DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2013.4048

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۹، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ٦٦٥-٦٥١ (۱۳۹۲)

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، پست‌الکترونیک: m.aghdasi@gu.ac.ir
۳- استادیار، گروه آمار، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۰ تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: اسفند 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، سیلی‌کریستین، 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 فلاونویید 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

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 روزت روی زمین قرار می‌گیرند. گل‌های این گیاه لوله‌ای و بنفش رنگ هستند. میوه تخم‌مرغی شکل و رنگ آن عموماً قهوه‌ای تیره است (قهرمان، ۱۳٦۲). هر گل‌آذین کپه حدود ۱۰۰ دانه دارد و هر گیاه بین ۱۰ تا ۱۵ گل‌آذین

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، بین گرگان–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، ۱۳۸۸ب).

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 ٤٪ سیلی‌مارین است. ترکیب اصلی سیلی‌مارین سیلی‌بین است و بیشتر خواص بیولوژیکی سیلی‌مارین وابسته به حضور این ترکیب است (حسنلو و همکاران، ۱۳۸٦؛ 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 ٤٨٢/٤٢ می‌باشند. تاکسی‌فولین که از ترکیب فلاونوئیدی نارینجنین مشتق می‌شود، پیش‌ساز در مسیر بیوسنتز سیلی‌بین است (Cao *et al.*, 1996).

تحقیقات نشان داده است که ۸۰٪ فلاونوئیدهای این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانتی 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 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؛ Osuchoweski *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، ۱۳۸٦). مطالعات بیشتر بر روی بهینه‌سازی روش استخراج این ماده ارزشمند نیز نشان داده که متانول بیشترین اثر را در استخراج سیلی‌مارین دارد و به‌ترتیب 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 اصلی 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 کمّی و کیفی فلاونولیگنان‌ها نیز تأثیر می‌گذارند (امیدبیگی، ۱۳۷۷؛ حسنلو و همکاران، ۱۳۸٦). 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

از آن در بذرهای 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 بذرهای 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.

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 خیسانیدن 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 استات‌پتاسیم 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

در طول موج ٤١٥ نانومتر اندازه‌گیری شد؛ و از لوله آزمایش فاقد کوئرستین به‌عنوان شاهد استفاده شد. منحنی استاندارد براساس مقادیر مختلف کوئرستین و مقادیر جذب بدست آمده رسم گردید.

تهیه عصاره گیاهی

۰/۲۵ گرم از نمونه‌های گیاهی وزن شده و به هر یک از آنها ۲۵ مقدار میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت دو روز توسط شیکر همزده شد و بعد نمونه‌ها با کاغذ صافی صاف شدند؛ به باقیمانده ۲۵ میلی‌لیتر دیگر متانول ۸۰٪ اضافه شد و بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از ٢٤ 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 ۰/۲ میکرومتر صاف شدند.

استخراج فلاونولیگنان‌ها از دانه‌های گیاه خارمریم

مقدار ۳ گرم از دانه‌های گیاه خارمریم آسیاب شده و بعد به مدت ۱۰ ساعت در حلال پترولیوم اتر در سوکسله روغن‌گیری شد. پس از جداسازی روغن، نمونه‌ها کاملاً خشک شده و به مدت ١٦ ساعت با استفاده از متانول جهت استخراج سیلی‌مارین در دستگاه سوکسله قرار گرفتند. محلول متانولی زرد رنگ حاصل به مدت ۵ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفته و پس از تبخیر متانول پودر زرد رنگی بدست آمد. پودر حاصل با متانول به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و برای بررسی کیفی و کمّی فلاونولیگنان‌ها در شرایط تاریکی و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Quaglia *et al.*, 1999).

