

بررسی میزان شیکوریک، کلروژنیک، کافئیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در چند گونه بومی ایران در مقایسه با *Echinacea purpurea* L. در مراحل مختلف نموی

رضوان رمضان‌نژاد^۱، مهناز اقدسی^{۲*} و محمد فاطمی^۳

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

پست الکترونیک: m.aghdasi@gu.ac.ir ; aghdasi1346@gmail.com

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در بسیاری از گونه‌های دارویی تیره کاسنی وجود دارند. شیکوریک اسید و کلروژنیک اسید نوعی پلی‌فنل و از مشتقات کافئیک اسید می‌باشند. این دو ترکیب به ویژه شیکوریک اسید در گیاه *Echinacea purpurea* L. به فراوانی یافت می‌شوند. این پژوهش با هدف شناسایی منابع بومی ایران برای تولید شیکوریک اسید و کلروژنیک اسید و همچنین کافئیک اسید به‌عنوان پیش‌ساز این دو ترکیب انجام شده است. به این منظور برگ، ساقه و ریشه پنج گونه بومی ایران از تیره کاسنی به نام‌های *Lactuca undulata*، *Lactuca serriola*، *Leontodon asperimus*، *Cichorium intybus* و *Sonchus oleraceus* در طی دو مرحله رویشی و زایشی از شمال شرق ایران جمع‌آوری و خشک شدند. بذرهای *E. purpurea* نیز خریداری و در شرایط گلخانه کشت داده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان شیکوریک اسید (۳/۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و کافئیک اسید (۲۸/۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) در ریشه گیاه *E. purpurea* به ترتیب در طی مرحله زایشی و رویشی وجود دارد. مقایسه عصاره‌های مختلف گونه‌های بومی با یکدیگر نشان داد که ساقه گیاه *L. undulata* در مرحله زایشی و ریشه گیاه *L. asperimus* در مرحله رویشی به ترتیب بیشترین میزان شیکوریک اسید و کلروژنیک اسید (۲/۳ و ۸/۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) را داشت. کمترین IC₅₀ مربوط به ریشه‌های گیاه *E. purpurea* در مرحله زایشی بود. از میان گونه‌های بومی مورد بررسی، به نظر می‌رسد که گیاهان *L. undulata* و *L. asperimus* منابع بومی مناسب برای استخراج شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید، مشتقات کافئیک اسید، گونه‌های بومی، پلی‌فنل، مرحله نمو.

مقدمه

شیکوریک اسید با فرمول شیمیایی C₂₂H₁₈O₁₂ یکی از قدیمی‌ترین پلی‌فنل‌های شناخته شده این تیره است. این ترکیب برای اولین بار در سال ۱۹۵۸ از گیاه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) استخراج شد (Scarpati & Oriente, 1958). از جمله خواص دارویی این ترکیب

ترکیب‌های فنلی به‌ویژه پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند (Pourmorad et al., 2006). این ترکیب‌ها در بسیاری از گونه‌های دارویی تیره کاسنی (Asteraceae) به فراوانی یافت می‌شوند.

مختلف ریشه و شاخه‌های این گیاه شامل آلکامیدها، کتوآلکن‌ها، مشتقات کافئیک اسید، پلی‌ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها است (Barnes et al., 2005). این گونه بومی آمریکای شمالی بوده و در ایران رویش طبیعی ندارد؛ اما با توجه به اهمیت دارویی و تجاری آن در مناطق محدودی از ایران کاشته می‌شود. تاکنون گزارش‌های اندکی در ارتباط با شناسایی و استخراج مشتقات شیکوریک اسید از منابع گیاهی بومی ایران منتشر شده است. این پژوهش با هدف شناسایی و معرفی منابع بومی تولید شیکوریک اسید انجام شده است. به همین منظور پس از بررسی منابع موجود، پنج گونه گیاهی از تیره کاسنی به نام‌های *Lactuca* موجود، *Leontodon asperimus*، *Lactuca serriola undulate* و *Cichorium intybus* انتخاب و در مقایسه با *E. purpurea* در دو مرحله رویشی و زایشی از نظر میزان فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و مشتقات کافئیک اسید ارزیابی شدند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه نمونه‌های گیاهی

پنج گونه گیاهی کاسنی به نام‌های *Lactuca undulata*، *Leontodon asperimus*، *Lactuca serriola* و *Cichorium intybus* از تیره کاسنی انتخاب و از رویشگاه طبیعی آنها در مناطق نزدیک به ارتفاعات کوه‌های بینالود در شهرستان مشهد (با مشخصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۵ دقیقه و ۳۶ درجه و ۳۳ دقیقه ارتفاعات شمالی و ۵۸ درجه و ۵۱ دقیقه و ۵۹ درجه و ۱۴ دقیقه ارتفاعات شرقی) در دو مرحله رویشی (اوایل تا اواسط اردیبهشت ۱۳۹۴) و زایشی (اواخر خرداد تا اواخر تیر ۱۳۹۴) جمع‌آوری شدند. نمونه‌برداری بین ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح و به‌طور تصادفی انجام شد. گونه *L. undulata* در هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه گلستان و سایر گیاهان در هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شدند (جدول ۱). بذر گیاه *E. purpurea* از شرکت دشتیار اصفهان خریداری و در

می‌توان به اثرهای ضددیابتی (Azay-milhou et al., 2013)، ضدچاقی (Xiao et al., 2013)، ضدایدز (Nadim et al., 2014)، ضدآنزیم هیالورونیداز (Abbasi & Stiles, 2012)، ضدآرتروز (Jiang et al., 2014)، ضدآلرژی (Lee et al., 2015) و خواص فاگوسیتوزی (Kumar & Ramaiah, 2011) اشاره کرد. شیکوریک اسید در گیاهان نیز دارای تأثیرات حفاظتی در مقابل حشرات و عفونت‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و نماتدها (Lee & Scagel, 2013) و همچنین بهبود زخم بعد از آسیب مکانیکی به گیاه (Toma & Arte, 1997) می‌باشد.

کلروژنیک اسید با فرمول شیمیایی $C_{16}H_{18}O_9$ نیز یکی دیگر از پلی‌فنل‌های مهم تیره مذکور است. این ترکیب دارای اثرهای ضددیابتی و کاهنده گلوکز خون (Thom et al., 2007) در سلول‌های چربی مقاوم و حساس به انسولین (Meng et al., 2013) می‌باشد. همچنین این ترکیب دارای خواص ضدالتهابی بوده و باعث کاهش نسبی خطر بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت نوع ۲ و آلزایمر می‌شود (Farah et al., 2008).

شیکوریک اسید و کلروژنیک اسید هر دو از مشتقات کافئیک اسید می‌باشند. کافئیک اسید به‌عنوان یک آنتی‌تومور شناخته شده است (Chung et al., 2004). کلروژنیک اسید یک حد وسط بیوسنتز لیگنین است که به فراوانی در بین انواع گونه‌های گیاهی وجود دارد (Boerjan et al., 2003). اما شیکوریک اسید تاکنون تنها در ۲۵ خانواده گیاهی و ۶۳ جنس شناسایی شده که از میان آنها ۲۰ جنس مربوط به تیره کاسنی است (Lee & Scagel, 2013). در این میان، گونه‌های جنس *Echinacea* به‌ویژه *E. purpurea* از مهمترین و رایج‌ترین منابع تولید شیکوریک اسید در اروپا و آمریکاست (Thygesen et al., 2007).

