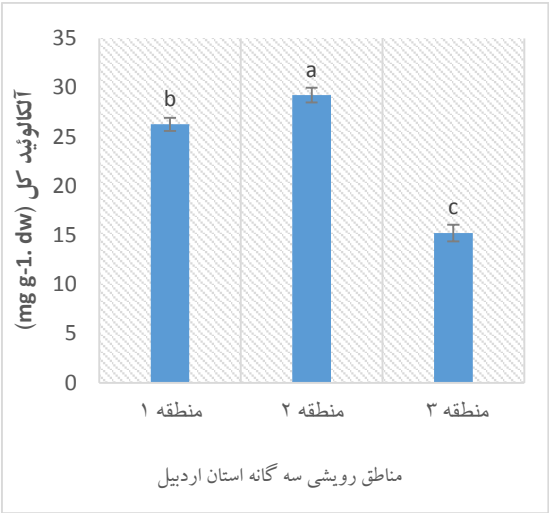
ابتدا غلظت‌های ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ و ۱/۲ میلی‌لیتر از محلول استاندارد تهیه شد و هر کدام به فونل‌های جداکننده انتقال داده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات و ۵ میلی‌لیتر BGC اضافه گردید و با ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط شد. عصاره‌ها در فلاسک‌های با حجم ۱۰ میلی‌لیتری جمع شد و سپس به کلروفرم به حجم رسانده شد. جذب کمپلکس در کلروفرم در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. با مشخص شدن مقدار جذب غلظت‌های مختلف آتروپین منحنی استاندارد آن ترسیم گردید (شکل۱).



شکل ۱: نمودار اسناندارد غلظت‌های آتروپین در طول موج ۴۷۰ نانومتر

یافته‌ها و بحث

با توجه به نتایج همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود مقدار آلکالوئید کل در بذر گیاه منطقه ۲ نسبت به منطقه۱ بیش‌تر شده است و در منطقه ۳ مقدار آلکالوئید نسبت به منطقه۱ کم‌تر شده است. نتایج در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌باشد (نمودار شماره۱). واریانس داده‌های حاصل از تغییرات مقدار آلکالوئید کل تحت تأثیر عوامل محیطی از جمله شوری از سه منطقه در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۱: تغییرات مقدار آلکالوئید کل بذر گیاه اسپند

جدول ۱- مقادیر مربوط به آلکالوئید کل بذر گیاه اسپند (۱۰۰ گرم)

منطقه مشگین-شهر	منطقه گرمی	منطقه پارس‌آباد
27.267±0.679	29.347±0.821	16.320±0.942

جدول ۲- واریانس داده‌های حاصل از تغییر مقدار آلکالوئید کل گیاه اسپند تحت تأثیر شوری در سه منطقه

سنجش	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig
آلکالوئید	۳۳۸/۹۳۰	۲	۱۶۹/۹۷۸	/۴۳۹	۰
خطا	۳/۴۶۴	۷	.۶۶۲	۲۹۵	۰
کل	۴۲۳/۳۹۳	۹			۰

بحث و نتایج

تحقیقات نشان داده است که یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان، تنش‌های محیطی اعمال شده بر آن‌ها است. از با اهمیت‌ترین وظایف متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی نقش

محافظتی آن‌ها در شرایط تنش می‌باشد که به گیاهان کمک می‌کنند تا بتوانند در مقابل شرایط نامساعد محیطی مقاومت کند و به حیات خود ادامه دهد (Bennett and Wallsgrove., 1994; Aswathanarayana and Ramakrishna., 2017). همچنین تحقیقات نشان داده است که برخی از تنش‌ها از جمله تنش شوری می‌تواند سبب تولید بیش‌تر مواد دارویی گیاهی شود (Qureshi et al., 2005). غلظت ترکیبات رسرپین و وین کریستین به ترتیب در گیاهان Rauvolfia tetraphylla (Anitha and Kumar, 2006) و پروانش (Catharanthus roseus) (Misra and Gupta, 2006) که در تنش شوری رشد یافته بودند افزایش معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد نشان داد. مقدار آلکالوئید ریسینین در ریشه‌های گیاه کرچک تحت تنش شوری کاهش و در اندام هوایی افزایش نشان داد (Ali et al., 2007).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست آمده گیاه دارویی اسپند در مناطق کوهستانی نیمه‌شور دارای ترکیب دارویی آلکالوئید بیش‌تری نسبت به مناطق با خاک شور می‌باشد. لذا از نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که مقدار آلکالوئید کل بذر گیاه از منطقه گرمی بیش‌تر از بقیه مناطق بود و کم‌ترین مقدار آلکالوئید در بذر گیاه از منطقه پارس‌آباد یافت شد. بنابراین نتایج به دست آمده در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

سپاس‌گذاری

از بخش تحقیقات گیاهان دارویی ایستگاه تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل و نیز بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز که در تامین هزینه طرح پژوهشی و فعالیت‌های آزمایشگاهی همکاری داشته‌اند قدردانی می‌نمائیم.

