

مقاله اصلی

مطالعه کمی گلو سین در جنس گلو سیوم از تیره خشخاش به روش HPLC

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۸

خلاصه

مقدمه: تیره خشخاش یکی از مهم ترین خانواده های حاوی آلکالوئید است. حاوی آلکالوئیدهای ایزو کینولین شامل آپورفین ها، پروتوپین ها، پروتوبرین ها و پروآپورفین ها می باشد؛ بنابراین اهداف از این تحقیق مطالعه کمی گلو سین در جنس گلو سیوم از تیره خشخاش به روش HPLC بود.

روش کار: جنس *Glaucium* از خانواده *Papaveraceae* شامل حدود ۲۵ گونه گیاه علفی در جهان است و آپورفینوئیدها بیشترین تعداد آلکالوئیدهای جدا شده از این جنس را تشکیل می دهند. آلکالوئید اصلی جنس گلو سیوم، گلو سین با فرمول **S-(+)-Glaucine (C₂₁H₂₅NO₄)** می باشد این ترکیب از گروه آلکالوئیدهای آپورفین است و در پزشکی به عنوان ضدسرفه استفاده می شود. در تحقیق حاضر، ترکیب گلو سین برگ ۱۵ تاکسون از ۹ گونه گلو سیوم از ایران بررسی شد. این گونه ها از استان های شمالی، غربی و مرکز کشور برداشت شدند و عصاره های اتانولی برگ های آن ها برای شناسایی انواع و مقادیر ترکیبات گلو سین آنها تحت HPLC قرار گرفت.

نتایج: بغلظت این ترکیبات گلو سین بین گونه ها متفاوت بود. بیشترین مقدار ترکیبات گلو سین در *G. flavum var flavum* و *G. corniculatum var flaviflorum* و کمترین مقدار را داشت. گونه های مورد بررسی در درخت **WARD** به دو گروه مجزا تقسیم شدند. همه افراد مورد بررسی متعلق به یک گونه از جنس بودند. **نتیجه گیری:** یافته های نشان داد داده های گلو سین در سطح گونه برای شناسایی گونه مفید است ($P < 0.01$).

کلمات کلیدی: فیتوشیمیایی، گلو سیوم، گلو سین، آلکالوئید، تیره خشخاش، HPLC

زهرا بوذری سراوانی^۱

فریبا شریف نیا*^۲

فهمیمه سلیم پور^۳

صدیقه اربابیان^۴

افسانه گران^۵

^۱ دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

^۳ دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۴ دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۵ دانشکده علوم زیستی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Email: fa.sharifnia@iau.ac.ir

مقدمه

امروزه با توجه به عدم موفقیت داروهای شیمیایی در درمان قطعی بسیاری از بیماری‌ها کاربرد گیاهان دارویی جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده به طوری که حدود ۸۰ درصد از جمعیت کشورهای در حال توسعه از فرآورده‌های گیاهان دارویی استفاده می‌کنند. تیره پاپاوراسه حاوی سطوح بالایی از ترکیبات ایزوکلینولین آلکالوئیدی از جمله کدئین‌ها و بتائین می‌باشند که کاربردهای گسترده‌ای در داروهای مسکن ضد التهاب و ضدباکتریایی در صنعت داروسازی دارد (۱).

Papaveraceae شامل سه زیرتیره است: Eschschozioideae Ernst, Papaveroideae Ernst و Chelidonoideae Ernst. این خانواده به طور گسترده در مناطق معتدل و نیمه گرمسیری نیمکره شمالی، به ویژه مدیترانه، غرب، آسیای مرکزی، شرقی و بخش‌های جنوب غربی ایالات متحده آمریکا پراکنده شده و تا شمال آمریکای جنوبی گسترش یافته است (۲).

گلوسیوم یکی از جنس‌های این تیره دارای ۲۵ گونه در دنیا می‌باشد (۳). کشور ایران با داشتن حدود ۱۹ تاکسون علفی یکساله، دو ساله و چند ساله، یکی از بزرگترین مراکز تنوع این جنس به شمار می‌آید به طوری که نمونه‌های تیپ بسیاری از گونه‌های گلوسیوم، مربوط به ایران است (۴-۶). این جنس در نواحی معتدله و نیمه گرمسیری نیمکره شمالی گسترش دارد. عمدتاً از اروپای آتلانتیک تا آسیای مرکزی توزیع می‌شود (۷)، این جنس شامل دو بخشه و ۲۳ گونه است: ۱- *Acropetala Mory* با چهار گونه، چهار زیرگونه و دو گونه و ۲- *Glaucium* با ۱۹ گونه، هشت زیرگونه و ۱۶ گونه (موری ۱۹۷۹). در ایران، ۱۱ گونه (۶)، ۱۳ گونه (۴، ۸) نشان داده شد، از این تعداد، پنج گونه بومی هستند:

- G. calycinum* Boiss
- G. contortuplicatum* Boiss
- G. elegantissimum* Mobayen
- G. mathiolifolium* Mobayen
- G. golestanicum* Gran & Sharifnia

