

گزارش کوتاه
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۲۲، تیر ۱۴۰۲، ۴۲۸-۴۱۹

تعیین محتوای فنول، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی سه مرحله رشدی گیاه خارخاسک (*Tribulus terrestris* L.): یک گزارش کوتاه

زهرا بقایی فرا^۱، حمید درویش نیا^۲، جعفر تهری^۳، شهریار سعیدیان^۱

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۹/۰۵ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۳/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: گیاه خارخاسک از گیاهان با خواص دارویی است. هدف مطالعه حاضر تعیین میزان فنول، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی مراحل مختلف رشدی اندام‌های هوایی دو جمعیت گیاه خارخاسک بود.

مواد و روش‌ها: مطالعه آزمایشگاهی حاضر، در سال ۱۴۰۰ در دو رویشگاه سردسیر و گرمسیر استان ایلام انجام شد. مقدار فنول کل، محتوای فلاونوئیدی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بخش‌های هوایی گیاه اندازه‌گیری و به صورت IC_{50} بیان گردید. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: بیشترین و کمترین محتوای فنول و فلاونوئید کل در مرحله گلدهی رویشگاه گرمسیر و مرحله ظهور ساقه منطقه سردسیر به‌دست آمد. بیشترین و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی، به ترتیب مربوط به مرحله گلدهی رویشگاه مهران و مرحله ظهور ساقه رویشگاه آسمان‌آباد بود.

نتیجه‌گیری: مرحله گلدهی رویشگاه گرمسیری مهران دارای بالاترین محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بود.

واژه‌های کلیدی: خارخاسک، ظرفیت آنتی اکسیدانی، عصاره، ترکیبات فنولی، استان ایلام

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- (نویسنده مسئول) استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تلفن: ۰۸۴-۳۲۲۲۱۰۵۲، دورنگار: ۰۸۴-۳۲۲۲۸۳۱۳، پست الکترونیکی: darvishnia_h@pnu.ac.ir

۳- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

مقدمه

عوامل مختلفی مانند گونه گیاهی، اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌های مختلف را تحت تأثیر قرار داده و هر کدام از آن‌ها می‌توانند تأثیر به‌سزایی بر کمیت و کیفیت محصولات به دست آمده از گیاهان داشته باشند [۱]. گیاهان همواره در معرض تنش‌های محیطی قرار دارند که یکی از بارزترین آن‌ها تنش اکسیداتیو است که می‌تواند سبب غیرفعال سازی آنزیم‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ساختار غشاء سلولی شود [۲]. در گونه‌های مختلف گیاهی به طور طبیعی همواره واکنش‌هایی در جهت مقابله و ممانعت از این تنش‌های اکسیداتیو صورت می‌گیرد. گیاهان با به کار انداختن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان قوی مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی، موجب حذف یا غیر فعال کردن اکسیژن فعال شده و در نتیجه سبب افزایش مقاومت گیاهان در این شرایط می‌شوند [۳].

گیاه خارخاسک با نام علمی *Tribulus terrestris* گیاهی علفی، یک‌ساله، با ساقه‌های خوابیده و انشعابات گسترده بر سطح خاک و پوشیده از تارهای ظریف ابریشمی، از دسته گیاهان گلدار و متعلق به تیره اسپندیان یا *Zygophyllacea* می‌باشد. این گیاه با دارا بودن ترکیبات شیمیایی متنوعی همچون فلاونوئیدها، استروئیدها، آلکالوئیدها و ساپونین‌ها دارای خواص ضد باکتریایی و ضد میکروبی، پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و مهار نمودن پراکسیداسیون چربی است. در

طب سنتی از فواید مختلف آن برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله دفع سنگ کلیه، کاهش فشارخون، خواص ضد دیابتی، درمان بیماری‌های دستگاه قلبی-عروقی، تقویت عملکرد جنسی در مردان و درمان بیماری‌های کبدی توصیه می‌شود [۴]. در سالیان اخیر پژوهش‌های متعددی بر روی اثرات درمانی گیاه خارخاسک و در ارتباط با تأثیر تغییرات محیطی، به‌ویژه اقلیم بر اجزاء تشکیل دهنده اسانس گیاهان و نیز بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کل آن‌ها انجام گرفته است [۵-۶].

