

بررسی فلاونولیگنان‌ها در اندام‌های مختلف گیاه خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) در منطقه گرگان

هاجر کردی^۱، مهناز اقدسی^{۲*} و مهناز خلفی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، پست الکترونیک: m.aghdasi@gu.ac.ir

۳- استادیار، گروه آمار، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۰

چکیده

خارمریم با نام علمی *Silybum marianum* (L.) Gaertn گیاهی یک یا دو ساله از خانواده کاسنی است که در صنایع داروسازی اهمیت فراوان دارد. ترکیب‌های مؤثره این گیاه گروهی از فلاونولیگنان‌ها شامل سیلی‌بین، ایزوسیلی‌بین، سیلی کریستین، سیلی‌دیانین و تاکسی‌فولین بوده که مجموعاً به‌عنوان سیلی‌مارین شناخته می‌شوند. این گیاه در درمان انواع بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت، چربی خون، بیماری‌های کبدی (زردی، سیروز و آماس کبدی) و بیماری‌های کیسه صفرا و ... مؤثر است. در این تحقیق اندام‌های مختلف گیاه خارمریم شامل برگ جوان، برگ مسن، ساقه، ریشه، گل‌آذین و بذر در طی ماه‌های مختلف در منطقه گرگان به‌طور جداگانه جمع‌آوری و میزان فلاونوئید کل، سیلی‌مارین و اجزای تشکیل‌دهنده سیلی‌مارین به روش HPLC اندازه‌گیری شد. نتایج بدست‌آمده نشان داد که بیشترین مقدار فلاونوئید کل در بذر و گل‌آذین و پس از آن در ساقه‌های گیاه وجود دارد. همچنین این نتایج نشان داد که اثر زمان بر میزان فلاونوئید و نیز اثر متقابل دو عامل ماه برداشت و نوع اندام در گیاه خارمریم بر میزان فلاونوئیدهای این گیاه معنی‌دار است. داده‌های حاصل از آنالیز دستگاه HPLC نشان داد که نوع ترکیب‌های سازنده سیلی‌مارین در نمونه‌های مورد بررسی مشابه بوده و اختلاف اساسی آنها در مقدار فلاونولیگنان‌های سازنده آنهاست. در بین ترکیب‌های سازنده سیلی‌مارین، مقدار سیلی‌دیانین در ساقه‌های گیاه بیشتر بوده، در صورتی‌که مقدار سایر اجزا در بذر بیشتر بود. در مجموع نتایج حاضر نشان می‌دهد که گرگان منطقه مناسبی برای کشت گیاه خارمریم بوده و با توجه به اینکه ساقه گیاه نیز حاوی مقادیر قابل توجهی از سیلی‌مارین است می‌تواند به‌عنوان منبع مناسب در تولید ماده دارویی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn)، سیلی‌مارین، سیلی‌بین، دارویی، HPLC.

مقدمه

روزت روی زمین قرار می‌گیرند. گل‌های این گیاه لوله‌ای و بنفش رنگ هستند. میوه تخم‌مرغی شکل و رنگ آن عموماً قهوه‌ای تیره است (قهرمان، ۱۳۶۲). هر گل‌آذین که حدود ۱۰۰ دانه دارد و هر گیاه بین ۱۰ تا ۱۵ گل‌آذین

خارمریم گیاهی یک یا دو ساله از خانواده کاسنی است که در آب و هوای گرم با خاک سبک شنی می‌روید. برگ‌ها پهن و شکننده بوده و در اوایل رویش به شکل

را کاهش داده و رشد تومورهای پروستات انسانی را کم می‌کند (Demark-Wahnefried *et al.*, 2004). همچنین، تحقیقات دیگری نشان داده که این گیاه در درمان انواع بیماریهای کبدی، قلبی، سرطان و غیره مؤثر است (Dermarderosian, 2001؛ Osuchowski *et al.*, 2004؛ Venkataramanan *et al.*, 2000).

خارمریم گیاه ارزشمندی است که تاکنون توجه محققان زیادی را به خود جلب کرده است. نتایج مطالعات انجام شده نشان داده که تنش‌های محیطی مانند شوری بر میزان مواد دارویی این گیاه مؤثر است و با افزایش شوری میزان این مواد (میزان سیلی‌بین) روند صعودی داشته، اما به دلیل کاهش عملکرد بذر در شوری‌های بالاتر، میزان عملکرد سیلی‌بین کاهش می‌یابد (شریفی، ۱۳۸۶). مطالعات بیشتر بر روی بهینه‌سازی روش استخراج این ماده ارزشمند نیز نشان داده که متانول بیشترین اثر را در استخراج سیلی‌مارین دارد و به ترتیب بعد از متانول، استن و استونیتریل جزء بهترین حلال‌ها می‌باشد (ضیایی و همکاران، ۱۳۸۳). همچنین نشان داده شده که رابطه مثبت و معنی‌داری بین طول ساقه اصلی با قطر کپه در هر گیاه، تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد کپه در هر گیاه و وزن هزاردانه با مقدار سیلی‌مارین استخراج شده وجود دارد. نتایج تحقیقات دیگر در این زمینه نیز نشان داده که عوامل محیطی محل رویش گیاه خارمریم ضمن تأثیر بر ویژگی‌های رویشی بر مقدار کمی و کیفی فلاونولیگنان‌ها نیز تأثیر می‌گذارند (امیدبیگی، ۱۳۷۷؛ حسنلو و همکاران، ۱۳۸۶). نتایج حاصل از آنالیز اسپکتروفتومتری بذرهای جمع‌آوری شده از استان‌های مازندران، فارس، خوزستان و بوشهر نشان داده که بالاترین مقدار سیلی‌مارین در بذرهای جمع‌آوری شده در ناحیه ولشت مازندران و بعد

ایجاد می‌نماید. خارمریم بومی اروپای غربی، مرکزی و شمال هند است و امروزه به‌طور خودرو در اروپای جنوبی، افریقا، چین و استرالیا، امریکای جنوبی و آسیا می‌روید (Yanive & Palevitch, 1982). در ایران این گیاه در مناطق مختلفی مثل گنبدکاووس، بین‌گراگان-نوده، کلاردشت، دره هزار، دشت مغان، شوش، حمیدیه، رامهرمز، ایذه و کازرون پراکندگی دارد (فلاح‌حسینی و همکاران، ۱۳۸۳). در میوه‌های خارمریم فلاونوئیدهای مختلفی ساخته و ذخیره می‌شود که مقدار آن متفاوت بوده و به شرایط اقلیمی محل رویش و نوع گیاه بستگی دارد (امیدبیگی، ۱۳۸۸ ب).

سیلی‌مارین حاوی گروهی از ترکیب‌های فلاونوئیدی است که در آب غیرمحلول و در الکل محلول هستند و شامل: سیلی‌بین آ و ب، سیلی‌دیانین، سیلی‌کریستین، و دی‌اکسی سیلی‌دیانین است. عصاره دانه خشک گیاه دارای ۱٪ تا ۴٪ سیلی‌مارین است. ترکیب اصلی سیلی‌مارین سیلی‌بین است و بیشتر خواص بیولوژیکی سیلی‌مارین وابسته به حضور این ترکیب است (حسنلو و همکاران، ۱۳۸۶؛ Cacho *et al.*, 1999). ترکیب‌های فوق از نظر ساختمانی با یکدیگر ایزومر بوده و دارای فرمول $C_{25}H_{22}O_{10}$ و وزن مولکولی ۴۸۲/۴۲ می‌باشند. تاکسی‌فولین که از ترکیب فلاونوئیدی نارینجین مشتق می‌شود، پیش‌ساز در مسیر بیوسنتز سیلی‌بین است (Cao *et al.*, 1996).

