دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۱، شماره ۲، صفحه ۳۱۴-۳۰۷ (۱۳۹۴)

اندازه‌گیری کمّی آلکالوئیدها در گیاه مامیران (*Chelidonium majus* L.) در شمال ایران با ارتفاع متفاوت

زهره غنوی[۱]، سعید ملائی[۲]، علیرضا بابایی[۳*] و علیرضا قاسم‌پور[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

۲- دانشجوی دکترا، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۳*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

پست الکترونیک: arbabaei@modares.ac.ir

۴- استاد، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲ تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲

چکیده

مامیران (*Chelidonium majus* L.) گیاهی متعلق به خانواده Papaveraceae است که در مناطق شمالی ایران رویش دارد و به علت داشتن ایزوکینولین آلکالوئیدها دارای خواص ضدسرطان و ضدایدز می‌باشد که ازجمله این ایزوکینولین آلکالوئیدها می‌توان به مورفین، کدئین، تبائین، پاپاورین و نوسکاپین اشاره کرد. هدف این مقاله، اندازه‌گیری کمّی ایزوکینولین آلکالوئیدهای ذکر شده در بالا در نمونه‌های جمع‌آوری شده از نواحی شمال ایران با ارتفاع‌های متفاوت و بررسی عوامل محیطی در میزان این ترکیب‌ها می‌باشد. از این‌رو ۵ منطقه از نواحی مختلف شمال، شامل شهرهای مازندران، فیروزکوه و گلستان انتخاب شدند و پس از اندازه‌گیری کمّی، عامل ارتفاع نیز مورد توجه قرار گرفت تا نقش این عامل در میزان ترکیب‌ها مورد ارزیابی قرار گیرد. نتایج نشان داد که بیشینه مقدار آلکالوئیدهای ذکر شده در بالا به‌ترتیب برابر با ۰/۲۵، ۰/۱۸، ۰/۰۲، ۲/۱۴ و ۰/۲۷ درصد وزنی/وزنی و کمینه مقدار به‌ترتیب ۰/۱۱، ۰/۰۰، ۰/۰۰، ۰/۱۱ و ۰/۰۰ درصد وزنی/وزنی می‌باشد وارتفاع از سطح دریا ارتباط معکوس و معنی‌داری در سطح ۹۹٪ دارد و با افزایش این عامل، میزان این ترکیب‌ها کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: مورفین، کدئین، پاپاورین، تبائین، نوسکاپین، ارتفاع.

مقدمه

گیاه مامیران (*Chelidonium majus* L.) گیاهی علفی و پایاست به ارتفاع ۸۰-۳۰ سانتی‌متر که در خاک‌های مرطوب، بر روی دیوارها، نقاط متروک، اماکن سایه‌دار، حاشیه جاده‌ها و نواحی مجاور آبادی‌ها می‌روید و دارای ساقه‌های به ارتفاع تقریبی ۰/۵ متر، ایستاده، بسیار منشعب، شکننده، نرم و کرک‌دار و گل‌های به رنگ زرد و مجتمع، به‌صورت چتر ساده‌اند و علاوه‌بر دو کاسبرگی که می‌افتند دارای چهار گلبرگ زرد رنگ می‌باشند. دمگل‌ها ناهم‌قد، کاسبرگ‌ها متمایل به زرد و گلبرگ‌ها در غنچه لوله شده‌اند (Clapham *et al*., 1989؛ Rechinger, 1960). این گیاه در اغلب نقاط اروپا می‌روید و انتشار جغرافیایی آن تا سوئد و

فنلاند در شمال دریای بالتیک را دربر می‌گیرد (Clapham *et al.*, 1989 ؛Rechinger, 1960). پراکندگی گیاه در خاورمیانه محدوده ایران و ترکیه است، که محل رویش آن در ایران نواحی شمال و شمال‌شرقی کشور می‌باشد (Rickett, 1965).

