



Paper Type: Original Article



Phytochemical Constituents and Biological Properties of Active Fractions from *Silene conoidea* Root

Akram Taleghani^{*1} , Samira Eghbali², Roya Moghimi³

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran;

^{*}(Assistant Professor: Corresponding author: akramtaleghani@yahoo.com).

²Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

³Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

Citation:

Taleghani, A., Eghbali, S. & Moghimi, R. (2025). Phytochemical constituents and biological properties of active fractions from *Silene conoidea* root. *The quarterly scientific journal of applied biology*, Volume 38 (Issue No. 1), PP. 61-72.

Received: 2024.04.28

Accepted: 2024.09.30

Abstract

Introduction: *Silene conoidea* (family: *Caryophyllaceae*) as a rarely distributed edible weed in Iran, have medicinal properties such as insecticidal, antimicrobial, antibacterial and allelopathic effects.

Methods: This is the first report to investigate the phytochemical contents, phytochemical compounds and biological activities of six successive fractions (petroleum ether, chloroform, dichloromethane, ethyl acetate, methanol and water) obtained from root of species for natural new drug development.

Results: The methanol fraction of root exhibited a strong antioxidant activity than the BHT (IC₅₀: 11.61 ± 1.34 µg/ml). Also, chloroform and methanol fractions revealed moderate antimicrobial activity against bacterial strains with MIC values in range of 0.0625 ± 1.08 to 0.25 ± 0.21 mg/ml compared to gentamicin. The more active fractions (chloroform and methanol) were processed for bioactive compounds identification. Forty compounds representing 97.98 percent of the total composition were detected by GC-MS from the chloroform fraction of root. The main constituents were dominated by fatty acid derivatives (63.98 %), hydrocarbons (20.58 %) and terpene derivatives (6.82 %). The LC-ESI-MS study of methanol fraction reveals the presence of common composition groups, including flavonoids, steroids and triterpenoid saponins. Apigenin, diosmin, swertisin-2"-O-glucoside and hesperetin were identified as bioactive compounds.

Conclusion: The results of this study showed that *S. conoidea* root can be used in pharmaceutical and food industries.

Keywords: Biological Activities, GC-MS, LC-ESI-MS, Phytochemicals Profile, *Silene conoidea*

ترکیبات فیتوشیمیایی و خواص بیولوژیک فرکشن‌های فعال ریشه گیاه سیلن هرز (*Silene conoidea*)

اکرم طالقانی^{۱*}، سمیرا اقبالی^۲، رویا مقیمی^۳

^۱استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد، ایران.

^۲استادیار، گروه فارماکوتکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

^۳استادیار، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

(*)نویسنده مسئول: akramtaleghani@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۹

چکیده

مقدمه: سیلن هرز (*Silene conoidea*) (خانواده: میخکیان) به عنوان یک علف هرز خوراکی با پراکندگی کم در ایران دارای ویژگی دگرآسیبی یا آللوپاتی (Allelopathy) و خواص دارویی ضد میکروبی است.

روش‌ها: در این پژوهش برای اولین بار با هدف توسعه داروهای جدید با منشأ طبیعی، ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت‌های بیولوژیکی شش فرکشن متوالی (پترولیوم اتر، کلروفرم، دی کلرومتان، اتیل استات، متانول و آب) به دست آمده از ریشه این گونه بررسی شد.

یافته‌ها: فرکشن متانولی فعالیت آنتی اکسیدان قوی‌تری نسبت به BHT نشان داد (IC_{50} ۱/۳۴ ± ۱۱/۶۱ میکروگرم در میلی‌لیتر). همچنین، فرکشن‌های کلروفرم و متانول در مقایسه با جنتامایسین، فعالیت ضد میکروبی متوسطی را در برابر سویه‌های باکتریایی به ترتیب با مقادیر MIC در محدوده ۰/۶۲۵ تا ۰/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر نشان دادند. فرکشن‌های فعال تر (کلروفرم و متانول) برای شناسایی ترکیبات فعال زیستی آنالیز شدند. سی و شش ترکیب (۹۷/۹۸ درصد) توسط GC-MS از فرکشن کلروفرمی شناسایی شد. ترکیبات غالب این فرکشن مشتقات اسید چرب (۶۳/۹۸ درصد)، هیدروکربن‌ها (۲۰/۵۸ درصد)، ترپن‌ها (۶/۸۲ درصد) بودند. آنالیز LC-ESI-MS فرکشن متانولی، حضور ترکیبات از جمله فلاونوئیدها، استروئیدها و ساپونین‌های تری ترپنوئید را نشان داد. فلاونوئیدهای آپیتین، دیوسمین، سورتیزین گلیکوزید و هسپریدین به عنوان ترکیبات فعال زیستی شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه آنالیز ریشه گیاه سیلن هرز را به منظور استفاده در صنایع دارویی و غذایی نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: *Silene conoidea*، پروفایل ترکیبات فیتوشیمیایی، LC-MS، GC-MS، فعالیت بیولوژیک

