

## افزایش غلظت فلاونوئیدهای ضد سرطانی روتین و کوئرستین موجود در *Capparis spinosa* تحت تأثیر برخی عوامل اکولوژیکی

علی قنبری<sup>۱</sup>، محمدرضا عظیمی<sup>۲\*</sup>، علیرضا رفیعی<sup>۳</sup>، پوریا بی پروا<sup>۴</sup>، محمدعلی ابراهیمزاده<sup>۵</sup>

۱. دکتری بیوتکنولوژی گیاهی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه زنجان

۲. دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۳. استاد گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری

۴. دانشیار گروه علوم پایه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

۵. استاد گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۳۰)

### Increasing the concentration of rutin and quercetin anti-cancer flavonoids in *Capparis spinosa* affected by some ecological factors

Ali Ghanbari<sup>1</sup>, Mohammad Reza Azimi<sup>2\*</sup>, Alireza Rafiee<sup>3</sup>, Pouria Biparva<sup>4</sup>, Mohammad Ali Ebrahimzadeh<sup>5</sup>

1. Ph.D. of Plant Biotechnology, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Zanjan University, Faculty of Agriculture, Zanjan, Iran

2. Associate Professor, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Zanjan University, Faculty of Agriculture, Zanjan, Iran

3. Professor of Immunology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

4. Associate Professor, Department of Basic Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Sari, Iran

5. Professor of Pharmaceutical Chemistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received: Aug. 20, 2020 - Accepted: Dec. 29, 2020)

#### Abstract

Plant flavonoids show positive responses to geographical changes, especially altitude, and considering that the medicinal plant of capper (*Capparis spinosa*) is ecologically distributed in different habitats, so in this research the effect of altitude on the content of anti-cancer flavonoids such as rutin and quercetin were studied in capper which sampled in summer from three mountainous areas of Amol (Nemarestaq, Delarestaq and Behrestaq) at four altitudes with difference heights of 150 meters from each other (minimum 850 and maximum 1650 meters) and with three replications in a completely randomized design. Total flavonoids, rutin and quercetin were measured and analyzed by spectrophotometry and HPLC. The results showed a significant difference between measured traits in different regions ( $p \leq 0.01$  and  $p \leq 0.05$ ), so that the highest amount of flavonoids, rutin and quercetin were obtained at an altitude of 1650 m in the third region (Behrestaq) with  $4.51 \pm 17 \mu\text{mol}$ ,  $24.62 \pm 0.28$  and  $4.91 \pm 0.18 \text{ mg/g}$  fresh weight, respectively. Therefore, zone and altitude had a positive effect on the amount of medicinal metabolites of capper. Also, the equation of regression lines and explanatory coefficients ( $r^2 = 0.91$ ,  $r^2 = 0.74$  and  $r^2 = 0.78$ ) showed that the amount of flavonoids, rutin and quercetin at different altitudes in Nemarestaq, Delarestaq and Behrestaq increased with increasing altitude and the slope of the regression line for all traits was positive. Therefore, nature is the best model for obtaining more concentrated and desirable anti-cancer flavonoids in plants.

**Keywords:** Altitude, Ecological, HPLC, Medicinal plant, Metabolite

E-mail: azimi@znu.ac.ir

#### چکیده

فلاونوئیدهای گیاهی، پاسخ‌های مثبتی به تغییرات جغرافیایی به‌خصوص ارتفاع از سطح دریا نشان می‌دهند و با توجه به اینکه گیاه دارویی علف مار (*Capparis spinosa*) در رویشگاه‌های مختلف از لحاظ اکولوژیکی پراکنش دارد، لذا در این پژوهش تأثیر ارتفاع بر روی محتوای فلاونوئیدهای ضد سرطانی روتین و کوئرستین در گیاه دارویی علف مار مورد مطالعه قرار گرفت بدین‌صورت که از سه منطقه کوهستانی شهرستان آمل (نمارستاق، دلارستاق و بهرستاق) در چهار ارتفاع با اختلاف ارتفاع‌های ۱۵۰ متری از هم (حداقل ۸۵۰ و حداکثر ۱۶۵۰ متر) و با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در تابستان نمونه‌برداری انجام شد و از طریق روش اسپکتوفتومتری و HPLC، فلاونوئید کل، روتین و کوئرستین اندازه‌گیری و بررسی گردید. نتایج از نظر صفات مورد اندازه‌گیری، اختلاف معنی‌داری را در مناطق مختلف نشان داد ( $p \leq 0.01$  و  $p \leq 0.05$ )، به‌نحوی که بیشترین میزان فلاونوئید، روتین و کوئرستین در ارتفاع ۱۶۵۰ متر منطقه سوم (بهرستاق) به ترتیب با  $4.51 \pm 17$  میکرومول،  $24.62 \pm 0.28$  و  $4.91 \pm 0.18$  میلی‌گرم بر گرم وزن تر به‌دست آمد. لذا منطقه و ارتفاع کاملاً بر میزان متابولیت‌های دارویی علف مار تأثیر مثبت داشت. همچنین معادله خطوط رگرسیون و ضرایب تبیین ( $r^2 = 0.91$ ،  $r^2 = 0.74$  و  $r^2 = 0.78$ ) نشان داد میزان فلاونوئید، روتین و کوئرستین در ارتفاع‌های مختلف مناطق نمارستاق، دلارستاق و بهرستاق با افزایش ارتفاع از سطح دریا روندی افزایشی داشته و شیب خط رگرسیون برای هر سه صفت مثبت بود. بنابراین طبیعت بهترین الگو برای به‌دست آوردن فلاونوئیدهای ضدسرطانی غلیظ‌تر و با ماهیت مطلوب‌تر در گیاهان است.

**واژه‌های کلیدی:** ارتفاع، اکولوژیکی، گیاه دارویی، متابولیت، HPLC

\* نویسنده مسئول: محمدرضا عظیمی

### مقدمه

به‌طور معمول در جوامع مختلف و در سیستم‌های پزشکی بومی استفاده از گیاهان دارویی برای اهداف درمانی و پیشگیری از بیماری‌ها بر اساس مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در آن‌ها امری رایج است (Rashedi *et al.*, 2015). گیاهان دارویی بخشی جدایی‌ناپذیر از طب سنتی هستند و با توجه به انتشار گسترده ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گیاهان، فعالیت‌های زیستی از قبیل آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی، ضدالتهابی و گشادکنندگی عروق آن‌ها در مطالعات متعددی گزارش شده است. ترکیبات فنولی به‌عنوان دهنده هیدروژن نقش مؤثری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند (Kaghazlu *et al.*, 2017). ضمن اینکه در طول دهه‌های گذشته، توجه زیادی به غذاهای غنی از پلی‌فنول از جمله میوه و سبزیجات بر سلامتی انسان شده است. همچنین بررسی‌ها نشان داده که پلی‌فنول‌ها دارای اثرات مفید بالقوه‌ای بر سلامت انسان هستند و به‌طور گسترده در غذاهای مصرفی وجود دارند (Zhang and Ma, 2018).