براساس مطالعات انجام شده تاکنون آنالیز ایزوکینولین آلکالوئیدها به روشهای مختلفی از قبیل رزونانس مغناطیس هسته (NMR)، اسپکتروفتومتری، فلوئوریمتری، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کروماتوگرافی گازی (GC)، کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، الکتروفورز مویینگی (CE) و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارساز طیف‌سنج جرمی (LC/MS) انجام شده است. از روشهای کروماتوگرافی، کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا کاربرد بیشتری در آنالیز ایزوکینولئین آلکالوئیدها دارند. گزارش‌های زیادی در زمینه شناسایی و اندازه‌گیری ایزوکینولئین آلکالوئیدها در نمونه‌های گیاهی به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام شده است. در بیشتر مطالعات انجام شده ستون‌های C18 به‌عنوان فاز ساکن بکار گرفته شده‌اند. براساس مطالعات قبلی هفت ایزوکینولئین آلکالوئید از گیاه *Chelidonium majus* L. با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، جداسازی و تعیین مقدار شده‌است (Abourashed & Khan, 2001 ؛Bozhadze *et al.*, 2011 ؛Weber *et al.*, 2001 ؛Gu *et al.*, 2010).

عوامل محیطی و مورفولوژی نقش مهم و اساسی را در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان بر عهده دارند که ازجمله این عوامل می‌توان به ارتفاع اشاره کرد (Adams *et al.*, 2009). براساس مطالعاتی که توسط دانشمندان استرالیایی انجام شد، مشخص شد که برخی از متابولیت‌های ثانویه ازجمله فلاونوئیدها، ترکیب‌های فنلی و آنتوسیانین در اثر افزایش ارتفاع افزایش می‌یابند و برخی دیگر ازجمله آلکالوئیدها، سسکوئی‌ترپن‌ها و لاکتون‌ها با افزایش ارتفاع کاهش می‌یابند (Zidorn, 2010). همچنین تأثیر فاکتورهای محیطی بر روی تولید آلکالوئید بربرین در گیاه *Berberis asiatica* مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که ارتفاع نقش مهم و اساسی را در تولید این ترکیب داشته و در ارتفاعات کم، میزان این ترکیب افزایش می‌یابد (Andola *et al.*, 2011).

در این میان گیاه مامیران به‌دلیل داشتن آلکالوئیدهای دارای خواص فارماکولوژیکی گسترده، جایگاه ویژه‌ای را در میان گیاهان دارویی دارد. بررسی به‌عمل آمده همواره نشان‌دهنده حضور تنوع گسترده‌ای از آلکالوئیدها برحسب واریته‌های گوناگون، شرایط مختلف اقلیمی رویش، اندام‌های گیاهی مورد بررسی و مراحل رشد و نمو گیاه بوده است (Tome & Colombo, 1995). ولی تا به حال هیچ مطالعه‌ای در زمینه مقدار کمّی آلکالوئیدهای این گیاه در ایران انجام نشده‌است.

از این‌رو مطالعه حاضر به تحقیق در زمینه استخراج و تعیین مقدار کمّی آلکالوئیدهای مورفین، کدئین، تبائین، پاپاورین و نوسکاپین در گیاه مامیران و بررسی نقش ارتفاع با مقدار آلکالوئیدهای مذکور می‌پردازد.

مواد و روشها

مواد مورد استفاده

جمع‌آوری نمونه‌ها در رویشگاه گیاه

گیاه مورد استفاده برای آزمایش‌ها، گیاه مامیران ایران با نام علمی *Chelidonium majus* بود. محل جمع‌آوری شامل برخی مناطق رویش این گیاه در شمال کشور بود. در این تحقیق ۵ نمونه گیاه مامیران از مناطق مختلف استان‌های مازندران، فیروزکوه و گلستان در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار، در اردیبهشت سال ۱۳۹۱ مورد مطالعه قرار گرفت که اطلاعات محل جمع‌آوری در جدول ۱ آورده شده‌است.

