

بررسی محتوای فنل و فلاونوئید کل در اندام گل اکوتیپ‌های گیاه دارویی گل ماهور (*Verbascum songaricum*) در جنوب غرب ایران

فاطمه جمشیدی کیا^۱، کرامت الله سعیدی^۱، زهرا لری گوئینی^{۲*}

^۱ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

^{۲*} مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد

* نویسنده مسئول: zahralorigooini@gmail.com

چکیده

جنس گل ماهور بزرگ‌ترین جنس از خانواده گل میمونی است که زیستگاه طبیعی گسترده در جنوب غربی ایران است. گل ماهور حاوی ترکیباتی مانند ترکیبات فنولیک، موسیلاژ، ساپونین و آنتوسیانین می‌باشد. در این مطالعه ۱۰ اکوتیپ از گونه *Verbascum songaricum* برای تعیین مقدار فنل و فلاونوئید کل از جنوب غرب ایران جمع آوری شد. میزان فنل کل با استفاده از روش رنگ سنجی Folin-Ciocalteu و فلاونوئید کل بر اساس رنگ سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که محتوای فنل و فلاونوئید کل در میان اکوتیپ‌ها متفاوت بود. بیشترین و کمترین محتوای فنل کل به ترتیب از اکوتیپ فتح آباد (۲۹/۲۶ میلی‌گرم گالیک اسید/ گرم عصاره خشک) و اکوتیپ سنگدان (۲۷/۶۸ میلی‌گرم گالیک اسید/ گرم عصاره خشک) حاصل شد. بیشترین و کمترین مقدار فلاونوئید کل به ترتیب از اکوتیپ تومانک (۱۹/۸۱ میلی‌گرم روتین/گرم عصاره خشک) و اکوتیپ کلار (۱۰/۱۰ میلی‌گرم روتین/گرم عصاره خشک) بدست آمد. به طور کلی نتایج نشان داد که از نظر مقدار فنل و فلاونوئید کل در میان برخی اکوتیپ‌های گونه *V. songaricum* جمع آوری شده از مناطق مختلف در جنوب غرب ایران تفاوت معنی‌داری وجود داشت. و متأثر از عوامل اقلیمی محل رویش بودند.

کلمات کلیدی: Scrophulariaceae، متابولیت ثانویه، رویشگاه، اقلیم.

مقدمه

خانواده گل میمون (Scrophulariaceae) یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌ها در گیاهان است (Turker and Gurel, 2005). گل ماهور (*Verbascum* sp) یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های این خانواده است که حدود ۳۶۰ گونه دارد (Alipieva et al, 2014). گل ماهور در ایران ۴۳ گونه و ۴ هیبرید دارد و ۱۹ گونه از این جنس بومی ایران هستند (Sotoodeh et al, 2015). گل ماهور دارای فعالیت‌های دارویی از جمله آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضد سرطان، ضد میکروبی و ضد ویروسی است (Riaz et al. 2013). جنس گل ماهور دارای مواد مؤثره از جمله فنل، فلاونوئیدها، ابروئیدها، ساپونین‌ها (Klimek, 1996). موسیلاژ (Sharifnia, 2007) است. ترکیبات فنلی از انواع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند و شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها، آنتوسیانین و غیره می‌باشند (Raghavendra et al, 2010). ترکیبات فنلی به عنوان ترکیبات دفاعی در برابر گیاهخواران و عوامل بیماری‌زا، حمایت مکانیکی، جذب گرده افشان‌ها، جذب تشعشع مضر ماوراء بنفش نقش دارند. فلاونوئیدها یکی از بزرگ‌ترین گروه‌ها از مجموعه فنل‌های گیاهی هستند (Taiz and Zieyger, 2009).

