

## معرفی و مقایسه مهمترین مواد موثره ثانوی گیاه انار وحشی (*Punica granatum L.*) در رویشگاه‌های متفاوت استان گلستان

\* معصومه مازندرانی<sup>۱</sup>، زهره خوجم لی<sup>۱</sup>، هومان بیات<sup>۲</sup>، ابوالفضل دانشور<sup>۳</sup>

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۲. شرکت کشت و صنعت گیاهان دارویی نیاک

۳. مجتمع آموزش عالی گنبد

دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۲ - پذیرش: ۱۳۸۹/۵/۱۸

### چکیده

در قرن اخیر ارزش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان و همچنین عملکرد ارزشمند و دیرینه‌ای که در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی، فشار خون، دیابت و سرطان دارند، بسیار مورد توجه مراکز علمی و تحقیقاتی سازمان بهداشت جهانی قرار گرفته است. گیاه دارویی انار وحشی (*Punica granatum L.*) از گونه‌های ارزشمند دارویی شمال ایران است که از زیستگاه‌های شنی سواحل دریای خزر تا نواحی کوهستانی و جنگلی جنوب شرق استان گلستان رویش دارد و سالیان درازی است که مردم بومی این استان به طرق مختلف در طب سنتی از فراورده‌های آن در پیشگیری و درمان بیماری‌های شایع خود استفاده‌های دارویی می‌برند. در این تحقیق به منظور بررسی و مقایسه مهمترین مواد فعال ثانوی و دارویی، اندام‌های مختلف گیاه از دو رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری، عصاره‌گیری و بررسی میزان ترکیبات ثانوی (فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین) در اندام‌های مختلف با آزمون Pearson chi square انجام و در  $p < 0.05$  معنی‌دار ارزیابی گردید. نتایج بررسی فیتوشیمی نشان داد که میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی اندام‌های گیاه در دو رویشگاه از ۹۶ تا ۳۸۱/۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم وزن و ترکیبات فنولی از ۱۴۰/۱ تا ۳۸۱/۴، در هر یک از اندام‌ها و همچنین رویشگاه‌ها متغیر بوده و بالاترین مقادیر ترکیبات فوق مربوط به آب انار، پوست میوه و این در حالی است که میزان در گل و برگ به حداقل رسیده است. با افزایش ارتفاع در رویشگاه کوهستانی ۳۷۵ متر، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی افزایش یافته است. میزان آنتوسیانین از ۱/۲۶ تا ۳/۴ میلی‌گرم معادل سیانیدین ۳-گلوکوزید در ۱۰۰ میلی‌گرم وزن گیاه در دو اندام گل و میوه نشان داد که گل از بیشترین میزان آنتوسیانین مخصوصاً در منطقه کوهستانی نسبت به آب میوه برخوردار است. یافته‌ها حاکی از آن است که مهمترین ترکیبات ثانوی گیاه در دو اندام گل و میوه بیشتر بوده و ضمناً با افزایش میزان ارتفاع بر کمیت و کیفیت مواد موثره دارویی اندام‌ها در نمونه‌های متعلق به منطقه کوهستانی افزوده شده است.

کلمات کلیدی: انار (*Punica granatum L.*)، فلاونوئید، ترکیبات فنلی، آنتوسیانین، اندام‌های مختلف، استان گلستان

## مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان، از چالش‌های عمده سازمان بهداشت جهانی (WHO) محسوب می‌شود، مخصوصاً اینکه علت عمده بیش از ۷۰ درصد مرگ و میر در جهان نیز شمرده می‌شود. روند رو به افزایش عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی و از طرفی جایگاه دیرینه ای که گیاهان دارویی در بحث بهداشت و سلامت جامعه دارند، سبب شده تا رویکرد جهانی به سمت انجام تحقیقات کاربردی در زمینه‌های مختلف: شناسایی گونه‌های دارویی، بررسی شرایط زیستگاهی، اخذ اطلاعات اتنوفارماکولوژیکی، بررسی عملکرد دارویی، شناسایی و استخراج مهمترین مواد فعال دارویی در گیاهان دارویی پرداخته شود (Duck et al., 2002).

استان گلستان با تنوع اقلیمی و جغرافیایی خاص، بستری مناسب برای رشد و نمو انواع گونه‌های گیاهان بومی و خودرو را فراهم آورده است که از دیرباز در فرهنگ عمومی مردم منطقه و در طب سنتی به صورت منفرد یا ترکیبی با سایر گیاهان از رویشگاههای مختلف جمع آوری و در پیشگیری و در درمان بیماری‌های شایع استفاده شده است. با توجه به شیوع بیماری‌های قلبی و عروقی در این منطقه، پیداست که گیاهان زیادی در این رابطه دارای سابقه دیرینه در پیشگیری و درمان آن بیماری داشته و دارند. گیاه انار وحشی (*Punica granatum L.*) متعلق به تیره Punicaceae با نام انگلیسی Pomegranate، درختچه‌ای خاردار، کوتاه و بومی نواحی مدیترانه‌ای اروپا، آسیا است که از ارزش فراوان دارویی برخوردار است (Afaq et al., 2005). در طب سنتی ایران، چین و هند از پودر گل‌های انار در درمان دیابت و از جوشانده جوانه‌های گل‌های انار در درمان کولیت، سر درد، ضد اسپاسم، مدر، ضد نفخ و درمان اسهال مزمن کودکان استفاده می‌شود (Kaur et al., 2006).

در طب سنتی اکثر کشورهای آسیایی از فراورده‌های مختلف میوه‌های رسیده به عنوان مقوی، قابض، ملین و مدر، درمان بیماری‌های مغزی، قلبی عروقی، نارسایی‌های سینه،

برونشیت و گوش درد استفاده می‌شود. و از پوست و پرده بین دانه‌ها در درمان اسهال، پودر جوانه گل‌ها در درمان برونشیت، اسهال، و از غرغره عصاره گل‌ها در درمان التهابات گلو و دهان، دیابت و زخم معده استفاده می‌شود (Bagri et al., 2009; Lee et al., 2010).

فدوی و همکاران اشاره کردند که انار یکی از قدیمی‌ترین و ارزشمندترین میوه‌های دوران باستان در کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری است و بیش از ۱۰۰۰ واریته از آن در رژیم غذایی کشورهای خاورمیانه، در بحث بیماری‌های قلبی عروقی، التهابی، عفونی، دیابت و انگلی مصرف می‌شود (Mertens et al., 2006).

Lee و همکاران از آنتوسیانین، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در پوست خشک شده انار به صورت *in vitro* و *in vivo* در درمان التهابات عفونی، عفونت‌های میکروبی، دفع انگل، درمان آسم، روماتیسم، آرتریت روماتوئید، روماتیسم قلبی و نارسایی‌های قلبی مؤثر دانستند (Lee et al., 2010).

Celik و همکاران، به اثر دمکرده گل‌های انار به عنوان آنتی‌اکسیدان در حفاظت از کبد اشاره کرد (Celik et al., 2009).

Ricci و همکاران به اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و الکلی بخش‌های مختلف میوه انار پرداختند و اشاره کردند که اثر آنتی‌اکسیدانی آب انار بیشتر از آریل، ضمن اینکه پوست میوه قابض است و در درمان اسهال و اسهال خونی نقش دارد (Ricci et al., 2006).

Singh و همکاران نشان دادند که عصاره متانولی پوست میوه، سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که اثر آنتی‌اکسیدانی آن بیشتر از میوه‌ها است و از آن می‌توان در درمان التهابات، سیروز کبدی و کاهش LDL استفاده کرد (Singh et al., 2002).

لذا با توجه به کثرت رویشگاههای طبیعی انار وحشی در استان گلستان (مجاور سطح دریا تا نواحی کوهستانی ۳۷۵ متر) و از طرفی مصارف فراوان از اندام‌های گیاه مورد مطالعه

## تست توتال فنل (Vinson et al., 1995)

به ۱ میلی لیتر از عصاره متانولی، ۱ میلی لیتر HCl (6M) و ۵ میلی لیتر متانول ۷۵ درصد افزوده و در لوله‌های سرپیچ‌دار ریخته، در بن ماری  $90^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲ ساعت گذاشته شدند و طی این مدت چند بار تکان داده شدند بعد از مدت زمان لازم در دمای اتاق خنک شدند، سپس با آب مقطر به حجم ۱۰ ml رسیده، ۱ cc از محلول فوق برداشته و به آن ۵ cc فولین (۱:۱۰) و ۱۵ میلی لیتر  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  افزوده و بعد به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و جذب آن در  $760\text{ nm}$  اندازه گیری شد (بلانک: متانول). منحنی استاندارد بر اساس گالیک اسید محاسبه گردیده و میزان توتال فنل در فرمول مربوطه و معادل گالیک اسید در هر گرم پودر خشک اندازه گیری شد.

## تست توتال آنتوسیانین (Lako et al. 2007)

۰/۴ میلی لیتر عصاره متانولی گیاه را در دو لوله جداگانه ریخته، به یکی ۳/۶ میلی لیتر بافر پتاسیم کلراید (۰/۰۲۵ M) در ۱ pH، و به دومی ۳/۶ میلی لیتر بافر سدیم استات (۰/۴ M) در ۴/۵ pH افزوده و جذب هر یک از لوله‌ها در دو طول موج  $700\text{ nm}$ ،  $510\text{ nm}$  محاسبه شد. (بلانک: آب مقطر). بر اساس میلی گرم آنتوسیانین معادل cyanidin-3-glucosid در گرم محاسبه شد.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{PH1} - (A_{510} - A_{700})_{PH4/5}$$

$$TAC = \left( \frac{A \times MW \times DF \times 100}{MA} \right)$$

A: جذب، MW: ۴۹۹/۲، DF: ۱۰، MA: ۲۶۹۰۰

## نتایج

نتایج بررسی‌های صحرائی و اتنوفارماکولوژیکی در این تحقیق نشان داد که مردم محلی استان، از فراورده‌های مختلف انار (پوست، آب میوه، دانه، رب یا ترشی انار) به صورت مختلف در درمان اسهال، دفع کرم و انگل، کاهش فشارخون، تنظیم ضربان قلب، درمان عفونت انگلی، تقویت ماهیچه‌های قلبی و درمان دیابت استفاده می‌کنند. همچنین از آب انار به عنوان یک مقوی قلبی در تنظیم ضربان قلب، تپش قلب و

(پوست، ساقه، برگ، گل و میوه) در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و فشار خون، در این تحقیق ضمن شناسایی رویشگاه‌های طبیعی به بررسی و مقایسه مهمترین مواد مؤثره ثانوی (ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین) در اندام‌های مختلف گیاه در دو رویشگاه طبیعی پرداختیم.

## مواد و روش‌ها

عملیات صحرائی به منظور شناسایی رویشگاه‌های طبیعی و برداشت اندام‌های گیاه از دو رویشگاه طبیعی گونه مورد مطالعه (۳۷۵ متری جنگل رامیان در جنوب شرق استان گلستان و ۱۷ متری ساحلی) طی یک دوره یک ساله (۱۳۸۸) انجام گرفت. نمونه‌های اندام‌های جمع آوری شده گیاه را خشک و برای انجام عملیات عصاره گیری و آزمایشگاهی آماده گردید. بررسی میزان ترکیبات ثانوی (فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین) اندام‌های گیاه در هر دو رویشگاه با آزمون Pearson chi square انجام و در سطح  $p < 0.05$  معنی دار ارزیابی گردید.

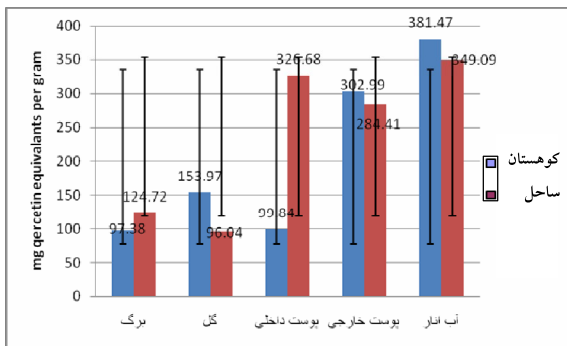
## عصاره گیری

به ۵۰۰ میلی گرم از پودر خشک گیاه، ۱۰ میلی لیتر متانول افزوده، بعد از مدت ۱۰ دقیقه صاف و دوباره ۱۰ میلی لیتر متانول به آن افزوده، و مجدداً صاف می‌کنیم. محلول‌های صاف شده را روی هم ریخته در بن ماری  $80^{\circ}\text{C}$  خشک کرده (مایع کاملاً تبخیر شود) در انتها، ۵ میلی لیتر متانول به مواد چسبیده به ته ظرف افزوده، کاملاً تکان می‌دهیم تا حل شود.

## تست فلاونوئید (Wang et al., 2002)

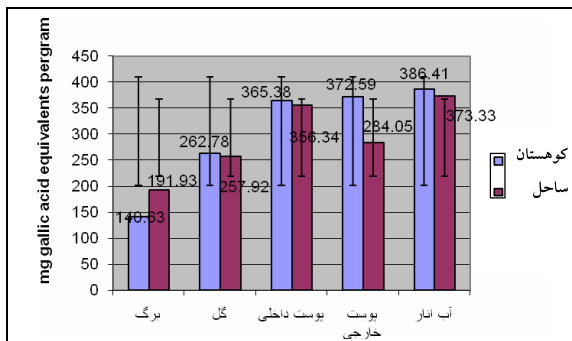
به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی مقدار ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم  $\text{AlCl}_3$  ۱۰ درصد در متانول افزوده سپس ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و نیز ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید، بعد از مدت ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق جذب آن در  $415\text{ nm}$  اندازه گیری شد، منحنی استاندارد بر اساس کوئرستین محاسبه و میزان فلاونوئید بر حسب فرمول مربوطه و معادل کوئرستین در هر گرم پودر خشک تعیین شد.

میزان ترکیبات آنتوسیانین اندام‌ها مخصوصاً گل‌ها افزوده شده است.



شکل ۲: مقایسه میزان فلاونوئید در اندام‌های مختلف گیاه انار در دو رویشگاه ساحلی و کوهستانی

نتایج شکل ۲ حاکی از آن است که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در آب میوه و پوست انار بیش از سایر بخش‌های گیاه بوده و با افزایش ارتفاع منطقه بر میزان آن ترکیبات و احتمالاً عملکرد آنها افزوده می‌شود.



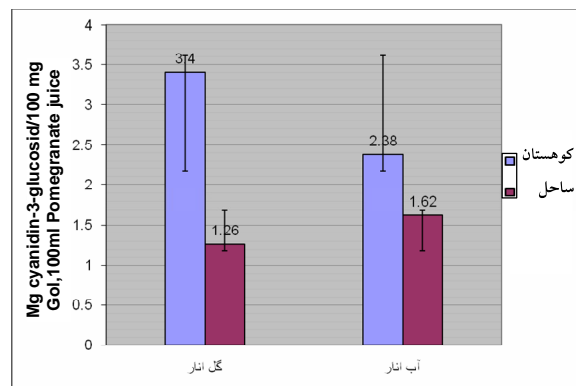
شکل ۳: مقایسه میزان توتال فنل در دو منطقه

نتایج شکل ۳ نیز حاکی از آن است که ترکیبات توتال فنل در آب انار و پوست میوه بیشتر از سایر اندام‌ها بوده و مقدار آن و همچنین عملکرد آن نیز در ارتفاع ۳۷۵ متری رامیان افزایش یافته است.

### بحث

استان گلستان واقع در شمال ایران دارای رویشگاه‌های طبیعی گیاه انار می‌باشند و سالیان درازی است که مردم این مناطق در طب سنتی خود از اندام‌های گیاه انار به طرق مختلف در پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی، انگلی، قلبی، عروقی، دیابت و فشار خون استفاده می‌کنند. در این رابطه

فشار خون مخصوصاً به همراه ترشی زرشک<sup>۱</sup>، ولیک<sup>۲</sup>، کندس<sup>۳</sup> و سیر<sup>۴</sup> استفاده می‌کنند. از پودر گل‌های انار در درمان دیابت، عفونت واژینال و همچنین از گل‌های انار به همراه کنگر<sup>۵</sup> در حفاظت از کبد و درمان کبد چرب، از پودر برگ انار در رفع التهابات گوارشی و کم‌خونی، از غرغره گل‌های انار در رفع عفونت و ورم لوزه، از پوست ریشه و ساقه آن به عنوان دفع کرم انگل در دام و انسان، رفع عفونت روده‌ای، اسهال دام، ضد نفخ، دیسمنوره و اسهال مزمن استفاده می‌کنند. ادامه نتایج این تحقیق در مورد بررسی و مقایسه مهمترین ترکیبات فعال ثانوی فلاونوئیدی، فنلی و آنتوسیانین اندام‌های مختلف گیاه در دو منطقه نشان داد (شکل ۱ تا ۳) که آب انار از بالاترین کمیت و کیفیت مواد مؤثره ثانوی نسبت به سایر اندام‌ها برخوردار است ضمناً با تغییر رویشگاه میزان آن ترکیبات متفاوت و با افزایش ارتفاع در منطقه ۳۷۵ متری جنگل‌های رامیان بر میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین اندام‌ها مخصوصاً آب انار و پوست میوه افزوده شده است.



شکل ۱: مقایسه میزان آنتوسیانین اندام‌های گیاه انار در دو رویشگاه ساحلی و کوهستانی

نتایج بدست آمده در شکل ۱ حاکی از آن است که میزان ترکیبات آنتوسیانین در آب انار بیشتر از مقدار آن در عصاره گل‌هاست ضمناً با افزایش ارتفاع رویشگاه (۷۵۰ متر) بر

<sup>1</sup>. *Berberis vulgaris* L.

<sup>2</sup>. *Crataegus microphylla* L.

<sup>3</sup>. *Mespilus germanica* L.

<sup>4</sup>. *Allium sativa* L.

<sup>5</sup>. *Sylibum marianum* L.

میزان توتال فنل ۳۸۶/۴۱-۳۷۳/۳۳ میلی گرم معادل گالیک اسید و توتال آنتوسیانین ۱/۶۲-۲/۳۸ میلی گرم معادل سیانیدین ۳- گلوکوزید در هر ۱۰۰ میلی لیتر آب انار است که حاکی از کثرت مواد ثانوی در آب انار است. محققان از پلی فنلهای (caffeic acid, gallic acid, punicalagine, ellagic acid) کوماریک اسید، فلاونوئیدهای (روتین، کوئرستین، کامفرول، لوتولین) و پروآنتوسیانین‌های (کاتچین، اپی کاتچین، اپی گالوکاتچین) موجود در بخش‌های مختلف میوه به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی در کاهش LDL، فشارخون، تنظیم ضربان قلب و ضد سرطان نام بردند (Bagri et al., 2009; Cleik et al., 2009).

Kaur و همکاران از بخش‌های مختلف میوه انار (پوست، آب و دانه‌ها) به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی در درمان بیماری‌های قلبی عروقی، همچنین حفاظت از کبد و انواع سرطان نام بردند (Kaur et al., 2006).

بررسی مقالات مختلف حاکی از آن است که مصرف فراورده‌های مختلف آب انار در رژیم غذایی اکثر مردم بومی آسیا، آمریکا و مکزیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به دلیل پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان است (Lansky et al., 2007; Mertens et al., 2006).

همچنین دیگران اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آب انار را به عنوان یک ضد التهاب در درمان تصلب شرایین ذکر کردند که موارد فوق را به عملکرد مؤثر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌های (pelargonidin, cyaniding, delohinidin) و ترکیبات فنلی punicalagin و ellagic acid نسبت دادند (Gill et al., 2000; Fadavi et al., 2007; Wang et al., 2006).

در این رابطه تحقیقات مشابه زیادی انجام شده که ضمن پرداختن به اثر ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف انار نشان داند که کمیت و کیفیت مواد مؤثره اندام‌های مختلف، در رویشگاه‌ها و واریته‌های مختلف متفاوت است و همین تفاوت کمی و کیفی آن مواد در رویشگاه‌ها و اکوتیپ‌های مختلف، عملکردهای متفاوتی را در بحث

تحقیقات مشابه نیز نشان داده است که در طب سنتی اغلب کشورهای آسیایی، خاورمیانه، یونان، آمریکا و مکزیک از فراورده‌های مختلف انار و به طرق مختلف در رژیم غذایی خود به عنوان مقوی، در درمان عفونت‌ها، التهابات گوارشی، کم خونی، ورم لوزه، ضد نفخ، دیسمنوره، دیابت، عفونت واژینال، تقویت ماهیچه‌های قلبی و فشار خون استفاده می‌کنند (Bagri et al., 2009; Lee et al., 2010; Cam et al., 2009; Ricci et al., 2006).

نتایج این تحقیق و گزارشات مشابه حاکی از آن است که تجربه دیرینه استفاده از انار در درمان بیماری‌های قلبی عروقی در فرهنگ اقوام مختلف مردم، جهان نقش مهمی را به عنوان یک سرخ کاربردی در دستیابی به ترکیبات طبیعی، فعال و مؤثر در درمان بیماری‌های شایع پیش رو می‌گذارد.

نتایج این تحقیق نشان داد که کمیت و کیفیت مواد مؤثره ثانوی در اندام‌ها و رویشگاه‌های مختلف و همچنین تغییر رویشگاه‌های گیاه، متفاوت است به طوری که آب انار نسبت به سایر اندام‌ها از بیشترین میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین برخوردار است. علاوه بر این میزان آنها با افزایش ارتفاع رویشگاه در منطقه کوهستانی رامیان افزایش یافته است. از آنجائی که منطبق با بررسی‌های مشابه ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین از مهمترین مواد مؤثره ثانوی در انار به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضد التهاب می‌باشند، لذا این موضوع در تأیید مصرف فراوان فراورده‌های انار در هر دو منطقه به عنوان ترکیباتی مقوی قلب، تنظیم کننده ضربان قلب، کاهش فشارخون و تصلب شرایین قابل بحث است.

Cam و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی میزان توتال فنل، آنتوسیانین و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب انار در هشت کولتیوار گیاه انار پرداختند و نشان دادند میزان توتال فنل و آنتوسیانین آب انار به ترتیب بین ۳۴۳/۶-۲۰۸/۳ میلی گرم معادل کاتچین و ۸/۱-۹/۳۶ میلی گرم معادل سیانیدین ۳- گلوکوزید در هر ۱۰۰ میلی لیتر آب انار دارد. بیشترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین ۷۳-۹۱/۸ درصد متفاوت بود (Cam et al., 2009). نتایج مورد نظر مشابه نتایج تحقیق ما که

اکسیداتیو از مهمترین عوامل ابتلا به بیماری تصلب شرایین و مرگ و میر ناشی از آن است (Avirom et al., 2008).

### نتیجه گیری نهایی

از آنجائی که بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان از چالش‌های بسیار عمده سازمان بهداشت جهانی می‌باشد، شناسایی ترکیبات طبیعی و دارویی در گیاهان با اثر آنتی اکسیدانی در بحث پیشگیری و درمان آن بیماری‌ها بسیار ضروری است. نتایج اتنوفارماکولوژی و آزمایشگاهی در این تحقیق نشان داد که مهمترین ترکیبات ثانوی گیاه در دو اندام گل و میوه بیشتر بوده و ضمناً با افزایش میزان ارتفاع بر کمیت و کیفیت مواد موثره دارویی اندام‌ها در نمونه‌های متعلق به منطقه کوهستانی افزوده شده است.

فراورده‌های مختلف انار وحشی در رویشگاههای طبیعی شمال ایران به دلیل کثرت ترکیبات فعال ثانوی مهم ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین مخصوصاً در آب میوه، پوست و گل‌ها می‌توانند به عنوان دارویی مؤثر با عملکرد آنتی اکسیدانی در درمان بیماری‌های فشارخون و قلبی عروقی مورد استفاده قرار بگیرند. لذا این تحقیق ضمن تأیید و مستند سازی طب سنتی در استفاده از فراورده‌های دارویی انار، ضرورت انجام تحقیقات کاربردی در مورد استخراج و فرمولاسیون ترکیبات ثانوی انار به انجام آزمایشات در سطح مدل‌های حیوانی و کلینیکال را در جهت بررسی و مقایسه عملکرد دارویی آنها پیشنهاد می‌دهد.

### References

- Afaq, F., Malik, A., Syed, D. (2005). Pomegranate fruit extract modulates UV-B-mediated phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and activation of extract modulates UV-B-mediated phosphorylation nuclear factor kappa B in normal human epidermal keratinocytes. *Photochem Photobiol*;81:38-45.
- Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R. (2008). Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies *in vivo* in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E<sup>0</sup>) mice and *in vitro* cultured macrophages and lipoproteins. *J Agric Food Chem*;56:1148-1157.

آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی از خود نشان داده است (Kohno et al., 2004; Fadavi et al., 2006).

محققان به بررسی اثر ضد سرطانی عصاره انار در درمان سرطان پستان در مدل حیوانی پرداختند و نشان دادند که به ترتیب آب و پوست میوه به دلیل سرشار بودن از فلاونوئیدهای (استروژنیک مثل لوتولین، روتین، کوئرستین، کامفرول) و همچنین ترکیبات فنلی (گالیک اسید و الازیک اسید) خاصیت ضدسرطانی دارند (Toi et al., 2003). در تحقیقی دیگر نشان دادند که ترکیبات لینولئیک اسید و پونیسیک اسید موجود در آب و دانه انار دارای اثر ضد سرطانی هستند (Pteffer et al., 2003).

Nigris و همکاران از پلی‌فنل‌های فراوان موجود در پوست خارجی میوه، برگ، گل و میوه انار به عنوان مهمترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نام بردند که تحت شرایط *in vivo* و *in vitro* مدل حیوانی و انسانی نقش مهمی را در پیشگیری و درمان تصلب شرایین، فشارخون و مخصوصاً جلوگیری از رسوب رگهای قلبی موش گزارش کرد (Nigris et al., 2007).

Huang و همکاران در سال ۲۰۰۵ در تحقیقات مشابه از ترکیبات فنلی، فلاونوئید و آنتوسیانین گل‌های انار، به عنوان کاهش دهنده التهاب و درمان عفونت میوکارد قلب، کاهش کلسترول (LDL)، کاهش فشار خون، کاهش ریسک ابتلا به دیابت و همچنین نقش مهمی در حفاظت از قلب، کبد تنظیم قند خون و کاهش عوارض ناشی از دیابت داشت (Huang et al., 2005).

Aviram و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی اثر ضد لخته شدن خون توسط عصاره پوست، آریل و گل‌های انار در مدل‌های *in vitro*، *in vivo* پرداختند و نشان دادند که پلی‌فنل‌های Punicalagin، Punicalin، ellagic acid و gallic acid از مهمترین ترکیبات عصاره اندام‌های مورد نظر در کاهش چربی سرم خون و اثر ضد تصلب شرایین دارد. رسوب رگ‌ها و لخته‌گی که مصرف چربی و استرس‌های

