

بررسی محتوی فنل و فلاوونوئید در بذر خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn)

توده‌های مختلف ایران

الهام امجدی^۱، علی گنجعلی^{۱*}، مهرداد لاهوتی^۱، ابوالفضل شاکری^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

^۲ گروه فارماوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد

چکیده:

خارمریم گیاهی از خانواده کاسنی با نام علمی *Silybum marianum* (L.) Gaertn به علت دارا بودن فنل و فلاوونوئید به عنوان ضد التهاب و آنتی اکسیدان در سلامت انسان‌ها مورد توجه است. این گیاه دارای نوعی فلاوونولیگنان به نام سیلی‌مارین می‌باشد که از طریق ممانعت از پیوند سموم و داروها با غشا کبد به عنوان حفاظت کننده کبدی عمل می‌کند. تولید فنل و فلاوونوئید به عنوان متابولیت‌های ثانویه تحت تاثیر طیف وسیعی از عوامل ژنتیکی و محیطی قرار دارد. تنوع شرایط آب و هوایی و موقعیت رویشگاه‌ها عامل اصلی اختلاف در پروفایل ترکیبات شیمیایی گیاهان دارویی است. نتایج حاضر نشان داد توده‌های گرگان و مغان کمترین و اردبیل از بیشترین محتوای فنل برخوردار بودند. از نظر محتوای فلاوونوئید توده ایزه و بجنورد کمترین و مغان از این حیث بیشترین بود. به نظر می‌رسد شرایط خاص اقلیمی منطقه اردبیل (متوسط درجه حرارت پایین خاک و هوا) و شرایط تنشی، از جمله عوامل اصلی تولید بیشتر ترکیبات فنلی در این منطقه باشد. در این رابطه ایزه با کمترین میزان تولید فلاوونوئید از بالاترین محتوای فلاوونولیگنان سیلی‌مارین برخوردار بود.

واژگان کلیدی: خارمریم، فنل، فلاوونوئید، سیلی‌مارین

*ganjeali@um.ac.ir

۱. مقدمه:

خارمریم با نام علمی *Silybum marianum* از تیره کاسنی می‌باشد که به نام‌های ماری تیغال، خار علیص، عکوب و خار مقدس در فارسی و عربی شناخته شده است (زرگری، ۱۳۷۵). میوه آن به شکل فندقه صاف قهوه‌ای که در انتها دارای تارهایی به نام پاپوس می‌باشد (Alikaridis et al., 2000). خارمریم بومی منطقه مدیترانه‌ای است که در حال حاضر در سایر مناطق گرم و خشک توسعه یافته است همچنین قادر به رشد در شرایط آب و هوایی مختلف ایران بوده و در واقع قادر به تحمل خشکی و شوری می‌باشد (قهرمان، ۱۳۶۲). میزان فنل و فلاوونوئیدهای خارمریم در شرایط اقلیمی که گیاه در آن رشد می‌کند به ژنتیک گیاه و نوع بذر آن‌ها بستگی دارد (Belitz, 2007). فنل و فلاوونوئید با خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی، در تنظیم متابولیسم بدن انسان موثر می‌باشند (Dicenzo et al., 2003). بذر خارمریم حاوی ۱۵ الی ۲۰ درصد روغن (Schulz et al., 1997) و دارای فلاوونولیکتان سیلی‌مارین است که به عنوان داروی محافظ کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Alikaridis et al., 2000). سیلی‌مارین شامل فلاوونوئیدهایی از قبیل سیلین A و B، سیلی‌دیانین، سیلی کریستین و دی‌هیدروسیلین می‌باشد (Schulz et al., 1997). بررسی‌ها حاکی از آن است که سیلی‌مارین مانع پیوند بسیاری از سموم و داروها با غشا کبدی است. همچنین احتمال می‌رود سیلی‌مارین علاوه بر تثبیت غشاء، از طریق روبش رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مکانیزم‌های دفاعی گیاه نقش مهمی را ایفا می‌کند (Kalorey et al., 2005). تاثیر شرایط اکوفیزیولوژیک بر گیاهان مختلف متفاوت می‌باشد که مطالعه اثر آن به وسایل دقیق و کنترل شده نیاز دارد. از مهم‌ترین عوامل محیطی که بیشترین اثر را بر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه دارد می‌توان به نور، دمای محیط پیرامون، آبیاری، ارتفاع محل، خاک و موجودات پیرامونی گیاه اشاره کرد. عوامل محیطی به سه شکل ۱- اثر بر کل مواد موثره گیاهان دارویی ۲- اثر بر عناصر تشکیل دهنده مواد موثره ۳- اثر بر مقدار تولید وزن خشک گیاه بر گیاهان تاثیرگذار هستند (Briskin, 2000). ویژگی‌های ژنتیکی و سازش افراد یک گونه با محیط می‌تواند دلیل اختلاف بین گونه‌ها باشد (Zare et al., 2013). تفاوت‌های اکولوژیکی و جغرافیایی در رویشگاه‌های مختلف علت اصلی تفاوت در متغیرهای رشد گیاهان دارویی است (Ramak and Asri, 2010) و در این رابطه، تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط متغیر محیطی انعکاسی از واکنش‌های مختلف گیاه به طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی است (Martz et al., 2010). نظر به اینکه خارمریم به عنوان یک گیاه مهم دارویی شناخته می‌شود و نیز در مناطق مختلف جغرافیایی کشور دارای پراکنش و سازگاری است و از طرفی این گیاه سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی شامل فنل و فلاوونوئید می‌باشد، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی محتوای ترکیبات فوق در بذر جمعیت‌های متعلق به مناطق مختلف جغرافیایی انجام شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۲، ۱. جمع‌آوری و تهیه بذر گیاه خارمریم

