Archive of SID

پژوهشی

شناسایی و تعیین مقدار فنل گلیکوزید آربوتین در برگ گیاه **Pyrus boissieriana Buhse** به دو روش **HPLC** و اسپکتروفتومتری

محمد آزادبخت(Ph.D.)* محمد رمضانی (Ph.D.)** مریم جهرمی مقدم (Ph.D.)***

چکیده

سابقه و هدف : درخت تلکا (Pyrus boissieriana Buhse)که به گلابی وحشی نیز موسوم است، در جنگل های شمال ایران، به فراوانی، یافت می شود و از جلگه های ساحلی تا ارتفاعات زیاد، پراکنده است. دمگل، برگ‌ها و پوست برخی از گیاهان جنس Pyrus حاوی مقادیری از یک فنل گلیکوزید به نام آربوتین می باشد. آربوتین در مقادیر بالا در بسیاری از گیاهان از جمله تیره های Ericaceae,Rosaceae و... یافت می شود. از آربوتین برای ضدعفونی کردن مجاری ادراری ونیز به واسطه اثر آنتی اکسیدان و ضد آفتاب، استفاده می کنند.این ماده، دیورتیک و قاعده آور است.

مواد و روش ها : در این مطالعه، شناسایی آربوتین در برگ گیاه تلکا به دو روش HPLC وTLC صورت گرفت و سپس میزان آربوتین توسط روش‌های HPLC و اسپکتروفتومتری تعیین شد.

یافته ها : آربوتین منشا گیاهی داشته و دربرگ برخی از گیاهان از جمله Arctostaphylos uva-ursi ۴ تا ۱۵ درصد، Vaccinium vitis ۵/۵ تا ۷ درصد و Vaccinium myrtillus ۰/۴ تا ۱/۵ درصد یافت می‌شود. در این تحقیق، میزان آربوتین ۷/۰۱ درصد به دست آمد و زمان بازداری آربوتین و زمان بازداری نسبی آن در مقایسه با هیدروکینون (استاندارد داخلی) به ترتیب ۵/۴۵۷ و ۰/۶۸۸ بود.

استنتاج : گیاهان A. uva-ursi و V. vitis در ایران وجود ندارند؛ بنابر این گیاه تلکا با توجه به مقدار بالای آربوتین و همچنین فراوانی و پراکندگی زیاد آن در شمال ایران می تواند به عنوان منبع غنی آربوتین مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی : فنل‌ها، گلیکوزیدها، مجرای ادراری، گیاهان شفابخش

مقدمه

درخت تلکا با نام علمی Pyrus boissieriana Buhse که به گلابی وحشی نیز موسوم است، در جنگل‌های شمال ایران از ارسباران و آستارا تا گرگان پراکنده است و از جلگه های ساحلی دریا تا ارتفاعات زیاد، بالا می‌رود. ارتفاع این درخت، ۵ متر است. برگ آن تخم‌مرغی گرد با انتهایی‌کند است، ولی این انتها در

* دکترای تخصصی فارماکوگنوزی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران
** دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد
*** دکتر داروساز
✉ ساری: خیابان سلمان فارسی- دانشکده داروسازی

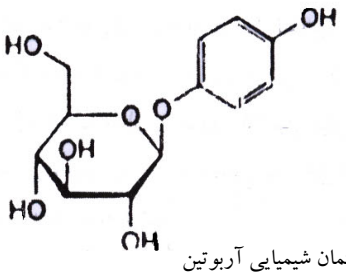
تاریخ دریافت: ۸۱/۱۲/۱٤ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۲/٤/۲ تاریخ تصویب: ۸۲/۷/۹

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-24]

Archive of SID

برگ‌های جوان، کمی کشیده است. روی برگ، صاف و براق است ودارای رنگ سبز روشن می باشد. میوه آن کوچک،گردوکمی گلابی‌شکل است(۱). دمگل،برگ‌ها و پوست برخی از گیاهان جنس Pyrus حاوی مقادیری از یک فنل گلیکوزید به نام آربوتین[1] است(۲).