جدول ۱- مختصات جمع‌آوری نمونه‌های گیاه مامیران

نمونه	ارتفاع	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	نام محل
۱	۱۹۰۱	58 07' 20"	35 52' 37"	فیروزکوه به ساری، اولین تونل، ۲۰ کیلومتر به تونل چپ دره
۲	۱۳۵۸	54 53' 26"	36 09' 28"	مازندران، کلاردشت به رودبارک، اول رودبارک
۳	۹۵۲	51 27' 35"	36 25' 51"	مازندران، مرزن‌آباد به کجور، منطقه جهان‌زار
۴	۳۴۰	50 18' 30"	37 02' 21"	فیروزکوه به ساری، ۵ کیلومتر به شیرگاه، با نام علی علف‌جوش
۵	۳۴	52 54' 32"	36 14' 26"	گلستان، کوکوی، پارک جنگلی امام رضا

مواد و معرف‌های بکار رفته

مورفین، کدئین، تبائین، پاپاورین و نوسکاپین از شرکت Sigma (St Louis, MO, USA) آمریکا خریداری شدند. تمام حلال‌های مورد استفاده از کمپانی Merck آلمان تهیه شد. در تمامی آزمایش‌ها از آبیون زدا شده با سیستم Milli-Q (Bedford, MA, USA) استفاده گردید.

دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

سیستم HPLC مدل Knauer ساخت کشور آلمان به همراه پمپ knauer (K-1001)، آشکارساز PDA Knauer (k-2800) و آشکارساز UV، مجهز به لوپ ۲۰ میکرولیتر و سیستم پردازش اطلاعات رایانه‌ای Chromgate با قابلیت نصب بر روی نرم‌افزار ویندوز برای مشاهده پیک‌ها، تصحیح خط زمینه و قابلیت اتوماسیون مورد استفاده قرار گرفت. طی روش جداسازی از ستون C_{18}Eurospher (۴/۶×۲۵۰mm ،۵µm) استفاده شد.

روش استخراج عصاره گیاهی

۰/۲ گرم از نمونه خشک شده و پودر شده وزن شد و به آن ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ مولار اسید کلریدریک در متانول اضافه شد و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. این محلول سانتریفیوژ شد (۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه)، محلول رویی به لوله سانتریفیوژ دیگری منتقل شده و به باقی مانده دوباره ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ مولار اسید کلریدریک در متانول اضافه شد و مطابق روش توضیح داده شده عمل شد و محلول حاصل از این مرحله نیز به محلول مرحله پیش اضافه شد. محلول حاصل از دو مرحله تا خشک شدن کامل تبخیر شد و در یک میلی‌لیتر متانول حل شد و به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق شد (Kursinszki *et al*., 2006).

شرایط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

به دلیل شناسایی آلکالوئیدهای مذکور در نمونه‌های مختلف، به روش گرادیانت که برنامه زمانی آن در جدول ۲ آورده شده و ستون C۱۸ و فاز متحرک مخلوط که شامل بافر فسفات، هگزان سولفونیک اسید، آب و اسید فسفریک تا pH=2 به‌عنوان محلول A و استونیتریل به‌عنوان محلول B بود، استفاده شد.