E. purpurea تحریک‌کننده سیستم ایمنی بدن است. از جمله اثرهای آن بر سیستم ایمنی می‌توان به فعالیت فاگوسیتوزی، تحریک فیبروبلاست و افزایش فعالیت تنفسی و در نتیجه آن تقویت تحریک لوکوسیت‌ها اشاره کرد (Manayi et al., 2015). ترکیب‌های سازنده بخش‌های

آذر ۱۳۹۴ در گلخانه دانشگاه گلستان کاشته شد. برگ، ساقه و ریشه گیاه *E. purpurea* در دو مرحله رویشی (اردیبهشت ۱۳۹۵) و مرحله زایشی (مرداد ۱۳۹۵) جمع‌آوری شدند. برگ، ساقه و ریشه گیاهان مورد بررسی به‌طور جداگانه بعد از جداسازی در سایه خشک و بعد از عصاره‌گیری به‌منظور سنجش فاکتورهای مورد نظر استفاده شدند. تمام سنجش‌ها در سه تکرار براساس فاکتوریل سه عاملی و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

جدول ۱- نام علمی و کد هرباریومی گونه‌های مورد بررسی

کد هرباریومی	نام علمی گونه
۳۷۰۲۵	<i>L. serriola</i>
۶۹۶۲	<i>L. undulata</i>
۳۶۷۷۴	<i>C. intybus</i>
۳۶۸۹۲	<i>S. oleraceous</i>
۳۶۵۴۷	<i>L. asperrimus</i>

سنجش شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید عصاره‌گیری: به روش Luo و همکاران (۲۰۰۳) با اندکی تغییرات انجام شد. مقدار ۰/۱ گرم پودر اندام‌های مختلف گیاه (ریشه، برگ و ساقه) را در استونیتریل ۲۰٪ (V/V) خیسانده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی بر روی شیکر قرار داده شد. عصاره حاصل بعد از فیلتر شدن توسط کاغذ صافی به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از عصاره شفاف رویی به‌منظور سنجش شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید استفاده شد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره پس از فیلتر شدن (۰/۴۵ میکرون) به دستگاه HPLC مدل Merk hitachi تزریق گردید.

سنجش فنل و فلاونوئید کل: سنجش میزان فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu Reagent) انجام شد. ابتدا ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره بدست آمده با ۱/۲ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتیو ۰/۲ مولار مخلوط و پس از پنج دقیقه انکوبه شدن در دمای محیط، یک میلی‌لیتر از محلول Na_2CO_3 به آن اضافه و دوباره به مدت دو ساعت در دمای محیط انکوبه شد. سپس جذب محلول در طول موج ۷۶۰nm خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد غلظت‌های مختلفی از اسید گالیک (۱، ۱/۵، ۲، ۰/۵ و ۰ میلی‌گرم در لیتر) تهیه و طول موج آن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-160 Shimadzu خوانده شد. مقادیر فنل کل به‌صورت اکی‌والان میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم ماده خشک گیاه محاسبه شد (Meda et al., 2005). سنجش محتوای فلاونوئید کل در عصاره‌های استخراج‌شده به کمک معرف آلومینیوم کلراید (AlCl_3) و با استفاده از روش رنگ‌سنجی انجام شد (Chang et al., 2002). در این

آنالیز HPLC: به‌منظور سنجش ترکیب‌های مورد نظر از دستگاه HPLC با آشکارساز UV/VIS، دتکتور Diode Array، پمپ L-Merck Hitachi7100 با نرم‌افزار

میانگین‌ها استفاده شد. تجزیه واریانس توسط نرم‌افزار 9.1SAS (version) و رسم شکل‌ها و جدول‌ها به وسیله نرم‌افزار EXCEL انجام شد.

نتایج

میزان کلروژنیک اسید، شیکوریک اسید و کافئیک اسید

در ابتدا با تزریق نمونه استاندارد به دستگاه HPLC زمان بازداری کلروژنیک اسید، شیکوریک اسید و کافئیک اسید به ترتیب در دقیقه ۷/۹، ۱۰/۲ و ۱۵/۶ بدست آمد (شکل ۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های بدست‌آمده نشان داد که اثر متقابل گونه، مرحله نمو (مرحله رویشی یا زایشی) و نوع اندام مورد بررسی (ریشه، ساقه و برگ) بر میزان کلروژنیک اسید در سطح کمتر از ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). بالاترین میزان کلروژنیک اسید در ریشه گیاه *L. asperrimus* در طی مرحله رویشی مشاهده شد (۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) که تفاوت معنی‌داری با میزان این ترکیب در دیگر گیاهان مورد بررسی داشت. اگرچه این نتایج نشان داد که میزان کلروژنیک اسید در گیاهان مختلف در طی دو مرحله رویشی و زایشی تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان نمی‌دهند، اما ریشه گیاه *L. undulata* و *L. asperimus* با انتقال از مرحله رویشی به زایشی به ترتیب کاهش ۵ و افزایش ۸ برابری در میزان این ترکیب نشان دادند (شکل ۲).

همچنین نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های بدست‌آمده نشان داد که اثر متقابل گونه، مرحله نمو و نوع اندام بر میزان شیکوریک اسید در سطح کمتر از ۱٪ معنی‌دار است (جدول ۲). بالاترین میزان شیکوریک اسید (۳/۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) در ریشه گیاه *E. purpurea* در مرحله زایشی مشاهده شد. در میان گونه‌های بومی مورد بررسی، ساقه گیاه *L. undulate* در هر دو مرحله زایشی و رویشی دارای بیشترین میزان شیکوریک اسید (۲/۳ و ۱/۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) بود که از این نظر اختلاف معنی‌داری با سایر گونه‌های بومی ایران نشان داد. اگرچه این نتایج نشان داد که در

روش ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره پس از فیلتر شدن (فیلتر ۰/۴۵μm) با ۷۵۰ میکرولیتر متانول، ۵۰ میکرولیتر محلول الکلی ۱۰٪ $AlCl_3$ ، ۵۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار و ۱/۴ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط انکوبه گردید. سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵nm خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف کوئرستین (۲، ۱، ۰/۵، ۰/۱ و ۰ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. محتوای فلاونوئید کل عصاره بر مبنای میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره استخراج شده تعیین شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معرف DPPH: ابتدا مقدار ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی (۰، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴٪ DPPH مخلوط شدند. محلول شاهد شامل ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول بود. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شده و بعد جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول زیر درصد مهار رادیکال‌های آزاد هر عصاره تعیین شد.

$$[(Ac-As)/Ac] \times 100 = \text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد}$$

در این رابطه Ac، جذب نمونه شاهد و As، جذب نمونه مورد بررسی را نشان می‌دهند. سپس با رسم منحنی درصد مهار در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره، مقدار IC_{50} (غلظتی از سوبسترا بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر که برای کاهش DPPH به میزان ۵۰٪ مقدار اولیه مورد نیاز است) برای هر عصاره تعیین شد (Maisuthisakul et al., 2007).

تجزیه و تحلیل آماری

مقایسه داده‌های بدست‌آمده به روش تجزیه واریانس ANOVA انجام شد. در صورت معنی‌دار بودن نتیجه تجزیه واریانس از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ برای مقایسه

متقابل گونه، اندام و مرحله نمو بر میزان فلاونوئید کل در سطح کمتر از ۱٪ معنی دار است (جدول ۲). بیشترین میزان فلاونوئید کل به ترتیب در عصاره حاصل از برگ و ریشه گونه *E. purpurea* در مرحله رویشی مشاهده شد. بررسی گیاهان بومی ایران نشان داد که ساقه *L. undulata* و *L. asperrimus* در مرحله رویشی به ترتیب بیشترین میزان فلاونوئید کل (۳/۷ و ۳/۵ میلی گرم بر گرم ماده خشک) را نشان می دهد. به طور کلی میزان فلاونوئید کل با گذر گونه های مورد بررسی از مرحله رویشی به زایشی کاهش یافت (شکل ۶).

