

## مقایسه میزان تریگونلین بذر در برخی از گونه‌های گیاه دارویی شنبلیله (*Trigonella L.*)

معصومه رجیبی هاشجین<sup>۱</sup>، علی اصغری<sup>۲\*</sup>، مهرشاد زین‌العابدینی<sup>۳</sup> و محمدرضا غفاری<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

پست الکترونیک: ali\_asgharii@yahoo.com ; a\_asghari@uma.ac.ir

۳- دانشیار، بخش سیستم بیولوژی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴- استادیار، بخش سیستم بیولوژی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۸

### چکیده

شنبليله (*Trigonella L.*) یکی از مهمترین و قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده در جهان است که به دلیل داشتن ترکیب‌های مؤثره متنوع در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد. این گیاه بیش از ۱۳۵ گونه دارد که در سراسر جهان و در اغلب شرایط آب و هوایی رشد می‌کنند. تریگونلین مهمترین و فراوان‌ترین آلکالوئید و یکی از ترکیب‌های ارزشمند موجود در شنبلیله است که برای درمان دیابت و کاهش چربی خون بکار می‌رود. با توجه به این نکته که این گیاه در اغلب نقاط ایران به خوبی رشد می‌کند و به منظور بررسی میزان این متابولیت ارزشمند، تعداد ۲۲ ژنوتیپ و ده گونه (*T. stellate*; *T. anguina*; *T. persica*; *T. monantha*; *T. uncatata*; *T. foenum*; *T. tehranica*; *T. monspeliaca*; *T. astroites*; *T. spruneriana*) از جنس شنبلیله از استان‌های خوزستان، تهران و هرمزگان جمع‌آوری گردید و میزان تریگونلین آنها با استفاده از تکنیک HPLC مورد سنجش قرار داده شد. نتایج نشان داد که گونه *T. foenum* که گونه زراعی شنبلیله است، مقدار تریگونلین بیشتری (۱/۳۴ میلی‌گرم بر گرم بذر) نسبت به سایر گونه‌ها داشت. در رتبه بعدی گونه *T. tehranica* با اندکی تفاوت (۰/۹ میلی‌گرم بر گرم بذر) قرار گرفته بود. سایر گونه‌های مورد مطالعه با فاصله زیادی در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. نتایج خوشه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس روش Ward نمونه‌های مورد مطالعه را در دو گروه قرار داد. این تحقیق می‌تواند اساس کارهای بعدی برای استخراج ترکیب‌های دارویی از سایر گونه‌های شنبلیله به‌ویژه گونه‌های بومی ایران مثل *T. tehranica* باشد.

واژه‌های کلیدی: شنبلیله (*Trigonella L.*)، تریگونلین، گونه، گیاه دارویی، HPLC.

### مقدمه

استفاده از مواد گیاهی به‌عنوان دارو قدمتی تاریخی دارد. چندین سند ثبت شده تاریخی وجود دارد که نشان می‌دهد از مواد گیاهی برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌شده است. اطلاعات بدست‌آمده از مطالعات باستانی در درمان‌های

گیاهان برای بسیاری از محصولاتی که انسان به آنها نیاز دارد، منابع ارزشمندی هستند و برای بسیاری از اهداف مانند نیازهای چوبی، غذا و دارو مورد مصرف بشر قرار می‌گیرند.