توکلی و اسدی (۹) در فلور ایران این جنس را بر اساس یک ساله و دو ساله، قاعده گشا و راس گشا به دو بخش تقسیم می‌کنند که در بخش یکساله *G. elegans* و در بخش دوساله بقیه‌ی گونه‌ها قرار می‌گیرند. بیشترین صفات مورفولوژی از جمله رنگ گلبرگها قرمز یا نارنجی و زرد، لکه داربودن یا بدون لکه‌ی گلبرگ‌ها، میوه راست یا خمیده و پیچ خورده، پوشیده با موهای نازک یا بدون مو، گونه‌ها از یکدیگر تفکیک می‌کند. در یک مطالعه فیتوشیمیایی انجام شده توسط Vorniceanu و همکاران (۱۰) بر روی گونه‌های جنس *Glaucium*، از جمله *G. corniculatum* و *G. flavum*، که بسیاری از آلکالوئیدها از آنها جدا و شناسایی شدند. آلکالوئیدها گروه بزرگ و متنوع از ترکیبات ساختاری هستند که عمدتاً در محیط هیدروآتانیولی محلولند و عمدتاً نقش دفاعی داشته و بعضاً به عنوان منابعی برای ذخیره نیتروژن در گیاه مطرح می‌شود در گیاهان بیشتر به شکل نمک یافت می‌شوند، بنابراین می‌توان آنها را بهتر با حلالهای اولیه با قطب بالا استخراج کرد که حلالیت و انتشار آنها را بهبود می‌بخشد. در واقع، در فرآیندهای صنعتی معمولاً از آب و الکلها به عنوان متانول، اتانول یا n-butanol استفاده می‌شود. آب حلال بهتری برای نمک‌ها است، در حالی که الکلها برای حل ترکیبات آلی با وزن مولکولی بالا بهتر هستند. نیروی محرکه آلکالوئیدها، از ماتریس گیاهی تا محیط استخراج، بستگی به ویژگی‌های فردی املاح و استخراج کننده، یعنی شکل و حلالیت املاح، ویسکوزیته محیط، پدیده‌های انتشار، قابلیت پیوند هیدروژنی و غیره دارد. IL ها نیز ترکیبات قطبی هستند. به طور کامل از یون‌ها تشکیل شده است، ساختار آنها تأثیر قابل توجهی بر خواص فیزیکی و شیمیایی آنها دارد. به خوبی شناخته شده است که خواصی مانند گرانشی، چگالی و قطبیت برای مجموعه‌ای از IL ها بر اساس کاتیون یکسان به شدت به آنیون وابسته است. از جمله مهمترین آلکالوئیدها می‌توان به مورفین، کدئین، کوکائین، نیکوتین و ماری جوانا اشاره کرد که بیشترین فراوانی در تیره پاپاوراسه می‌باشد که دارای خاصیت ضد التهاب، ضد

بوفور دیده می شود و می تواند به عنوان عامل ضد سرفه، در مصارف پزشکی مورد استفاده قرار گیرد (۱۵).

زرگری (۱۶) در طب سنتی از گونه های مختلف جنس گلوکوسیم به عنوان ملین، آرام بخش، ضد دیابت و ضد درماتیت استفاده می شد. پایداری شیمیایی و شیوع گسترده، آلکالوئید را به عنوان نشانگر شیمیایی در طبقه بندی گیاهان تبدیل کرده و ابزاری مفید برای شناسایی و طبقه بندی گیاهان عالی محسوب می شود. تا آنجایی که ما توانستیم جستجو کرده ایم هیچ مطالعه قبلی مشابهی روی این گونه ها در ایران یافت نشد.

به همین دلایل، برای اولین بار میزان آلکالوئید گلوکوسین در ۱۵ تاکسون با روش HPLC برای روابط گونه ای بر اساس داده ها صورت گرفت و بیشترین و کمترین درصد گلوکوسین مشخص گردید که کمک شایانی به داروسازی می نماید

روش کار

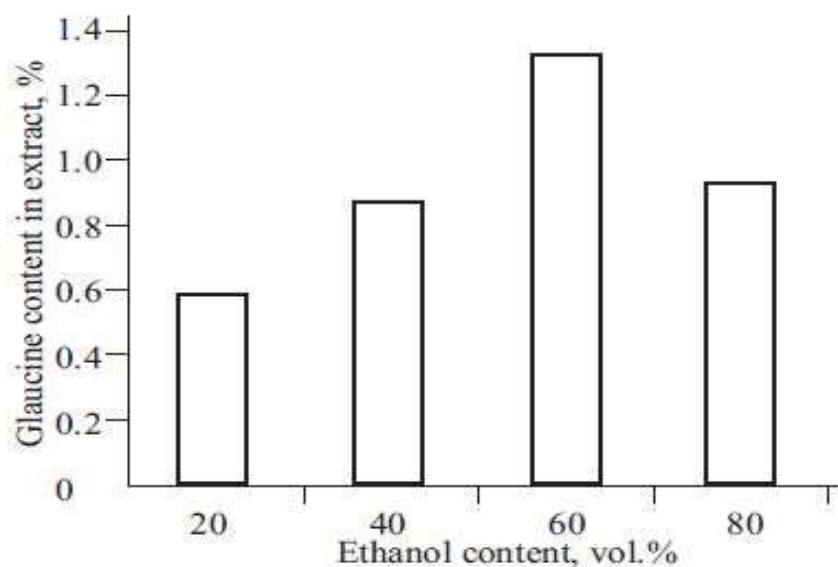
مواد گیاهی

برای تعیین میزان آلکالوئید گلوکوسین ۱۵ تاکسون از ۹ استان کشور در شمال، شمال غرب، غرب و مرکز ایران جمع آوری (جدول ۱) و با توجه به توضیحات ارائه شده در فلور ایران مبین (۴) شناسایی شد. یکی از نمونه های جمع آوری شده با توصیفات فلور ایران و فلور اتحاد جماهیر شوروی مطابقت نداشت و به نظر می رسد نمونه متعلق به گونه جدیدی از گلوکوسیم از ایران باشد. بنابراین تا زمانی که نام قانونی آن اعتبار سنجی نشده باشد، این گونه به عنوان نمونه *G. new* معرفی می گردد.