تحقیقات نشان داده است که ۸۰٪ فلاونوئیدهای این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانته داشته و برای تنظیم متابولیسم بدن مفید هستند (Dicenzo *et al.*, 2003؛ Geleijnse *et al.*, 2002). بررسی‌های انجام شده در زمینه درمان سرطان پروستات نشان داده که سیلی‌مارین قابلیت تکثیر سلول‌ها

تمامی حلال‌های مورد استفاده و نیز سیلی‌مارین و سیلی‌بین استاندارد از شرکت مرک خریداری شدند.

سنجش فلاونوئید کل در گیاه

یک گرم از هر نمونه در ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. در طول مدت خیساندن در فواصل زمانی معین نمونه‌ها توسط شیکر همزده شد و بعد عصاره‌ها صاف و جدا شدند. رسوب باقیمانده بر روی صافی بار دیگر با حلال به مدت یک شبانه‌روز با همان شرایط قبلی عصاره‌گیری گردید. این عصاره به عصاره اولیه اضافه شده و بعد حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه تقطیر در خلأ تبخیر گردید. اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل براساس روش کلریمتری آلومینیوم کلراید و در طول موج ۴۱۵ نانومتر انجام شد (Chia-Chi et al., 2002; Mabry et al., 1970; Marinova et al., 2005). برای تعیین مقدار فلاونوئید کل از منحنی استاندارد کوئرستین استفاده شد.

رسم منحنی استاندارد کوئرستین

برای رسم منحنی استاندارد، محلول مادر با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با متانول ۸۰٪ از کوئرستین تهیه شد. سپس مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ میکرولیتر از این محلول با متانول ۸۰٪ به حجم ۵۰۰ میکرولیتر رسانیده شد و به هر یک از محلول‌ها ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط حاصل به خوبی همزده شد و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری گردید. سپس جذب محلول‌ها

از آن در بذره‌های منطقه برازجان دیده می‌شود (حسنلو و همکاران، ۱۳۸۶). آنالیز HPLC عصاره‌های بذری اکوتیپ‌های مختلف جمع‌آوری شده از مناطق کرمانشاه، اصفهان، گیلان و مازندران نشان داده که نمونه‌های جمع‌آوری شده از طبیعت سیلی‌مارین کل کمتری از نمونه‌های کشت شده در شرایط مزرعه دارند اما میزان سیلی‌کریستین، سیلی‌یادین و ایزوسیلی‌بین در عصاره بذره‌های جمع‌آوری شده از طبیعت بالاتر می‌باشد (Rajabian et al., 2008).

با وجود آنکه استان گلستان شرایط مناسبی برای رویش این گیاه دارد اما تاکنون در این منطقه تحقیقی بر روی گیاه خارمریم تحقیقی انجام نشده‌است. در تحقیق حاضر سعی شده تا میزان و نوع ترکیب‌های سازنده سیلی‌مارین در بخش‌های مختلف گیاه خارمریم طی ماه‌های مختلف در منطقه گرگان مورد بررسی قرار گرفته و مقایسه‌ای بین نوع و میزان ترکیب‌های سازنده این گیاه در گرگان با سایر نقاط بررسی شده در کشور انجام شود.

مواد و روشها

نمونه‌برداری با شروع رشد رویشی گیاه یعنی در طی ماه‌های مهر تا اردیبهشت ماه سال بعد به‌طور ماهیانه انجام شد. در هر بار نمونه‌برداری بخش‌های مختلف گیاه شامل ریشه، برگ جوان (برگ اول و دوم)، برگ مسن (برگ پنجم و ششم) و در فصل زایشی، ساقه، گل‌آذین و دانه به‌طور جداگانه جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در دمای محیط، دور از نور مستقیم خورشید خشک شده و توسط آسیاب پودر شده و بعد سنجش‌های لازم بر روی آنها انجام شد.

4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Quaglia et al., 1999).

رسم منحنی استاندارد سیلی‌مارین

برای رسم منحنی استاندارد سیلی‌مارین محلول پایه‌ای با غلظت 0/7 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و بعد محلول‌هایی با غلظت‌های 0/35، 0/175 و 0/087 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آن تهیه شد. سپس منحنی استاندارد براساس مقادیر مختلف سیلی‌مارین رسم شد.

اندازه‌گیری فلاونولیگنان‌های عصاره متانولی گیاه

خارمریم به روش HPLC

دستگاه HPLC مورد استفاده در این تحقیق از نوع Merck Hitachi ساخت کشور ژاپن با آشکارساز UV/VIS، دتکتور Diode Array، پمپ L-7100 Merck Hitachi و نرم‌افزار EZ chrome بوده است. برای انجام عملیات آنالیز، 20 میکرولیتر از محلول سیلی‌مارین و سیلی‌بین استاندارد و عصاره نمونه‌های گیاهی به دستگاه تزریق شدند. از متانول و آب و با جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده شد. نمونه‌ها پس از عبور از ستون 5 Nucleosil C₁₈ μ (5x250) در طول موج 288 نانومتر اندازه‌گیری شدند. شکل 1 کروماتوگرام محلول متانولی سیلی‌مارین استاندارد را نشان می‌دهد. در این کروماتوگرام هفت پیک مشاهده شد که هر یک از آنها نشان‌دهنده یکی از ترکیب‌های فلاونولیگنان موجود در سیلی‌مارین خالص می‌باشد. شکل 2 کروماتوگرام محلول متانولی سیلی‌بین خالص را نشان می‌دهد.

در طول موج 415 نانومتر اندازه‌گیری شد؛ و از لوله آزمایش فاقد کوئرتستین به‌عنوان شاهد استفاده شد. منحنی استاندارد براساس مقادیر مختلف کوئرتستین و مقادیر جذب بدست آمده رسم گردید.

تهیه عصاره گیاهی

0/25 گرم از نمونه‌های گیاهی وزن شده و به هر یک از آنها 25 مقدار میلی‌لیتر متانول 80٪ اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت دو روز توسط شیکر همزده شد و بعد نمونه‌ها با کاغذ صافی صاف شدند؛ به باقیمانده 25 میلی‌لیتر دیگر متانول 80٪ اضافه شد و بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از 24 ساعت نمونه‌ها با همان شرایط قبلی عصاره‌گیری شدند و به عصاره اولیه اضافه شدند. هر یک از عصاره‌ها توسط دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ شد. عصاره‌های تغلیظ شده برای تزریق به دستگاه HPLC توسط فیلترهای سرنگی با قطر 0/2 میکرومتر صاف شدند.