بذرهای رسیده توده‌های مختلف در ماه‌های خرداد و تیر از نقاط مختلف ایران که به صورت خودرو رشد یافته بودند، جمع‌آوری شدند. اطلاعات هواشناسی مناطق از سال ۱۳۷۱ تا ۱۳۹۹ از سازمان هواشناسی کشوری دریافت و ثبت شد (جدول ۱). بذر مجارستان به عنوان نمونه شاهد از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید.

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و داده‌های هواشناسی مناطق جمع‌آوری بذر گیاه خارمریم ایرانی

نام استان	نام ایستگاه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع (متر)	میانگین بارش ماهانه (میلی‌متر)	میانگین ماهانه رطوبت نسبی (%)	میانگین دما (سانتی‌گراد)	میانگین ماهانه دمای خاک (سانتی‌گراد)
۱	ایذه	۳۱/۸۵	۴۹/۸۵	۷۶۷	۵۰/۶	۳۷/۷۴	۲۳/۱	۹/۴
۲	گرگان	۳۷/۵	۵۶/۸۶	۸۹۰	۱۱/۳۱	۲۶/۷	۸/۷	۲
۳	بجنورد	۳۷/۴۹	۵۷/۳	۱۰۶۵	۲۰/۷	۵۹/۱۳	۱۳/۱۶	۴/۵
۴	لرستان	۳۳/۴۴	۴۸/۲۸	۱۱۴۷/۸	۴۱/۲	۴۴/۳۵	۱۶/۸۳	۵/۵
۵	پارس آباد (مغان)	۳۹/۶	۴۷/۸	۷۲/۶	۲۲/۲	۷۳/۳	۱۴/۹۴	۸/۳
۶	اردبیل	۳۸/۲۲	۴۸/۳۳	۱۳۳۵/۲	۲۳/۲	۷۳/۲	۹/۶۷	۲

خوزستان (۱)، گلستان (۲)، خراسان شمالی (۳)، خرم‌آباد (۴)، اردبیل (۵)