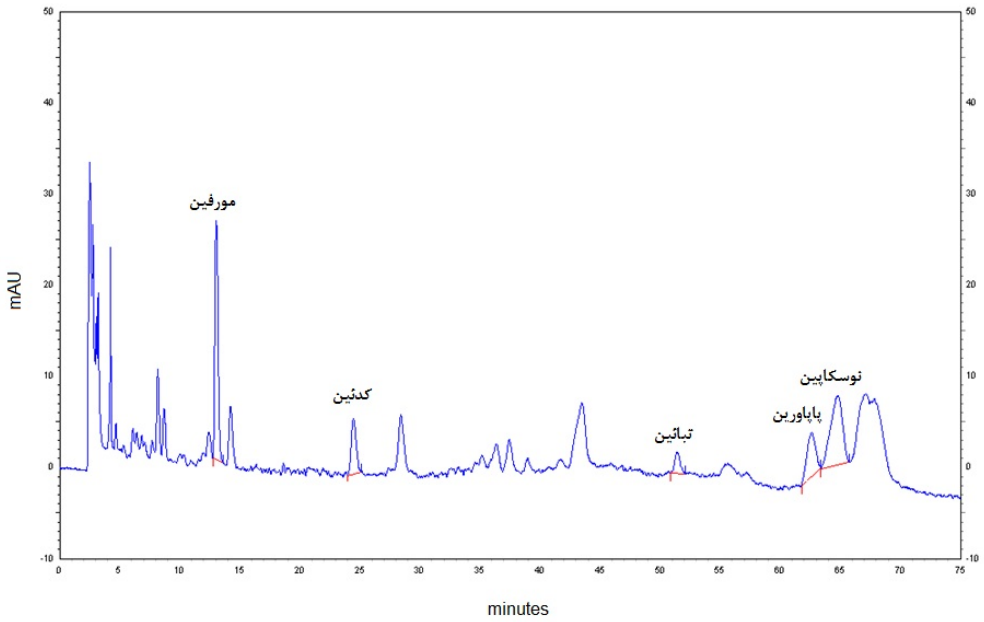
جدول ۲- برنامه شویشی برای جداسازی آلکالوئیدها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

زمان	سرعت فاز متحرک	محلول A	محلول B
۰	۰/۸	۲۰	۸۰
۵۰	۰/۸	۳۳	۶۷
۸۰	۰/۸	۳۳	۶۷
۹۰	۰/۸	۲۰	۸۰

به‌منظور تعیین مقدار مورفین، کدئین، تبائین، پاپاورین و نوسکاپین در نمونه‌ها از نمودار کالیبراسیون خطی استفاده شد. بنابراین غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴، ۴/۵، ۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ppm۱۰ از استاندارد نمونه‌ها در حلال استونیتریل تهیه نموده و پس از تزریق آنها به ستون C18 طبق شرایط بهینه شده، مساحت پیک آنها محاسبه شد. مساحت پیک استانداردها، با مساحت ترکیب مورد نظر در هر یک از نمونه‌ها مقایسه گردید. با مقایسه مساحت‌ها و معادلات خطی بدست آمده از رسم منحنی کالیبراسیون (جدول ۳)، مقدار این آلکالوئیدها در ۵ نمونه برحسب درصد وزنی/ وزنی اندازه‌گیری شد که در جدول ۴ این مقادیر نشان داده شده‌است.

نتایج

مطالعه آلکالوئیدهای گیاه مامیران از اوایل قرن بیستم میلادی آغاز شده و تا به حال در نقاط گوناگون جهان ادامه یافته است. بررسی به‌عمل آمده همواره نشان‌دهنده حضور تنوع گسترده‌ای از آلکالوئیدها بوده‌است. ولی تا به حال هیچ مطالعه‌ای در زمینه مقدار کمی آلکالوئیدهای این گیاه در ایران انجام نشده‌است. از این‌رو در این مقاله مقدار کمی برخی از آلکالوئیدهای موجود در نمونه‌های جمع‌آوری شده از نواحی مختلف شمال ایران با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین شد. برای این کار آلکالوییدهای استخراج شده در متانول حل شده و طبق روش گرادیانت ذکر شده در بخش تجربی، به دستگاه تزریق شدند که کروماتوگرام یکی از نمونه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده‌است. برای شناسایی پیک مورفین، کدئین، تبائین، پاپاورین و نوسکاپین در نمونه‌های گیاهی از روش مقایسه زمان بازداری ترکیب استاندارد مورفین، کدئین، تبائین، پاپاورین و نوسکاپین، با پیک هریک از نمونه‌ها و نیز روش spike کردن استفاده شد. برای تمام نمونه‌ها از ستون C18 استفاده شد. نمونه‌ها با فاز متحرک مربوطه مورد شویش قرار گرفتند. برای هر نمونه ۳ بار تزریق انجام شد که نتایج بدست آمده تکرارپذیر بودند. ولی تعیین مقدار کمّی این ترکیب‌ها با استفاده از این روش امکان‌پذیر نبود و برای این کار از نمودار کالیبراسیون استفاده شد.