فعالیت آنتی اکسیدان کل به روش DPPH

تجزیه واریانس داده های حاصل از اثر متقابل گونه، مرحله نمو و نوع اندام بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کل به روش DPPH اثر معنی داری را در سطح کمتر از ۱٪ نشان داد (جدول ۲). به طوری که بیشترین ظرفیت خنثی کردن رادیکال های آزاد که برابر کمترین مقدار IC_{50} (۲۳۱/۷) میکروگرم بر میلی لیتر) می باشد، در ریشه های *E. purpurea* و در مرحله زایشی گیاه مشاهده شد (شکل ۷). از سوی دیگر، ریشه های گونه *L. serriola* بیشترین مقدار IC_{50} (۲۶۵/۲) میکروگرم بر میلی لیتر) و در نتیجه کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در مرحله زایشی گیاه نشان داد. در بیشتر نمونه های مورد بررسی با گذر گیاه از مرحله رویشی به زایشی مقدار IC_{50} افزایش و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش یافت (شکل ۷).

داده های بدست آمده نشان داد که ضریب همبستگی منفی بین IC_{50} و ترکیب های مورد بررسی در برخی از گونه ها وجود دارد. در *E. purpurea* ضریب همبستگی منفی بین IC_{50} و میزان شیکوریک اسید و کافئیک اسید مشاهده شد. همچنین در گونه های بومی ایران ضریب همبستگی منفی بین IC_{50} و فلاونوئید کل در *C. intybus*، بین IC_{50} و شیکوریک اسید و کافئیک اسید در *L. asperrimus*، بین IC_{50} و فنل کل و کافئیک اسید در *L. serriola* و بین IC_{50} و شیکوریک اسید در *L. undulata* مشاهده شده است (شکل ۸).

برخی گیاهان میزان شیکوریک اسید در مرحله زایشی به طور معنی داری بالاتر از میزان آن در مرحله رویشی بوده است، اما در بیشتر گونه ها تفاوت معنی داری در میزان این ترکیب در دو مرحله نمو رویشی و زایشی بین اندام های مختلف مشاهده نشد (شکل ۳).

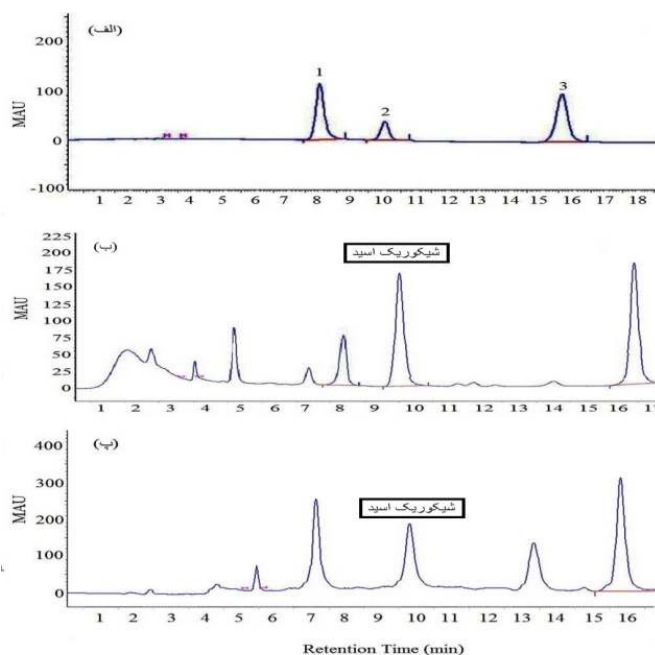
تجزیه واریانس داده های حاصل از اثر متقابل گونه، مرحله نمو و نوع اندام بر میزان کافئیک اسید اثر معنی داری را در سطح کمتر از ۱٪ نشان داد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که ریشه های گیاه *E. purpurea* در مرحله زایشی و رویشی بیشترین میزان کافئیک اسید (۲۸/۸ و ۲۷ میلی گرم بر گرم ماده خشک) را تولید می کنند. در میان گونه های بومی ایران سه گونه *L. serriola* در هر دو مرحله زایشی و رویشی، *L. undulata* در مرحله زایشی و *S. oleraceous* در مرحله رویشی بیشترین میزان کافئیک اسید را در نمونه برگ نشان دادند. براساس نتایج بدست آمده، در تمام گیاهان بومی مورد بررسی بیشترین میزان کافئیک اسید در هر دو مرحله نمو در اندام برگ مشاهده شد (شکل ۴).

میزان فنل کل

این نتایج نشان داد که اثر متقابل گونه، اندام و مرحله نمو بر میزان فنل کل در سطح کمتر از ۱٪ معنی دار است (جدول ۲). بیشترین میزان فنل کل (۳۵/۶ میلی گرم بر گرم ماده خشک) در برگ های *E. purpurea* و در مرحله زایشی گیاه مشاهده شد. در میان گونه های بومی ایران گونه *L. undulata* در ساقه و در مرحله زایشی خود بیشترین میزان فنل کل (۲۷/۹ میلی گرم بر گرم ماده خشک) مشاهده شد. به طور کلی این داده ها نشان داد که با گذر از مرحله رویشی به زایشی میزان فنل کل در بیشتر نمونه های مورد بررسی افزایش نشان داد، اما در برگ های *C. intybus* این روند به عکس بود (شکل ۵).

فلاونوئید کل

تجزیه واریانس داده های بدست آمده نشان داد که اثر



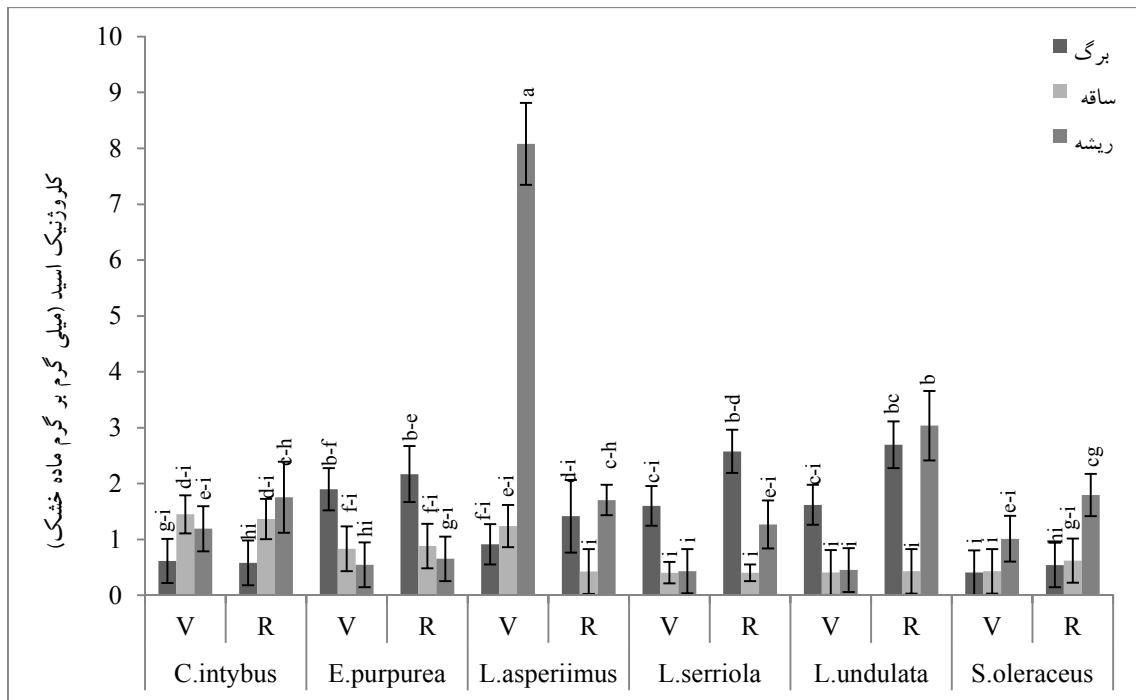
شکل ۱- کروماتوگرام HPLC از نمونه استاندارد و عصاره گیاهی؛ الف: استانداردهای کلروژنیک اسید (277nm) (۱)، شیکوریک اسید (330nm) (۲) و کافئیک اسید (277nm) (۳)، ب: عصاره *L. undulata*، پ: عصاره *E. purpurea*