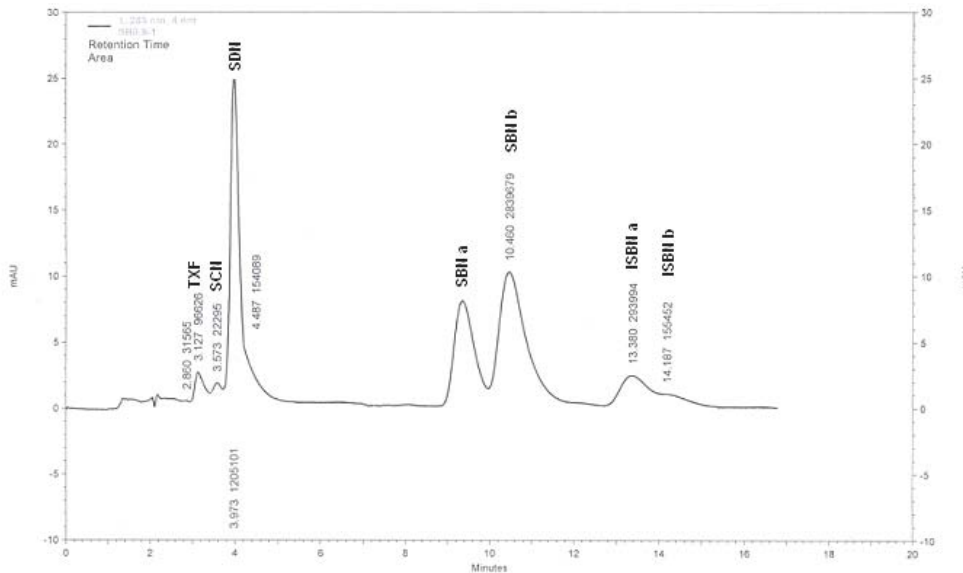
استخراج فلاونولیگنان‌ها از دانه‌های گیاه خارمریم

مقدار 3 گرم از دانه‌های گیاه خارمریم آسیاب شده و بعد به مدت 10 ساعت در حلال پترولیوم اتر در سوکسله روغن‌گیری شد. پس از جداسازی روغن، نمونه‌ها کاملاً خشک شده و به مدت 16 ساعت با استفاده از متانول جهت استخراج سیلی‌مارین در دستگاه سوکسله قرار گرفتند. محلول متانولی زرد رنگ حاصل به مدت 5 ساعت در دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از تبخیر متانول پودر زرد رنگی بدست آمد. پودر حاصل با متانول به حجم 50 میلی‌لیتر رسانده شد و برای بررسی کیفی و کمی فلاونولیگنان‌ها در شرایط تاریکی و دمای

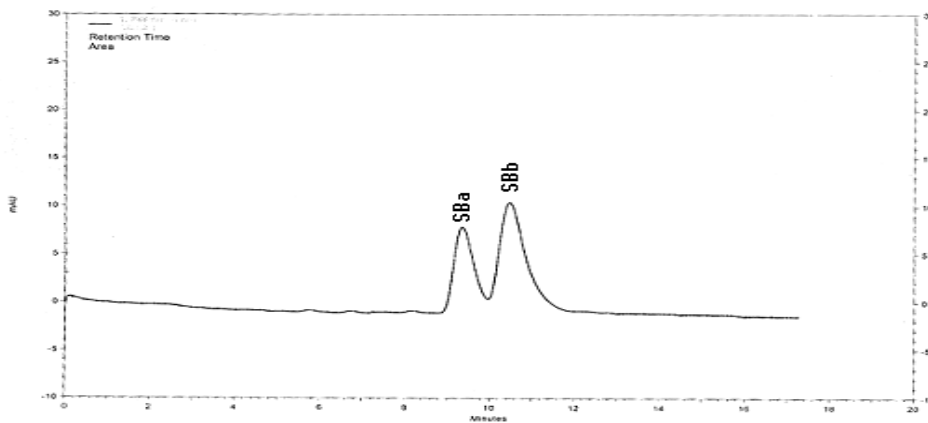
آنالیز آماری

دانکن در سطح احتمال ۰.۵٪ به وسیله نرم افزار SAS و رسم نمودارها و جدولها توسط نرم افزار Excel انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از Lsmeans، آزمون



شکل ۱- کروماتوگرام عصاره متانولی سیلی مارین خالص



شکل ۲- کروماتوگرام عصاره متانولی سیلی بین خالص

نتایج

مشخصات جغرافیایی منطقه گرگان

می باشد. ارتفاع شهر از سطح دریا ۱۶۰ متر است. اطلاعات هواشناسی این منطقه در ماه‌های مهر تا اسفند ۸۷ و فروردین و اردیبهشت ۸۸ از سایت اداره هواشناسی گرگان بدست آمد (جدول ۱). بر طبق این

گرگان دارای طول جغرافیایی ۵۴/۲۶، عرض جغرافیایی ۳۲/۵ و ارتفاع از سطح دریای ۱۶۰ متر

بررسی فنولوژی گیاه

بررسی فنولوژیک گیاه در منطقه گرگان نشان داد که شروع رشد از اوایل مهرماه بوده و مرحله رویشی تا اواخر اسفند ادامه دارد. زمان بذردهی از اواسط اردیبهشت تا اوایل خرداد می‌باشد.

جدول بیشترین میزان بارش در ماه مهر و کمترین آن در ماه دی بوده است. حداکثر دما در ماه اردیبهشت و حداقل دما در ماه دی بوده است. میزان رطوبت نسبی نیز در ماه بهمن بالاترین رقم را به خود اختصاص داده است.

جدول ۱- اطلاعات هواشناسی شهرستان گرگان در سال ۸۷ و ۸۸

ماه‌ها	بارش (mm)	میانگین دما (°C)	حداکثر دما	حداقل دما	درصد رطوبت نسبی	تبخیر (mm)
مهر	۱۱۲/۱	۲۱/۸	۲۶/۹	۱۶/۸	۷۲	۱۰۰/۳
آبان	۳۶/۵	۱۴	۱۸/۶	۹/۴	۷۳	۴۰/۲
آذر	۵۱/۲	۱۰/۸	۱۰/۵	۶/۲	۷۶	۲۵/۷
دی	۱۵	۶/۷	۲۲/۴	-۲/۶	۷۴	۳۰/۱
بهمن	۱۱۲/۱	۹/۵	۲۳/۶	-۰/۶	۸۰	۳۲/۵
اسفند	۱۳/۴	۱۲/۱	۳۱/۴	۱	۷۴	۵۵/۷
فروردین	۶۳/۲	۱۲/۶	۲۹/۴	-۱	۷۵	۵۳/۵
اردیبهشت	۲۹/۸	۱۸/۸	۳۳/۲	۵/۴	۷۲	۱۱۱

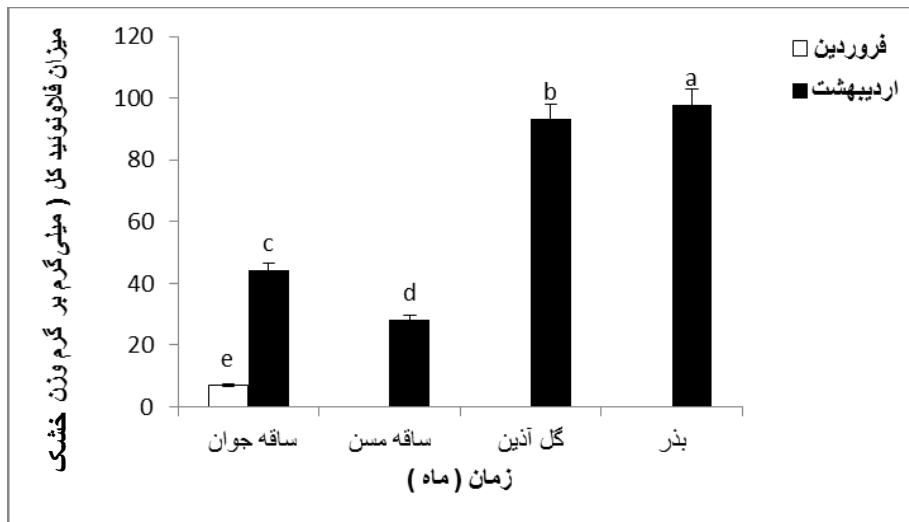
بررسی میزان فلاونوئید کل بخش‌های مختلف گیاه در ماه‌های مختلف