منابع

[1] Abbott, L. B., Lepak, D., & Daniel, D. L., 2007, Vegetative and reproductive phenology of African rue (Peganum harmala) in the northern Chihuahuan Desert. The. Sou.wes. Natu; 52(2): 209-218.

[2] Akula, R., & Ravishankar, G. A., 2011, Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant signaling & behavior, 6(11), 1720-1731.

[3] Ali, R.M., Abbas, H.M., and Kamal, R.K., 2007, The effects of treatment with polyamines on dry matter, oil and flavonoid contents in salinity stressed chamomile and sweet marjoram. Plant Soil and Environment., 53:529-543.

[4] Anitha, S., and Kumari, B. R., 2006, Reserpine accumulation in NaCl treated calli of Rauvolfia tetraphylla L. Scientific Asia, 32: 417-419.

[5] Asgarpanah, J, & Ramezanloo, F., 2012, Chemistry, pharmacology and medicinal properties of Peganum harmala L. Afri. J. of. Pharm and Pharm; 6(22): 1573- 1580.

[6] Bennett, R. N, & Wallsgrove, R. M., 1994, Secondary metabolites in plant defence mechanisms. New phytologist, 127(4), 617-633.

[7] Bentley, B., Elias, TS., 1983, The biology of nectaries. Columbia University Press; 30- 79.

[8] Du, W., Aloyo, V.J, and Harvey, J.A., 1997, Harmaline competitively inhibits [(3)h]mk-801 binding to the nmda receptor in rabbit brain. Brain Res., 770: 26-29.

[9] Frison, G., Favretto, D., Zancanaro, F., Fazzin, G., and Ferrara, S. D., 2008, A case of β-carboline alkaloid intoxication following ingestion of Peganum harmala seed extract. For. Sci. Inter179(2): 37- 43.

[10] Jaleel, C.A., Sankar, B., Sridharan, R., and Panneerselvam R., 2008, Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in Catharanthus roseus. Turkish Journal of Biology, 32: 79-83.

[11] Kartal, M., Altun, M. L., and Kurucu, S., 2003, HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of Peganum harmala L. J. of. pharm and biom Ana,31(2): 263- 269.

[12] Khan, O. Y., 1990, Studies in the chemical constituents of Peganum harmala L. PhD Thesis, H.E.J. Research Institute of Chemistry University of Karachi, Pakistan, 1- 191.

[13] Lamchouri, F., Settaf, A., Cherrah, Y., Zemzami, M., Lyoussi, B., Zaid, A., Atif, N., Hassar, M., 1999, Antitumour principles from Peganum harmala seeds. Therapie, 54(6): 753-758.

[14] Li, S., Cheng, X., and Wang, C., 2017, A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of the genus Peganum. J. of. Ethn.pharm, 203: 1- 157.

[15] Mahmoudian, M., Jalipour, H., and Dardashti, P. S., 2002, Toxicity of Peganum harmala: review and a case report. Ira. J.of. Pharm and Ther, 1(1): 1- 4.

[16] Marwat, S. K., & ur Rehman, F., 2011, Medicinal and pharmacological potential of harmala (Peganum harmala L.) seeds. In Nuts and Seeds in Hea and Dis Prev, 585- 599.

[17] Mazandarani, M., Sineh, Sepehr, K., Baradaran, B., and Khuri, V., 2012, Autecology, phytochemical and antioxidant activity of Peganum harmala L. seed extract in North of Iran (Tash Mountains). J. of. Med.P and By-pro, 2: 151- 6.

[18] Parvaiz, A., and Satyawati, S., 2008, Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. Plant Soil and Environment., 54(3): 89.

[19] Qureshi, S.A., Madramootoo, C.A, and Dodds, G.T., 2002, Evaluation of irrigation schemes for sugarcane in Sindh, Pakistan, using SWAP93. Agric. Water Manage, 54: 37-48.

[20] Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R., and Verdian-rizi, M., 2008, Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. Thai J Pharm Sci, 32, 17-20.

[21] Sharaf, M., El-Ansari, M. A., 1997, Matlin, S. A., and Saleh, N. A. Four flavonoid glycosides from Peganum harmala. Phyto.chem, 44(3): 533- 536.