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اثر متقابل گونه، اندام و مرحله نمو بر میزان ترکیب‌های مورد بررسی در گونه‌های

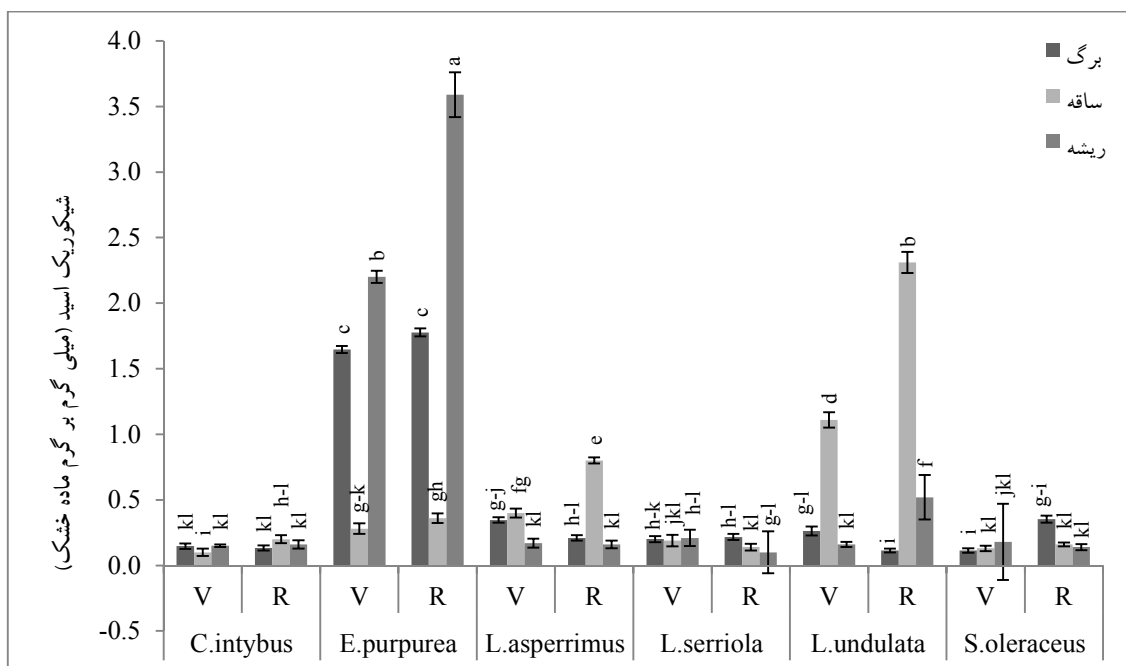
S. oleraceus و *C. intybus*، *L. asperimus*، *L. serriola*، *L. undulata*، *E. purpurea*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		شیکوریک اسید	کلروژنیک اسید	کافئیک اسید	فنل کل	فلاونوئید کل	IC ₅₀
گونه (A)	۵	۶/۱*	۴/۸*	۲۰۱/۵*	۲۳۵/۴**	۱۵/۲**	۹۸۱/۷*
اندام (B)	۲	۰/۴*	۱۰/۸*	۵۰۶/۳*	۲۱/۷*	۱/۹ns	۲۵۷/۱*
مرحله نمو (C)	۱	۱*	۰/۰۵ns	۱/۵ns	۷۲۰/۵**	۴/۸*	۲۴۱/۲*
A × B	۱۰	۲/۹*	۷/۱*	۳۳۳/۲*	۱۷۷/۰۱**	۴/۳**	۱۰۲/۵*
A × C	۵	۰/۲*	۶/۳*	۲۷/۷*	۱۰۳/۲**	۲/۳*	۲۷/۴**
B × C	۲	۰/۳*	۱/۴ns	۱۵*#	۲۳/۴*	۲/۲ns	۲۲/۸ns
A × B × C	۱۰	۰/۳*	۴/۴*	۴۵/۷*	۸۵/۳**	۲/۷**	۸۴/۱*
خطا	۷۲	۰/۰۱	۰/۵	۳/۷	۶/۵	۰/۷	۱۱/۵
ضریب تغییرات		۱۷/۸	۵۶	۲۹/۵	۲۲/۸	۴۳	۱/۳

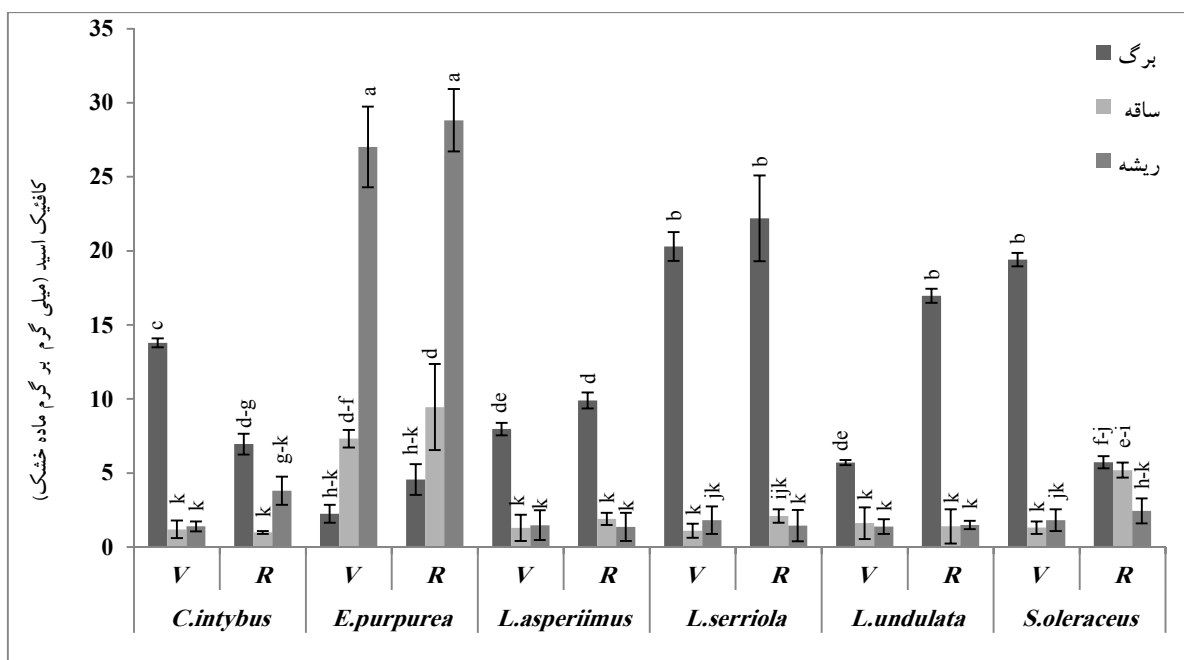
ns، * و **، به ترتیب نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار و وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشند.