از آنجایی که عوامل محیطی تعیین کننده اقلیم یک منطقه هستند، بنابراین نقش مهمی در سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارند [۷]. با توجه به اهمیت گیاهان دارویی و موقعیت جغرافیایی ایران با آب و هوای متنوع و تنوع بالای جانوری و گیاهی، به دنبال بررسی وجود ارتباط بین عوامل اکولوژیک و محیطی با سنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی خارخاسک بودیم. در این پژوهش بر آن شدیم به منظور رفع تنگناهای موجود و آگاهی از تجارب و اندوخته‌های علمی، نسبت به معرفی گیاه دارویی خارخاسک در استان ایلام اقدام نماییم و میزان فنول کل و فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه را در مراحل مختلف رشدی ظهور ساقه، گلدهی و ظهور بذر در دو رویشگاه واقع در منطقه گرمسیر (مهران) و سردسیر (آسمان آباد) در استان ایلام مورد بررسی و سنجش قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

در پژوهش آزمایشگاهی حاضر، بخش‌های هوایی گیاه دارویی خارخاسک از رویشگاه‌های آسمان آباد (منطقه سردسیر) و مهران (منطقه گرمسیر) در استان ایلام در سه مرحله رشدی در سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری گردید. نمونه هرباریومی گیاه توسط متخصص بیوسیستماتیک گیاهی شناسایی و مورد تأیید قرار گرفت و با کد UOZH1506 در هرباریوم دانشگاه زابل به ثبت رسید.

بخش‌های هوایی گیاه در دمای اتاق و سایه خشک و توسط دستگاه آسیاب برقی BEST مدل 250A ساخت چین به پودر تبدیل گردید. با کمک دستگاه کلونجر مدل 85000-10، ساخت ایران، و روش تقطیر با آب و بخار به مدت دو ساعت بعد از به جوش آمدن، اسانس‌گیری نمونه‌ها صورت گرفت. میزان اسانس به دست آمده برای هر منطقه و هر مرحله رشدی برحسب گرم اسانس بر گرم ماده خشک گیاه یادداشت گردید و اسانس‌ها تا زمان آنالیز در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۶].

مقدار فنول کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Lambda 45-UV/Visible ساخت شرکت PerkinElmer آمریکا اندازه‌گیری شد. ابتدا غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره ساخته شد. برای اندازه‌گیری مقدار فنول کل، به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی گیاه (متشکل از ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و

۰/۱ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو ۵۰ درصد اضافه کرده و پس از ۵ دقیقه، ۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۷ درصد) به آن اضافه گردید. سپس به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری نموده و پس از آن جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر نسبت به شاهد قرائت گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون، گالیک اسید به عنوان استاندارد به کار رفت و میزان آن برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره (برحسب میانگین آن‌ها) گزارش شد [۸].

به منظور سنجش میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و استفاده از اسپکتروفتومتر انجام گرفت. برای این کار به ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (۱ مولار) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و خوب مخلوط گردید. سپس جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق، در طول موج ۵۱۰ نانومتر نسبت به بلانک با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. به منظور رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد [۸].

با استفاده از سنجش خنثی‌سازی رادیکال آزاد ۲ و ۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) و تغییر در میزان جذب نوری برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه استفاده گردید. بدین منظور ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی (متشکل از ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول) تهیه

شده از گیاه را با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH مخلوط نموده و به مدت نیم‌ساعت در شرایط تاریکی قرار داده شد. میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله $I(\%) = (A_B - A_S) / A_B \times 100$ محاسبه شد که A_B میزان جذب نمونه شاهد (حاوی همه اجزاء واکنش‌گر بدون نمونه) و A_S میزان جذب نمونه بود. سپس نتایج به‌صورت IC_{50} (غلظتی از ماده که لازم است تا ۵۰ درصد از اکسیدان DPPH را کنترل کند) بیان گردید [۶]. ارزیابی برای هر کدام از عصاره‌ها در سه تکرار مستقل انجام گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ تجزیه و تحلیل شد. نتایج به صورت انحراف استاندارد \pm میانگین گزارش شده است. نرمال بودن توزیع فراوانی متغیرهای کمی با آزمون ناپارامتریک Kolmogorov-Smirnov و همگنی واریانس گروه‌ها نیز با آزمون Levene مورد ارزیابی قرار گرفت و تخطی از این پیش‌فرض‌ها مشاهده نشد ($P > 0.05$). به منظور مقایسه میانگین فنول کل، فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برحسب گروه‌های مورد بررسی، از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan استفاده گردید. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