تولید متابولیت‌های دارویی و به‌طور خاص فلاونوئیدها و خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در شرایط رشد گیاهان متفاوت است که به انواع عملکردهای سلولی در فرایندهای فیزیولوژیکی کمک می‌کنند و افزایش سیگنال‌های استرس و پاسخ دفاعی گیاه در تولید آن‌ها دخیل است. بنابراین نوع و غلظت مولکول‌های ثانویه تولیدشده در گیاه با دخالت عوامل بسیاری نظیر تنوع گونه‌های گیاهی، ژنوتیپ، فیزیولوژی، مراحل رشد، عوامل محیطی (آب، هوا، خاک، ارتفاع) در طول دوره رشد، روش‌های استخراج و اندازه‌گیری دچار نوسان می‌شوند (Isah, 2019) و بعضی از این عوامل به‌عنوان تنش‌های محیطی محسوب شده، لذا با گسترش تنش‌های محیطی میزان تولید متابولیت‌های دارویی در گیاهان افزایش می‌یابد به همین دلیل گیاهانی که در مناطق کوهستانی رشد می‌کنند نسبت به گیاهان مناطق

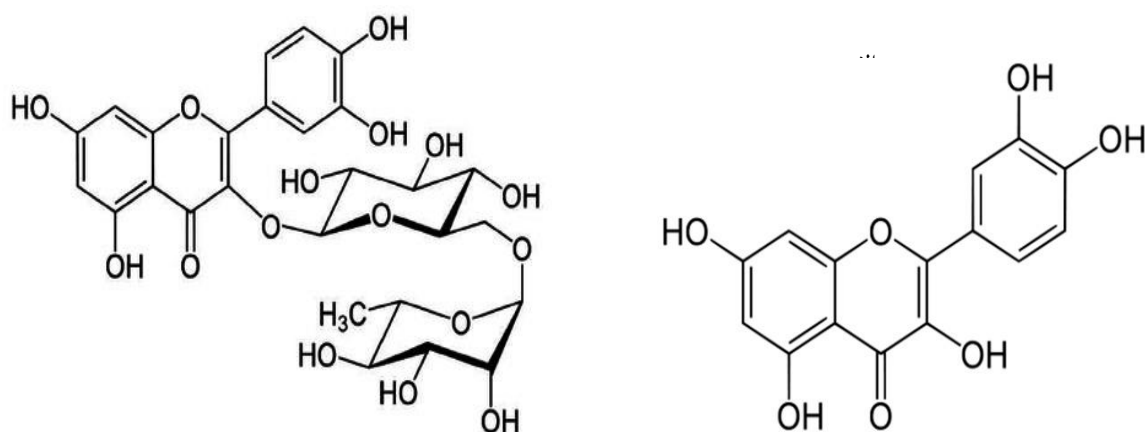
پست بیشتر تحت تنش‌های شدید خشکی، نور و اشعه ماورای بنفش قرار می‌گیرند و ماهیت و غلظت ماده مؤثره آن‌ها تغییر می‌کند. در میان عوامل اقلیمی، ارتفاع از سطح دریا، جزء عوامل مهم و تأثیرگذار در رشد و عملکرد گیاهان است به دلیل اینکه باعث تغییرات دمایی، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و شدت نور دریافتی می‌شود (Kaghazlu *et al.*, 2017). به‌طور کلی کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی متأثر از عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی و برهم‌کنش بین آن‌هاست. محققان در بررسی‌های متعددی وجود ارتباط بین محل رویش و تأثیر آن بر میزان ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان را بیان کرده‌اند. عوامل محیطی محل رویش گیاهان دارویی بر مقدار کلی ماده مؤثره گیاهان دارویی تأثیر دارد (Mohammadnejad *et al.*, 2017). مطالعات زیادی تأیید می‌کند که میزان ترکیبات دارویی در مناطق و ارتفاعات مختلف از لحاظ کمیت و کیفیت متفاوت هستند. به‌عنوان نمونه در مطالعه‌ای متابولیت‌های دارویی گیاه آقطی در ارتفاع ۱۸۰۰ متر بیشتر از ارتفاع ۱۰۰۰ متری گزارش شده است (Jamshidi *et al.*, 2010). همچنین در گیاه شیرین‌بیان بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی در مناطق مرتفع‌تر مشاهده شده است (Hemmati *et al.*, 2015).

گیاه علف مار (*Caparis spinosa* L) از جمله گیاهان دارویی دولپه و جداگلبرگ متعلق به تیره کاپاریداسه (Capparidaceae) است. علف مار بزرگ‌ترین جنس این خانواده است و این خانواده در ایران با نام‌های محلی مختلفی شناخته می‌شود (Ghahreman, 2009). این گیاه منبع مهمی از متابولیت‌های ثانویه مختلف است (Zhang and Ma, 2018). جوشانده ریشه گیاه علف مار یا جوانه آن در درمان روماتیسم بسیار مفید است. همچنین ترکیبات مختلف فلاونوئیدی مانند روتین و کوئرستین در میوه و جوانه آن وجود دارد و روتین و

فراوان (Rashedi *et al.*, 2015) به دلیل وجود روتین و کوئرستین اثر ضد سرطانی نیز دارد (Yu *et al.*, 2017). در حال حاضر بسیاری روش‌های درمانی و داروهای شیمیایی استفاده شده علیه سرطان باعث ایجاد سمیت و ایجاد عوارض جانبی جدی می‌شوند لذا داروهای ضد سرطان طبیعی گیاهی با عوارض جانبی ناچیز در برابر سرطان‌های مختلف مؤثرتر هستند (Akhtar and Swamy, 2017). روتین به‌طور گسترده‌ای برای بررسی اثرات ضد سرطانی مورد مطالعه قرار گرفته است. در یک مطالعه، سلول‌های HL-60 که عامل سرطان خون هستند در یک موش مدل کاشته شد و از روتین با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن برای مبارزه با آن استفاده گردید که باعث کاهش قابل‌توجهی در اندازه تومور شد بنابراین پتانسیل ضد سرطانی آن را توجیه می‌کند (Lin *et al.*, 2012). در یک مطالعه دیگر هنگامی که روتین در رده سلول سرطانی SW480 مربوط به روده بزرگ انسانی تجویز شد اثرات مخرب کمتری روی اعضای بدن موش به همراه داشت و زمان زنده ماندن موش را به‌طور میانگین ۵۰ روز افزایش داد (Alonso-Castro *et al.*, 2013). همچنین استفاده از کوئرستین در سرطان لوزالمعده آپوپتوز را افزایش داده و از متاستاز جلوگیری کرد (Mouria *et al.*, 2002).

کوئرستین علف مار نسبت به گیاهان دیگر بیشتر است (Rahnavard and Razavi, 2016). حدود ۴۰۰۰ نوع فلاونوئید در گیاهان گزارش شده است (Guardia *et al.*, 2001). فلاونوئیدها بر اساس ساختار شیمیایی خود در شش کلاس فلاونول، فلاون، فلاوانول، فلاونون، ایزوفلاون و آنتوسیانین طبقه‌بندی می‌شوند که فعالیت‌های هر زیر کلاس به ساختار شیمیایی آن‌ها بستگی دارد (Katyal *et al.*, 2014). روتین (C27H30 O16) از گروه فلاونول‌ها بوده و فرم گلیکوزیدی ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین (C15H10 O7) (شکل ۱) است (Gao *et al.*, 2003). روتین علی‌رغم قطبی بودن، حلالیت‌پذیری بسیار اندکی در فاز آبی دارد. این عوامل موجب کاهش دسترسی زیستی بدن به این ماده می‌شود (Babazadeh, 2014).

وجود روتین و کوئرستین سبب می‌شود که ارزش گیاه دارویی افزایش یابد، زیرا اعتقاد بر این است که باعث بهبود عملکرد مویرگی شده و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در مقابل رادیکال آزاد عمل می‌کند (Inocencio *et al.*, 2000). محتوای روتین و کوئرستین در برگ گیاه علف مار ۲/۷۶٪، در جوانه‌های گل ۱/۸٪ و در میوه ۰/۲۸٪ برآورد شده است (Musallam *et al.*, 2012). همچنین مشخص شده است که گیاه علف مار علاوه بر خواص مفید و دارویی



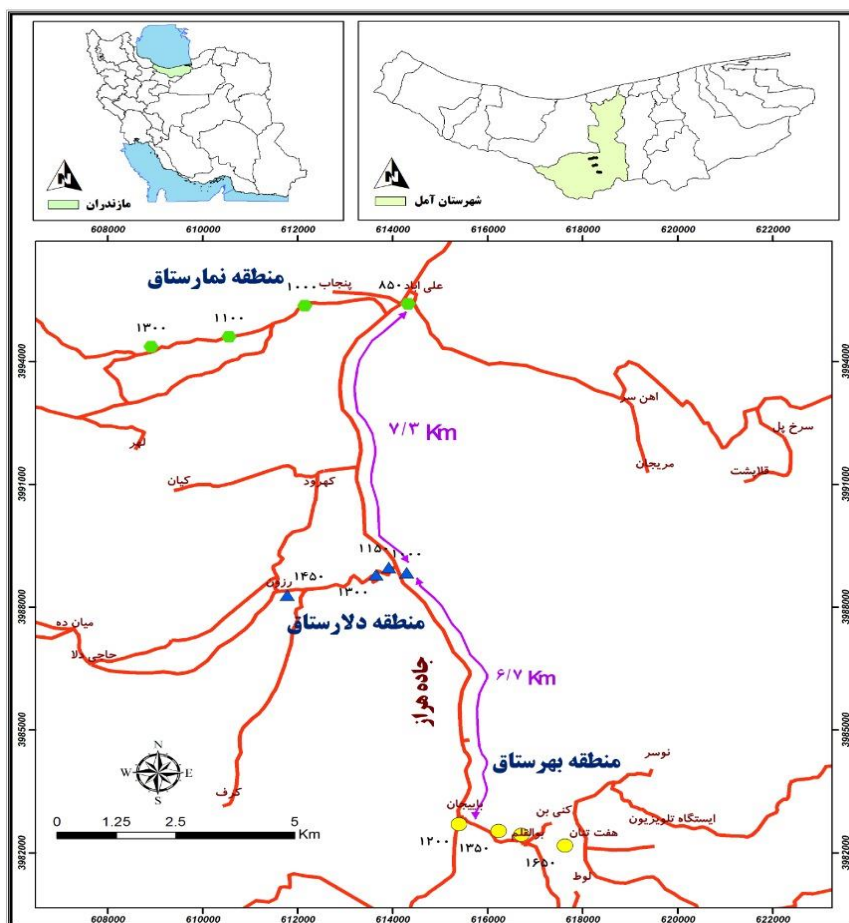
شکل ۱. ساختار شیمیایی کوئرستین (الف) و روتین (ب)

کامل در اواخر مرداد سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شد. بدین‌صورت سه رویشگاه شهرستان آمل (نمارستاق با چهار ارتفاع ۸۵۰، ۱۰۰۰، ۱۱۵۰، ۱۳۰۰، دلارستاق با چهار ارتفاع ۱۰۰۰، ۱۱۵۰، ۱۳۰۰، ۱۴۵۰ و بهرستاق با چهار ارتفاع ۱۲۰۰، ۱۳۵۰، ۱۵۰۰، ۱۶۵۰) (شکل ۲ و جدول ۱) انتخاب شدند و نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و تا زمان بررسی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مواد مؤثره گیاه مطابق روش‌های زیر اندازه‌گیری و بر اساس تجزیه مرکب (آشیانه‌ای) در قالب طرح کاملاً تصادفی و با کمک نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۶، آنالیز داده‌ها صورت پذیرفت، مقایسه میانگین‌ها نیز از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد و نمودارها از طریق Excel نسخه ۲۰۱۳ رسم گردید.

اهمیت تغذیه‌ای و درمانی فلاونوئیدها در تحقیقات زیادی اثبات شده است، از طرفی گیاه دارویی علف مار که به‌عنوان منبع مناسب فلاونوئیدهای ضد سرطانی روتین و کوئرستین است هم در گستره وسیعی از مناطق جغرافیایی به‌صورت خودرو رویش دارد لذا با توجه به اختلاف آب و هوایی دامنه‌های البرز با ارتفاعات بالاتر تغییرات فلاونوئیدی گیاه مذکور در منطقه تعیین‌شده، مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق پس از تعیین موقعیت جغرافیایی منطقه از نظر جهت، شیب، ارتفاع، طول و عرض جغرافیایی با استفاده از دستگاه موقعیت‌سنج (GPS)، نمونه برگ و میوه گیاه علف مار در مرحله رسیدن



شکل ۲. مناطق نمونه برداری در ارتفاعات شهرستان آمل

جدول ۱. مشخصات رویشگاه‌های مورد مطالعه

منطقه	ارتفاع (متر)	جهت	خاک	شیب (درصد)	طول (utm)	عرض (utm)
نمارستان	850	شمال غربی	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	10	614318	3995411
	1000	شمال	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	17.03	612143	3995364
	1150	شمال	خاک‌های نیمه عمیق تا عمیق یکنواخت با بافت سنگین و عموماً دارای تکامل پروفیلی	15.8	610549	3994604
	1300	شمال شرقی	خاک‌های نیمه عمیق تا عمیق یکنواخت با بافت سنگین و عموماً دارای تکامل پروفیلی	22.8	608909	3994359
دلارستاق	1000	شمال شرقی	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	14.42	614286	3988840
	1150	شرق	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	50.60	613911	3988970
	1300	شمال شرقی	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	37.44	613644	3988788
بهرستاق	1450	شمال شرقی	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	60.22	613478	3988543
	1200	شمال غربی	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	26.91	617619	3982179

1350	شمال	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	27.20	616700	3982443
1500	شمال غربی	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	18.44	616221	3982536
1650	غرب	اکثراً بدون پوشش خاکی و یا با پوشش خاکی، بسیار کم عمق، سنگ ریزه دار	29.02	615388	3982702

### سنجش محتوای فلاونوئید

روش مورد استفاده در این سنجش، روش آلومینیوم کلراید بود بدین صورت که نیم گرم نمونه گیاهی با ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ده درصد (محلول ۱۰ گرم کلرید آلومینیوم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) و ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار (محلول ۲/۴۱ گرم استات پتاسیم در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر) و همچنین ۴/۳ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. در ادامه محلول به دست آمده را ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته و مقدار جذب آن در ۴۱۵ نانومتر خوانده و غلظت بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر ارائه شد. برای کالیبره کردن دستگاه اسپکتوفتومتر مدل SPEKOL 2000 با نام تجاری analytikjena از همه مواد به غیر از عصاره استفاده گردید (Chang *et al.*, 2002).

نهایت برای آماده سازی نمونه جهت تزریق به HPLC، عصاره متانولی به دست آمده با استفاده از جریان گاز ازت و حرارت غلیظ شد. برای سنجش روتین و کوئرستین، ۲۰ میکرولیتر از محلول حاصل با سرنگ هامیلتون به سطح ستون sep-pak و Injector دستگاه HPLC مدل Smart line با نام تجاری Knauer، تزریق و جذب روتین و کوئرستین در طول موج ۳۵۵ نانومتر قرائت شد سپس غلظت آن‌ها با استفاده از نمودار استاندارد (شکل ۳) برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (استاندارد شامل چهار غلظت از روتین و کوئرستین (Sigma) بود که پس از آماده سازی و تزریق در دستگاه HPLC، زمان بازداری و سطح زیر منحنی آن خوانش و در نمودار قرار گرفت) (Kreft *et al.*, 2002).

### نتایج و بحث

داده‌های حاصل از اسپکتوفتومتر و HPLC مناطق مختلف از نظر آماری بررسی شد و تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) در صفات مورد بررسی، اختلاف معنی داری را هم در اثرات ساده و هم در اثرات متقابل منطقه و ارتفاع در سطوح احتمال یک و پنج درصد ( $p \leq 0.05$  و  $p \leq 0.01$ ) نشان داد.

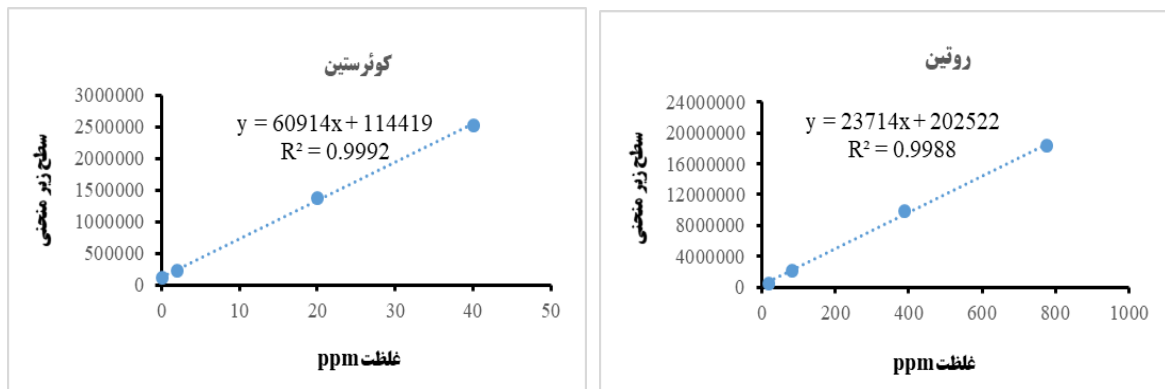
اطلاعات به دست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۲) به وضوح نشان می‌دهد که صفات مورد بررسی (فلاونوئید، روتین و کوئرستین) تحت تأثیر منطقه و ارتفاع در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی دار شدند و بر اساس میانگین‌های به دست آمده از تیمارهای مختلف اقلیمی، بیشترین مقدار فلاونوئید  $4/51 \pm 0/17$  میکرومول بر گرم وزن تر مربوط به ارتفاع چهارم (۱۶۵۰ متر) از منطقه سوم (بهرستاق)

### سنجش روتین و کوئرستین با روش HPLC

#### آماده سازی نمونه

ابتدا مقدار ۴۰ میلی گرم نمونه گیاهی که قبلاً خشک شده بود وزن و پودر گردید و داخل تیوپ ۲ میلی لیتری ریخته شد. سپس ۱/۵ میلی لیتر بافر استخراج (متانول ۹۰ درصد شامل متانول خالص و آب دو بار تقطیر به نسبت ۹۰:۱۰ V/V) به آن اضافه و به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی و دمای اتاق نگه داشته شد. در ادامه نمونه به دست آمده داخل حمام اولتراسونیک به مدت ۱۰ دقیقه تحت تأثیر امواج فراصوت قرار گرفت و محتوای تیوپ با کاغذ واتمن صاف و بعد از این مرحله محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰۰ g سانتریفیوژ گردید. برای تهیه عصاره متانولولی باکیفیت، محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ با عبور از فیلتر ۰/۴۵ میکرون جدا و در

بوده و کمترین میزان آن  $3/05 \pm 0/02$  میکرومول بر گرم وزن تر مربوط به ارتفاع اول (کف جاده) از منطقه اول (نمارستاق) بود (شکل ۴).

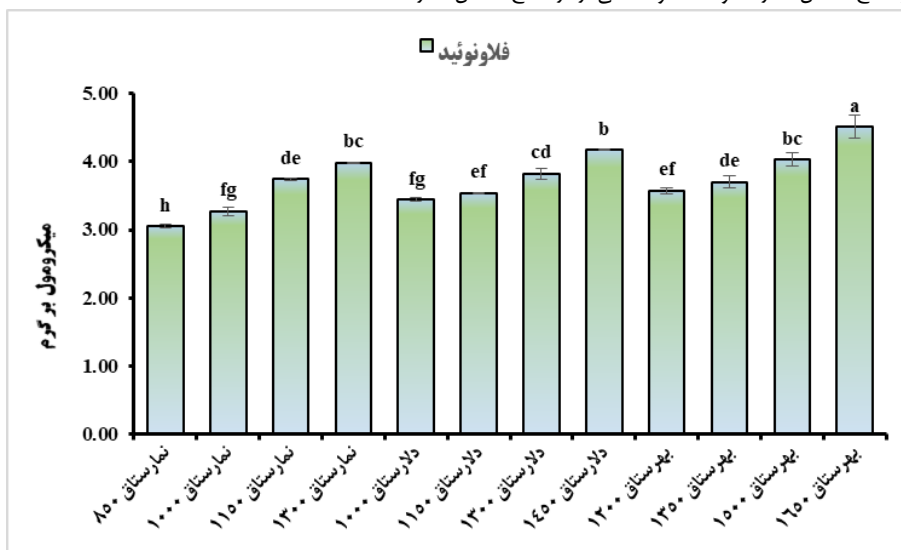


شکل ۳. منحنی کالیبراسیون استاندارد روتین و کوئرستین

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات فلاونوئیدی گیاه علف مار

منبع تغییرات	درجه آزادی	فلاونوئید (میکرومول بر گرم)	کوئرستین (میلی گرم بر گرم)	روتین (میلی گرم بر گرم)
منطقه (A)	2	0.57 **	9.56**	579.34**
خطای a	6	0.006	0.48	2.19
ارتفاع (B)	3	1.34 **	2.63 **	56.73**
A*B	6	0.058 *	0.64**	5.89 **
خطای b	18	0.018	0.001	0.032
ضریب تغییرات (%)	-	3.58	1.23	1.47

\* تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و \*\* تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



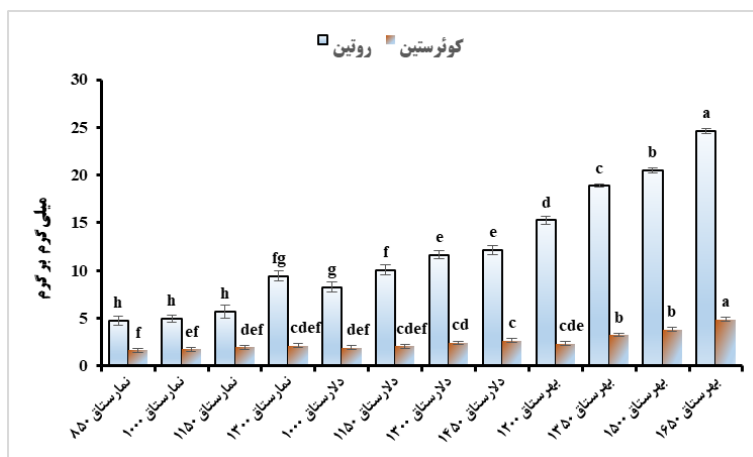
شکل ۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل منطقه و ارتفاع بر میزان فلاونوئید گیاه علف مار

در ارتفاع چهارم منطقه سوم (ارتفاع ۱۶۵۰ منطقه بهرستاق) و کمترین مقدار آن به ترتیب  $4/76 \pm 0/47$

بیشترین مقدار روتین و کوئرستین به ترتیب  $24/62 \pm 0/28$  و  $4/91 \pm 0/18$  میلی گرم بر گرم وزن تر

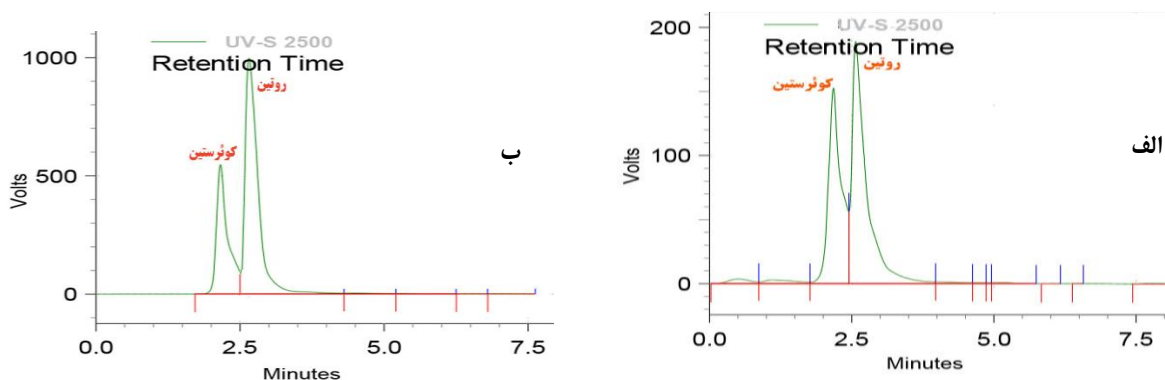
همچنین در شکل ۸ بر اساس معادله خطوط و شیب خط رگرسیون، فلاونوئید، روتین و کوئرستین در ارتفاع‌های مختلف مناطق نمارستاق، دلارستاق و بهرستاق به ترتیب با ضرایب تبیین ۰/۹۱، ۰/۷۴ و ۰/۷۸ نشان‌دهنده این است که میزان آن‌ها با افزایش ارتفاع از سطح دریا روند افزایشی داشته و شیب خط رگرسیون هم برای هر سه صفت مثبت بود، ضمن اینکه بیشترین مقدار رابطه رگرسیونی در فلاونوئید مشاهده شد. در بسیاری از مطالعات، همبستگی بالای بین منشأ جغرافیایی گیاهان و ترکیبات دارویی موجود در آن‌ها گزارش شده است که حاکی از برهم‌کنش مؤثر موقعیت رویشگاهی و ترکیبات فیزیوشیمیایی است (Bertome *et al.*, 2007). در مطالعه‌ای نجار فیروزجائی و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی گیاه گزنه در ارتفاعات مختلف، گزارش نمودند شیب خط رگرسیون ترکیبات فلاونوئیدی در ارتفاعات بالاتر از ۱۰۰۰ متر بسیار بیشتر از ارتفاعات پایین‌تر بود به طوری که افزایش معنی‌داری داشت.

و  $1/65 \pm 0/23$  میلی‌گرم بر گرم وزن تر در ارتفاع اول از منطقه اول (کف جاده منطقه نمارستاق) به دست آمد (شکل‌های ۵، ۶ و ۷). در تحقیق Ramezani و همکاران (۲۰۰۸) میزان روتین در علف مار منطقه خوزستان در برگ، میوه و گل به ترتیب  $6/09$ ،  $6/03$  و  $43/72$  میلی‌گرم در  $100$  گرم مشاهده شد. همچنین در مطالعات Tili و همکاران (۲۰۱۰) بر روی گیاه علف مار در ۷ منطقه تونس، بیشترین مقدار روتین در برگ و جوانه منطقه دهمانی (Dahmani) به ترتیب  $1352$  و  $693$  میلی‌گرم در  $100$  گرم گزارش شد. در مطالعه‌ای دیگر مقدار کل روتین و کوئرستین ریشه، ساقه، برگ و جوانه گل گیاه علف مار جمع‌آوری شده از شهرستان تفرش بررسی شد که بیشترین مقدار روتین و کوئرستین به ترتیب  $25/82$  و  $10/4$  میلی‌گرم بر گرم در برگ به دست آمد (Moghaddasian *et al.*, 2013). مطالعه Hussain و همکاران (۲۰۱۷) میزان روتین و کوئرستین برگ گیاه علف مار در سوریه بررسی شد که به ترتیب  $25/82$  و  $10/4$  میلی‌گرم بر گرم به دست آمد.

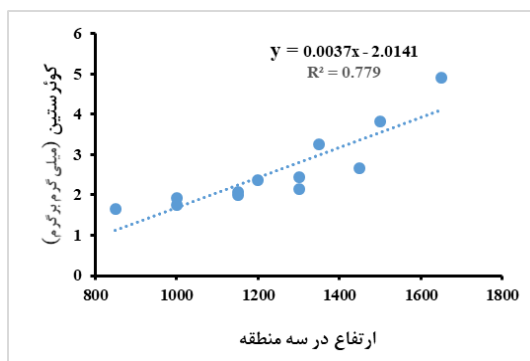
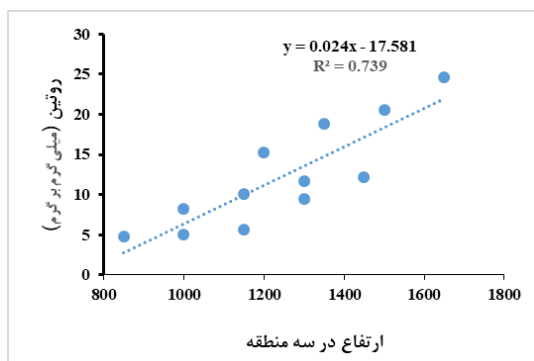
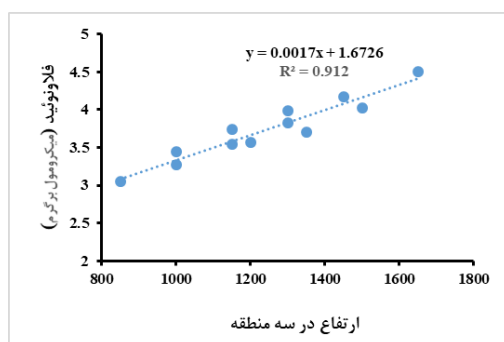


شکل ۵. مقایسه میانگین اثرات متقابل منطقه و ارتفاع بر میزان روتین و کوئرستین گیاه علف مار





شکل ۶ کروماتوگرام HPLC برای روتین و کوئرستین گیاه دارویی علف مار در (الف) پایین ترین ارتفاع (۸۵۰ متر) و (ب) بالاترین ارتفاع (۱۶۵۰ متر)



شکل ۸. رابطه خطی بین منطقه و ارتفاع بر میزان فلاونوئید، روتین و کوئرستین گیاه علف مار

موجب افزایش فلاونوئید کل گردد. به طوری که در تمامی مطالعاتی که تا به حال انجام شده است، همبستگی مثبت و معنی دار بین ترکیبات فیتوشیمیایی گزارش گردید. به عنوان نمونه ارتباط بین میزان ترکیبات فلاونوئیدی در مطالعه نمونه های مختلف شامل دانه های روغنی، غلات و گیاهان دارویی گزارش گردید (Kaghazlu *et al.*, 2017).

جدول ۴. ضرایب همبستگی ساده پیرسون صفات بیوشیمیایی

نتایج حاصل از تجزیه ضرایب همبستگی ساده پیرسون (جدول ۴) بین صفات فلاونوئیدی اندازه گیری شده در گیاه علف مار نشان داد بین فلاونوئید و روتین ( $r=0/722$ ) و کوئرستین ( $r=0/947$ ) و روتین و کوئرستین ( $r=0/798$ ) همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد. از آنجا که روتین و کوئرستین، فلاونوئید کل را تشکیل می دهند بدیهی است که افزایش هر یک از این ترکیبات

شدن بعضی از آنزیم‌های دخیل در تولید فنول و فلاونوئیدها می‌شود و در نتیجه میزان آن‌ها افزایش یا کاهش می‌یابد (Caunii, et al., 2015; Alkadi, 2020). در مطالعه‌ای در مورد گیاه علف راعی در ارتفاعات مختلف ترکیه از ۱۱۳ تا ۱۶۰۰ متر گزارش شد که متابولیت‌های گیاهی در ارتفاعات بالاتر به حداکثر محتوای خود رسیدند و با استدلال دمای پایین‌تر و شدت بیشتر اشعه UV-B در ارتفاعات بالاتر، تجمع مواد اندازه‌گیری شده به خصوص روتین و کوئرستین در اندام‌های گیاه را توجیه نمودند و عنوان کردند که گیاه با تولید این متابولیت‌های فلاونوئیدی در مقابل تنش ناشی از ارتفاع، قادر به مقاومت است (Cirak et al., 2017). در بررسی‌های انجام‌شده توسط Mazarei و Fahmideh (۲۰۲۰) در مورد سه گیاه دارویی پرمصرف در رویشگاه‌های طبیعی استان فارس، بیشترین میزان مربوط به فلاونوئید در دهرم و فراشبند بوده که کمترین ارتفاع را نسبت به سایر نقاط نمونه‌برداری شده داشتند. همچنین پس از بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی سیب در محدوده ارتفاع ۱۴۰۰ تا ۱۸۰۰ متری توسط Kumar و همکاران (۲۰۱۹) عنوان شد افزایش تجمع فلاونوئید در ارتفاعات بالاتر محسوس‌تر است. از طرفی Norouzi و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی پنج جمعیت گیاه دارویی پونه در محدوده ارتفاع ۱۱۰۰ تا ۱۳۰۰ متر، بیشترین میزان فلاونوئید را در منطقه بنگین مشاهده کردند که حداکثر ارتفاع را در محدوده انتخابی دارا بوده است. در مطالعه‌ای دیگر Najjarfiroozjaei و همکاران (۲۰۱۴) نمونه‌های گزنه را در مناطق مختلف استان‌های مازندران و گلستان جمع‌آوری و بررسی نمودند که بیشترین مقدار فلاونوئید و به‌خصوص روتین را در گزنه‌های رشد کرده در ارتفاعات بالا گزارش کردند به‌طوری‌که بیشترین مقدار روتین ۰/۳۴ میلی‌گرم بر گرم به ارتفاع ۲۲۵۰ متر مازندران و کمترین آن ۰/۱۶

اندازه‌گیری‌شده در گیاه علف مار

کوئرستین	روتین	فلاونوئید	تیمار
		1	فلاونوئید
	1	0.723**	روتین
1	0.947**	0.798**	کوئرستین

\*\* تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

ارزیابی تنش‌های محیطی بر عملکردهای کمی و کیفی متابولیت‌های دارویی گیاهان از رویشگاه‌های مختلف، در جهت حفظ تنوع ژنتیکی آن‌ها کمک شایانی خواهد کرد (Kaghazlu et al., 2017). در گزارشات متعددی ثابت شده است که تنش‌های محیطی، باعث کاهش یا افزایش مقدار ترکیبات فنلی می‌شود که گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند (Krol et al., 2014) و فلاونوئیدها یکی از فراوان‌ترین ترکیبات فنولی محسوب می‌شوند که مقدارشان تحت تأثیر تنش تغییر می‌کند (Gumul et al., 2007).

در میان عوامل محیطی، ارتفاع از سطح دریا به‌شدت بر توپوگرافی، زمین‌شناسی، بارندگی، رطوبت، خاک، بافت و پوشش گیاهی یک مکان تأثیرگذار است و مسبب تنش به گیاه است بنابراین هر چه ارتفاع بالاتر باشد تنش ناشی از آن بیشتر است (Suyal et al., 2019) و طبیعی است مکانیسم دفاعی گیاه برای مقابله با این نوع تنش فعال‌شده و به‌تبع آن منجر به افزایش رادیکال آزاد خواهد شد لذا گیاه برای ممانعت از آسیب پروتئین-های خودش از دو طریق آنزیمی و غیر آنزیمی فعالیت‌هایی را تنظیم می‌کند تا مقدار رادیکال آزاد را کنترل نماید. در روش غیر آنزیمی کمبود الکترون رادیکال‌های آزاد از طریق تولید آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل فلاونوئیدها جبران شده و به‌طور طبیعی مهار آن‌ها را در پی خواهد داشت که به‌عنوان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شناخته می‌شود. از طرفی با افزایش ارتفاع که کاهش دمای هوا و افزایش اشعه UV را در پی خواهد داشت باعث فعال یا غیر فعال

(۲۰۱۷) و Mohammadi pour و همکاران (۲۰۱۴) در مورد گیاه آقطی مشاهده شد که بیشترین میزان فلاونوئید کل در مناطق کم ارتفاع به دست آمد. همچنین Arianfar و همکاران (۲۰۱۸) و Kakouee و همکاران (۲۰۱۴) میزان فلاونوئید کل درمنه دشتی را از درمنه کوهی بیشتر گزارش نمود. در مطالعه‌های دیگر Saberi و همکاران (۲۰۱۷) عصاره اندام‌های گیاه هندوانه ابوجهل را در رویشگاه زابل که دارای ارتفاع کمتری (۴۸۰ متر) نسبت به سراوان (۱۱۹۵ متر) است بررسی کردند و گزارش نمودند منطقه زابل از ترکیبات فلاونوئیدی بیشتری برخوردار است. Ghorbanzadeh و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی سرو کوهی در رویشگاه‌های مازندران و گلستان گزارش کردند بالاترین ارتفاع کمترین میزان فنل را دارد.