در این بررسی مقدار فلاونوئید کل بخش‌های مختلف گیاه شامل ریشه، برگ جوان و برگ مسن در ماه‌های رویشی و ساقه، گل‌آذین و بذر در ماه‌های زایشی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که اثر زمان بر میزان فلاونوئید در قسمت‌های مختلف گیاه معنی‌دار می‌باشد. نتایج حاصل از مقایسه اثر متقابل دو عامل نوع اندام و ماه‌های مختلف برداشت بر میزان فلاونوئید کل نشان داد که بالاترین مقدار فلاونوئید کل در بذر گیاه وجود دارد ($24/96 \text{ DW mg g}^{-1}$) و کمترین مقدار آن در ساقه‌های جوان ماه فروردین ($1/82 \text{ DW mg g}^{-1}$) مشاهده شده است.

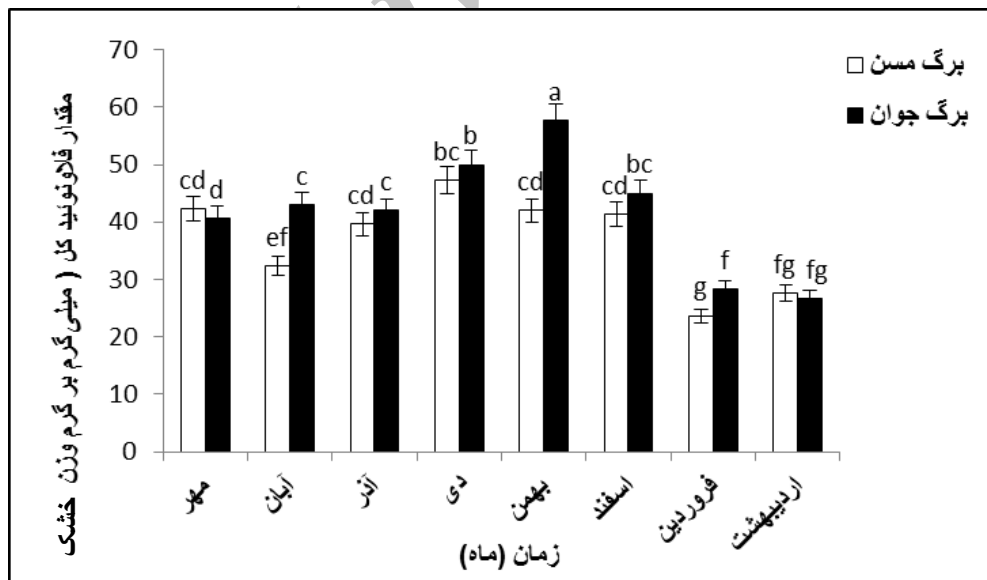
(شکل ۳). البته در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از ماه‌های مختلف نمونه برگ‌های جوان ماه آبان و آذر و برگ‌های مسن ماه‌های مهر، آذر، بهمن و اسفند از نظر میزان فلاونوئید کل در یک گروه قرار می‌گیرند. نمونه‌های برگ‌های جوان ماه اسفند و برگ‌های مسن ماه دی نیز اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. همچنین برگ‌های جوان و مسن ماه اردیبهشت و برگ‌های جوان ماه فروردین از نظر آماری در گروه دیگر قرار می‌گیرند. در بین برگ‌های جوان و مسن بیشترین مقدار فلاونوئید کل در برگ‌های جوان ماه بهمن ($15/37 \text{ DW mg g}^{-1}$) و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن ماه فروردین (DW mg g^{-1}) مشاهده شده است (شکل ۴). بررسی میزان

مربوط به نمونه اردیبهشت است. به طور کلی مقدار فلاونوئید کل در ریشه گیاه کمتر از سایر اندام‌های گیاه بوده، بجز نمونه برداشت شده ماه فروردین که مقدار آن در ریشه بیشتر از دیگر قسمت‌های گیاه است (شکل ۵).

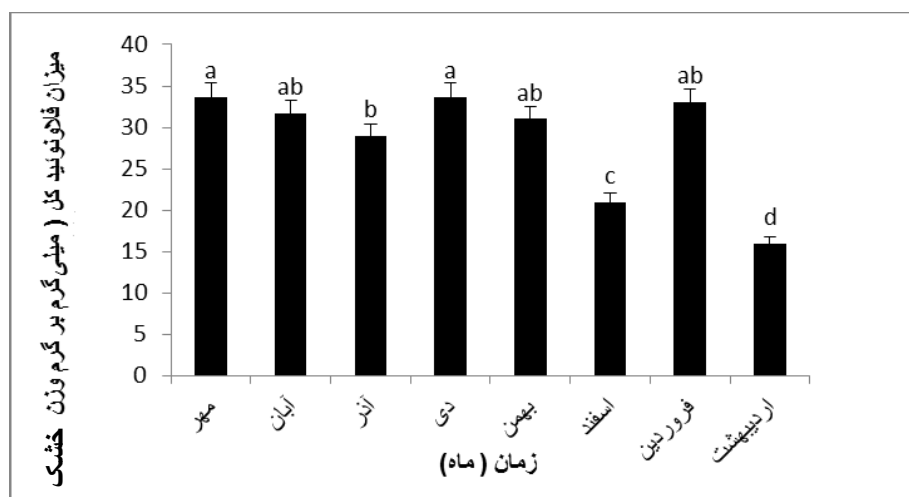
فلاونوئید کل در اندام ریشه طی ماه‌های مختلف نشان داد که مقدار این ماده در ماه‌های مختلف برداشت بین ۴ تا ۸/۵۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاه متغیر بوده و بالاترین مقدار آن مربوط به نمونه دی و کمترین مقدار



شکل ۳- مقایسه میزان فلاونوئید کل در اندام‌های زایشی گیاه خارمریم در ماه‌های فروردین و اردیبهشت (هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها \pm انحراف معیار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح ۰/۵ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).



شکل ۴- مقایسه میزان فلاونوئید کل در برگ‌های جوان و مسن گیاه خارمریم در طی ماه‌های مختلف (هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها \pm انحراف معیار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح ۰/۵ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).



شکل ۵- مقایسه میزان فلاونوئید کل در ریشه گیاه خارمریم در طی ماه‌های مختلف

(هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها \pm انحراف معیار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.)

فلاونولیگنانی در برگ‌های مسن از بیشترین مقدار نیز برخوردار بودند. البته برگ‌های جوان و ریشه از نظر مقدار ترکیب‌های سیلی‌مارین تفاوتی با هم نداشتند و در یک گروه قرار می‌گیرند (جدول ۲).