مقدمه

غذای فراسودمند یا غذای عملکردی (Functional foods) می‌تواند به گیاهانی اطلاق شود که هم به‌عنوان سبزی و یا میوه به به دلیل ارزش غذایی مورد مصرف قرار می‌گیرند و هم از اندام‌های مختلف آن‌ها در طب عامیانه برای درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود [۱]. امروزه مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها بسیار رایج شده است، بنابراین گیاهان دارویی می‌توانند به‌عنوان عوامل ضد میکروبی جایگزین عمل کنند [۲]، [۳]. جنس سیلن *Silene* شامل علف‌های هرز، گونه‌های علفی و کشت شده به‌عنوان بزرگترین جنس از خانواده میخکیان (*Caryophyllaceae*)، با حدود ۷۰۰-۷۵۰ گونه یکساله، دو ساله و چند ساله در سراسر جهان به ویژه در مناطق معتدل مدیترانه/خاورمیانه و آسیای مرکزی پراکنده شده است [۴]، [۵]. علف هرز دارویی *Silene conoidea* L. به عنوان یک گیاه یک ساله معمولاً در مزارع کشاورزی در آسیای شمالی، جنوب شرقی اروپا، شمال آفریقا، هند و پاکستان یافت می‌شود [۶]، [۷]. ارتفاع این گیاه تا یک متر می‌رسد و دارای ساقه کرکدار است. طول برگ‌های نیزه ای شکل تا ۱۲ سانتی متر در نزدیکی پایه گیاه است. گل‌ها شامل پنج گلبرگ صورتی روشن در کاسه کرک دار با کاسبرگ‌هایی دارای رگه‌های زیاد محصور شده است [۸]. این گیاه خودرو به دلیل استفاده از علف‌کش‌ها به ندرت در نزدیکی مزارع کشاورزی یافت می‌شود، بنابراین حفاظت از این منبع گیاهی مهم است. در حال حاضر ظرفیت‌های درمانی بسیاری از گونه‌های سیلن تا حدی مورد توجه جامعه علمی در مورد مدیریت بیماری‌های غیرواگیر مانند بیماری آلزایمر، دیابت نوع دوم و بیماری‌های واگیر مانند بیماری‌های میکروبی و ویروسی قرار گرفته است [۹]. شواهد گیاه شناسی مردمی (Ethnobotanical) نشان می‌دهد که تعدادی از گونه‌های سیلن به عنوان غذا مصرف می‌شود و برای اهداف دارویی به عنوان تب بر، مسکن، ادرار آور و قی آور یا برای درمان سرماخوردگی، برونشیت، التهاب‌ها و عفونت‌ها استفاده می‌شود [۱۰]. گونه‌های این جنس دارای تنوع متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها، استروئیدها و ساپونین‌ها هستند [۱۰]. مطالعات کمی در مورد ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت بیولوژیک *S. conoidea* وجود دارد. مطالعات فیتوشیمیایی این گونه وجود فلاونوئیدها، فلاونوئید گلیکوزیدها، کینون‌ها، ساپونین‌ها، استرول‌ها، گلیکوزیدها و مواد معدنی را نشان می‌دهد [۱۱]. قسمت‌های مختلف *S. conoidea* به‌طور گسترده‌ای به عنوان داروی گیاهی استفاده می‌شود. این گیاه دارای اثرات حشره کش، ضد میکروبی، ضد باکتری، ضد قارچ و آلوپاتیک است. از اندام‌های هوایی برای تسکین سرفه و بند آوردن خونریزی زخم‌ها استفاده می‌شود. جوانه‌های این گیاه حاوی کربوهیدرات، پروتئین و ویتامین‌ها هستند. ریشه‌ها حاوی ساپونین بوده و به‌طور سنتی برای شستن مو، زخم و پارچه استفاده می‌شود. از عصاره آبی ریشه نیز در چشم پزشکی استفاده می‌شود [۱۱]، [۶]، [۷]. مطالعات کمی بر روی اندام ریشه این گیاه نسبت به سایر اندام‌ها صورت گرفته است. بنابراین در این مطالعه، شش فرکشن غیرقطبی تا قطبی اندام ریشه (پترولیوم اتر، کلروفرم، دی‌کلرومتان، اتیل استات، متانول و آب) به منظور ارزیابی فعالیت بیولوژیک و پروفایل ترکیبات فیتوشیمیایی با استفاده از کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنجی جرمی یونیزاسیون الکترواسپری و کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی مورد آنالیز قرار گرفتند. داده‌های گزارش شده در این مطالعه اهمیت گونه *S. conoidea* را برای تحقیقات آینده در توسعه داروهای جدید نشان می‌دهد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

حلال‌های پترولیوم اتر، کلروفرم و دی‌کلرومتان، از شرکت Scharlau اسپانیا، حلال‌های اتیل استات و متانول، دی متیل سولفوکساید (DMSO)، محیط کشت‌ها، جنتامایسین، فولین- سیوکالتو، استات پتاسیم، آلومینیوم کلراید و بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت Merck آلمان، اسید کافئیک، گالیک اسید و دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت Sigma آمریکا، کربنات سدیم و اسید کلریدریک ۱ درصد از شرکت دکتر مجللی ایران و میکروارگانیزم‌های/شریشی‌کلی (ATCC25922) و/استافیلوکوکوس/اورئوس (ATCC9144) از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. محلول‌های آبی نیز با استفاده از آب دیونیزه تهیه شد.