تولید ترکیبات دارویی در گیاهان، اصلی‌ترین مکانیزم دفاعی گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی است و ماهیت و غلظت آن بسته به نوع گیاه و نوع اندام و همچنین زیستگاه و شرایط رشدی متفاوت خواهد بود (Kaghazlu *et al.*, 2017). از طرفی تنش‌های اکولوژیکی از جمله عوامل مؤثر در تنوع پوشش‌های گیاهی و همچنین کیفیت متابولیت‌های دارویی در گیاه است و تغییرات ارتفاع و پستی و بلندی‌ها بر درجه حرارت، میزان رطوبت و میزان تشعشع اشعه ماوراءبنفش تأثیر مستقیم دارد که سبب تغییرات اکولوژیکی خواهد شد در نتیجه گیاه با تجمع ترکیبات بیوشیمیایی در اندام‌ها در برابر این تنش‌ها به نحو مطلوب از خود محافظت می‌نماید که در مطالعه حاضر نیز در ارتفاعات بالاتر فلاونوئید کل و فلاونوئیدهای ضد سرطانی روتین و کوئرستین غلیظتر از ارتفاعات پایین‌تر و دامنه‌ها بودند لذا با الگو قرار دادن این ویژگی طبیعی گیاه در سازگاری با اکولوژی‌های متنوع، می‌توان نواحی اقلیمی مناسب را انتخاب و برای به دست آوردن ترکیبات دارویی

میلی‌گرم بر گرم به ارتفاع ۷۵۰ متر گلستان تعلق داشت. بررسی‌های Hemmati و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان می‌دهد در گیاه نمودار بیشترین مقدار روتین مربوط به منطقه کلاردشت با ۰/۵۳ درصد بوده که دارای ارتفاع بیشتر و دمای خنک‌تر نسبت به گرگان است. در تحقیقات Ghasemi و همکاران (۲۰۱۱) متابولیت‌های گیاهی گردو در ارتفاعات مختلف بررسی شد و حداکثر محتوای فلاونوئید مربوط به گردوی منطقه آبعلی گزارش گردید که ارتفاع بالاتری نسبت به مناطق نمونه‌برداری شده داشت. تحقیقات Tajali و Khazeipour (۲۰۰۲) در مورد میزان متابولیت‌های گیاهی زالزالک در ارتفاعات مختلف نیز در همین راستاست. همان‌گونه که در نتایج مطالعه حاضر هم مشاهده می‌شود (شکل‌های ۵، ۶ و ۷) همسو با نتایج بررسی‌شده از محققان فوق، بیشترین مقدار میزان فلاونوئیدهای ضد سرطانی اندازه‌گیری‌شده در ارتفاعات بالا به دست آمد که با توجه به مطالعه Davis و Albrigo (۱۹۹۴) می‌توان عنوان کرد درجه حرارت از جمله عوامل تأثیرگذار محیطی در تشکیل و تجمع متابولیت‌های دارویی است چون میزان بارش و دما که دو معیار اصلی اقلیم هر منطقه هستند از عامل ارتفاع تبعیت می‌کنند (Molaie *et al.*, 2015) و همچنین میزان شدت اشعه ماورای بنفش که در ارتفاعات، بیشتر است نیز سبب تجمع فلاونوئید در اندام‌ها می‌شود که جاذب نور هستند و از آسیب‌دیدگی گیاه جلوگیری می‌کنند (Jaakola and Hohtola, 2010).

اما در مطالعات دسته دیگری از محققان نتیجه متفاوت است و گزارش کردند در ارتفاعات پایین‌تر میزان فلاونوئید بیشتر است و آب و هوای مرطوب، خصوصیات فیزیوشیمیایی مناسب خاک، و نوع استخراج متابولیت‌ها را عامل اصلی این نتایج معرفی کردند. از جمله در مطالعه Kaghazlu و همکاران

بالرزش گیاهی برنامه‌ریزی مطلوب انجام داد.

و منابع طبیعی ساری و به‌ویژه خانم دکتر خصائصی که در تجزیه نمونه‌ها با HPLC و تفسیر نتایج نهایت همکاری را داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## سپاسگزاری

از مرکز رشد واحدهای فناور دانشگاه علوم کشاورزی

## REFERENCES

- Akhtar MS, Swamy MK (2017) Anticancer Plants: Clinical Trials and Nanotechnology. Springer Nature Singapore Pte. Ltd. Volume 3: 331p.
- Alkadi HA (2020) Review on Free Radicals and Antioxidants. Infect. Disord. Drug Targets. 20(1):16-26.
- Alonso-Castro AJ, Domínguez F, García-Carranca A (2013) Rutin exerts antitumor effects on nude mice bearing SW480 tumor. Arch. Med. Res. 44 (5): 346-351.
- Arianfar M, Akbari Nodehi D, Hemmati Kh, Rostampour M (2018) The effect of Altitude and direction on the yield of essential oil and some phytochemical properties of *Artemisia aucheri* Boiss. and *Artemisia sieberi* Besser. in the Rangeland of South Khorasan. J. Rangeland. 12 (3): 281-294.
- Babazadeh A (2014) Colloidal characteristics of lipid nanocarriers (NLC) and nano-phytosomes containing routine and their study in a food model. M.sc Thesis. University of Tabriz. Faculty of Agricultural Sciences. 167p.
- Bertome J, Isabel Arrillage M, Segura J (2007) Essential oil variation within and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. Biochem. Syst. Ecol. 35:479-488.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JG (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal. 10(3): 178-182.
- Cirak C, Radusiene J, Jakstas V, Ivanauskas L, Seyisd F, Yayla F (2017) Altitudinal changes in secondary metabolite contents of *Hypercom androsaemum* and *Hypericum polyphyllum*. Biochem. Syst. Ecol. 70: 108-115.
- Caunii A, Butu M, Rodino S, Motoc M, Negrea A, Samfira I, Butnariu M (2015) Isolation and Separation of Inulin from *Phalaris arundinacea* Roots. Rev. Chim. 66(4): 472-476.
- Davise FS, Albrigo LG (1994) Citrus. CAB. International Press, Wallington, UK, P 9814.
- Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Eslami B (2010) Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. Cent. Eur. J.Biol.5:338-345.
- Gao Z, Xu H, Chen X, Chen H (2003) Antioxidant status and mineral contents in tissues of rutin and baicalin fed rats. Life Sci. 73: 1599-607.
- Ghahreman A (2009) Iranian Chromophytes (Plant Systematics). Vol. II. Tehran Univ. Press, 852p.
- Ghasemi K, Ghasemi Y, Ehteshamnia A, Nabavi M, Nabavi F, Ebrahimzadeh MA, pourmand F (2011). Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. Med. plants. 5(7): 1128-1133.
- Ghorbanzadeh A, Ghasemnejad A, Khoshhal Sarmast M, Nejadebrahimi S (2019) Study and comparison of phytochemicals of essential oils and antioxidant performance of branches of *Juniperus communis* L. in different habitats of Mazandaran and Golestan. Eco-phyt. J. Med. Plants. 7 (28): 15-32.
- Guardia T, Rotelli AE, Juarez AO, Pelzer LE (2001) Antiinflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. Farmaco.

- 56(9): 683-687.
- Grdina DJ, Murley JS, Kataoka Y (2002) Radioprotectants: current status and new directions. *Oncology*. 63 (2): 2-10.
- Gumul D, Korus J, Achremowicz B (2007) The influence of extrusion on the content of polyphenols and antioxidant/antiradical activity of rye grains (*Secale cereal* L.). *Acta. Sci. Pol.* 6: 103-111.
- Hemmati Kh, Ghasemnejad A, Mashayekhi K, Bashiri Sadr Z (2012) Study of habitat effect on some flavonoid compounds of *Tilia platifolia* L. *J. Plant Product. Res.* 2: 141-148.
- Hemmati Kh, Hemati N, Ghaedi A (2015) The effect of habitat, root diameter, and type of tissue on some secondary metabolites content of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) in Khorasan Razavi (Ghoochan). *J. Plant Environ. Physiol.* 10(39): 1-9.
- Hussain J, Bassal M, Hala Sarhan H, Aga MIH (2017) Qualitative and quantitative comparison of rutin, quercetin and gallic acid concentrations in Syrian *Capparis spinosa*. L Leaves. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 6(4): 407-415.
- Inocencio C, Rivera D, Alcaraz F, Tomás-Barberán FA (2000) Flavonoid content of commercial capers (*Capparis spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in Mediterranean countries. *Eur. Food Res. Technol.* 212: 70-74.
- Isah T (2019) Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biol. Res.* 52(39): 1-25.
- Jaakola L, Hohtola A (2010) Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant Cell Environ.* 11: 1239-1241.
- Jamshidi M, Ahmadi HR, Rezazadeh Sh, Fathi F, Mazanderani M (2010) Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *Med. plants.* 9(34): 177-183.
- Kaghazlu Z, Hemmati Kh, Khorasaninejad S (2016) Effect of Altitude on some secondary metabolites of different organs of *Sambucus ebulus* L. in three cities of Golestan province. *J. Plant Environ. Physiol.* 12 (47): 13-1.
- Kakouee Z (2014) The evaluation and comparison of phytochemical characteristic and nutrient content in three native species of *Artemisia deserti* Krasch, *Artemisia sieberi* besser and *Artemisia aucheri* in South Khorasan. M.sc Thesis of Biochemistry, University of Birjand.
- Katyal P, Batra N, Khajuria R (2014) Flavonoids and their therapeutic potential as a cancer agents: Biosynthesis, metabolism and regulation. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 3(6): 2188-2216.
- Kreft S, Strukelj B, Gaberscik A, Kreft I (2002) Rutin in buckwheat herbs grown at different UV-B radiation levels: comparison of two UV spectrophotometer and an HPLC method. *J. Exp. Bot.* 53: 1801-1804.
- Krol A, Amarowicz R, Weidner S (2014) Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. *Acta Physiol. Plant.* 36: 1491-1499.
- Kumar P, Sethi S, Sharma RR, Singh S, Saha S, Sharma VK, Sharma SK, Varghese E (2019) Influence of altitudinal variation on the physical and biochemical characteristics of apple (*Malus domestica*). *Indian J. Agric. Sci.* 89(1): 145-52.
- Labarrere B, Prinzing A, Dorey T, Chesneau E, Hennion F (2019) Variations of Secondary Metabolites among Natural Populations of Sub-Antarctic *Ranunculus* Species Suggest Functional Redundancy and Versatility. *Plants.* 8(234): 1-23.
- Lin JP, Yang JS, Lin JJ, Lai, KC, Lu HF,

- Ma CY, Sai C, Wu R, Wu KC, Chueh FS, Gibson Wood W, Chung JG (2012) Rutin inhibits human leukemia tumor growth in a murine xenograft model in vivo. *Environ. Toxicol.* 27 (8), 480-484.
- Mazaraie A, Fahmideh L (2020) Evaluation of phytochemical and antioxidant activity of three widely-used medicinal plant in natural habitats of Fars province. *Eco-phyt. J. Med. Plants.* 29 (1): 90-105.
- Moghaddasian B, Eradatmand Asli D, Alaghemand A, Torabi A (2013) Simultaneous Determination of Rutin and Quercetin in Different parts of *Capparis spinosa*. *BEPLS.* 2(2): 35-38.
- Mohammadnejad Ganji M, Moradi H, Ghanbari A (2017) Quantity and quality of secondary metabolites of *Lavandula angustifolia* under the influence of ecological factor of altitude. *Nova. Biol. Reperta.* 4 (2): 166-172.
- Mohammadi pour S, Hemati KH, Ebrahimi P (2014) The effect of height on the secondary metabolites of *Sambucus ebulus* L. M.Sc. Thesis of Gorgan University Agricultural Sciences and Natural Resources. 115p.
- Molaie M, Ardavan M, Safidi K, Bahrami B, Hashemi Majd K (2015) Ecological factors affecting the distribution of *Artemisia aucheri* Boiss in the southeastern part of Sabalan. *Sci. J. Rangeland.* 11(2): 139-151.
- Mouria M, Gukovskaya AS, Jung Y, Buechler P, Hines OJ, Reber HA, Pandol SJ (2002) Food-derived polyphenols inhibit pancreatic cancer growth through mitochondrial cytochrome C release and apoptosis. *Int. J. Cancer.* 98 (5): 761-769.
- Musallam M, Duwayri R, Shibli R, Alali F (2012) Investigation of Rutin Content in Different Plant Parts of Wild Caper (*Capparis spinosa* L.) Populations from Jordan. *J. Med. Plant Res.* 6: 27-36.
- Najjarfiroozjahi M, Hemmati K, Khorasaninejad S, Daraei-Garmekhkhani A, Bagherifard A (2014) Effect of altitude on morphological and biochemical characteristics in leaves of *Urtica dioica* L. in Mazandaran and Gilan. *Iranian Plant Ecophysiol. Res. J.* 3 (35): 1-11.
- Norouzi V, Yousefzadeh S, Asilan K, Mansoorifar S (2016) Evaluation of changes in essential oil, chlorophyll, carotenoids, anthocyanins and flavonoids of *Mentha longifolia* L. Hods. Subsp. Longifolia in various Marand habitats. *Eco-phytochem. J. Med. Plants.* 5(1):64-52.
- Rahnavard R, Razavi N (2016) A review on the medical effects of *Capparis spinosa* L. *Adv. Herb. Med.* 2(1):44-53.
- Ramezani Z, Aghel N, Keyghobadi H (2008) Rutin from different parts of *Capparis spinosa* growing wild in Khuzestan/Iran. *Pak. J. Biol. Sci.* 11(5):768-772.
- Rashedi H, Amiri H, Gharezi A (2015) Assessment of phytochemical and antioxidant properties of the *Capparis spinosa* L. in Khuzestan province. *J. Qazvin Univ. Med. Sci.* 18(6): 11-17.
- Saberi M, NikNahad H, Heshmati G, Barani H, Shahriari A (2016) Evaluation of changes in some of the active ingredients of watermelon extract of Abu Jahl watermelon (*Citrullus colocynthis* L. Schrab) in two habitats of Sistan and Baluchestan province. *J. Plant Ecosys. Conserv.* 5 (10): 63-49.
- Suyal R, Rawat S, Rawal RS, Bhatt ID (2019) Variability in morphology, phytochemicals, and antioxidants in *Polygonatum verticillatum* (L.) All populations under different altitudes and habitat conditions in Western Himalaya, India. *Environ. Monit. Assess.* 191 (3): 783-801.
- Tajali A, Khazeipour M (2002) Effect of altitude and organs on hawthorn flavonoids (*Crataegus microphylla*). *Int. J. Biol. Sci.* 7: 54-58.

Tlili N, Khaldi A, Triki S, Munné-Bosch S (2010) Phenolic Compounds and Vitamin Antioxidants of Caper (*Capparis spinosa*). Plant Foods Hum. Nutr. 65: 260-265.

Yu L, Yang J, Wang X, Jiang B, Sun Y, Ji Y (2017) Antioxidant and antitumor

activities of *Capparis spinosa* L. and the related mechanisms. Oncol. Rep. 37: 357-367.

Zhang H, Ma ZH (2018) Phytochemical and Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* as a Medicinal Plant. Nutrients. 10: 1-14.