برای محاسبه محتوای فنول کل عصاره متانولی بخش‌های هوایی گیاه خارخاسک از مقادیر جذب ناشی از واکنش عصاره به دست آمده با معرف فولین-سیوکالتو و بر اساس مقایسه آن

با محلول‌های استاندارد گالیک اسید و بر طبق معادله حاصل از منحنی استاندارد اسید گالیک استفاده شد (جدول ۱). هم‌چنین، مقادیر فلاونوئید کل عصاره برحسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک در دو رویشگاه و سه مرحله رشدی آن در استان ایلام در جدول ۱ نشان داده شده است. معادله مربوط به منحنی استاندارد کوئرستین برای محاسبه محتوای فلاونوئید کل به صورت $Y = 55/811X - 0/0892$ ($R^2 = 0/9959$) به دست آمد.

با توجه به جدول ۱، مشخص می‌شود که بیشترین میانگین محتوای فنول کل مربوط به مرحله گلدهی به ترتیب به میزان $0/26 \pm 0/90$ و $0/21 \pm 0/07$ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک در رویشگاه مهران و آسمان آباد، و کمترین میزان فنول با مقدار $0/10 \pm 0/73$ و $0/16 \pm 0/85$ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک به ترتیب مربوط به عصاره‌های استخراج شده در مرحله ظهور ساقه از اندام‌های هوایی مربوط به رویشگاه‌های مهران و آسمان آباد می‌باشد. هم‌چنین، بین میانگین‌های فنول کل عصاره‌های به دست آمده از رویشگاه‌های مهران و آسمان آباد در هر سه مرحله رشدی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P = 0/013$).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بیشترین محتوای فلاونوئید کل اندام‌های هوایی به میزان $0/12 \pm 0/93$ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک در مرحله گلدهی رویشگاه مهران، و کمترین مقادیر مربوط به عصاره اندام‌های هوایی مرحله گلدهی، ظهور ساقه و ظهور بذر در رویشگاه آسمان آباد

بود (جدول ۱). همچنین، بین میانگین‌های فلاونوئید کل عصاره‌های به دست آمده از رویشگاه‌های مهران و آسمان آباد در هر سه مرحله رشدی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P=0/016$).
 ارزیابی فعالیت پاک سازی رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌های گیاهی با استفاده از درصد مهار یا احیاء DPPH انجام شد (بر اساس IC_{50}). در این ارزیابی از اسید آسکوربیک به عنوان کنترل استاندارد استفاده گردید. کمترین میزان IC_{50} مربوط به مرحله رشدی گلدهی در رویشگاه مهران و آسمان آباد با مقدار IC_{50} برحسب میلی گرم به ترتیب $0/71$ و $0/89$ بود. بیشترین میزان IC_{50} که نشان دهنده میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کمتر است، نیز مربوط به مرحله ظهور ساقه در رویشگاه آسمان آباد و مهران، و با میزان IC_{50} به ترتیب $2/74$ و $2/06$ میلی گرم بود (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار مقادیر فنول کل، فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی اندام‌های هوایی گیاه خارخاسک برحسب منطقه مورد مطالعه و مرحله رشدی

منطقه مورد مطالعه	مرحله رشدی	فنول کل (میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)	فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره)	میزان IC_{50} (میلی گرم بر میلی لیتر)
آسمان آباد	ظهور ساقه	$4/85 \pm 0/16$	$2/74 \pm 0/08$	$2/74$
	گلدهی	$7/07 \pm 0/21$	$2/71 \pm 0/07$	$0/89$
	ظهور بذر	$6/87 \pm 0/18$	$2/75 \pm 0/06$	$1/47$
مهران	ظهور ساقه	$5/73 \pm 0/10$	$2/92 \pm 0/10$	$2/06$
	گلدهی	$8/90 \pm 0/26$	$3/93 \pm 0/12$	$0/71$
	ظهور بذر	$7/65 \pm 0/23$	$2/99 \pm 0/09$	$1/13$