رسم منحنی استاندارد سیلی‌مارین

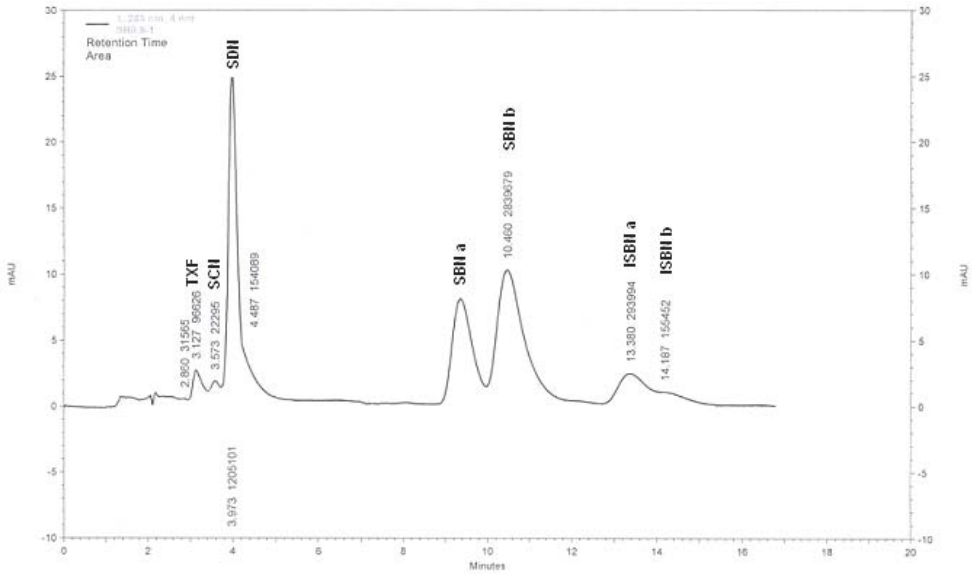
برای رسم منحنی استاندارد سیلی‌مارین محلول پایه‌ای با غلظت ۰/۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و بعد محلول‌هایی با غلظت‌های ۰/۳۵، ۰/۱۷۵ و ۰/۰۸۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آن تهیه شد. سپس منحنی استاندارد براساس مقادیر مختلف سیلی‌مارین رسم شد.

اندازه‌گیری فلاونولیگنان‌های عصاره متانولی گیاه خارمریم به روش HPLC

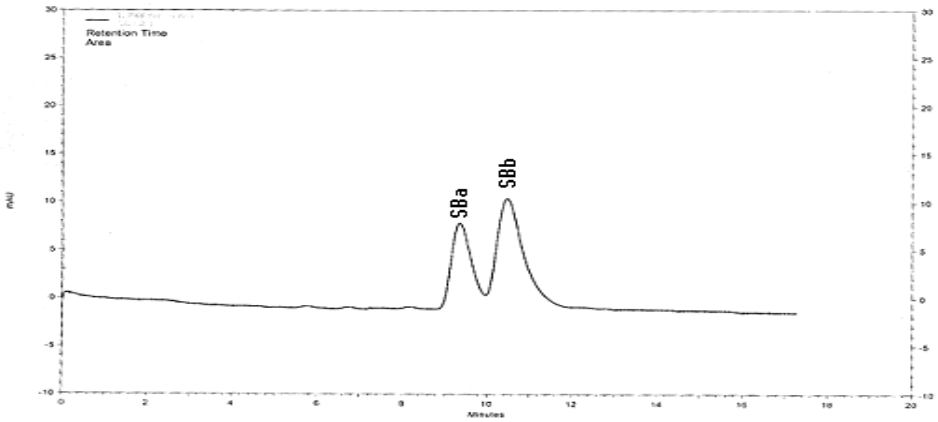
دستگاه HPLC مورد استفاده در این تحقیق از نوع Merck Hitachi ساخت کشور ژاپن با آشکارساز UV/VIS، دتکتور Diod Array، پمپ L-7100 Merck Hitachi و نرم‌افزار EZ chrome بوده‌است. برای انجام عملیات آنالیز، ۲۰ میکرولیتر از محلول سیلی مارین و سیلی بین استاندارد و عصاره نمونه های گیاهی به دستگاه تزریق شدند. از متانول و آب و با جریان یک میلی لیتر در دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده شد. نمونه‌ها پس از عبور از ستون 5 Nucleosil C_{18} µ (5x250) در طول موج ۲۸۸ نانومتر اندازه گیری شدند. شکل ۱ کروماتوگرام محلول متانولی سیلی‌مارین استاندارد را نشان می دهد. در این کروماتوگرام هفت پیک مشاهده شد که هر یک از آنها نشان‌دهنده یکی از ترکیب های فلاونولیگنان موجود در سیلی مارین خالص می‌باشد. شکل ۲ کروماتوگرام محلول متانولی سیلی‌بین خالص را نشان می‌دهد.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از Lsmeans، آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ به‌وسیله نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها و جدولها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.



شکل ۱- کروماتوگرام عصاره متانولی سیلی‌مارین خالص



شکل ۲- کروماتوگرام عصاره متانولی سیلی‌بین خالص

نتایج

مشخصات جغرافیایی منطقه گرگان

گرگان دارای طول جغرافیایی ٥٤/٢٦، عرض جغرافیایی ۳۲/۵ و ارتفاع از سطح دریای ۱٦۰ متر می باشد. ارتفاع شهر از سطح دریا ۱٦۰ 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

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 بوده‌است. میزان رطوبت نسبی نیز در ماه بهمن بالاترین رقم را به خود اختصاص داده‌است.

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.

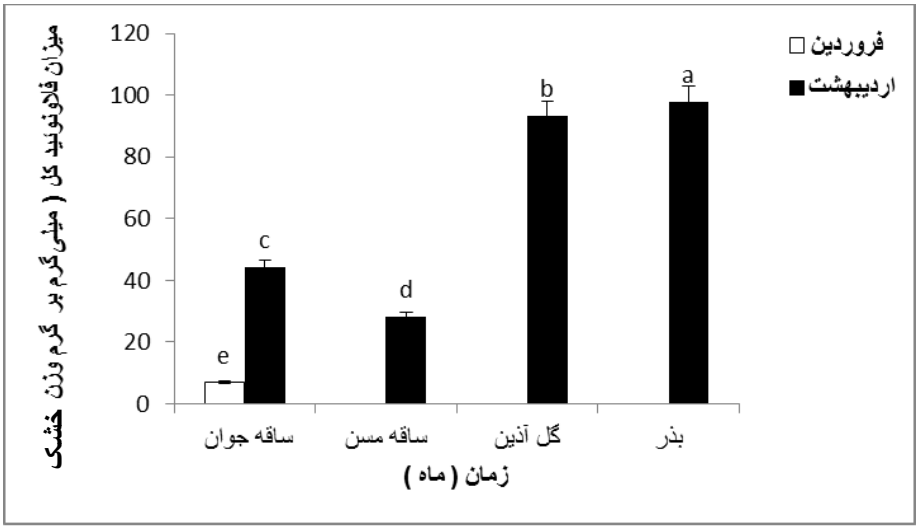
جدول ۱- اطلاعات هواشناسی شهرستان گرگان در سال ۸۷ و ۸۸

ماه‌ها	بارش (mm)	میانگین دما (°C)	حداکثر دما	حداقل دما	درصد رطوبت نسبی	تبخیر (mm)
مهر	۱۱۲/۱	۲۱/۸	۲٦/۹	۱٦/۸	۷۲	۱۰۰/۳
آبان	۳٦/۵	۱٤	۱۸/٦	۹/٤	۷۳	٤۰/۲
آذر	۵۱/۲	۱۰/۸	۱۰/۵	٦/۲	۷٦	۲۵/۷
دی	۱۵	٦/۷	۲۲/٤	-۲/٦	۷٤	۳۰/۱
بهمن	۱۱۲/۱	۹/۵	۲۳/٦	-۰/٦	۸۰	۳۲/۵
اسفند	۱۳/٤	۱۲/۱	۳۱/٤	۱	۷٤	۵۵/۷
فروردین	٦۳/۲	۱۲/٦	۲۹/٤	-۱	۷۵	۵۳/۵
اردیبهشت	۲۹/۸	۱۸/۸	۳۳/۲	۵/٤	۷۲	۱۱۱

بررسی میزان فلاونوئید کل بخش‌های مختلف گیاه در ماه‌های مختلف

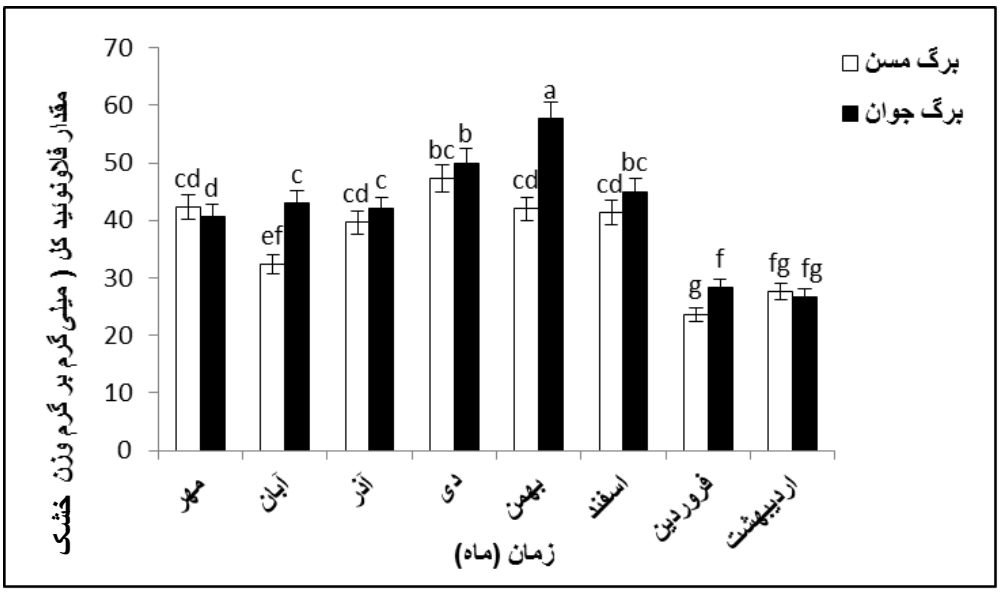
در این بررسی مقدار فلاونوئید کل بخش‌های مختلف گیاه شامل ریشه، برگ جوان و برگ مسن در ماه‌های رویشی و ساقه، گل‌آذین و بذر در ماه‌های زایشی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که اثر زمان بر میزان فلاونوئید در قسمت‌های مختلف گیاه معنی‌دار می‌باشد. نتایج حاصل از مقایسه اثر متقابل دو عامل نوع اندام و ماه‌های مختلف برداشت بر میزان فلاونوئید کل نشان داد که بالاترین مقدار فلاونوئید کل در بذر گیاه وجود دارد (۲٤/۹٦DW mg g^{-1}) و کمترین مقدار آن در ساقه‌های جوان ماه فروردین (۱/۸۲DW 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 فلاونویید 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 (۱۵/۳۷DW mg g^{-1}) و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن ماه فروردین (DW mg g^{-1} ٦/۰۱) مشاهده شده‌است (شکل ٤). بررسی میزان

فلاونوئید کل در اندام ریشه طی ماه‌های مختلف نشان داد که مقدار این ماده در ماه‌های مختلف برداشت بین ٤ تا ۸/۵۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاه متغیر بوده و بالاترین مقدار آن مربوط به نمونه دی و کمترین مقدار مربوط به نمونه اردیبهشت است. به‌طورکلی مقدار فلاونویید 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).



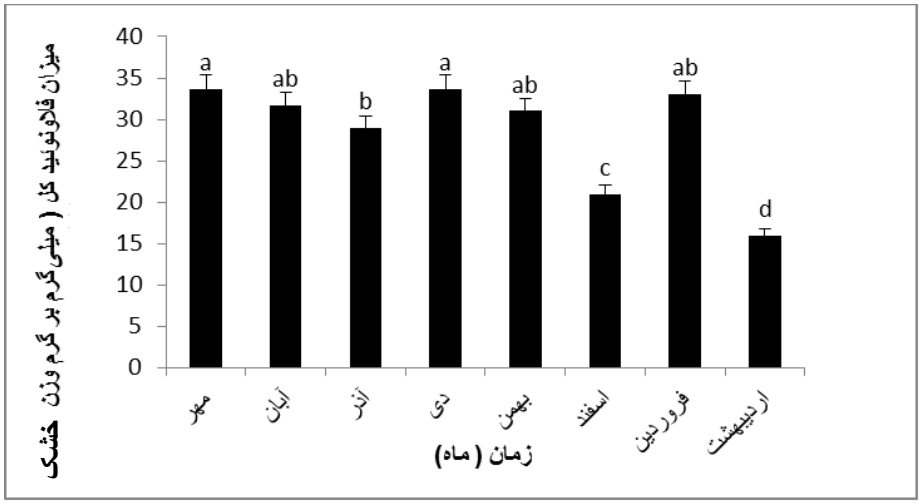
شکل ۳- مقایسه میزان فلاونوئید کل در اندام‌های زایشی گیاه خارمریم در ماه‌های فروردین و اردیبهشت

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



شکل ٤- مقایسه میزان فلاونوئید کل در برگ‌های جوان و مسن گیاه خارمریم در طی ماه‌های مختلف

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

بررسی کمّی و کیفی و فلاونولیگنان‌های اندام‌های مختلف گیاه خارمریم

از آنجا که بالاترین میزان فلاونویید 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 (DW $mg\ g^{-1}$ ۹/۹۹۶). در حالی‌که میزان سیلی‌مارین کل در برگ‌های جوان و ریشه تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند (۲/۰۶۵DW $mg\ g^{-1}$ و ۳/۰۷۵). 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 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).

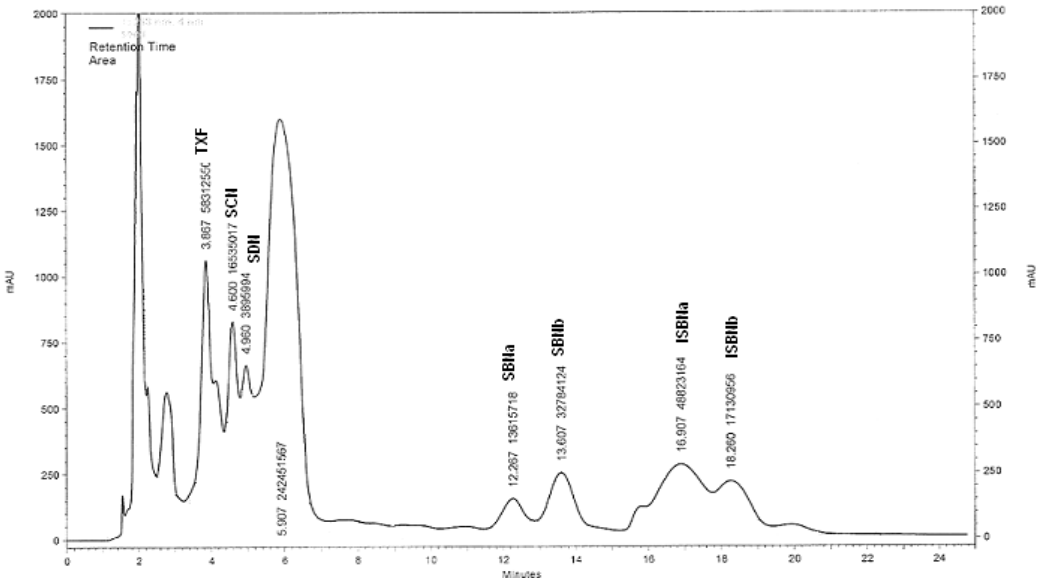
ماه بهمن

در نمونه‌های مختلف برداشت ماه بهمن بالاترین مقدار سیلی‌مارین کل در برگ‌های جوان مشاهده شد (DW $mg\ g^{-1}$ ۳/۱۸۲) و کمترین مقدار سیلی‌مارین کل در برگ‌های مسن و ریشه مشاهده شد (۰/۳۱۶DW $mg\ g^{-1}$ و ۰/۲۴۹). 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 (۱/۱۵۰$mg\ g^{-1}$ DW). به‌طوری که مقدار فلاونولیگنان‌های سیلی‌کریستین، سیلی‌بین آ و ب در هر سه اندام تفاوتی را با یکدیگر نشان نداده‌است.

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

ماه اردیبهشت

در نمونه‌های مختلف برداشت ماه اردیبهشت بالاترین مقدار سیلی‌مارین کل در نمونه بذر (۳۲/۷۷۹DW mg g^{-1}) و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن و ریشه (DW mg g^{-1} ۲/۳ و ۲/۳۶) مشاهده شده‌است (شکل ٦ و جدول ۲). همچنین ساقه‌های مسن و گل‌آذین نیز نسبت به سایر بخش‌ها از سیلی‌مارین بیشتری برخوردار بودند (DW mg g^{-1} ۱۷/۸۳۳ و ۱۲). بررسی اجزای سیلی‌مارین در نمونه‌های این ماه نشان داد که بیشترین مقدار تاکسی‌فولین در بذر (۲/۳DW mg g^{-1}) و بعد در ساقه‌های مسن (DW mg g^{-1} ۲/۲۸۵) وجود داشته و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن دیده شده‌است. مقدار این ترکیب در گل‌آذین، ساقه‌های جوان و برگ‌های جوان تفاوتی را نشان نداد. البته بیشترین مقدار سیلی‌کریستین در بذر مشاهده شد (DW mg g^{-1} ٤/۷۳٦). پس از بذر گل‌آذین، ساقه‌های مسن و برگ‌های جوان از سیلی‌کریستین بیشتری برخوردار بودند. کمترین مقدار این ترکیب در ساقه‌های جوان دیده شده‌است. بررسی فلاونولیگنان سیلی دیانین نشان داد که بالاترین مقدار آن در ساقه‌های مسن (۱۱/٦۷DW mg g^{-1}) و کمترین مقدار آن در برگ‌های مسن و ریشه وجود دارد. بالاترین مقدار سیلی‌بین آ در بذر دیده شده‌است (۳/۵۸DW mg g^{-1}). مقدار سیلی‌بین آ در گل‌آذین، ساقه‌های جوان و مسن تفاوتی را با هم نشان نداد و از سایر اندام‌ها بیشتر بود. همچنین بیشترین مقدار سیلی‌بین ب در بذر (٥/٨٤ DW mg g^{-1}) و کمترین مقدار آن در گل‌آذین (۰/۱۹۹DW mg g^{-1}) مشاهده شد. ساقه‌های مسن نیز از مقدار بالایی سیلی‌بین ب برخوردار بودند. سایر اندام‌ها از نظر مقدار این ترکیب تفاوتی با هم نداشتند. بررسی دو فلاونولیگنان ایزوسیلی‌بین 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).



شکل ٦- کروماتوگرام عصاره متانولی نمونه بذر

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

	سیلی کریستین	سیلی دیانین	سیلیبین آ	سیلیبین ب	ایزو سیلیبین آ	ایزو سیلیبین ب	سیلیمارین
	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
	۰/۰۱۷±۰/۸	۰/۰۱۲±۰/۱۸۷	۰/۰۱۷±۰/۰۲۶۷	۰/۰۰۵±۰/۳۵۵	۰/۰۱±۰/۰۰۹	۰/۰۲۶±۰/۲۵۳	۰/۰۵۵±۲/۰۶۵
	۰/۰۱۲±۰/۷۸۷	۰/۰۱۸±۰/۱۴۲	۰/۰۰۱±۰/۲۶۱	۰±۰/۴	۰/۰۰۲±۰/۱۰۲	۰/۰۰۰۵±۰/۲۵	۰/۸۹±۳/۰۷۵
	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
	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
	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
۰±	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
	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
	۰/۰۰۲±۰/۷۸۲	۰/۰۲±۰/۳۳۶	۰/۰۰۷±۰/۲۵۹	۰/۰۴۲±۰/۳۸۲	۰/۰۲۹±۰/۰۹۱	۰/۰۲±۰/۱۶	۰/۱۲۲±۲/۳۶
	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
	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
	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
	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

بررسی همبستگی بین ترکیب‌های فلاونولیگنانی اندازه‌گیری شده در گیاه خارمریم

بررسی همبستگی بین سیلی‌مارین 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 سیلی‌مارین نیز وجود دارد. به‌طوری که با افزایش هر یک از فلاونولیگنان‌ها مقدار سیلی‌مارین افزایش می‌یابد. البته رابطه همبستگی بین سیلی‌بین آ و ب، ایزوسیلی‌بین آ و ب و تاکسی‌فولین با یکدیگر و با سیلی‌مارین نسبت به دو ترکیب دیگر یعنی سیلی‌کریستین و سیلی‌دیانین بالاتر می‌باشد (جدول ۳).

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

اندام	درجه آزادی	جمع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	سطح معنی‌داری
برگ مسن	۷	۷۵/۵۰۸	۳۷/۷٥٤	۱۱۳/۷۲	۰/۰۰۰۱
برگ جوان	۷	۳/۵۹	۱/۷۹	۸/۷۲	۰/۰۰۹۷
ریشه	۷	۰/۸۱۵	۱/٤	۲/۹۸	۰/۰۰۱
خطا	۸	۱/٦٤۳	۰/۲۰۵		

بحث

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 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 نموی صورت می‌پذیرد مطابقت دارد (Hornuk, 1988).

گزارش‌ها نشان داده که نسبت ترکیب‌های حاضر در سیلی‌مارین 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

دستگاه HPLC نشان داد که نوع ترکیب‌های سازنده سیلی‌مارین در نمونه‌های مورد بررسی مشابه بوده و اختلاف اساسی آنها در مقدار فلاونولیگنان‌های سازنده آنهاست. نتایج حاصل از این آنالیز نشان داد که دانه گیاه بیشتر از سایر قسمت‌های گیاه حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی و سیلی‌مارین است. با وجودی‌که 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 (Hassanloo *et al.*, 2005؛ Rajabian *et al.*, 2008). 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 به‌ترتیب 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 (۳۲/۷۵DW mg g^{-1} و ۱۷/۸۳۳) مشاهده شده‌است که نشان‌دهنده آنست که بذرهای 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 بیوسنتز سیلی‌مارین عمل می‌کند. این ترکیب از نارینجنین و با فعالیت دو آنزیم چالکون‌سنتاز و چالکون‌ایزومراز تولید می‌شود. این دو آنزیم اولین آنزیم‌های مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها هستند، بنابراین می‌توانند به‌عنوان نقطه کلیدی در کنترل متابولیکی این مسیر بیوسنتزی 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 علاوه‌بر 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 کمّیت 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 (امیدبیگی، ۱۳۸۸الف). مشاهدات و مقایسات حاصل از این تحقیق با نظرات محققان مختلف مبنی بر اینکه کیفیت و کمّیت مواد مؤثره گیاهان دارویی به اندام و بافت و شرایط محل رویش بستگی دارد کاملاً منطبق می‌باشد. به گونه‌ای که مقدار

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 DW ۱۷/۷۵mg 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

- امیدبیگی، ر.، ۱۳۷۷. بررسی تولید سیلی‌مارین و سیلی‌بین در گیاه ماریتیغال با کشت بذور وحشی و زراعی آن. علوم کشاورزی ایران، ۲۹(۲): ٤۲۱-٤۱۳.
- امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۸الف. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۲۸۳ صفحه.
- امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۸ب. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد دوم). انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۳٤۷ صفحه.
- حسنلو، ط.، خاوری‌نژاد، ر. و مجیدی هروان، ا.، ۱۳۸٦. بررسی صفات مورفولوژیکی و انباشت فلاونولیگنان‌ها در گیاه خارمریم کشت شده و بومی ایران. گیاهان دارویی، ٦(۲۲): ۹۰-۷۷.
- شریفی، س.، ۱۳۸٦. 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 رجبیان، ط.، ۱۳۸۳. بررسی اثر حلال‌های مختلف در استخراج سیلی‌مارین از بذر گیاه خارمریم. گیاهان دارویی (ویژه‌نامه خارمریم)، ٤: ۱۲-۷.
- فلاح‌حسینی، ح.، همتی مقدم، ا.ر. و علویان، س.م.، ۱۳۸۳. مروری بر گیاه دارویی خارمریم. گیاهان دارویی، ۳(۱۱): ۲٤-۱٤.
- قهرمان، ا.، ۱۳٦۲. 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-suplemented 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 termeztese, 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 intaktes 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 (*Zingeber 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.

- 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 transfarase 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. Jmmu-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.
- Osuchoweski, M.F., Johson, 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 liqid 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.

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

H. Kordi[1], M. Aghdasi[2*] and M. Khalafi[3]

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.aghdasi@gu.ac.ir
3- Faculty of Science, Golestan University, Golestan, Iran

Received: September 2011 Revised: January 2012 Accepted: February 2012

Abstract

Silybum 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 *Silybum 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 marinum* 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: *Silybum marianum* L., silymarin, silybin, medicinal, HPLC.