مطالعه ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) جمع‌آوری شده از عرصه طبیعی و کشت شده در شرایط درون شیشه‌ای

زهرا نجاری[۱]، محمد فتاحی[*۲]
[۱و۲*] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
[*] نویسنده مسئول : mohamadfattahi@yahoo.com

چکیده

فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی دسته وسیعی از ترکیبات پلی فنلی در گیاهان می‌باشند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی وسیعی از آن‌ها گزارش شده است. در مطالعه حاضر نوع و محتوای ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی حاصل از قسمت‌های هوایی زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) جمع‌آوری شده از زیستگاه طبیعی، همچنین میزان و نوع این ترکیبات در بخش‌های هوایی و ریشه، کشت شده تحت شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. عصاره‌گیری با استفاده از دی اتیل اتر و متانول انجام گرفت. شناسایی ترکیبات فلاونوئیدی و تعیین مقدار آن‌ها با استفاده از دستگاه HPLC صورت گرفت. بیشترین میزان فلاونوئید در گیاهان جمع‌آوری شده از زیستگاه طبیعی و کمترین میزان آن در گیاهان کشت شده در شرایط درون شیشه ای مشاهده شد. بر اساس نتایج این پژوهش، سطح تولید رزمارینیک اسید در گیاهان رشد یافته در شرایط آزمایشگاهی نسبت به گیاهان جمع‌آوری شده از عرصه طبیعی به طور قابل توجهی افزایش نشان داد. به طوری که بالاترین سطح رزمارینیک اسید درگیاهان کشت شده در شرایط درون شیشه‌ای و درکشت اندام هوایی (۶۷۵ /۱۵۷µg/g DW) بدست آمد که می‌تواند به عنوان منبع مهمی از این ترکیب در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: رزمارینیک اسید، کشت درون شیشه‌ای، HPLC

مقدمه

گیاهان دارویی گروه بزرگی از گیاهان مهم اقتصادی را تشکیل می‌دهند که مواد خام اولیه را برای صنایع داروسازی، عطرسازی، غذایی و آرایشی- بهداشتی فراهم می‌کند (Najafi *et al.*, 2010). بهره‌برداری غیر اصولی گیاهان ارزشمند از عرصه‌های طبیعی خسارات جبران ناپذیری بر پیکره طبیعت وارد ساخته است و حدود ۱۰۰ گونه در سراسر جهان بنا به همین دلایل در معرض انقراض قرار گرفته‌اند (Omidbaigi *et al.*, 2007). فلاونوئیدها دسته وسیعی از ترکیبات فنلی در گیاهان می‌باشند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی وسیعی از آن‌ها گزارش شده است (Hassan *et al.*, 2010). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در منابع گیاهی به عنوان جاروبگر رادیکالهای آزاد یا اکسیژن فعال شناخته می‌شوند (Hassan *et al.*, 2010) و مهمترین فایده آن‌ها اثرات ضد سرطانی می‌باشد (Dai and Mumper, 2010). کشت گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای روشی بسیار مفید جهت تولید متابولیت‌های ثانویه و تولید داروهای گیاهی با کیفیت بالا است. به طور کلی می‌توان گفت تولید ترکیب‌هایی با حجم کم و قیمت بالا از قبیل ترکیب‌های ضد سرطانی از جمله مواردی است که می‌توان با تکنیک کشت درون شیشه‌ای گیاهان بطور اقتصادی تولید نمود. زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) گیاهی علفی و معطر، متعلق به خانواده نعناع (Lamiaceae) است (Fattahi *et al.*, 2013)، که در ارتفاع ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ متری در شمال و مرکز ایران رشد می‌کند (Faham *et al.*, 2008). این گیاه به خاطر اسانس زیاد و ترکیبات پلی فنلی در داروسازی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به طوری که فلاونوئیدهایی مانند Luteolin، Apigenin، Isokaempferide، Cirsimaritin، Penduletin، Xanthomicrol، Calycopterin از پیکره رویشی زرین گیاه جداسازی و تحقیقات اخیر داویی نشان داده است که متوکسی فلاونوئیدهای (Calycopterin، Xanthomicrol، Penduletin،