شکل ۱- کروماتوگرام کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مربوط به نمونه ۱

جدول ۳- معادله کالیبراسیون مربوط به آلکالوئیدها

آلکالوئیدها	پاپاورین	تبائین	کدئین	مورفین	نوسکاپین
معادله	y=105220x+75008	y=130420x+97771	y=135200x-13394	y=126890x+89256	y=229560x+58138

لازم به ذکر است که در روابط بالا y سطح زیر پیک و x غلظت آلکالوئید مربوطه است.

جدول ۴- مقدار کمّی آلکالوئیدها در نمونه‌ها برحسب درصد وزنی/وزنی

نمونه	مورفین	کدئین	تبائین	پاپاورین	نوسکاپین
۱	۰/۱۴	۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۲۲	۰/۰۰
۲	۰/۱۹	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۱۱	۰/۱۱
۳	۰/۲۱	۰/۰۸	۰/۰۰	۱/۶۲	۰/۲۴
۴	۰/۱۱	۰/۰۶	۰/۰۰	۱/۸۰	۰/۲۷
۵	۰/۲۵	۰/۱۸	۰/۰۰	۲/۱۴	۰/۰۳

به‌منظور تعیین مقدار آلکالوئیدها، نمودار کالیبراسیون خطی رسم شد که معادله خطی مربوط به هر یک از نمونه‌ها در جدول ۳ آورده شده‌است. با استفاده از این معادله‌ها، مقدار کمّی آلکالوئیدها در نمونه‌ها محاسبه شد که مقدار آنها در جدول ۴ قابل مشاهده است.

تأثیر ارتفاع بر مقدار کمّی مورفین، کدئین، تبائین، پاپاورین و نوسکاپین نیز مورد مطالعه قرار گرفت که برای تجزیه و تحلیل آماری از Excel 2010 استفاده شد. تجزیه واریانس صفات براساس طرح کامل با سه تکرار با استفاده از برنامه SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد. به‌منظور بررسی روابط بین ارتفاع از ضرایب همبستگی بین صفات پیرسون استفاده شد که نتایج آنها در جدول ۵ و ۶ آورده شده‌است.

جدول ۵- آزمون آنالیز واریانس ارتفاع از سطح دریا

منابع تغییرات	SS	df	MS	F	Sig.
مکان	۱۰۵۶۹۷۲۰/۴	۸	۱۳۲۱۲۱۵/۰۴۵	۱۷۸/۸ **	۰/۰۰۰
خطا	۱۳۲۹۹۶/۲	۱۸	۷۳۸۸/۶۸۰		
کل	۱۰۷۰۲۷۱۶/۶	۲۶			

جدول ۶- آنالیز همبستگی صفات مورد بررسی

	مورفین	کدئین	تبائین	پاپاورین	نسکاپین
ارتفاع از سطح دریا	-۰/۵۸**	-۰/۴۳*	۰/۰۰	-۰/۵۴**	-۰/۶۲**