- Bagri, P., Ali, M., Aeri, V., Bhowmik, M., Sultana, S. (2009).** Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: Effect on hyper lipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology* 47: 50–54
- Cam, M., Hsil, Y., Durmaz, G. (2009).** Classification of eight Pomegranate Juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food chemistry*, 112, 721- 726.
- Celik, I., Temur, A., Isik, I. (2009).** Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum* L.) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food and Chemical Toxicology* 47:145-149.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., (2000).** Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*;48:4581-4589.
- Huang, T.H., Peng, G., Kota, B.P. (2005).** Antidiabetic action of *Punica granatum* flower extract: activation of PPAR-gamma and identification of an active component. *Toxicol Appl Pharmacol* 207:160-169.
- Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M., Alam, M.S. (2006).** *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem. Toxicol.* 44, 984–993.
- Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., Tanaka, T., (2004).** Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Science* 95, 481–486.
- Lako, J., Trenerry, V. C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., & Premier, R. (2007).** Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101, 1727–1741.
- Lansky, E.P., Newman, R.A. (2007).** *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethnopharmacol*; 109:177-206.
- Lee, C-Chen, L-G., Liang, W-L., Wang, C-C., (2010).** Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne in vitro and in vivo. *J. Food Chemistry* 118,315-322.
- Mertens-Talcott, S.U., Bomser, J.A., Romero, C., (2005).** Ellagic acid potentiates the effect of quercetin on p21waf1/cip1, p53, and MAP-kinases without affecting intracellular generation of reactive oxygen species *in vitro*. *J Nutr*;135:609-614.
- Mertens-Talcott, S.U., Percival, S.S. (2005).** Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. *Cancer Lett*;218:141-151.
- Nigris, F., Balestrieri, M.L., Williams-Ignarro, S., D'Armiento, F., Fiorito, C., Ignarro, L.J., Napoli, C. (2007).** The influence of pomegranate fruit extract in comparison to regular pomegranate juice and seed oil on nitric oxide and arterial function in obese Zucker rats Nitric Oxide. 17:50–54
- Singh, R.P., Chidambaramurthy, K.N., Jayaprakasha, G. K. (2002).** The Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 8186
- Toi, M., Bando, H., Ramachandran, C. (2003).** Preliminary studies on the anti-angiogenic potential of pomegranate fractions *in vitro* and *in vivo*. *Angiogenesis*;6:121-128.
- Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Mamdouh, M.S., & Jang, J. (1995).** Plant flavonoids, especially tea flavonols are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2800–2802
- Wang, R., Wang, W., Wang, L., Liu, R., Ding, Y., Du, L. (2006).** Constituents of the flower of *punica granatum*. *Fitoterapia* 77:534-537.

## The investigation of secondary metabolites content of *Punica granatum* L. in two natural regions of Golestan province, North of Iran

Mazandarani, M<sup>1</sup>., KhojamLi, Z<sup>1</sup>., Bayat, H<sup>2</sup>., Daneshvar, A<sup>3</sup>.

1. Biology faculty, Islamic Azad University of Gorgan branch

2. Niak pharmaceoical medicinal laboratory, Golestan, Iran

3. The faculty member of Gonbad higher education center

### Abstract

In current century, antioxidant activity of medicinal plant was the most valued for prevention and case treatment against cardiac and cancer ailments. *Punica granatum* L. belongs to Punicaceae family, is one of the most important medicinal shrub in North of Iran, with wild grown in sea level to mountainous habitats in Golestan provinces. Long times ago, it has been used by the rural people in traditional medicine of this region for treatment of their current ailments. In this research different parts of plant were collected and extracted by percolation method and their most secondary metabolites were obtained and evaluated by Pearson chi-square in  $P < 0.05$ . in two natural habitats. The survey of secondary metabolites showed content of flavonoids (96- 381.4 mg quercetin equivalents per gr) and total phenol (3.4mg cyaniding-3 glycoside equivalents per gr in dry powder of plant) were increased in juice and peel of fruit especially in higher region (375m), while anthocyanin contents in flower (375m) was more than of juice (140.1 381.4).

**Key Words:** *Punica granatum* L., Flavonoids, Total phenole, Anthocyanine, Different region, Golestan province, Mazandaran province, North of Iran