IrHC2019

Cirsimaritin) موجود در قسمت‌های مختلف آن خاصیت ضد سرطانی دارند (Fattahi *et al.*, 2013). عواملی از جمله ارزش دارویی، شرایط خاص رویشگاه، برداشت بی‌رویه انسانی، فقدان کشت و اهلی‌سازی، این گیاه را به گونه‌ای کمیاب و در حال انقراض تبدیل کرده است (Jalali and Jamzad, 1999). متابولیت‌های ثانویه گیاهی تحت تأثیر شرایط آب و هوایی، ژنتیک، مرحله نموی و زمان برداشت قرار دارند. همچنین تولید این ترکیبات در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی می‌تواند منجر به تغییر مسیر بیوسنتزی و در نتیجه تغییر در کمیت و کیفیت مواد مؤثره گردد. امروزه مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی همانند بوتیلاتد هیدروکسی آنیزول[۱] و بوتیلاتد هیدروکسی تولوئن[۲] در صنعت علی‌رغم کارایی بالا و ارزانی نسبی به دلیل عوارض جانبی، سمیت و سرطان‌زایی آن‌ها رو به کاهش گذاشته است (Demir *et al.*, 2009). از اینرو در سال‌های اخیر تحقیقات بر روی دستیابی به آنتی‌اکسیدان‌هایی طبیعی با اثر بخشی بالا و اثرات جانبی کم‌تر از منابع گیاهی، متمرکز شده است. با نظر به تأثیرپذیری بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی از پارامترهای محیطی، این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه کمیت و کیفیت ترکیبات فلاونوئیدی عصاره زرین گیاه در عرصه طبیعی و شرایط درون شیشه‌ای صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی با توجه به تحقیقات محلی و بازدید از مناطق رویش این گیاه در فصل بهار انجام گردید. قسمت‌های هوایی زرین گیاه از منطقه گچسر واقع در استان البرز جمع‌آوری و بلافاصله در دمای معمولی و سایه خشک شدند. همچنین بخش‌های هوایی و ریشه کشت شده در شرایط درون شیشه‌ای نیز جهت عصاره‌گیری و تعیین نوع و میزان ترکیبات فلاونوئیدی برداشت شدند.

عصاره‌گیری

با توجه به اینکه ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی غالبا در برگ یافت می‌شود نمونه‌های گیاهی خشک شده از برگ گیاه (۵۰۰ میلی گرم) پس از جمع‌آوری از طبیعت و برداشت از محیط کشت آزمایشگاهی با ۳ تکرار در لوله‌های جداگانه، حاوی ۱۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر به مدت ۲۴ ساعت عصاره‌گیری شدند (Vieira *et al.*, 2001). پس از ۲۴ ساعت عصاره‌ها داخل ویال‌های تمیز ریخته شده و برگ‌ها با اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر دی اتیل اتر شستشو داده شدند. دی اتیل اتر مورد استفاده برای عصاره‌گیری زیر هود به طور کامل تبخیر شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول آبی متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد و عصاره‌ها در داخل ویال فیلتر شدند. ۱/۵ میلی لیتر از محلول آماده شده برای تزریق اتوماتیک به ویال‌های HPLC منتقل شد. دلیل استفاده از دی اتیل اتر و در پی آن متانول استخراج فلاونوئیدهای کم قطبی با گروه های متوکسی که شکل غالب فلاونوئیدهای گیاه است.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنالیز HPLC نشان داد که گیاهان جمع‌آوری شده از عرصه طبیعی محتوای بهتری از ترکیبات فلاونوئیدی را نسبت به کشت در شرایط آزمایشگاهی دارند (جدول۱). از میان ترکیبات فلاونوئیدی شناسایی شده در زرین گیاه Luteolin3′-) O-β -D-glucuronide ۲۰۵/۰۴ µg/g DW در عرصه طبیعی، ۴۸/۷۹ µg/g DW درکشت درون شیشه‌ای بخش هوایی، ۲۷/۵۶۵ µg/g DW در کشت درون شیشه ای ریشه)، Apigenin (۲۱۴/۱۸ µg/g DW در عرصه طبیعی، ۳۰/۴۸۱ µg/g DW در کشت درون شیشه‌ای بخش هوایی)، Isokaempferide (۱۹۵/۷۲ µg/g DW در عرصه طبیعی، ۳۵/۶۷ µg/g DW در کشت درون شیشه‌ای بخش هوایی) و Calycopterin (۴۵۴/۳۲ µg/g DW در عرصه طبیعی ۱۸۷/۹۲ µg/g DW در کشت درون شیشه‌ای بخش هوایی) بالاترین میزان را در گیاهان رشد یافته در محیط

