Research Article

Iranian Journal of Forest and Poplar Research Vol. 42 No. 1, 2026

DOI: 10.22092/ijmapr.2026.369717.3552

Vol. 42, No. 1, Page 116-130 (2026)

# Formulation and physicochemical evaluation of a liquid oral dosage form made from Cowslip medicinal plant (*Primula macrocalyx* Bunge.)

**Marjan Daeihamed[1], Edris Mahdavi Fikjvar[2], Sedigheh Naghipour[3], Leila Mohtashami[4], Maryam Haddadi[5] and Maryam Naseri[6*]**

1- Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
2- Medical Biotechnology Research Center, School of Paramedical Sciences, Guilan University of Medical Sciences, langrud, Iran
3- Student research committee, School of Pharmacy, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
4- Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
5- Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
6*- Corresponding author, Department of Traditional Pharmacy, School of Persian Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, E-mail: naserim901@gmail.com

Received: 08/06/2025 Revised: 08/02/2026 Accepted: 08/02/2026

## Abstract

**Background and Objective:** *Primula macrocalyx* Bunge., a member of the *Primulaceae* family, grows in the highlands of Guilan Province, Iran. This plant has long been used in traditional medicine for the treatment of respiratory conditions such as pneumonia, bronchitis, and the common cold. However, to date, no medicinal product derived from this species has been developed in Iran. Therefore, the present study aimed to develop a liquid oral formulation of this plant and to evaluate the physicochemical properties of the prepared formulation.

**Methodology:** Following the collection of Primula macrocalyx in June 2020 from the Ulasbelangah region of Guilan Province, ethanolic extracts of the leaves, flowers, and roots were prepared using the maceration method. The plant materials were then analyzed for moisture content, total ash, and acid-insoluble ash. Qualitative phytochemical tests were conducted to identify major bioactive compounds, and the total phenolic and flavonoid contents of the extracts were quantified. During pre-formulation studies, the solubility of the extracts, as well as suitable dosage levels and excipients, were evaluated. Based on these findings, a syrup formulation was developed. The final formulation was subsequently assessed for its physicochemical and quality attributes, including appearance and organoleptic properties, pH, antimicrobial stability, sedimentation, and container closure integrity.

**Results:** The extraction efficiency of *Primula macrocalyx* (cowslip) was 19.04%, 25.17%, and 21.12% for flowers, leaves, and roots, respectively. Moisture content was 13% in the flowers and roots and 12% in the leaves. Total ash content was 6%, 11%, and 9.5% for flowers, leaves, and roots, respectively, while acid-insoluble ash values were 2%, 3.5%, and 3% for the same organs. Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, saponins, and tannins in the leaves; flavonoids and tannins in the flowers; and saponins and tannins in the roots. Total polyphenol content, expressed as gallic acid equivalents, was 41.44, 81.05, and 125.90 in roots, leaves, and flowers, respectively. Total flavonoid content, expressed as isoquercitrin equivalents, was 2.88 ± 0.081 in flowers and 2.26 ± 0.041 in leaves. The foaming index was 333 in leaves, 250 in roots, and less than 100 in flowers. Pre-formulation studies of

Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.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.

the cowslip syrup evaluated extract solubility, optimal dosage, excipient selection, and a suitable formulation base. All extracts showed good solubility in water, while the addition of co-solvents such as propylene glycol and glycerin further enhanced solubility. The final syrup formulation met acceptable standards in terms of organoleptic properties, pH, viscosity, preservative efficacy, absence of sedimentation, and proper container closure performance.

**Conclusion:** Given the presence of bioactive compounds such as flavonoids and saponins in *Primula macrocalyx*, along with the favorable characteristics of the developed formulation, including acceptable organoleptic properties, suitable pH, appropriate flow behavior (viscosity), effective preservative performance, and absence of sedimentation, the prepared syrup can be proposed as a promising herbal product for the management of respiratory disorders.

**Keywords:** common cowslip (*Primula macrocalyx*), oral liquid formulation, saponins, flavonoids

# فرمولاسیون و بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی فرم خوراکی مایع از گیاه دارویی پامچال (*Primula macrocalyx* Bunge.)

مرجان دائی حامد[۱]، ادریس مهدوی فیکجور[۲]، صدیقه نقی‌پور[۳]، لیلا محتشمی[۴]، مریم حدادی[۵] و مریم ناصری[۶*]

۱- استادیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲- کارشناس، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، لنگرود، ایران

۳- دانشجو، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۴- استادیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۵- کارشناس، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۶*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه داروسازی سنتی، دانشکده طب ایرانی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران، پست‌الکترونیک: naserim901@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۸ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۴/۱۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۹

## چکیده

**سابقه و هدف:** گیاه پامچال کاسه بزرگ با نام علمی *Primula macrocalyx* Bunge. گیاهی از خانواده Primulaceae می‌باشد که در ارتفاعات استان گیلان رویش دارد. این گیاه از گذشته در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف ازجمله پنومونی، برونشیت و سرماخوردگی استفاده می‌شده است. با وجود این، تاکنون در ایران فراورده دارویی از این گیاه تولید نشده است. ازاین‌رو، در این مطالعه تهیه فرمولاسیون خوراکی مایع از این گیاه مورد بررسی قرار گرفته و خواص فیزیکی و شیمیایی فرمولاسیون تهیه شده، سنجش شد.

**مواد و روش‌ها:** پس از جمع‌آوری گیاه پامچال کاسه بزرگ در خرداد ۱۳۹۹ از منطقه اولسبلنگا در استان گیلان، عصاره اتانولی برگ، گل و ریشه گیاه به روش خیس کردن تهیه شد. در ادامه، اجزاء گیاه از نظر مقدار آب موجود، خاکستر تام و نامحلول در اسید مورد بررسی قرار گرفته، آزمون‌های کیفی شناسایی ترکیب‌های مؤثره انجام شده و نیز مقادیر فنول و فلاونوئید تام موجود در اجزاء گیاه تعیین گردید. طی مطالعات پیش‌فرمولاسیون، قابلیت انحلال عصاره‌های اجزاء گیاه و دوز و مواد جانبی مناسب فرمولاسیون ارزیابی شده و بر این اساس، فرمولاسیون شربت از این گیاه تهیه شد. در ادامه، فرمولاسیون تهیه شده از نظر خواص ظاهری و ارگانولپتیک، pH، کارایی ماده محافظ ضدمیکروبی، تشکیل رسوب و قفل شدن درب ظرف نگهداری و بررسی شد.

**یافته‌ها:** بازده عصاره‌گیری گیاه پامچال کاسه بزرگ در گل، برگ و ریشه به‌ترتیب برابر با ۱۹/۰۴، ۲۵/۱۷ و ۲۱/۱۲ درصد بود. مقدار آب موجود در گل، ریشه گیاه و برگ آن به‌ترتیب ۱۳، ۱۳ و ۱۲ درصد بود. میزان خاکستر تام در گل، برگ و ریشه گیاه به‌ترتیب برابر با ۶، ۱۱ و ۹/۵ درصد و میزان خاکستر نامحلول در اسید در این اجزاء به‌ترتیب برابر با ۲، ۳/۵ و ۳ درصد بود. برگ گیاه مورد مطالعه حاوی فلاونوئید، ساپونین و تانن، گل گیاه حاوی فلاونوئید و تانن و ریشه آن حاوی ساپونین و تانن بود. پلی‌فنول تام برحسب گالیک‌اسید در ریشه، برگ و گل به‌ترتیب برابر با ۴۱/۴۴، ۸۱/۰۵ و ۱۲۵/۸۹۶ درصد بود. درصد فلاونوئید تام برحسب ایزوکوئرسترووزاید در گل و برگ گیاه به‌ترتیب برابر با ۰/۰۸۱ ± ۲/۸۸ و ۰/۰۴۱ ± ۲/۲۶ به‌دست آمد. شاخص کف‌کنندگی در برگ و ریشه گیاه به‌ترتیب برابر با ۳۳۳ و ۲۵۰ و در گل کمتر از ۱۰۰ بود. در مطالعات پیش‌فرمولاسیون شربت پامچال کاسه بزرگ، قابلیت انحلال اجزاء عصاره گیاه، دوز و مواد جانبی مناسب فرمولاسیون و پایه مناسب تهیه فراورده بررسی شد. بر این اساس، تمامی اجزاء عصاره گیاه انحلال مناسبی در آب خالص از خود نشان دادند و افزودن پروپیلن گلایکول و گلیسیرین به‌عنوان کمک حلال، به انحلال بهتر عصاره‌ها کمک کرد. فرمولاسیون شربت تهیه شده از گیاه، از نظر فاکتورهایی ازجمله خواص ارگانولپتیک، pH، نحوه ریزش فرمولاسیون از ظرف (به‌عنوان معیاری از گرانروی فرمولاسیون)، کارایی ماده محافظ، عدم ایجاد رسوب و عدم قفل‌شدن درب