جمع‌آوری گیاه

ریشه‌های *S. conoidea* در زمان گلدهی از روستایی به نام کراب واقع در سبزوار، استان خراسان رضوی، ایران با مختصات جغرافیایی (36°21'55.6"N 57°30'04.2"E) در فروردین ماه سال ۱۴۰۲ جمع‌آوری و در هرباریوم دانشگاه گنبد کاووس شناسایی شد (کد هرباریوم: ۱۶۴۹) (شکل ۱).



شکل ۱- گونه *S. conoidea* و ریشه‌های این گونه

Figure 1- *S. conoidea* species and its roots

تهیه فرکشن‌ها

ریشه *S. conoidea* (۲۰ گرم) در هوای آزاد و در سایه خشک و پودر شد. سپس عصاره ریشه به طور متوالی با پترولیوم اتر (۳ × ۵۰ میلی لیتر)، کلروفرم (۳ × ۵۰ میلی لیتر)، دی کلرومتان (۳ × ۵۰ میلی لیتر)، اتیل استات (۳ × ۵۰ میلی لیتر)، متانول (۳ × ۵۰ میلی لیتر) و آب (۳ × ۵۰ میلی لیتر) در دمای اتاق استخراج شد. عصاره هر حلال تحت فشار کاهش یافته توسط روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد تغلیظ شد و به ترتیب ۰/۷۵، ۰/۱۹، ۰/۸۴، ۱/۶۵، ۱/۲۱ و ۰/۹۵ گرم عصاره خشک از هر فرکشن به دست آمد. این شش فرکشن برای آنالیز فیتوشیمیایی و بررسی خواص بیولوژیک مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی

ترکیبات فیتوشیمیایی فرکشن‌های پترولیوم اتر، کلروفرم، دی کلرومتان، اتیل استات، متانول و آب برای محتوای فنول کل (Total Phenol Content (TPC)، محتوای فلاونوئید کل (Total Flavonoid Content (TFC)، محتوای فنولیک اسید کل (Total Phenolic Acid Content (TPAC) و محتوای آنتوسیانین کل (Total Anthocyanin Content (TAC)) به ترتیب با روش‌های فولین سیکالتو (Follin-Ciocalte)، کلرید آلومینیوم، نیتريت سدیم-مولیبدات سدیم و سنجش pH مورد سنجش قرار گرفتند [12]. برای آنالیز TPC، ۰/۵ میلی لیتر از هر فرکشن با ۲ میلی لیتر سدیم کربنات (۷۵ گرم در لیتر) و ۲/۵ میلی لیتر از معرف فولین سیکالتو ۰/۲ نرمال مخلوط شد. سپس جذب محلول نهایی در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای TPC به عنوان میلی گرم گالیک اسید (GAE) در هر گرم عصاره خشک بیان شد.

برای آنالیز TFC، ۱ میلی لیتر از هر فرکشن با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر با ۴ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۳ میلی لیتر سدیم نیتريت ۵ درصد مخلوط شد و جذب محلول پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

محتوای TFC برای فرکشن‌های مختلف به صورت میلی گرم کوئرستین در هر گرم عصاره خشک بیان شد. حلال متانول به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

برای آنالیز TPAC، یک میلی لیتر از هر فرکشن با ۲ میلی لیتر هیدروکلراید (۰/۵ مولار)، ۲ میلی لیتر معرف آرنو (Arnow) (۱۰ گرم نیتريت سدیم و ۱۰ گرم مولیبدات سدیم با ۱۰۰ میلی لیتر آب مخلوط شد)، ۲ میلی لیتر سود NaOH (۸/۵ درصد وزنی)

مخلوط شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. تمام محلول‌های آماده شده حاوی معرف آرنو با محلول بدون معرف مقایسه شدند. محتوای TPAC به‌عنوان میلی گرم اسیدکافئیک در هر گرم عصاره خشک (mg CAE/g DE) بیان شد.

برای آنالیز TAC، محتوای آنتوسیانین فرکشن‌ها با روش تفاضلی pH اندازه‌گیری شد [13]. هر فرکشن با ۲۰ میلی لیتر بافر کلرید پتاسیم (۰/۰۲۵ مولار) با pH ۱ و بافر استات سدیم (۰/۴ مولار) با pH ۴/۵ مخلوط شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و سپس سانتریفیوژ شد (۷۰۰۰ دور در دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه). جذب هر کدام از فرکشن‌ها به روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر ثبت شد. غلظت کل آنتوسیانین با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$TA = A \times V / M$$

در این معادله TA (آنتوسیانین کل)؛ $(A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}}) \text{ pH } 4.5 - (A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}}) \text{ pH } 1.0$ ؛ A: حجم هر فرکشن (میلی لیتر) و M: وزن نمونه تازه (g).

فعالیت بیولوژیک

روش مهار رادیکال DPPH

فعالیت آنتی اکسیدانی فرکشن‌ها از طریق فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH (۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) ارزیابی شد [10]. غلظت‌های مختلف (۱۰ تا ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) هر فرکشن با ۵ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط شد. پس از ۱ ساعت انکوباسیون در تاریکی و دمای اتاق، جذب مخلوط واکنش با اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۱۵ نانومتر ثبت شد. درصد مهار رادیکال با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$I = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100 \text{ درصد}$$

که در آن A_{blank} جذب کنترل (حاوی تمام اجزای واکنش به جز نمونه) و A_{sample} جذب هر فرکشن است. غلظت فرکشنی که ۵۰ درصد مهار (IC_{50}) را فراهم می‌کند از نموداری محاسبه شد که درصد مهار را در برابر غلظت فرکشن‌ها ترسیم می‌کند. از آنتی اکسیدان مصنوعی BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد و تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

فعالیت ضد باکتریایی

دو میکروارگانیسم شامل باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 9144) و باکتری‌های گرم منفی (*شریشیا کلی* ATCC 25922) (*E. coli*) خریداری شده از مجموعه‌های میکروبی ایران، انستیتو پاستور ایران، برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی مورد استفاده قرار گرفتند. روش میکرودايلوشن با برخی تغییرات برای تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) با استفاده از پروتکل CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) فرکشن‌ها استفاده شد [14]. به‌طور خلاصه، برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده (Minimum Inhibition Concentration (MIC)، هر فرکشن در (۱۰) DMSO (درصد) حل و در محیط استریل Brain Heart Infusion (BHI) رقیق شد تا غلظت‌های ۰/۵ تا ۰/۰۳ میلی گرم در میلی لیتر به دست آید. در ادامه، ۵۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی به یک پلیت ۹۶ چاهک حاوی ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف فرکشن (۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۰۶۲۵، ۰/۰۳۱۲۵) در محیط رشد مناسب اضافه شد. سپس، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. MIC به عنوان حداقل غلظت فرکشن که رشد میکروبی را مهار می‌کند ثبت شد. برای تعیین حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)، ۹۰ میکرولیتر نمک بافر فسفات (PBS) به ۱۰ میکرولیتر از هر چاهک اضافه شد. ۱۰ میکرولیتر چاهک روی محیط BHI اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. غلظت‌های مختلف ۰/۱۲۵ تا ۰/۰۳ میلی گرم بر میلی لیتر جنتامایسین به‌عنوان کنترل مثبت با رقت‌های سریالی دو برابری تهیه شد. همچنین برای مشخص کردن تاثیر ضد میکروبی فرکشن‌ها از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام شد.

پرو فایل ترکیبات فیتوشیمیایی

کروماتوگرافی مایع طیف‌سنجی جرمی یونیزاسیون الکترواسپری

فرکشن دارای بهترین فعالیت بیولوژیکی برای شناسایی ترکیبات فعال زیستی توسط LC-ESI-MS (Quattro Micro API micromass Waters 2695) ساخت کشور آمریکا در مد منفی با مشخصات زیر آنالیز شد:

تجزیه‌گر جرمی (Mass Analyzer) دارای دو تجزیه‌گر متوالی جرمی چهار قطبی و کلوژن سل شش قطبی (Triplequadrupole) و آشکارساز (Transducer) دارای یون تکثیر کننده الکترون (Electron Multiplier). فرکشن متانولی (۵۰۰ ppm) بر روی ستون (Atlantis column, T3-C18, 2.1×150 mm, 3μ, Sigma-Aldrich, USA) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ۲۰ دقیقه با سرعت جریان ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه و حجم تزریق ۵ میکرولیتر تزریق شد. شستشوی گرادیان آب با ۰/۱ درصد اسید فرمیک (A) و استونیتریل با ۰/۱ درصد اسید فرمیک (B) به صورت (حجمی/حجمی) به شرح زیر استفاده شد: ۲-۰ دقیقه با ۱۰ درصد حلال B، ۱۰-۲ دقیقه ۹۰-۱۰ درصد حلال B، ۱۵-۱۰ دقیقه ۹۰ درصد حلال B، ۱۵-۱۸ دقیقه ۱۰-۹۰ حلال B و ۱۸-۲۰ دقیقه ۱۰ درصد حلال B. شرایط آنالیز MS به شرح زیر بود: سرعت جریان گاز نیتروژن ۳۰۰ لیتر در ساعت؛ دمای گاز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد (به‌عنوان تبخیر کننده حلال)؛ ولتاژ ۳/۵ کیلو ولت. محدوده جرمی از ۱۵۰ تا ۲۰۰۰ m/z انتخاب شد. شناسایی پیک‌های LC-MS و استخراج داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار تحلیل MZmine نسخه ۲/۳ انجام شد [15].

کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی

یک دستگاه کروماتوگراف گازی (Varian – Staturn 2200) متصل به یک دستگاه طیف سنج جرمی با آنالیزور Ion Trap ساخت کشور آمریکا برای برای آنالیز فرکشن کلروفرمی ریشه مورد استفاده قرار گرفت. یک میکرولیتر از فرکشن به دستگاه GC-MS در حالت تقسیم ۱: ۲۰ بر روی یک ستون HP-5، به طول ۳۰ متر و ضخامت ۰/۲۵ میلی متر (Technologies, J&W Scientific Agilent) تزریق شد. فاز متحرک شامل گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه بود. دمای آون از ۵۰ درجه سانتی‌گراد شروع و در مدت زمان ۶۰ دقیقه به ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه برنامه ریزی شد. ترکیبات براساس مقایسه طیف جرمی آن‌ها با طیف‌های NIST و پایگاه داده طیفی جرمی Wiley 7.0 در محدوده جرمی اسکن شده از ۵۰ تا ۵۵۰ amu شناسایی شد [16]، [17]، [18].

تحلیل‌های آماری

داده‌ها با استفاده از SPSS نسخه ۲۳ (شیکاگو، ایالات متحده آمریکا) آنالیز شد. همه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار در سه تکرار بیان شد. برای ارزیابی مقایسه‌های آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون‌های چندگانه دانکن استفاده شد. تفاوت‌های معنی‌دار ($p\text{-value} < 0.05$) در نظر گرفته شد.

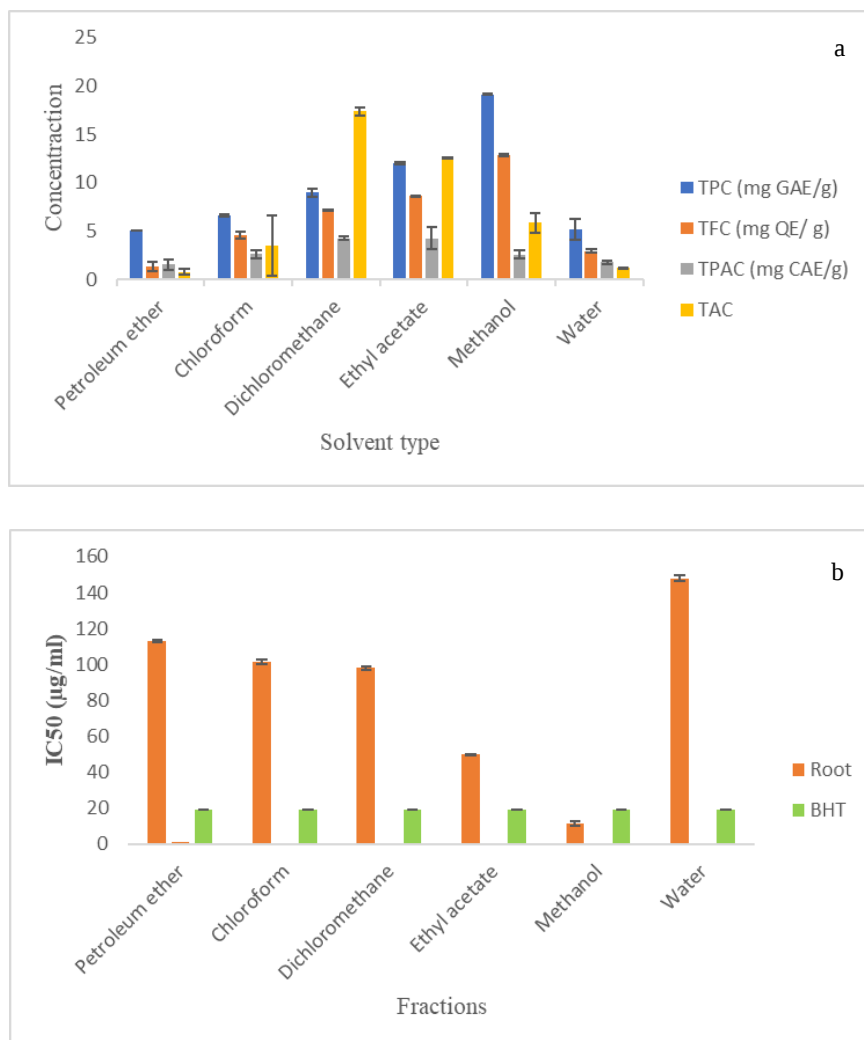
نتایج و بحث

ترکیبات فیتوشیمیایی، خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی

محتوی فنول کل، فلاونوئید و فنولیک اسید به ترتیب به‌عنوان اسید گالیک، کوئرستین و اسید کافئیک بیان شد. فرکشن متانولی حاوی بیشترین محتوی ترکیبات فنولی ($19/143 \pm 0/015$ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره خشک) و محتوی فلاونوئیدی ($12/856 \pm 0/150$ میلی گرم کوئرستین در هر گرم عصاره خشک (mg QE/g DE)) نسبت به سایر فرکشن‌ها بود، در حالی که غنی‌ترین ترکیبات آنتوسیانین و فنولیک اسید در به ترتیب در فرکشن‌های اتیل استات $4/270 \pm 0/173$ میلی گرم در هر گرم عصاره خشک و دی کلرومتان $17/373 \pm 0/386$ میلی گرم کافئیک اسید در هر گرم عصاره خشک (mg CAE/g DE) تعیین شد. نتایج در شکل ۲a نشان داده شده است. در منابع ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل در عصاره متانولی اندام هوایی این گونه به ترتیب