آربوتین(آربوتوزید) یک هیدروکینون گلوکوزید است که در مقادیر بالا در بسیاری از گیاهان از جمله تیره‌های Ericaceae,Rosaceae و... یافت می‌شود(۳). محتوای آربوتین در برگ برخی از گیاهان جنس Pyrus با تغییرکوچکی از زمان گل دادن تا زمان افتادن برگ‌ها ثابت است(۲). بهترین زمان برای دستیابی به مقادیر بیش‌تر آربوتین از برگ‌های برخی از گیاهان جنس Pyrus فصل بهار و از برگ‌های سبز وجوان می باشد. فرمول ساختار آن $C_{12}H_{16}O_7$باوزن مولکولی ۲۷۲/۲۵ می باشد و در طول موج ۲۸۶ nm حداکثر جذب را در برابر اشعه فرابنفش دارا می‌باشد. آربوتین در گرما ناپایدار است و می تواند به شکل‌های مختلفی تجزیه شود(۴).



تصویر شماره ۱: ساختمان شیمیایی آربوتین

از آربوتین برای ضدعفونی کردن مجاری ادراری در عفونت‌های دستگاه ادراری و به عنوان پایدارکننده درفیلم‌های عکاسی استفاده می‌شود. نیز اثر آنتی‌اکسیدان و ضد آفتاب دارد و به عنوان عامل سفید کننده[2] در فرمولاسیون اشکال دارویی موضعی محافظ در برابر تابش‌های شدید اشعه فرابنفش به کار برده می شود. آربوتین برای چشم و پوست، حساسیت زا نمی‌باشد(۴).

آربوتین قاعده آور ودیورتیک است.میوه های تازه جنس Pyrus در انسان درمصرف خوراکی، فعالیت ضدتوموری وفعالیت ضدجهش ژنی در برابر باکتری سالمونلاتیفی موریوم نشان داده اند(۵).

باتوجه به این که مهم‌ترین منبع سرشار شناخته شده از آربوتین در دنیا، گیاه انگور خرس (Arctostaphylos uva-ursi) می‌باشد که در ایران موجود نمی باشد و با توجه به خصوصیات برجسته این فنل گلیکوزید و موارد کاربردی آن در پزشکی و داروسازی، شناسایی، استاندارد کردن وتعیین مقدار آربوتین در یک گیاه بومی ایران به نام درخت گلابی وحشی در این تحقیق مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روش ها

الف) مواد (ساخت Merck): متانول، پتاسیم هگزا سیانو فرات۳، استاندارد آربوتین، کلرید آهن ۳،۴-آمینو آنتی پیرین ، آمونیاک ، کلروفرم و اتیل استات.

دستگاه‌های مورد استفاده: اسپکتروفتومتر (مدل دستگاه: Genesis2 ساخت: آلمان طول موج مریی استفاده شده: ۴۵۵ nm) ، دستگاه Rotary Evaporator (نام دستگاه روتاری:Laborata 4000 ، ساخت:آلمان، دمای استفاده شده: ۵۰ درجه سانتی گراد، دور چرخش: ۹۰ دور در دقیقه) ، دستگاه Freeze drying (مدل دستگاه:Zirbus ، ساخت: آلمان، دمای استفاده شده : ۵۲- درجه سانتی‌گراد) ، لامپ فرابخش (نام دستگاه: Desaga ، ساخت : آلمان ، طول موج استفاده شده: ۲۵۴ nm)، دستگاه HPLC(مدل دستگاه‌ها:Knauer و Shimadzue ، ساخت: آلمان و ژاپن (به ترتیب)، HPLC Pump K-1001، UV Detector K-2600 ، فاز متحرک: متانول، آب (۱۰:۹۰)، نوع ستون: -Eurospher

1. Arbutin
2. Whiting agent

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-24]

Archive of SID

C_{18}، سایز ستون : ۲۵سانتی متر ، طول موج فرابنفش به کـار رفتـه : ۲۸۶ nm ، روش کـار: ایـزوکراتیـک، flow rate: 1 ml/ min) (۶).

ب) تهیه گیاه و تایید علمی: در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۱ برگ‌های درخت تلکا از ارتفاعات ۱۲۰۰ متری جنگل‌های نکا در استان مازندران جمع آوری شد ونام علمی آن مورد تایید قرارگرفت وهرباریوم آن درواحد فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی ساری تهیه شد.

ج) روش تهیه عصاره: ۱۰ گرم پودر برگ درخت تلکا با اندازه ذره‌ای حدود۰/۲۵ میلی متر با حلال متانول خالص به مدت ۴ ساعت سوکسله شد و عصاره حاصل توسط دستگاه Rotary evaporator تغلیظ گردید.