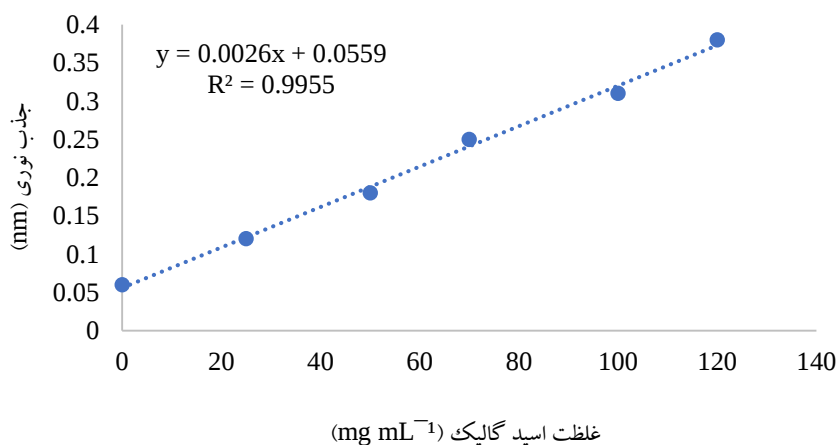
۲، ۲. عصاره‌گیری نمونه‌ها

جهت تهیه عصاره الکلی، نیم گرم پودر بذر در ۱۰ میلی‌لیتر متانل ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و روی شیکر قرار داده شد و سپس با دور ۴۵۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیو شدند. سپس محلول رویی جهت به دست آمدن عصاره خشک زیر هود قرار گرفت و برای آنالیزهای بعدی در دمای ۵۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲، ۳. تعیین محتوای فنل کل

جهت تعیین محتوای فنل کل بذر خارمریم از روش Singleton و Ross (۱۹۶۵) با برخی تغییرات استفاده شد. ابتدا یک میلی‌گرم از پودر عصاره تهیه شده در یک میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد حل شد سپس یک میلی‌لیتر عصاره تهیه شده به ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالچو (رقت ده درصد)، ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۸۰۰ میکرولیتر کربنات

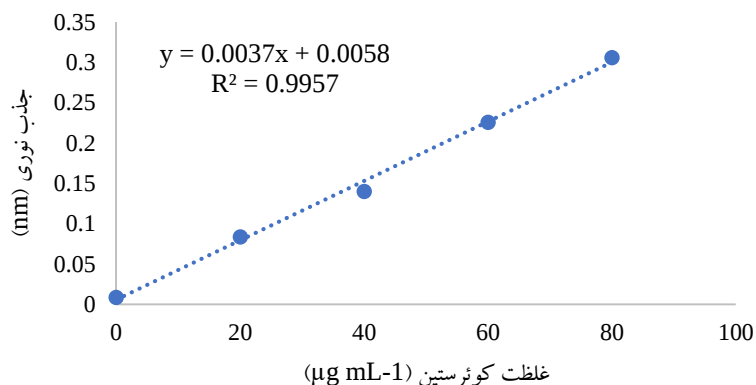
سدیم ۷ درصد (v/w) افزوده و پس از نگهداری به مدت دو ساعت در تاریکی و دمای محیط جذب آن توسط اسپکتروفتومتر ۱۲۰-۰۲ UV (Shimadzu، ژاپن) در طول موج ۷۶۵ nm خوانده شد. مقدار فنل کل به صورت میلی گرم GAE در صد گرم وزن خشک نمونه بیان گردید. به منظور رسم منحنی استاندارد (شکل ۱) ۰/۵ گرم اسید گالیک را در ۱۰ میلی‌لیتر متانل ۸۰ درصد حل و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد سپس از محلول پایه غلظت‌های مورد نیاز تهیه و سایر مراحل مشابه آنچه در موردسنجش ترکیبات فنلی ذکر گردید انجام شد و منحنی استاندارد آن در طول موج ۷۶۵ nm رسم گردید.