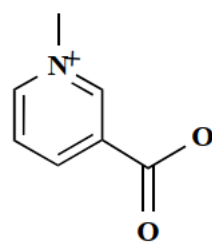
آلکالوئید پیریدین (اساساً تریگونلین) (Jain et al., 2009)، ۰/۵٪ کولین و ۰/۰۹٪ اسید آمینه ۴-هیدروکسی ایزولوسین هستند (Mehrafarin et al., 2010). وجود گالاکتومانان در دانه های شنبلیله که تقریباً نیمی از وزن خشک بذر را به خود اختصاص داده است به عنوان منبع اصلی فیبر در رژیم غذایی در گیاهان شناخته شده است (جدول ۱). فیبر روزانه قابلیت این را دارد که خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها را کاهش دهد. تریگونلین یک آلکالوئید پیریدین است و در مقایسه با سایر ترکیب‌های شیمیایی به فراوانی در بذرهای شنبلیله یافت می‌شود (Petropoulos, 2002). این ماده در پریکارپ سنتز شده و بعد به دانه‌ها منتقل می‌شود و در طول جوانه‌زنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آنجایی که تریگونلین در ابتدا از گیاه شنبلیله استخراج شد به نام این جنس نام‌گذاری شده است و در بسیاری از گیاهان دیگر از جمله قهوه، سویا، ذرت، جو، نوعی تره، نخود و گوجه‌فرنگی نیز وجود دارد (Brossi, 1985). همچنین این ماده در چند گونه حیوانی مانند بندپایان، سخت‌پوستان، حلزون صدف‌دار، برخی ماهی‌ها و برخی پستانداران نیز دیده شده است. بیشترین تجمع تریگونلین در بذرهای گیاهانی همانند قهوه رخ می‌دهد. همچنین پس از تجویز نیکوتینیک اسید برای برخی پستانداران این ماده در ادرار آنها مشاهده شده است. تریگونلین خواص درمانی متنوعی دارد، از جمله کاهش قند و چربی خون، آرام‌بخش، ضد میگرن، ضد باکتری، ضد ویروس و ضد تومور است و در بهبود حافظه و کاهش تجمع پلاکت‌ها نقش دارد. در واقع تریگونلین یک مشتق از ویتامین B6 است که طعمی تلخ دارد. به‌عنوان یک متابولیت ثانویه که از نیکوتینات تشکیل می‌شود تولید تریگونلین با متیلاسیون نیکوتینیک اسید (pyridinium-3-carboxylic acid) با استفاده از یک اسید آمینه حاوی سولفور انجام می‌شود (Joshi & Handler, 1960). بنابراین به نظر می‌رسد که تریگونلین همان ماده‌ای باشد که باعث تلخی ناگهانی در قهوه می‌شود. لازم به ذکر است که این ماده صددرد در آب است. ساختار شیمیایی این ماده در شکل ۱ آمده است.

مبنتی بر گیاهان، در صنعت دارویی مدرن نیز استفاده می‌شود. بنابراین، قابلیت بسیار بالایی برای کشف داروهای جدید از گونه‌های گیاهان دارویی وجود دارد (Fabricant & Farnsworth, 2001; Clarkson et al., 2004). در حدود یک سوم داروهای موجود در بازار، حاصل از محصولات طبیعی هستند و از منشأ گیاهی بدست می‌آیند. شنبلیله یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده جهان است که به خانواده Fabaceae تعلق دارد. این گیاه دیپلوئید بوده و در جنسی به نام *Trigonella* و در خانواده Fabaceae جای گرفته است و حدود ۱۳۵ گونه در سراسر جهان دارد. برخی محققان معتقدند جنس *Trigonella* به زیرخانواده *Trifoliae* از خانواده Fabaceae از رده Leguminosae متعلق است (Hutchinson, 1964). مراکز تنوع این گیاه در مقاله Petropoulos (۲۰۰۲) مناطقی از اوراسیا، یمن، آفریقا، افغانستان مناطقی از ایران و چین و هند معرفی شده‌اند (Prasad, 2011). این جنس در مناطق خشک از جمله مدیترانه، غرب آسیا، اروپا و شمال و جنوب آفریقا پراکنده است (Martin et al., 2011). کشت شنبلیله بیشتر در مناطق سرد با بارندگی متوسط یا کم انجام می‌شود (Reasat et al., 2017). در فلور ایرانیکاً جنس *Trigonella* حدود ۳۵ گونه یک‌ساله و چندساله دارد. دانش ما در مورد تنوع ژنتیکی، تنوع درون و بین‌گونه‌ای شنبلیله، اندک است. وجود تعداد اندک کروموزوم ( $2n=16$ ) و تنوع اندازه بین کروموزوم‌ها (بزرگترین کروموزوم=۲۶/۲۸ میکومتر و کوتاه‌ترین کروموزوم=۱۳/۵۲ میکومتر) این گیاه را برای مطالعات مولکولی و سیتوژنتیکی ایده‌آل کرده است (Reasat et al., 2002). از گذشته‌های دور بذرهای شنبلیله به‌عنوان یک ماده گیاهی شناخته شده‌اند. امروزه این گیاه به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان یک گیاه دارویی در سراسر جهان کشت می‌شود. در طب سنتی ایرانی دانه های شنبلیله برای نیروبخشی و همچنین کاهش قند خون استفاده می‌شد. دانه‌های شنبلیله به‌طور کلی دارای ۴۵-۶۰٪ کربوهیدرات (عموماً فیبرهای موسیلاژی)، ۲۰-۳۰٪ پروتئین (لیزین و تیئوفان) ۱۰-۵٪ لیپید، ۰/۲-۰/۳۸٪

## جدول ۱- ترکیب‌های شیمیایی موجود در گیاه شنبلیله

| ترکیب‌ها  | گروه شیمیایی |
|---|--------------|
| تریگونلین، کولین، کاریبین   | آلکالوئیدها  |
| لیزین، هیستیدین، تریتوفان، تیروزین، سیستین، آرژینین، ۴-هیدروکسی ایزولوسین       | اسیدآمین     |
| متیل کومارین، تریگوکومارین، تری‌متیل کومارین                                    | کومارین      |
| نارینجین، ارینتین، ایزوارینتین، ایزوویتیکسین، لوتولین                           | فلاونوئید    |
| فنگورین، فونگراسین، گلیکوزید، واموجنین، تریگونسید، دیوسجنین، هدراجین، تیجونین   | سایونین      |
| ویتامین A، فولیک اسید، آسکوربیک اسید، تیامین، ریوفلاوین، بیوتین، نیکوتینیک اسید | غیره         |

در شرایط تنشی (Cho et al., 1999) و عمل به‌عنوان یک اسمولیت (Rajasekaran et al., 2001). همچنین این ماده فرایند چرخه سلولی را در سلول‌های گیاهی و حیوانی تنظیم می‌کند و مریستم دانه‌های جوانه زده بیشترین مقدار تریگونلین را دارند؛ پس از جوانه‌زنی این ماده به شاخه‌ها و ریشه‌ها منتقل می‌شود (Minorsky, 2002). در طول دوره رشد گیاهچه‌ها مقدار تریگونلین در ریشه‌های مریستم بافتی کاهش می‌یابد و سپس بیشتر سلول‌های ریشه در فاز G2 باقی می‌مانند، در حالی که فقدان تریگونلین موجب می‌شود تا سلول‌ها در فاز G1 بمانند. فعالیت آنتی‌اکسیدانتی بالایی در گیاهان حاوی تریگونلین گزارش شده‌است. این آلکالوئید با ارزش با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و مهار پراکسیداسیون لیپید تنش‌های اکسیداتیو را در موش‌های دیابتی کاهش داد (Liang & Kitts, 2014). تاکنون مطالعات اندکی بر روی ارزیابی میزان تریگونلین دانه در برخی گونه‌های شنبلیله به غیر از گونه زراعی صورت گرفته است. برای مثال مقدار این ماده ارزشمند دارویی در گونه‌های *T. lilacina*, *T. cretica*, *T. caerulea*, *T. spinosa*, *T. radiata* (Allen & Allen, 1981) و *T. polycerate* (al., 1996) ارزیابی شده است (Petropoulos, 2002). با توجه به تأثیرات ارزشمند دارویی تریگونلین و با در نظر گرفتن این نکته که شنبلیله یک گیاه بومی کشور ایران است و در اغلب نقاط ایران رشد می‌کند تصمیم گرفتیم تا میزان تریگونلین دانه را در چند گونه متفاوت از شنبلیله ارزیابی کنیم.



شکل ۱- ساختار شیمیایی تریگونلین

تأثیرات درمانی تریگونلین در مقایسه با سایر اجزای شنبلیله بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است، به‌ویژه در مورد بیماری‌های دیابت و سیستم عصبی مرکزی. تریگونلین به‌عنوان آلکالوئید اصلی شنبلیله، قابلیت درمان عوارض ناشی از دیابت مانند چربی بالا، قند بالا و مقاومت به انسولین و اختلال شنوایی دیابتیک را دارد. تریگونلین فعالیت ضد باکتریایی قوی نسبت به برخی موجودات زنده از جمله اشریشیا کولی (*Escherichia coli*)، سودوموناس آروگینوسا (*Pseudomonas aeruginosa*)، پرتوسوس می‌رایلیس (*Pseudomonas aeruginosa*)، پونومونیا لیبسیلا (*Pneumoniae klebsiella*)، آسپیتوباکتر بامانی (*Acinetobacter baumannii*)، انتروکوکوس فاسالیس (*Enterococcus faecalis*)، باسیلوس سابتیلیس (*Bacillus subtilis*)، کاندیدا آلیکانس (*Candida albicans*) و کاندیدا پاراسیلوسیس (*Candida parapsilosis*) دارد (Zhou et al., 2012). این ترکیب به‌عنوان یک ماده شیمیایی گیاهی فعالیت‌های فیزیولوژیکی متفاوتی در گیاهان دارد، از جمله: حرکت برگ (Ueda & Yamamura, 2002)، تجمع در گیاه

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌برداری

تعداد ۲۲ توده و ۱۰ گونه از گونه‌های مختلف شنبلیله از سه استان خوزستان، تهران و هرمزگان جمع‌آوری شدند (جدول ۲).

### استخراج تریگونلین

برای استخراج تریگونلین از روش Rongjie و همکاران (۲۰۱۰) استفاده شد. به‌طور خلاصه، از هر توده در سه تکرار و به‌مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بذر انتخاب شد. بذرها بخوبی با دستگاه گریندر پودر شدند. سپس به هر نمونه حدود یک میلی‌لیتر متانول (Romil 215, HPLC) اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط ورتکس گردید. در مرحله بعدی نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک در دمای محیط قرار گرفتند و بعد به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند و فاز بالایی به یک ویال ۲ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس دوباره تمام مراحل قبلی تکرار شد و مرحله رویی به ویال

قبلی اضافه شد. ویال‌ها در دستگاه کانسنتریتور قرار داده شدند تا آب ویال‌ها تبخیر شود و بعد تا انجام مرحله HPLC در یخچال ۲۰- درجه نگهداری شدند.

### شناسایی و کمی‌سنجی تریگونلین

روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) برای تعیین میزان تریگونلین مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام فرایند HPLC از دستگاه Agilent 1260 Infinity و ستون Aminex استفاده شد. فاز متحرک به نسبت ۹۵:۵ متانول به آب در نظر گرفته شد. روند شدت جریان (Flow rate) شش دقیقه و یک میلی‌لیتر بر دقیقه و پیک در طول موج ۲۶۳ نانومتر ردیابی شد.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از تجزیه برای ترسیم منحنی استاندارد ( $r^2 = 0.99$ ) مورد استفاده قرار گرفت. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای SPSS و R استفاده شد.

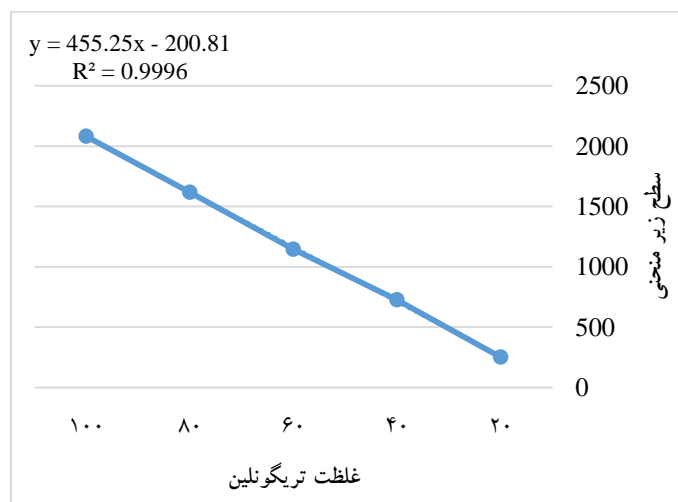
جدول ۲- مشخصات نمونه‌های شنبلیله جمع‌آوری شده از نقاط مختلف کشور

| ردیف | نام    | گونه                  | محل جمع‌آوری | ردیف | نام    | گونه                  | محل جمع‌آوری |
|------|--------|-----------------------|--------------|------|--------|-----------------------|--------------|
| ۱    | GTM63  | <i>T. anguina</i>     | هرمزگان      | ۱۲   | GTM152 | <i>T. anguina</i>     | هرمزگان      |
| ۲    | GTM73  | <i>T. monantha</i>    | خوزستان      | ۱۳   | GTM164 | <i>T. stellate</i>    | هرمزگان      |
| ۳    | GTM75  | <i>T. monspeliaca</i> | خوزستان      | ۱۴   | GTM222 | <i>T. monantha</i>    | خوزستان      |
| ۴    | GTM161 | <i>T. anguina</i>     | هرمزگان      | ۱۵   | GLM65  | <i>T. monantha</i>    | خوزستان      |
| ۵    | GTM221 | <i>T. uncata</i>      | هرمزگان      | ۱۶   | GTM176 | <i>T. foenum</i>      | هرمزگان      |
| ۶    | GTM181 | <i>T. monspeliaca</i> | خوزستان      | ۱۷   | GTM201 | <i>T. foenum</i>      | هرمزگان      |
| ۷    | GTM99  | <i>T. stellate</i>    | هرمزگان      | ۱۸   | GTM69  | <i>T. Persica</i>     | خوزستان      |
| ۸    | GTM110 | <i>T. spruneriana</i> | تهران        | ۱۹   | GTM159 | <i>T. Persica</i>     | خوزستان      |
| ۹    | GTM118 | <i>T. astroites</i>   | تهران        | ۲۰   | GTM167 | <i>T. tehranica</i>   | تهران        |
| ۱۰   | GTM125 | <i>T. uncata</i>      | هرمزگان      | ۲۱   | GTM165 | <i>T. tehranica</i>   | تهران        |
| ۱۱   | GTM126 | <i>T. astroites</i>   | تهران        | ۲۲   | GTM134 | <i>T. spruneriana</i> | تهران        |

## نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان می‌دهد که غلظت تریگونلین در بین گونه‌های مختلف شنبلیله در سطح ۱٪ به طور معنی‌داری متفاوت بود. این نتیجه نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف شنبلیله از نظر میزان تریگونلین دانه با یکدیگر فرق دارند.

منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف استاندارد تریگونلین برای نوشتن رابطه خطی ( $y = 455.25x - 200.81$ ) مورد استفاده قرار گرفت و مقادیر مجهول نمونه‌ها با استفاده از این رابطه بدست آمد (شکل ۲).



شکل ۲- منحنی استاندارد تریگونلین

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس نمونه‌های مختلف شنبلیله

| منابع     | درجه آزادی | مجموع مربعات | میانگین مربعات | F         | Pr         |
|-----------|------------|--------------|----------------|-----------|------------|
| گونه      | ۹          | ۳/۱۶۶        | ۰/۳۵۱          | ۴۵/۵      | ۰/۰۰۰۰۰۱** |
| باقیمانده | ۱۱         | ۰/۰۸۵        | ۰/۰۰۷۷         | باقیمانده | ۱۱         |

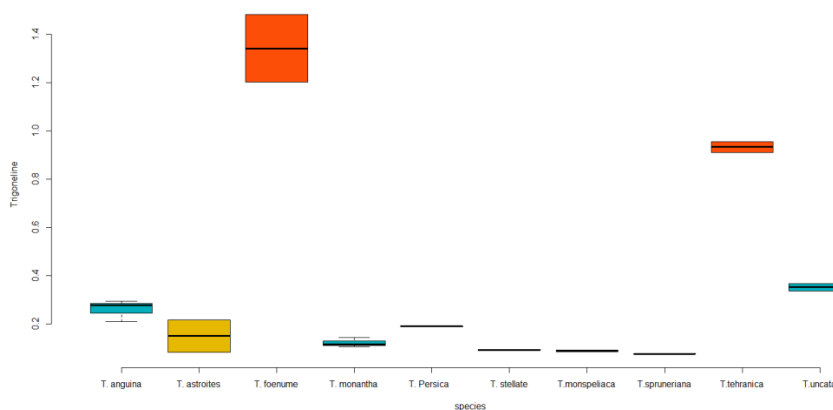
\*\* معنی‌داری در سطح ۱٪

جدول ۴- میانگین مقدار تریگونلین در گونه‌های مختلف شنبلیله (میلی گرم بر گرم وزن خشک بذر)

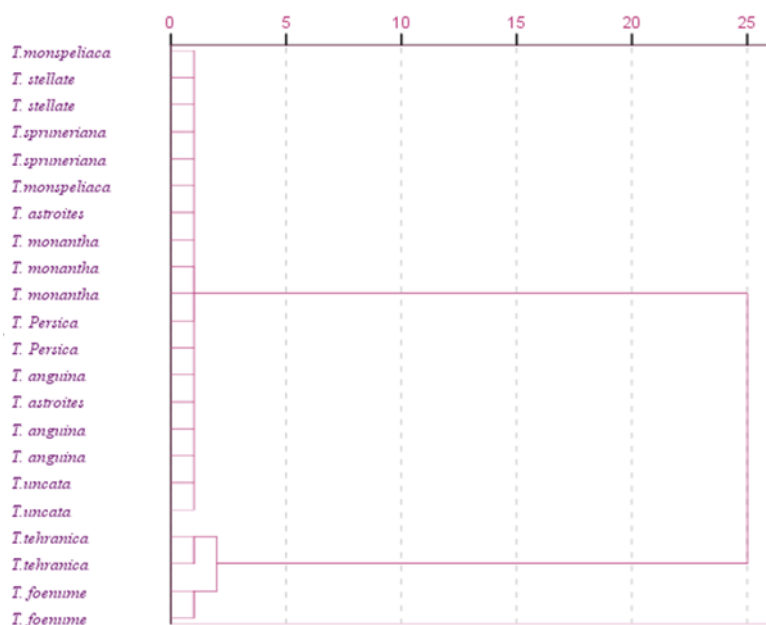
| ردیف | گونه                  | میانگین مقدار تریگونلین | ردیف | گونه                  | میانگین مقدار تریگونلین |
|------|-----------------------|-------------------------|------|-----------------------|-------------------------|
| ۱    | <i>T. anguina</i>     | ۰/۲۶                    | ۶    | <i>T. persica</i>     | ۰/۱۸                    |
| ۲    | <i>T. monantha</i>    | ۰/۱۶                    | ۷    | <i>T. stellate</i>    | ۰/۰۹                    |
| ۳    | <i>T. monspeliaca</i> | ۰/۰۸                    | ۸    | <i>T. spruneriana</i> | ۰/۰۷                    |
| ۴    | <i>T. foenum</i>      | ۱/۳۴                    | ۹    | <i>T. astroites</i>   | ۰/۰۸                    |
| ۵    | <i>T. uncatu</i>      | ۰/۳۵                    | ۱۰   | <i>T. tehranaica</i>  | ۰/۹                     |

و *T. anguina* با مقادیر بسیار نزدیک به هم در رتبه سوم قرار گرفتند. در گونه‌های *T. persica* و *T. monantha* نیز میانگین مقدار تريگونلین کاملاً نزدیک به هم بود و به ترتیب ۰/۱۸ و ۰/۱۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک بدست آمد. در گونه‌های دیگر مقدار میانگین تريگونلین با یک کاهش معنی‌دار به زیر ۰/۰۱ میلی گرم بر گرم وزن خشک رسید.

با ارزیابی جدول حاصل از میانگین مقدار تريگونلین در گونه‌های مختلف شبلیله می‌توان نتیجه گرفت که مقدار تريگونلین دانه در بذرهای گونه زراعی از همه بیشتر است (۱/۳۴ میلی گرم بر گرم وزن خشک بذر) و گونه *tehranica* با مقدار میانگین ۰/۹ میلی گرم بر گرم وزن خشک بذر دانه قرار دارد (جدول ۴). گونه‌های *T. uncata*



شکل ۳- نمودار جعبه‌ای میزان تريگونلین در گونه‌های مورد مطالعه شبلیله



شکل ۴- نمودار درختی حاصل از مقدار تريگونلین در گونه‌های مختلف شبلیله (*Trigonella* L.)

*T. persica* چهار گونه *T. monantha* قرار داشت. کمترین دامنه را در مقدار تریگونلین داشتند و مقدار این ماده در این چهار گونه تقریباً یکسان بود. خوشه‌بندی براساس روش Ward انجام شد و نمونه‌های مورد مطالعه را در دو گروه قرار داد. گونه‌های *tehranica* و *foenum* در یک گروه قرار گرفتند و بقیه گونه‌ها نیز با هم گروه دیگری را تشکیل دادند. میانگین مقدار تریگونلین در گروه اول ۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بذر و در گروه دوم ۰/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بذر بود (جدول ۵ و شکل ۴). با نگاهی به جدول ۴ این نکته کاملاً مشهود است که تفاوت میانگین تریگونلین در گروه اول و دوم زیاد است.

نمودار جعبه‌ای (شکل ۳) مقدار چارک اول، دوم (میان‌ه) و سوم را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد دامنه مقدار تریگونلین در گونه *T. foenum* بیشتر از سایر گونه‌هاست. به طوری که بیشترین و کمترین مقدار تریگونلین در این گونه به ترتیب ۱/۲ و ۱/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. در رتبه بعدی گونه *T. astroites* قرار دارد. در این گونه کمترین میزان تریگونلین ۰/۱ و بیشترین مقدار ۰/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بذر بود. گونه *T. anguina* در رتبه سوم قرار داشت و فاصله کمترین و بیشترین مقدار ۰/۱ گرم بر وزن خشک بذر بود. در رتبه بعدی *T. tehranica* و *T. uncata* قرار گرفتند. در این دو گونه فاصله بین مقدار بیشینه و کمینه تریگونلین ۰/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. در ادامه گونه

جدول ۵- جدول میانگین مقدار تریگونلین در دو خوشه ایجاد شده در خوشه‌بندی به روش Ward

| نام خوشه | نام گونه‌ها   | میانگین مقدار تریگونلین<br>(میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بذر) |
|----------|---|--|
| ۱        | <i>T. tehranica</i> <i>T. foenum</i>  | ۱/۱۲   |
| ۲        | <i>T. uncata</i> <i>T. monspeliaca</i> <i>T. monantha</i> <i>T. anguina</i><br><i>T. astroites</i> <i>T. spruneriana</i> <i>T. stellate</i> <i>T. persica</i> | ۰/۱۶   |

## بحث

میزان تولید و تجمع متابولیت‌های خود نشان می‌دهند. برهم‌کنش شیمیایی بین گیاه و محیط به وسیله تولید متابولیت‌های ثانویه رخ می‌دهد و در واقع این متابولیت‌ها به عنوان عوامل بیولوژیکی در سازگاری گیاه به محیط ایفای نقش می‌کنند (Pavarini et al., 2012; Sampaio et al., 2016). بنابراین مطالعه تغییرات متابولیت‌های ثانویه در شرایط و مناطق با آب و هوای متفاوت می‌تواند ما را در کشف چگونگی این برهم‌کنش بین محیط و گیاه یاری کند. نتایج حاصل از ارزیابی میزان تریگونلین در برخی گونه‌های شنبلیله نشان می‌دهد که این گونه‌ها از نظر میزان ترکیب‌های مؤثره با یکدیگر متفاوت هستند. از این رو به نظر می‌رسد این تحقیق می‌تواند مقدمه‌ای برای تشکیل یک بانک اطلاعاتی

با بررسی نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها می‌توان نتیجه گرفت که گونه *T. tehranica* که یک گونه بومی ایران است و فقط در ایران رشد می‌کند (Rechinger, 1989)، از نظر ترکیب‌های مؤثره بسیار نزدیک به گونه زراعی *T. foenum* است. با توجه به این نکته که تاکنون تحقیقات زیادی در مورد سایر گونه‌های جنس *Trigonella* L. انجام نشده است می‌توان با بررسی ترکیب‌های این گونه‌ها اطلاعات ارزشمندی را از گونه‌های بومی ایران مانند *T. persica* و *T. tehranica* بدست آورد. توجه به این نکته حائز اهمیت است که نمونه‌های گیاهی از یک گونه که در شرایط مختلف محیطی رشد می‌کنند، تفاوت‌هایی را در

- Esmaeili, A., Rashidi, B. and Rezazadeh, Sh., 2011. Biological activities of various extracts and chemical composition of *Trigonella monantha* C. A. Mey. subsp. *monantha* grown in Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11(4): 1127-1136.
- Fabricant, D.S. and Farnsworth, N.R., 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environmental Health Perspective, 109(1): 69-75.
- Hutchinson, J., 1964. The Genera of Flowering Plants (Vol. I). Clarendon Press, Oxford, 659p.
- Jain, R., Udipi, S. and Ghugre, P., 2009. Mineral content of complementary foods. The Indian Journal of Pediatrics, 1: 37-44.
- Joshi, J.G. and Handler, P., 1960. Biosynthesis of trigonelline. Journal of Biological Chemistry. 235: 2981-2983.
- Liang, N. and Kitts, D.D., 2014. Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. Molecules, 19(11): 19180-19208.
- Martin, E., Akan, H., Ekici, M. and Aytac, Z., 2011. New chromosome numbers in the genus *Trigonella* L. (Fabaceae) from Turkey. African Journal of Biotechnology, 10(2): 116-125.
- Mehra, P., Yadar, R. and Kamal, R., 1996. Influence of nicotinic acid on production of trigonelline from *Trigonella polycerata* tissue culture. Indian Journal of Experimental Biology, 34(11): 1147-1149.
- Mehrafarin, A., Qaderi, A., Rezazadeh, Sh., Naghdi Badi, H., Noormohammadi, Gh. and Zand, E., 2010. Bioengineering of important secondary metabolites and metabolic pathways in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Journal of Medicinal Plant, 9(35): 1-18.
- Minorsky, P.V., 2002. Global warming-- effects on plants. Plant Physiology, 129(4): 1421-1422.
- Pavarini, D.P., Pavarini, S.P., Niehues, M. and Lopes, N.P., 2012. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. Animal Feed Science and Technology, 176: 5-16.
- Petropoulos, G.A., 2002. Fenugreek, The Genus *Trigonella*. Taylor & Francis e-Library, 226p.
- Prasad, R., 2011. Identification of high seed yielding and stable fenugreek mutants. M.Sc. Thesis. Lethbridge Univ., Alberta, Canada.
- Rajasekaran, L.R., Jones, G.P., Aspinall, D. and Paleg, L.G., 2001. Stress Metabolism: IX. Effect of salt stress on trigonelline accumulation in tomato. Canadian Journal of Plant Science. 81:487-498.
- Reasat, M., Jafari, A.A., Bahmanzadegan, A., Hatami, A. and Zareiyan, F., 2017. The constituents of essential oil in leaves of Karaj accession of *Trigonella foenum graecum*. Natural Product Research, 31(14):1709-1712.
- غنی از میزان متابولیت‌های موجود در گونه‌های مختلف شنبلیله باشد. البته تاکنون در مورد ترکیب‌های مؤثره جنس شنبلیله، توجه اندکی به سایر گونه‌های آن شده و در بیشتر موارد روی گونه زراعی تمرکز شده است. به‌عنوان مثال در پژوهشی که روی گونه *T. monantha* انجام شده بود میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن اندازه‌گیری گردیده بود (Esmaeili et al., 2011). همچنین میزان اسید آمینه‌ها و ترکیب‌های استروئیدی گونه *T. strangulata* ارزیابی شده است (Selma & Gamze, 2018). اما تاکنون در هیچ تحقیقی به گونه‌های بومی ایران و متابولیت‌های آنها توجه نشده است. در این مقاله برای نخستین بار گونه‌های *T. persica* و *T. tehranica* که کاملاً بومی کشور ایران هستند مورد ارزیابی قرار گرفتند. در کنار این گونه‌های بومی، سایر گونه‌ها از جمله *T. stallata*, *T. monantha*, *T. astroites* و *T. spruneriana*, *T. monspeliaca* مورد ارزیابی قرار گرفتند. بنابراین می‌توان گفت که یک دید کلی از میزان تریگونلین در این ۱۰ گونه بدست آمده است.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری بخش فیزیولوژی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی در راستای انجام این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع مورد استفاده

- Allen, O.N. and Allen, E.K., 1981. The Leguminosae: A source book of characteristics, uses and nodulation. Macmillan Co., London, 812p.
- Brossi, C., 1985. The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology (Vol. 26). New York, NY: Wiley-Interscience, 401p.
- Cho, S., Jang, S., Chae, S., Chang, K.M., Moon, Y.H., An, G. and Jang S.K., 1999. Analysis of the C-terminal region of *Arabidopsis thaliana* APETALA1 as a transcription activation domain Plant Molecular Biology, 40: 419-429.
- Clarkson, C., Maharaj, V.J. and Crouch, N.R., 2004. In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. Journal of Ethnopharmacology, 92: 177-191.



- for environmental metabolomics of plants. *Scientific Reports*, 6: 29265.
- Selma, U.G.S. and Gamze, K., 2018. Tocopherol, sterol and amino acid compositions of *Trigonella strangulata* Boiss. seeds. *International Research Journal of Pharmacy and Medical Sciences (IRJPMS)*, 2(1): 36-39.
  - Ueda, M. and Yamamura, S., 2000. Chemistry and Biology of Plant Leaf Movements. *Angewandte Chemie International Edition*, 39: 1400-1414.
  - Zhou, J., Chan, L. and Zhou, S., 2012. Trigonelline: a plant alkaloid with therapeutic potential for diabetes and central nervous system disease. *Current Medicinal Chemistry*, 19: 3523-3531.
  - Reasat, M., Karapetyam, J. and Nasirzadeh, A., 2002. Karyotypic analysis of *Trigonella* genus of Fars Province. *Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding Genetic Research*, 11(1): 127-145.
  - Rechinger, K.H., 1989. *Flora Iranica*, Fasc, 111-162.
  - Rongjie, Z., Li, W., Longxing, W., Hongbin, X. and Shaoqing, C., 2010. Determination of trigonelline in *Trigonella foenum graecum* L. by hydrophilic interaction chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*, 28: 379-382.
  - Sampaio, B.L., Edrada-Ebel, R. and Costa, F.B.D., 2016. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model

## Comparison of trigonelline content in some species of medicinal plant of fenugreek (*Trigonella* L.)

M. Rajabi Hashjin<sup>1</sup>, A. Asghari<sup>2\*</sup>, M. Zeinalabedini<sup>3</sup> and M.R. Ghaffari<sup>3</sup>

1- Ph.D. student of Plantal Biotechnology, Agronomy and Plant Breeding Department, Agriculture and Natural Resources Faculty, University of Mohagheghe Ardabili, Ardabil, Iran

2\*- Corresponding author, Agronomy and Plant Breeding Department, Agriculture and Natural Resources, University of Mohagheghe Ardabili, Ardabil, Iran, E-mail: a\_asghari@uma.ac.ir; ali\_asgharii@yahoo.com

3- System Biology Department, Agricultural Biotechnology Institute of Iran, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Received: February 2019

Revised: June 2019

Accepted: July 2019

### Abstract

Fenugreek (*Trigonella* L.) is one of the most important and oldest known medicinal plants in the world, used in the treatment of many diseases due to its various secondary metabolites. The plant has more than 135 species growing throughout the world and in most climates. Trigonelline is the most important and most abundant alkaloid and one of the valuable metabolites found in fenugreek that is used to treat diabetes and reduce blood lipids. In this research, 22 genotypes from 10 species of fenugreek including: *T. uncata*, *T. monantha*, *T. persica*, *T. anguina*, *T. stellate*, *T. spruneriana*, *T. astroites*, *T. monspeliaca*, *T. tehranica* and *T. foenum-graecum* were collected from Khuzestan, Tehran, and Hormozgan provinces and their trigonelline levels were measured using HPLC technique. The results showed that *T. foenum-graecum* and *T. tehranica* had higher trigonelline content (1.34 and 0.9 mg/g seed, respectively) than other species. Also, there was a significant difference between genotypes for trigonelline content. The clustering based on Ward's method separated genotypes into two groups. This study could be the basis for further work on the extraction of pharmaceutical compounds from other fenugreek species, especially native species of Iran such as *T. tehranica*.

**Keywords:** Fenugreek (*Trigonella* L.), Trigonelline, species, medicinal plant, HPLC.