۰/۰۹ ± ۲۵/۸ میلی گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره و ۰/۲ ± ۳۵/۸ میلی گرم روتین در گرم عصاره گزارش شده است [9]. با توجه به پیشینه تحقیق، هیچ گزارشی در مورد ترکیبات فیتوشیمیایی ریشه این گونه وجود ندارد.

فعالیت آنتی اکسیدانی تمام فرکشن‌ها با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شد. همانطور که در شکل ۲b مشاهده می‌شود فرکشن متانولی با IC_{50} ۰/۰۷ ± ۱۱/۶۱ میکروگرم بر میلی لیتر فعالیت مهار کننده بهتری نسبت به سایر فرکشن‌ها و BHT (۰/۰۹ ± ۱۹/۳) نشان داد. تحقیقات کمی در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی این گونه با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شده است. طبق مطالعه انجام شده توسط Zengin و همکاران، عصاره متانولی اندام‌های هوایی این گونه نسبت به سایر گونه‌های سیلن فعالیت بهتری نشان داد (۱ ± ۱۳۱ میلی گرم ترلوکس در هر گرم عصاره) [9].



شکل ۲- مقدار ترکیبات فیتوشیمیایی فرکشن‌های مختلف ریشه سیلن هرز (a) و فعالیت آنتی اکسیدانی فرکشن‌ها (b)
Figure 2- Phytochemical compounds content of different fractions of *S. conoidea* root (a) and the antioxidant activity of fractions (b)

فعالیت ضد باکتریایی فرکشن‌ها در برابر یک باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس/ اورئوس و یک باکتری گرم منفی /شریشیاکلی با تعیین مقادیر MIC و MBC آنها ارزیابی شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که تمام فرکشن‌ها تاثیر مثبتی در مهار این دو باکتری دارند. فرکشن‌های کلروفرم و متانول نسبت به سایر فرکشن‌ها مؤثرتر بودند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که مقادیر MIC و MBC در محدوده ۰/۰۶۲۵ تا ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر در برابر هر دو سویه باکتری وجود دارد. MIC برای فرکشن کلروفرمی در برابر /استافیلوکوکوس/ اورئوس (۰/۰۶۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) نسبت به /شریشیاکلی (۰/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) مؤثرتر بود. بنابراین، فعالیت ضد باکتریایی را می‌توان با ترکیبات ترپنوئید، فنول و فلاونوئیدها مرتبط دانست. در مطالعه Zengin و همکاران، پتانسیل ضد باکتریایی عصاره متانولی اندام هوایی این گونه را علیه اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس با مقادیر MIC به ترتیب ۰/۱۸ و

۰/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر گزارش کردند [9]. اثر مهاري آنتی بیوتیک جنتامایسین بر روی هر دو سویه باکتری تا غلظت ۰/۳ میلی گرم در میلی لیتر تعیین شد که اثربخشی جنتامایسین را به عنوان کنترل مثبت نشان می‌دهد.

جدول ۱- کمترین غلظت مهاري (MIC) و کمترین غلظت کشندگی (MBC) فرکشن‌های ریشه بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا بر حسب میلی گرم در میلی لیتر

Table 1- The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of root fractions against pathogenic bacteria (mg/ml)

Fractions		Petroleum ether	Chloroform	Dichloromethane	Ethyl acetate	Methanol	Water
<i>Staphylococcus aureus</i>							
Root	MIC	0.25	0.0625	0.5	0.5	0.125	-
	MBC	0.25	0.125	0.5	-	0.25	-
Gentamicin	MIC		0.031				
	MBC		0.062				
<i>Escherichia coli</i>							
Root	MIC	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25
	MBC	0.5	0.25	-	-	0.5	-
Gentamicin	MIC		0.031				
	MBC		0.125				

- : No activity observed

علامت - : هیچ فالیته مشاهده نشد.

آنالیزهای کروماتوگرافی مایع-طیف سنج جرمی (LC-MS) و کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی (GC-MS)