درد، ضد باکتریایی و ضد تومور می باشد (۱۱). در سه دهه گذشته، سرطان مهمترین چالش پزشکی بوده است که می تواند تقریباً ۲۰۰ نوع سلول را تحت تأثیر قرار دهد ماریانا لاندیری و همکاران (۱۲). استفاده از داروهای ضد سرطان نرخ بالایی از درمان ایجاد می کند، اما برخی از انواع سرطان ها به سختی تحت تأثیر داروهای موجود در حال حاضر قرار می گیرند. درمان سرطان همیشه یک حوزه تحقیقاتی چالش برانگیز و در عین حال جالب در پزشکی بوده است. مشکلات اصلی که با آن مواجه هستند عبارتند از مقاومت دارویی، سمیت و ویژگی کم آلکالوئیدها گروه مهمی از داروها را برای درمان سرطان تشکیل می دهند. آلکالوئیدهای آپورفین بیشترین تعداد آلکالوئیدهای جدا شده از جنس *Glaucium* هستند. این آلکالوئیدها دارای طیف گسترده ای از اثرات دارویی هستند، از جمله فعالیت های ضد پلاکتی، آنتی اکسیدانی، ضد سرفه، ضد پارکینسونیک، کاهش فشار خون، ضد ویروسی، ضد باکتریایی، فعالیت های سیتوتوکسیک (۱۳). مولکول های متعددی در این خانواده فعالیت های سیتوتوکسیک جالبی را در برابر رده های سلولی تومور در شرایط آزمایشگاهی نشان می دهند و نکاتی از فعالیت های ضد سرطانی در داخل بدن در موارد کمی گزارش شده است نوری و طالبی (۱۴). بر اساس مطالعات بورنین و همکاران (۳) آلکالوئیدهای ضد سرطانی فعال از ریشه گلوکوسیم فلاووم شناسایی و تعیین گردید. گلوکوسین با فرمول S-(+)-Glaucine (C₂₁H₂₅N₀₄) یکی از مهمترین و اصلی ترین مواد از شاخه آلکالوئیدهای آپورفین است که در لاله کوهی

جدول ۱. اسامی و محل جمع آوری نمونه های مورد مطالعه

گونه ها	محل جمع آوری
<i>G. elegans</i> var <i>elegans</i> Fisch. & C.A.Mey. 97	مازندران جاده چالوس کوه های طاغستان ارتفاع ۱۳۰۸ متر
<i>G. x(new)</i> 114	تهران کن ارتفاع ۱۸۲۰ متر
<i>G. grandiflorum</i> subsp. <i>grandiflorum</i> var. <i>grandiflorum</i> Boiss. & A.Huet 38	همدان جاده حیدره بالا شهر ارتفاع ۱۹۳۰ متر
<i>G. grandiflorum</i> subsp. refractum (Nábělek) Mory 33	مرکزی نویران ارتفاع ۱۶۷۴ متر
<i>G. grandiflorum</i> subsp. <i>grandiflorum</i> var. <i>grandiflorum</i> Boiss. & A.Huet 28	قزوین گردنه آوج ارتفاع ۲۳۴۵ متر
<i>G. grandiflorum</i> subsp. <i>grandiflorum</i> var. <i>iranicum</i> 100	تهران سرخ حصار ارتفاع ۱۵۱۰ متر
<i>G. corniculatum</i> var. <i>flaviflorum</i> DC.108	تهران دماوند ارتفاع ۱۹۰۳ متر

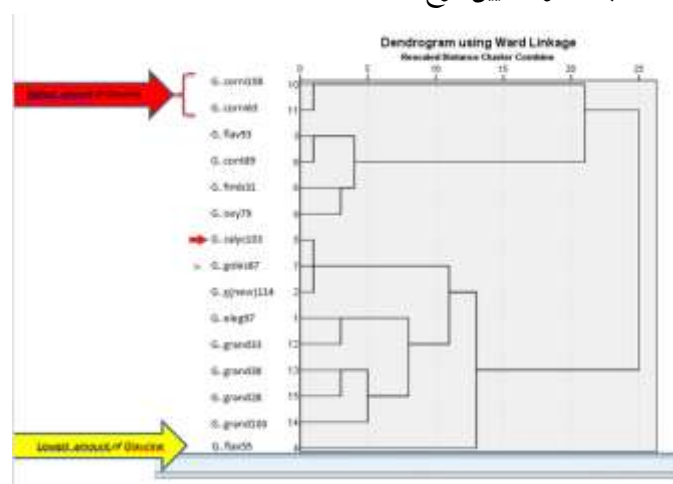


نمودار ۱. بهینه سازی روش استخراج گلوکوسین در نمونه های گیاهی گلوکوسیم با مخلوطی از اتانول و محلول اسید فسفریک یک درصد در محیط آبی

نتایج

در این بررسی برای اولین بار ۱۵ تاکسون، از جنس *Glucium* Mill (جدول ۱) با استاندارد گلوکوسین مورد مطالعه قرار گرفت. میانگین این ترکیب بر اساس منحنی استاندارد با غلظت HPLC به منظور تعیین نوع و $1,4 \pm 0,4$ mg/ml از روش HPLC

میزان ترکیبات آلکالوئیدی موجود در عصاره حاصله محاسبه و نمودار هر استاندارد با Excel رسم و آنالیز آماری با SPSS انجام گردید. (شکل ۱).