بحث

گیاه خارخاسک حاوی فنول و فلاونوئید می‌باشد. بیشترین مقدار فنول و فلاونوئید کل در مرحله گلدهی و از رویشگاه مهران حاصل شد. بررسی سیر تغییرات فنول کل نشان می‌دهد که معمولاً با پیشرفت مراحل رشدی میزان فنول و فلاونوئید کل از مرحله رشدی ظهور ساقه تا گلدهی افزایش می‌یابد و در فاصله زمانی بین گلدهی و ظهور بذر تا حدی کاهش می‌یابد. این گیاه به خاطر وجود این متابولیت‌های ثانویه، فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی را نشان می‌دهد. در مطالعه Kamali و همکاران رابطه مستقیمی بین محتوی فنول

در مطالعه حاضر به بررسی مقایسه‌ای میزان فنول، فلاونوئید کل و فعالیت ضد اکسیدانی مراحل رشدی ظهور ساقه، گلدهی و رسیدگی بذر گیاه خارخاسک در دو رویشگاه پرداخته شد. از آنجا که متابولیت‌های ثانویه مشتق شده از گیاهان مانند فنول و فلاونوئید دارای پتانسیل قوی برای پاک سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند، در این پژوهش مقدار فنول و فلاونوئید کل عصاره بخش‌های هوایی این گیاه به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. مشخص گردید که عصاره

می‌کند که جغرافیا و اقلیم در مناطق مختلف تأثیر معنی‌داری در محتوای ترکیبات زیست فعال و فعالیت آن‌ها دارد. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنی قرار دارد. به نظر می‌رسد تأثیر عوامل ژنتیکی قوی‌تر از عوامل محیطی باشد [۱۲]. هم‌چنین، افزایش دما و بالا رفتن سن گیاه نیز باعث تجمع متابولیت‌های ثانویه‌ای همچون ترکیبات فنولی در گیاهان می‌شود. نور میزان بیوسنتز ترکیبات فنولی گیاهان را با افزایش فعالیت آنزیم‌ها، خصوصاً آنزیم فنیل آلانین آمونیل‌لاز (که نقش مهمی در تبدیل فنیل آلانین به کوماریک اسید دارد) افزایش می‌دهد و خود این ترکیب در سنتز ترکیبات فنولیکی در گیاهان دخالت دارد [۱۳]. تفاوت در مقدار عصاره، میزان فنول و فلاونوئید کل، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حتی نوع ترکیبات سازنده عصاره در طول تکوین گیاه و اقلیم‌های متفاوت با میزان بیان و یا عدم بیان مجموعه‌های ژنی مرتبط با سنتز اسانس‌ها تغییر می‌کند که تحت تأثیر برهم‌کنش با عوامل محیطی در هر مرحله تکوینی متغییر گیاه می‌باشند [۹].

ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدان با روش DPPH بر مبنای IC_{50} نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌ها هوایی گیاه خارخاسک در منطقه گرمسیر مهران و مرحله رشدی گلدهی نسبت به منطقه آسمان آباد و مراحل رشدی ظهور ساقه و ظهور بذر بیشترین مقدار را دارا است. زمانی که گیاهان در برابر تنش‌های محیطی همچون کمبود مواد مغذی، اشعه ماورای بنفش، دما، حمله پاتوژن‌ها، ارتفاع و آسیب‌های

و فلاونوئید کل گیاه و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دست آورده‌اند [۸]. نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج مطالعات Toncer و همکاران [۹]، و Nikkhah Amirabad و همکاران [۷] بر روی گونه *Ferulago anagulata* همسو می‌باشد که وجود رابطه بین میزان ترکیبات سازنده اسانس را با مراحل تکوینی گیاه تأیید می‌نماید. هر چند در تحقیقات ذکر شده به آب و هوا اشاره‌ای نگردیده است، اما در تحقیق حاضر می‌توان بیان کرد که با افزایش دما (در آب و هوای گرم‌تر)، تنش‌های محیطی بالاتر سبب افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بالطبع میزان فنول و فلاونوئید کل می‌گردد. هم‌چنین، در مطالعات متعددی نشان داده شده است که مقادیر متابولیت‌های ثانویه به مرحله رشدی گیاهان بستگی دارد. Jakovljević و همکاران گزارش دادند که مقدار فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه *Chelidonium majus* L. به مرحله فنولوژیکی گیاه بستگی دارد [۱۰]. Naghiloo و همکاران طی مطالعاتی بر روی *Astragalus compactus* بیان کردند که مقادیر ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره این گیاه، به مرحله نموی گیاه بستگی داشته و بالاترین مقادیر در مرحله میوه‌دهی دیده می‌شود. هم‌چنین، مقادیر ترکیبات فنولی به شدت وابسته به شرایط محیطی همچون دما و تابش خورشید می‌باشد [۱۱]. در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری بین محتوای فنول و فلاونوئیدی کل نمونه‌ها در دو منطقه با تفاوت از نظر آب و هوایی و مراحل مختلف رشدی مشاهده شد. نتایج بالا تأیید