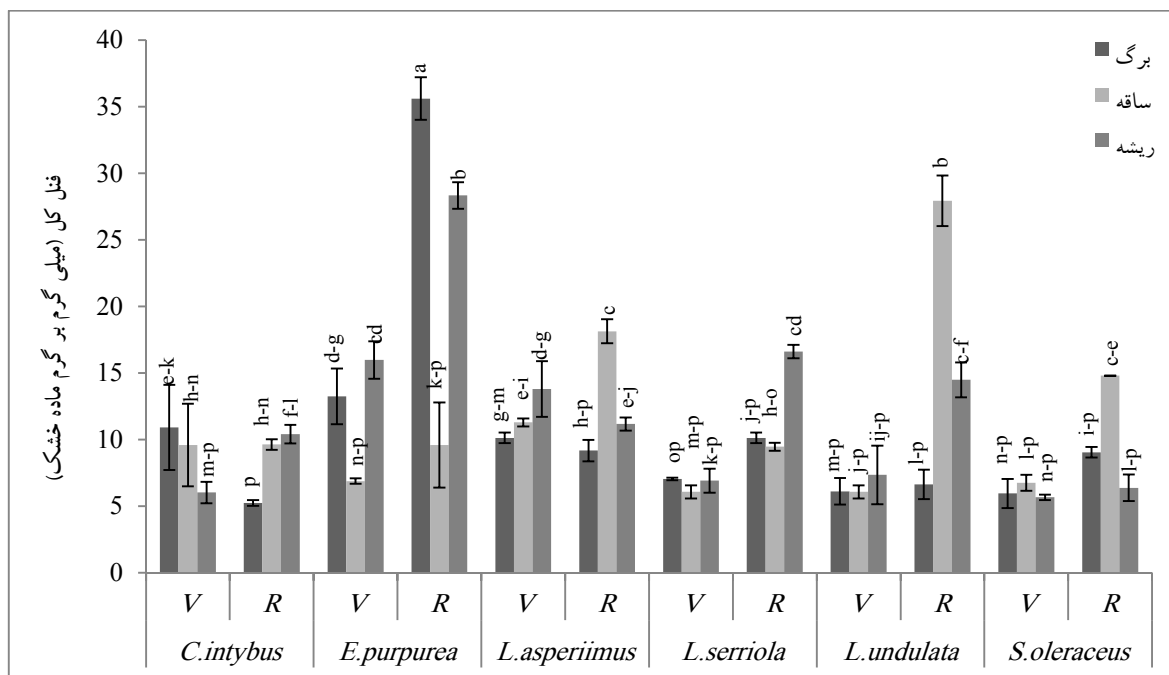
شکل ۲- میزان کلروژنیک اسید در اندام‌های مختلف برگ، ریشه و ساقه گیاهان مورد بررسی در دو مرحله رویشی (V) و زایشی (R) ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (n=۳).



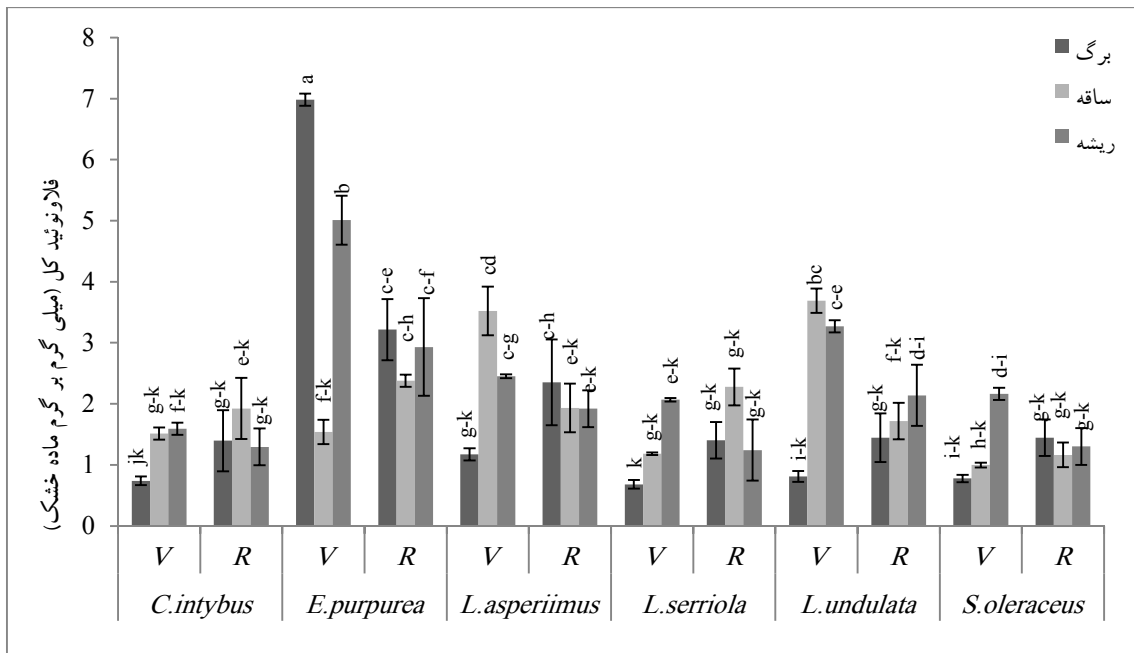
شکل ۳- میزان شیکوریک اسید در اندام‌های مختلف برگ، ریشه و ساقه گیاهان مورد بررسی در دو مرحله رویشی (V) و زایشی (R) ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (n=۳).



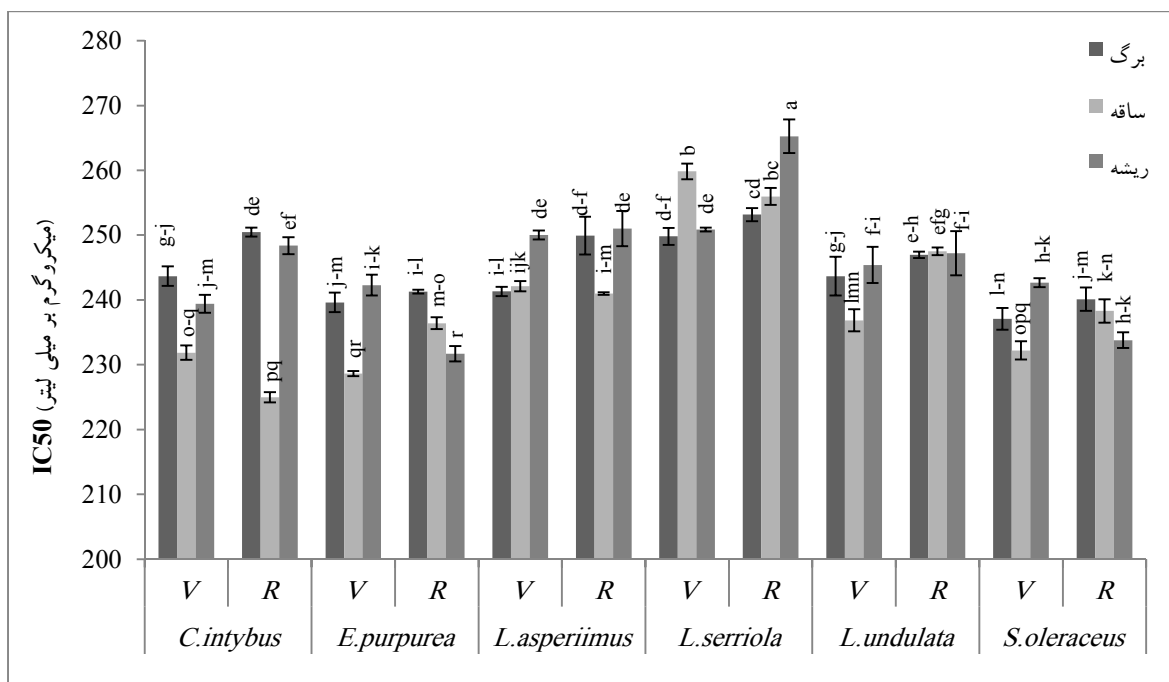
شکل ۴- میزان کافئیک اسید در اندام‌های مختلف برگ، ریشه و ساقه گیاهان مورد بررسی در دو مرحله رویشی (V) و زایشی (R) ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (n=۳).



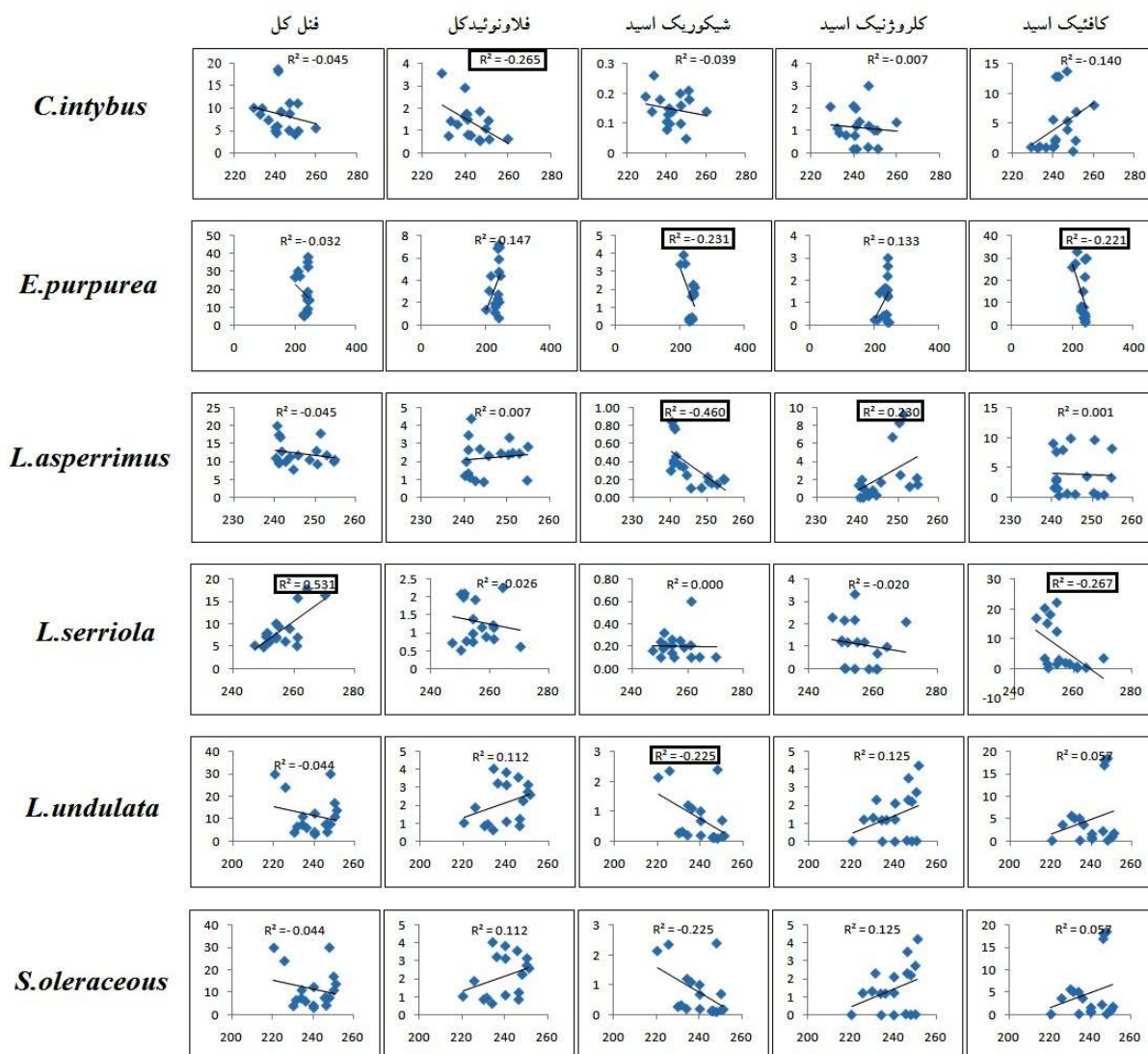
شکل ۵- میزان فنل کل در اندام‌های مختلف برگ، ریشه و ساقه گیاهان مورد بررسی در دو مرحله رویشی (V) و زایشی (R) ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (n=۳).



شکل ۶- میزان فلاونوئید کل در اندام‌های مختلف برگ، ریشه و ساقه گیاهان مورد بررسی در دو مرحله رویشی (V) و زایشی (R) ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (n=۳).



شکل ۷- میزان IC50 در اندام‌های مختلف برگ، ریشه و ساقه گیاهان مورد بررسی در دو مرحله رویشی (V) و زایشی (R) ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (n=۳).



شکل ۸- ضریب همبستگی بین IC₅₀ و میزان فنل کل، فلاونوئید کل، شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید

محور X میزان IC₅₀ و محور Y میزان ترکیب‌های اندازه‌گیری را نشان می‌دهد. ضرایب همبستگی معنی‌دار با کادر مشکی مشخص شده‌اند.

بحث

گونه وجود دارد. برخی گزارش‌ها نشان دادند که میانگین مقدار شیکوریک اسید در ریشه‌های این گیاه در طی ۵ ماه مختلف برداشت (۱۵ دسامبر، ۲۳ مای، ۲۵ مای، ۱ آگوست و ۲۹ اکتبر) برابر ۲/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک است (Thomsen *et al.*, 2012). بنابراین به نظر می‌رسد که چندین فاکتور از جمله سن گیاه و زمان برداشت (Stuart & Shekarchi *et al.*, 2012)، دمای خشک کردن (Wills, 2003) و نوع حلال مورد استفاده برای استخراج و

در این مطالعه اندام‌های مختلف چندین گونه بومی ایران که متعلق به تیره کاسنی بودند از نظر میزان شیکوریک اسید و چند ترکیب فنلی دیگر در دو مرحله رویشی و زایشی مورد بررسی قرار گرفتند. بیشترین محتوای شیکوریک اسید (۳/۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) در ریشه‌های *E. purpurea* و در مرحله زایشی گیاه مشاهده شد. گزارش‌های مختلفی در مورد میزان شیکوریک اسید در این

مرحله نمو در ساقه *L. undulata* یافت شد. البته انباشته شدن شیکوریک اسید در اندام‌های مختلف (ساقه و یا ریشه) در این دو گیاه می‌تواند به علل زیر رخ داده باشد.

۱) شرایط محیطی متفاوت برای رشد گیاهان: در این آزمایش دانه‌های *E. purpurea* در گلخانه کشت شدند. شرایط گلخانه از نظر نور، دما و رطوبت یک محیط کنترل شده مناسب را برای رشد گیاه فراهم می‌کند. این امر می‌تواند باعث ایجاد تنش کمتر و در نتیجه کاهش تولید متابولیت‌های ثانویه در بخش‌های هوایی گیاه شود. اما از آنجا که ریشه در خاک رشد می‌کند، احتمال می‌رود که میکروارگانیسم‌های خاک بر میزان تجمع ترکیب‌های فنلی گیاه تأثیرگذار باشند (Lee & Scagel, 2013). همچنین گزارش شده که تیمار *E. purpurea* با کربونیل‌کیتین گلوکان تولید شده توسط *Penicillium* (به‌عنوان یک الیستور قارچی) سبب افزایش سطح شیکوریک اسید در ریشه‌ها می‌شود (Hudec et al., 2007). در این مطالعه از رویشگاه‌های شمال شرق ایران با شرایط آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک جمع‌آوری شد. بنابراین بخش‌های هوایی این گیاه ممکن است در شرایط تنش بیشتری نسبت به ریشه مانند نور شدید خورشید، رطوبت کم و حتی چرای علفخواران قرار گرفته باشد.

