

"Research Paper"

A Comparative Study of Total Phenolic, Total Flavonoid Contents and Antioxidant Capacity of Aerial Parts Extracts of *Ferulago angulata* in Different Developmental Stages

Arezou Kianipour¹, Zahra Baghaeifar², Hamid Darvishnia¹ and Shahriar Saeidian¹

1- Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran,

(Corresponding Author: z_baghaeifar@pnu.ac.ir)

Received: 9 September, 2022 Accepted: 18 March, 2023

Extended abstract

Introduction and Objective: Recently, there has been an increased interest in identifying natural antioxidant compounds for use in the pharmaceutical and food industries, mainly due to increased unintentional side-effects of synthetic antioxidants. The present study aimed to evaluate the total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of ethanolic extract from aerial parts of *Ferulago angulata* in three developmental stages from two natural habitats of Ilam Province.

Materials and Methods: The extracts were prepared from aerial parts of *Ferulago angulate* plant. The total phenol and flavonoid contents of extracts were measured spectrophotometrically by using Folin-Ciocalteu reagent and aluminium chloride, respectively. The antioxidant capacity was determined by DPPH method. The results of this method were expressed by calculating the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of the extract in different developmental stages.

Results: The results showed that the highest phenolic and flavonoid content is in the flowering development stage of Kabirkouh habitat. The DPPH scavenging activity results of methanolic extracts showed that the lowest IC₅₀ value (the highest antioxidant activity) and the highest IC₅₀ value (the lowest antioxidant activity) of methanolic extracts were 0.71 and 2.06 mg/ml at developmental flowering and pre-flowering stages, respectively.

Conclusion: All extracts showed antioxidant activity, which is more effective in the developmental flowering stage of Kabirkouh habitat. This plant can be considered an available source of natural antioxidants that can be used in the food and pharmaceutical industries. In the study of two habitats and three developmental stages, Kabirkouh habitat and the flowering developmental stage are suggested as the most suitable habitats and developmental time to collect this medicinal plant.

Keywords: Antioxidant, Ilam Province, Medicinal Plant, Methanolic Extract, Phenol and Flavonoid



"مقاله پژوهشی"

مطالعه مقایسه‌ای میزان فنول کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مراحل مختلف نموی عصاره اندام‌های هوایی گیاه دارویی چویر (*Ferulago angulata*)

آرزو کیانی‌پور^۱، زهرا بقایی‌فر^۲، حمید درویش‌نیا^۱ و شهریار سعیدیان^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
 ۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، (نویسنده مسؤل: z_baghacifar@pnu.ac.ir)
 تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۷ صفحه: ۱۶۵ تا ۱۷۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: اخیراً توجه به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی به‌منظور استفاده در صنایع دارویی و غذایی به دلیل عوارض ناخواسته آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی افزایش یافته است. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی محتوی فنلی و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بخش‌های هوایی گیاه چویر (*Ferulago angulata*) در سه مرحله نموی از دو رویشگاه طبیعی آن در استان ایلام بود.

مواد و روش‌ها: ابتدا از اندام‌های هوایی گیاه چویر عصاره تهیه شد. سپس به‌منظور سنجش میزان فنول و فلاونوئید کل به‌ترتیب از معرف‌های فولین سیوکالتیو و کلرید آمونیوم و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش DPPH استفاده شد. نتایج این روش با محاسبه غلظت مهار ۵۰ درصد (IC₅₀) عصاره در مراحل مختلف نموی بیان گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیشترین محتوی فنل و فلاونوئید کل برای رویشگاه کبیرکوه و مرحله نموی گلدهی می‌باشد. نتایج آزمون به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد که کمترین عدد IC₅₀ (بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی) برای عصاره متانولی مرحله نموی گلدهی و بیشترین عدد IC₅₀ (کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی) در مرحله پیش از گلدهی به‌ترتیب ۰/۷۱ و ۲/۰۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: تمامی عصاره‌ها دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بوده که در مرحله نموی گلدهی رویشگاه کبیرکوه بیشتر است. این گیاه را می‌توان منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی در دسترس در نظر گرفت که می‌تواند در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه دو رویشگاه و سه مرحله نموی، رویشگاه کبیرکوه و مرحله نموی گلدهی به‌عنوان مناسب‌ترین رویشگاه و زمان نموی برای جمع‌آوری گیاه دارویی چویر پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: استان ایلام، آنتی‌اکسیدان، عصاره متانولی، فنل و فلاونوئید، گیاه دارویی

مقدمه

اصطلاح گیاه دارویی تنها به‌عنوان شفاء‌دهنده بیماری‌ها استفاده نمی‌شود و اغلب از آنها به‌عنوان طعم‌دهنده، نوشیدنی، شیرین‌کننده، رنگدانه‌های طبیعی و ... استفاده می‌شود (Karimian *et al.*, 2013). در سالیان اخیر، تنوع کمیت و کیفیت مواد موثره دارویی و نیز عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی تحت شرایط اکولوژیکی متفاوت باعث شده تا در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌ها به‌عنوان منبعی ارزشمند و طبیعی از آنتی‌اکسیدان‌های جدید مطرح شوند. عملکرد گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلفی نظیر گونه، اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی اکوسیستم‌های مختلف قرار دارد. هر یک از این عوامل می‌توانند تأثیر به‌سزایی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهان داشته باشند (Habibi *et al.*, 2007). گیاهان همواره در معرض تنش‌های محیطی مانند تنش اکسیداتیو قرار دارند که خود می‌تواند منجر به غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ساختار غشاء شود. به‌طور طبیعی همواره در گیاهان به جهت ممانعت از این تنش‌های اکسیداتیو واکنش‌هایی صورت می‌گیرد و بسته به گونه گیاهی، مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان سنتز شده که آنها را در مقابل گونه‌های مضر اکسیژن فعال شده محافظت می‌کند. برای مثال گیاهان سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان قوی مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی مختلفی را به کار می‌اندازند که مسئول حذف یا غیرفعال کردن اکسیژن فعال

شده است و علاوه بر این کار مقاومت گیاهان به این شرایط را افزایش می‌دهند. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی علاوه بر اینکه آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند، جزء متابولیت‌های ثانویه گیاهی نیز محسوب می‌شوند و در تحمل تنش‌های محیطی در گیاهان موثر هستند. بافت‌های برگ و میوه گیاهان منبع مهمی از این گروه ترکیبات آلی (متابولیت‌های ثانویه) محسوب می‌شوند که توسط انسان به‌عنوان ترکیب دارویی مصرف می‌شوند (Azizian *et al.*, 2017; Saberi *et al.*, 2018).