ماه بهمن

در نمونه‌های مختلف برداشت ماه بهمن بالاترین مقدار سیلی‌مارین کل در برگ‌های جوان مشاهده شد ($3/182^1$ DW mg g⁻¹) و کمترین مقدار سیلی‌مارین کل در برگ‌های مسن و ریشه مشاهده شد ($0/316^1$ DW mg g⁻¹ و $0/249$). همچنین بررسی اجزای سیلی‌مارین نشان داد که بیشترین مقدار تاکسی‌فولین در برگ‌های مسن وجود داشته و مقدار این ترکیب در برگ‌های جوان و ریشه تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. برگ‌های جوان از سیلی‌دیانین بیشتری نسبت به دو اندام دیگر برخوردار بودند ($1/150$ mg g⁻¹ DW). به‌طوری که مقدار فلاونولیگنان‌های سیلی‌کریستین، سیلی‌بین آ و ب در هر سه اندام تفاوتی را با یکدیگر نشان نداده‌است.

بررسی کمی و کیفی و فلاونولیگنان‌های اندام‌های مختلف گیاه خارمریم

از آنجا که بالاترین میزان فلاونوئید کل در نمونه‌های برداشت شده در ماه دی، بهمن و اردیبهشت دیده شده است، عصاره نمونه‌های گیاهی مربوط به این ماه‌ها توسط دستگاه HPLC آنالیز و نوع و مقدار ترکیب‌های فلاونولیگنان موجود در این نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

ماه دی

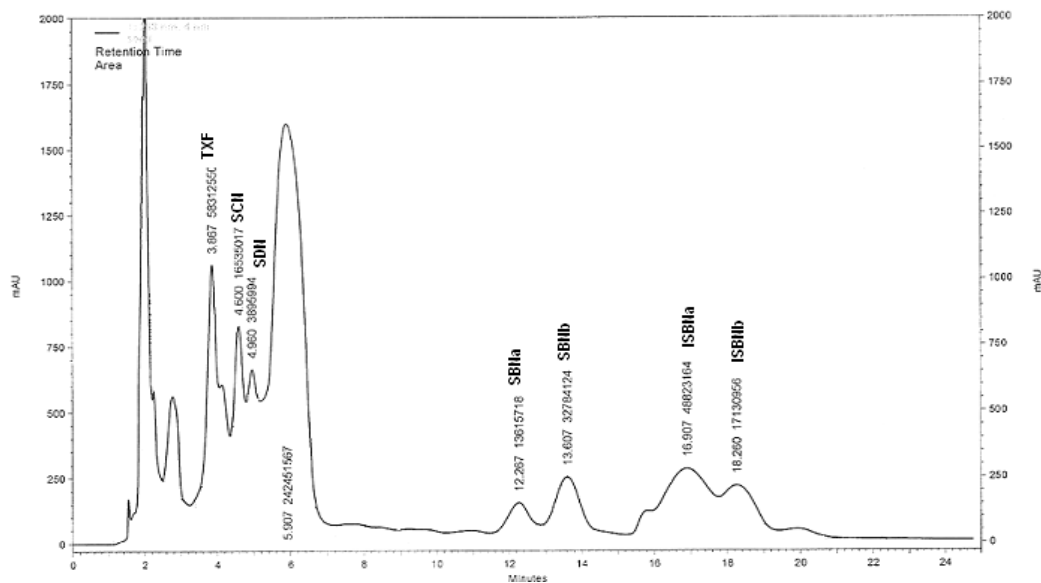
در نمونه‌های مختلف برداشت ماه دی بالاترین مقدار سیلی‌مارین کل در برگ‌های مسن دیده شده است ($9/996$ mg g⁻¹ DW). در حالی که میزان سیلی‌مارین کل در برگ‌های جوان و ریشه تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند ($3/075$ و $2/065$ DW mg g⁻¹). بررسی اجزای سازنده سیلی‌مارین نیز نشان داد که در برگ‌های مسن بیشترین مقدار تاکسی‌فولین و در برگ‌های جوان کمترین مقدار آن وجود دارد. همچنین سایر ترکیب‌های

^۱ (۴/۷۳۳). پس از بذر گل آذین، ساقه‌های مسن و برگ‌های جوان از سیلی کریستین بیشتری برخوردار بودند. کمترین مقدار این ترکیب در ساقه‌های جوان دیده شده است. بررسی فلاونولیگنان سیلی دیانین نشان داد که بالاترین مقدار آن در ساقه‌های مسن ($11/6 \text{ DW mg g}^{-1}$) و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن و ریشه وجود دارد. بالاترین مقدار سیلی بین آ در بذر دیده شده است ($3/58 \text{ DW mg g}^{-1}$). مقدار سیلی بین آ در گل آذین، ساقه‌های جوان و مسن تفاوتی را با هم نشان نداد و از سایر اندام‌ها بیشتر بود. همچنین بیشترین مقدار سیلی بین ب در بذر ($5/84 \text{ DW mg g}^{-1}$) و کمترین مقدار آن در گل آذین ($0/199 \text{ DW mg g}^{-1}$) مشاهده شد. ساقه‌های مسن نیز از مقدار بالایی سیلی بین ب برخوردار بودند. سایر اندام‌ها از نظر مقدار این ترکیب تفاوتی با هم نداشتند. بررسی دو فلاونولیگنان ایزوسیلی بین آ و ب نشان داد که بیشترین مقدار این دو ترکیب در بذر و کمترین مقدار آنها در ریشه وجود دارد. بنابراین در ساقه‌های مسن نیز مقادیر بالایی از این ترکیب‌ها دیده شد (جدول ۲).

البته بیشترین مقدار ایزوسیلی بین A و B نیز در برگ‌های مسن مشاهده شد (جدول ۲).

ماه اردیبهشت

در نمونه‌های مختلف برداشت ماه اردیبهشت بالاترین مقدار سیلی مارین کل در نمونه بذر ($32/779 \text{ DW mg g}^{-1}$) و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن و ریشه (2 DW mg g^{-1}) مشاهده شده است (شکل ۶ و جدول ۲). همچنین ساقه‌های مسن و گل آذین نیز نسبت به سایر بخش‌ها از سیلی مارین بیشتری برخوردار بودند (2 DW mg g^{-1} و $17/833$). بررسی اجزای سیلی مارین در نمونه‌های این ماه نشان داد که بیشترین مقدار تاکسی فولین در بذر ($2/3 \text{ DW mg g}^{-1}$) و بعد در ساقه‌های مسن ($2/285$) وجود داشته و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن دیده شده است. مقدار این ترکیب در گل آذین، ساقه‌های جوان و برگ‌های جوان تفاوتی را نشان نداد. البته بیشترین مقدار سیلی کریستین در بذر مشاهده شد (2 DW mg g^{-1}).