د) روش شناسایی: شناسایی توسط HPLC [1] و TLC [2] صورت گرفت. در روش TLC ، ۱ گرم عصاره در ۱ میلی لیتر متانول حل شده و ۲۵ میکرولیتر آن روی صفحه TLC کاشته شد. در کنار این لکه ، لکه ای از نمونه استاندارد آربوتین (۰/۱ گرم آربوتین در ۱ میلی لیتر متانول حل شد) به میزان ۲۵ میکرولیتر کاشته شدو در مخزن اشباع حاوی فازمتحرک اتیل استات، متانول وآب (۱۰۰: ۱۳/۵ : ۱۰) قرار داده شد . در زیر اشعه فرابنفش دو لکه مشاهده شد . با اسپری کردن معرف برلین بلو(پتاسیم هگزاسیانو فرات۳ و کلرید آهن۳) دو لکه آبی مشاهده شد(۷).

در روش HPLC ، زمان بازداری آربوتین (RT [3]) در تزریق ۲۰ میکرولیتر محلول استاندارد آربوتین و سطح زیرمنحنی آن تعیین شد. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول عصاره گیاه به دستگاه HPLC تزریق شد. جهت اطمینان، ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره حاوی استاندارد آربوتین (اضافه شده به صورت Additional standard) به دستگاه تزریق گردید که منجر به بزرگ شدن پیک مربوط به آربوتین شد.

هـ) تعیین مقدار آربوتین گیاه به روش HPLC: نمونه های جداگانه ازاستاندارد آربوتین با غلظت‌های مشخص ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۳۰۰ ، ۴۰۰ ، ۵۰۰ و ppm۱۰۰۰ (به همراه ۷/۵ میلی لیتر محلول هیدروکینون با غلظت نهایی ۱۵۰ ppm به عنوان استاندارد داخلی [4] در هریک) در متانول تهیه شد و از هریک ۲۰ میکرولیتر (هر غلظت۳ بار) به دستگاه HPLC تزریق شد. سپس نمونه ای از عصاره (۰/۳ میلی لیتر عصاره به همراه ۷/۵ میلی لیتر محلول هیدروکینون با غلظت نهایی ۱۵۰ ppm ، به عنوان استاندارد داخلی، با متانول HPLC grade به حجم ۲۵ میلی لیتر رسید.) به میزان ۲۰ میکرولیتر به دستگاه تزریق شد.نتایج حاصل از سطوح زیر منحنی نمونه های استاندارد، رسم شد و با نتایج نمونه های عصاره، مقایسه شد. سپس مقدار آربوتین در گیاه تعیین شد(۶).

و)تعیین مقدارآربوتین گیاه به‌روش‌اسپکتروفتومتری: ۰/۴ گرم پودر برگ گیاه تلکا بااندازه ذره ای حدود ۰/۲۵ میلی متر به همراه ۵۰ میلی لیتر آب مقطر دریک بشر ۲۵۰ میلی لیتری به مدت ۳۰ دقیقه بر روی بن ماری جوشان، حرارت داده شد. پس از سردشدن دریک بالون ژوژه با آب مقطر به حجم ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۵ میلی لیتر از این محلول به داخل قیف دکانتور ریخته شده، به ترتیب ۴۵ میلی لیتر آب مقطر، ۱ میلی لیتر محلول ۴- آمینو آنتی پیرین ۲ درصد، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول آمونیاک ۳/۵ درصد و ۱ میلی لیتر محلول پتاسیم هگزا سیانو فرات ۸ درصد به دکانتور افزوده شد و پس از هربار افزودن محتویات، دکانتور تکان داده شده، مخلوط شد. در محلول حاصل، پس از ۵ دقیقه، واکنش امرسون [5] صورت گرفت و کمپلکس قرمز مشاهده شد.

1. High Performance liquid chromato graphy
2. Thin layer chromatography
3. Retention time
4. Internal Standard
5. Emerson Reaction

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-24]

Archive of SID

سپس محلول با ۲۵میلی لیتر کلروفرم مخلوط شده، حاصل کلروفرمی از یک صافی عبور داده شد واین