گیاه چویر با نام علمی *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss که با نام‌های فارسی چویر، چویل و چنور شناخته می‌شود، متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) می‌باشد. این سرده دارای پراکندگی زیادی در ایران بوده و در استان‌های کردستان، همدان، مرکزی، لرستان، فارس، قزوین، کرمانشاه، چهارمحال و بختیاری و ایلام پراکنش دارد. تاکنون ۳۱ گونه از سرده *Ferulago* برای ایران گزارش شده که ۱۶ گونه آن اندمیک می‌باشد (Esmaeili *et al.*, 2012). چویر گیاهی پایه، بدون کرک، ایستاده، منفرد، دارای خطوط طولی یا شیاردار دارای انشعابات چرخه‌دار، کم‌رنگ و متمایل به کبود، وسیع، پهن دراز، بسیار بریده با تقسیمات تقریباً غیر مشخص و ریز است. قسمت مورد استفاده گیاه شامل برگ، ساقه و گل می‌باشد (Mozaffarian, 2008). این گیاه علاوه بر معطر کردن روغن حیوانی و دیگر فرآورده‌های لبنی، دارای مواد موثره و نگهدارنده‌های قوی برای مواد لبنی می‌باشد. دارای

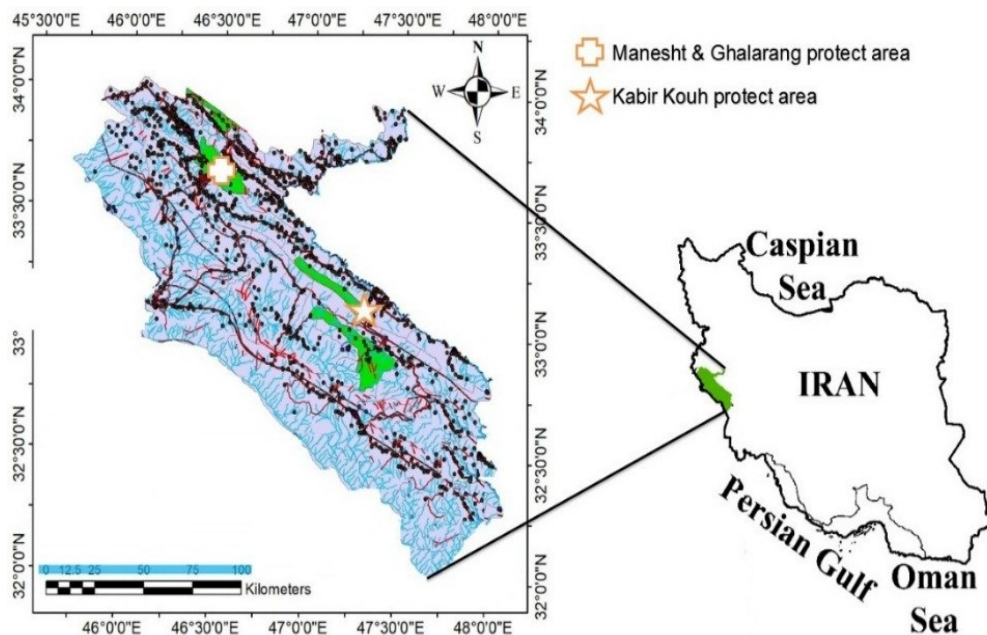
مختلف رشد گیاهان متفاوت است که این امر در کیفیت عملکرد دارویی گونه‌ها موثر می‌باشد. با توجه به کاربردهای فراوان گیاهان دارویی و عصاره آن‌ها در صنایع مهم، همچون داروسازی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و عطرسازی، و نیز موقعیت جغرافیایی ایران با آب و هوای بسیار متنوع، بررسی وجود ارتباط بین عوامل محیطی و اکولوژیک با تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، می‌تواند مفید باشد. با توجه به اینکه متابولیت‌های ثانویه خاص در گیاه تولید شده یا دارای میزان بیشتری هستند، در این راستا، هدف این تحقیق بررسی فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی، محتوای فنل و فلاونوئید کل در مراحل مختلف نمو اندام‌های هوایی گیاه دارویی چویر در دو جمعیت آن در استان ایلام، به‌منظور معرفی، بهترین زمان، نمو و اقلیم مناسب برای کشت و برداشت این گیاه دارویی است.

مواد و روش‌ها

اقلیم و مشخصات جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه
استان ایلام واقع در غرب کشور و جای گرفته در دل زاگرس با وسعتی حدود ۲۰۱۵۰ کیلومتر مربع، حدود ۱/۴ درصد از مساحت کشور را در بر دارد. دارای اقلیم‌های متفاوت آب و هوایی، چشم‌اندازهای طبیعی و زیبا، گونه‌های متنوع گیاهی و جانوری است (شکل ۱).

فلاونوئیدها، استروئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین‌ها، تانن، رزین، پتاسیم، نیترات، فسفر، آهن، سدیم، کلسیم، گوگرد، کلر، اسید آسپارتیک و اسید گلوتامیک است. این گیاه دارای فواید مختلفی از جمله خاصیت ضد میکروبی، ضد باکتریایی، آن‌تی‌اکسیدانی، مهار سیکلو‌اکسیژناز، پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد، مهار پراکسیداسیون چربی و تعدیل عوامل التهابی است (Pouzesh *et al.*, 2018).

در طی سالیان اخیر داردرفشی و همکاران (Darderafshi *et al.*, 2014)؛ شریفی و همکاران (Sharifi *et al.*, 2015)؛ فرجام‌پور و همکاران (Farjampour *et al.*, 2016)؛ حسینی و همکاران (Hosseini *et al.*, 2017)؛ رفیعی راد و همکاران (Rafieirad *et al.*, 2018) و آقاجانی و همکاران (Aghajani *et al.*, 2019) به مطالعه علمی گیاه چویر از جنبه‌های مختلف پرداخته‌اند. همچنین مطالعاتی توسط کمالی و همکاران (Kamali *et al.*, 2014)؛ جعفری و همکاران (Jafari *et al.*, 2015)؛ عزیزیان شرمه و همکاران (Azizian *et al.*, 2017)؛ صابری و همکاران (Saber *et al.*, 2017)؛ منتشلو و همکاران (Mantashlo *et al.*, 2017) و فاضلی نسب و همکاران (Fazeli-nasab *et al.*, 2019) بر روی شناخت عوامل موثر بر مقادیر کمی و کیفی مواد موثره، و نیز تغییرات کمی و کیفی اسانس و عصاره گیاهان دارویی دیگری انجام گرفته است و مشخص شده که کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان در رویشگاه‌های مختلف و زمان‌های



شکل ۱- موقعیت منطقه مطالعاتی روی نقشه‌های ایران و استان ایلام
Figure 1. Location of the study area on the maps of Iran and Ilam province

وسعت این منطقه ۳۳ هزار هکتار بوده که در طول ۴۶ درجه و ۱۸ دقیقه تا ۴۶ درجه و ۳۷ دقیقه شرقی و عرض ۳۳ درجه و ۲۶ دقیقه تا ۳۳ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی واقع شده است (شکل ۱). منطقه‌ای کوهستانی از سلسله جبال زاگرس است

در این پژوهش نمونه‌های گیاهی از دو رویشگاه جمع‌آوری شد که مشخصات آنها در جدول ۱ نشان داده شده است. رویشگاه نخست شامل منطقه حفاظت شده مانشت و قلازنگ می‌باشد که در شمال استان ایلام واقع شده است.

کیلومتر افزایش ارتفاع میانگین دمای سالانه ۸/۳ درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد. میانگین دمای روزانه منطقه ۹/۸ درجه سانتی‌گراد، میانگین حداکثر دمای منطقه ۱۸/۴ درجه سانتی‌گراد، میانگین حداقل دمای منطقه ۶ درجه سانتی‌گراد و متوسط ایام یخبندان ۴۲ روز در سال است. حداقل مطلق دما ۱۵- درجه سانتی‌گراد در بهمن ماه و ماکزیمم مطلق سالیانه ۴۷ درجه سانتی‌گراد است (Jafari, 2008).

که سیمای آن از ارتفاعات خیلی مرتفع و تپه ماهورهای ناهمگن و دره‌های عمیق تشکیل شده است. حدود ۷۰٪ منطقه را تپه‌های کوهستانی، ۱۹٪ را تپه‌های و ۱۱٪ را تپه‌های جلگه‌ای مرتفع تشکیل می‌دهد. میانگین بارندگی سالیانه محدوده منطقه حفاظت شده بر اساس نقشه خطوط همباران سالیانه معادل ۶۳۲ میلی‌متر محاسبه شده است. تجزیه و تحلیل‌های انجام شده نشان می‌دهد که به ازاء هر

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های مورد مطالعه

Table 1. Characteristics of the studied habitats

درصد رطوبت نسبی Relative humidity percentage	متوسط بارندگی سالیانه (mm) Average annual precipitation	میانگین درجه حرارت سالیانه (°C) Average annual temperature (°C)	ارتفاع از سطح دریا محل نمونه‌برداری Sampling site elevation	حداقل و حداکثر ارتفاع از سطح دریا (متر) Minimum and Maximum elevation (meter)	رویشگاه Habitat
51.2	632	9.8	1651 m	2650-1105	مانشت و قلا رنگ Manesht and Ghalarang
47.1	469	18.6	2210 m	2790-950	کبیرکوه Kabirkouh

سنجش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنول و فلاونوئید کل

از مهار رادیکال آزاد DPPH و تغییر در میزان جذب نوری برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چوبی استفاده گردید. بدین منظور ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی تهیه شده از گیاه را با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH مخلوط نموده و به مدت نیم ساعت در شرایط تاریکی قرار داده شد. میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر 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.

مقدار فنول کل گیاه با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. برای این کار به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی گیاه، 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 به‌عنوان استاندارد به کار رفت و میزان آن بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره (بر حسب میانگین آنها) گزارش شد.

به‌منظور سنجش میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و استفاده از اسپکتروفوتومتر 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 اسپکتروفوتومتر خوانده شد. به‌منظور رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین متانولی در غلظت‌های مختلف تهیه شد و منحنی

رویشگاه دوم منطقه حفاظت شده جنگلی کبیرکوه می‌باشد. منطقه‌ای کوهستانی از سلسله جبال زاگرس است که در دامنه ارتفاعی ۹۵۰ تا ۲۷۹۰ متر از سطح دریا، و در ۴۶ درجه و ۵۵ دقیقه تا ۴۷ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ۳۳ درجه و ۱۰ دقیقه تا ۳۳ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی در شهرستان دره‌شهر در جنوب استان ایلام قرار دارد. این منطقه به لحاظ داشتن تنوع ارتفاعی دارای اکوسیستم‌های مختلف بوده که اغلب غیر قابل دسترس هستند و نسبت به سایر مناطق، به صورت بکر و دست نخورده باقی مانده‌اند. از نظر حرارتی دارای اقلیم‌های گوناگونی است و متوسط درجه حرارت در نقاط مختلف آن متفاوت است. در این منطقه به ازاء هر کیلومتر افزایش ارتفاع میانگین دمای سالیانه ۸/۵ درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد. بنابراین میانگین سالیانه دما در ارتفاعات مختلف بین ۵ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد متغیر است. میانگین رطوبت نسبی سالانه منطقه ۴۷/۱، حداکثر مطلق سالیانه ۵۶/۱ و حداقل مطلق سالیانه ۳۹/۱ درصد است. کمترین و بیشترین میزان رطوبت نسبی به ترتیب در مرداد ماه و بهمن ماه می‌باشد (Jafari, 2008).