شکل ۶- کروماتوگرام عصاره متانولی نمونه بذر

جدول ۲- نوع و میزان فلاونولیگنانهای سازنده (mg/g) اندام‌های مختلف گیاه خارمریم

ماهها	نمونه	تاکسی فولین	سیلی کریستین	سیلی دیانین	سیلیبین آ	سیلیبین ب	ایزو سیلیبین آ	ایزو سیلیبین ب	سیلیمارین
	برگ مسن	۰/۰۰۵±۲/۷۳	۰/۰۰۱±۱/۰۶	۰/۰۰۰۵±۰/۸۸۶	۰/۰۱±۰/۵۲	۰/۰۲±۰/۷۸۲	۰/۰۴۶±۰/۹۳۶	۰/۰۲۵±۳/۰۷۵	۰/۰۰۳±۹/۹۹۶
دی	برگ جوان	۰/۰۱±۰/۱	۰/۰۱۷±۰/۸	۰/۰۱۲±۰/۱۸۷	۰/۰۱۷±۰/۰۲۶۷	۰/۰۰۵±۰/۳۵۵	۰/۰۱±۰/۰۰۹	۰/۰۲۶±۰/۲۵۳	۰/۰۰۵±۲/۰۶۵
	ریشه	۰/۰۲۷±۰/۱۸۳	۰/۰۱۲±۰/۷۸۷	۰/۰۱۸±۰/۱۴۲	۰/۰۰۱±۰/۲۶۱	±۰/۰۴	۰/۰۰۲±۰/۱۰۲	۰/۰۰۰۵±۰/۲۵	۰/۸۹±۳/۰۷۵
	برگ مسن	۰/۰۰۸±۰/۲۳۳	۰/۰۲۴±۰/۸۵۴	۰/۰۴۴±۰/۲۳۴	۰/۰۳۹±۰/۲۳۹	۰/۰۰۷±۰/۳۸۳	۰/۰۱۵±۰/۲۳۴	۰/۲۶±۰/۴۳۶	۰/۰۴۹±۲/۶۴
بهمن	برگ جوان	۰/۰۰۳±۰/۱۸۲	۰/۱۴±۰/۶۵	۰/۱±۱/۲۵	۰/۰۷۸±۰/۳۴۲	۰/۰۷۲±۰/۳۰۲	۰/۰۰۶±۰/۱۴۳	۰/۰۰۵±۰/۳۱۶	۰/۰۲۷±۳/۱۸۲
	ریشه	۰/۰۰۷±۰/۱۷۷	۰/۰۰۹±۰/۷۷۹	۰/۰۰۶±۰/۱۸۶	۰/۰۰۵±۰/۲۷۵	۰/۰۰۶±۰/۴۲۶	۰/۰۰۵±۰/۱۴۵	۰/۰۰۹±۰/۲۴۹	۰/۰۴۵±۲/۲۳۵
	برگ مسن	±۰/۲۵	۰/۰۱۱±۰/۷۷۸	۰/۰۱۹±۰/۱۸۱	۰/۰۱۵±۰/۲۷۷	۰/۰۱۶±۰/۳۸۳	۰/۰۲±۰/۱۳	۰/۰۲۶±۰/۳۱۳	۰/۱۱۱±۲/۳۱۱
	برگ جوان	۰/۰۳±۰/۵۰۶	۰/۰۴±۰/۸۵۵	۰/۱۵±۱/۳۵	۰/۰۲۴±۰/۲۷۴	۰/۰۱۱±۰/۴۱۹	۰/۰۳۸±۰/۲۱۱	۰/۰۱۵±۰/۳۳۵	۰/۲۱±۳/۹۴۹
	ریشه	۰/۰۰۶±۰/۲۵۴	۰/۰۰۲±۰/۷۸۲	۰/۰۰۲±۰/۳۳۶	۰/۰۰۷±۰/۲۵۹	۰/۰۴۲±۰/۳۸۲	۰/۰۲۹±۰/۰۹۱	۰/۰۲±۰/۱۶	۰/۱۲۲±۲/۳۶
اسفند	ساقه جوان	۰/۰۱۹±۰/۸۶۶	۰/۰۱۹±۰/۶۲۱	۰/۰۳۱±۰/۶۶۱	۰/۰۱۸±۰/۳۷۱	۰/۰۲۲±۰/۴۷۲	۰/۰۱۷±۰/۲۹۷	۰/۰۳۴±۰/۷۸۴	۰/۰۴۸±۴/۰۴
	ساقه مسن	۰/۰۱۵±۲/۲۸۵	۰/۰۰۷±۰/۹۳۲	۰/۰۷±۱۱/۶۷	۰/۰۴±۰/۴۴۵	۰/۰۱۶±۰/۶۵۴	۰/۰۸۸±۰/۷۸	۰/۰۴±۲/۰۶	۰/۰۷±۱۷/۸۳۳
	گل آذین	۰/۰۱۶±۰/۸۶۶	۰/۰۰۱±۰/۸۸۱	۰/۰۹۵±۷/۴۵	۰/۰۰۷±۰/۴۰۷	۰/۰۲±۰/۱۹۹	۰/۰۱±۰/۶۴۵	۰/۵±۱/۵۵	۰/۱±۱۲
	بذر	۰/۱±۷/۳۱	۰/۰۰۶±۴/۷۳	۰/۰۸±۳/۸۲	۰/۰۵±۳/۵۸	۰/۰۵۵±۵/۸۴	۰/۰۴±۳/۰۹	۰/۰۷۵±۴/۳۶	۰/۰۲۱±۳۲/۷۷۹

از فلاونوئیدها مقدار سیلی مارین افزایش می‌یابد. البته رابطه همبستگی بین سیلی بین آ و ب، ایزوسیلی بین آ و ب و تاکسی فولین با یکدیگر و با سیلی مارین نسبت به دو ترکیب دیگر یعنی سیلی کریستین و سیلی دیانین بالاتر می‌باشد (جدول ۳).

بررسی همبستگی بین ترکیب‌های فلاونولیگنانی اندازه‌گیری شده در گیاه خارمریم

بررسی همبستگی بین سیلی مارین و ترکیب‌های فلاونولیگنانی آن نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین این ترکیب‌ها با یکدیگر وجود دارد. همچنین رابطه مثبت بین ترکیب‌های فلاونولیگنانی با سیلی مارین نیز وجود دارد. به طوری که با افزایش هر یک

جدول ۳- تجزیه واریانس (درجه آزادی و میانگین مربعات) داده‌های مربوط به مقدار سیلی مارین در ماه‌های مختلف

اندام	درجه آزادی	جمع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	سطح معنی‌داری
برگ مسن	۷	۷۵/۵۰۸	۳۷/۷۵۴	۱۱۳/۷۲	۰/۰۰۰۱
برگ جوان	۷	۳/۵۹	۱/۷۹	۸/۷۲	۰/۰۰۹۷
ریشه	۷	۰/۸۱۵	۱/۴	۲/۹۸	۰/۰۰۱
خطا	۸	۱/۶۴۳	۰/۲۰۵		

بحث

فلاونوئیدها در برگ‌های جوان و مسن گیاه نشان داد که برگ‌های مسن فلاونوئید بیشتری نسبت به برگ‌های جوان دارند. با مطالعه فنولوژی گیاه خارمریم و مطابقت آن با نتایج بدست‌آمده از نظر میزان فلاونوئید می‌توان به این نتیجه رسید که در طی یک دوره رویش مقدار فلاونوئید ابتدا کم بوده، سپس به تدریج افزایش می‌یابد و پس از رسیدن به یک مقدار حداکثر مجدداً کاهش می‌یابد. این تغییرات با تغییراتی که به‌طور عمومی در محتوای متابولیت‌های ثانوی در ارتباط با دوره رویش و مراحل نمو صورت می‌پذیرد مطابقت دارد (Hornuk, 1988).