اندامهای گیاه، شرایط آب و هوایی و همچنین خصوصیات رویشگاه و غیره تغییر نماید، پیشنهاد می گردد مطالعات مقایسه ای بررسی فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی و نیز بررسی ترکیبات شیمیایی جمعیت های مختلف این گونه گیاهی در رویشگاه ها و شرایط آب و هوایی متنوع تری در سطح کشور انجام گیرد تا سبب شناخت بیشتر و استفاده های کاربردی تر از فرآورده های گیاه خارخاسک گردد.

نتیجه گیری

بین میزان فنول و فلاونوئید کل در گیاه دارویی خارخاسک، و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آن رابطه مستقیمی وجود داشت که این مقادیر در مرحله نموی گلدهی رویشگاه مهران بیشتر از رویشگاه آسمان آباد و سایر مراحل نموی می باشد. در مجموع می توان این مرحله نموی و رویشگاه واقع در منطقه گرم تر را به عنوان زمان و مکان مناسب تر برای جمع آوری گیاه دارویی خارخاسک توصیه نمود.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از زحمات مهندس نادر کردی از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی ایلام که در جمع آوری و بررسی نمونه های گیاهی همکاری داشته اند کمال تشکر را داریم.

فیزیکی قرار می گیرند، با شیوه های متفاوتی در برابر این تنش ها واکنش نشان می دهند که این اختلاف به علت تفاوت در ژنتیک آن ها است [۹]. اغلب گیاهان با قرارگیری در برابر این عوامل محیطی تنش زا، تولید میزان ترکیبات فنولی را در خود افزایش می دهند و از آن جایی که ترکیبات فنولی یکی از انواع آنتی اکسیدان های مهم طبیعی به شمار می روند، برای جامعه انسانی دارای اهمیت می باشند. با توجه به این که در محیط های طبیعی مجموعه ای از عوامل می توانند بر تولید این ترکیبات در گیاهان مؤثر باشند، به نظر می رسد بالا بودن میانگین دما و باز بودن منطقه مهران و دریافت شدت نور زیاد می تواند از دلایل اصلی میزان فنول و فلاونوئید گیاه خارخاسک در این رویشگاه باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بهترین مرحله جهت دارا بودن بیشترین خواص آنتی اکسیدانی این گیاه مرحله رشدی گلدهی می باشد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان مرحله گلدهی رویشگاه مهران را با دارا بودن میزان فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر را به عنوان مرحله رشدی و رویشگاه مناسب تر برای جمع آوری این گیاه معرفی نمود.

با توجه به این که عملکرد آنتی اکسیدانی گونه های مختلف گیاهان با خواص دارویی می تواند متأثر از مراحل بلوغ،

References

[1] Khalil N, El-Jalel L, Yousif M, Gonaïd M. Altitude impact on the chemical profile and biological activities of *Satureja thymbra* L. essential oil. *BMC Complement Med Ther* 2020; 20(186): 1-11.

[2] Laxa M, Liebthal M, Telman W, Chibani K, Dietz K. The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. *Antioxidants* 2019; 8(4): 94.