جمع‌آوری، آماده‌سازی و تهیه عصاره متانولی نمونه‌های گیاهی

بخش‌های هوایی گیاه در مراحل مختلف نموی در اواخر فصل زمستان و فصل بهار، به ترتیب در دو منطقه جغرافیایی در نیمه شمالی و نیمه جنوبی استان ایلام، شامل ارتفاعات مانشت و قلا رنگ در شهرستان ایلام و ارتفاعات کبیر کوه در محدوده شهرستان دره‌شهر که دارای آب و هوای متفاوتی هستند جمع‌آوری شده و مورد شناسایی قرار گرفتند. پس از زدودن گرد و خاک و مواد اضافی نمونه‌ها، بخش‌های هوایی گیاه در دمای اتاق و در سایه خشک شدند. نمونه‌ها توسط دستگاه آسیاب به پودر تبدیل و در شرایط بهینه و مناسب نگهداری شدند. با استفاده از دستگاه کلونجر 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 در مراحل نموی مختلف بر حسب گرم اسانس بر گرم ماده خشک گیاه یادداشت گردید.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به میزان عصاره در سه مرحله مختلف نموی از دو رویشگاه مختلف با ارتفاع از سطح دریای متفاوت نشان داد که بیشترین میزان عصاره مربوط به مرحله گلدهی رویشگاه کبیرکوه با ارتفاع ۲۲۱۰ متر بالاتر از سطح دریا (۸/۴۳ گرم) و کمترین آن مربوط به مرحله پیش از گلدهی رویشگاه مانشت قلارنگ با ارتفاع از سطح دریای ۱۶۵۱ متر می باشد (۶/۰۸ گرم). در جدول ۲ مقادیر مربوط به میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان فنل و فلاونوئید کل در مراحل مختلف نموی گیاه چوپر آورده شده است.

با نرم افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط $y=ax + b$ بدست آمد. جذبهای خواننده شده از نمونهها به جای y قرار داده شد و X یا همان غلظت به دست آمد.

آنالیزهای آماری

در پژوهش حاضر، آنالیز آماری دادهها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ و مقایسه میانگین دادهها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. همچنین با استفاده از نرم افزار Excel 2013 نمودارهای مورد نیاز رسم گردید.

جدول ۲- مقادیر فنول کل، فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی بخش‌های هوایی گیاه چوپر

منطقه مورد مطالعه Study area	مرحله نموی Developmental stage	فنول کل Total phenol (mg GAE/g DW)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg Q/g DW)	میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (IC ₅₀) The amount of antioxidant activity (IC ₅₀)
مانشت و قلارنگ Manesht and Ghalarang	قبل از گلدهی Pre-flowering phase	4.95	1.64	1.64
	زمان گلدهی Flowering phase	8.07	2.71	0.89
	پس از گلدهی Post flowering phase	6.37	2.75	1.47
کبیرکوه Kabirkouh	قبل از گلدهی Pre-flowering phase	5.73	1.92	2.06
	زمان گلدهی Flowering phase	8.90	2.93	0.71
	پس از گلدهی Post flowering phase	7.06	2.69	1.13

ارزیابی فعالیت جارو کردن رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌های گیاهی با استفاده از رادیکال آزاد DPPH انجام شد. در این ارزیابی از اسید آسکوربیک به عنوان کنترل استاندارد استفاده گردید. سپس IC₅₀ هر نمونه عصاره و آسکوربیک اسید محاسبه گردید. معمولاً جهت مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان IC₅₀ استفاده می‌شود که به غلظتی از عصاره گفته می‌شود که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط واکنش مهار می‌شوند و هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان‌دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارد که در این مطالعه کمترین میزان IC₅₀ مربوط به مرحله نموی گلدهی در رویشگاه کبیرکوه و مانشت قلارنگ با مقدار IC₅₀ بر حسب میلی گرم به ترتیب ۰/۷۱ و ۰/۸۹ بود. بیشترین میزان IC₅₀ که نشان‌دهنده میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کمتر است نیز مربوط به مرحله قبل از گلدهی در رویشگاه کبیرکوه و مانشت قلارنگ با میزان IC₅₀ به ترتیب ۲/۰۶ و ۱/۶۴ میلی گرم بود (جدول ۲). برای محاسبه محتوای فنل کل (TPC)، معادله حاصل از منحنی استاندارد اسید گالیک به صورت $Y=51.412X+0.0197$ ($R^2=0.9935$) است (شکل ۲). بر اساس این معادله، محتوای فنل عصاره‌های مختلف اندازه‌گیری شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان فنل کل (بر حسب میلی گرم اسید گالیک بر وزن خشک) برای عصاره متانولی نمونه‌های اندام‌های هوایی گیاه دارویی چوپر در سه مرحله نموی در مناطق حفاظت شده مانشت و قلارنگ، و کبیرکوه در استان ایلام در جدول ۲ نشان داده شده است.