ظرف مورد پذیرش قرار گرفت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به وجود ترکیب‌های فلاونوئیدی و ساپونین‌ها در گیاه پامچال کاسه بزرگ و مقبولیت فرمولاسیون تهیه شده از این گیاه از نظر خواص ارگانولپتیک، pH، گرانروی، کارایی ماده محافظ و عدم ایجاد رسوب، این فرمولاسیون می‌تواند به‌عنوان یک فراورده گیاهی در درمان بیماری‌های تنفسی پیشنهاد گردد.

**واژه‌های کلیدی:** پامچال کاسه بزرگ (*Primula macrocalyx*)، فرمولاسیون خوراکی مایع، ساپونین، فلاونوئید.

## مقدمه

گیاهان دارویی از قدیم به‌عنوان منبعی مهم برای درمان بیماری‌ها شناخته شده‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب‌های مؤثر این گیاهان، به شکل عصاره یا ترکیب‌های خالص، اثرهای درمانی قابل توجهی دارند (Kakhramanova *et al.*, 2020). پامچال کاسه بزرگ (*Primula macrocalyx* Bunge.) از تیره پامچال (Primulaceae) بومی استان گیلان، به دلیل حضور ترکیب‌های ساپونینی، خواص خلط‌آور و ضد سرفه دارد و در بهبود مشکلات تنفسی مانند برونشیت و سیاه‌سرفه مؤثر است (Li *et al.*, 2019). در این مطالعه، پس از عصاره‌گیری، به بررسی کمی و کیفی ترکیب‌های موجود در پامچال دارویی و تهیه یک فرمولاسیون خوراکی استاندارد پرداخته شده است. تیره پریمولاسه ۲۲ جنس و ۸۰۰ گونه دارد، که از مهمترین آنها *Primula*، *Cyclamen*، *Anagallis* و *Dionysia* است (Emami & Ahi, 2014).

گیاهان این تیره علفی یک یا چندساله و نیمه‌خشبی یا بوته‌ای هستند. پامچال کاسه بزرگ *P. macrocalyx* گیاهی کرکدار با برگ‌هایی تخم‌مرغی به عرض ۷/۵ سانتی‌متر و ساقه‌ای عریان است که ارتفاعش بین ۱۵ تا ۳۵ سانتی‌متر می‌باشد. چتر گل آن شامل ۳ تا ۱۵ گل است و کاسه گل واژ مخروطی به رنگ سبز کم‌رنگ و جام گل زردرنگ و از کاسه گل به وضوح بلندتر است (Mozafarian, 2014). در مناطق مختلفی از اروپا، ایران، قفقاز و سیبری رشد می‌کند. در ایران، در شمال و شمال‌غرب (مازندران، آذربایجان و جاده اردبیل به آستارا) و در مناطقی از استان گیلان (رستم‌آباد به سالانسر و دیار، گردنه الماس و اطراف چابکسر) پراکنش دارد (Jamzad, 1998).

*P. macrocalyx* گونه‌ای شبیه به *P. veris* L. است که بومی اروپای جنوبی، قفقاز و ایران می‌باشد (Kosenkova *et al.*, 2008) و در طب سنتی تنتور ریشه به‌عنوان خلط‌آور در درمان پنومونی و برونشیت و مدر استفاده می‌شود. جوشانده ریشه اثر آرام‌بخش، ضد اسپاسم و ملین خفیف دارد و چای آن نیز معرق است. همچنین، تنتور و پودر برگ‌ها برای جبران کمبود ویتامین C و A و نیز به‌عنوان مدر و ملین به‌کار می‌رود. چای گل نیز در سرماخوردگی، سردرد، بی‌خوابی، فلج، بیماری‌های قلبی، روماتیسم و بیماری‌های کلیوی استفاده می‌شود (Kosenkova *et al.*, 2008). پامچال کاسه بزرگ حاوی ترکیب‌های فلاونی مانند فلاون، هیدروکسی فلاون، '۳–متوکسی فلاون، '۲–متوکسی فلاون و مشتقات تری، تترا و پنتا متوکسیله فلاون، ترکیب‌های ساپونینی، گلیکوزیدهای تری‌ترپن، سالیسیلات‌ها و مشتقات آنها می‌باشد (Li *et al.*, 2019).

مطالعات مختلفی در زمینه ترکیب‌های مؤثره موجود در گونه‌های مختلف *Primula* ازجمله *Primula macrocalyx* انجام شده است. Colombo و همکاران در سال ۲۰۱۴، ۳ فلاونوئید از عصاره‌های برگ *P. latifolia* و *P. vulgaris* که از آلپ جمع‌آوری شده بود جدا کردند؛ که از آن جمله kaempferol 3-β-O-glucopyranosyl-gentiobioside مربوط به *P. vulgaris* بود (Colombo *et al.*, 2014). Noroozisharaf و همکاران در سال ۲۰۱۵، خواص فیتوشیمیایی *Primula heterochroma* Stapf. را که بومی جنگل‌های خزری شمال ایران است، مورد ارزیابی قرار داده و مقادیر فنول، فلاونوئید، کاروتنوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

آن را سنجیدند. نتایج این بررسی، مبین خواص آنتی‌اکسیدانی ارزشمند پامچال وحشی ایران بود. طبق این بررسی، ترکیب فنولی عمده در این گیاه، quercetin-3-glucoside بود. همچنین نتایج، یک رابطه خطی را بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقادیر فنول و فلاونوئید نشان می‌داد؛ در حالی که ارتباط آماری مشخصی بین مقادیر کاروتنوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشد (Noroozisharaf *et al.*, 2015). Çalis و همکاران در سال ۱۹۹۲، ساپونین‌های تعدادی از گیاهان پامچال بومی ترکیه ازجمله سه ساپونین تری‌ترپنوئیدی را در ریشه *Primula macrocalyx* شناسایی کردند (Çalis *et al.*, 1992).

بهینه‌سازی فرمولاسیون فراورده‌های گیاهی برای بهره‌مندی از اثر عصاره‌ها، یکی از اهداف کاربردی مطالعات فرمولاسیون و پیش‌فرمولاسیون می‌باشد. در این راستا، مطالعات مختلفی به تهیه شربت از عصاره‌های گیاهی می‌پردازند که به برخی از آنها اشاره می‌گردد. Abdul Aziz و همکاران، در سال ۲۰۱۳ در پاکستان، یک فرمولاسیون ضد سرفه از عصاره متانولی *Lycopus europaeus* تهیه و اثربخشی آن را در موش ارزیابی کردند. فرمولاسیون تهیه شده از نظر رنگ، بو، مزه، جرم مخصوص، چگالی، ضریب شکست، pH، محتوای الکلی و اسیدیته بررسی شد. نتایج این بررسی مشخص کرد که شربت تهیه شده، اثربخشی قابل توجهی در کاهش سرفه، در مقایسه با دیفن‌هیدرامین هیدروکلراید از خود نشان می‌دهد (Aziz *et al.*, 2013). Ahmed Sheikh و همکاران در سال ۲۰۱۴ در پاکستان، یک فرمولاسیون گیاهی به نام شربت Linkus را طراحی و ارزیابی نمودند. این شربت شامل *Glycyrrhiza glabra*، *Hyssopus officinalis*، *Piper longum* و *Alpinia galangal* بود. در ساخت این شربت، از سوکروز، سیتریک‌اسید، گلیسرین، متیل‌پارابن، پروپیل‌پارابن، پروپیلن‌گلایکول، اسانس نعناع، اسانس میخک و آب خالص استفاده شد. خواص فیزیکی و شیمیایی شربت از نظر ظاهر، pH و چگالی بررسی شده و ترکیب‌های مؤثره به صورت کمی و کیفی شناسایی و ارزیابی شدند (Sheikh *et al.*, 2014). با توجه به وجود ترکیب‌های ارزشمند به‌ویژه ساپونین‌ها در گیاه پامچال و اینکه فرمولاسیون خوراکی از این گونه بومی در ایران ساخته نشده، بر آن شدیم تا در این مطالعه به ساخت و بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی فرمولاسیون خوراکی مناسب از این گیاه بپردازیم.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از مواد و حلال‌های: ان-هگزان، کلروفرم، اتیل استات، بوتانول، متانول، اتانول (دکتر مجللی، ایران) و سدیم بی‌کربنات، معرف فولین سیوکالتو، آهن ۳ کلراید، هگزامتیلن کلراید، منیزیم، هیدروکلریک اسید، ان‌آمیل الکل، آمونیاک، استیک اسید گلاسیال، آنیزالدئید، معرف دراژندروف، کاغذ TLC، ساکارز، پروپیلن گلیکوی و سدیم بنزوات (مرک، آلمان) استفاده شد.

همچنین از دستگاه‌های آسیاب (توس‌شکن خراسان، ایران)، ترازوی چهار صفر (Sartorius، آلمان)، روتاری اواپوراتور، شیکر هیتر و شیکر هیتر و ورتکس (هایدولف آلمان)، سونیکاتور (Elma، آلمان)، آون (بهداد، ایران)، آون خلأ (Memmert، آلمان)، سیستم تصفیه آب (OES، آمریکا)، استیرهات پلیت (IKA، آلمان)، pHمتر (Mettler Tolodo، سوئیس)، کابینت UV (بهراد صنعت ایران)، انکوباتور آزمایشگاهی (فاطرالکترونیک، ایران) و اسپکتروفوتومتر UV (Agilent، آمریکا) استفاده شد.

این کار تحقیقاتی منتج از پایان‌نامه دانشجویی می‌باشد و با کد اخلاق IR.GUMS.REC.1400.237 در دانشگاه علوم پزشکی گیلان ثبت و انجام شد.

### جمع‌آوری، خشک کردن و عصاره‌گیری از گیاه

گیاه پامچال کاسه بزرگ در خردادماه ۱۳۹۹ از ارتفاعات ۲۰۰۰ متری در منطقه اولسبلانگاه واقع در ماسال گیلان جمع‌آوری و به‌مدت ۲ هفته در دمای اتاق خشک و نمونه هرباریومی آن با کد 402HGUM در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی گیلان بایگانی

شد. عصاره‌گیری به روش خیس کردن در اتانول ۷۰٪ به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط انجام شد: گل (۸۹/۴ گرم)، برگ (۲۲۲/۱ گرم) و ریشه (۵۴/۱ گرم). عصاره‌ها پس از صاف کردن با دستگاه روتاری تغلیظ و از نظر ویژگی‌های ظاهری، رنگ، طعم و بو بررسی شدند.

**تعیین مقدار آب موجود در گیاه**

همچنین، میزان آب موجود در پودر گل، برگ و ریشه به روش کاهش وزن در اثر خشک کردن، براساس فارماکوپه و طبق فرمول زیر بررسی شد (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare (EDQM), 2013).

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times ۱۰۰$$

$W_0$: وزن اولیه، $W_1$: وزن نهایی (پس از حرارت) می‌باشد.

**تعیین مقدار خاکستر گیاه: خاکستر تام**

۲ گرم از برگ، گل و ریشه پامچال داخل کروزه ریخته و به‌مدت ۱ ساعت در کوره الکتریکی (۷۰۰–۸۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده و پس از سردشدن، توزین گردید. خاکسترتام به‌دست آمده طبق فرمول زیر محاسبه شد (World Health Organization, 2011):

$$\text{درصد خاکستر تام} = \frac{\text{وزن خاکستر به‌دست‌آمده}}{\text{وزن پودر گیاه}} \times ۱۰۰$$

**تعیین مقدار خاکستر نامحلول در اسید**

به خاکستر به‌دست‌آمده از مرحله قبلی، ۲۰ تا ۲۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک‌اسید ۱۰٪ افزوده و به‌مدت ۳ تا ۴ دقیقه بر روی حرارت هیتر جوشانده شد. پس از صاف کردن، کاغذ صافی حاوی رسوب به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. وزن خاکستر نامحلول در اسید و درصد آن طبق فرمول زیر محاسبه شد (World Health Organization, 2011).

$$\text{درصد خاکستر نامحلول در اسید} = \frac{\text{وزن خاکستر باقیمانده}}{\text{وزن پودر گیاه}} \times ۱۰۰$$

**بررسی کمی و کیفی ترکیب‌های مؤثره موجود در گیاه**

**بررسی فنول تام**

محتوای فنول تام عصاره‌های برگ، ریشه و گل به روش فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) براساس روش AOAC و طبق فرمول زیر برحسب درصد وزنی–وزنی، اندازه‌گیری و محاسبه شد (Kupina *et al.*, 2018). از اسید گالیک نیز برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

$$\text{محتوای فنول تام} = \frac{(v \times d)}{(w \times 1000)} \times \frac{(a - b)}{m} \times ۱۰۰$$

a: جذب محلول نمونه در ۷۶۵ نانومتر، b: عرض از مبدأ، m: شیب منحنی، w: وزن ماده آزمایش (میلی‌گرم)، v: حجم محلول آزمایش نمونه ml و d: ضریب رقت می‌باشد و مقادیر به صورت معادل اسیدگالیک بیان می‌شوند (Kupina *et al.*, 2018).

**بررسی کیفی فلاونوئیدها با استفاده از معرف $FeCl_3$ 10%**

برای بررسی کیفی فلاونوئیدها، از معرف $FeCl_3$ 10% استفاده شد. به ۱۰ میلی‌گرم از هریک از عصاره‌های گل، برگ، ریشه و شیرین‌بیان (کنترل مثبت)، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه شد و بعد به ۱ میلی‌لیتر از هر محلول، ۲ قطره $FeCl_3$ ۱۰٪ افزوده شد. وجود ترکیب‌های فلاونوئیدی با ایجاد طیفی از زرد تا سبز و آبی مشخص می‌شود (Talreja *et al.*, 2016).