شکل ۱. درخت WARD از گونه مورد مطالعه گلوکوسیم بر اساس داده های فیتوشیمیایی

Kromasil ، قله متقارن را بدست آوردیم. مهمترین نتایج حاصل از HPLC از جمله درصد گلوکوسین، ارتفاع پیک ها و

آلکالوئید گلوکوسین یک پایه قوی است و ما موفق شدیم فقط از یک ستون پر شده با جاذب فاز معکوس C-18 از نوع

G. grandiflorum subsp. *grandiflorum* var. *iranicum* 100

G. grandiflorum subsp. *refractum* 33

G. grandiflorum subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 38

G. grandiflorum subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 28

G. grandiflorum subsp. *grandiflorum* var. *iranicum* 100

G. grandiflorum subsp. *refractum* 33

بوده و در زیر خوشه فرعی ۲ در فاصله ۱ تاکسونومیک نمونه های: *G. calycinum* var. *calycinum* 103، *G. new* 114، *golestanicum* 87

خوشه اصلی ۲ در فاصله تاکسونومیک ۲۱ به دو زیر گروه تقسیم می شود که زیر گروه ۱ خوشه اصلی ۲ نمونه های: *G. contortuplicatum* var. *fumbrilligerum* 31، *G. flavum* var. *serpieri* و *contortuplicatum* 89

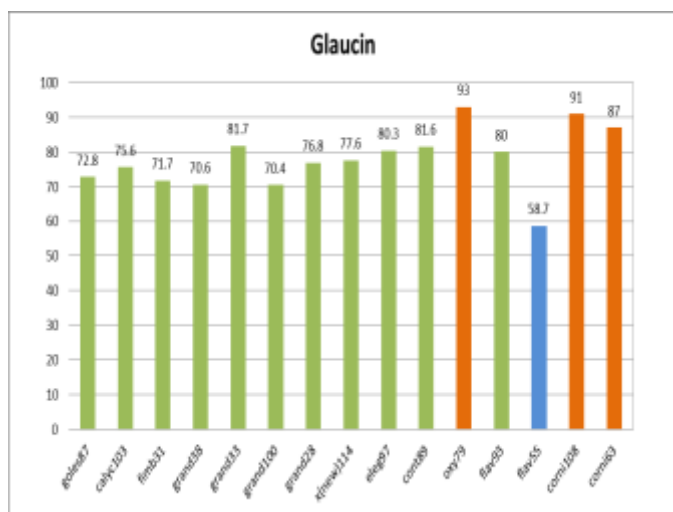
و در زیر گروه ۲ خوشه اصلی ۲ در فاصله تاکسونومیک ۱ نمونه های *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 و *G. corniculatum* var. *corniculatum* 63 قرار دارند.

بر اساس دندروگرام حاصله بیشترین تشابه گونه ای به لحاظ ذخیره گلوکسین مربوط به نمونه های *G. elegans* var. *elegans* 97، *G. grandiflorum* subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 38، *G. grandiflorum* subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 28، *G. grandiflorum* subsp. *grandiflorum* var. *iranicum* 100، *G. grandiflorum* subsp. *refractum* 33، *G. calycinum* var. *calycinum* 103، *G. new* 114، *golestanicum* 87، *G. contortuplicatum* var. *fumbrilligerum* 31، *G. flavum* var. *serpieri* و *contortuplicatum* 89، *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 و *G. corniculatum* var. *corniculatum* 63 قرار دارند.

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).



نمودار ۲. میزان درصد آلکالوئید گلوکسین در ۱۵ گونه مورد مطالعه

سطح زیر پیک هرگونه رسم گردید و بر اساس آن در فاصله تاکسونومیک ۲۵ دو خوشه اصلی ۱ و ۲ جدا گردید خوشه اصلی ۱ در فاصله تاکسونومیک ۱۴ به دو زیر خوشه تقسیم می شود در زیر خوشه ۱ *G. flavum* var. *serpieri* 93 قرار دارد و در زیر خوشه ۲ از فاصله تاکسونومیک ۱۱ به دو زیر خوشه فرعی تقسیم می شو زیر خوشه فرعی ۱ در فاصله ۷ شامل گونه های:

G. elegans var. *elegans* 97

G. grandiflorum subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 38

G. grandiflorum subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 28

G. grandiflorum subsp. *grandiflorum* var. *iranicum* 100

G. grandiflorum subsp. *refractum* 33

بوده و در زیر خوشه فرعی ۲ در فاصله ۱ تاکسونومیک نمونه های: *G. calycinum* var. *calycinum* 103، *G. new* 114، *golestanicum* 87

خوشه اصلی ۲ در فاصله تاکسونومیک ۲۱ به دو زیر گروه تقسیم می شود که زیر گروه ۱ خوشه اصلی ۲ نمونه های: *G. contortuplicatum* var. *fumbrilligerum* 31، *G. flavum* var. *serpieri* و *contortuplicatum* 89

و در زیر گروه ۲ خوشه اصلی ۲ در فاصله تاکسونومیک ۱ نمونه های *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 و *G. corniculatum* var. *corniculatum* 63 قرار دارند.

بر اساس دندروگرام حاصله بیشترین تشابه گونه ای به لحاظ ذخیره گلوکسین مربوط به نمونه های *G. elegans* var. *elegans* 97، *G. grandiflorum* subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 38، *G. grandiflorum* subsp. *grandiflorum* var. *grandiflorum* 28، *G. grandiflorum* subsp. *grandiflorum* var. *iranicum* 100، *G. grandiflorum* subsp. *refractum* 33، *G. calycinum* var. *calycinum* 103، *G. new* 114، *golestanicum* 87، *G. contortuplicatum* var. *fumbrilligerum* 31، *G. flavum* var. *serpieri* و *contortuplicatum* 89، *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 و *G. corniculatum* var. *corniculatum* 63 قرار دارند.