شکل ۲- منحنی استاندارد اسید گالیک برای تعیین فنول کل عصاره اندام‌های هوایی چوپر

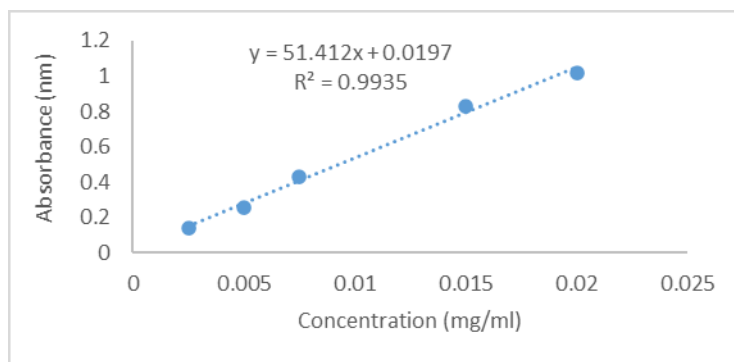
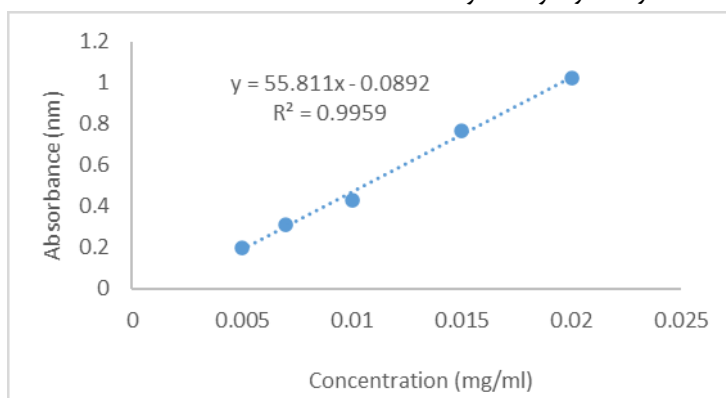


Figure 2. Standard curve of gallic acid for determination the total phenolic extract of aerial parts of *Ferulago angulata*

نموی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.01$). مقادیر فلاونوئید کل (TFC) بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک (mg QE/gr DW) را برای عصاره متانولی اندام‌های هوایی گیاه دارویی چوپر در دو منطقه مطالعاتی و سه مرحله نموی آن در استان ایلام در جدول ۲ نشان داده شده است. معادله مربوط به منحنی استاندارد کوئرستین برای محاسبه محتوای فلاونوئید کل به صورت $Y = 55.811X - 0.0892$ ($R^2 = 0.9959$) است (شکل ۳).



شکل ۳- منحنی استاندارد کوئرستین برای تعیین فلاونوئید کل عصاره بخش‌های هوایی چوپر
Figure 3. Standard curve of quercetin for determination of the total flavonoid contents of aerial parts of *Ferulago angulata*

کار رفت. نتایج به دست آمده نشان داد که میزان گرم عصاره بر گرم ماده خشک گیاه در مرحله گلدهی جمعیت رویشگاه کبیرکوه بیشترین میزان عصاره را دارا بود (۸/۴۳ گرم)؛ و کمترین میزان آن مربوط به مرحله پیش از گلدهی نمونه‌های منطقه مانشت و قلازنگ بود (۶/۰۸ گرم). میزان عصاره استخراج شده در دو رویشگاه مورد مطالعه و نیز مراحل مختلف نموی با یکدیگر متفاوت بود. در همین رابطه تغییر میزان اسانس و عصاره در مراحل مختلف رشد در مورد برخی از گیاهان قبلاً گزارش شده است (Batooli *et al.*, 2016; Hosseini *et al.*, 2017; Saberi *et al.*, 2018). وجود تفاوت‌های کمی ترکیبات و نسبت‌های مربوط به اجزای تشکیل‌دهنده عصاره تحت تاثیر ژنوتیپ، مرحله تکوینی و رشد و نموی گیاه، زمان برداشت گیاه و نیز ارتفاع محل نمونه‌برداری از سطح دریا ارتباط داشته باشد (Hosseini *et al.*, 2017). با توجه به اینکه در مرحله گلدهی دارای بیشترین مقدار عصاره می‌باشد لذا می‌توان پیشنهاد نمود که مناسب‌ترین مرحله نموی و بهترین منطقه آب و هوایی جهت حصول بهترین کمیت و کیفیت عصاره حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، مرحله گلدهی و منطقه با آب و هوای گرم‌تر می‌باشد. بیشترین مقدار فنول کل در مرحله گلدهی و از منطقه کبیرکوه حاصل شد. بررسی سیر تغییرات فنول کل نشان می‌دهد که با پیشرفت مراحل نموی میزان فنول و فلاونوئید کل از مرحله نموی قبل از گلدهی تا گلدهی افزایش می‌یابد و در فاصله زمانی بین گلدهی و پس از گلدهی تا حدودی کاهش می‌یابد. همچنین مشخص گردید که عصاره

با توجه به جدول مشخص می‌شود که بیشترین محتوای فنول کل مربوط به مرحله گلدهی به ترتیب به میزان ۸/۹۰ و ۸/۰۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک در رویشگاه کبیرکوه و مانشت قلازنگ، و کمترین میزان فنول با مقدار ۴/۹۵ و ۵/۷۳ به ترتیب مربوط به عصاره‌های استخراج شده در مرحله قبل از گلدهی از اندام‌های هوایی مربوط به رویشگاه‌های کبیرکوه و مانشت قلازنگ می‌باشد. همچنین بین میانگین‌های فنول کل عصاره‌های به دست آمده از رویشگاه‌های کبیرکوه و مانشت قلازنگ در هر سه مرحله

در جدول شماره ۲ محتوای فلاونوئید اندازه‌گیری شده مراحل مختلف نموی در دو رویشگاه مختلف آورده شده است. با توجه به این جدول مشخص می‌شود که بیشترین محتوای فلاونوئید کل اندام‌های هوایی به میزان ۲/۹۳ و ۲/۷۵ و به ترتیب مربوط به مرحله نموی گلدهی در رویشگاه کبیرکوه و مرحله پس از گلدهی رویشگاه مانشت قلازنگ می‌باشد. کمترین مقادیر مربوط به عصاره متانولی اندام‌های هوایی به میزان ۱/۶۴ و ۱/۹۲ به ترتیب برای مرحله قبل از گلدهی رویشگاه مانشت قلازنگ و رویشگاه کبیرکوه می‌باشد (جدول ۲). همچنین بین میانگین‌های فلاونوئید کل عصاره‌های به دست آمده از رویشگاه‌های کبیرکوه و مانشت قلازنگ در هر سه مرحله نموی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.01$) (شکل ۳).

استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم شناخت درست از میزان و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در آنها، و نیز اطلاع از زمان مناسب برای برداشت و جمع‌آوری آنهاست، زیرا وجود ترکیبات شیمیایی است که باعث اثر درمانی گیاه می‌گردد. طبق بررسی‌های انجام شده روی پیشینه گیاه چوپر، مشخص گردید هیچ مطالعه مقایسه‌ای بین میزان فنول و فلاونوئید کل، و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در دو منطقه متفاوت و مراحل نموی مختلف انجام نگرفته است. در این پژوهش به بررسی مقایسه‌ای درصد بازده عصاره متانولی، میزان فنول و فلاونوئید کل و نیز میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چوپر در دو رویشگاه و سه مرحله نموی آن در استان ایلام پرداخته شد. در این پژوهش روش متانولی جهت استخراج عصاره به

مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در بخش هوایی در مرحله بلوغ بذر دیده می‌شود در حالی که مقادیر این ترکیبات در قسمت ریشه در مرحله ظهور ساقه گل‌دهنده بیشترین بود (Alirezaie et al., 2016 Noghondar). همانگونه که ذکر شد در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری بین محتوای فنل و فلاونوئیدی کل نمونه‌ها در دو منطقه با تفاوت از نظر آب و هوایی و مراحل مختلف نمو مشاهده شد. نتایج بالا تأیید 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 (Martz et al., 2010). 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 فیل آلانین امونیل‌آز (که نقش مهمی در تبدیل فیل آلانین به کوماریک اسید دارد) افزایش می‌دهد و خود این ترکیب در سنتز ترکیبات فنولیکی در گیاهان دخالت دارد (Smith, 1973).

در پژوهش حاضر نمونه‌ها از مناطق کوهستانی با ارتفاع بالا جمع‌آوری گردید و ارتفاع از سطح دریا در رویشگاه کبیرکوه بیشتر از رویشگاه مانشت قلارنگ بود. بین افزایش ارتفاع از سطح دریا با کمیت و کیفیت مواد موثره ثانویه در گیاه چوپیر رابطه مستقیمی وجود دارد و غلظت فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فلاونول‌ها و تربنوئیدها در برگ‌های گیاهانی مثل قره‌قاپ، گلپر، هواچوبه و کبر در ارتفاعات، که تحت تأثیر مستقیم نور خورشید و اشعه ماوراء بنفش قرار دارند، بالاتر است (Mazandarani et al., 2012). در مطالعات دیگری که روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف انجام گردیده، مشخص شده است که در تمامی موارد افزایش ارتفاع باعث افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Stankovic et al., 2010; Yang and Miao, 2011). همچنین در مطالعه صابری و همکاران مشخص گردید که عصاره اندام‌های هوایی گیاه هندوانه ابوجهل [*Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.] در رویشگاه سراوان که دارای اختلاف ارتفاع از سطح دریای بیشتری (۱۱۹۵ در مقابل ۴۸۰ متر) نسبت به منطقه زابل بود، از ترکیبات فنل، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری برخوردار است و جهت استفاده توصیه می‌گردد (Saberi et al., 2018). در مطالعه حاضر، میزان فنل و فلاونوئید کل و بالطبع میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اندام‌های هوایی گیاه چوپیر در رویشگاه کبیرکوه و مرحله نمو گلدهی بهتر از رویشگاه مانشت قلارنگ و مراحل نمو قبل و بعد از گلدهی می‌باشد. لازم به ذکر است که ارتفاع از سطح دریا در نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه کبیرکوه ۲۲۱۰ متر و در رویشگاه مانشت قلارنگ ۱۶۵۱ متر از سطح دریا است که نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های فوق‌الذکر همخوانی دارد.

گیاه چوپیر حاوی فنل و فلاونوئید می‌باشد و به خاطر وجود این متابولیت‌های ثانویه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را نشان می‌دهد. در مطالعات دیگر رابطه مستقیمی بین محتوای فنل و فلاونوئید کل گیاه و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دست آورده‌اند (Kamali et al., 2014). فلاونوئیدها از مهمترین ترکیبات فنلی هستند که خاصیت ضد التهابی، ضد باکتری، ضد تب، ضد آلرژی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند (Zhu et al., 2017). طبق نتایج به دست آمده میزان فنول و فلاونوئید کل اندام‌های هوایی گیاه چوپیر در مرحله گلدهی و منطقه کبیرکوه نسبت به سایر مراحل نمو و منطقه سردسیر مانشت و قلارنگ بیشتر است.

نکته قابل توجه در نتایج به دست آمده در این تحقیق، تفاوت در مقدار عصاره، فنول و فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مراحل مختلف نمو و در دو اقلیم متفاوت است به طوری که افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله گلدهی دیده می‌شود. 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 (Toncer et al., 2010).

نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج مطالعات Toncer و همکاران (Toncer et al., 2010) و حسینی و همکاران (Hosseini et al., 2017) 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 میزان فنول و فلاونوئید کل می‌گردد. همچنین در مطالعات متعددی نشان داده شده است که مقادیر متابولیت‌های ثانویه به مرحله نمو گیاهان بستگی دارد. Jakovljević و همکاران (Jakovljević et al., 2013) گزارش دادند که مقدار فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه *Chelidonium majus* L. به مرحله فنولوژیکی گیاه بستگی دارد. Naghiloo و همکاران (Naghiloo et al., 2012) طی مطالعاتی بر روی *Astragalus compactus* (Phil.) Reiche بیان کردند که مقادیر ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره این گیاه، به مرحله نمو 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 (Naghiloo et al., 2012). در مطالعه علیرضایی و همکاران مشخص گردید که تجمع ترکیبات فیتوشیمیایی در طی مراحل مختلف نمو و در بافت‌های مختلف ترشک وحشی، از تنوع بالایی برخوردار بود. آن‌ها مشخص کردند که بیشترین

آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار است. به دلیل این خاصیت، در سیستم غذایی و بیولوژیکی با باند کردن رادیکال‌های آزاد از اکسید شدن چربی و تنش‌های اکسیداتیو در بدن جلوگیری می‌کند. در تمام مراحل رشد گیاهان، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فعال می‌باشد. عمل آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و به طور گسترده با چندین فاکتور مثل مراحل بلوغ، شرایط آب و هوایی، اندام‌های مورد استفاده گیاه، شرایط برداشت، انبارداری و نگهداری تغییر می‌کند (Kaur et al., 2011).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مقدار فنل و فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در اندام‌های هوایی گیاه چویر در رویشگاه کبیرکوه و در مرحله نموی گلدهی دارای بیشترین مقدار نسبت به رویشگاه مانشت قلارنگ و سایر مراحل نموی می‌باشد. اطلاعات به دست آمده از مطالعه حاضر حاکی از تفاوت میزان مواد موثره گیاه در شرایط متفاوت اکولوژیک است و می‌توان مرحله نموی گلدهی و رویشگاه با ارتفاع بالاتر را بهترین زمان و مکان برای جمع‌آوری نمونه‌های گیاه چویر پیشنهاد داد.

مشخص شده است که عامل ارتفاع علاوه بر اینکه موجب بسیاری از تفاوت‌های اقلیمی می‌شود، می‌تواند بر روی مقدار متابولیت‌های ثانویه در گیاهان عالی اثر بگذارد. افزایش ترکیبات فنلی با بالا رفتن ارتفاع به‌عنوان پاسخی به افزایش اشعه UV می‌باشد و می‌توان اشعه UV را عاملی موثر در ارتفاعات برای تنش در نظر گرفت (Nasibi et al., 2003). زمان برداشت گیاه یکی از عوامل مهم و تاثیرگذار بر روی نوع، مقدار و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده گیاهان مختلف می‌باشد. تفاوت در میزان و نوع ترکیبات عصاره طی مراحل مختلف فنولوژی می‌تواند به علت تاثیر شرایط آب و هوایی متفاوت بین فصول جمع‌آوری، عوامل بوم‌شناختی و شرایط فنولوژی گیاه باشد. میزان برخی ترکیب‌ها در عصاره بخش‌های هوایی بالغ و مسن نسبت به بخش‌های نورسته، بیشتر است. این اختلاف تاثیر شرایط فیزیولوژی و فنولوژی گیاه را بر روی مسیرهای بیوسنتزی ترکیب‌ها توجیه می‌کند (Batooli et al., 2016).

ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدان با روش DPPH بر مبنای IC₅₀ نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی گیاه چویر در منطقه کبیرکوه و مرحله نموی گلدهی نسبت به منطقه مانشت و قلارنگ و مراحل نموی قبل از گلدهی و بعد از گلدهی بیشترین مقدار را دارا است. مطالعات انجام شده توسط Kaur و همکاران نشان داد که گیاه چویر از فعالیت

منابع

- Aghajani, A., Mortazavi, S. A., Tabatabai Yazdi, F., Shafafi Zenozian, M., & Saedi Asl, M. R. (2019). Determination of the phenolic content and free radical scavenging activity of extract obtained from chevill (*Ferulago angulata*) leaves by microwave and maceration. *Journal of food science and technology (Iran)*, 16(86), 119-131 (In Persian).
- Alirezaie Noghondar, M., Azizi, M., Neamati, S., Rezvani Moghaddam, P., & Reza zadeh, S. (2016). Variation of some phytochemical compound in shoot and root of *Rumex turcomanicus* Czerep. at different phenological stages. *Journal of Medicinal Plants*, 15(58), 25-36 (In Persian).
- Azizian Shermeh, O., Taherizadeh, M., Valizadeh, M., & Qasemi, A. (2017). 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. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*, 7(4), 465-479 (In Persian).
- Batooli, H., Akbari, M., Yasa, N., Khanavi, M & Tavakoli, S. (2016). Comparison of essential oil composition of *Pterocarya fraxinifolia* leaves in different phenology stages from Gilan Province. *Eco-Phytochemical Journal of Medical Plants*, 4, 83-94. <https://doi.org/10.30495/EJMP.2016.694516>. (In Persian).
- Darderafshi, M., Bahrami, G., Sadeghi, E., Khanahmadi, M., Mohammadi, M., & Mohammadi, R. (2014). The effect of *Ferulago angulata* essential oil on *Staphylococcus aureus* during the manufacture and preservation of Iranian white cheese. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 8(4), 13-20 (In Persian).
- Esmacili, S., Hajimehdipoor, H., Ramezani, A., & Mosaddegh, M. (2012). The Cytotoxic Effects of *Ferula Persica* var. *Persica* and *Ferula hezarlalehzarica* against HepG2, A549, HT29, MCF7 and MDBK Cell Lines. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(2), 115-119 (In Persian).
- Farjampour, M., Parsai, S., Naghiha, R. & Khajavi, M. (2016). The effect of adding Cavill powder (*Ferulago angulata*) on performance, blood parameters, intestine microflora and humoral immunity of female broiler chickens. *Iranian Veterinary Journal*, 12, 90-100 (In Persian).
- Fazeli-nasab, B., Moshtaghi, N., & Forouzandeh, M. (2019). Effect of solvent extraction on phenol, flavonoids and antioxidant activity of some Iranian native herbs. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 27(3), 14-26. <https://doi.org/10.29252/sjimu.27.3.14>. (In Persian).
- Habibi, H., Mazaheri, D., Hosseini, N. M., Chaeichi, M. R., Tabatabaei, M., & Bigdeli, M. R. (2007). Effect of altitude on essential oil and components in wild Thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss) Taleghan region. *Pajouhesh-va-Sazandegi*, 19: 2-10 (In Persian).
- Hosseini, B., Nikkhah Amirabad, H., Fattah, M. & Yort, G. (2017). Effect of altitude and different phonological stages on essential composition and antioxidant activity of *Ferula angulata* (Schlecht.) Boiss from Dena altitudes. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 5, 16-29 (In Persian).