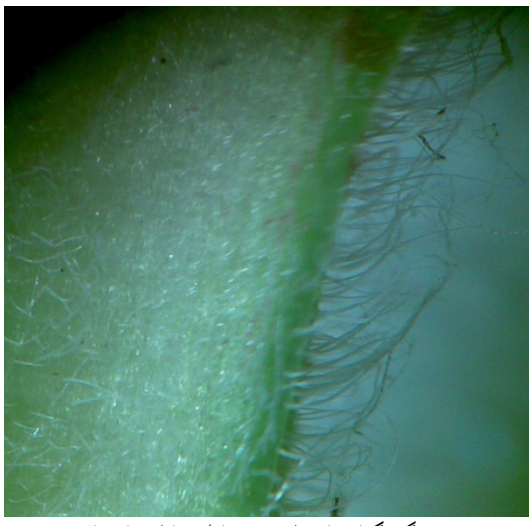
*: بدان مفهوم است که همبستگی معنی‌دار در سطح ۵٪ وجود دارد (به احتمال ۹۵٪).

**: بدان مفهوم است که همبستگی معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود دارد (به احتمال ۹۹٪).

بحث

همان‌طور که بیان شد هدف از این مقاله، تعیین مقدار کمّی برخی از آلکالوئیدها در نواحی مورد مطالعه و بررسی عامل ارتفاع در میزان این ترکیب‌هاست. گیاه مامیران در رویشگاه های مختلف مورد مطالعه، با تغییرات عوامل محیطی تغییرات ظاهری متفاوتی می‌یابد. عواملی مثل عرض جغرافیایی، طول جغرافیایی و ارتفاع محل اثرات معنی‌داری را بر آنها می‌گذارند. مشاهده شد که با افزایش ارتفاع در مناطق مورد مطالعه میانگین قد گیاهان مامیران کوتاه‌تر گردید. کاهش طول گل‌آذین، تعداد گل‌ها و زمان گلدهی از ویژگی‌های گیاه این منطقه می‌باشد. طول برگ‌های گیاه مناطق با ارتفاع بالا نسبت به بقیه مناطق کاهش یافته، برگ‌ها و گل‌ها پررنگ‌تر می شوند و تراکم کرک‌ها بیشتر می‌شود (شکل ۲).

دمبرگ گیاه مامیران در مناطق با ارتفاع پایین



دمبرگ گیاه مامیران در مناطق با ارتفاع بالا

شکل ۲- مقایسه دمبرگ کرک‌دار گیاه مامیران در مناطق با ارتفاع بالا و پایین

مقدار کمّی آلکالوئید بدست آمده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد که از بین آلکالوئیدهای مورد مطالعه، پاپاورین دارای بیشترین مقدار می‌باشد و تبائین در بیشتر نمونه‌ها یافت نشد (جدول ۴). بررسی تأثیر ارتفاع بر میزان این ترکیب‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفت که برای این کار ابتدا معنی‌داری بین مکان‌ها از لحاظ ارتفاع در نظر گرفته شد. همان‌طوری که از نمودار آزمون آنالیز واریانس (جدول ۵) ملاحظه می‌شود مقدار معنی‌داری کمتر از ۰/۰۰۱ است. بنابراین تفاوت معنی‌داری بین ارتفاع با مکان‌های جمع‌آوری وجود دارد. بعد از فهمیدن تفاوت معنی‌دار بین ارتفاع با آلکالوئیدها به سراغ آنالیز همبستگی رفتیم و آنالیز همبستگی بین مقدار آلکالوئیدها با ارتفاع مورد بررسی قرار گرفت تا نتیجه گرفته شود که چه رابطه‌ای بین مقدار آنها با ارتفاع وجود دارد (نتایج آن در جدول ۶ آورده شده‌است). به این نکته باید توجه داشت که اگر ضریب همبستگی مثبت باشد با افزایش آن، مقدار ترکیب نیز افزایش می‌یابد و اگر منفی باشد با افزایش آن، مقدار ترکیب کاهش می‌یابد. همان‌طور که از جدول همبستگی پیرسون با توجه به ضریب همبستگی مشاهده می‌شود تمام آلکالوئیدها بجز تبائین رفتارهای تقریباً مشابهی را در مقابل ارتفاع از سطح دریا از خود نشان می‌دهند. مورفین و پاپاورین و نسکاپین دارای همبستگی معکوس و معنی‌دار در سطح ۱٪ با ارتفاع و کدئین در سطح ۵٪ دارند و این به این معنی است که با افزایش ارتفاع مقدار این ترکیب‌ها کاهش می‌یابند. از این‌رو مناطقی با ارتفاع از سطح دریای پایین دارای مقدار زیادی از این ترکیب‌ها نسبت به سایر مناطق هستند. البته این نتایج با فرض یکسان بودن از نظر ژنتیکی بدست آمده‌اند.

بنابراین می‌توان گفت که تولید متابولیت‌های ثانوی گیاهان دارویی تحت تأثیر سه عامل اصلی قرار می‌گیرند که عبارتند از: ۱- وراثت (از نظر ژنتیکی)، ۲- مراحل مختلف رشد و ۳- شرایط محیطی. اثرات ژنتیکی و رویان‌شناسی به‌صورت کمّی و کیفی بوده، ولی اثرات محیطی بیشتر به‌صورت کمّی می‌باشد (Ali, 1998). تغییرات سریع مواد شیمیایی موجود در برخی از گیاهان تحت تأثیر عوامل زیستی و غیرزیستی (خاک و آب و هوا و روشهای کشت و ...) امری مسلم است (امیدبیگی، ۱۳۷۴؛ صمصام شریعت، ۱۳۷۱). تمام این عوامل کم و بیش در مقدار مواد مؤثره گیاه دخالت داشته و ارزیابی یکایک آنها به تنهایی بسیار مشکل می‌باشد. به‌عنوان مثال درصد آلکالوئیدها در گیاهان حاوی آلکالوئید، در نواحی مرطوب زیادتر از مناطق خشک بوده و این امر به جنس خاک نیز بستگی دارد، زیرا در نواحی خشک درصد ازت خاک کم است و هر قدر منابع ازت بیشتر در دسترس گیاه باشد، درصد آلکالوئید نیز افزایش می‌یابد (صمصام شریعت، ۱۳۷۱). از این‌رو با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش و نیز مطالعات انجام شده قبلی مبنی بر بررسی میزان آلکالوئیدها تحت شرایط محیطی و مورفولوژی متفاوت (Andola *et al*., 2011 ؛Tome & Colombo, 1995)، می‌توان نتیجه گرفت که ارتفاع از سطح دریا عامل مهم و اساسی در میزان آلکالوئیدها می‌باشد و با افزایش ارتفاع مقدار آنها کاهش می‌یابد. همچنین برای تکمیل این تحقیق لازم است تعیین میزان سایر آلکالوئیدها در نمونه‌های مامیران جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شمالی کشور، وجود ارتباط احتمالی میان میزان این آلکالوئیدها با سایر عوامل محیطی نظیر شوری و خشکی و بررسی و مقایسه میزان این آلکالوئیدها در نمونه‌های جمع‌آوری شده از سایر قسمت‌های مناطق مختلف ایران نیز مورد تحقیق و بررسی قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