در مطالعاتی که در زمینه ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گل ماهور صورت گرفته میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل سه گونه گل ماهور *V. nigrum*, *V. phlomoides*, *V. thapsus* را در عصاره متانولی $۸۵ \pm ۱/۴$ ، $۸۸/۲ \pm ۱/۶$

و $135 \pm 2/1$ و در عصاره آبی $0/3 \pm 0/52, 3/6$ و $51/3 \pm 0/4$ و $74/1 \pm 0/4$ فلاونوئید کل در عصاره متانولی را به ترتیب $0/1 \pm 0/43, 4/4$ ، $0/2 \pm 0/53, 4/4$ و $37/2 \pm 0/8$ و در عصاره آبی $0/2 \pm 0/10, 2/0$ ، $0/1 \pm 0/18, 3/3$ میلی‌گرم در گرم عصاره گزارش کردند، (Mihailović et al, 2016) در پژوهشی دیگر میزان فنل و فلاونوئید در گونه *V. phlomoides* را به ترتیب $4/18$ میلی‌گرم گالیک اسید و $10/1$ میلی‌گرم روتین در گرم عصاره گزارش کردند (Armato et al, 2011). میزان فنل از گونه‌های *V. nudicaule*، *V. sinustum* و *V. speciosum* به ترتیب $0/33 \pm 0/72, 9/5$ ، $2/46 \pm 118/2$ و $1/39 \pm 95/83$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم و فلاونوئید $0/113 \pm 3/83$ ، $0/3 \pm 4/87$ و $0/23 \pm 5/77$ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم عصاره گزارش شده است (Karimian et al, 2012).

شناسایی رویشگاه‌های مختلف و تأثیر رویشگاه بر عملکرد مواد مؤثره گیاهان دارویی نقش مهمی در جهت بهره‌وری از منابع طبیعی و همچنین اهلی کردن و حفظ تنوع ژنتیکی خواهد کرد. با توجه به ارزش دارویی گل ماهور و استفاده از آن در صنایع داروسازی تحقیق حاضر در راستای ارزیابی مقدار فنل و فلاونوئیدی کل اکوتیپ‌های گل ماهور به منظور شناخت اکوتیپ‌های برتر صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع آوری گیاهی

برای شناسایی مناطق پراکنش گیاه از فلور ایرانیکا و سایر گزارش‌های ارائه شده درزمینه‌ی پراکنش گل ماهور در جنوب غرب ایران استفاده شد. نمونه‌های گل در فصل گلدهی از مناطق مورد مطالعه واقع در جنوب غرب ایران جمع‌آوری و جهت شناسایی به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال بختیاری منتقل شدند. نمونه‌های گل در شرایط سایه و به دور از نور مستقیم آفتاب خشک شده و جهت تهیه عصاره هیدرو الکلی خشک، نمونه‌ها به روش خیساندن، در الکل ۷۰ درصد عصاره‌گیری شد سپس از روش تقطیر در خلأ عصاره تغلیظ شد و در انکوباتور با دمای حدود ۳۷ درجه سانتی‌گراد عصاره خشک شد.

سنجش ترکیبات فنل کل

میزان ترکیبات فنل بر اساس روش رنگ سنجی Folin-Ciocalteu و برحسب اسید گالیک اندازه‌گیری شد. ابتدا $0/1$ گرم از نمونه خشک شده عصاره را در متانول ۶۰ درصد حل کرده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده سپس $0/1$ میلی‌لیتر به لوله آزمایش منتقل شد و به آن‌ها $0/5$ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ درصد واکنش‌گر فولین-سیو کالتیو اضافه و پس از ۳ الی ۸ دقیقه به آن $0/4$ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم $7/5$ درصد اضافه شد، سپس لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از آن میزان جذب نوری به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شده و بر این اساس نمودار استاندارد رسم شد. هم‌زمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف اسید گالیک تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید جذب قرائت شده نمونه‌ها را در نمودار استاندارد قرار داده و مقدار سپس میزان جذب قرائت شده را در نمودار استاندارد قرار داده و به این ترتیب مقدار فنل کل عصاره برحسب میلی‌گرم بر گرم عصاره خشک بر حسب اسید گالیک محاسبه شد (Liang et al, 2010).

سنجش ترکیبات فلاونوئید کل

اندازه‌گیری فلاونوئیدها بر اساس روش لینگ و همکاران (۲۰۱۰) با کمی تغییرات انجام شد. محلول عصاره بدین صورت که $0/1$ گرم از عصاره خشک شده عصاره را در متانول ۶۰ درصد حل کرده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده تهیه شد سپس $0/1$ میلی‌لیتر از آن به لوله آزمایش منتقل شد و به آن $0/5$ میلی‌لیتر کلرید آلومینیم ۲ درصد و مقدار ۳ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۵ درصد اضافه گردد. پس از ۴۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. هم‌زمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید جذب