[۱]- *BHA*
[۲]- *BHT*

IrHC2019

طبیعی به خود اختصاص دادند. اما اختلافات قابل توجهی در مورد برخی از ترکیبات در این دو محیط رشد مشاهده شد به طوری که میزان Luteolin-7- O- β- D- glucopyranoside (۱۰۵/۳۵ µg/g DW) در کشت درون شیشه‌ای بخش هوایی، ۷۶/۵۳ µg/g DW در کشت درون شیشه‌ای ریشه، ۵۴/۷۴ µg/g DW در عرصه طبیعی)، Rosmarinic acid (۱۵۷/۶۷ µg/g DW در کشت درون شیشه‌ای بخش هوایی، ۷۲/۲۴ µg/g DW در کشت درون شیشه‌ای ریشه، µg/g ۵۴/۵۸DW در عرصه طبیعی) بالاترین محتوا را در شرایط رشد آزمایشگاهی داشتند. تفاوت در نوع و محتوای ترکیبات فلاونوئیدی در شرایط آزمایشگاهی بین قسمت‌های مختلف زرین گیاه نیز مشاهده شد، محتوای ترکیبات فلاونوئیدی شناسایی شده در ریشه (Luteolin-7-O-β -D- glucopyranoside، Apigenin-7-O-glucoside، Quercetin، Luteolin 3′-O-β-D-glucuronide، Rosmarinic acid، Penduletin) نسبت به بخش هوایی کمتر بود. از میان ترکیبات فلاونوئیدی شناسایی شده ۳ ترکیب Luteolin، Genkwanin و Tricin در بخش هوایی گیاه در شرایط آزمایشگاهی تشخیص داده نشدند. نتایج نشان می‌دهد که از بین ۱۵ ترکیب فلاونوئیدی، سطح تولید رزمارینیک اسید در گیاهان رشد یافته در شرایط آزمایشگاهی نسبت به گیاهان جمع‌آوری شده از عرصه طبیعی به طور قابل توجهی افزایش یافته است و این افزایش در بخش هوایی گیاه محسوس‌تر بوده است (۱۵۷/۶۷ µg/g DW در بخش هوایی، ۷۲/۲۴ µg/g DW در ریشه و ۵۴/۵۸ µg/g DW در عرصه طبیعی). ترکیب فلاونوئیدی دیگری که میزان آن در کشت درون شیشه‌ای نسبت به جمع‌آوری گیاه از طبیعت افزایش نشان داده است luteolin-7-O- β - D - glucopyranoside (۵۴/۷۴ µg/g DW در زیستگاه طبیعی، ۱۰۵/۳۵ µg/g DW در کشت درون شیشه‌ای) می‌باشد که مقدار آن در بخش هوایی بیشتر از ریشه‌ها است. محتوای متوکسی فلاونوئیدها (Calycopterin، Xanthomicrol، Penduletin، Cirsimaritin) درگیاهان کشت شده در شرایط آزمایشگاهی تغییراتی را نشان داد به طوری که میزان Calycopterin به عنوان متوکسی فلاونوئید اصلی، بالاترین مقدار(۴۵۴/۳۲ µg/g DW) را در گیاهان جمع آوری شده از طبیعت داشت و به همین ترتیب متوکسی فلاونوئید Xanthomicrol و Penduletin در شرایط رشد طبیعی مقدار بالاتری را نشان دادند، اما Cirsimaritin افزایش قابل توجهی را نشان نداد. متابولیت‌های ثانویه گیاهی اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آن‌ها بطور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Omidbaigi *et al.*, 2009). بیوسنتز، توزیع و تجمع فلاونوئیدها تحت تأثیر عوامل محیطی مختلف، خشکی، درجه حرارت پایین و سرمازدگی، UV، پاتوژن‌ها، استرس‌های غذایی و سایر عوامل محیطی متغیر است (Carrvalho *et al.*, 2009). محیط رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرآیند تشکیل مواد مؤثره تأثیر گذار باشد. بطور مثال بیشترین میزان تجمع هایپرسین در گل راعی (*Hypericum perforatum*) زمانی انجام می‌شود که رشد و نمو گیاه در مناطقی با رطوبت نسبی بالا صورت گیرد (Laurel *et al.*, 1999). باتوجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه تفاوت در نوع و مقدار ترکیبات فلاونوئیدی زرین گیاه ناشی از تفاوت در محیط رشد و پارامترهای مربوط به آن از جمله دما، نور، رطوبت و مواد غذایی است. اشعه‌ی ماوراء بنفش یکی از مهمترین عوامل محیطی است که رشد و توسعه گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ممکن است باعث تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله تجمع متابولیت‌های ثانویه گردد (Caldwell *et al.*, 1971). توزیع فلاونوئید در جمعیت‌های مختلف زرین گیاه با توجه به موقعیت جغرافیایی متفاوت است به طوری که بالاترین سطح فلاونوئیدها در گیاهان جمع‌آوری شده از مناطق خشک و نیمه خشک مرکز ایران مشاهده شده است که در معرض تابش UV بیشتر و شرایط خشکی قرار دارند (Fattahi *et al.*, 2013) که به عنوان فاکتورهای مطلوب برای سنتز و تجمع آگلیکون فلاونوئیدها (Luteolin، Apigenin، Isokaempferide، Cirsimaritin، Penduletin، Xanthomicrol، Calycopterin) گزارش شده است (Nikolova et al., 2013). همچنین مشخص شده است که بیوسنتز ترکیبات از مسیر فنیل پروپانوئید در اثر قرار گرفتن طولانی مدت در معرض تابش نور UV و آبی افزایش می‌یابد (Kaling *et al.*, 2015). در کشت درون شیشه‌ای دریافت نور UV توسط کشت‌ها ناچیز است و بخشی از پیش ماده برای بیوسنتز فلاونوئیدها صرف تولید سایر ترکیبات فنلی از جمله رزمارینیک اسید می‌شود که نتیجه آن افزایش سطح تولید رزمارینیک اسید و کاهش تعداد و محتوای ترکیبات