گیاهان حاوی طیف وسیعی از ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که با استفاده از حلال‌های مختلف غیر قطبی تا قطبی می‌توان انواع این ترکیبات را استخراج کرد. همچنین برای شناسایی و آنالیز ترکیبات استخراج شده از گیاهان برحسب نوع ترکیبات استخراج شده روش‌های مختلفی وجود دارد. یکی از انواع تکنیک‌های دستگاهی جهت شناسایی ترکیبات (LC-MS) و (GC-MS) می‌باشد. از کروماتوگرافی گازی می‌توان برای شناسایی ترکیبات غیرقطبی در فرکشن‌های غیرقطبی مانند کلروفرمی استفاده کرد. همچنین از کروماتوگرافی مایع برای شناسایی ترکیبات قطبی در فرکشن‌های قطبی مانند متانولی استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر، LC-ESI-MS و GC-MS بر روی فرکشن‌هایی با بهترین خواص بیولوژیکی برای یافتن ترکیبات بالقوه مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی انجام شد. آنالیزهای فیتوشیمیایی فرکشن فعال (متانولی) با تطبیق شکست‌های جرمی ($[M-]$ ، $[2M-H]^-$ ، $[2M]^-$ ، $[M-H]^-$) با $[M-2H + Na]^-$ و $[M-2H + K]^-$ ، وزن‌های مولکولی و مقایسه طیف‌های MS با داده‌های مطالعات قبلی در مورد سایر گونه‌های سیلین گزارش شد. پروفایل متابولیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار MZmine برای استخراج m/z و شدت هر ترکیب (پیک) به دست آمد. در مطالعه ما، بیشتر ترکیبات شناسایی شده فلاونوئیدها و به دنبال آن استروئیدها، اسیدهای فنولیک، ساپونین تری ترپنوئید و کومارین بودند. فرکشن‌های متانولی با تعیین ۳۱ ترکیب شامل ۲ اسید هیدروکسی سینامیک، ۱ کومارین، ۲ فلاونول، ۱۴ فلاون، ۲ فلاونون، ۱ فلاون-۳-ال، ۶ استروئید، ۲ تری ترپنوئید آنالیز شدند (جدول ۲) و (فایل تکمیلی: جدول S1 و شکل S1). تمام ترکیبات شناسایی شده برای اولین بار از ریشه این گونه گزارش شد. از میان این ترکیبات هسپریدین، ویتکسین رامنوپیرانوزیل، کامفرول و آپیزنین از اندام‌های هوایی این گونه در مطالعات قبلی گزارش شده است [9]، [11]، در حالی که سایر ترکیبات از برگ، ریشه و اندام‌های هوایی گونه‌های دیگر سیلین شناسایی شده است [9]، [10]. تمام مقالات علمی منتشر شده در مورد ترکیبات شناسایی شده در هر گونه در جدول ۲ فهرست شده است. فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی این گونه مطابق با مقدار فلاونوئیدهای آپیزنین، دیوسمین، سورتیزین گلیکوزید و هسپریدین در محدوده شدت یون E^n از $3/1 E^6$ تا $1/5 E^5$ است. فعالیت بیولوژیکی این ترکیبات قبلاً توسط بسیاری از محققان هم در شرایط برون تنی (In vitro) و درون تنی (In vivo) گزارش داده شده است [19]، [20]، [21]، [22]، [23]. نمونه ای از کروماتوگرام یونی استخراج شده (XIC) و اداکت‌های جرمی مربوط به آن در شکل ۳ و فایل تکمیلی شکل S2 نشان داده شده است.

جدول ۲- شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی در فرکشن متانولی ریشه سیلن هرز با استفاده از گروماتوگرافی مایع-طیف سنج جرمی

Table 2- Identification of phytochemical compounds in the methanolic fraction of *S. conoidea* root using liquid chromatography-mass spectrometry

NO.	Compounds	Classification	[M-H] ^b (m/z)	Rt ^c / Intensity (En)	Parts reported in literature ^a	Ref.
1	Chlorogenic acid	Hydroxycinnamic acid	353	0.25/1.3E5	AP	[9], [24]
2	Vanillic acid hexoside	Hydroxycinnamic acid	285	1.69/1.4E5	L	[25]
3	Esculin	Coumarin	339	1.75/6E4	L	[26]
4	Rutin	Flavonol	609	2.68/1.4E5	AP	[24], [27]
5	Luteolin-3', 7-di-O glucoside	Flavone	609	2.90/1.4E5	L	[26]
6	Orientin-2"-O-glucoside	Flavone	609	3.17/1.4E5	AP	[28]
7	Diosmin	Flavone	607	3.62/2.8E5	L	[26]
8	Hesperidin	Flavanone	609	4.99/1.4E5	AP*	[9], [24]
9	Swertisin-2"-O-glucoside	Flavone	607	6.75/2.8E5	L, R	[29]
10	Vitexin-2"-O-rhamnoside	Flavone	577	7.32/1.1E5	AP	[28]
11	Isovitexin-2"-O-rhamnoside	Flavone	577	13.04/1.1E5	AP	[28]
12	Vitexin 4"-Rhamnopyrasnosyl	Flavone	577	7.75/1.1E5	AP*	[30]
13	Apigenin-7-O-glucoside	Flavone	431	10.43/1.1E5	L	[26]
14	Vitexin	Flavone	431	11.29/1.1E5	AP	[10]
15	Isovitexin	Flavone	431	11.61/1.1E5	L, R	[10]
16	Neovitexin	Flavone	431	12.12/1.1E5	AP	[10]
17	Isonoevitexin	Flavone	431	12.28/1.1E5	AP	[10]
18	Quercetin	Quercetin	301	12.85/1.5E5	AP	[10]
19	Luteolin	Flavone	285	13.19/1.4E5	AP	[24], [27]
20	Kaempferol	Flavonol	285	13.51/1.4E5	AP*	[10]
21	Hesperetin	Flavanone	301	14.32/1.5E5	AP	[9], [27]
22	Apigenin	Flavone	269	14.95/1.3E6	AP*	[10]
23	Procyanidin B1	Flavan-3-ol	577	15.45/1.1E5	R	[25]
24	Sileneoside H	Steroid	803	15.71/1.1E5	AP	[10]
25	Sileneoside B	Steroid	803	16.12/1.1E5	AP	[10]
26	Sileneoside F	Steroid	625	16.93/1.2E5	AP	[10]
27	Sileneoside E	Steroid	609	17.27/1.4E5	AP	[10]
28	Sileneoside C	Steroid	657	17.85/1.1E5	AP	[10]
29	2-Deoxyecdysone-22- Glucoside	Steroid	609	18.16/1.4E5	AP	[10]
30	Gypsogenin 3-O-glucuronide	Triterpenoid saponin	659	18.69/1.1E5	AP	[10]
31	Sinocrassulose X	Triterpenoid saponin	1408	19.94/9.7E4	AP	[10]