**بررسی کیفی فلاونوئیدها با استفاده از هیدروکلریک‌اسید و آمیل‌الکل (آزمون Shinoda)**

برای تعیین حضور فلاونوئیدها از آزمون Shinoda به این صورت استفاده شد: ۱ گرم از هریک از عصاره‌های اتانولی ۷۰٪ گل پامچال، برگ پامچال، ریشه پامچال، پنیرک (کنترل مثبت وجود آنتوسیانین) و همیشه‌بهار (کنترل مثبت وجود فلاونوئید) در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و ۱۰۰ میلی‌گرم پودر منیزیم و ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک‌اسید غلیظ به آن اضافه گردید. وجود فلاونوئیدها طی دو دقیقه با ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ تا قرمز آلبالویی مشخص می‌شود و شدت رنگ لایه آمیل‌الکل به‌عنوان نشان‌دهنده میزان فلاونوئید موجود در عصاره از – تا ++++ برآورد می‌شود. در ادامه، برای تشخیص آنتوسیانین‌ها، با افزودن ۲ میلی‌لیتر آمیل‌الکل به هر لوله، در صورت وجود فلاونوئید، رنگ به لایه بالایی نفوذ کرده و بدین‌ترتیب، فلاونوئید از آنتوسیانین جدا می‌گردد (Feyzi *et al.*, 2016).

**بررسی کیفی فلاونوئیدها با استفاده از بخار آمونیاک**

برای بررسی کیفی فلاونوئیدها، به ۱۰ میلی‌گرم از عصاره‌های برگ، گل، ریشه پامچال و شیرین‌بیان (کنترل مثبت) در ۴ ویال مجزا کمتر از ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه شد. سپس چند قطره از هر عصاره روی کاغذ صافی قرار داده و در معرض بخار آمونیاک قرار گرفت. ایجاد رنگ زرد پس از مواجهه با بخار آمونیاک، نشانگر وجود فلاونوئید است (Jose *et al.*, 2018).

**بررسی کمی فلاونوئیدها**

برای بررسی کمی فلاونوئید تام موجود در گیاه براساس روش Feyzi و همکاران (Feyzi *et al.*, 2016)، محلول‌های هگزامتیلن تترآمین، استیک‌اسید ۵٪ حجمی–حجمی، آلومینیوم‌کلراید و استوک عصاره تهیه شد.

به ۱۰ میلی‌لیتر از محلول استوک (به‌طور جداگانه برای گل، برگ و ریشه پامچال) ۱ میلی‌لیتر محلول آلومینیوم‌کلراید افزوده و با استیک‌اسید ۵٪ به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در ۴۲۵ نانومتر خوانده شده و فلاونوئید تام برحسب ایزوکوئرسیتروزاید با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$\text{محتوای فلاونوئید تام بر حسب ایزوکوئرسیتروزاید} = \frac{(A \times 1.25)}{m}$$

A: میانگین جذب و m: وزن نمونه اولیه (گرم) (Feyzi *et al.*, 2016).

**بررسی کیفی ساپونین‌ها به کمک آزمون کف‌کنندگی**

**آزمون کف‌کنندگی مقدماتی**

برای بررسی کیفی ساپونین‌ها از آزمون کف‌کنندگی مقدماتی استفاده شد: به ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر گل، ریشه و برگ پامچال و پودر شیرین‌بیان، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شدند. بعد از نیم ساعت، وجود یک شبکه کف با ارتفاع بیشتر از ۳ سانتی‌متر به‌طوری‌که با اضافه کردن چند قطره اسید کلریدریک ۲ نرمال از بین نرود، نشان‌دهنده وجود ساپونین است (Samsam Shariat, 2014).

**آزمون کف‌کنندگی اساسی**

آزمون کف‌کنندگی اساسی نیز بدین صورت انجام شد: یک گرم از پودر گل، ریشه و برگ پامچال و پودر شیرین‌بیان به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوش در فلاسک به مدت ۳۰ دقیقه حرارت ملایم داده شد. پس از صاف کردن عصاره و رساندن حجم به ۱۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر، عصاره به ۱۰ لوله آزمایش به نسبت ۱ تا ۱۰ میلی‌لیتر تقسیم شد و حجم لوله‌ها با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسید، لوله‌ها ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شدند و

پس از ۱۵ دقیقه، اگر ارتفاع شبکه کف در هر لوله کمتر از ۱ سانتی‌متر باشد، شاخص ساپونین کمتر از ۱۰۰ واحد است و اگر بیشتر از ۱ سانتی‌متر باشد، رقت شاخص شبکه کف در گیاه محسوب می‌گردد و لازم است آزمایش با عصاره رقیق‌تر دوباره تکرار و مقدار ساپونین در گیاه با استفاده از فرمول مناسب محاسبه شود (Samsam Shariat, 2014).

$$\text{شاخص کف‌کنندگی} = \frac{1000\ (\text{ml})}{a\ (\text{ml})}$$

a: حجم عصاره تهیه شده (میلی‌لیتر)

**بررسی کیفی ساپونین‌ها به کمک آزمون کروماتوگرافی لایه نازک با معرف آنیزالدئید**

همچنین برای ردیابی ترکیب‌های ساپونینی ۱۰ میلی‌گرم از عصاره گل، برگ و ریشه پامچال به‌صورت مجزا در ۱ میلی‌لیتر متانول حل شد و از کروماتوگرافی لایه نازک سیلیکاژل $GF_{254}$ در ابعاد ۱۰×۵ با فاز متحرک بوتانول، آب و اسیداستیک گلاسیال (نسبت ۵:۴:۱) استفاده گردید. با استفاده از معرف آنیزالدئید، ظهور نوار بنفش تیره بین یک‌سوم میانی و انتهایی که اطراف آن نوار سبز-آبی مشاهده می‌شود، حضور ترکیب آئسین (نوعی ساپونین) را نشان می‌دهد (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare (EDQM), 2013).

**بررسی کیفی تانن‌ها با استفاده از آزمون ژلاتین**

برای بررسی کیفی تانن‌ها با استفاده از آزمون ژلاتین، به ۱۰ میلی‌گرم از هریک از عصاره‌ها (گل، برگ، ریشه پامچال و شیرین‌بیان) ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ افزوده شد. به ۳ میلی‌لیتر از این محلول ۳ تا ۴ قطره سدیم‌کلراید افزوده شد. پس از چند دقیقه، ۵ قطره محلول ژلاتین ۱۰٪ اضافه شد. وجود رسوب و کدورت در لوله، نشانگر حضور تانن است (Talreja *et al.*, 2016).

**بررسی کیفی آنتراکینون‌ها با استفاده از آزمون بورن‌تراگر**

برای بررسی کیفی آنتراکینون‌ها، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱ گرم از پودر روناس (کنترل مثبت)، پودر برگ و گل پامچال اضافه و حرارت داده شدند تا به جوش بیایند. پس از ۱۰ دقیقه جوشیدن، محلول صاف شده و روی آن، استخراج مایع-مایع (دکانتاسیون) با کلروفرم (۱۰ میلی‌لیتر، ۳ بار) انجام گردید، فازهای کلروفرمی جمع‌آوری و تا رسیدن به حجم یک‌سوم اولیه حرارت داده شد. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره کلروفرمی حاصل، ۲ میلی‌لیتر آمونیاک افزوده، کمی تکان داده و ۳۰ دقیقه در جایی ثابت قرار داده شد. ایجاد رنگ قرمز در لایه آمونیاکی نشانگر وجود آنتراکینون است (Ukwubile *et al.*, 2020).

**بررسی کیفی آلکالوئیدها به کمک آزمون کروماتوگرافی لایه نازک با معرف دراژندروف**

برای بررسی کیفی وجود آلکالوئیدها، ۱۰ میلی‌گرم از عصاره‌های گل، برگ و ریشه در متانول حل و روی کاغذ کروماتوگرافی بارگذاری شد. نتایج با استفاده از معرف دراژندروف و نور فرابنفش بررسی گردید و حضور لکه‌های نارنجی-قرمز نشان‌دهنده وجود آلکالوئیدها است.