- [3] Sadowska-Bartosz I, Bartosz G. Evaluation of The Antioxidant Capacity of Food Products: Methods, Applications and Limitations. *Processes* 2022; 10(10): 1-23.
- [4] Zhu W, Du Y, Meng H, Dong Y, Li L. A review of traditional pharmacological uses, phytochemistry and pharmacological activities of *Tribulus terrestris*. *Chem Cent J* 2017; 11(60): 1-16.
- [5] Parsaei E, Esfandiari A, Dehghan A. Survey the *Tribulus terrestris* effects on histomorphometrical changes of the testis induced by ethanol administration in male wistar rat. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(9): 765-74. [Farsi]
- [6] Azizian Shermeh O, Taherizadeh M, Valizadeh M, Qasemi A. Robial and antioxidant activities and determining phenolic and flavonoid contents of the extracts of five species from different families of the medicinal plants grown in Sistan and Baluchestan Province. *JFUMS* 2018; 7(4): 465-79. [Farsi]
- [7] Nikhkhah Amirabad H, Hosseini B, Fattah M, Gosta Y. Effect of altitude and different phonological stages on essential composition and antioxidant activity of *Ferula angulata* (Schlecht.) Boiss from Dena altitudes. *Eco-phytochem J Med Plant* 2017; 5(1): 16-29. [Farsi]
- [8] Kamali M, Khosroyar S, Jalilvand M. Evaluation of phenolic, flavonoids, anthocyanin contents and antioxidant capacities of different extracts of aerial parts of *Dracocephalum kotschyi*. *JNKUMS* 2014; 6: 627-34. [Farsi]
- [9] Toncer O, Karaman S, Diraz E. An annual variation in essential oil composition of *Origanum syriacum* from Southeast Anatolia of Turkey. *J Med Plant Res* 2010; 11: 1059-64.
- [10] Jakovljević ZD, Stanković SM, Topuzović DM. Seasonal variability of *Chelidonium majus*. Secondary metabolites content and antioxidant activity. *Exp Clin Sci J* 2013; 12: 260-8.
- [11] Naghiloo S, Movafeghi A, Delazar A, Nazemiyeh H, Asnaashari S, Dadpour MR. Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* lam. (Fabaceae). *EXCLIJ* 2012; 11: 436-43.
- [12] Martz F, Jaakola L, Julkunen-Tiitto R, Stark S. Phenolic composition and antioxidant capacity of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) leaves in northern Europe following foliar development and along environmental gradients. *Chem Ecol* 2010; 36: 1017-28.
- [13] Peniche-Pavía HA, Guzmán TJ, Magaña-Cerino JM, Gurrola-Díaz CM, Tiessen A. Maize flavonoid biosynthesis, regulation, and human health relevance: A review. *Molecules* 2022; 27: 1-29.

Determination of Total Phenolic and Flavonoid Contents, and Antioxidant Capacity of Methanolic Extract of *Tribulus Terrestris* at Three Developmental Stages:

A Short Report

Zahra Baghaeifar¹, Hamid Darvishnia², Jafar Tamri³, Shahriar Saeedian¹

Received: 26/11/22 Sent for Revision: 07/01/23 Received Revised Manuscript: 20/06/23 Accepted: 1/06/23

Background and Objectives: *Tribulus terrestris* is one of the medicinal plants. The aim of this study was to determine the amount of total phenol and flavonoid, and antioxidant activity in different developmental stages of the aerial parts of two populations of *T. terrestris*.

Materials and Methods: The present laboratory study was conducted in 2021 in two habitats, warm and cold climate, in Ilam Province. The amount of total phenol, the total flavonoid content, and the antioxidant activity of the methanolic extract of the aerial parts of the plants were measured and expressed as IC₅₀ (The half-maximal inhibitory concentration). Data were analyzed using one-way analysis of variance.

Results: The highest and the lowest total phenol and flavonoid contents were obtained respectively in the flowering stage of warmer climate and the stem emergence stage of colder region. The highest and the lowest antioxidant activity were respectively related to the flowering and the stem emergence stages of Mehran and Asmanabad habitats.

Conclusion: The flowering stage of Mehran tropical habitat had the highest content of total phenol, total flavonoid, and antioxidant activity.

Key words: *Tribulus terrestris*, Antioxidant capacity, Extract, Phenolic compounds, Ilam province

Funding: This study did not have any funds.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: Not applicable.

How to cite this article: Baghaeifar Zahra, Darvishnia Hamid, Tamri Jafar, Saeedian Shahriar. Determination of Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Capacity of Methanolic Extract of *Tribulus Terrestris* at Three Developmental Stages: A Short Report. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2023; 22 (4): 419-28. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Assistant Prof., Dept. of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-7548-3030

(Corresponding Author) Tel: (084) 32221052, Fax: (084) 32228313, E-mail: darvishnia_h@pnu.ac.ir

3- MSc in Plant Biology, Dept. of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran