Research Article

Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research

DOI: 10.22092/ijrfpbgr.2026.372773.1495

Vol. 34, No. 1, Page 17-28 (2026)

Evaluation of the Biochemical Composition and Antioxidant Activity of the Medicinal Plant (*Verbena officinalis* L.)

Mohammad Samiei[1*], Mohammad Rahim Forouze[2]

[1*] Corresponding author, PhD graduate in Rangeland Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: mohammadsamiei94@yahoo.com

[2] Assoc. Prof., Faculty of Rangeland and Watershed Management, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received: 2026/05/12 Revised: 2026/06/29 Accepted: 2026/07/13

Abstract

Background and Objective: *Verbena officinalis* is a valuable medicinal plant known for its rich content of phenolic compounds, flavonoids, and other secondary metabolites, which contribute to its remarkable antioxidant and therapeutic properties. Despite its widespread use in traditional medicine, no study has simultaneously evaluated the changes in total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity among different plant organs across various phenological stages in the natural habitats of Golestan Province, Iran. Therefore, the present study was conducted to investigate the total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity of different organs of *V. officinalis* at different phenological stages in order to determine the most suitable harvesting stage and plant organ.

Materials and Methods: This field study was carried out in the natural habitat of Qaleh-Miran, Golestan Province, Iran. Wild vervain plants were randomly collected at three phenological stages: vegetative, flowering, and seed-setting. At each stage, leaves, stems, and roots were harvested separately. After washing, the samples were shade-dried under indirect light and manually ground into powder. Total phenolic content was determined using the Folin–Ciocalteu colorimetric assay, total flavonoid content by the aluminum chloride colorimetric method, and antioxidant activity using the DPPH free radical scavenging assay. In addition, the possibility of essential oil extraction from different plant organs at different phenological stages was evaluated using the hydrodistillation method with a Clevenger apparatus. The obtained data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), followed by appropriate mean comparison tests.

Results: The results demonstrated that both phenological stage and plant organ had significant effects on total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity of wild *V. officinalis*. The highest total phenolic content (62.57 mg GAE g^{-1} extract), total flavonoid content (16.29 mg QE g^{-1} extract), and antioxidant activity (89.13% DPPH radical inhibition) were recorded in the leaves at the flowering stage. In contrast, the lowest total phenolic content (24.82 mg GAE g^{-1} extract) was observed in the roots at the seed-setting stage, whereas the lowest total flavonoid content (0.75 mg QE g^{-1} extract) and antioxidant activity (43.31% DPPH radical inhibition) were recorded in the roots at the vegetative stage.

Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijrfpbgr.areeo.ac.ir//) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

These findings indicate that the accumulation of phenolic and flavonoid compounds increases with the transition to the flowering stage. No extractable essential oil was obtained under the conditions of the present study. Furthermore, indigenous knowledge surveys revealed that the leaves are the most frequently used medicinal part of the plant by local people, which is consistent with the phytochemical findings obtained in this study.

Conclusion: The findings of this study indicate that the flowering stage and the leaves are the most suitable harvesting stage and plant organs for obtaining the highest levels of bioactive compounds. These results can contribute to medicinal plant utilization programs, harvesting management, conservation, and the sustainable use of wild *V. officinalis*. Overall, this study demonstrated that phenological stage and plant organ play a decisive role in the accumulation of bioactive compounds in wild vervain and may significantly influence its medicinal quality. Therefore, selecting the appropriate harvesting stage and plant organ can improve the yield of biologically active constituents, optimize the utilization of this medicinal species, support the development of herbal products, and contribute to the conservation of its natural populations. In addition, the findings provide a valuable basis for future studies on other secondary metabolites and the biological activities of this species under different climatic conditions across Iran.

Keywords: *Verbena officinalis* L., Phenol, Flavonoid, Antioxidant, Phenology, DPPH.

بررسی محتوای بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه دارویی شاه‌پسند (*Verbena officinalis* L)

محمد سمیعی[1*] و محمدرحیم فروزه[2]

۱* نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری علوم مرتع، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

پست‌الکترونیک: mohammadsamiei94@yahoo.com

۲ دانشیار، دانشکده مرتع و آبخیزداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۲ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۳۰

چکیده

سابقه و هدف: شاه‌پسند وحشی (*Verbena officinalis* L.) یکی از گیاهان دارویی ارزشمند است که به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و سایر متابولیت‌های ثانویه، از خواص آنتی‌اکسیدانی و درمانی قابل توجهی برخوردار است. با وجود کاربرد گسترده این گیاه در طب سنتی، گزارشی از بررسی همزمان تغییرات محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف این گونه در مراحل فنولوژیکی مختلف در رویشگاه طبیعی استان گلستان در دسترس نیست. ازاین‌رو، این پژوهش با هدف بررسی محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شاه‌پسند وحشی در مراحل مختلف فنولوژیکی و اندام‌های مختلف آن، به‌منظور تعیین مناسب‌ترین زمان و اندام برداشت، انجام شد.

مواد و روش‌ها: این تحقیق به‌صورت میدانی در رویشگاه طبیعی منطقه قلعه‌میران واقع در استان گلستان انجام شد. نمونه‌های گیاهی شاه‌پسند وحشی به‌صورت تصادفی و در سه مرحله فنولوژیکی رویشی، گل‌دهی و بذردهی جمع‌آوری گردید. در هر مرحله، اندام‌های مختلف گیاه شامل برگ، ساقه و ریشه به‌طور جداگانه برداشت شد. پس از شستشو، نمونه‌ها در شرایط سایه خشک و بعد آسیاب شدند. میزان فنول کل با استفاده از روش فولین– سیوکالچو، فلاونوئید کل به روش آلومینیوم کلرید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، امکان استخراج اسانس از اندام‌های مختلف گیاه در مراحل گوناگون فنولوژیکی بررسی شد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از تجزیه واریانس و آزمون‌های آماری مناسب مورد تحلیل قرار گرفتند.

نتایج: نتایج این پژوهش نشان داد که مراحل فنولوژیکی و نوع اندام گیاهی تأثیر معنی‌داری بر میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شاهپسند وحشی دارند. بیشترین مقدار فنول کل (۵۷/۶۲mg GAE g^{-1} extract)، فلاونوئید کل (mg QE g^{-1} extract ۱۶/۲۹) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۹/۱۳ درصد مهار رادیکال DPPH)، در اندام برگ و در مرحله گل‌دهی مشاهده شد. در مقابل، کمترین مقدار فنول کل (۲۴/۸۲ mg GAE g^{-1} extract) در ریشه و مرحله بذردهی، کمترین مقدار فلاونوئید کل (mg QE g^{-1} extract ۰/۷۵) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۳/۳۱ درصد مهار DPPH)، در اندام ریشه و مرحله رویشی ثبت گردید. این یافته‌ها بیانگر افزایش تجمع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی همزمان با ورود گیاه به مرحله گل‌دهی است. در اندازه‌گیری اسانس در این مطالعه، هیچگونه اسانسی استخراج نشد. بررسی دانش بومی مردم منطقه نیز نشان داد که برگ‌های این گیاه بیشترین کاربرد دارویی را در میان مردم محلی دارند که این موضوع با نتایج فیتوشیمیایی به‌دست‌آمده همخوانی داشت.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که نوع اندام گیاهی و مرحله فنولوژیکی نقش تعیین‌کننده‌ای در تجمع ترکیبات زیست‌فعال شاه‌پسند وحشی دارند و این تغییرات می‌توانند بر کیفیت دارویی گیاه اثرگذار باشند. ازاین‌رو، انتخاب زمان مناسب برداشت و استفاده از اندام مناسب گیاه می‌تواند ضمن افزایش بازده استخراج ترکیبات مؤثره، در بهینه‌سازی بهره‌برداری و توسعه فراورده‌های گیاهی و حفاظت از ذخایر طبیعی آن مؤثر باشد. در این تحقیق اندام برگ در مرحله گل‌دهی دارای بیشترین میزان ترکیبات زیست‌فعال بود. نتایج این پژوهش می‌تواند در برنامه‌ریزی بهره‌برداری دارویی، مدیریت برداشت، حفاظت و استفاده پایدار از گیاه شاهپسند وحشی مورد استفاده قرار گیرد و می‌تواند مبنایی برای مطالعات آینده در زمینه بررسی سایر متابولیت‌های ثانویه و ارزیابی فعالیت‌های زیستی این گونه در شرایط اقلیمی مختلف کشور باشد.

واژه‌های کلیدی: شاهپسند وحشی، فنول، فلاونوئید، آنتی‌اکسیدان، فنولوژی، **DPPH**.

مقدمه

گیاهان دارویی یکی از مهمترین منابع طبیعی ترکیبات زیست‌فعال به‌شمار می‌روند که بخش قابل‌توجهی از خواص درمانی آنها به حضور متابولیت‌های ثانویه نسبت داده می‌شود. متابولیت‌های ثانویه گروه گسترده‌ای از ترکیبات آلی هستند ولی به‌طور مستقیم در مراحل رشد، نمو یا تولیدمثل مشارکت ندارند. اما در سازگاری گیاه با شرایط محیطی و دفاع در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی اهمیت زیادی دارند. این ترکیبات طی قرن‌ها مورد توجه بشر قرار گرفته و از آن‌ها در صنایع مختلف، به‌ویژه صنایع دارویی و بهداشتی، بهره‌برداری گسترده‌ای شده است. به‌طوری‌که امروزه بخش قابل‌توجهی از داروهای منشأ طبیعی بر پایه این ترکیبات تولید می‌شوند (Malini *et al.*, 2017).

متابولیت‌های ثانویه گیاهی معمولاً براساس ساختار شیمیایی و منشأ زیستی به سه گروه اصلی شامل ترپن‌ها، ترکیبات فنولی و ترکیبات نیتروژن‌دار تقسیم می‌شوند. ترپن‌ها یا ترپنوئیدها بزرگ‌ترین گروه این ترکیبات را تشکیل می‌دهند و ویژگی مشترک آن‌ها وجود واحدهای پنج‌کربنه ایزوپرنی در ساختارشان است. ترکیبات نیتروژن‌دار شامل آلکالوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنی بوده و در مقابل، ترکیبات فنولی مانند اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و لیگنین‌ها از مهم‌ترین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه با فعالیت‌های زیستی قابل‌توجه محسوب می‌شوند (Humbal & Pathak, 2023).

در میان گیاهان دارویی، جنس Verbena از تیره شاه‌پسند (Verbenaceae) به‌عنوان یکی از جنس‌های مهم و پرگونه شناخته می‌شود. این تیره شامل حدود ۳۵ جنس و ۱۲۰۰ گونه است که در مناطق مختلف معتدل جهان پراکنش دارند (Akerreta *et al*, 2017). گونه شاه‌پسند وحشی (*Verbena officinalis* L.) یکی از گونه‌های شاخص این جنس است که در استان‌های گلستان، مازندران، گیلان، اردبیل، آذربایجان‌شرقی و غربی، تهران، البرز، قزوین، زنجان، همدان، کردستان، کرمانشاه، لرستان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد، فارس و برخی مناطق دیگر کشور در رویشگاه‌های مرطوب، حاشیه جاده‌ها، مراتع و زمین‌های بایر پراکنش دارد. این گیاه علفی و چندساله بوده و ارتفاع آن بین ۳۰ تا ۷۵ سانتی‌متر متغیر است. ساقه‌های گیاه افراشته و در بخش‌های بالایی دارای غدد ترشحی هستند و گل‌آذین آن به‌صورت سنبله انتهایی با رنگ سفید تا ارغوانی مشاهده می‌شود (Jamzad, *et al.*, 2006).

گونه *V. officinalis* از دیرباز در طب سنتی مناطق مختلف اروپا، آسیا و شمال آفریقا برای درمان بیماری‌های گوناگون مورد استفاده قرار گرفته است. از عصاره این گیاه برای درمان التهابات، تب، سوختگی‌ها و ترمیم زخم‌های پوستی استفاده می‌شده است. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که این گیاه دارای خواص ضدالتهابی، ضدتب، ضددرد، آنتی‌باکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی است و در درمان بیماری‌هایی مانند التهابات دستگاه تنفس، اختلالات گوارشی، دردهای اسکلتی، اسهال و التهابات مزمن زخم کاربرد دارد (Rehecho *et al.*, 2011). براساس مطالعات آتنوبوتانی که توسط نگارنده در منطقه قلعه‌میران استان گلستان انجام شده است، مردم محلی کاربردهای دارویی متنوعی را برای این گیاه گزارش کردند که این دانش حاصل تجربه و انتقال شفاهی آن طی نسل‌های مختلف است. در منطقه قلعه‌میران، این گیاه با نام محلی «حَصبه‌علف» شناخته می‌شود و یکی از مهم‌ترین کاربردهای سنتی آن، مصرف برگ‌ها به‌صورت دم‌کرده یا جوشانده برای درمان بیماری با نام حصبه و نام علمی (تب تیفوئید) است.

ترکیبات مؤثره اصلی *V. officinalis* شامل فنول‌های پروپانوئید، فلاونوئیدها، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، لوتئولین، ترپنوئیدها و ایریدوئیدها گزارش شده است که هریک نقش مهمی در بروز فعالیت‌های دارویی گیاه ایفا می‌کنند (Deepak *et al*, 2000). در این میان، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به

دلیل توانایی بالا در مهار رادیکال‌های آزاد، سهم قابل‌توجهی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارند و اثرهای ضدالتهابی و آنتی‌باکتریایی این گونه نیز عمدتاً به حضور این ترکیبات نسبت داده می‌شود (Maina *et al*, 2021).

با توجه به محدود بودن مطالعات مربوط به ترکیبات زیست‌فعال گیاه شاه‌پسند وحشی در رویشگاه‌های طبیعی ایران و اهمیت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در تعیین ارزش دارویی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه، این پژوهش با هدف بررسی همزمان محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف (برگ، ساقه و ریشه) طی مراحل فنولوژیکی رویشی، گل‌دهی و بذردهی در جمعیت طبیعی منطقه قلعه‌میران استان گلستان انجام شد. نتایج این پژوهش می‌تواند در تعیین مناسب‌ترین اندام و زمان برداشت به‌منظور دستیابی به بیشترین میزان ترکیبات ثانویه و بهره‌برداری پایدار از این گونه دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش

این تحقیق به‌صورت میدانی در منطقه قلعه‌میران از توابع استان گلستان، در مختصات جغرافیایی ″۳۶°۵۹′۴۴ عرض شمالی و ″۵۰°۰۳′۵۵ طول شرقی و در ارتفاع ۷۳ متر از سطح دریا انجام شد. نمونه‌های گیاه شاهپسند وحشی (*Verbena officinalis* L) از رویشگاه طبیعی منطقه قلعه‌میران جمع‌آوری شدند. شناسایی گیاه براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و با استفاده از منابع معتبر فلور ایران انجام شد. همچنین نمونه هرباریومی تهیه و برای تأیید نام علمی به هرباریوم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. پس از تأیید، گونه مورد مطالعه به عنوان *V. officinalis* در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت.

این رویشگاه در ارتفاع ۷۳ متر از سطح دریا قرار دارد. میانگین بارندگی سالانه منطقه براساس آمار اقلیمی ۳۰ ساله (۱۳۶۱–۱۳۹۱)، ۹۰۰ میلی‌متر است که عمده نزولات جوی آن در فاصله ماه‌های آبان تا اردیبهشت رخ می‌دهد و میانگین دمای سالانه آن ۱۶/۹ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است. پوشش گیاهی منطقه شامل گونه‌های علفی، بوته‌ای، درختچه‌ای و درختی با فراوانی‌های متفاوت است که شرایط مناسبی را برای استقرار گونه‌های گیاهی خودرو فراهم می‌کند (NRWM, 2006).

برداشت اندام‌های مختلف گیاه شامل ریشه، ساقه و برگ، از عرصه طبیعی در سه دوره مختلف فنولوژیکی شامل مرحله رویشی، گل‌دهی و بذردهی، به‌صورت جداگانه در هر دوره انجام شد (شکل ۱). نمونه‌برداری به روش تصادفی انجام شد، به‌طوری‌که با توجه به وسعت محدود رویشگاه و تعداد کم پایه‌های گیاهی موجود در منطقه، در هر مرحله فنولوژیکی از چهار پایه گیاهی به‌عنوان چهار تکرار استفاده شد. در هر دوره، هر پایه گیاه به‌طور کامل و همراه با ریشه از خاک خارج گردید.

سپس به همین ترتیب، برای تمامی تکرارها در مراحل مختلف فنولوژیکی، اندام‌های گیاه شاه‌پسند وحشی جمع‌آوری شد. اندام‌های برداشت‌شده شامل ساقه، برگ و ریشه بودند که به‌منظور حذف گردوغبار، برای مدت کوتاهی با آب شسته شدند. پس از آن، تمامی نمونه‌ها به‌صورت جداگانه در سایه و تحت شرایط نور غیرمستقیم خشک گردیدند. پس از خشک شدن، اندام‌های گیاه شامل برگ، ساقه و ریشه از یکدیگر تفکیک شده و به‌صورت دستی پودر شدند. نمونه‌های پودر شده تا زمان انجام آزمایش‌ها در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری گردیدند. در نهایت، نمونه‌های مربوط به ساقه، برگ و ریشه به‌منظور اندازه‌گیری پارامترهای مختلف شامل محتوای فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به آزمایشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان گرگان منتقل شد.



شکل ۱- جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی گیاه شاه‌پسند وحشی در مراحل رویشی

Figure 1: Collecting plant samples of *Verbena officinalis* at the vegetative stage.

استخراج عصاره: برای تهیه عصاره، از هر نمونه یک گرم پودر خشک توزین و در ارلن جداگانه ریخته شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (تهیه‌شده از متانول خالص و آب مقطر) به آن افزوده شد. ارلن‌ها با فویل آلومینیومی پوشانده شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه روی شیکر آزمایشگاهی قرار گرفتند. پس از پایان استخراج، عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شده و عصاره حاصل برای اندازه‌گیری فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت.

محتوای فنول کل: با استفاده از روش رنگ‌سنجی فولین‌سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ۲۰ میکرولیتر از عصاره هر نمونه با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و بعد ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین‌سیوکالتیو و ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم به آن افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار فنول کل براساس منحنی استاندارد اسید گالیک (Gallic acid) محاسبه و به‌صورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک در هر گرم عصاره خشک (mg GAE g^{-1} extract) گزارش گردید (Atashi & Mashayekhi, 2015).

محتوای فلاونوئید کل: با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره هر نمونه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفتند و بعد جذب آن‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئید کل براساس منحنی استاندارد کوئرستین (Quercetin) محاسبه و به‌صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم عصاره خشک (mg QE g^{-1} extract) گزارش گردید (Atashi & Mashayekhi, 2015).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: با استفاده از آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. بدین منظور، یک میلی‌لیتر از هر عصاره با یک میلی‌لیتر محلول DPPH با غلظت یک میلی‌مولار مخلوط و به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. برای نمونه شاهد، به جای عصاره گیاهی از متانول ۸۰ درصد استفاده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (% inhibition) و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Atashi & Mashayekhi, 2015).

$$DPPH\ (\%\ inhibition)(\frac{\text{A blank} - \text{A sample}}{\text{A blank}}) \times 100$$

همچنین به‌منظور بررسی امکان استخراج اسانس، نمونه‌های خشک اندام‌های مختلف گیاه شاهپسند وحشی به روش تقطیر با آب (Hydrodistillation) و با استفاده از دستگاه کلونجر مورد اسانس‌گیری قرار گرفتند. برای هر نمونه حدود ۲۰ گرم ماده گیاهی خشک در بالن دستگاه کلونجر ریخته شد و فرایند تقطیر به مدت ۳ تا ۵ ساعت ادامه یافت. پس از پایان تقطیر، اسانس احتمالی جمع‌آوری و مقدار اسانس استخراج‌شده ثبت و وجود یا عدم وجود اسانس قابل استخراج ارزیابی شد. در نهایت داده‌های حاصل از اندازه‌گیری فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از تجزیه واریانس (ANOVA) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد به روش توکی انجام شد.

نتایج

اسانس گیاه: در این مطالعه، علاوه بر بررسی ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، استخراج اسانس گیاه از اندام‌های مختلف گیاه شاهپسند وحشی با استفاده از روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر انجام شد. پس از انجام فرایند تقطیر، در هیچ‌یک از نمونه‌های برگ، ساقه و ریشه در مراحل مختلف فنولوژیکی، اسانس قابل اندازه‌گیری مشاهده نشد.

تجزیه واریانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مرحله فنولوژیکی، اندام گیاهی و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شاهپسند وحشی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر دوره فنولوژی بر میزان آنتی‌اکسیدان، فنول و فلاونوئید در اندام‌های گیاهی شاهپسندوحشی

Table 1. Analysis of variance (ANOVA) of the effect of phenological stage on antioxidant, phenolic, and flavonoid contents in different organs of *Verbena officinalis* L.

Source of variation	DF	MS		
		Phenol	Flavonoid	Antioxidant
Phenological stage (P)	2	483.71**	289.91**	2815.357**
Plant organ (O)	2	2807.54**	217.91**	540.010**
P × O	4	57.34**	34.16**	132.26**
Error	27	4.15	0.17	1.81
CV		4.53	6.05	1.83

**Significant at the 1% probability level ($p < 0.01$) T **: معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

مقایسه میانگین اثرهای اصلی اندام گیاهی و مراحل رشد

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی اندام‌های گیاهی نشان داد که میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف شاه‌پسند وحشی تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). بیشترین مقدار فنول کل (۵۷/۵۶ mg GAE g^{-1} extract) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۶/۹۷ % DPPH inhibition) در برگ مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار فلاونوئید کل به ترتیب با ۱۱/۸۲ و ۱۰/۵۲ mg QE g^{-1} extract به ترتیب در ساقه و برگ مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما هر اندام به‌طور معنی‌داری میانگین بیشتری نسبت به ریشه داشت.

نتایج مقایسه میانگین کل مرحله فنولوژی برای مقادیر فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوت بود. بیشترین مقدار فنول کل (۵۰/۲۹mg GAE g^{-1} extract) و فلاونوئید کل (۱۱/۳۹mg QE g^{-1} extract) در مرحله گل‌دهی مشاهده شد. همچنین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله گل‌دهی (DPPH % inhibition۷۶/۸۱) ثبت شد که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با مرحله بذردهی (۷۵/۱۰ درصد) نداشت، اما میانگین هر دو مرحله هر دو به‌طور معنی‌داری بیشتر از مرحله رویشی (۵۶/۳۶ درصد) بودند (جدول ۳).

جدول ۲- میانگین میزان محتوای آنتی‌اکسیدان، فنول و فلاونوئید در اندام‌های گیاهی شاه‌پسند وحشی

Table 2. Means of antioxidant, phenolic, and flavonoid contents in different plant organs of *Verbena officinalis*

Organ	Antioxidant (% DPPH inhibition)	Flavonoid (mg QE g^{-1} extract)	Phenol (mg GAE g^{-1} extract)
Leaf	76.97 a	10.52 a	57.56 a
Stem	64.45 b	11.82 a	53.60 a
Root	66.86 b	2.25 b	28.82 b

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ است.

Means followed by different letters differ significantly according to Tukey's test at $P \leq 0.05$.

جدول ۳- میانگین میزان محتوای آنتی‌اکسیدان، فنول و فلاونوئید در سه مرحله رشد فنولوژیک گیاه شاه‌پسند وحشی

Table 3. Means of antioxidant, phenolic, and flavonoid content in three phenological stages in *Verbena officinalis* L.

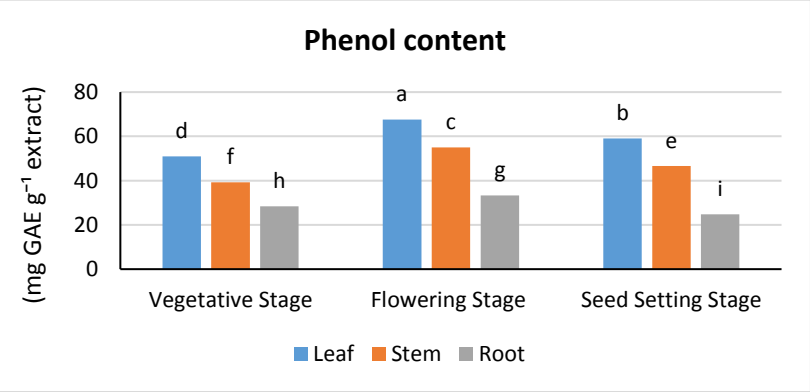
Growth Stage	Antioxidant (% DPPH inhibition)	Flavonoid (mg QE g^{-1} extract)	Phenol (mg GAE g^{-1} extract)
Vegetative	56.36 b	5.34 c	46.16 b
Flowering	76.81 a	11.39 a	50.29 a
Seed Setting	75.10 a	7.87 b	43.52 c

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ است.

Means followed by different letters differ significantly according to Tukey's test at $P \leq 0.05$.

بررسی اثر متقابل مرحله فنولوژی و اندام گیاه بر میزان فنول: نتایج نشان داد که میزان فنول در اندام‌های گیاه *V. officinalis* در دوره‌های مختلف فنولوژی، اختلاف معنی‌داری دارد. این نتایج نشان داد که روند تغییرات میزان فنل با افزایش رشد گیاه در اندام‌ها یکسان نمی‌باشد. به‌طوری‌که غلظت فنول با ورود گیاه به مرحله گل‌دهی افزایش یافته و در مراحل قبل و بعد از آن (رویشی و بذردهی) کاهش می‌یابد. یادآوری می‌شود که بین مرحله رویشی و بذردهی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

بررسی مقایسه میانگین اثرهای متقابل نشان داد که بیشترین محتوای فنول کل در اندام برگ و در مرحله گل‌دهی با مقدار (۶۲/۵۷) mg GAE g^{-1} extract مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آن در ریشه و مرحله بذردهی برابر با (۲۴/۸۲) mg GAE g^{-1} extract بود. در اندام ساقه نیز بیشترین مقدار فنول در مرحله گل‌دهی (۵۵/۰۵) mg GAE g^{-1} extract و کمترین مقدار آن در مرحله رویشی (۳۹/۲۱) mg GAE g^{-1} extract به دست آمد (شکل ۲).

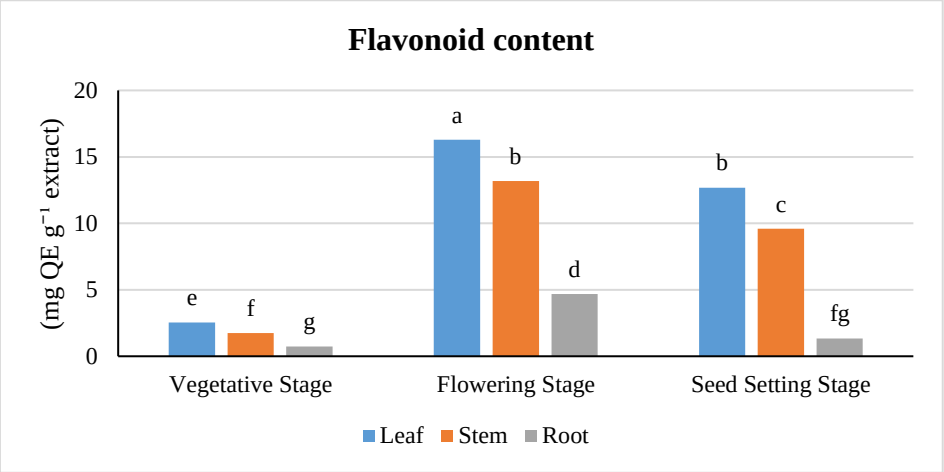


شکل ۲- اثر دوره فنولوژی بر میزان فنول در اندام‌های گیاهی شاه‌پسند وحشی

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 2- Effect of phenological stage on phenol content in different organs of *Verbena officinalis* L.

Means of columns followed by different letters differ significantly according to Tukey's test at $P \leq 0.05$.



شکل ۳- اثر فنولوژی بر میزان فلاونوئید در اندام‌های گیاهی شاه‌پسند وحشی

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ است.

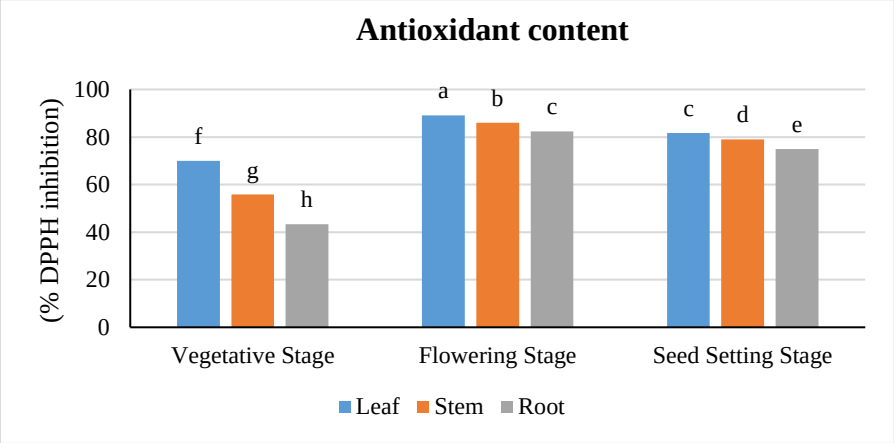
Figure 3- Effect of phenological stages on flavonoid content.in different organs of *Verbena officinalis* L.
Means of columns followed by different letters differ significantly according to Tukey's test at P≤0.05.

بررسی اثر متقابل مرحله فنولوژی و اندام گیاهی بر میزان فلاونوئید: نتایج نشان داد که میزان فلاونوئید در اندام‌های مختلف گیاه *V. officinalis* تفاوت معنی‌داری دارد. این یافته‌ها نشان داد که روند تغییرات میزان فلاونوئید با افزایش رشد گیاه در اندام‌ها یکسان نمی‌باشد. بیشترین غلظت فلاونوئید در مرحله گل‌دهی و کمترین مقدار آن در مرحله رویشی مشاهده شد. به‌طوری‌که تولید فلاونوئید با پیشرفت گیاه و ورود به مرحله گل‌دهی افزایش و بعد در مرحله بذردهی کاهش می‌یابد. علاوه بر مرحله فنولوژی، نوع اندام گیاهی نیز بر میزان فلاونوئید تأثیرگذار بود. به‌نحوی‌که برگ‌ها بیشترین میزان فلاونوئید را دارا بودند، در حالی که ساقه و ریشه به ترتیب مقادیر کمتری داشتند. این نتایج حکایت از آن دارد که ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه به‌طور غیر یکنواخت بین اندام‌ها و مراحل رشد توزیع شده‌اند و انتخاب اندام و زمان برداشت می‌تواند نقش مهمی در بهره‌برداری دارویی گیاه داشته باشد. بیشترین محتوای فلاونوئید کل نیز در برگ و مرحله گل‌دهی با مقدار (۱۶/۲۹) mg QE g^{-1} extract مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آن در ریشه و مرحله رویشی برابر با (۰/۷۵) mg QE g^{-1} extract بود. در ساقه، بیشترین مقدار فلاونوئید در مرحله گل‌دهی (۱۳/۱۹) mg QE g^{-1} extract و کمترین مقدار آن در مرحله رویشی (۱/۷۵) mg QE g^{-1} extract ثبت شد (شکل ۳).

اثر متقابل مرحله فنولوژی و اندام گیاه بر میزان آنتی‌اکسیدان: فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر هر دو عامل مرحله فنولوژی و نوع اندام گیاهی قرار دارد. معنی‌دار شدن اثر متقابل مرحله فنولوژی و اندام گیاه بر میزان آنتی‌اکسیدان نشان‌دهنده این است که روند تغییرات میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش رشد گیاه در اندام‌ها یکسان نمی‌باشد.

بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان در برگ‌ها و در مرحله گل‌دهی مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آن در ریشه‌ها و در مرحله رویشی اندازه‌گیری گردید. این نتایج نشان داد که فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با پیشرفت گیاه و ورود به مرحله گل‌دهی افزایش می‌یابد و در اندام‌های مختلف به صورت ناهمگن توزیع شده است. به‌طوری‌که بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در برگ و مرحله گل‌دهی (۸۹/۱۳٪) مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آن در ریشه و مرحله رویشی (۴۳/۳۱٪) به دست آمد. همچنین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ساقه در مرحله گل‌دهی

(۸۵/۹۷٪) و کمترین مقدار آن در مرحله رویشی (۵۵٪/۸۱) ثبت شد (شکل ۴).



شکل ۴- اثر فنولوژی بر میزان آنتی‌اکسیدان در اندام‌های گیاهی شاه‌پسند وحشی

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 4- Effect of phenological stages on antioxidant content in different organs of *Verbena officinalis* L.
Means of columns followed by different letters differ significantly according to Tukey's test at $P \leq 0.05$.

بحث

مواد مؤثره گیاهان دارویی تحت تأثیر فرایندهای ژنتیکی ایجاد می‌شوند و عوامل محیطی به‌طورکلی در ساخت آنها تأثیرگذار هستند. عوامل محیطی علاوه‌بر اینکه سبب تغییرات در رشد و نمو گیاهان می‌شوند بلکه می‌توانند بر کمّیت و کیفیت مواد مؤثره و توزیع آنها در بین اندام‌های مختلف گیاه نیز اثرگذار باشند (Malini *et al*, 2017). عوامل تأثیرگذار دیگر که می‌تواند کمّیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار دهد شامل اندام مورد استفاده گیاه، نوع گونه گیاهی، مراحل فنولوژیکی، تنش‌های زیستی، زمان برداشت گونه گیاهی، عملیات پس از برداشت و روش استخراج ماده مؤثره است (Feduraev *et al*, 2019). تعیین اثر مراحل مختلف فنولوژی و تنش‌های محیطی و زیستی بر ترکیب‌های شیمیایی گیاهان برای تنظیم برنامه‌های بهره‌برداری (زمان مناسب برداشت) بسیار حائز اهمیت است، زیرا علاوه‌بر شناسایی ترکیب‌های شیمیایی موجود در مراحل مختلف رویش گیاهان، در استفاده درست از گیاهان و رسیدن به حداکثر فعالیت زیستی نیز می‌تواند مؤثر باشد (Jimoh *et al*, 2019). میزان مواد مؤثره در گیاهان ثابت نبوده و متناسب با میزان رشد گیاه متغیر است. تغییراتی که در میزان مواد مؤثره گیاه در طول سال و حتی ساعات یک روز به وجود می‌آید اهمیت جمع‌آوری گیاهان دارویی را در زمانی که گیاه دارای حداکثر میزان مواد مؤثره است نمایان می‌کند (Routray and Orsat, 2014).

در این تحقیق از اندام‌های مختلف گیاه، اسانس قابل استخراج به دست نیامد. همچنین، میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف و مراحل فنولوژیکی متفاوت بود. بیشترین مقدار فنول کل در برگ، طی مرحله گل‌دهی برابر (۶۲/ ۵۷ mg GAE g^{-1} extract) و کمترین مقدار آن در ریشه طی مرحله بذردهی برابر (۲۴/ ۸۲ mg GAE g^{-1} extract) مشاهده شد. بیشترین مقدار فلاونوئید کل در اندام برگ و در مرحله گل‌دهی برابر (۱۶/۲۹mg QE g^{-1} extract) و کمترین مقدار آن در ریشه طی مرحله رویشی برابر (۰/۷۵mg QE g^{-1} extract) به دست

آمد. همچنین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس درصد مهار رادیکال DPPH در برگ طی مرحله گل‌دهی برابر (۸۹٪/۱۲) و کمترین مقدار آن در ریشه طی مرحله رویشی برابر (۴۳٪/۳۱) ثبت شد.

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان ترکیبات فنولی به مرحله رشد و اندام گیاهی وابسته است، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در برگ و طی مرحله گل‌دهی و کمترین مقدار آن در ریشه و مرحله بذردهی مشاهده شد. این روند نشان داد که با ورود گیاه به مرحله گل‌دهی، تجمع ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد. کاهش میزان این ترکیبات در مراحل اولیه رشد احتمالاً به میزان کمتر لیگنینی شدن دیواره سلولی و پایین بودن فعالیت مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات فنولی در بافت‌های جوان مربوط است (Ncube *et al*, 2015). در بررسی میزان فنول در اندام‌های مختلف گیاه ریواس گزارش شده که بیشترین میزان فنل در برگ در مرحله گل‌دهی استخراج شده است و ساقه و ریشه در رتبه‌های بعدی میزان این ماده قرار داشتند (Makari *et al*, 2012).

در گیاه شاه‌پسند وحشی بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید به ترتیب در اندام برگ و ریشه بدست آمد. در گیاه مریم‌گلی تفتانی *Salvia rhytidea* Benth نیز بیشترین میزان فنول و فلاونوئید در اندام برگ مشاهده شد. این یافته با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. با این حال، روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو گونه متفاوت بود (Barzegar & Jooyandeh, 2022).

بررسی تغییرات محتوای فنول، فلاونویید کل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه کنگر *Gundelia tournefortii* L. در مراحل مختلف رشد توسط (Khalasi Ahvazi *et al*, 2016) انجام شد، نتایج نشان داد که عصاره گیاه در مرحله گل‌دهی و در همه رویشگاه‌ها از بیشترین محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوییدی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود.

از لحاظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌دهنده افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه با عبور از مرحله رویشی به مرحله گل‌دهی گیاه بود. در این مورد، Afshin و همکاران (۲۰۲۳) نیز در بررسی گیاه بابونه گاوی *Tanacetum parthenium* L. بیان کردند که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه در دوره‌های مختلف فنولوژی متفاوت است، به‌طوری‌که آنان بیشترین میزان این ماده را در دوره بذردهی گیاه اندازه‌گیری کرده‌اند. Barati و همکاران (۲۰۲۲) در بررسی اثر مراحل مختلف فنولوژی بر پروفیل شیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضدالتهابی عصاره‌های ریشه و اندام هوایی (*Artemisia absinthum* L.) بیان کردند که وجود ترکیبات ثانویه نشان‌دهنده قابلیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان است. آنان بیان کردند که الگوی تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی از الگوی تغییرات میزان فنول و فلاونوئید پیروی می‌کند و مقدار آن با افزایش سن گیاه افزایش می‌یابد.

نتایج این پژوهش نشان داد که اندام برگ با داشتن بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از نظر ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH نسبت به ساقه و ریشه برتری داشت. Hosseini و همکاران (۲۰۱۷) اثر ارتفاع و مراحل رشد بر خواص فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چویل (*Ferula angulata* (Schlecht.) Boiss) در ارتفاعات دنا (استان کهکیلویه و بویر احمد) را بررسی کردند. نتایج تحقیق آنان نشان دادند که بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان در ارتفاع ۳۰۰۰ متری و در مرحله گل‌دهی بدست آمد و کمترین میزان آنتی‌اکسیدان در ارتفاع ۲۵۰۰ و در مرحله بذردهی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که مرحله فنولوژیکی و نوع اندام گیاهی نقش مهمی در تغییرات ترکیبات زیست‌فعال گیاه شاه‌پسند وحشی دارند. بر این اساس، مرحله گل‌دهی و اندام برگ به‌عنوان مناسب‌ترین زمان و بخش گیاه برای برداشت با هدف بهره‌برداری دارویی و دستیابی به بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پیشنهاد شد. این یافته‌ها می‌تواند در برنامه‌ریزی زمان برداشت، بهره‌برداری اصولی از رویشگاه‌های طبیعی و حفاظت از این گونه ارزشمند مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، انجام مطالعات تکمیلی در سایر رویشگاه‌های طبیعی و بررسی سایر متابولیت‌های ثانویه می‌تواند به شناخت

دقیق‌تر ارزش دارویی این گونه کمک کند.

References

Afshin, M., Sharifi-Rad, M., & Saeidi, S. 2023. Phytochemical investigation, antioxidant and antibacterial activities of *Tanacetum parthenium* L. aerial parts and root ethanolic extracts at different phenological stages. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 39(3), 445–464. (In Persian) Doi.org/10.22092/ijmapr.2023.360483.3249.

Akerreta, S., Cavero, R. Y. and Calvo, M. I. 2007. First comprehensive contribution to medical ethnobotany of the Western Pyrenees. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 3 (26). Doi:10.1186.1746-4269-3-26.

Atashi, S., & Mashayekhi, K. 2015. *The Analyzing Methods in Plant Physiology*. Agriculture Research and Education Publications, Tehran, Iran, 321 pp. (In Persian).

Barati, M., Sharifi-Rad, M., & Saeidi, S. 2022. Effects of different phenological stages on the chemical profile, antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of *Artemisia absinthium* L. root and aerial part extracts. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 38(3), 390–408. (In Persian) Doi.org/10.22092/ijmapr.2022.358105.3148.

Barzegar, H., & Jooyandeh, H. 2022. Evaluation of total phenol and flavonoids, antioxidant potential and antimicrobial activity of sage extract on some Gram-positive and Gram-negative bacteria *in vitro*. *Journal of Food Science and Technology*, 19(125), 195–203. (In Persian). Doi.10.22034/FSCT.19.125.195

Deepak, M. and Handa, S.S. 2000. Anti-inflammatory activity and chemical composition of extracts of *Verbena officinalis*. *Phytotherapy Research*. 4(14). Doi.10.1002.1099-1573(200009).

Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N. and Skrypnik, L. 2019. Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants*. 8(7): 237. Doi.org.10.3390.antiox8070237.

Hosseini, B., Nikkhah Amirabad, H., Fattah, M., & Gosta, Y. 2017. Effect of altitude and different phenological stages on essential oil composition and antioxidant activity of *Ferula angulata* (Schlecht.) Boiss. From the Dena Heights. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 5(1), 16-29. (In Persian).

Humbal, A., Pathak, B. 2023. Influence of exogenous elicitors on the production of secondary metabolites in plants: A review "VSI: secondary metabolites". Plant Signaling & Behavior. 8(1). Doi.10.1016.j.stress.2023.100166.

Jamzad, Z., Asadi, M., Masumi, A., Babakhanlu, P. 2006. Flora of Iran No. 52: Verbenaceae. Publication of the Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran. (In Persian).

Jimoh, M. O., Afolayan, A. J., and Lewu, F. B. 2019. Antioxidant and phytochemical activities of *Amaranthus caudatus* L. harvested from different soils at various growth stages. *Scientific Reports*. 9: 12965. Doi.org.10.1016.j.sjbs.2020.07.029.

Khalasi Ahvazi, L., Heshmati, Gh. A., Zoofan, P., & Akbarlou, M. 2016. The influence of habitat factors on the nutritional values of *Gundelia tournefortii* L. during phenological stages in the northeast of Khuzestan Province. *Journal of Plant Ecosystem Conservation*, 4(8), 30–48. (In Persian) http://pec.gonbad.ac.ir/article-1-172-fa.html.

Maina, S., Ryu, D.H., Bakari, G., Misinzo, G., Nho, C.W., and Kim, H.Y. 2021. Variation in phenolic compounds and antioxidant activity of various organs of African Cabbage (*Cleome gynandra* L.) accessions at different growth stages. *Antioxidants.* 10 (12): 1952. DOI: 10.3390/antiox10121952.

Makari, F., Gholamalipour Alamdari, E., & Bayat Kohsar, J. 2016. Phytochemical analysis of various organs of *Rheum ribes* at the flowering phenological stage (Case study: Karizak Heights, Kashmar). *Journal of Plant Environmental Physiology*, 11(42), 25–36. (In Persian).

Malini, D.M., Madihah, Kusmoro, J., Kamilawati, F., and Iskandar, J. 2017. Ethnobotanical Study of Medicinal Plants in Karangwangi, District of Cianjur, West Java. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 9(2): 345-356. 10.13057.tropdrylands.t050205.

NRWM, 2006. Socio-economic Report of the Ghorchai Watershed Studies. Natural Resources and Watershed Management. Local Office of Golestan Province. Gorgan, Iran. (In Persian).

Ncube, B. and Van Staden, J. 2015. Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. *Molecules*. 20: 12698-12731. doi.org.10.3390.molecules200712698.

Rehecho, S., Hidalgo, O., Cirano, M., Navarro, I., Astiasaran, L., Ansorena, D., Cavero, R. and Calvo, M. 2011. Chemical composition, mineral content, and antioxidant activity of *Verbena officinalis* L. *Food Science and Technology.* 44(4): 882-875. doi.org.10.1016.j.lwt.2010.11.035.

Routray, W. and Orsat, V. 2014. Variation of phenolic profile and antioxidant activity of North American highbush blueberry leaves with variation of time of harvest and cultivar. *Industrial Crops and Products*. 62: 147-155. doi.org.10.1016.j.indcrop.2014.08.0