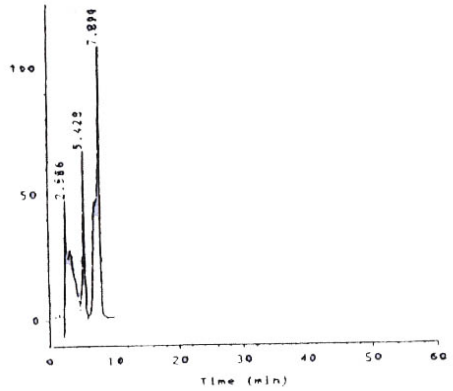
عمل با باقی محلول وکلروفرم، ۳ بار تکرار شد و به محلول کلروفرمی در یک بالون ژوژه اضافه گردید وبا کلروفرم به حجم ۱۰۰میلی لیتر رسانده شد. بعد در طول موج ۴۵۵ nm ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر با آب مقطر، کالیبره شد و بعد جذب محلول کلروفرمی پس از شست و شوی سل کوارتز با متانول و کلروفرم خوانده شد(۸).

یافته ها

الف) در زیر اشعه فرابنفش در روی صفحه TLC، لکه آربوتین استاندارد و لکه ای دیگر با همان R_f مشاهده شد که ناشی از آربوتین موجود در گیاه بود. (R_f نمونه گیاه ۰/۴ و مطابق با R_f استاندارد آربوتین بود.) با اسپری کردن معرف برلین بلو ، دو لکه آبی با R_f یکسان (استاندارد آربوتین و آربوتین ردیابی شده در برگ گیاه) مشاهده شد.

ب) در تصاویر شماره‌های ۴ و۳ و۲ نمونه هایی از پیک‌های مربوط به منحنی HPLC محلول‌های استاندارد آربوتین (به همراه استاندارد داخلی)، عصاره حاوی استاندارد آربوتین و عصاره گیاه (به همراه استاندارد داخلی) جهت شناسایی، مشاهده می‌شود. در تصویر شماره ۲ زمان بازداری‌های ۲/۵۸۶، ۵/۴۳۸ و۷/۸۹۰ به ترتیب مربوط به حلال، استاندارد آربوتین وهیدروکینون (استاندارد داخلی) هستند.

شرایط HPLC :نوع ستون:C_{18} -Eurospher 100، فاز متحرک:متانول ، آب (۱۰ :۹۰)، اندازه ذره‌ای :۵میکرومتر، دتکتور: فرابنفش، طول موج به کار رفته: ۲۸۶ nm، سایز ستون:۲۵ سانتی متری، روش کار: ایزوکراتیک سرعت جریان:ml/min ۱ ،۰/۲ =A.U.F.S در نمودار شماره ۱و۳ دستگاه مورد استفاده Knauer است، اما در نمودار شماره ۲ دستگاه مورد استفاده Shimadzue با سرعت جریان ml/min ۰/۵ است.



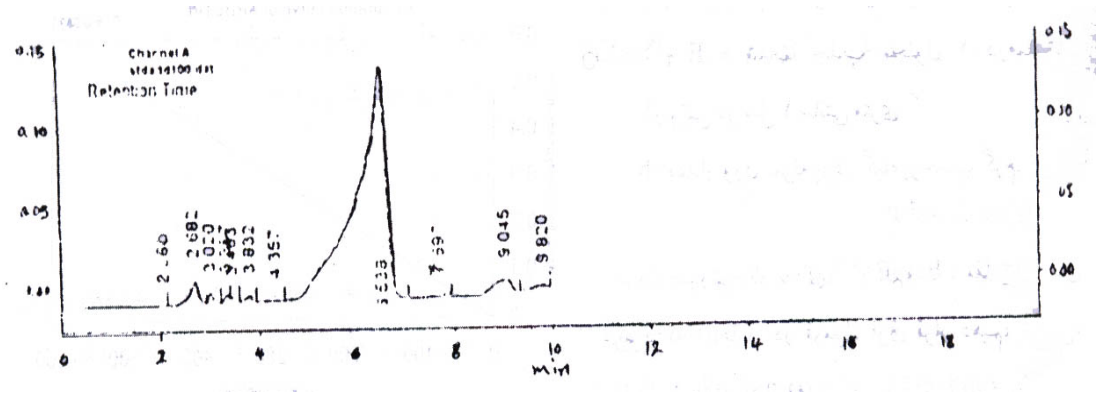
نمودار شماره ۱ : پیک مربوط به محلول استاندارد آربوتین با غلظت ppm ۵۰۰ (به همراه استاندارد داخلی)

ج) در جدول شماره ۱ نتایج HPLC مربوط به میانگین سه‌آزمایش انجام شده برای هریک از نمونه‌های استاندارد آربوتین (با استاندارد داخلی) ، عصاره گیاه (با استاندارد داخلی)و نیز درنمودارشماره٤ منحنی‌استاندارد آربوتین (با استاندارد داخلی) آورده شده است.