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).

نیز هستند.

درصد گلوکسین در نمونه های مختلف تفاوت معناداری با یکدیگر دارند بیشترین میزان گلوکسین در ارتفاع پیک مربوط به *G. corniculatum* var. *G. oxylobum* 79 (نمودار ۳).

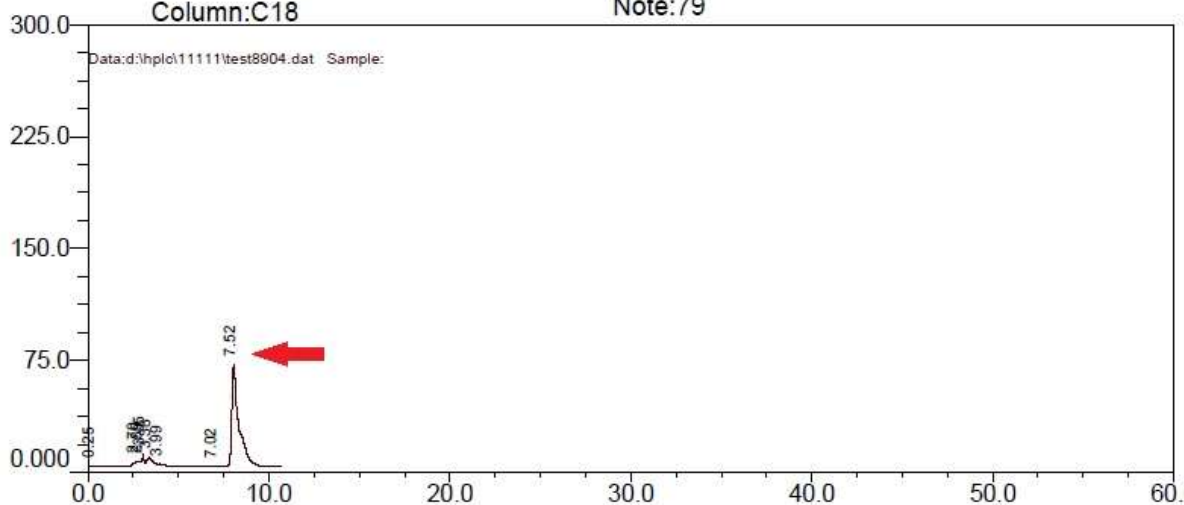
G. corniculatum var. *corniculatum* 63 (نمودار ۴) و *G. corniculatum* var. *flaviflorum* 108 (نمودار ۵) و کمترین میزان گلوکسین مربوط به *G. flavum* var. *flavum* 55 (نمودار ۶).

نیز هستند.

Analyst Report

Sample:	Analyst:
Source:	Company:
Volume:	

Pump:SY-8100	Mobile:Acetonitrile-KH2OPO4
Detector:SY-8200	Wave:280nm
Injector:7725i	Volume:25ul
Column:C18	Note:79



Result Table From:d:\hplc\11111\test8904.dat

quantitate method:nomalization

S/N	Peak Name	Ret Time	Height	Area	Result(%)	Theoretical
1		0.25	114	315	0.0	177
2		2.70	1548	23275	1.2	2058
3		2.89	431	2068	0.1	0
4		3.05	5557	25534	1.3	10495
5		3.38	3944	73260	3.7	736
6		3.99	399	4978	0.2	3837
7		7.52	68636	1862865	93.4	3589
8		8.06	162	2165	0.1	5733

نمودار ۳- نمونه 79 *G. oxylobum var. oxylobum* بیشترین میزان گلوسین

Analyst Report

Sample:

Analyst:

Source:

Company:

Volume:

Pump:SY-8100

Mobile:Acetonitrile-KH₂PO₄

Detector:SY-8200

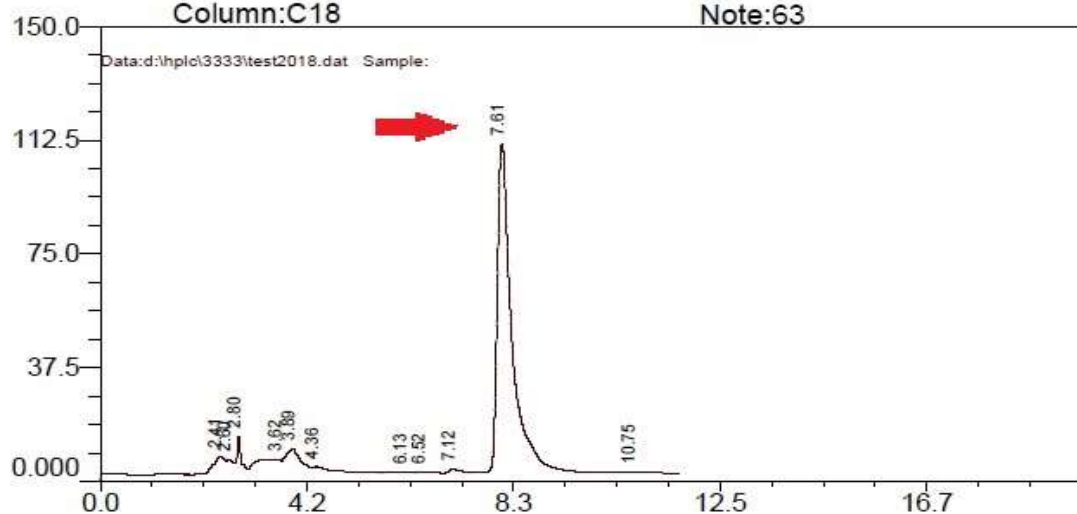
Wave:280nm

Injector:7725i

Volume:25ul

Column:C18

Note:63



Result Table From:d:\hplc\3333\test2018.dat

quantitate method:normalization

S/N	Peak Name	Ret Time	Height	Area	Result(%)	Theoretical
1		2.41	3638	60201	2.4	1201
2		2.60	389	1748	0.1	9325
3		2.80	9448	35456	1.4	14307
4		3.62	2237	84341	3.3	69
5		3.89	5916	109565	4.3	910
6		4.36	532	5557	0.2	4892
7		6.13	129	766	0.0	21541
8		6.52	272	3623	0.1	8137
9	➔	7.61	108726	2208421	87.0	5239
10		8.10	3294	20856	0.8	4869
11		10.75	232	7496	0.3	2738

نمودار ۴ - نمونه *G. corniculatum* var. *corniculatum* با بیشترین میزان گلوکوسین

Analyst Report

Sample:

Analyst:

Source:

Company:

Volume:

Pump:SY-8100

Mobile:Acetonitrile-KH₂PO₄

Detector:SY-8200

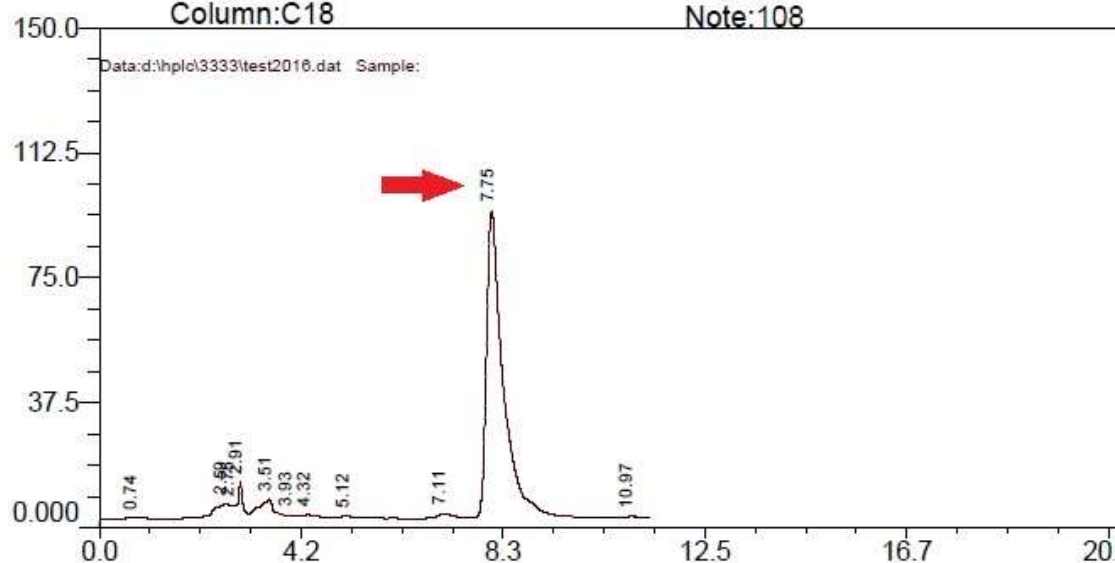
Wave:280nm

Injector:7725i

Volume:25ul

Column:C18

Note:108



Result Table From:d:\hplc\3333\test2016.dat

quantitate method:nomalization

S/N	Peak Name	Ret Time	Height	Area	Result(%)	Theoretical
1		0.74	251	5388	0.2	20
2		2.59	1728	35762	1.5	355
3		2.75	206	957	0.0	0
4		2.91	8078	35091	1.5	13803
5		3.51	4744	86907	3.6	1077
6		3.93	131	2099	0.1	2071
7		4.32	525	6637	0.3	3373
8		5.12	237	2740	0.1	3946
9		7.75	92043	2195799	91.2	3662
10		8.10	1547	32019	1.3	3181
11		10.97	217	4075	0.2	3688

نمودار ۵. نمونه *G. corniculatum* var. *flaviflorum* بیشترین میزان گلو سین

Analyst Report

Sample:

Analyst:

Source:

Company:

Volume:

Pump:SY-8100

Mobile:Acetonitrile-KH₂PO₄

Detector:SY-8200

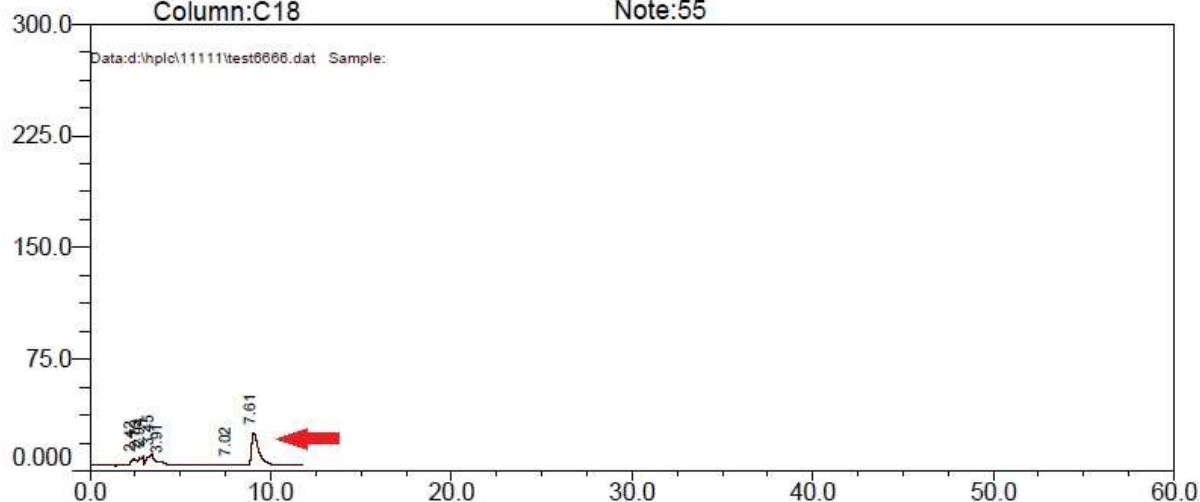
Wave:280nm

Injector:7725i

Volume:25ul

Column:C18

Note:55



Result Table From:d:\hplc\11111\test6666.dat

quantitate method:normalization

S/N	Peak Name	Ret Time	Height	Area	Result(%)	Theoretical
1		2.42	3940	95830	9.5	260
2		2.73	5146	40207	4.0	0
3		2.94	5958	46952	4.6	13256
4		3.45	7561	222985	22.0	411
5		3.91	602	9744	1.0	2607
6		7.02	205	3225	0.3	3730
7		7.61	21874	595037	58.7	3217

نمودار ۶. نمونه *G. flavum* var. *flavum* کمترین میزان گلوکسین

بحث و نتیجه گیری

در توضیح این نتایج میتوان به مطالعات **Lamine Bournine** و همکاران (۲۰۱۳) اشاره نمود که آلکالوئیدهای ضد سرطانی فعال از ریشه گلوکسیوم فلاووم را شناسایی و تعیین نمودند. بی. لا با و همکاران (۱۵) آلکالوئید گلوکسین را در گونه گلوکسیوم

فلاووم به روش کروماتوگرافی تعیین نمود. شریفی و همکاران به دلیل غنا و تنوع محتوای آلکالوئید تیره پاپاوراسه و جنس گلوکسیوم و جایگاه ویژه آنها در گیاهان دارویی آلکالوئیدهای جنس ***G. oxylobum*** را با استفاده از ساقه و بخش های هوایی گیاه به روش پرکولاسیون عصاره گیری نموده و با استفاده از

مشکوک می توان استفاده کرد و گونه هایی که صفات فنولوژی و مورفولوژی شبیه به هم دارند در کنار هم قرار گرفته و همچنین وارسته و زیر گونه های یک گونه درصد متفاوتی داشته و صفت گلوکسین برای آنها فاکتور جدا کننده محسوب می شود. از این رو بدلیل ارزش دارویی دارویی آلکالوئید های جنس گلوکسین در صنعت و علوم پزشکی و داروسازی شناسایی گونه هایی که میزان گلوکسین بیشتری دارد حائز اهمیت می باشند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری و مساعدت های کارشناسان محترم آزمایشگاه و هرباریوم حکیمیه، و مسئولین و کارشناسان محترم آزمایشگاه مرکزی دانشگاه بوعلی سینا همدان و همچنین مسئول محترم بخش HPLC دانشکده علوم پایه و دانشکده داروسازی دانشگاه بوعلی سینا کمال قدردانی را دارم.

تعارض منافع

این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

شیوه کروماتوگرافی ستونی و کروماتوگرافی روی پلیت، ۵ آلکالوئید اصلی استخراج و خالص سازی نمود. قربانلی و گران (۱۹) در بررسی فیتوشیمیایی در ۳ جنس از تیره خشخاش در ایران، دارا بودن فنل، آنتوسیانین و آلکالوئیدهای استخراج شده موثر در عرصه دارویی را در بخشهای هوایی این تیره را تایید نمودند. آرزو شقاقی و همکاران (۲۰) فنل کل، فلاونوئید و پتانسیل آنتی اکسیدانی اندامهای مختلف دو جنس خشخاش (*Papaver*) گلوسیوم (*Glaucium*) جمع آوری شده از نقاط مختلف ایران را ارزیابی نمودند. خوشوقتی و همکاران (۲۰۱۹) تاثیر عصاره آبی-الکلی گلوسیوم بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی قلب و مغز موشهای صحرایی دیابتی شده و در نتیجه تاثیر آن بر کاهش دیابت آنها مورد تایید قرار دادند. گیورکوسکا و همکاران (۲۱) در تحقیقات و مطالعه خود سرکوب التهاب را به گلوکسین استخراج شده از گلوسیوم (شقایق کوهی) نسبت دادند.

نتایج تحقیق آنالیز فیتوشیمیایی میزان آلکالوئید گلوکسین در ۱۵ گونه جنس گلوسیوم نشان داد آلکالوئید گلوکسین به عنوان اصلی ترین آلکالوئید جنس گلوسیوم صفتی متغیر و تحت تاثیر عوامل زنتیکی بوده که از آن برای تایید و تعیین جایگاه نمونه های