۲) چرخه زندگی گیاهان: گونه *E. purpurea* یک گیاه چندساله و گونه *L. undulata* گیاهی یک‌ساله است. به‌نظر می‌رسد که ساختار ژنتیکی متفاوت و نیز شرایط محیطی از عوامل تأثیرگذار بر متابولیسم این ترکیب باشد (Lee & Scagel, 2013). همچنین در این مطالعه بیشترین میزان کلروژنیک اسید در مرحله رویشی و در برگ *L. asperimus* مشاهده شد. در این گیاه گذر از مرحله رویشی به زایشی با کاهش معنی‌دار در میزان کلروژنیک اسید همراه بود. در صورتی‌که در ریشه‌های *L. undulata* عکس آن مشاهده شد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که میزان کلروژنیک اسید نیز مانند دیگر ترکیب‌های فنلی با توجه به گونه گیاهی متغیر باشد. Mistrikova (۲۰۰۹) با بررسی میزان ترکیب‌های هیدروفیل شامل شیکوریک اسید،

همچنین روش استخراج (Lee & Scagel, 2010) بر روی کمیّت و کیفیت ترکیب‌های فنلی تأثیرگذار باشد. به‌عنوان مثال در ریشه‌های *E. purpurea* محدوده غلظت شیکوریک اسید از ۱/۷ تا ۲/۳ براساس فصل برداشت (Perry et al., 2001) و ۰/۵ تا ۰/۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک براساس سن و جمعیت گیاهی متفاوت می‌باشد (Binns et al., 2002). از سوی دیگر ترکیب‌های فنلی از نظر قطبیت و قابلیت دسترسی متفاوت هستند. بنابراین ظرفیت استخراج آنها به نوع حلال وابسته است (Lee & Scagel, 2013). برخی گزارش‌ها نشان داد که مقدار شیکوریک اسید در عصاره اتانولی *E. purpurea* برابر ۰/۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک است (Lee & Scagel, 2010). درحالی‌که در این مطالعه از استونیتریل ۲۰٪ به‌منظور استخراج شیکوریک اسید استفاده شده است. پیش از این استفاده از این حلال در استخراج شیکوریک اسید توسط Nair و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان داده شده است. این محققان گزارش کردند که بیشترین میزان استخراج شیکوریک اسید در ساقه و ریشه گیاه *Rauvolfi aserpentina* به‌ترتیب با استفاده از حلال‌های زیر بدست آمد.

استونیتریل آبی < استونیتریل اسیدی < متانول آبی < اتانول آبی < متانول اسیدی

در گزارش دیگری نیز آمده است که میزان دمای خشک کردن گیاه نیز تأثیر زیادی بر میزان ترکیب‌های فنلی از جمله شیکوریک اسید دارد (Stuart & Wills., 2003). این مطالعه نشان داد که در مقایسه با دیگر گونه‌های رشد کرده در طبیعت ایران، ساقه گیاه *L. undulata* در مرحله زایشی دارای بیشترین میزان شیکوریک اسید (۲/۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) است. در این مطالعه برای اولین بار شیکوریک اسید در این گونه ردیابی و سنجش شد. برخلاف *E. purpurea* که در هر دو مرحله نمو بیشترین میزان شیکوریک اسید را در ریشه خود نشان داد. به‌طوری‌که بیشترین میزان این متابولیت در هر دو

شرایط محیطی گیاه (Sivaci *et al.*, 2015)، نوع فصل، اندام، گونه گیاهی و نوع حلال (Blum-Silva *et al.*, 2015) باشد. همچنین نشان داده شده که استفاده از متانول و استون سبب استخراج مقادیر بالاتر فلاونوئید به ترتیب در مرحله رویشی و زایشی از گیاه *Lilium Delicatulum* شده است (Medini *et al.*, 2014).

به عنوان نتیجه گیری کلی باید گفت که این نتایج نشان می دهد که برخی از گونه های بومی ایران منابع جدید و مناسبی برای تولید و استخراج شیکوریک اسید هستند. این نتایج نشان داد که در میان گونه های مورد مطالعه ساقه گیاه *L. undulate* در مرحله زایشی بالاترین میزان این ماده مؤثره را در خود دارد. البته استفاده از حلال های مناسب مانند استونیتریل می تواند نقش مهمی در کمیّت ترکیب های استخراج شده داشته باشد. از طرفی گیاه *L. asperrimus* منبع مناسبی برای تولید کلروژنیک اسید و کافئیک اسید شناخته شده است.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاون محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه گلستان به دلیل حمایت مالی این پژوهش تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع مورد استفاده

- Abbasi, B.H. and Stiles, A.R., 2012. Gibberellic acid increases secondary metabolite production in *Echinacea purpurea* hairy roots. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 168(7): 2057-2066.
- Azay-milhau, J., Ferrare, K., Leroy, J., Aubaterre, J., Tournier, M., Lajoix, A. and Tusch, D., 2013. Antihyperglycemic effect of a natural chicoric acid extract of Chicory (*Cichorium intybus* L.): A comparative in vitro study with the effects of caffeic and ferulic acids. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(2): 755-760.
- Barnes, J., Anderson, L.A., Gibbons, S. and Phillipson, J.D., 2005. *Echinacea* species (*Echinacea angustifolia* (DC.) Hell., *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., *Echinacea purpurea* (L.) Moench): a review

کلروژنیک اسید و اکتیناکوزید در گیاه *E. purpurea* مشاهده کرد که غلظت کلروژنیک اسید با ورود به مرحله زایشی و بعد از آن کاهش یافت. این در حالیست که Takahama و همکاران (۱۹۹۹) با بررسی گیاه *Nicotiana tabbicum* نشان دادند که میزان کلروژنیک اسید برگ با افزایش سن گیاه افزایش می یابد. در مقابل، گزارش Cirak و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که با افزایش سن گیاه *Hypericum organifolium* میزان کلروژنیک اسید در برگ های آن به تدریج کاهش یافته و در مرحله بلوغ میوه به کمترین میزان خود می رسد.

نتایج بررسی حاضر همبستگی منفی معنی داری را بین IC_{50} و میزان شیکوریک اسید و کافئیک اسید در گیاه *E. purpurea* نشان داد. دیگر محققان نشان دادند که محتوای شیکوریک اسید موجود در عصاره های *E. purpurea* با فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه همبستگی مثبت دارد (Thygesen *et al.*, 2007) که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. بنابراین به نظر می رسد که مقادیر بالای شیکوریک اسید و کافئیک اسید در این گیاه نقش مهمی در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی آن داشته باشد. ریشه های این گیاه در مرحله زایشی بیشترین میزان شیکوریک اسید و کافئیک اسید و کمترین میزان IC_{50} را نسبت به دیگر نمونه ها نشان داد. در گونه های *L. undulata* و *L. asperrimus* نیز فعالیت آنتی اکسیدانی با میزان شیکوریک اسید و کلروژنیک اسید همبستگی معنی داری نشان داد.

از سویی میزان فنل کل در برخی از عصاره های گیاهی تغییر معنی داری را در دو مرحله نمو نشان نداد. اگرچه در برخی دیگر مانند برگ و ریشه گیاه *E. purpurea* و ساقه گیاه *L. undulata* افزایش معنی دار این ترکیب ها در مرحله زایشی مشاهده شد. همچنین ترکیب های فلاونوئیدی در برخی از عصاره های گیاهی در مرحله زایشی کاهش معنی داری نسبت به مرحله رویشی نشان دادند. Sivaci و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که میزان فنل کل در مرحله زایشی دو گونه *O. rascheyana* و *Onosma sericea* بیشتر از مرحله رویشی آنها بود؛ این افزایش می تواند به دلیل