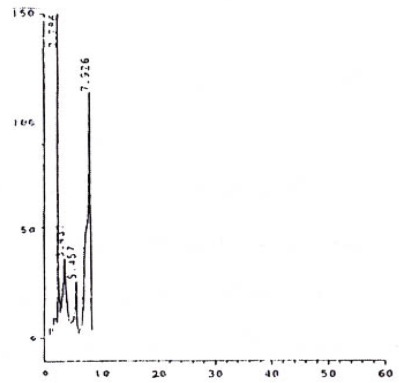
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-24]

www.SID.ir

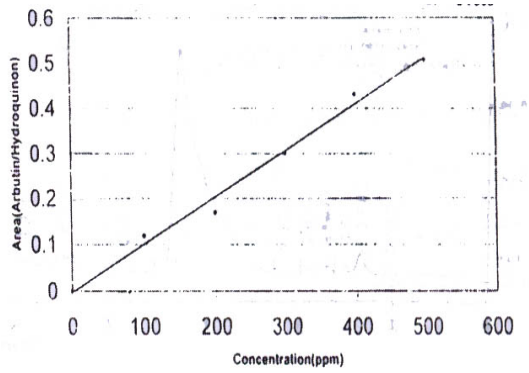
Archive of SID



نمودار شماره ۲: پیک مربوط به محلول حاوی عصاره و استاندارد آربوتین ۱۰۰ ppm



نمودار شماره ۳ : پیک مربوط به محلول عصاره گیاه (به همراه استاندارد داخلی)



نمودار شماره ٤ : منحنی استاندارد میانگین نمونه های استاندارد آربوتین(با استاندارد داخلی) در۳ بارتزریق

جدول شماره ۱ : نتایج آنالیز عصاره برگ تلکا و استانداردها به روش HPLC

نمونه ها	RT (min)	Area(mV*min)	% Area
میانگین استاندارد ۱			
آربوتین (۱۰۰ ppm)	۵/۵۰۶۰	۳/۸۶۸۷	۴/۹۸۱۵
هیدروکینون(۱۵۰ppm)	۸/۰۰۰۸	۳۲/۷۹۴۳	۵۵/۰۰۴۸
میانگین استاندارد ۲			
آربوتین (۲۰۰ ppm)	۵/۴۷۳۰	۵/۸۴۳۱	۷/۰۰۷۵
هیدروکینون(۱۵۰ppm)	۷/۹۴۳۰	۳۴/۶۶۰۶	۴۱/۶۰۶۴
میانگین استاندارد ۳			
آربوتین (۳۰۰ ppm)	۵/۴۴۰۰	۱۰/۷۱۰۹	۹/۵۳۲۱
هیدروکینون(۱۵۰ppm)	۷/۰۹۱۰	۳۵/۶۱۱۰	۳۱/۶۸۸۷
میانگین استاندارد ۴			
آربوتین (۴۰۰ ppm)	۵/۰۰۴۴	۱۴/۱۸۲۵	۱۱/۴۰۸۱
هیدروکینون(۱۵۰ppm)	۷/۹۲۶۰	۳۳/۰۰۱۴	۲۶/۸۸۱۶
میانگین استاندارد ۵			
آربوتین (۵۰۰ ppm)	۵/۰۴۳۸	۱۶/۵۹۷۳	۱۱/۱۸۶۹
هیدروکینون(۱۵۰ppm)	۷/۸۹۰۰	۳۲/۷۹۶۰	۲۲/۳۶۵۶
میانگین عصاره			
آربوتین	۵/۴۵۷۰	۱۵/۹۹۹۸	۱۳/۹۷۳۰
هیدروکینون(۱۵۰ppm)	۷/۹۲۶۰	۳۸/۴۸۶۸	۳۳/۷۰۰۰

د) مقدار آربوتین در عصاره گیاه :پیک عصاره رقیق شده، غلظتی معادل ۴۱۸/۴۴۷۷ ppm (۴۱۸/۴۴۷۷ میلی گرم در ۱۰۰۰ میلی لیتر) را نشان داد. بنابراین در ۲۵ میلی لیتر محلول آماده شده، معادل ۱۰/۴۶۱ میلی گرم خواهد بود.