شکل ۱ - منحنی استاندارد ترکیبات فنل براساس غلظت‌های مشخصی از اسید گالیک

۴, ۲. تعیین محتوای فلاونوئید کل

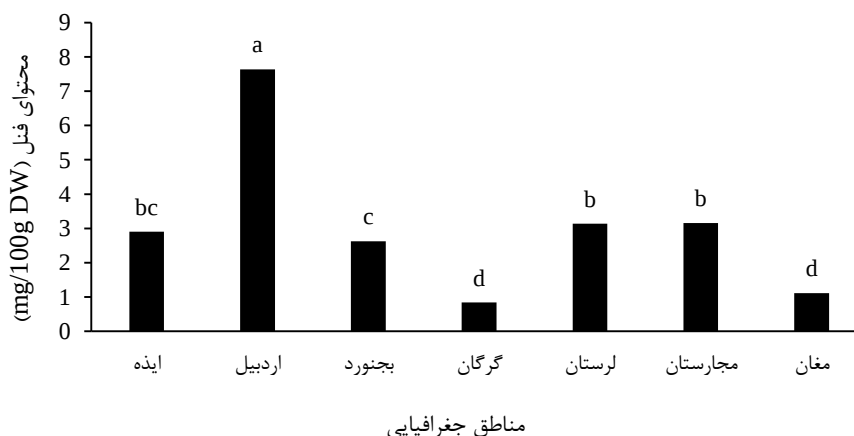
جهت تعیین محتوای فلاونوئید کل، یک میلی‌گرم از پودر عصاره تهیه شده در ۱/۵ میلی‌لیتر متانل ۸۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر $AlCl_3$ ده درصد (w/v) آبی، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار آبی و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر حل و پس از ۹۰ دقیقه قرارگیری در تاریکی و دمای محیط، جذب آن توسط اسپکتروفتومتر ۱۲۰-۰۲ UV (Shimadzu، ژاپن) در طول موج ۴۱۵ nm خوانده شد. به منظور رسم منحنی استاندارد (شکل ۲) جهت اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد که جهت تهیه محلول پایه، ۱/۲ میکروگرم در میلی‌لیتر کوئرستین در ۱۲ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. سپس مقادیر ۱، ۲، ۳، ۴ میلی‌لیتر از محلول پایه برداشته و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. بدین ترتیب سطوح ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر کوئرستین به‌دست آمد. سایر مراحل مشابه آنچه در موردسنجش فلاونوئید عنوان شد انجام و جذب نوری محلول‌ها به‌دست آمد (Chang et al., 2002).



شکل ۲ - منحنی استاندارد ترکیبات فلاونوئیدی براساس غلظت‌های مشخصی از کوثرستین

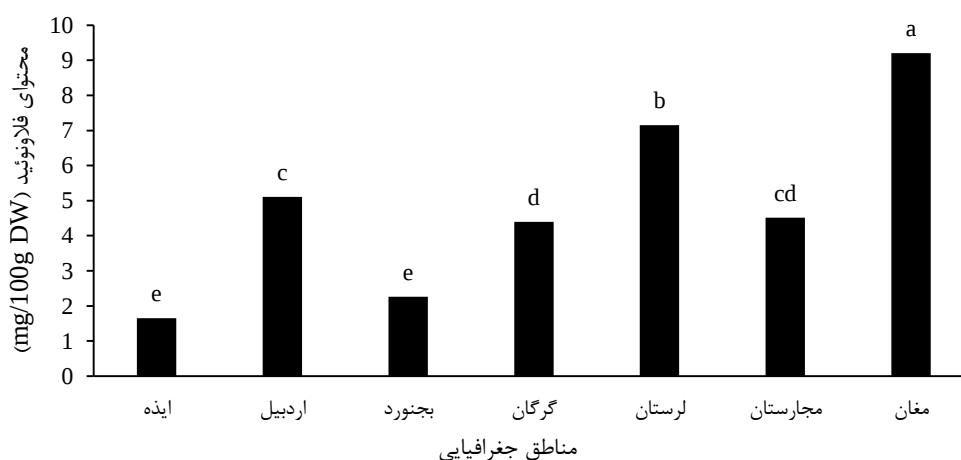
۳. نتایج

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد توده‌های مختلف متعلق به مناطق مختلف کشور از حیث محتوای ترکیبات فنلی تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که توده اردبیل از بیشترین محتوای فنل و گرگان و مغان از کمترین آن برخوردار بودند. در این راستا محتوای فنل بذر رقم مجارستانی در رتبه دوم و هم سطح لرستان مشاهده شد. محتوای فنل کل در توده اردبیل تفاوت معنی‌داری با رقم شاهد و نیز سایر توده‌های بومی داشت (شکل ۳).



شکل ۳ - مقایسه میانگین محتوای فنل بذر خارمریم مربوط به توده‌های بومی مناطق مختلف جغرافیای ایران

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد محتوای ترکیبات فلاوونوئیدی توده‌های مختلف متعلق به مناطق مختلف کشور تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که توده ایزه و بجنورد از کمترین محتوای فلاوونوئید و مغان از بیشترین محتوای برخوردار بودند. در این راستا محتوای فلاوونوئید بذر رقم مجارستانی در رتبه چهارم و تفاوت معنی‌داری با توده‌های گرگان و اردبیل ندارند. محتوای فلاوونوئید در توده مغان تفاوت معنی‌دار با رقم شاهد و نیز سایر توده‌های بومی داشت (شکل ۴).



شکل ۴ - مقایسه میانگین محتوای فلاوونوئید بذر خارمریم مربوط به توده‌های بومی مناطق مختلف ایران

بررسی نتایج ضریب همبستگی (جدول ۲) نشان داد که محتوای فنل توده‌های مختلف متعلق به مناطق جغرافیایی کشور با ارتفاع، میانگین بارش ماهانه و میانگین ماهانه رطوبت نسبی همبستگی مثبت داشت که همبستگی فنل با ارتفاع منطقه از سطح دریا معنی‌دار ($P < 0/05$) بود. نتایج نشان داد محتوای فلاوونوئید در توده‌های مختلف متعلق به مناطق ایران همبستگی مثبت و قوی با میانگین ماهانه رطوبت نسبی و همبستگی ضعیف با میانگین دمای خاک منطقه داشت.

جدول ۲- ضریب همبستگی ترکیبات فنلی و برخی از متغیرهای هواشناسی

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
ارتفاع (۱)	۱						
میانگین بارش ماهانه (۲)	۰/۲۷۰	۱					
میانگین ماهانه رطوبت نسبی (۳)	۰/۰۵۵	-۰/۰۴۸	۱				
میانگین دما (۴)	۰/۰۴	**۰/۹۲۷	-۰/۰۲۷	۱			
میانگین دمای خاک (۵)	-۰/۵۲۸	۰/۵۳۷	-۰/۱۳۳	۰/۷۹۰	۱		
فول (۶)	*۰/۸۳۳	۰/۰۷۸	۰/۴۳۴	-۰/۱۵۴	-۰/۶۵۸	۱	
فلاوونوئید (۷)	-۰/۲۴۵	-۰/۰۹۹	۰/۶۹۸	-۰/۰۴۶	۰/۰۳۱	-۰/۱۲۶	۱

*معنی داری در سطح ۰/۰۵، ** معنی داری در سطح ۰/۰۱

۴. بحث و نتیجه‌گیری:

توده‌های مختلف بومی متعلق به مناطق جغرافیای کشور که در این آزمایش بررسی شدند از حیث ترکیبات فنلی تفاوت معنی داری داشتند. توده اردبیل از این حیث بیشترین میزان فنل را در مقایسه با سایر توده‌های بومی نشان داد. بررسی اطلاعات آب و هوایی در مناطق مورد مطالعه نشان از تفاوت‌های چشمگیر پارامترهای اقلیمی در این مناطق دارد لذا به نظر می‌رسد محتوای متفاوت ترکیبات فنلی در توده‌های مختلف بومی، انعکاسی از تاثیر شرایط متغیر محیطی بر سنتز و انباشت محتوای متابولیت‌های ثانویه و از جمله محتوای فنل در این مناطق باشد. شاید ویژگی‌های خاص منطقه اردبیل از نظر ارتفاع (حدود ۱۳۳۵/۲ متر) و میانگین ماهانه رطوبت نسبی (۷۳/۲٪) از جمله عوامل مهم و تاثیرگذار در افزایش محتوای ترکیبات فنلی این منطقه باشد. به نظر می‌رسد در منطقه اردبیل افزایش ارتفاع با کاهش دما، افزایش شدت نور و افزایش شدت وزش باد همراه است که کاهش دمای هوا سبب تغییر در میزان رطوبت هوا و خاک می‌شود و شرایط تنش‌زا را در ارتفاعات ایجاد می‌کند که منجر به افزایش تولید فنل به عنوان ترکیب آنتی اکسیدان می‌گردد. ترکیبات فنلی به علت دارا بودن گروه هیدروکسیلی آزاد متصل به حلقه آروماتیک توان حذف رادیکال‌های آزاد را به عنوان آنتی اکسیدان دارا می‌باشد (Stankovin et al., 2011). همبستگی مثبت و معنی دار موجود بین برخی عوامل اکولوژیک (ارتفاع، میانگین بارش ماهانه و میانگین ماهانه رطوبت نسبی) و محتوای ترکیبات فنلی، نقش عوامل اقلیمی در سنتز ترکیبات فنلی را تایید می‌کند که در این زمینه قاسمی و همکاران (۲۰۱۱) پس از بررسی اثر فاکتورهای محیطی بر میزان آنتی اکسیدان و ترکیبات فنلی در گیاه گردو دریافتند افزایش ارتفاع و کاهش دما میزان ترکیبات فنلی را افزایش داد. ترکیبات فنلی مقاومت گیاه را به گیاهخواران، ترکیبات آللوپاتیک و پاتوژن‌ها افزایش و سبب تنظیم رشد گیاهان می‌شوند (Mhamdi et al., 2016).

در این تحقیق جمعیت‌های مختلف بومی متعلق به موقعیت‌های جغرافیای کشور از حیث محتوی ترکیبات فلاوونوئیدی تفاوت معنی‌داری داشتند. توده بومی ایزه با بیشترین میزان بارش ماهانه، بیشترین میانگین دمای هوا و دمای خاک از کمترین میزان فلاوونوئید برخوردار بود که اختلاف معنی‌دار با سایر مناطق مورد بررسی داشت. نتایج نشان داد فلاوونوئید جمعیت‌های مختلف دارای همبستگی مثبت با افزایش میانگین رطوبت نسبی و افزایش میانگین دمای خاک دارد. احتمالاً با افزایش رطوبت خاک جذب فسفر افزایش یافته و متعاقباً سنتز فلاوونوئید را افزایش داده است که در انتها به افزایش سلیمارین منتهی شده است. همچنین گزارش‌ها نشان داده است با افزایش رطوبت، سنتز هورمون اکسین افزایش یافته که نتیجه آن سنتز بیشتر فلاوونوئید است (Dimou and Katinakis, 2017). فلاوونوئیدها علاوه بر حفاظت نوری به عنوان بازدارنده گیاهخواری و حمله پاتوژن عمل می‌کنند (Ponce et al., 2007). سنتز فلاوونوئیدها در گیاهان بسته به بافت و اندام، تحت تاثیر فاکتورهای اکولوژیک، سن و بلوغ گیاه قرار می‌گیرد (Ghasemzadeh et al., 2010). در بررسی فنولوژی گیاه خارمریم، محققان دریافتند که سنتز فلاوونوئید در مراحل اولیه رشد کم به تدریج افزایش و پس از رسیدن به حداکثر رشد، مجدداً کاهش می‌یابد. اعتقاد بر این است که سنتز سلیمارین به عنوان نوعی فلاوونولیگنان با مصرف ترکیبات فلاوونوئیدی همراه است و لذا احتمال می‌رود کاهش محتوای فلاوونوئید بذر به مصرف آن در سنتز سلیمارین مربوط می‌شود (Kutchan, 2001).

منابع

- زرگری، علی. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. چاپ پنجم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. جلد سوم. صفحات ۴۸-۳۴.
- قهرمان، احمد. ۱۳۶۳. فلور رنگی ایران. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. جلد ۹. صفحه ۱۰۹۵.
- Alikaridis, F., papadakis, D., Pantelia, K., Kephala, T. 2000. Flavonolignan production from *Silybum marianum* transformed and untransformed root. Fitotrapia Suport open access. 71: 379-384.
- Belitz, A.R. 2007. Effects of environmental stress on growth, yield, and flavonolignan content in milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn). A thesis Presented for the Masters of Science Degree, The University of Tennessee, Knoxville, USA.
- Briskin, DP. 2000. Medicinal plants and phytomedicines. linking plant biochemistry and physiology to human health. Journal of Plant Physiology. 124: 507-514.
- Chang, C-C., Yang, M-H., Wen, H-M., Chern, J-C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. vol. 10 (3): 178-182.
- Dicenzo, R., Shelton, M., Jordan, K., Koval, C., Forrest, A., Reichman, R., Morse, G. 2003. Coadministration of milk thistle and indinavir in healthy subjects. Journal of Pharmacotherapy. 23 (7): 866-870.