IrHC2019

فلاونوئیدی در کشت‌های درون شیشه‌ای نسبت به گیاهان جمع‌آوری شده از طبیعت می‌شود که در معرض تابش نور UV قرار دارند و این تجمع در ارتفاعات که دریافت UV بیشتر است محسوس‌تر می‌باشد. بیوسنتز فلاونوئیدها اغلب تحت تأثیر انواع مختلف استرس افزایش می‌یابد (Treutter, 2005) و گزارش شده است که سنتز فلاونوئیدها می‌تواند توسط عوامل محیطی، UV، استرس آبی و دما افزایش یابد (Chaves and Escudero, 1999).

جدول «۱» میزان ترکیبات فلاونوئیدی (µg/g DW) در عصاره حاصل از قسمت‌های هوایی زرین گیاه جمع‌آوری شده از عرصه طبیعی و کشت شده در شرایط درون شیشه‌ای

Peak	Compound name	RT	Gachsar-Leaf	In vitro-Aerial(leaf)	In vitro-Root
1	Luteolin-7-O-β-glucopyranoside	۲/۳۲	۵۴/۷۴	۱۰۵/۳۵	۷۶/۵۳
2	Apigenin-7-glucosid(cosmosiin)	۲/۶۷	۴۱/۵۰	۵۳/۰۳	۲۸/۲۳
3	Rosmarinic acid	۲/۹۳	۵۴/۵۸	۱۵۷/۶۷	۷۲/۲۴
4	Luteolin 3′-O-β -D-glucuronide	۳/۳۸	۲۰۵/۰۴	۴۸/۷۹	۲۷/۵۶
5	Luteolin	۵/۵۲	۶۶/۰۸	-	-
6	Quercetin	۶/۱۱	۲۸/۳۲	۹۵/۲۹	۴۴/۰۴
7	Apigenin	۹/۰۷	۲۱۴/۱۸	۳۰/۴۸	-
8	Cirsimaritin	۹/۹۶	۵۰/۳۵	۴۰/۰۱	-
9	Isokaempferide	۱۰/۵۶	۱۹۵/۷۲	۳۵/۷۶	-
10	Penduletin	۱۱/۵۵	۶۱۶/۱۴	۱۳۵/۹۶	۱۴/۷۵
11	Xanthomicrol	۱۲/۳۵	۳۶۸/۱۷	۷۲/۳۳	-
12	Calycopterin	۱۴/۲۴	۴۵۴/۳۲	۱۸۷/۹۲	-
13	Genkwanin	۱۵/۹۷	۴۹/۳۵	-	-
14	Kumatakenin	۱۸/۶۱	۶۴/۶۰	۱۹/۳۴	-
15	Tricin	۹/۴۲	۳۶/۳۰	-	-

متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی را در واکنش گیاه نسبت به تنش‌های محیطی دارند و در شرایط تنش برخی از این ترکیبات بسته به نوع تنش به میزان قابل توجهی در گیاه افزایش می‌یابند. به طور مثال گیاهان در برابر تابش نور UV که به عنوان یک تنش غیر زیستی برای گیاه مطرح است به منظور محافظت از اندامک‌های حساس مانند کلروپلاست‌ها سنتز فلاونوئیدها را افزایش می‌دهند که این ترکیبات به سان یک لایه پوششی عمل کرده و مانع از آسیب اشعه ماوراء بنفش به اندامک‌ها می‌شوند و جزء مکانیسم‌های محافظتی مهم در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تابش UV محسوب می‌شوند. در مسیر بیوسنتز متوکسی فلاونوئیدها (Calycopterin، Xanthomicrol، Penduletin، Cirsimaritin) پیشنهاد شده است که آنزیم *O*-methyl-transferase تبدیل آپیژنین به جنکوانین را کاتالیز می‌کند و جنکوانین نیز از طریق اتصال گروه‌های متوکسی تبدیل به Cirsimaritin، Xanthomicrol و Calycopterin می‌شود (Fattahi *et al.*, 2014) و این موضوع نشان می‌دهد که برخی از ژن‌ها می‌توانند در بیوسنتز متوکسی فلاونوئیدها درگیر باشند و احتمالا دمای بالا و رطوبت پایین باعث تقویت آنزیم *O*-methyl-transferase می‌شود (Fattahi *et al.*, 2016) و از آنجایی که در کشت‌های درون شیشه‌ای معمولا رطوبت محیط کشت در حد ۱۰۰ درصد نگهداری شده و سایر عوامل محیطی از جمله دما و نور نیز بسته به نوع ریزنمونه و نوع کشت کنترل می‌شود در نتیجه گیاه در یک شرایط نرمال رشد کرده و تحت تأثیر عوامل تنش‌زا که باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شوند قرار نمی‌گیرد که نتیجه آن کاهش سطح تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله فلاونوئیدها در گیاه است. این در حالی است که گیاه در محیط رشد طبیعی در معرض انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار دارد و برای مقابله با این تنش‌ها و حفظ بقاء خود ترکیباتی به نام متابولیت ثانویه تولید می‌کند که در واقع به عنوان یک مکانیسم دفاعی در گیاهان عمل می‌کنند، که دلیل این امر نوسان

IrHC2019

فعالیت‌های متابولیکی گیاه تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی است. زمانی که برخی عوامل محیطی تغییر کند باید موجود زنده به هر نحوی با محیط جدید سازگار شود که این سازگاری بر یک جریان و فرآیند بیوشیمیایی و ریختی استوار است (Omidbaigi *et al.*, 2009). متابولیت‌های ثانویه با خواص آنتی‌اکسیدانی نسبت به موقعیت‌های محیطی بسیار حساس می‌باشند (Gautier *et al.*, 2008). یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که فاکتورهای محیطی اصلی مانند: عرض جغرافیایی، متوسط بارندگی سالانه، متوسط درصد روشنایی سالانه و متوسط دمای سالانه در محتوای فلاونوئیدها مؤثر می‌باشد (Cheng *et al.*, 2009). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که محتوای فلاونوئیدها در گیاهان جمع‌آوری شده از طبیعت که در معرض نوسانات محیطی قرار دارند نسبت به گیاهان کشت شده در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی بالاتر است و نبود نور UV کافی در کشت‌های درون شیشه‌ای موجب تغییر مسیر فنیل پروپانوئیدی به سمت تولید سایر ترکیبات فنلی به ویژه رزمارینیک اسید می‌شود.

منابع

Caldwell, M.M. 1971. Solar UV irradiation and the growth and development of higher plants. Photophysiology, 6: 131-177.

Carrvalho, I.S., Cavaco, T., Carvalho, L.M. and Duque, P. 2009. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoe batatas* (L.) Lam) leaves. Food Chemistry,118(2): 384-390.

Chaves, N. 1999. Variation of flavonoid synthesis induced by ecological factors. Principles and practices in plant ecology: Allochemical Interactions, 267-285.

Cheng, S., Xu, F. and Wang, Y. 2009. Journal of Medicinal Plants Research, 3(13): 1248-1252.

Dai, J. and Mumper, RJ. 2010. Plant Phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer Properties. Mulecules Journal., 15(10): 7313-7352.

Demir, H., Acik, L., Burcu Bali, E., Koc, L.Y. and Kaynak, G. 2009. Antioxidant and antimicrobioal Solidayo Virga-aurea L. extracts. African Journal of Biotechnology. (8): 274- 279

Faham, N., Javidnia, K., Bahmani, M. and Amirghofran, Z. 2008. Calycopterin, an immunoinhibitory compound from the extract of *Dracocephalum kotschyi*. Phytotherapy Research, 22: 1154-1158.

