نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)
جلد هشتم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۹
شماره صفحه: ۱۴۰-۱۲۷
http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2020.2857.1115

مقاله پژوهشی:

شناسایی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و خصوصیات ضدباکتریایی در گیاه (*Crocus pallasii* subsp. haussknechtii (Boiss. & Reut. ex Maw) B. Mathew)

مریم مودی[1*]، نوید زیویار[2]، قدسیه باقرزاده[3]
۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه بیرجند
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیتوشیمی، دانشگاه بیرجند
۳- دانشیار گروه شیمی، دانشگاه بیرجند
*نویسنده مسئول : *maryammoudi@birjand.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۰۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۰۲

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های متانولی، اتیل استات و ان-هگزان قسمت بُنه و برگ گیاه زعفران جوقاسم (*Crocus pallasii* subsp. *Haussknechtii* (Boiss. & Reut. ex Maw) B.Mathew) جمع‌آوری شده از سه رویشگاه مختلف (گازه، زیبا و ویسیان) در استان لرستان در سال ۱۳۹۷ انجام شد. عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد و آنالیز کمی عصاره‌ها با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) صورت پذیرفت. همچنین در این مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره اتیل‌استاتی، متانولی و ان-هگزانی بر روی باکتری‌های گرم منفی *اشرشیاکلی* (*Escherichia coli*) و گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) با استفاده از روش انتشار در چاهک آگار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنالیز کیفی نشان داد که عصاره آبی بُنه نسبت به دو عصاره دیگر محتوی میزان بیشتری ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است. در مقابل، بُنه زعفران جوقاسم حاوی سه ترکیب فنلی شیکوریک اسید، کلروجنیک اسید و سیرینجیک اسید و دو ترکیب فلاونوئیدی کامفرول و آپجینین می‌باشد. بر طبق نتایج، عصاره متانولی برگ و بُنه از هر سه منطقه بیشترین تأثیر را نسبت به عصاره ان-هگزانی بر روی هر دو باکتری مورد مطالعه داشت.

واژه‌های کلیدی: **سنجش ترکیبات پلی‌فنلی، فعالیت ضدمیکروبی، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، گیاه جوقاسم.**

مقدمه

گیاه زعفران جوقاسم (*Crocus pallasii subsp. haussknechtii. (Boiss. & Reut. ex Maw) B. Mathew*) یکی از نمونه زعفران‌های وحشی ایران است که در کوهپایه‌ها به صورت خودرو به ثمر می‌نشیند. نام جوقاسم در منطقه رویشی آن در سامن و ونا، کی‌گیران و سیاه کمر ملایر، در اشترینان و چهارده بروجرد، در سراب هُنّام الشتر خرم‌آباد، در پلدختر و چگنی خرم‌آباد استان لرستان "پِشوک"[1](*Pešuk*)، نامیده می‌شود. نتایج مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۵ توسط نجاری و همکاران (*Najari et al., 2016*) بر روی مورفولوژی گیاه زعفران جوقاسم در استان ایلام واقع در غرب کشور انجام شد، نشان داد که گونه زعفران جوقاسم از بین سه گونه زعفران زاگرسی (*Crocus cancellatus Herb.*) زعفران دوگله (*Crocus biflorus Mill.*) و زعفران جوقاسم در منطقه غرب ایران در رتبه دوم از لحاظ فراوانی قرار دارد.

این مطالعه بر روی گیاه خودرو جوقاسم استان لرستان، که یکی از مناطق عمده رشد این گیاه است، تمرکز دارد. این استان، دارای آب و هوای متنوع و در جنوب غربی ایران واقع شده است. زعفران جوقاسم گیاه علفی است، بدون ساقه چوبی و برگ‌های بلند و باریک و افتاده بر خاک دارد. برگ‌ها غالباً در دو جهت مخالف هم قرار گرفته‌اند و بین دو تا شش برگ و گاهی بیشتر دارند. دقت در شکل برگ‌ها تنها راه شناسایی گیاه در بهار است. زیرا در فصل بهار گیاه به جز همین برگ‌ها، و در مواردی بازمانده کپسول[2]و دانه‌های سال پیش، اندام دیگری برای نمایش ندارد (شکل ۱). بر روی برگ‌ها با عرض حدوداً ۳-۲ میلی‌متر و به رنگ سبز تیره، نوار طریفی به عرض ۱/۵-۱ میلی‌متر و به رنگ سفید تا نقره‌ای دیده می‌شود. گل‌ها در فصل پاییز (مهر و آبان) و با گلبرگ‌های کاغذی، به رنگ‌های سفید مایل به صورتی و سفید مایل به بنفش و آبی دیده می‌شوند. غده زیر زمینی گیاه به رنگ قهوه‌ای و پوشیده در الیافی مشبک مانند، شبیه به تور است. پس از جدا کردن الیاف آن غده‌ای (بُنه[3]) سفید رنگی، به اندازه یک فندق دیده می‌شود که خوراکی است و مزه خام آن کمی شیرین و گس است. گیاه در مناطق کوهپایه‌ای، زمین‌های کشت نشده، تپه ماهورها و دامنه کوه‌ها می‌روید. از جوقاسم به شیوه‌های گوناگون در رژیم غذایی و دارویی به صورت محلی استفاده می‌شده و هنوز هم کم و بیش مصرف می‌گردد. آب پز کردن، کباب کردن و آبگوشت جوقاسم در فصل بهار از روش‌های متداول مصرف این گیاه است (*Najari et al., 2016; Farhadi et al., 2015*).

شکل ۱. نمایی از برگ و بُنه گیاه زعفران جوقاسم

Fig. 1. A view of the leaves and corm of Joghasem saffron plant

ترکیبات فنلی یکی از بی‌شمارترین و گسترده‌ترین ترکیبات طبیعی موجود در گستره گیاهان هستند. اگرچه این ترکیبات از نظر شیمیایی به عنوان ترکیباتی با خصوصیات ساختاری ویژه شناخته می‌شوند، اما آنها دارای ساختار بسیار متنوع بوده و شامل چندین زیر گروه هستند (*Tsao, 2010*). بیش از ۸۰۰۰ ترکیب فنلی موجود در گیاهان شناخته شده‌اند. این ترکیبات شامل مولکول‌های ساده یا ترکیباتی با درجه بالایی از پلیمریزاسیون را شامل می‌گردند. دسته‌ای از ترکیبات فنلی به صورت آزاد و تعدادی به شکل مزدوج[4]با قندها، اسیدها و سایر مولکول‌ها ایفای نقش می‌نمایند (*Kozłowska & Szostak-Węgierek, 2014*) و از بین آنها بیش از ۴۰۰۰ فلاونوئید شناسایی شده است (*Tsao, 2010*).

تنوع و گستردگی توزیع فنل‌ها در گیاهان باعث طبقه‌بندی این ترکیبات به روش‌های مختلف شده است. ترکیبات فنلی به وسیله منشأ آنها، عملکرد بیولوژیکی و ساختار شیمیایی طبقه‌بندی شده‌اند. همچنین، اکثر این ترکیبات به عنوان گلیکوزیدهایی[5]با واحدهای مختلف قند در موقعیت‌های مختلف اسکلت‌های فنلی وجود دارند (*Tsao, 2010*). مهمترین گروه ترکیبات فنلی در رژیم غذایی انسان فلاونوئیدها هستند. معمولاً فلاونوئیدها بر اساس ساختار

1- Pešuk
2- Capsule
3- Corm
4- Conjugated
5- Glycoside

شیمیایی آنها به زیر گروه‌های: فلاون‌ها، فلاونول‌ها، فلاوانول‌ها، فلاونون‌ها، ایزوفلاون‌ها و آنتوسیانین‌ها طبقه‌بندی می‌شوند (*Kozłowska & Szostak-Węgierek, 2014*).

اخیراً این ترکیبات به عنوان منابع جدید ضدمیکروبی طبیعی و ایمن برای استفاده در صنایع غذایی شناسایی و مورد توجه قرار گرفته‌اند. فعالیت‌های ضدباکتری اغلب گیاهان عمدتاً به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنها نسبت داده می‌شود. زعفران یکی از گیاهانی است که دارای خصوصیات گوناگونی از جمله مهار فعالیت باکتریایی است، (*Karimi et al., 2010*). استافیلوکوک‌ها باکتری‌های گرم مثبت هستند. *استافیلوکوکوس‌اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) به دلیل افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از پاتوژن‌های مهم و دارای اهمیت است. استافیلوکوک‌ها قادر به تحریک مقاومت در برابر داروهای ضدمیکروبی معمول مانند اریترومایسین، آمپی‌سیلین و تتراسایکلین هستند. (*Harris et al., 2002*). *اشریشیاکلی* (*Escherichia coli*) یک باکتری گرم منفی شکل میله‌ای است. از آنجا که این باکتری معمولاً در روده حیوانات خون گرم زندگی می‌کند، با حضور آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی مواجه می‌شود، که منجر به مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک مصرف شده توسط میزبان آن می‌شود (*Jang et al., 2017*).

در این مطالعه، آزمایش کیفی و کمی حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاه زعفران جوقاسم مورد بررسی قرار گرفته و حضور این ترکیبات با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا اثبات شده است. همچنین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های گیاه مورد نظر در برابر پاتوژن‌های بیماری‌زا بدست آمده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه

زعفران جوقاسم در فروردین ماه ۱۳۹۷ از منطقه ویسیان (*33°29'25.6"N 48°03'10.0"E*) واقع در ۴۰ کیلومتری شهر خرم‌آباد (شکل ۳) در استان لرستان جمع‌آوری و در شرایط محیط خشک و یخچال برای استفاده مراحل بعدی نگهداری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی

آزمون فریک کلراید[1]: در اثر افزودن چند قطره محلول الکلی فریک‌کلراید به عصاره، رنگ آبی تیره به وجود خواهد آمد که نشاندهنده حضور فنل‌ها می‌باشد (*Bagherzade & Manzaritavakoli, 2015*).

اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی

آزمون آمونیوم هیدروکساید[2]: با اضافه کردن محلول آمونیوم هیدروکسید ۱۰ درصد به چهار میلی‌لیتر از عصاره رنگ زرد ایجاد می‌شود. که نشان‌دهنده حضور فلاونوئیدها است (*Bagherzade & Manzaritavakoli, 2015*).

سنجش محتوای ترکیبات فنلی تام

محتوای ترکیبات فنلی تام با استفاده از معرف فولین-شیوکالتو[3] به روش زیر انجام شد. محلول استاندارد گالیک اسید *ppm* ۱۰۰۰ تهیه شد. دو دهم میلی‌لیتر از نمونه با ۰/۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین- شیکالتو مخلوط شد. بعد از پنج دقیقه، یک میلی‌لیتر از محلول سدیم کربنات اشباع شده (*w/v* هشت درصد) به مخلوط اضافه شد و حجم نهایی توسط آب مقطر به سه میلی‌لیتر رسانده شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری و پس از سانتریفیوژ جذب نمونه‌ها در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. منحنی کالیبراسیون محتوای فنلی با استفاده از جذب نمونه‌های استاندارد ترسیم و غلظت ترکیبات فنلی در عصاره‌ها توسط معادله خط محاسبه شد (*Chandra et al., 2014*).

سنجش محتوای ترکیبات فلاونوئیدی تام

روش کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار کل فلاونوئید عصاره مورد استفاده قرار گرفت. به ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره یا محلول استاندارد روتین (۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰) میلی‌گرم در لیتر مخلوط ۴/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۰درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر کلرید آلومنیوم دو درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر اسید استیک ۳۳ درصد، اضافه و به خوبی مخلوط گردید و جذب آن بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق و تاریکی در ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. منحنی کالیبراسیون محتوای فنلی با استفاده از جذب نمونه‌های استاندارد رسم شده و غلظت ترکیبات فنلی در عصاره‌ها توسط معادله خط بدست آمده محاسبه شد (*Chandra et al., 2014*).

1- Ferric Chloride
2- Ammonium hydroxide
3- Folin-Ciocalteu

تعیین کمی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی توسط کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا[1]

کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا یک تکنیک قابل اعتماد برای شناسایی و اندازه‌گیری اجزای اصلی گیاهان است. واحدی و همکاران (*Vahedi et al., 2018*) گزارش داده‌اند که ترکیبات زیست فعال در میان ژنوتیپ‌های[2]متفاوت یا ژنوتیپ‌هایی که از مناطق مختلف جغرافیایی جمع‌آوری می‌شوند، متفاوت هستند. از این‌رو، ضروری است که متابولیت گونه‌های مختلف با ترکیبات زیست فعال بالا شناسایی و بررسی شود که در محتویات و محل جمع‌آوری آنها چه ترکیبات زیست فعالی وجود دارد (*Proestos et al., 2006*). برای آنالیز از دستگاه *HPLC* با یک آشکارساز *PDA996 (USA)* به همراه یک ماژول جداسازی آب *2695(USA)* در طول موج ۴۰۰-۱۹۵ نانومتر انجام گردید. ستون کروماتوگرافی از نوع *Eurospher 100-5 C18* با طول *15 cm*× *4.6 mm* که ماتریس فاز معکوس (*3.5 µm*) در یک سیستم گرادیان با متانول به عنوان فاز آلی (حلال *A*) و آب مقطر (حلال *B*) با شدت جریان *1 ml min*$^{-1}$ بود. حجم تزریق برابر با ۲۰ میکرولیتر و درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. همچنین از نرم‌افزار *Millennium 32* برای آنالیز داده‌ها استفاده شد.

تعیین فعالیت ضدمیکروبی

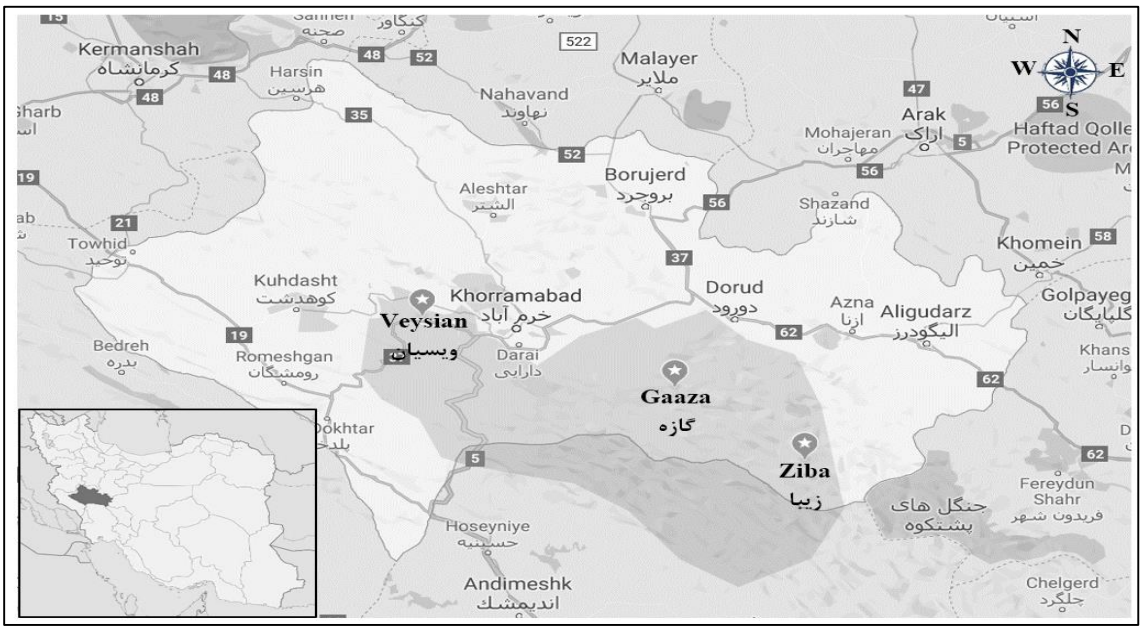
برای انجام مطالعه میکروبی گیاه جوقاسم از سه رویشگاه مختلف استان لرستان (ویسیان *A*، گازه *B* و زیبا *C*) جمع‌آوری گردید (شکل ۲). پس از آن برای استفاده از مواد خام گیاهی، گیاه بلافاصله پس از جمع‌آوری، تحت شرایط دمای محیط و در سایه خشک گردید. عصاره‌گیری به روش خیساندن[3] و توسط حلال‌های متانول، اتیل‌استات و ان-هگزان طی مدت ۷۲ ساعت صورت پذیرفت. در هریک از حلال‌ها ۴۰ گرم از بخش‌های مختلف (برگ و بُنه) به صورت جداگانه عصاره‌گیری شد. عصاره‌ها پس از صاف شدن، توسط دستگاه روتاری تحت خلاء حلال آن حذف شده و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی از روش نفوذ در چاهک آگار استفاده گردید. برای این منظور فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها بر روی دو میکرواورگانیسم *استافیلوکوک اورئوس* (گرم مثبت) و *اشرشیاکلی* (گرم منفی) مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش با باکتری‌های تازه که قبلاً روی صفحات آگار در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند انجام شد. صفحات آگار با حل کردن پودر آگار (۱۵/۰ *g.L*$^{-1}$)، تریپتون[4](۱/۵ *g.L*$^{-1}$)، عصاره مخمر (۲/۵ *g.L*$^{-1}$)، گلوکز (۱/۰ *g.L*$^{-1}$) در آب دیونیزه تهیه شد. مخلوط فوق تا زمانی که پودر آگار حل شود هم زده می‌شود. پس از آن، *pH* محلول به ۷/۰±۰/۱ توسط هیدروکسید سدیم یا اسید هیدروکلریک تنظیم شد و صفحات توسط اتوکلاو[5] استریل شدند. در این روش سوسپانسیون میکروبی (۲۰۰ میلی‌لیتر، حاوی ۵×۱۰^{۷} واحد تشکیل کلونی/ میلی‌لیتر) را در سطح پلیت آگار به خوبی پخش شد. پس از خشک شدن صفحات، یک حفره (قطر هفت میلی‌متر) در شرایط استریل از آگار برداشته شد، و یک میلی‌گرم از عصاره به طور مستقیم داخل حفره وارد گردید. پس از آن، صفحات آگار به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. عامل ضدمیکروبی در محیط آگار پخش می‌شود و مانع از رشد سویه میکروبی می‌شود. فعالیت ضدباکتریایی بر اساس منطقه استاندارد تست مهار ارزیابی شد. این آزمایش کیفی در شرایط استاتیک انجام شد، که قطر مناطق مهار رشد با مقیاس اندازه‌گیری و در مقیاس سانتی متر گزارش شد. آزمایشات در دو تکرار انجام شدند (*Aryanejad et al., 2019*).

نتایج و بحث

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

با بررسی‌های انجام شده مشخص شد که گیاه جوقاسم دارای سه اسید فنلی، شیکوریک اسید[6] کلروجنیک اسید[7] و سیرینجیک اسید[8] و همچنین حاوی دو ترکیب فلاونوئیدی کامفرول[9] و آپجینین[10] می‌باشد. در این میان، شیکوریک اسید با میزان (۶۸/۷۴۶۰۳ *ppm*) به مقدار بیشتری مشاهده گردید (جدول ۱).

1- High-performance liquid chromatography
2- Genotype
3- Macerate
4- Tryptone
5- Autoclave
6- Chicoric acid
7- Chlorogenic acid
8- Syringic acid
9- Kaempferol
10- Apigenin



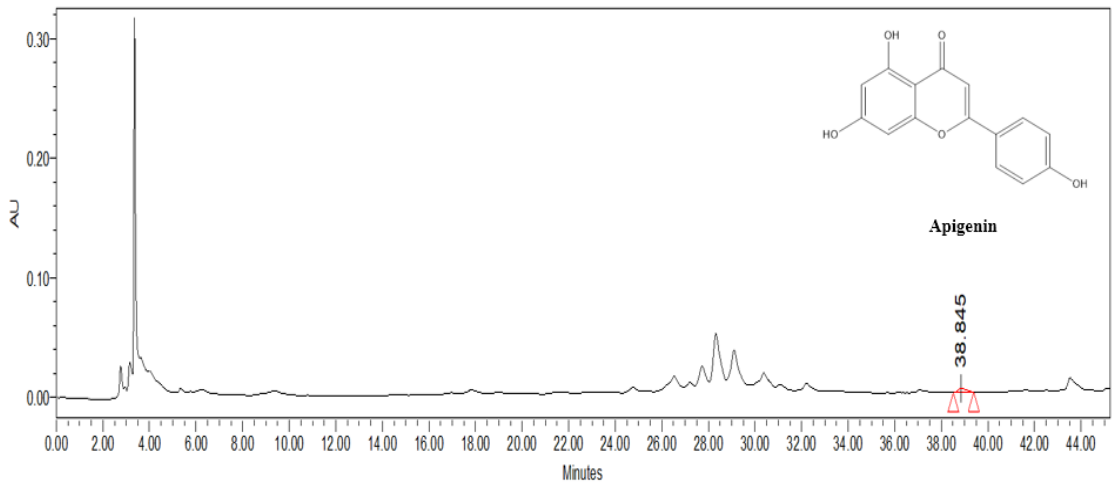
شکل ۲. سه زیستگاه مختلف برای جمع‌آوری زعفران جوقاسم در استان لرستان. منطقه ویسیان، گازه و زیبا

Fig. 2. Three different habitats for saffron Jo-ghasem Collection in Lorestan province. Region Veysian, Gaaze, Ziba

جدول ۱. میزان و نوع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی مختلف در گیاه جوقاسم با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

Table 1. The amount and type of phenolic and flavonoid compounds in plants Jo-ghasem with high-performance liquid chromatography

ترکیب Compound	نام ترکیب Compound name	زمان بازداری (دقیقه) Retention time (*min*)	طول موج (نانومتر) Wavelength (*nm*)	ناحیه Area	مقدار (پی‌پی‌ام) Amount (ppm)
فنل *Phenol*	شیکوریک اسید *Chicoric acid*	*26.2*	*330.2*	*376785*	*68.74603*
	کلروجنیک اسید *Chlorogenic acid*	*14.8*	*326.7*	*101323*	*12.80659*
	سیرینجیک اسید *Syringic acid*	*17.6*	*276.9*	*137488*	*20.77882*
فلاونوئید *Flavonoids*	کامفرول *Kaempferol*	*37.99*	*265.1*	*49961*	*4.828775*
	آپجینین *Apigenin*	*38.6*	*267.4*	*91686*	*5.765397*



شکل ۲. کروماتوگرام ترکیب آپجنین از عصاره بُنه گیاه جوقاسم توسط روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

Fig. 3. The chromatogram of apigenin combination of plant extract Jo-ghasem by high-performance liquid chromatography

تاکنون تعداد معدودی بررسی و تحقیق درمورد جداسازی، شناسایی و تفکیک ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌های استخراجی از گیاه جوقاسم به انجام رسیده است. غلظت فنل در بُنه زعفران زراعی کم است. با این‌حال، چندین اسید فنولیک، از جمله کافئیک اسید، سینامیک اسید، فولیک اسید، کوکواریک اسید، گالیک اسید، پارا-هیدروکسی بنزوئیک اسید، جنتیسیک اسید، سالیسیلیک اسید (*Abdi et al., 2011*)؛ سیناپینیک اسید (*Baba et al., 2015*) و کاتکول، وانیلین با تجزیه و تحلیل *LC-MS* مشخص شدند. هیچ اطلاعاتی درمورد اسیدهای فنلی کربوکسیلیک در سایر گونه‌های زعفران وجود ندارد (*Mykhailenko et al., 2019*). این پژوهش نخستین بررسی کیفی درمورد شناسایی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در بُنه گیاه جوقاسم یکی از گونه‌های زعفران زراعی می‌باشد. آپجنین یکی از ترکیبات شناسایی شده است (شکل۳) که دارای اثرات ضدسرطانی گسترده، از جمله سرطان کولورکتال، سرطان پستان، سرطان کبد، سرطان ریه، ملانوم، سرطان پروستات و استئوسارکوم می‌باشد (*Salvamani et al., 2014*). این فلاون باعث جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی و باعث ایجاد آپوپتوز[1] سلول، القای اتوفاژی[2] و تعدیل چرخه تولید سلول‌های سرطانی می‌شود (*Yan et al., 2017*).

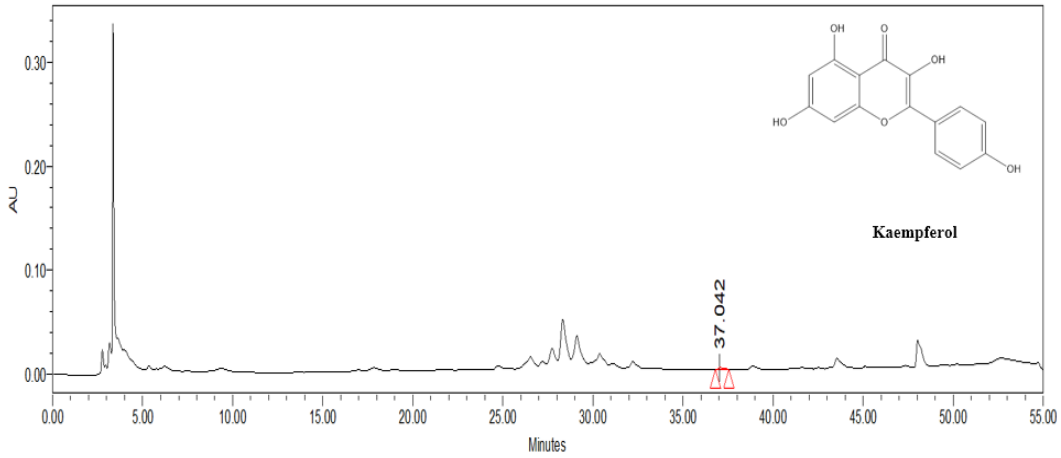
کامفرول (شکل ۴) یک ترکیب آنتی‌اکسیدان پلی‌فنل در میوه‌ها و سبزیجات است. بسیاری از مطالعات اثرات سودمند کامفرول در رژیم غذایی و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن، به خصوص سرطان توصیف کرده‌اند. مطالعات اپیدمیولوژیک یک رابطه معکوس بین مصرف کامفرول و سرطان نشان داده‌اند (*Chen & Chen, 2013*). کامفرول می‌تواند به عنوان یک عامل درمانی در بیماری‌هایی نظیر دیابت، چاقی، بیماری‌های قلبی عروقی، استرس اکسیداکتیو، آسم و اختلالات آلودگی میکروبی عمل کند (*Imran et al., 2019*).

همانطور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، سه ترکیب دیگر شناسایی شده در زعفران جوقاسم به ترتیب شیکوریک اسید در طول موج (۳۳۰/۲ نانومتر)، سیرینجیک اسید (۲۷۶/۹ نانومتر) و کلروجنیک اسید (۳۲۶/۷ نانومتر) هستند. شیکوریک اسید (شکل ۵) برای اولین بار در سال ۱۹۵۸ میلادی شناخته شد و تا زمانی که از خواص بالقوه سلامتی آن و مصرف مواد غذایی و مکمل‌های غذایی حاوی این ترکیب صحبت نشده بود، تا حد زیادی نادیده گرفته شد (*Wang et al., 2019*). گزارش شده که شیکوریک اسید، ۱-هیدروکسی سینامیک اسید، دارای خواص مختلفی از قبیل آنتی‌ویروس، آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، پیشگیری از چاقی و از نورون‌های عصبی محافظت می‌کند. از آنجایی که اکثر مطالعات تاکنون بر روی شیکوریک اسید تمرکز خود را به کشت سلولی و حیوانات محدود کرده‌اند، بنابراین مطالعات بیشتری درمورد انسان و مکانیسم آن برای تعیین اثرات مفید آن به عنوان یک

1- *Apoptosis*

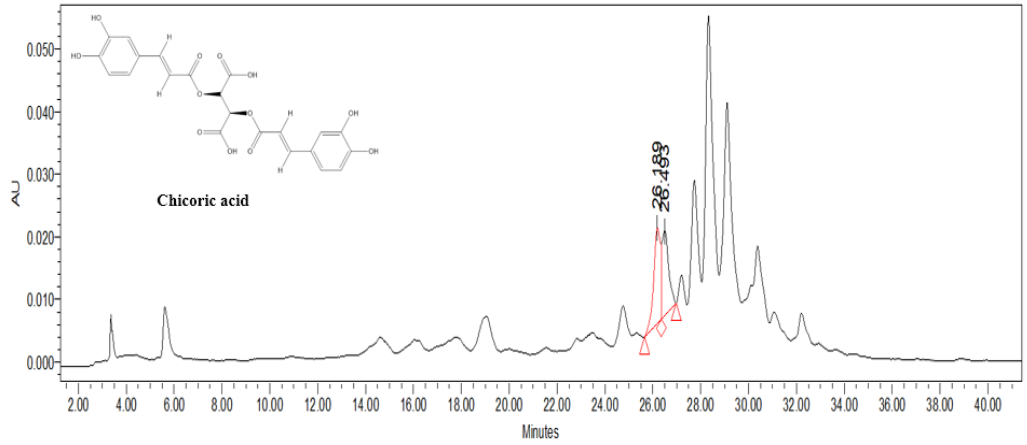
2- *Autophagy*

ماده غذایی بالقوه ضروری است. اولین اثر فعال زیستی شیکوریک اسید، توانایی آن در مهار عفونت با ویروس ایچ‌آی-وی-۱ (*HIV-1*) است. مطالعات متعدد نشان داده است که شیکوریک اسید، با غیرفعال کردن *HIV-1*، عفونت با ویروس *HIV* را مهار می‌کند *(Peng et al., 2019)*.



شکل ۳. کروماتوگرام ترکیب کامفرول از عصاره بُنه گیاه جوقاسم توسط روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

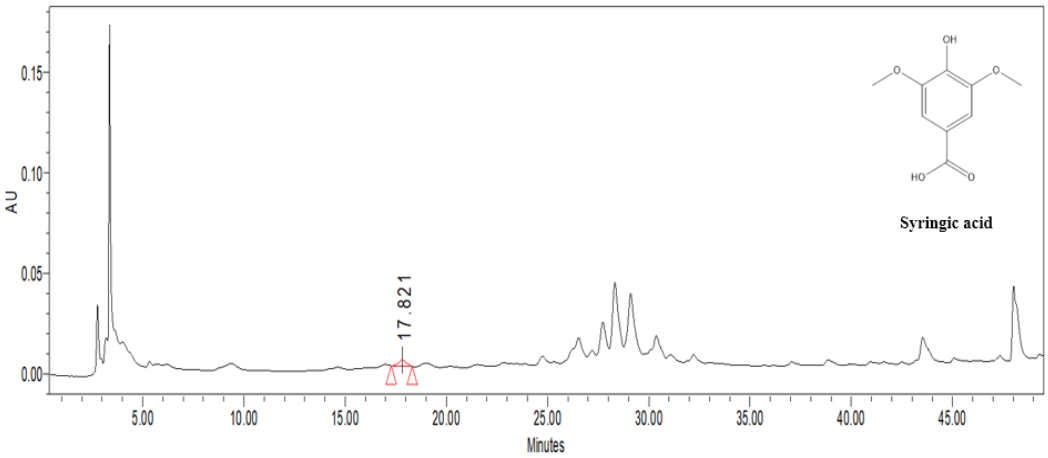
Fig. 4. The chromatogram of kaempferol combination of plant extract Jo-ghasem by high-performance liquid chromatography



شکل ۴. کروماتوگرام ترکیب شیکوریک اسید از عصاره بُنه گیاه جوقاسم توسط روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

Fig. 5. The chromatogram of chicoric acid combination of plant extract Jo-ghasem by high-performance liquid chromatography

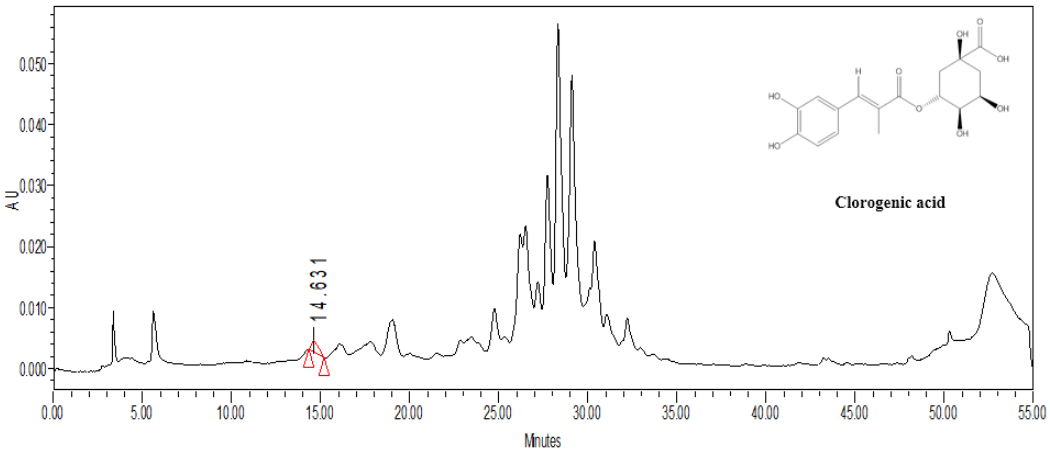
سیرجینیک اسید (شکل ۶) یک ترکیب فنلی که اغلب در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود و از طریق مسیر شیکیمیک اسید در گیاهان تولید می‌شود. این ترکیب طیف گسترده‌ای از کاربردهای درمانی را از جمله پیشگیری از دیابت، بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، ایسکمی مغزی نشان می‌دهد؛ و همچنین دارای اثرات آنتی اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدالتهابی، ضداندوتوکسیک است. این ترکیب جاذب مؤثر رادیکال آزاد است و نشانگرهای استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد. خصوصیات درمانی آن به واسطه وجود گروه‌های متوکسی بر روی حلقه آروماتیک در موقعیت‌های سه و پنج تبیین می‌شود *(Srinivasulu et al., 2018)* همچنین این ترکیب توسط روش *GC-MS* در بُنه زعفران زراعی شناسایی شده است *(Abdi et al., 2011)*.



شکل ۵. کروماتوگرام ترکیب سیرینجیک اسید از عصاره بُنه گیاه جوقاسم توسط روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

Fig. 6. The chromatogram of syringic acid combination of plant extract Jo-ghasem by high-performance liquid chromatography

کلروجنیک اسید (شکل ۷) که یکی از فراوان‌ترین ترکیبات پلی فنل در رژیم غذایی انسان است، یک گروه از متابولیت‌های ثانویه فنلی تولید شده توسط گونه‌های گیاهی خاص است. این ترکیب در کلاله و برگ زعفران زراعی کشت شده در ایتالیا شناسایی شده است (*Gismondi et al., 2012*).



شکل ۶. کروماتوگرام ترکیب کلروجنیک اسید از عصاره بُنه گیاه جوقاسم توسط روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

Fig. 7. The chromatogram of clorogenic acid combination of plant extract Jo-ghasem by high-performance liquid chromatography

شواهد نشان می‌دهد که این ترکیب دارای بسیاری از خواص بیولوژیکی، از جمله آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدان و فعالیت ضدسرطان است. به تازگی نقش و کاربردهای آن، به ویژه در ارتباط با متابولیسم گلوکز و لیپید، مورد توجه قرار گرفته است (*Meng et al., 2013*). شواهد نشان می‌دهد که کلروجنیک اسید (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) می‌تواند در سطوح *TC*[۱]،*TG*[۲] و *LDL-C*[۳] در پلاسما به مقدار بسیار کمی برسد. علاوه بر این، درمان با کلرجنیک اسید (۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) استئاتوز[۴] کبدی مرتبط با چاقی را کاهش می‌دهد (*Wang et al., 2019*). همچنین کلروجنیک اسید به عنوان ترکیب اصلی اسید فنلی در (خانواده زنبقیان)

1- High-density
2- Total cholesterol
3- Low-density lipoprotein cholesterol
4- Steatosis

در ریزوم گیاه زنبق ریشوی آلمانی *(Iris × germanica L.)* شناسایی شد (*Basgedik et al., 2014*).

میزان فنل و فلاونوئید

معادله خط رگرسیونی که رابطه غلظت محلول تانیک اسید را با میزان جذب نمونه در طول موج ۴۱۵ نانومتر به ترتیب برای عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی فلاونوئیدی به صورت زیر می‌باشد:

$Y=۰/۰۱۸x + ۰/۰۴۳۴, R^2= ۰/۹۲۸$

$Y=۰/۰۰۳۷x + ۰/۰۲۴۳, R^2= ۰/۹۵۱$

$Y=۰/۰۰۲۲x + ۰/۰۸۱۷, R^2= ۰/۹۲۲$

همچنین معادله خط برای عصاره‌های فنلی که رابط غلظت محلول روتین با میزان جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر به ترتیب برای عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به صورت زیر می‌باشد:

$Y=۰/۰۷۶۹x + ۰/۰۳۲۵, R^2= ۰/۹۷۳$

$Y=۰/۰۰۳x + ۰/۰۳۲۳, R^2= ۰/۸۵۷$

$Y=۰/۰۰۲۸x + ۰/۷۴۴, R^2= ۰/۹۶۸$

نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره آبی بُنه زعفران جوقاسم به مقدار ۰/۲۶۳ میلی‌گرم بود. این مقدار به ترتیب بیشتر از مقادیر ۰/۲۱۵و ۰/۱۸۰ در عصاره‌های متانولی و اتانولی بُنه می‌باشد. محتوی فلاونوئیدی کل عصاره آبی بُنه گیاه براساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید، به مقدار ۰/۱۹۸ میلی‌گرم بود، این مقدار به ترتیب بیشتر از میزان فلاونوئید کل عصاره‌های متانولی و اتانولی بُنه گیاه جوقاسم می‌باشد (جدول ۲). این نتایج بیانگر آن است که عصاره آبی بُنه زعفران جوقاسم حاوی میزان بیشتری از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل است. بطور کلی، نتایج نشان داد که فنل و فلاونوئید کل بُنه زعفران جوقاسم در مقایسه با مقدار فنل و فلاونوئید کل عصاره برخی از گیاهان مانند؛ ریحان *(Ocimum basilicum L.)*، برگ چغندر *(Beta vulgaris L.)* و جعفری *(Petroselinum crispum (Mill.) Fuss)* به مراتب کمتر بود *(Chandra et al., 2014)*. همچنین بر طبق تحقیقات آکار و همکارانش که میزان ترکیبات فنلی بین سه گونه *Crocus baytopiorum B. Mathew*، *Crocus biflorus Mill.* و *Crocus flavus Haw.* مورد بررسی قرار گرفته است نشان‌دهنده این است که بیشترین میزان ترکیبات فنلی مربوط *C. flavus Haw* و کمترین میزان آن مربوط به گونه‌ی *C. sativus L.* می‌باشد (*Acar et al., 2010*).

جدول ۲. میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌های آبی, متانولی و اتانولی بُنه گیاه زعفران جوقاسم

Table 1. Phenolic and flavonoid contents of aqueous, methanol and ethanol extracts of Jo-ghasem

نوع عصاره **Extract types**	**ترکیبات فلاونوئیدی کل** (میلی‌گرم روتین در گرم عصاره خشک) **Total flavonoid compounds** (*mg QE/g dried sample*)	**ترکیبات فنلی کل** (میلی‌گرم تانیک اسید در گرم عصاره خشک) **Total phenolic compounds** (*mg GAE/g dried sample*)
آبی *Aqueous*	*0.198*	*0.263*
اتانولی *Ethanolic*	*0.190*	*0.215*
متانولی *Methanolic*	*0.160*	*0.180*

بررسی‌هایی که میخایلنکو و همکاران (*Mykhailenko et al., 2019*) بر روی چهار گونه زنبق (*Iris sibirica L., Iris hungarica Waldst. Et kit., Iris imbricata Lindl., Iris pseudacorus L.*) انجام دادند، بیشترین میزان فلاونوئیدها برای *Iris hungarica* و *Iris imbricat* به ترتیب ۳/۵ و چهار درصد بود (*Mykchailenko & Kovalyov, 2016*). طبق نتایج جادوعلی و همکاران (*Jadouali et al., 2018*) مقدار فنل و فلاونوئیدها تعیین شده در بین قسمت‌های مختلف گیاه زعفران زارعی متفاوت است. گلبرگ مقدار بسیار بالایی از فنل‌ها (۶۵/۳۴) و فلاونوئیدها (۶۴/۰۴) و خامه کمترین مقدار فنلی (۲۵/۲۴) و فلاونوئیدی (۱۲/۱۷) در دامنه *ppm* را داشت. نتایج نشان داده است که استفاده از حلال اتانول ۵۰ درصد در مقدار استخراج ترکیبات فنلی بُنه خفته و بیدار تأثیر بیشتری دارد. میزان این ترکیبات در بُنه‌های بیدار نسبت به بُنه‌های خفته بیشتر است. افزایش فنل‌ها در پایان مرحله بیداری دلیل اصلی

برای القای خواب در بُنه زعفران است و آنها را در برابر تنش‌های مختلف محیطی محافظت می‌کند (*Abdi et al., 2011*).

تعیین فعالیت ضدمیکروبی

فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها و قدرت آنها با استفاده از وجود یا عدم وجود منطقه مهار و قطر منطقه مورد ارزیابی قرار گرفت. به طور کلی می‌توان گفت، عصاره‌های متانولی، ان-هگزانی و اتیل استاتی در هر سه منطقه تأثیر بهتری نسبت به باکتری *استافیلوکوک اورئوس* (گرم مثبت)، در مقایسه با باکتری *اشرشیاکلی* (گرم منفی) از خود نشان دادند. همچنین بر طبق نتایج، از سه عصاره بدست آمده، عصاره متانولی بیشترین تأثیر را داشت. عصاره متانولی برگ در منطقه ویسیان و گازه، بیشترین مهار در برابر باکتری‌های نام برده شده از خود نشان داد، در مقابل عصاره اتیل استات در این دو منطقه کمترین اثر را داشته است (جدول ۳). وجود ترکیبات فنلی از جمله سیرینجیک اسید و کلروجنیک اسید گواهی بر وجود خاصیت ضدمیکروبی این گیاه است. مطالعاتی که درگذشته بر روی این ترکیبات صورت گرفته این مورد را تأیید می‌کنند (*Srinivasulu et al., 2018Meng et al., 2013;*).

در خصوص اثرات ضدمیکروبی گونه‌های گیاه زعفران و ترکیبات آن مطالعاتی انجام شده است. بررسی‌های انجام شده بر روی گیاه جوقاسم که از استان کرمانشاه جمع‌آوری شده، نشان داد که عصاره الکلی بُنه این گیاه بر روی دو باکتری نام برده شده اثر مهار کنندگی دارد (*Maassoumi & Hashemi, 2016*). بعلاوه مشخص شد عصاره متانولی برگ زعفران زراعی کشت شده در مراکش هیچ گونه فعالیت میکروبی در برابر باکتری *استافیلوکوک‌اورئوس* در آن دیده نشد (*Jadouali et al., 2018*)، همچنین عصاره اتیل استات برگ‌های زعفران زراعی در برابر ارگانیسم *اشرشیا کلی* استفاده شد و تأثیر قابل ملاحظه‌ای نداشت (*Vahidi et al., 2002*). این موضوع به این دلیل است که ترکیبات عصاره‌های حاصل از یک گونه گیاهی می‌تواند بر اساس جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، مرحله رشد و روش خشک کردن و استخراج متفاوت باشد (*Mykchailenko & Kovalyov, 2016*).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه مشخص شد که گیاه زعفران جوقاسم یکی از گونه‌های شناخته شده در غرب ایران می‌باشد، شناسایی متابولیت‌های ثانویه جنس گیاه زعفران برای مصارف دارویی و غذایی حائز اهمیت است. بر اساس تحقیقات انجام شده بر روی زعفران زراعی، چهار ترکیب اصلی کروسین، کروستین، پیکروکروسین و سافرانال در کلاله این گیاه شناسایی شده است. بُنه زعفران زراعی دارای دو ترکیب کلروجنیک اسید و سینرجیک اسید می‌باشد. همچنین میزان فنول در بُنه زعفران زراعی کم است.

ترکیبات زیست فعال شناسایی‌شده از بُنه جوقاسم کاربرد فراوانی در رژیم غذایی و مطالعات دارویی دارند. به طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که این گیاه حاوی ترکیبات فنلی شیکوریک اسید، سیرینجیک اسید و کلروجنیک اسید و همچنین دو فلاونوئید کامفرول و آپجنین می‌باشد. سایر مطالعات انجام شده نشان داده است که این ترکیبات دارای بسیاری از خواص بیولوژیکی، از جمله خاصیت ضدباکتری را دارا می‌باشد. مطالعه فعالیت ضدباکتریایی عصاره بُنه گیاه جوقاسم در این تحقیق، توانایی خوبی در مهار دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* داشت. بدون شک این اثرات محافظتی و مفید به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی ذکر شده در بالا نسبت داده می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تقدیر و تشکر خویش را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بیرجند جناب آقای دکتر نجفی، مدیر محترم گروه پژوهشی زعفران جناب آقای دکتر بهدانی که با حمایت‌های خویش مسیر تحقیقات را هموارتر می‌سازند اعلام می‌دارند.

جدول ۳. قطر هاله عدم رشد عصاره‌های بُنه و برگ گیاه جوقاسم بر روی دوگونه باکتری، گرم مثبت *استافیلوکوک اورئوس* (*S. aureus*) و گرم منفی *اشرشیا کلی* (*E. coli*)

Table 2. Diameter of Inhibition Zone of Different Extracts of Corm and Leaf Extracts on Two Bacteria species, Gram-positive (*S. aureus*) and Gram-negative (*E. coli*)

قسمت‌های گیاه Parts of plant	فعالیت ضدباکتری Antibacterial activity																	
	عصاره اتیل استات Ethyl acetate extract						عصاره ان-هگزانی n-Hexane extract						عصاره متانولی Methanolic extract					
	منطقه C Region C		منطقه B Region B		منطقه A Region A		منطقه C Region C		منطقه B Region B		منطقه A Region A		منطقه C Region C		منطقه B Region B		منطقه A Region A	
	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf	بُنه Corm	برگ Leaf
E. coli	*15±0.2 mm*	*16±0.2 mm*	*14±0.1 mm*	*14±0.1 mm*	*14±0.1 mm*	*15±0.2 mm*	*15±0.2 mm*	*17±0.2 mm*	*15±0.1 mm*	*16±0.1 mm*	*13±0.2 mm*	*15±0.1 mm*	*16±0.2 mm*	*18±0.2 mm*	*17±0.1 mm*	*18±0.1 mm*	*16±0.2 mm*	*18±0.2 mm*
S. aureus	*16±0.1 mm*	*17±0.1 mm*	*15±0.1 mm*	*16±0.1 mm*	*15±0.1 mm*	*15±0.1 mm*	*16±0.1 mm*	*17±0.2 mm*	*16±0.1 mm*	*17±0.1 mm*	*16±0.1 mm*	*17±0.1 mm*	*18±0.2 mm*	*20±0.2 mm*	*17±0.1 mm*	*18±0.2 mm*	*18±0.1 mm*	*20±0.1 mm*

منابع

Abdi, K., Safarian, S., Esmaeili, N., and Ebrahimzadeh, H., 2011. Determination of some phenolic compounds in Crocus sativus L. corms and its antioxidant activities study. Pharmacognosy. 7(25), 74.

Acar, G., Dogan, N.M., Duru, M.E., and Kıvrak, I., 2010. Phenolic profiles, antimicrobial and antioxidant activity of the various extracts of Crocus species in Anatolia. Afr. J. Microbiol. Res. 4(11), 1154–1161.

Aryanejad, S., Bagherzade, G., and Moudi, M., 2019. Design and development of novel CoMOF nanostructures as an excellent catalyst for alcohol oxidation and Henry reaction, with a potential antibacterial activity. Appl. Organometal. Chem. 33(6), e4820.

Baba, S.A., Malik, A.H., Wani, Z.A., Mohiuddin, T., Shah, Z., Abbas, N., and Ashraf, N., 2015. Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of Crocus sativus and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. South Afr. J. Bot. 99, 80–87.

Bagherzade, G., and Manzaritavakoli, M., 2015. Qualitative and quantitative investigation of phytochemical factors of wastage of Crocus sativus L. and determination of anthocyanin content using ultrasound waves. J. Saffron Res. 4(2), 149–158. [in Persian with English Summary].

Basgedik, B., Ugur, A., and Sarac, N., 2014. Antimicrobial, antioxidant, antimutagenic activities, and phenolic compounds of Iris germanica. Ind. Crops & Prod. 61, 526–530.

Chandra, S., Khan, S., Avula, B., Lata, H., Yang, M.H., Elsohly, M.A., and Khan, I.A., 2014. Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: A comparative study. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. p. 1–9.

Chen, A.Y., and Chen, Y.C., 2013. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. Food Chem. 138(4), 2099–2107.

Farhadi, M., 2015. Reflections on Joghasem: Ethno-Botany and phytogeography of a plant in Iran. Soc. Sci. 21(67), 17–72. [in Persian with English Summary].

Gismondi, A., Serio, M., Canuti, L., and Canini, A., 2012. Biochemical, Antioxidant and Antineoplastic Properties of Italian Saffron (Crocus sativus L.). Am. J. Plant Sci. 03(11), 1573–1580.

Harris, L.G., Foster, S.J., Richards, R.G., Lambert, P., Stickler, D., and Eley, A., 2002. An introduction to Staphylococcus aureus, and techniques for identifying and quantifying S. aureus adhesins in relation to adhesion to biomaterials: Review. Europ. Cells & Mater. 4, 39–60.

Imran, M., Rauf, A., Shah, Z.A., Saeed, F., Imran, A., Arshad, M.U., Mubarak, M.S., 2019. Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: A comprehensive review. Phytother. Res. 33(2), 263–275.

Jadouali, S., Atifi, H., Bouzoubaa, Z., Majourhat, K., Gharby, S., Achemchem, F., and Mamouni, R., 2018. Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of Moroccan Crocus sativus L. petals and leaves. J. Mater. & Environ. Sci. 9(1), 113–118.

Jang, J., Hur, H.G., Sadowsky, M.J., Byappanahalli, M.N., Yan, T., and Ishii, S., 2017. Environmental Escherichia coli : ecology and public health implications-a review. J. Appl. Microbiol. 123(3), 570–581.

Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., and Jaafar, H.Z.E., 2010. Evaluation of Crocus sativus L. stigma phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. Molecules. 15(9), 6244–6256.

Kozłowska, A., and Szostak-Węgierek, D., 2014. Flavonoids-food sources and health benefits Aleksandra. Nat. Inst. Public Health. 65(2), 79–85.

Maassoumi, M., and Hashemi, M., 2016. The Antimicrobial properties of extracts in Crocus Sativus Var. haussknechtii Boiss. & Reut. ex Maw. Saffron Agron. & Technol., 5(4), 407–412. [in Persian with English Summary].

Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J., and Hu, Y., 2013. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: A review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. p. 1–11.

Mykchailenko, O.O., and Kovalyov, M.V., 2016.

Phenolic compounds of the genus Iris plants (Iridaceae). Ceska Slov. Farm. 65(2), 70–77.

Mykhailenko, O., Kovalyov, V., Goryacha, O., Ivanauskas, L., and Georgiyants, V., 2019. Biologically active compounds and pharmacological activities of species of the genus Crocus: A review. Phytochemistry. 162, 56–89.

Najari, G., Aazami, F., Taghi Mollaei, Y., and Fattahi, S., 2016. The morphological survey of wild saffron species in forests and rangeland of Ilam Province Ghasem. Forest Sterategical Approachment J. 1(3), 46–53. [in Persian with English Summary].

Peng, Y., Sun, Q., and Park, Y., 2019. The Bioactive Effects of Chicoric Acid As a Functional Food Ingredient. Journal of Medicinal Food, 22(7), 645–652.

Proestos, C., Sereli, D., and Komaitis, M., 2006. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. Food Chemistry, 95(1), 44–52.

Salvamani, S., Gunasekaran, B., Shaharuddin, N.A., Ahmad, S.A., and Shukor, M.Y., 2014. Antiartherosclerotic Effects of Plant Flavonoids. Biomed. Res. Int. p. 1–11.

Srinivasulu, C., Ramgopal, M., Ramanjaneyulu, G., Anuradha, C.M., and Suresh Kumar, C., 2018. Syringic acid (SA) – A review of its occurrence, biosynthesis, pharmacological and industrial importance. Biomed. & Pharmacother. 108, 547–557.

Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients. 2(12), 1231–1246.

Vahedi, M., Kabiri, M., Salami, S.A., Rezadoost, H., Mirzaie, M., and Kanani, M.R., 2018. Quantitative HPLC-based metabolomics of some Iranian saffron (Crocus sativus L.) accessions. Ind. Crops & Prod. 118, 26–29.

Vahidi, H., Kamalinejad, M., and Sedaghati, N., 2002. Antimicrobial Properties of Croccus sativus L. Iran. J. Pharmaceut. Res. 1, 33–35. [in Persian with English Summary].

Wang, Z., Lam, K., Hu, J., Ge, S., Zhou, A., Zheng, B., and Lin, S., 2019. Chlorogenic acid alleviates obesity and modulates gut microbiota in high fatfed mice. Food Sci. & Nutr. 7(2), 579–588.

Yan, X., Qi, M., Li, P., Zhan, Y., and Shao, H., 2017. Apigenin in cancer therapy: Anti-cancer effects and mechanisms of action. Cell Biosci. 7(1), 50.

Journal of Saffron Research (semi-annual)

Vol.8, No.1, Spring & Summer, 2020

p. 127-140

http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2020.2857.1115

University of Birjand

Original Article:

Identification of Phenolic and Flavenoid Compounds and Antibacterial Analysis in *Crocus pallasii* subsp. *haussknechtii* (Boiss. & Reut. ex Maw) B. Mathew.

Maryam Moudi*[1], Navid Zivyar[2], Ghodsieh Bagherzade[3]

1- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Birjand, Iran

2- M. Sc. Student, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Birjand, Iran

3- Associate of Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Birjand, Iran

[*]Corresponding Author E-mail: maryammoudi@birjand.ac.ir

Received 01 October 2019; Accepted 22 January 2020

Abstract

In order to study the quantitative and qualitative analysis and phenolic, flavonoid and antimicrobial activity of methanolic, ethyl acetate and N-hexane extracts of corm and leaves of Jo-ghasem (*Crocus pallasii* subsp. *haussknechtii* (Boiss. & Reut. ex Maw) B. Mathew., an experiment was conducted. The plant species had been collected from three different habitats (including Gaaza, Ziba and Veysian) in Lorestan province, Iran during 2018. The extraction was done by Maceration method. The results of the qualitative analysis showed that the aqueous extract of corm contains more phenolic and flavonoid compounds than the other two extracts. In contrast, quantitative analysis of extracts using high-performance liquid chromatography (HPLC) was performed. The antibacterial effects of ethyl acetate, methanol and N-hexane extract on *Escherichia coli* as gram-negative bacteria and *Staphylococcus aureus* as gram-positive bacteria were investigated using Agar well diffusion method. This method showed that corm of Jo-ghasem was contained three phenolic compounds such as Chicoric acid, Chlorogenic acid and Syringic acid and two flavonoid compounds including Kaempferol and Apginine. According to the results, methanol extract of leaves and corm of Jo-ghasem from all three regions had the most effect on both bacteria compared to N-hexane extract.

Keywords: Antimicrobial activity, High performance liquid chromatography, Jo-ghasem, Polyphenol compounds.