قرائت شده نمونه‌ها را در نمودار استاندارد قرار داده و مقدار فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم بر گرم عصاره خشک بر حسب روتین محاسبه شد (Liang *et al.*, 2010).
کلید داده‌ها در قالب آنالیز واریانس یک طرفه و در سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد برخی از اکوتیپ‌های نمونه‌های گل *V. Songaricum* مناطق مختلف جنوب غرب ایران از نظر مقدار فنل و فلاونوئید کل دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بودند (جدول شماره ۱). بیشترین مقدار فنل کل از منطقه فتح‌آباد با مقدار ۲۹/۲۶ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره خشک و کمترین مقدار مربوط به منطقه سنگدان با میزان ۲۷/۶۸ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره خشک بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد مقدار فنل کل در منطقه فتح‌آباد جز با مناطق سپیدان و سمیرم که به ترتیب بعد از فتح‌آباد دارای بیشترین مقدار بودند با سایر مناطق دارای اختلاف معنی‌داری بود منطقه فرخ شهر نیز با سایر مناطق اختلاف معنی‌داری نشان دارد، سه منطقه نقنه، کلار و گردنه بارده با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند همچنین مناطق تومانک، گردنه بارده، شیر مرد و نقنه تیز با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. منطقه سنگدان با کمترین مقدار تنها با منطقه شیرمرد اختلاف معنی‌داری نداشت.

میزان فنل کل نمونه‌های گل در مناطق مورد مطالعه از بیشترین به کمترین به ترتیب شامل منطقه فتح‌آباد (۲۹/۲۶)، سپیدان (۲۹/۱۷)، سمیرم (۲۹/۱۰)، فرخ‌شهر (۲۸/۷۵)، کلار (۲۸/۳۸)، نقنه (۲۷/۱۸)، گردنه بارده (۲۸/۱۳)، شیرمرد (۲۷/۸۷)، تومانک (۲۷/۸۳)، سنگدان (۲۷/۶۸) بود (جدول شماره ۲).

بیشترین مقدار فلاونوئید از منطقه تومانک با مقدار ۱۹/۸۱ میلی‌گرم روتین در گرم عصاره خشک بود که با سایر مناطق اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد و کمترین مقدار مربوط به منطقه کلار با میزان ۱۰/۱۰ میلی‌گرم روتین در گرم عصاره خشک بود. منطقه تومانک با سایر مناطق اختلاف معنی‌داری نشان داد، مناطق فتح‌آباد و شیرمرد که به ترتیب بعد تومانک دارای بیشترین مقدار را بودند نیز با سایر مناطق اختلاف معنی‌داری نداشتند. مناطق سنگدان و سمیرم با هم و مناطق سپیدان و کلار با هم و مناطق نقنه و فرخ شهر با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند اما با سایر مناطق دارای اختلاف معنی‌داری بودند (جدول شماره ۱).

میزان فلاونوئید کل نمونه‌های گل در مناطق مورد مطالعه از بیشترین به کمترین به ترتیب شامل منطقه تومانک (۱۹/۸۱)، فتح‌آباد (۱۹/۷۱)، شیرمرد (۱۳/۴۲)، سنگدان (۱۳/۳۲)، سمیرم (۱۳/۳۱)، نقنه (۱۳/۲۰)، فرخ‌شهر (۱۳/۱۷)، سپیدان (۱۰/۱۱)، گردنه بارده (۱۰/۱۱)، کلار (۱۰/۱۰) بود (جدول شماره ۲).

جدول ۱- آنالیز واریانس فنول و فلاونوئید کل نمونه گل گونه *V. Songaricum* در جنوب غرب ایران

میانگین مربعات		درجه آزادی	منبع تغییرات
فلاونوئید کل	فنول کل		
۳۷/۶۷۷ *	۱/۰۵۹ *	۹	رویشگاه
۰/۰۰۱	۰/۰۴	۲۰	اشتباه
۲۵/۰۹	۲/۱		ضریب تغییرات (/.)