- Jafari, M. (2008). *The environmental features of the protected area of Manesht and Ghalarang*. Department of Environment, Ilam (In Persian).
- Jafari, N., Naderi, P. & Ebrahimzadeh, M.A. (2015). Evaluation of phenolic content, total flavonoid and survey of antioxidant activity of leaves of *Ficus carica* and *Pterocarya fraxinifolia* trees using spectrophotometry and highperformance liquid chromatograph methods. *Iranian Journal of Plant Biology*, 25, 1-16 (In Persian).
- Jakovljević, Z. D., Stanković, S.M. & Topuzović, D.M. (2013). Seasonal variability of *Chelidonium majus*. Secondary metabolites content and antioxidant activity. *Experimental and Clinical Sciences Journal*, 12, 260-269.
- Kamali, M., Khosroyar, S., & Jalilvand, M. R. (2014). Evaluation of phenolic, flavonoids, anthocyanin contents and antioxidant capacities of different extracts of aerial parts of *Dracocephalum kotschyi*. *North Khorasan University of Medical Sciences*, 6(3), 627-634. <https://doi.org/10.29252/jnkums.6.3.627> (In Persian).
- Karimian, V., Vahabi, M.R., Fazilati, M & Soleimani, F. (2013). Chemical composition in two species of *Verbascum* collected from natural habitats, southern Iran. *Journal of Herbal Drugs*, 4, 127-132.
- Kaur, R., Kapoor, K. & Kaur, H. (2011). Plants as a source of anticancer agents. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 1, 119-124.
- Mantashlo, J., Deljou, A., & Piri, K. (2017). The study of flavonoids and antioxidant power of ethanolic, metanolic, hydroalcoholic and ethylacetatic extracts of branch and stem bark of *Salix alba*. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 30(3), 295-303 (In Persian).
- Martz, F., Jaakola, L., Julkunen-Tiitto, R., & Stark, S. (2010). Phenolic composition and antioxidant capacity of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) leaves in Northern Europe following foliar development and along environmental gradients. *Journal of chemical ecology*, 36, 1017-1028.
- Mazandarani, M., Momeji, A & Zarghami Moghadam, P. (2012). Evaluation of phytochemical and antioxidant activities from different parts of *Nasturtium officinale* R. Br. in Mazandaran. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3, 659-664.
- Mozaffarian, V. (2008). *Flora of Ilam*. Contemporary Culture Publications (In Persian).
- Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S. & Dadpour, M.R. (2012). Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* lam. (Fabaceae). *Experimental and Clinical Sciences Journal*, 11, 436-443 (In Persian).
- Nasibi, F., Kalantari, K. & Rashidi Ravari, A. (2003). Investigation of change in morphological and physiological parameter induced by UV-A, UV-B and UV-C of ultraviolet radiation in colza seedling (*Brassica napus*). *Pajouhesh-va-Sazandegi*, 60, 97-103 (In Persian).
- Pouzesh, H., Tatian, M., Jafarian, Z., Tamartash, R., & Nejad Ebrahimi, S. (2018). Evaluating nutritional indices of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss in different habitats of Kohgiluyeh & Boyer-Ahmad province. *Journal of Rangeland*, 11(4), 486-498 (In Persian).
- Rafieirad, M., Eydipour, Z., & Alami Rostami, S. (2018). Anti-depressive effects of hydro-alcoholic extract of Chevilan (*Ferulago angulate* Boiss.) in adult male wistar rat model of ischemia/ hypoperfusion. *Nova Biologica Reperta*, 5(2), 137-143. <https://doi.org/10.29252/nbr.5.2.137> (In Persian).
- Saberi, M., Nik Nahad, H., Heshmati, G., Barani, H. & Shahriari, A. Evaluation of the content and performance of some active ingredients extracts of *Citrullus colocynthis* organs from two habitats of Sistan and Balochestan Province in different growth stages. *Journal of Plant Ecosystem Conservation*, 511, 49-63 (In Persian).
- Sharifi, A., Seifi, T., Mohammadzadeh, A., Hammoun Navard, S. & Pajohi-Alamoti, M.R. (2015). Antibacterial activity of alcoholic extract of *Ferulago angolata*. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 23, 202-208 (In Persian).
- Smith, H. (1973). *Regulatory mechanisms in the photocontrol of flavonoid biosynthesis*. In: *Milborrow BV (ed.): Biosynthesis and its control in plants*. New York: Academic Press.
- Stankovic, M. S., Niciforovic, N., Topuzovic, M. & Solujic, S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* var. *montanum*, *F. supinum* (L.) Reichenb. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 25, 2222-2227. <https://doi.org/10.5586/asbp.2012.010>.
- Toncer, O., Karaman, S. & Diraz, E. (2010). An annual variation in essential oil composition of *Origanum syriacum* from Southeast Anatolia of Turkey. *Journal of Medicinal Plant Research*, 11, 1059-1064. <https://doi.org/https://doi.org/10.5897/JMPR09.514>.
- Yang, F. M., L.F. (2010). Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. *Silva Fennica*, 44, 23-27. <https://doi.org/https://doi.org/10.14214/sf.160>.
- Zhu, W., Du, Y., Meng, H., Dong, Y. & Li, L. (2017). A review of traditional pharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Tribulus terrestris*. *Chemistry Central Journal*, 60, 1-16. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13065-017-0289-x>.