- Dimou, V. M., Katinakis, P. 2017. Endophytic fungi residing in medicinal plants have the ability to produce the same or similar pharmacologically active secondary metabolites as their hosts. *Hellenic Plant Protection Journal*. 10: 51-66.
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Nabavi, M., Nabavi, F., Ebrahimzadeh, A. and Pourmand, F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. *Journal of Medicinal Plant*. 5: 1128-1133.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Rahmat, A., Wahab, P.E., Abd Halim, M.R. 2010. Effect of different light intensities on total phenolics and flavonoids synthesis and activities in young ginger varieties (*Zingiber officinale* Roscoe). *International Journal of Molecular Science*. 11(10): 3885-3897.
- Kalorey, D.R., kurkure, N.V., Ramgaonkar, I.S., Sakhare, P.S., Warke, S., Nigot, N.K. 2005. Effect of polyherbal feed supplement "Growell" during induced aflatoxicosis, ochratoxicosis and combined mycotoxicoeses in broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 18 (3): 383-375. . 65(12): 2239-2245.
- Kutchan, TM. 2001. Echological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Journal of Plant physiology*. 125: 58-60.
- 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.
- Mhamdi, B., Abbassi, F., Smaoui, A., Abdelly, C., Marzouk, B. 2016. Fatty acids, essential oil and phenolics composition of *Silybum marianum* seeds and their antioxidant activities. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 29 (3): 951-959.
- Ponce, M. A., Scervino, J. M., Erra-Balsells, R., Ocampo, J. A., Godeas, A. M. 2007. Flavonoids from shoots, roots and roots exudates of *Brassica alba*. *Journal of Phytochemistry*. 65: 3131-3134.
- Ramak, P., Asri, Y. 2019. Effect of growth degree days and soil properties on phenology and morphological characters of *Allium jesdianum* Boiss & Buhse. in Lorestan Province. *Iranian Journal of Plant Biology*. 10 (4): 35-52.
- Schulz, V., Hansel, R., Tyler, VE. 1997. *Rational Phytotherapy: A Physicians' Guide to Herbal Medicine*. Berlin: Springer. p: 306.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *The American Journal of Enology and Viticulture*. vol. 16 pp. 144-158.
- Stankovic, M. S., Niciforovic, N., Topuzovic, M. and Solujic, S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* L. *Journal of Biotechnology* 25: 2222-2227.
- Zare, M., Ganj Khanloo, H., Sharifi Ashorabadi, E., Maddah Arefi, H. 2013. Evaluation of genetic variation, compatibility, selection and introduction of suitable germplasm within *Thymus daenensis* celak. accessions in centric province. *Eco-phytochemical Journal of medical plants*. 1(1):15-24

Studying the content of phenol and flavonoid in different seed native populations of Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) of Iran

Elham Amjadi¹, Ali Ganjeali², Mehrdad Lahouti¹, Abolfazl Shakeri²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad

² Department of Pharmacognosy School of Pharmacy, Mashhad University of Medical sciences, Mashhad

Abstract

Milk thistle belongs to Asteraceae family with scientific name *Silybum marianum* (L.) Gaertn is an interest in human health due to the presence of phenol and flavonoid as anti-inflammatory and antioxidant. This plant has a type of flavonolignan called Silymarin, which acts as a liver protector by preventing to bind of toxins and drugs with liver membrane. The production of phenol and flavonoid as secondary metabolites is influenced by a wide range of genetic and environmental factors. Different weather conditions and location is the main reason for fluctuations in profile of chemical compounds of medicinal plants. Current results showed that Gorgan and Moghan had the lowest and Ardabil had the highest phenol content. In view of flavonoid content of Izeh and Bojnoord were the lowest and Moghan was the highest. It seems that the special climatic conditions of Ardabil region (low temperature average of soil and air) and stressful conditions are among the main factors in the syntheses of more phenolic compounds in this region. In this experiment we found that, Izeh region with the highest flavonolignan had the lowest flavonoid content.

Keywords: Milk thistle, Phenol , Flavonoid, Silymarin