- 2(4): 304-314.
- Lee, J. and Scagel, C.F., 2010. Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and *Echinacea purpurea* products. *Journal of Functional Foods*, 2(1): 77-84.
 - Lee, J. and Scagel, C.F., 2013. Chicoric acid: chemistry, distribution, and production. *Frontiers in Chemistry*, 1(40): 1-17.
 - Lee, N.Y., Chung, K.S., Jin, J.S., Bang, K.S., Eom, Y.J., Hong, J.S., Nugroho, A. and Park, H.J., 2015. Effect of chicoric acid on mast cell-mediated allergic inflammation in vitro and in vivo. *Journal of Natural Products*, 78(12): 2956-2962.
 - Luo, X.B., Chen, B., Yao, S.Z. and Zeng, J.G., 2003. Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkaloids in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by HPLC-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 986(1): 73-81.
 - Maisuthisakul, P., Suttajit, M. and Pongsawatmanit, R., 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100(4): 1409-1418.
 - Manayi, A., Vazirian, M. and Saeidnia, S., 2015. *Echinacea purpurea*: pharmacology, phytochemistry and analysis methods. *Pharmacognosy Reviews*, 9(17): 63-73.
 - Meda, A., Euloge, C., Romito, M., Millogo, J. and Germaine, O., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3): 571-577.
 - Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R. and Abdoly, C., 2014. Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Integrative Medical Research*, 8(3): 216-224.
 - 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*, 1-11.
 - Mistrikova, S.V., 2009. Patterns of variation in lipophilic and hydrophilic constituents in flower developmental stages of *Echinacea purpurea* L. *Plant, Soil and Environment*, 55(2): 70-73.
 - Nadim, M.R., Chhipa, K.M., Patel, S.P., Ganchi, S.P. and Dhrubo, J.S., 2014. Chicoric acid and its analogues as anti-HIV integrase agents. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(2): 2321-2335.
 - Nair, V., Panneerselvam, R., Gopi, R. and Hong-bo, of their chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(8): 929-954.
 - Binns, S.E., Arnason, J.T. and Baum B.R., 2002. Phytochemical variation within populations of *Echinacea angustifolia* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 30:837-854.
 - Blum-Silva, C.H., Chaves, V.C., Schenkel, E.P. and Reginatto, F.H., 2015. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(1): 1-6.
 - Boerjan, W., Ralph, J. and Baucher, M., 2003. Lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 54(1): 519-46.
 - Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3): 178-182.
 - Cirak, C., Radusiene, J., Janulis, V., Ivanauskas, L. and Arslan, B., 2007. Chemical constituents of some *Hypericum* species growing in Turkey. *Journal of Plant Biology*, 50(2): 632-635.
 - Chung, T., Moon, S., Chang, Y., Ko, J., Lee, Y., Cho, G.U., Kim, S., Kim, J. and Kim, C., 2004. Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 18(14): 1670-1681.
 - Farah, A., Monteiro, M., Donangelo, C.M. and Lafay, S., 2008. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *The Journal of Nutrition*, 138(12): 2309-2315.
 - Hudec, J., Burdova, M., Kobida, L., Komora, L., Macho, V., Kogan, G., Turianika, I., Kochanova, R., Lozek, O., Haban, M. and Chelb, R., 2007. Antioxidant capacity changes and phenolic profile of *Echinacea purpurea*, Nettle (*Urtica dioica* L.), and Dandelion (*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(14): 5689-5696.
 - Jiang, L., Li, W., Wang, Y., Zhang, X., Yu, D., Yin, Y., Xie, Z. and Yuan, Y., 2014. Effects of chicoric acid extract from *Echinacea purpurea* on collagen-induced arthritis in rats. *The American Journal of Chinese Medicine*, 42(3): 679-692.
 - Kumar, K.M. and Ramaiah, S., 2011. Pharmacological importance of *Echinacea purpurea*. *International Journal of Pharmacology and BioSciences*,

- chlorogenic acid, and activities of peroxidase and superoxide dismutase in the apoplast of tobacco leaves: mechanism of the oxidation of chlorogenic acid in the apoplast. *Plant and Cell Physiology*, 40(7): 716-724.
- Thom, E., 2007. The effect of chlorogenic acid enriched coffee on glucose absorption in healthy volunteers and its effect on body mass when used long-term in overweight and obese people. *Journal of International Medical Research*, 35(6): 900-908.
 - Thomsen, M.O., Frette, X.C., Bisgaard, K., Christensen, L.P. and Grevsen, K., 2012. Seasonal variations in the concentrations of lipophilic compounds and phenolic acids in the roots of *Echinacea purpurea* and *Echinacea pallida* Seasonal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(49): 12131-12141.
 - Thygesen, L., Thulin, J., Mortensen, A., Skibsted, L.H. and Molgaard, P., 2007. Antioxidant activity of cichoric acid and alkamides from *Echinacea purpurea*, alone and in combination. *Food Chemistry*, 101(1): 74-81.
 - Toma, F.A. and Arte, F., 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3): 583-589.
 - Xiao, H., Wang, J., Yuan, L., Xiao, C., Wang, Y. and Liu, X., 2013. Chicoric acid induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes through ROS-mediated PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(7): 1509-1520.
 - S., 2013. Elicitation of pharmacologically active phenolic compounds from *Rauvolfia*. *Industrial Crops and Products*, 45: 406-415.
 - Perry, N.B., Burgess, E.J. and Glennie, V.L., 2001. *Echinacea* Standardization: analytical methods for phenolic compounds and typical levels in medicinal species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4): 1702-1706.
 - Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N., 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11): 1142-1145.
 - Scarpatti, M.L. and Oriente, G., 1958. Chicoric acid (dicaffeoyl-tartaric acid): its isolation from chicory (*Chicorium intybus*) and Synthesis. *Tetrahedron*, 4(1): 43-48.
 - Shekarchi, M., Hajimehdipour H., Khanavi M. and Roostaie A., 2012. The effect of plant age and harvesting time on chicoric acid on caftaric acid content of *E. purpurea* (L.) Moench. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(3): 203-208.
 - Sivaci, A., Binzet, R., Duman S. and Teke, H.I., 2015. The determination of total antioxidant activity, phenolics and pigments during vegetative and reproductive periods of *Onosma* species. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(2): 261-265.
 - Stuart, D. and Wills, R.B.H., 2003. Effect of drying temperature on alkylamide and cichoric acid concentrations of *Echinacea purpurea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6): 1608-1610.
 - Takahama, U., Hirotsu, M. and Oniki, T., 1999. Age-dependent changes in levels of ascorbic acid and

An investigation on cichoric acid, chlorogenic, caffeic acid content and antioxidant activity in some Iranian native species compared to *Echinacea purpurea* L. in different developmental stages

R. Ramezannezhad¹, M. Aghdasi^{2*} and M. Fatemi³

1- Ph.D. student, Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran

2*- Corresponding author, Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran

E-mail: m.ahdasi@gu.ac.ir; aghdasi1346@gmail.com

3- Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran

Received: May 2018

Revised: August 2018

Accepted: August 2018

Abstract

Polyphenol and flavonoid compounds, belonging to the medicinal species of Asteraceae family, have been found as natural antioxidants. Cichoric and chlorogenic acid are two caffeic acid derivatives. These polyphenol components, especially cichoric acid, are the dominant components of *Echinacea purpurea* L. The general goal of this research was to identify Iranian native sources of cichoric acid, chlorogenic acid and also caffeic acid as their precursor. For this purpose, the roots, stems and leaves of five Iranian native species (*Lactuca undulata*, *Lactuca serriola*, *Leontodon asperimus*, *Cichorium intybus* and *Sonchus oleraceus*) were collected during vegetative and reproductive stages from north eastern of Iran. The seeds of *E. purpurea* were purchased and cultured in greenhouse conditions. The results revealed that the highest amount of cichoric (3.6 mg/g DW) and caffeic acid (28.8 mg/g DW) was observed in *E. purpurea* roots during vegetative and reproductive stages, respectively. Among Iranian native species, *L.undulata* stems and *L.asperimus* roots had the highest content of cichoric (2.3 mg/g DW) and chlorogenic acid (8.08 mg/g DW) in reproductive and vegetative stages, respectively. The highest antioxidant activity was found in *E. purpurea* roots during reproductive stage. The lowest level of IC₅₀ was found in *E.purpurea* roots at reproductive stage. It seems that *L. undulata* and *L. asperimus* could be suitable sources for cichoric, chlorogenic and caffeic acid, compared to other Iranian native species.

Keywords: Cichoric acid, chlorogenic acid, caffeic acid derivatives, native species, phenols, developmental stages.