- امیدبیگی، ر.، ۱۳۷۴. رهیافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات طراحان نشر، ۲۸۶ صفحه.
- صمصام شریعت، ه.، ۱۳۷۱. عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی، اصفهان، ۲۹۳ صفحه.
- Abourashed, E.A. and Khan, I.A., 2001. High-performance liquid chromatography determination of hydrastine and berberine in dietary supplements containing goldenseal. Journal of Pharmaceutical Sciences, 90(7):817-822.
- Adams, J.M., Rehill, B., Zhang, Y. and Gower, J., 2009. A test of the latitudinal defense hypothesis: herbivory, tannins and total phenolics in four North American tree species. Ecological Research, 24(3): 697-704.
- Ali, M., 1998. Text Book of Pharmacognosy. CBS Publishers, New Delhi, 518p.
- Andola, H., Gaira, K.S., Rawal, R.S., Rawat, M.S.M. and Bhatt, I.D., 2011. Influence of environmental factors on production of berberine content in *Berberis asiatica* Roxb. ex DC in Kumaun West Himalaya, India. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 17(4): 329-338.
- Bozhadze, A., Mshvildadze, V., Vachnadze, V., Tsitsishvili, V. and Bakuridze, A., 2011. Analytical studies of (+)-chelidonine, protopine, and l-stylopine in *Chelidonium majus* growing in georgia using high-performance liquid chromatography. Chemistry of Natural Compounds, 47(3):477-480.
- Clapham, A.R., Tutin, T.G. and Moore, D.M., 1989. Flora of the British Isles. Third edition, Cambridge University Press, 705p.
- Gu, Y., Qian, D., Duan, J., Wang, Z., Guo, J., Tang, Y. and Guo, S., 2010. Simultaneous determination of seven main alkaloids of *Chelidonium majus* L. by ultra-performance LC with photodiode-array detection. Journal of Separation Science, 33(8): 1004-1009.
- Kursinszki, L., Sarkozi, A., Kery, A. and Szoke, E., 2006. Improved RP-HPLC method for analysis of isoquinolinealkaloids in extracts of *Chelidonium majus*. Chromatographia, 63(13): S131-S135.
- Rechinger, K.H., 1960. Flora Iranica. Akademish Druk. University Verlay Sanstal. Graz-Austrai.
- Rickett, H.W., 1965. Wild Flowers of the United States (Volume 1). Mcgraw Hill Book Company, New York, 230p.
- Tome, F. and Colombo, M.L., 1995. Distribution of alkaloids in *Chelidonium majus* and factors affecting their accumulation. Phytochemistry, 40(1): 37-39.
- Weber, H.A., Zart, M.K., Ferguson, S.L., Greaves, J.G., Clark, A.P., Harris, R.K., Overstreet, D. and Smith, C., 2001. Separation and quantitation of isoquinoline alkaloids occurring in goldenseal. Journal of Liquid Chromatography and Relative Technology, 24(1): 87-95.
- Zidorn, C., 2010. Altitudinal variation of secondary metabolites in flowering heads of the Asteraceae: trends and causes. Phytochemistry Reviews, 9(2): 197-203.

Quantitative measurements of alkaloids in *Chelidonium majus* at different altitudes of north Iran

Z. Ghanavi[1], S. Mollayi[2], A.R. Babaei[3]* and A.R. Ghassempour[4]

1- MSc. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran
2- PhD. Student, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3*- Corresponding author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
E-mail: arbabaei@modares.ac.ir
4- Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: April 2013 Revised: September 2013 Accepted: September 2013

Abstract

Chelidonium majus L. belonging to the Papaveraceae family, grows naturally in north of Iran with anti-cancer and anti-HIV properties because of isoquinoline alkaloids such as morphine, codeine, papaverine, thebaine and noscapine. The aim of this study was to quantify the amounts of the mentioned isoquinoline alkaloids in the samples collected from different altitudes of north of Iran, and investigate the effect of environmental factors on the amounts of these compounds. Therefore, five regions were selected including Mazandaran, Golestan, and Firoozkouh, and after quantitative measurements of alkaloids, the effect of altitude was also evaluated to determine its impact on the amount of these compounds. According to the obtained results, the maximum amount of the compounds mentioned above were 0.25, 0.18, 0.02, 2.14 and 0.27 w/w, and the minimum were 0.11, 0.0, 0.0, 0.11 and 0.0 w/w, respectively. Altitude showed a significant negative correlation ($p<0.01$) with the amount of these compounds.

Keywords: Morphine, codeine, papaverine, thebaine, noscapine, altitude.