گزارش‌ها نشان داده که نسبت ترکیب‌های حاضر در سیلی مارین استخراج شده در صنایع داروسازی مهم بوده و مقدار تجمع این ترکیب‌ها در عصاره استخراجی از جنبه اقتصادی در چرخه تولید تأثیرگذار است (Hassanloo et al., 2005). نتایج حاصل از آنالیز عصاره‌های گیاهی با

فلاونوئیدها مهمترین گروه متابولیت‌های ثانوی و ترکیب‌های فعال زیستی در گیاهان هستند که نقش مهمی در زندگی و سلامت انسان دارند. این ترکیب‌ها توسط نور خورشید در گیاهان ساخته شده و در اندام‌های مختلف ذخیره می‌شوند. سنتز این ترکیب‌ها در گیاهان به بافت و اندام وابسته است و توسط فاکتورهای محیطی، سن گیاه، بلوغ برگ و ... تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Ghasemzadeh et al., 2010). نتایج حاضر نشان داده است که اثر متقابل دو عامل ماه و اندام در گیاه خارمریم بر میزان فلاونوئیدهای این گیاه معنی‌دار بوده و عوامل مختلف مثل تغییر فصل، دما، نور و اندام‌های گیاه بر مقدار فلاونوئید کل مؤثر بوده‌است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس و آزمون دانکن نشان داد که بالاترین مقدار فلاونوئید کل در دانه و گل‌آذین وجود دارد. همچنین بررسی میزان

آنزیم‌های مسیر بیوستتر فلاونوئیدها هستند، بنابراین می‌توانند به‌عنوان نقطه کلیدی در کنترل متابولیسم این مسیر بیوستتری عمل کنند (Raj et al., 2001; Schonfeld et al., 1997).

نتایج حاصل از آنالیز HPLC نیز نشان داد که در تمامی نمونه‌ها نسبت سیلی‌بین ب به سیلی‌بین آ و ایزوسیلی‌بین ب به آ بالا بوده‌است. تحقیقات انجام شده توسط Hassanloo و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان داد که در میوه‌ها محتوای سیلی‌بین ب بیشتر از سیلی‌بین آ است. نتایج این تحقیق علاوه بر اینکه بیانگر بالا بودن درصد سیلی‌بین ب نسبت به سیلی‌بین آ در میوه‌ها است بلکه نشان‌دهنده برقراری این نسبت در سایر قسمت‌های گیاه نیز هست. همچنین مشاهده شد که این نسبت برای ایزوسیلی‌بین ب به آ نیز در تمامی بخش‌های گیاه وجود دارد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در ریشه گیاه مقدار سیلی‌کریستین بیشتر از سایر فلاونوئیدها بوده و بیشترین مقدار سیلی‌دیانین در ساقه گیاه مشاهده شد.

در استحصال یک گیاه دارویی به‌طور کلی اندامی از گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد که ماده دارویی مورد نظر مطلقاً یا اکثراً در آن اندام وجود داشته باشد؛ ماده دارویی مورد نظر در شرایط گوناگون زیست محیطی کمیت و کیفیت یکسانی ندارد، به‌علاوه اینکه در طول رویش گیاه به اقتضای مراحل مختلف رشد و نمو آن، تغییر می‌کند، در نتیجه مقدار ماده مؤثره موجود در قسمت‌های مختلف یک اندام می‌تواند مختلف باشد (امیدبگی، ۱۳۸۸ الف). مشاهدات و مقایسات حاصل از این تحقیق با نظرات محققان مختلف مبنی بر اینکه کیفیت و کمیت مواد مؤثره گیاهان دارویی به اندام و بافت و شرایط محل رویش بستگی دارد کاملاً منطبق می‌باشد. به گونه‌ای که مقدار

دستگاه HPLC نشان داد که نوع ترکیب‌های سازنده سیلی‌مارین در نمونه‌های مورد بررسی مشابه بوده و اختلاف اساسی آنها در مقدار فلاونوئیدها سازنده آنهاست. نتایج حاصل از این آنالیز نشان داد که دانه گیاه بیشتر از سایر قسمت‌های گیاه حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی و سیلی‌مارین است. با وجودی که دانه و گل‌آذین گیاه سیلی‌کریستین، سیلی‌بین، ایزوسیلی‌بین و تاکسی‌فولین بیشتری دارند، اما مقدار سیلی‌دیانین در آن کمتر از سایر قسمت‌های گیاه می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی میزان سیلی‌مارین در گیاه خارمریم نشان داده که دانه مقادیر بالایی از سیلی‌مارین را در خود دارد (Rajabian et al., 2008; Hassanloo et al., 2005). نتایج تحقیقات انجام شده بر روی دانه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران نشان داده که مقدار سیلی‌مارین در دانه‌های منطقه برازجان و رودبارک مازندران بیشتر از سایر نقاط ایران بود که مقدار آن به ترتیب ۲۷/۱۰۲ و ۲۴/۵۷۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک بود (Hassanloo et al., 2005). در تحقیق حاضر نیز بالاترین مقدار سیلی‌مارین در دانه گیاه و بعد از آن در ساقه‌های مسن ماه اردیبهشت ($32/75 \text{ DW mg g}^{-1}$) و $17/833$ مشاهده شده‌است که نشان‌دهنده آنست که بذره‌های گیاه خارمریم رشدیافته در منطقه گرگان دارای میزان سیلی‌مارین قابل‌توجهی است. در بین ترکیب‌های فلاونوئیدی موجود در دانه‌های گیاه مقدار تاکسی‌فولین بیشتر از سایر ترکیب‌ها و مقدار ایزوسیلی‌بین آ کمتر از سایر ترکیب‌ها بود. تاکسی‌فولین خود به‌عنوان یک پیش‌ساز برای بیوستتر سیلی‌مارین عمل می‌کند. این ترکیب از نارینجین و با فعالیت دو آنزیم چالکون‌ستاز و چالکون‌ایزومراز تولید می‌شود. این دو آنزیم اولین

- فلاح‌حسینی، ح.، همتی مقدم، ا.ر. و علویان، س.م.، ۱۳۸۳. مروری بر گیاه دارویی خارمریم. گیاهان دارویی، ۳(۱۱): ۲۴-۱۴.
- قهرمان، ا.، ۱۳۶۲. فلور رنگی ایران (جلد ۹). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، شماره ۱۰۹۵.
- Cacho, M., Moran, M., Corchete, P. and Frarandez-Tarrago, J., 1999. Influence of medium composition on the accumulation of flavonolignans in cultured cells of *Silybum marianum* (L) Gaertn. Plant Science, 144(2): 63-68.
- Cao, G., Sofic, E. and Prior, R.L., 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetable. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(11): 3426-3431.
- Chia-Chi, Ch., Ming-Hua, Y., Hwei-Mei, W. and Jing-Chuan, Ch., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3): 178-182.
- Dermarderosian, A., 2001. The review of Natural Products. Facts and Comparisons, Saint Louis, 722p.
- Demark-Wahnefried, W., Robertson, C.N., Walther, P.J., Polascik, T.J., Paulson, D.F. and Vollmer, R.T., 2004. Pilot study to explore effects of low-fat, flaxseed-supplemented diet on proliferation of benign prostatic epithelium and prostate-specific antigen. Urology, 63(5): 900-904.
- Dicenzo, R., Shelton, M., Jordan, K., Koval, C., Forrest, A., Reichman, R. and Morse, G., 2003. Coadministration of milk thistle and indinavir in healthy subjects. Pharmacology, 23(7): 866-870.
- Hasanloo, T., Khavari-Nejad, R.A., Majidi, E. and Shams Ardakani, M.R., 2005. Analysis of flavonolignans in deried fruits *Silybum marianum* (L.) Gaertn from Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences, 8(12): 1778-1782.
- Hornuk, L., 1988. Gyogynovenyek termetese, kertezeti es elemiszeripari egyetem. Budapest, 197p.
- Geleijnse, J.M., Launer, D.A., Van der Kuip, D.A., Hofman, A. and Witteman, J.C., 2002. Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. The American Journal of Clinical Nutrition, 75(5): 880-888.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Rahmat, A., Wahab, P.E. and Abd Halim, M.R., 2010. Effect of different light intensities on total phenolics and flavonoids synthesis and activities in young ginger varieties (*Zingiber officinale* Roscoe). International Journal of Molecular Science, 11(10): 3885-3897.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B., 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer Verlag, New York, 354p.