از آنجایی که ۰/۳ میلی لیتر محلول عصاره با ۲۵ میلی لیتر، رقیق شده بود، حاوی ۱۰/۴۶۱ میلی گرم آربوتین بوده است. با توجه به این که از ۱۰ گرم برگ گیاه ، ۲۰/۱ میلی لیتر عصاره به طریقه سوکسله تهیه شد و از ۰/۳ میلی لیتر آن جهت تهیه محلول تزریقی استفاده شد، مقدار آربوتین در ۲۰/۱ میلی لیتر برابر با ۷۰۰/۸۹۹۷ میلی گرم خواهد بود. بنابراین میزان آربوتین در گیاه ۷/۰۰۹ درصد ارزیابی شد.

هـ) محاسبه مقدارآربوتین از روش‌اسپکتروفتومتری: با توجه به شدت جذب محلول ۱درصد آربوتین در سل

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-24]

Archive of SID

۱ سانتی‌متری ($E\ _1^{1\%}$ = ۶۴۸) ، درصد کل ترکیبات هیدروکینونی بر اساس آربوتین مطابق فرمول زیر قابل محاسبه خواهد بود.این نکته را باید در نظر داشت که در این روش، غلظت تمام ترکیبات هیدروکینونی براساس آربوتین اندازه گیری می شود؛ اما در روش HPLC تنها میزان آربوتین، اندازه گیری می شود.

$$\text{درصد آربوتین} = ۱۰۰\times E\times ۲۵۰ / b\times ۵\times E\ _1^{1\%} = ۵۰۰۰E / b\times E\ _1^{1\%}$$

E= مقدار جذب محلول نمونه مورد آزمایش

$E\ _1^{1\%}$ = شدت جذب محلول ۱ درصد آربوتین در سل ۱ سانتی متری

b= مقدار وزن نمونه پودر گیاه برحسب گرم.

در صورتی که بجای $E\ _1^{1\%}$ و b ، مقادیر عددی مربوط به آن‌ها را در فرمول فوق قرار دهیم، حاصل، عبارت خواهد بود از (۸).

درصد آربوتین = $E \times ۱۹/۳$

باتوجه به این‌که درگیاه تلکا E=۰/۳۶۵ است، مقدار آربوتین حاصل از تلکا ۷/۰۴۴۵ درصد ارزیابی شد.

بحث

از آربوتین به منظور ضدعفونی کردن مجاری ادراری در عفونت‌های دستگاه ادراری استفاده می‌شود. حداکثر اثرات ضدعفونی کنندگی آن ۴ –۳ ساعت بعد از مصرف می‌باشد(۹). نیز آربوتین، اثر آنتی‌اکسیدان و ضد آفتاب دارد و با مهار سنتز ملانین، سبب سفید کردن پوست می‌شود. بنابراین به عنوان عامل سفیدکننده در فرمولاسیون اشکال دارویی موضعی محافظ در برابر تابش‌های شدید اشعه فرابنفش به‌کار برده می‌شود. آربوتین برای چشم و پوست، حساسیت زا نمی باشد(۴).

آربوتین قاعده آور و دیورتیک است. میوه‌های تازه جنس Pyrus در انسان در مصرف خوراکی، فعالیت ضدتوموری و فعالیت ضد جهش ژنی در برابر باکتری سالمونلا تیفی موریوم نشان داده‌اند(۵).

Harborne (۱۹۹۸) برای تعیین مقدار ترکیبات فنلی از روش‌های TLC,HPLC وGLC استفاده نموده است(۱۰). Lubsandorzhieva (۲۰۰۰) برای تعیین مقدار آربوتین، روش‌های یدومتری، فتوکالری متری، اسپکتروفتومتری و کروماتواسپکتروفتومتری را ذکر کرده است و خود از روش کروماتواسپکتروفتومتری استفاده نموده است(۳). Petricic (۱۹۸۱) برای تعیین مقدار آربوتین از روش اسپکتروفتومتری، و Sticher (۱۹۹۴)، Schieber (۲۰۰۱) و Sun (۱۹۹۷) از روش HPLC استفاده نموده‌اند(۱۲،۱۱،۶،۲).

در این ارزیابی به منظور شناسایی آربوتین در گیاه تلکا از روش‌های HPLC و TLC و برای تعیین مقدار آربوتین از روش HPLC و اسپکتروفتومتری استفاده شده است.