Fattahi, M., Bonfill, M., Fattahi, B., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R.M. and Palazon, J. 2016. Secondary metabolites profiling of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. at three phenological stages using uni-and multivariate methods. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 3(4): 177-185.

Fattahi, M., Cusido, R.M., Khojasteh, A., Bonfill, M. and Palazon, J. 2014. Xanthomicrol: acomprehensive review of its chemistry, distribution, biosynthesis and pharma-cological activity. Mini reviews in Medicinal Chemistry, 14(9): 725–733.

Fattahi, M., Nazeri, V., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R.M., Zamani, Z. and Palazon, J. 2013 Identification and quantification of leaf surface flavonoids in wild-growing populations of Dracocephalum kotschyi by LC–DAD–ESI-MS. Food chemistry, 141:139-46.

Gautier, A., Juillerat, A., Heinis, C., Correa, I.R., Kindermann, M., Beaufils, F. and Johnsson, K. 2008. Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. Archives of Internal Medicine, 161(13): 1581-1586.

Hassan, H.M.M. and Hassan, N.M.M. 2010. In vitro antioxidant and free radical scavenging activities of red Grape Seed extracts. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry, 5(2): 106-115.

Kaling, M., Kanawai, B., Ghirardo, A., Albert, A., Winkler, J.B., Heller, W., Barta, C., Loreto, F., Schmitt-Koplin, P. and Schnitzler, J.P. 2015. UV-B mediated metabolic rearrangements in poplar revealed by non-targeted metabolomics. Plant Cell and Environment, 38(5): 892-904.

Laurel, F.R., Servio, R.P., Valerie, B.K., Gregory, M.J. and Ian, C.P. 1999. Direct and indirect effects of climate change on St. Johns Wort, *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). Oecologia. 120: 113-122.

Najafi, S.h., SadeghiNejad, B., Deokule, S.S. and Estakhr, J. 2010. Phytochemical screening of *Bidaria khandalense* (Sant.) *Lorantha uscapitellatus* Wall., *Viscumarticula tumburm* F. and *Vitex negundo* Linn. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 1(3): 388-393.

Nikolova, M. T., Taskova, R. M. and Peev, D. R. 2005. Exudate flavonoid aglycones of Veronica: Ecological and systematic implications. Biochemical Systematics and Ecology, 33(12): 1258-1268.

IrHC2019

Omidbaigi, R. 2007. Production and Processing of Medicinal Plants. Quds Razavi Publishing House, 151.
Omidbaigi, R. 2009. Production and Processing of Medicinal Plants. Quds Razavi Publishing House, 160.
Treutter, D. 2005. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. Plant Biology, 7(06): 581-591.
Vieira, R.F., Grayer, R.J., Paton, A. and Simon, J.E. 2001. Genetic diversity of *Ocimum gratis-simum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. Biochemical Systematics and Ecology, 29 (3): 287-304.

Study of flavonoid and phenolic compounds from *Dracocephalum kotschyi* Boiss. collected of natural habitat and cultivated under *in vitro* conditions

Zahra Najjari [1]*, Mohammad Fattahi [2]
[2,1]* Department of Horticultural Sciences, Urmia University, Urmia, Iran
[*]*Corresponding Author: mohamadfattahi@yahoo.com*

Abstract

Flavonoids are a large class of polyphenols in many medicinal plants, which exhibit different pharmacological effects including antioxidant activity. In this study, diethyl ether solvent and methanolic extract were used for sample extractions. In the present study, the type and content of flavonoid compounds derived from *Dracocephalum kotschyi* Boiss. were determined in natural habitat collected samples, as well as the amount and type of these compounds in the aerial(leaf) and root parts were evaluated under *in vitro* conditions. Analysis were performed by HPLC. The highest amount of flavonoids was observed in plants collected from natural habitats. Also the lowest content of flavonoids were obtained in, plants cultivated under *in vitro* conditions. In conclusion based on the obtained results, the level of rosmarinic acid production in plants grown under *in vitro* conditions significantly increased compared to the plants collected from the natural habitat. Therefore, the highest level of rosmarinic acid was obtained in plants grown under *in vitro* especially aerial sample (675.157 DW µg/g), which can be used as an important method for this compound in the pharmaceutical industry.

***Keywords*:** HPLC, *In vitro*, Rosmarinic acid

IrHC2019