فلاونولیگنان‌ها در اندام‌های مختلف گیاه در ماه‌های مختلف با یکدیگر متفاوت می‌باشد. با توجه به این‌که تمامی تحقیقات انجام شده بر روی بذر گیاه بوده و تحقیقی در مورد مقدار سیلی‌مارین در سایر اندام‌های این گیاه انجام نشده‌است، نتایج بدست‌آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که ساقه‌های گیاه نیز می‌توانند منبع بسیار خوبی برای استحصال این ماده دارویی باشند. همانطور که نتایج حاصل نشان داد میزان سیلی‌مارین در ساقه‌ها $17/75 \text{ mg g}^{-1}$ وزن خشک گیاه بوده که در واقع ساقه‌های گیاه حدود نیمی از سیلی‌مارین بذر را برخوردار بودند. بنابراین با توجه به اینکه حجم و وزن ساقه‌های گیاه بیشتر از بذر بوده از نظر اقتصادی بسیار مقرون به صرفه است که ساقه‌های گیاه نیز برای استخراج این ماده مؤثره دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

- امیدبگی، ر.، ۱۳۷۷. بررسی تولید سیلی‌مارین و سیلی‌بین در گیاه ماریتیغال با کشت بذور وحشی و زراعی آن. علوم کشاورزی ایران، ۲۹(۲): ۴۲۱-۴۱۳.
- امیدبگی، ر.، ۱۳۸۸الف. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۲۸۳ صفحه.
- امیدبگی، ر.، ۱۳۸۸ب. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد دوم). انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۳۴۷ صفحه.
- حسنلو، ط.، خاوری‌نژاد، ر. و مجیدی هروان، ا.، ۱۳۸۶. بررسی صفات مورفولوژیکی و انباشت فلاونولیگنان‌ها در گیاه خارمریم کشت شده و بومی ایران. گیاهان دارویی، ۶(۲۲): ۹۰-۷۷.
- شریفی، س.، ۱۳۸۶. ارزیابی تأثیر سطوح شوری و خشکی بر برخی صفات گیاهچه ماریتیغال. سومین همایش گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ۳-۲ آبان: ۲۰۷.
- ضیایی، س.ع.، فلاح‌حسینی، ح. و رجیبان، ط.، ۱۳۸۳. بررسی اثر حلال‌های مختلف در استخراج سیلی‌مارین از بذر گیاه خارمریم. گیاهان دارویی (ویژه‌نامه خارمریم)، ۴: ۱۲-۷.

- Rajabian, T., Rezazadeh, Sh. and Fallah Hoseini, H., 2008. Analysis of silymarin components in the seed extracts of some Milk thistle ecotypes from Iran by HPLC. Iranian journal of science and Technology, Transaction A, 32: 141-146.
- Schonfeld, J.V., Weisbrod, B. and Muller, M.K., 1997. Silibinin, a plant extract with antioxidant and membrane stabilizing properties protects exocerin pancreas from cyclosporine A toxicity. Cellular and Molecular Life Sciences, 53: 917-920.
- Venkataramanan, R., Ramachandran, V., Komoroski, B.J., Zhang, S., Schiff, P.L. and Strom, S.C., 2000. Milk thistle and herbal supplement decrease in the activity of CYP3A4 and uridine diphosphoglucuronosyl transferase in human hepatocyte cultures. Drug Metabolism and Disposition, 28(11): 1270-1273.
- Yanive, Z. and Palevitch, D., 1982. Effect of drought on the secondary of medicinal and aromatic plants: 1-23. In: Atal, C.K. and Kapur, B.M. (Eds.). Cultivation and Utilization of Medicinal Plants. CSIR. Jammu-Tawi, India, 877p.
- Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 40(3): 255-260.
- Osuchowski, M.F., Johnson, V.J. and Sharma, R.P., 2004. Alteration in regional brain neurotransmitters by silymarin a natural antioxidant flavonoid mixture in BALB/c mice. Pharmaceutical Biology, 42(4-5): 384-389.
- Quaglia, M.G., Bossu, E., Donati, E., Mazzanti, G. and Bradt, A., 1999. Determination of silymarin in the extract from the dried *Silybum marianum* fruits by high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 19: 435-442
- Raj, N.K., Sripal, R.M., Chaluvadi, M.R. and Krishan, D.R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian Journal of Pharmacology, 33: 2-16.

Archive of SID

An investigation on flavonolignans in different organs of *Silybium marianum* L. in Gorgan region

H. Kordi¹, M. Aghdasi^{2*} and M. Khalafi³

1- MSc. Student, Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Golestan, Iran

2*- Corresponding author, Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Golestan, Iran

E-mail: m.ahdasi@gu.ac.ir

3- Faculty of Science, Golestan University, Golestan, Iran

Received: September 2011

Revised: January 2012

Accepted: February 2012

Abstract

Silybium marianum L. is an annual or biannual herbaceous species from Asteraceae which is important in medicinal industry. The main components of this species are various flavonolignans consisting of silibinin, isosilibinin, silychristin, silydianin and taxifolin that are known as silymarin. This species is used in treatment of heart diseases, diabetes, blood cholesterol, liver diseases (jaundice, cirrhosis and hepatitis), and gallbladder disease. In this research, different organs of *Silybium marianum* (young and old leaves, stem, root, inflorescence and seeds) were separately collected during the different months in the Gorgan region and then total flavonoid, silymarin content, and the amount of silymarin components were measured by HPLC method. Our results showed that the highest amounts of total flavonoid were observed in the seed and inflorescence samples and then in the stem samples. Meanwhile the effect of time on flavonoid content and also the effect of sampling month and organ factors on flavonoid content were significant. Data from the HPLC analyses revealed that the silymarin compositions, observed in this study, were similar and the main difference among samples was the amount of silymarin composition. The highest amount of silydianin was observed in the stem sample; however the amount of other components were higher in the seed sample. According to the results, Gorgan is a suitable region for the cultivation of *Silybium marianum* and since the stem of this species contain significant amounts of silymarin, it could be considered as an optimal source of the production of pharmaceutical substances.

Key words: *Silybium marianum* L., silymarin, silybin, medicinal, HPLC.