میزان آربوتین گزارش شده در برگ گیاه Arctostaphilos uva-ursi ٤ تا ۱۵ درصد، در برگ گیاه Pyrus piraster ۳/۳۸ درصد، در برگ گیاه Pyrus amigdaliformis ۴/۰۵ درصد، در برگ گیاه Bergenia crossifolia ۷/۵ درصد و در برگ گیاه Vaccinium vitis ۷ درصد می باشد(۷،۳،۲).

در این تحقیق ، میزان آربوتین تعیین شده در برگ گیاه Pyrus biossieriana ۷/۰۱ ٪ می باشد.

با توجه به خصوصیات ذکر شده، گیاه تلکا با ۷/۰۱ درصد آربوتین، نسبت به سایر گیاهان حاوی آربوتین که مقادیر کم‌تری از آن را دارا هستند ، دارای ارزش و اهمیت ویژه ای است.

مقدار آربوتین در برگ گیاه تلکا در دو روش اسپکتروفتومتری و HPLC با هم مقایسه شد که مشابه هم بود. در روش HPLC مقدار آربوتین معادل ۷/۰۰۹ درصد و در روش‌اسپکتروفتومتری معادل۷/۰۴۴۵ درصد

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-24]

Archive of SID

تعیین شد. با توجه به دقت زیاد روش HPLC و این‌که در روش اسپکتروفتومتری، سایر فنل گلیکوزیدها نیز تعیین مقدار می‌شوند، میزان ۷/۰۰۹ درصد آربوتین بیش‌تر مورد تایید می باشد.

فهرست منابع

۱. ثابتی حبیب الله. ***جنگلها، درختان و درختچه‌های ایران*** انتشارات دانشگاه یزد،۱۳۷۳، صفحه ۵۶۲-۵۶۱.

2. Petricic J, Apostolski R, Srepel B. The leaf of the wild pear-tree as an arbutinic herb. ***Farmacevtski Vestnik Ljubljana Journal,*** 1981; 32(2): 107-110.

3. Lubsandorzhieva P.B, Zhigzhitov B.S, Dargaeva Zh.G, Nagaslaeva L.A. Chromatospectrophotometric determination of arbutin in the leaves of Bergenia crassifolia (L.). ***Pharmaceutical Chemistry Journal,*** 2000; 34(5): pp 261-264.

4. Couteau C, Coifard L. Photostability determination of arbutin, a vegetable whitening agent. ***Farmaco Journal,*** 2000; 55(5): 410-413.

5. Bilia A.R, Rubio M, Alvarez M, Morelli I, Gonzalez M. New benzyl alcohol glycosides from Pyrus bourgaeana. ***Planta Medica Journal,*** 1994; 60(6): 569-571

6. Sticher O, Soldati F, Lehmann D. HPLC separation and quantitive determination of arbutin, methyl arbutin, hydroquinone and hydroquinone monomethylether in Arctostaphylos, Bergenia, Callena and Vaccinium species. ***Planta Medica Journal,*** 1994; 60(6): 569-571.

7. Wagner H, Bladt S. Drugs containing arbutin, salicin and salycoil derivatives. In ***Plant Drug Analysis.*** 2th ed. Berlin: Springer. 1996: 247-253.

۸. قاسمی دهکردی نصرالله، طالب امیرمهدی. ***استخراج، شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات موجود در گیاهان دارویی شاخص،*** اصفهان : انتشارات چوگان با همکاری دانشگاه علوم پزشکی، ۱۳۸۰ ، صفحه ۸۸-۸۵.

9. Stambergova A, Supcikova M, Leifetova I. Evaluation of phenolic substances in Arctostaphylos uva ursi, determination of arbutin, methylarbutin and hydroquinone in the leaves by HPLC.***Ceska-a-slovenska-farmacie,*** 1985; 34(5): 179-182.

10. Harborne J.B. Phenolic compounds. ***In Phytochemical methods,*** 3th ed, London: Chapman and Hall. 1998: 46-47.

11. Schieber A, Keller P, Carle R. Determination of phrnolic asids and flavonoids of apple and pear by HPLC. ***Journal of Chromatography,*** 2001; 910(2): 265-273.

12. Sun H, Wang X, Huang R, Yuan C. Determinatiom of arbutin in the herbs of Vaccinium vitis-idea by HPLC. ***Zhongguo-zhong-yao-za-zhi,*** 1997; 22(9): 555.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-24]

www.SID.ir