**مطالعات پیش‌فرمولاسیون در تهیه فرم خوراکی مایع از گیاه پامچال کاسه بزرگ**

**انتخاب دوز مناسب فرمولاسیون**

دوز مجاز مصرفی روزانه عصاره‌ها براساس کتاب مرجع گیاهان دارویی (Thomson. Healthcare, 2007) و به کمک بازده عصاره‌گیری محاسبه و فرمولاسیون مناسب تهیه شد. به‌علاوه، میزان انحلال ۲۵ میلی‌گرم از هریک از عصاره‌های برگ، گل و ریشه گیاه پامچال کاسه بزرگ بررسی و طراحی فرمولاسیون به شرح ذیل انجام شد.

**طراحی و ساخت فرمولاسیون خوراکی مایع از گیاه پامچال کاسه بزرگ**

برای تهیه فرمولاسیون به حجم ۶۰ میلی‌لیتر، ابتدا مقادیر مشخص از عصاره‌های گیاه پامچال یعنی ۸۵ گرم عصاره گل، ۱/۱۲ گرم عصاره برگ و ۰/۳۱ گرم عصاره ریشه در ۶ میلی‌لیتر آب خالص حل شد و بعد به‌ترتیب ۳ میلی‌لیتر پروپیلن‌گلایکول، ۱۲ میلی‌لیتر عسل، ۱۸ میلی‌لیتر شربت USP (حاوی ۸۵٪ وزنی/وزنی ساکارز در آب)، ۱۲ میلی‌لیتر گلیسیرین، ۶۰ میلی‌گرم (معادل ۰/۱٪) سدیم‌کربوکسی متیل‌سلولز و ۶۰ میلی‌گرم سدیم بنزوات (معادل ۰/۱٪) و ۱۵ قطره اسانس کارامل به ترکیب افزوده شد. در نهایت، حجم ترکیب با آب خالص به ۶۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

**ارزیابی فرمولاسیون تهیه شده از گیاه پامچال کاسه بزرگ**

**بررسی خواص فیزیکی و ارگانولپتیک فرمولاسیون**

**بررسی pH فرمولاسیون**

pH یک محلول دارویی می‌بایست در محدوده ۲ تا ۹ قرار داشته باشد تا در حد بهینه برای محلولیت، پایداری، فراهمی‌زیستی دارو، فعالیت اکسیپیان‌ها و مقبولیت فیزیولوژیک فراورده باشد (Aulton, 2013). در این مطالعه، پس از تهیه فرمولاسیون نهایی، pH فرمولاسیون قبل و بعد از افزودن سدیم‌کربوکسی متیل‌سلولز به آن با استفاده از pHمتر اندازه‌گیری شد.

**آزمون کارایی ماده محافظ**

کارایی ماده محافظ بر روی ۳ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، سودومونا آئروژینوزا (ATCC 27853) و اشریشیا کلی (ATCC 25922) سنجیده شد.

**آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی، تلقیح، شمارش کلونی و بررسی تشکیل رسوب**

در این مطالعه، مقداری از کلونی‌های هر باکتری در سه لوله آزمایش جداگانه در نرمال‌سالین حل و وجود cfu/ml $10^8$ از کلونی، کدورت سوسپانسیون تهیه شده به کمک طیف‌سنجی ماوراء بنفش در طول موج ۶۲۵ نانومتر سنجیده شد. در ادامه، برای رسیدن به غلظت cfu/ml $10^6$ در ۳۰ میلی‌لیتر از هریک از لوله، ۳۰۰ لاندا از سوسپانسیون میکروبی به هر لوله در حجم مورد نظر تلقیح و شمارش کلونی در روزهای ۰، ۱۴ و ۲۸ انجام شد.

در روز صفر، ۱ میلی‌لیتر از هر شربت تهیه شده به ۹ میلی‌لیتر از محیط کشت SCDB ( Soybean Casein Digest Broth) در لوله آزمایش افزوده شد. با در نظر گرفتن این لوله به‌عنوان رقت $10^5$، رقت‌سازی متوالی از این لوله تا رسیدن به رقت $10^1$ توسط محیط کشت SCDB انجام شد. سپس هریک از غلظت‌های $10^1$، $10^2$ و $10^3$ در دو پلیت کشت داده شدند و تعداد کلونی‌های رشدکرده پس از انکوباسیون محاسبه شد. به منظور شمارش کلونی‌ها در روزهای چهاردهم و بیست‌وهشتم، از هر شربت، یک رقت ۱۰:۱ توسط محیط کشت SCDB تهیه شد. سپس غلظت تهیه شده در هر لوله در دو پلیت کشت داده شد و تعداد کلونی‌ها پس از انکوباسیون در دمای ۲/۵±۳۲/۵ درجه سانتی‌گراد، بعد از ۳ تا ۵ روز محاسبه شد. در پایان شربت تهیه شده، به مدت یک هفته در یخچال قرار داده شد و بعد از نظر وجود رسوب بررسی گردید.

## نتایج

در این مطالعه بازده عصاره‌گیری برگ، گل و ریشه گیاه پامچال کاسه بزرگ به‌ترتیب ۲۵/۱۷، ۱۹/۰۴ و ۲۱/۱۲ درصد بود. در ادامه، آزمایش‌های فیتوشیمیایی کیفی برای تعیین وجود، فلاونوئید، آنتوسیانین، تانن، ساپونین، آلکالوئید و آنتراکینون انجام شد که نتایج آن در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- محتوای ترکیب‌های فیتوشیمیایی (آنتراکینون، آلکالوئید، ساپونین، تانن، آنتوسیانین، فلاونوئید (آزمون‌های شینودا، آمونیا و $FeCl_3$)) برگ، گل و ریشه پامچال

**Table 1. Phytochemicals content of leaf, flower, and *Primula macrocalyx* root**

| Plant part | Test | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Anthraquinone (Bontrager's test) | Alkaloids (TLC) | Saponin (TLC) | Tannin (Gelatin) | Anthocyanins (Shinoda) | Flavonoids (Shinoda) | Flavonoids (Ammonia test) | Flavonoids ($FeCl_3$ 10%) |
| Leaf | *− | − | *+ | + | − | *++++ | + | + |
| Flower | − | − | + | + | − | *+++ | + | + |
| Root | − | − | ++ | ++ | − | − | − | − |
| Positive control** | *++ | ++ | No control | ++ | ++ | ++ | + | ++ |

*: (-) absence, (+) low content, (++) medium content, (+++) high content, and (++++) very high content of phytochemicals.
**: positive control- licorice root (for flavonoid $FeCl_3$, ammonia, and tannin gelatin tests), calendula flower (for Shinoda flavonoid test), common mallow flower (for Shinoda anthocyanin test), and madder root (for anthraquinone test).

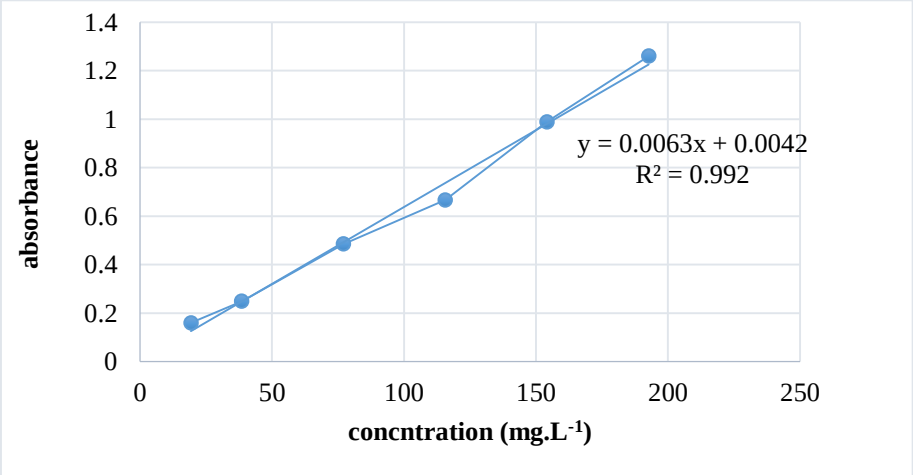
با توجه به نمودار استاندارد گالیک‌اسید و غلظت‌های تهیه شده از عصاره‌های اجزاء گیاه، درصد پلی‌فنل‌های تام محاسبه گردید (جدول ۲ و شکل ۱). در بررسی محتوای فنول تام در برگ، گل و ریشه به‌ترتیب برابر با ۸۱/۰۵، ۱۲۵/۸۹۶ و ۴۱/۴۴ درصد پلی‌فنول تام برحسب گالیک اسید بود. مقادیر غلظت- جذب و منحنی استاندارد گالیک اسید به‌ترتیب در جدول ۲ و شکل ۱ آمده است. درصد فلاونوئید تام برحسب ایزوکوئرسترووزاید در گل و برگ گیاه به‌ترتیب برابر با ۰/۰۸۱ ± ۲/۸۸ و ۰/۰۴۱۰±۲/۲۶ و در ریشه غیرقابل قبول و بسیار پایین بود.

خواص ظاهری، بازده عصاره‌گیری و درصد آب و درصد خاکستر اجزاء گیاه در جدول ۳ جمع‌آوری شده است.

جدول ۲- جذب ماوراء بنفش غلظت‌های استاندارد اسید گالیک

**Table 2. UV absorbance of gallic acid standard concentrations**

| Concentration ($mg.L^{-1}$) | Edited concentrations according to purity and humidity levels ($mg.L^{-1}$) | Average absorbance± SD |
|---|---|---|
| 20 | 19.27 | $0.16 \pm 0.007$ |
| 40 | 38.54 | $0.249 \pm 0.013$ |
| 80 | 77.08 | $0.485 \pm 0.011$ |
| 120 | 115.62 | $0.667 \pm 0.011$ |
| 160 | 154.16 | $0.989 \pm 0.004$ |
| 200 | 192.7 | $1.26 \pm 0.011$ |




شکل ۱- نمودار استاندارد اسید گالیک

**Figure 1. Standard curve of gallic acid**

جدول ۳- خواص فیزیکی و ارگانولپتیک عصاره‌های حاصل از بخش‌های مختلف گیاه پامچال

**Table 3. Physical and organoleptic properties of *Primula macrocalyx* extracts from different plant parts**

| Plant part | Extraction efficiency (%) | Color, taste, and odor of extract | Water content (%) | Total ash (%) | Acid insoluble ash (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Leaf | 25.17 | Greenish dark brown, bitter, and grassy | 12 | 6 | 2 |
| Flower | 19.04 | Greenish dark brown, bitter, and grassy | 13 | 11 | 3.5 |
| Roots | 21.12 | Cream/light brown, tasteless, and odorless | 13 | 9.5 | 3 |

حضور ساپونین در اجزاء برگ و ریشه این گیاه با استفاده از آزمون کف‌کنندگی مقدماتی تأیید شد که به دنبال افزودن اسیدکلریدریک، کف بوجود آمده به‌ترتیب پایدار و نسبتاً پایدار بود. همچنین شاخص کف‌کنندگی اساسی در گیاه شیرین‌بیان (کنترل مثبت)، برگ، ریشه و گل گیاه پامچال به‌ترتیب کمتر از ۱۰۰، ۳۳۳، ۲۵۰ و کمتر از ۱۰۰ بود (جدول ۴).

جدول ۴- نتایج آزمون کف‌کنندگی اساسی اجزای گیاه پامچال و کنترل مثبت شیرین‌بیان

**Table 4. Essential foaming test results of *Primula* plant parts and positive control licorice**

| Plant part | Saponin content index |
|---|---|
| Licorice (positive control) | <100 |
| *Primula macrocalyx* leaf | 333 |
| *P. macrocalyx* root | 250 |
| *P. macrocalyx* flower | <100 |

**نتایج ساخت و ارزیابی فرمولاسیون تهیه شده از گیاه پامچال کاسه بزرگ**

فرمولاسیون شربت مطابق مقادیر ذکرشده در بخش روش اجرا تهیه شد. این شربت دارای ظاهری شفاف، رنگ قهوه‌ای تیره، با طعم و بوی کارامل، مزه شیرین و پس‌مزه تلخ بود. همچنین این فرمولاسیون گرانروی مناسبی برای ریزش از ظرف داشت. آنالیزها نشان داد که pH فرمولاسیون تهیه شده پیش از افزودن سدیم‌کربوکسی متیل‌سلولز ۵/۱۹ و پس از افزودن آن ۵/۲۲ بود که در هر دوی این حالات، فرمولاسیون از نظر pH در محدوده قابل قبول قرار داشت. فراورده در بررسی تشکیل رسوب در فرمولاسیون تهیه‌شده در طی نگهداری، پس از مدت یک هفته، هیچگونه رسوب و کریستالی در شربت مشاهده نشد. در بررسی قفل شدن درب ظرف حاوی فرمولاسیون در طی مدت نگهداری، مشخص شد که پس از مدت یک هفته، درب بطری‌های حاوی شربت به آسانی قابل باز شدن است.

**نتایج آزمون کارایی ماده محافظ**

در روز چهاردهم و بیست‌وهشتم از آزمون کارایی ماده محافظ، رشد کلونی‌ها در پلیت‌های مربوط به ۳ باکتری اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استاف اورئوس بررسی شد. در روز چهاردهم، در تمامی این پلیت‌ها، تعداد کلونی‌ها بیش از یک چرخه لگاریتمی کاهش یافته و در روز بیست‌وهشتم، هیچگونه افزایشی نسبت به روز چهاردهم نداشت؛ بنابراین این فراورده توانایی و اثربخشی برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها را داشته و براساس شرایط USP مورد قبول واقع شد.

## بحث

درمان با گیاهان دارویی روشی است که از دیرباز در پزشکی کاربرد داشته و با وجود داروهای سنتتیک شیمیایی، همچنان مورد استفاده قرار می‌گیرد. مزایای این روش شامل عملکرد ملایم، سمیت پایین و احتمال کمتر واکنش‌های آلرژیک است. گیاهان دارویی به‌ویژه در درمان بیماری‌های مزمن مؤثرند و می‌توانند آثار درمانی همه‌جانبه‌ای بر بدن داشته باشند. همچنین، امکان استفاده همزمان از چندین گیاه وجود دارد که به تقویت اثرهای مثبت و کاهش عوارض ناخواسته کمک می‌کند (Kakhramanova *et al.*, 2020).

گیاه پامچال کاسه بزرگ (*Primula macrocalyx* Bunge.) در طب سنتی به‌عنوان دارویی خلط‌آور، ادرارآور، آرام‌بخش و برطرف‌کننده اسپاسم به‌کار می‌رود و برای درمان بیماری‌هایی مانند کمبود ویتامین، سرماخوردگی، تب، سردرد، بی‌خوابی، فلج، اسکوروی، سل، بیماری‌های قلبی، روماتیسم و کلیوی مؤثر است. این گیاه به اشکال مختلفی مانند تنتور، جوشانده، پودر و چای مصرف می‌شود (Li *et al.*, 2019). گیاه حاوی ساپونین‌های تری‌ترپنوئیدی است که باعث افزایش تحرک برونش، ترشح موکوس و فعالیت مژک‌های اپیتلیوم مژک‌دار می‌شوند و خواص ضدالتهابی و نرم‌کننده‌ای دارند (Kakhramanova *et al.*, 2020). این مطالعه به بررسی گیاه پامچال کاسه بزرگ *Primula macrocalyx* پرداخته و پس از عصاره‌گیری از گل، برگ و ریشه آن، ترکیب‌های مؤثره، فنول و فلاونوئید تام شناسایی شده‌اند. در ادامه، فرمولاسیون شربت از این گیاه ساخته شده و خواص فیزیکی و شیمیایی شربت حاصل و کارایی ماده محافظ موجود در آن بررسی گردید.

برای ارزیابی اولیه ترکیب‌های مؤثره موجود در گیاه پامچال کاسه بزرگ با استفاده از مطالعات کیفی، به بررسی ترکیب‌های فلاونوئیدی، ساپونین‌ها، تانن‌ها، آنتراکینون‌ها و آلکالوئیدها پرداخته شد. نتایج این بررسی نشان داد که برگ گیاه مورد مطالعه حاوی فلاونوئید، ساپونین و تانن، گل گیاه حاوی فلاونوئید و تانن و ریشه آن حاوی ساپونین و تانن می‌باشد. مطالعه Marchyshyn و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز وجود تانن را در ریشه و برگ *Primula veris* تأیید نمود (Marchyshyn *et al.*, 2017). همچنین، محتوای فنول و فلاونوئید تام در این گیاه به‌صورت کمی ارزیابی شد. در این مطالعه مانند مطالعه Lupitu (Lupitu *et al.*, 2018)، بررسی محتوای فنولی گیاه *Primula macrocalyx*، درصد

وزنی–وزنی پلی‌فنول تام برحسب گالیک‌اسید در اجزاء گیاه بدست آمد که این مقادیر در برگ، گل و ریشه به‌ترتیب برابر با ۸۱/۰۵، ۱۲۵/۸۹۶ و ۴۱/۴۴ بود. در بررسی محتوای فلاونوئید برحسب ایزوکوئرسیتروزاید در *Primula macrocalyx*، مقادیر فلاونوئید در گل و برگ این گیاه به‌ترتیب برابر با۲/۸۸ و ۲/۲۶ درصد به‌دست آمد و مشخص شد که محتوای فلاونوئید ریشه گیاه ناچیز است. قابل توجه است که نتایج مطالعه ما سازگار با نتایج تحقیقات دیگران بود که میزان فلاونوئید موجود در اجزاء مختلف گیاه پامچال را سنجیده بودند (Bączek *et al.*, 2017؛ Marchyshyn *et al.*, 2017). در ادامه، محتوای ساپونین این گیاه با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک بررسی و وجود مقادیر قابل توجهی ساپونین از نوع آئسین در ریشه گیاه مشخص شد. این نتایج شباهت‌های زیادی با مطالعات قبلی داشت که وجود مقادیر بالایی از ساپونین را در ریشه گیاه تأیید کردند (Calis *et al.*, 1992؛ Okršlar *et al.*, 2007؛ Poracova *et al.*, 2009؛ Shostak *et al.*, 2017). جالب توجه است که Shostak و همکارانش نشان دادند که علاوه‌بر ریشه گیاه پامچال، برگ آن نیز حاوی ساپونین است (Shostak *et al.*, 2017).

پس از بررسی‌های کمی و کیفی ترکیب‌های مؤثره گیاه پامچال کاسه بزرگ، با مطالعه فرمولاسیون‌های خوراکی مایع حاوی گونه‌های مختلف *Primula* در بازار دارویی ایران و جهان، یک فرمولاسیون خوراکی مایع از این گیاه تهیه شد.

در مطالعات پیش‌فرمولاسیون شربت پامچال کاسه بزرگ، قابلیت انحلال اجزاء عصاره گیاه، دوز و مواد جانبی مناسب فرمولاسیون و پایه مناسب تهیه فراورده بررسی شد. بر این اساس، تمامی اجزاء عصاره گیاه انحلال مناسبی در آب خالص از خود نشان دادند و افزودن پروپیلن گلایکول و گلیسیرین به‌عنوان کمک‌حلال، به انحلال بهتر عصاره‌ها کمک کرد. به‌دلیل طعم تلخ و بوی خاص عصاره‌ها، از شربت ۸۵٪ USP و عسل برای فرمولاسیون آن استفاده شد. براساس کتاب مرجع گیاهان دارویی (Thomson. Healthcare, 2007)، فرمولاسیون با نسبت تقریبی ۳:۳:۱ از گل، برگ و ریشه تهیه شد. همچنین در تهیه این شربت از گیاه پامچال کاسه بزرگ، سدیم–کربوکسی متیل سلولز در غلظت‌های مختلف از ۰/۱ تا ۱ درصد بررسی شد و غلظت ۰/۱ درصد قوام مناسبی در فرمولاسیون تهیه شده ایجاد نمود. همچنین، از سدیم بنزوات در غلظت ۰/۱ درصد به‌عنوان ماده محافظ ضدمیکروبی استفاده شد که رایج‌ترین ماده محافظ در صنایع غذایی و دارویی است. عسل علاوه بر نقش شیرین‌کننده و بهبود قوام، به‌عنوان یک خلط‌آور و ضد سرفه در فراورده‌های گیاهی استفاده می‌شود و به دلیل آثار ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی (Schonknecht *et al.*, 2016)، می‌تواند به تسریع درمان بیماری‌های التهابی و عفونی دستگاه تنفسی کمک کند.

فرمولاسیون تهیه شده از نظر خواص ظاهری و فیزیکی و شیمیایی بررسی شد و شربت از نظر رنگ، بو، طعم و عدم ایجاد رسوب در طول نگهداری تأیید گردید. همچنین، گرانروی این فرمولاسیون با فراورده‌های گیاهی تجاری حاوی آویشن، مقایسه شد و از این لحاظ، ریزش مناسبی از ظرف داشت. pH فرمولاسیون تهیه شده ۵/۲۲ بود که در دامنه pH مورد قبول برای محلول‌های دارویی خوراکی است (Aulton, 2013). در بررسی کارایی ماده محافظ فرمولاسیون تهیه شده، با توجه به قرارگیری فراورده در دسته ۳ از طبقه‌بندی مربوط به این آزمون، رشد کلونی‌ها در روز صفر، چهارده و بیست‌وهشت سنجیده شد و براساس شرایط USP، در محدوده قابل قبول قرار گرفت (United States Pharmacopeial Convention, 2016)؛ بنابراین فرمولاسیون تهیه شده از این لحاظ تأیید شد.

## نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از این مطالعه حکایت از آن دارد که گیاه پامچال کاسه بزرگ (*Primula macrocalyx*) حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی و ساپونینی بوده و فرمولاسیون تهیه شده از عصاره اجزاء این گیاه، دارای شرایط قابل قبولی از

نظر ویژگی‌های ظاهری، گرانروی، pH، عدم ایجاد رسوب در مدت زمان نگهداری و کارایی ماده محافظ در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشد.

## سپاسگزاری

این پروژه در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی گیلان و به‌عنوان پایان‌نامه دانشجویی داروسازی عمومی با کد اخلاق IR.GUMS.REC.1400.237 انجام شد. بدین‌وسیله از حمایت‌های معاون پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گیلان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. همچنین، نویسندگان از کارشناسان آزمایشگاه فارماکوگنوزی و آزمایشگاه فارماسیوتیکس (خانم دیبا اقبالی و خانم گیتا الکن صابری) قدردانی می‌نمایند.

**References**

- Aulton, M.E. and Taylor, K.M.G., 2021. Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines. Elsevier, 435p. https://shop.elsevier.com/books/aultons-pharmaceutics/taylor/978-0-7020-8154-5
- Aziz, A., Khan, I.A., Afzal, A. and Munawar, S.H., 2013. Formulation and evaluation of herbal antitussive syrup of methanolic extract of Lycopus europaeus in mice. American Journal of Phamacy & Health Research, 1: 121-128. https://www.researchgate.net/publication/264311665
- Bączek, K., Przybył, J.L., Mirgos, M., Kosakowska, O., Szymborska-Sandhu, I. and Węglarz, Z., 2017. Phenolics in Primula veris L. and P. elatior (L.) Hill raw materials. International Journal of Analytical Chemistry, 2017: 2871579. 10.1155/2017/2871579
- Calis, I., Yürüker, A., Rüegger, H., Wright, A. and Sticher, O., 1992. Triterpene saponins from Primula veris subsp macrocalyx and Primula elatior subsp meyeri. Journal of Natural Products, 55(9): 1299-1306. https://doi.org/10.1021/np50087a019
- Colombo, P.S., Flamini, G. and Fico, G., 2014. Primula latifolia Lapeyr. and Primula vulgaris Hudson. flavonoids. Natural Product Research, 28(19): 1641-1644. https://doi.org/10.1080/14786419.2014.924003
- Emami, A. and Ahi, A., 2014. Medicinal Botany. Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, 289p. (In Persian) https://www.gisoom.com/book/11411512
- European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare (EDQM)., 2013. European Pharmacopoeia, 8th ed. Strasbourg, France, Council of Europe. https://www.edqm.eu/documents/52006/80222/EDQM-factsheet.pdf/dc0e9d89-f41d-6bf4-63d0-eb3addd0f195?t=1623742703611
- Feyzi, P., Ahmadzadeh Sani, T., Kamali, H., Alesheikh, P. and Mohammadi, A., 2016. Evaluation of qualitative and quantitative of antocyanines, carotenoids, flavonoids and antioxidant activity of methanol extract from aerial parts of Scutellaria pinnatifida A. Hamilt. subsp alpina (Bornm) Rech. f. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences, 7(3): 645-655. https://doi.org/10.29252/jnkums.7.3.645
- Jamzad, Z., 1998. Flora of Iran: No. 25, Primulaceae. Research Institute of Forests and Rangelands. (In Persian) https://lib.pnu.ac.ir/inventory/3/289053.htm
- Jose, C.K., Mathew, F. and Aleykutty, N., 2018. Investigation of phytochemicals, total phenols and total flavonoids content of two anti-arthritic plants. International Journal of Innovative Science and Research Technology, 3(9): 238-240. https://ijisrt.com/wp-content/uploads/2018/09/Investigation-of-Phytochemicals-Total-Phenols-and-Total-Flavonoids-Content-of-Two-Anti-Arthritic-Plants.pdf
- Kakhramanova, S., Bokov, D., Rendyuk, T., Janulis, V., Sakr, M., Samylina, I., Potanina, O., Nikulin, A. and Nasser, R., 2020. Evaluation of the nomenclature of herbal expectorants on Russian pharmaceutical market: Current status and future prospects. Systematic Reviews in Pharmacy, 11(6): 196-205. https://doi.org/10.31838/srp.2020.6.31
- Kosenkova, Y.S., Polovinka, M.P., Komarova, N.I., Korchagina, D.V., Morozov, S.V., Vyalkov, A., Kurochkina, N., Y., Cheremushkina, V.A. and Salakhutdinov, N.F., 2008. Fatty-acid composition and secondary metabolites from slightly polar extracts of the aerial part of Primula macrocalyx. Chemistry of Natural Compounds, 44(5): 564-568. https://link.springer.com/article/10.1007/s10600-008-9145-5
- Kupina, S., Fields, C., Roman, M.C. and Brunelle, S.L., 2018. Determination of total phenolic content using the folin-C assay: Single-laboratory validation, first action 2017.13. Journal of AOAC International,

101(5): 1466-1472. https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031
- Li, X., Wang, X., Li, C., Khutsishvili, M., Fayvush, G., Atha, D., Zhang, Y. and Borris, R.P., 2019. Unusual flavones from Primula macrocalyx as inhibitors of OAT1 and OAT3 and as antifungal agents against Candida rugosa. Scientific Reports, 9(1): 9230. https://doi.org/10.1038/s41598-019-45728-5
- Lupitu, A., Tomescu, D., Mot, C., Moisa, C., Copolovici, D. M. and Copolovici, L., 2018. Variation in phenolic content and antioxidant activity of different plant parts of Primula veris. Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies, 22: 50-53. https://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2018/Art8.pdf
- Marchyshyn, S., Shostak, L., Dakhym, I. and Voloshchyk, N., 2017. Evaluation of anti-inflammatory action of Primula veris L. The Pharma Innovation, 6(3): 241. https://www.thepharmajournal.com/archives/2017/vol6issue3/PartD/6-3-43-610.pdf
- Mozafarian, V., 2014. Flora of Guilan. Rasht, Farhang Eilia, 798p. (In Persian) https://www.gisoom.com/book/11555152
- Noroozisharaf, A., Samizadeh Lahiji, H., Hatamzadeh, A. and Bakhshi, D., 2015. Phytochemical attributes of endemic endangered primrose (Primula heterochroma Stapf.) accessions grown in Iran. Physiology and Molecular Biology of Plants, 21(4): 573-581. https://doi.org/10.1007/s12298-015-0328-9
- Okršlar, V., Plaper, I., Kovač, M., erjavec škerget, A., Obermajer, T., Rebec, A., Ravnikar, M. and Zel, J., 2007. Saponins in tissue culture of Primula veris L. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 43: 644-651. https://doi.org/10.1007/s11627-007-9072-3
- Poracova, J., Zahatnanska, M. and Blascakova, M.J.P.M., 2009. The contents of therapeutically effective compounds of cowslip (Primula veris L.) from various stands of Levocske Mountains in eastern Slovakia. Planta Medica, 75(09): PD45. https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0029-1234524
- Samsam Shariat, H., 2014. Extraction and Derivation of Treatment Plant's Active Ingredients. Mani, Esfahan, 177-179. (In Persain) https://www.gisoom.com/book/1499301
- Schonknecht, K., Krauss, H., Jambor, J. and Fal, A.M., 2016. Treatment of cough in respiratory tract infections-the effect of combining the natural active compounds with thymol. Wiadomości Lekarskie Medical Advances, 69(6): 791-798. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28214817/
- Sheikh, Z.A., Zahoor, A., Khan, S.S. and Usmanghani, K., 2014. Design, development and phytochemical evaluation of a poly herbal formulation linkus syrup. Chinese Medicine, 5(5): 104-112. https://doi.org/10.4236/cm.2014.52012
- Shostak, L., Marchyshyn, S., Vasenda, M. and Husak, L., 2017. Selection of the optimal extractant for extracting the complex of biologically active substances from the cowslip leaves and rhizomes with roots. Ukrainian Biopharmaceutical Journal, 4(51): 46-51. https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-2-147
- Talreja, T., Goswami, A. and Sharma, T., 2016. Preliminary phytochemical analysis of Achyranthes aspera and Cissus quadrangularis. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 5(5): 362. https://www.phytojournal.com/archives/2016/vol5issue5/PartE/5-6-6-236.pdf
- Thomson, H., 2007. PDR for Herbal Medicines, 4th Edition, Thomson Reuters, 1106p https://naturalingredient.org/wp/wp-content/uploads/Pdr_for_Herbal_Medicines.pdf
- Ukwubile, C.A., Ikpefan, E.O., Malgwi, T.S. and Umeokoli, B.O., 2020. Pharmacognostic study and physiochemical assessment on the leaves of Melastomastrum capitatum Fern. anticancer plant in Nigeria. American Journal of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, 10(1): 1-8. https://www.bibliomed.org/gotodoi.php?mno=302644445&gdoi=10.5455/ajpbp.20190822065441
- United States Pharmacopeial Convention, 2016. The United States Pharmacopeia, 39 ed. NF 34: U.S. Pharmacopeia, National formulary. https://ci.nii.ac.jp/ncid/BB20598839?l=en
- World Health Organization, 2011. Quality Control Methods for Herbal Materials. WHO Press, Geneva, Switzerland, 187p. https://www.who.int/publications/i/item/9789241500739