References

1. Kadkhoda, Z., et al., (2011). Determination of alkaloids amount from Iranian *Papaver bracteatum* Lindl. by HPLC. *Journal of Medicinal Herbs*, Vol 2: No.1 pp.39-43
2. Tavakkoli, Z., 2016: Notes on some species of the genus *Glaucium* (Papaveraceae) in Iran. *Nova Biological Reperta* 3, 167-176.
3. Bournine, L., et al., Identification and Quantification of the Main Active Anticancer Alkaloids from the Root of *Glaucium flavum*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013, 14(12), 23533-23544
4. Mobayen, S., (1985). *Glaucium*. In: *Flora of Iran, vascular plants* 3, 154 -170. Tehran University, Iran.
5. Parsa, A., (1986). *flora of Iran (flore de l Iran) papaveraceae Glaucium garndiflorom & A. Huet var Haussknechti* (Bornm & fedde) 2:438.
6. Cullen, J., (1966). *Glaucium*. In: Rechinger, K. H. (ed.), *Flora Iranica* 34, 2 -7. Akad. Druck- und Verlagsanstalt.
7. Kadereit, J.W., (2011). SYSTEMATICS, PHYLOGENY, AND EVOLUTION OF *PAPAVER CALIFORNICUM* AND *STYLOMECON HETEROPHYLLA* (PAPAVERACEAE) Madroño; a West American journal of botany, Vol. 58, No.2, pp. 92-

- 100 California Botanical Society.
8. Gran, A., Sharifnia, F., (2008). Micro-morphological studies of the genus *Glaucium* (Papaveraceae) in Iran. *The Iranian Journal of Botany* 14, 22-38.
 9. Tavakkoli, Z., Assadi, M. A taxonomic revision of the genus *Glaucium* (Papaveraceae) in Iran *Acta Bot. Croat.* 78 (1), 57-65, 2019
 10. Vorniceanu C, Costică N, Băra II. Phenotype of some Papaveraceae species expressed as micromorphology of foliar lamina and capsule surface. *Analele Științifice Ale Universității "Al. I. Cuza" Din Iași: Genetică și biologie moleculară. Serie nouă. Secțiunea II a.* 2004;5:196.
 11. Tadeusz, A. Definition, typology, and occurrence of alkaloids *Alkaloids Chemistry, Biology, Ecology, and Applications Journal of Elsevier* 2015, Pages 1-97
 12. Laundry, M. M., et al., (2009). Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. *J. Ethnopharmacol.* 123: 439 - 45.
 13. Spasova, M., et al., (2008). Cinnamoyl- and hydroxycinnamoyl amides of glaucine and their antioxidative and antiviral activities. *Bioorganic & Medicinal Chem.* 16: 7457 - 61.
 14. Noori, M., Talebi, SM., (2017). A chemotaxonomic study of some Iranian *Linum* taxa. *Phytologia Balcanica* 23(1): 23-29.
 15. G. B. Lapa, et al., (2004). HPLC determination of *Glaucium* in Yellow HORN POPPY GRASS (*Glaucium flavum* crant). *Pharmaceutical chemistry Journal* vol38: No8.
 16. Zargari, A. *Medicinal Plants*, fifth ed. Tehran University Publications 1990; 1: 154 - 7.
 17. Kametani, T., Honda, T., (1985). The Aporphine Alkaloids, in: *The Alkaloids Chemistry and Pharmacology*, A. Brossi (ed.), Academic Press, New York, Vol. 24, pp. 153 - 252.
 18. Chervenкова, V., et al., (1981). *Phytochemistry*, 20(9), 2285 - 2287
 19. Gorbanli, M., Gran, A., (2010). phytochemical investigation in three genus of papaveraceae in Iran. *SID: Vol 5: No 3.* pp 13-20 (in persian)
 20. Shaghghi, A., et al., (2019). Study of total phenolic, total flavonoid content and antioxidant potential in various organs of genus *Papaver* and *Glaucium* collected from Iran *Journal of plant production* Vol. 26, Issue 2 Sep. pp. 195-214 (in persian)
 21. Gyurkovsk, V., et al., (2015). Acetylated derivative of glaucine inhibits joint inflammation in collagenase-induced arthritis *Immunopharmacol Immunotoxicol.* Feb;37(1):56-62

*Original Article***HPLC Method for Quantitative Determination of Glaucine in
Glaucium (Papaveraceae)**

Received: 21/05/2024 - Accepted: 29/10/2024

Zahra Bouzarisaravani¹
Fariba Sharifnia^{2*}
Fahimeh Salimpour³
Sedigheh Arbabian⁴
Afsaneh Geran⁵

¹ Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding Author)

³ Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴ Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁵ Department of Biology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

Email: : fa.sharifnia@iau.ac.ir

Abstract

Introduction: The Papaveraceae family is one of the most important alkaloid containing families. It contains isoquinoline alkaloids including aporphines, protopines, protoberberines and proaporphines. Therefore, the objective of this research was HPLC Method for Quantitative Determination of Glaucine in *Glaucium* (Papaveraceae)

Methods: The genus *Glaucium* (Papaveraceae) comprises about 25 species of herbaceous plants in the world and Aporphinoids are the greatest number of isolated alkaloids from this genus. S-(+)-Glaucine (C₂₁H₂₅NO₄) is the main alkaloid component of the *Papaveraceae* family, which are collected during the blooming period. This compound belongs to the group of aporphine alkaloids and is used in medicine as an antitussive agent. In the current research, we studied leaf Glaucine composition of nine *Glaucium* species from Iran. These species were harvested from the northern and western provinces of the country and their leaf ethanolic extracts were subjected to HPLC, for detection the types and amounts of their Glaucine compounds.

Results: The concentration of these Glaucine compounds differed between the species. The highest amount of Glaucine compounds were detected in *G. corniculatum* var *corniculatum* and *G. corniculatum* var *flaviflorum*, while *G. flavum* var *flavum* had the lowest one. The evaluated species divided into two distinct group in WARD tree. All of evaluated individual belonged to the same species of the genus.

Conclusion: Therefore our findings revealed that the Glaucine data were useful at species level for identification of the species.

Keywords: *Glaucium*; Papaveraceae; HPLC; Glaucine; Alkaloid