جدول ۲- فنل و فلاونوئید کل اکوتیپ‌های گل ماهور گونه *V. songaricum* در جنوب غرب ایران

منطقه	فنل کل (میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره خشک)	فلاونوئید کل (میلی گرم روتین در گرم عصاره خشک)
نقنه	۲۷/۱۸ ± ۰/۰۶ cd	۱۳/۲۰ ± ۰/۰۱ e
فرخ‌شهر	۲۸/۷۵ ± ۰/۰۵ b	۱۳/۱۷ ± ۰/۰۲ e
فتح‌آباد	۲۹/۲۶ ± ۰/۰۴ a	۱۹/۷۱ ± ۰/۰۸ b
سندگان	۲۷/۶۸ ± ۰/۰۴ e	۱۳/۳۲ ± ۰/۰۲ d
سمیرم	۲۹/۱۰ ± ۰/۰۲ a	۱۳/۳۱ ± ۰/۰۱ d
سپیدان	۲۹/۱۷ ± ۰/۰۵ a	۱۰/۱۱ ± ۰/۰۲ f
کلار	۲۸/۳۸ ± ۰/۰۸ c	۱۰/۱۰ ± ۰/۰۴ f
شیرمرد	۲۷/۸۷ ± ۰/۵۹ de	۱۳/۴۲ ± ۰/۰۱ c
گردنه بارده	۲۸/۱۳ ± ۰/۱۶ cd	۱۰/۱۱ ± ۰/۰۱ f
تومانک	۲۷/۸۳ ± ۰/۱۳ de	۱۹/۸۱ ± ۰/۰۱ a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون طبق آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

استفاده از گیاهان دارویی مستلزم اطلاعات دقیق علمی و شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در آن‌هاست زیرا خواص درمانی آن‌ها به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی است. این پژوهش وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در *V. songaricum* را تأیید می‌نماید، نتایج همچنین نشان می‌دهد در بین برخی از اکوتیپ‌ها از نظر مقدار فنل و فلاونوئید کل تفاوت معنی‌داری وجود دارد و حداکثر میزان فنل از منطقه فتح‌آباد و حداکثر میزان فلاونوئید از منطقه تومانک به دست آمد. نتایج ما با سایر تحقیقات در این زمینه مطابقت داشت، تحقیقات نشان داده‌اند عوامل ژنتیکی و محیطی و اثر مقابل آن‌ها بر روی مواد مؤثره تأثیر دارد از جمله مهم‌ترین عوامل محیطی دما نور درجه حرارت ارتفاع... هستند (Omidbaigi, 2005).

آب و هوا از مهم‌ترین عوامل تأثیر گذار بر میزان متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی هستند (Kumar et al, 2006). در پژوهشی اثر عامل اقلیمی بر ترکیبات شیمیایی گل ماهور را مورد بررسی قرار دادند نتایج آن‌ها نشان داد که عوامل اقلیمی بر میزان ترکیبات شیمیایی گل ماهور تأثیر گذار است (Karimian et al, 2012). در بررسی مقدار فنل و خواص آنتی‌اکسیدانی برگ اکوتیپ‌های *V. songaricum* دریافتند که در بین رویشگاه‌های مختلف از نظر مواد مؤثره تفاوت وجود داشت و تحت تأثیر عوامل اقلیمی بوده است (Safi et al, 2016).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد گل ماهور حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بوده بنابراین می‌تواند به عنوان یک منبع گیاهی در صنایع و داروسازی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج حاصل حاکی از تفاوت فنل و فلاونوئید کل در شرایط متفاوت اقلیمی است و این نشان دهنده تأثیر عوامل آب و هوایی بر میزان فنل و فلاونوئید کل گل ماهور است که می‌توان با الگو گیری از رویشگاه‌ها برتر اکوتیپ‌های مناسب را انتخاب کرد.

منابع

- Alipieva, K.I., Orhan, I.E., Cankaya, I.I.T., Kostadinova, E.P. and Georgiev, M.I. 2014. Treasure from garden: Chemical profiling, pharmacology and biotechnology of mulleins. *Phytochemistry Reviews*; 13, 2: 417–444.
- Armatu, A., Bodirlau, R., Nechita, C.B., Niculaua, M., Teaca, C.A., Ichim, M. and Spiridon, I. 2011. Characterization of biological active compounds from *Verbascum phlomoides* by chromatography techniques. I. Gas chromatography. *Romanian Biotechnological Letters*; 16, 4: 6297–6304.
- Karimian, V., Vahabi, M., Fazilati, M. T.M. 2012. Effect of ecological factors on chemical compounds of *Verbascum songaricum* leaves. *Journal of Herbal drugs*; 8 November 2012, Isfahan, Iran; 3, 3 : 191–8. (in Persian)
- Klimek, B. 1996. Hydroxycinnamoyl ester glycosides and saponins from flowers of *Verbascum phlomoides*. *Phytochemistry*; 43, 6 : 1281–1284.
- Kumar Gupta, A. and Neelam, M. 2006. Hepatoprotective activity of aqueous ethanolic extract of chamomile capitula in paracetamol intoxicated albino rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*; 1, 1 : 17–20.
- Liang, T., Yue, W. and Li, Q. 2010. Comparison of the phenolic content and antioxidant activities of apocynum venetum l. (Luo-Bu-Ma) and two of its alternative species. *International Journal of Molecular Sciences*; 11, 11: 4452–4464.
- Mihailović, V., Kreft, S., Benković, E.T., Ivanović, N. and Stanković, M.S. 2016. Chemical profile, antioxidant activity and stability in stimulated gastrointestinal tract model system of three *Verbascum* species. *Industrial Crops and Products*; 89: 141–151.
- Omidbaigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plant. *Milestones of Astan Quds Razavi Mashhad*; 348. (in Persian)
- Raghavendra H, Vijayananda B, Madhumathi G, H.A. 2010. In vitro antioxidant activity of *Vitex negundo* L. Leaf extracts. *Chiang Mai J Sci*, 37, 3 2010, 489–497.
- Riaz, M., Zia-Ul-Haq, M. and Jaafar, H.Z.E. 2013. Common mullein, pharmacological and chemical aspects. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23, 6 2013, 948–959.
- Safi, Z., Saeidi, K., Lorigooini, Z. shIrmardi, H.A. 2016. Evaluation of total phenolic and antioxidant activity of Mullein (*Verbascum songaricum*) ecotypes. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*; 23 Jan 2016, Shahrekord, Iran; 17: 68–75. (in Persian)
- Sharifnia, F. 2007. Notes on the distribution and taxonomy of *Verbascum* in Iran. *Journal of Botany*; 1 August 2007, Tehran, Iran; 31, 1: 30–32.
- Sotoodeh, A., Attar, F. and Civeyrel, L. 2015. *Verbascum shahsavarensis* (Scrophulariaceae), a new species for Flora of Iran. *Phytotaxa*; 19 Mar 2015, Tehran, Iran; 203, 1 : 1–2. (in Persian)
- Taiz, L. and Zieygr, E. 2009. *Plant Physiology*. Publications University of Mashhad; 1, 4: 691 (in Persian)
- Turker, A.U. and Gurel, E. 2005. Common mullein (*Verbascum thapsus* L.): Recent advances in research. *Phytotherapy Research*; 19, 9 : 733–739.

IrHC 2017
Tehran - Iran

Evaluation of Phenolic and Flavonoid Compounds in Flowers Mullein (*Verbascum songaricum*) Ecotypes in Southwest of Iran

Fatemeh jamshidi kia¹, Karamatollah Saeidi¹, Zahra Lorigooini^{2*}

¹ Department of horticulture, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord,

^{2*}Medical Plants Research Center, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord.

*Corresponding Author: zahralorigooini@gmail.com

Abstract

The mullein genus is the largest genus of Scrophulariaceae family which has extensive natural habitat in Southwest of Iran. Mullein containing this compounds such as phenolic compounds, mucilage, saponins and anthocyanin. In this study To Evaluation of total phenol and flavonoid compounds of *Verbascum songaricum*, 10 ecotypes were collected in Southwest Iran. Total phenol and flavonoid content measured using the colorimetric method Folin-Ciocalteu and colorimetric aluminum chloride methods, respectively. The results showed that total of phenols and flavonoids content were different among ecotypes. The highest and lowest of total phenolic content obtained from the Fathabad (29.29mg GAE/g DW) and Sandegan ecotypes (27.68 mg GAE/g DW), respectively. The highest and lowest of total flavonoid obtained from Tomank (19.81 mg rutin / g DW) and Klar ecotypes (10/10 mg rutin / g DW), respectively. Our results showed a significant difference among *V. songaricum* ecotype collected from different regions of Southwest Iran and were affected by habitat climatic.

Keywords: Scrophulariaceae, secondary Metabolite, regions, climatic.

IrHC 2017
T e h r a n - I r a n