a اندام‌های گزارش شده از دیگر گونه‌های *Silene* (*Silene* spp.) براساس مطالعات گذشته. برگ (L)، ریشه (R) و اندام هوایی (AP)

b آنالیز کروماتوگرافی مایع-طیف سنج جرمی در مد منفی

c زمان بازداری

* ترکیبات شناسایی شده از گونه *S. conoidea* در منابع

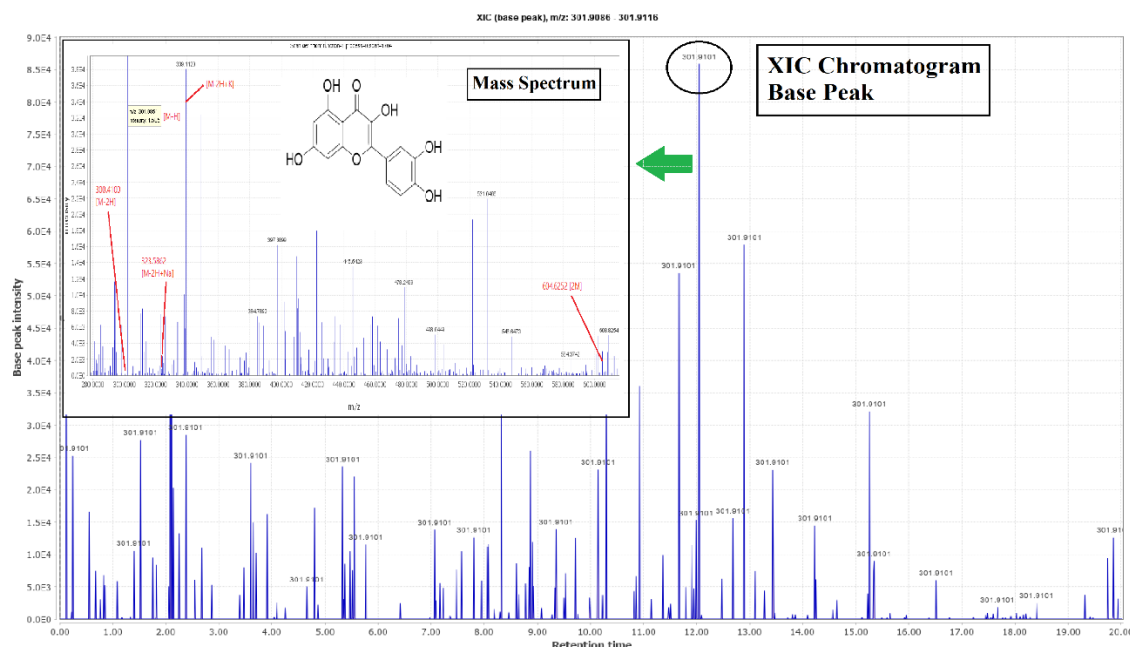
a Reported parts from other *Silene* species (*Silene* spp.) based on the previous literature sources; leaf (L), root (R) and arial part (AP).

b LC-ESI-MS in the negative ion mode

c Retention time

* Identified phenolic compounds in different parts of *S. conoidea* in previous works.

همچنین در این مطالعه آنالیزهای فیتوشیمیایی فرکشن فعال کلروفرمی با استفاده از GC-MS انجام شد شکل ۴. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، سی و شش ترکیب (۹۷/۹۸ درصد) از ترکیبات شناسایی شدند. گروه‌های ترکیبات اصلی به ترتیب شامل مشتقات اسید چرب (۶۳/۹۸ درصد)، هیدروکربن‌ها (۲۰/۵۸ درصد)، ترپن‌ها (۶/۸۲ درصد)، هتروسیکل‌ها (۳/۰۲ درصد)، مشتقات سیلان (۰/۷۳ درصد) و ترکیبات متفرقه (۱/۴۰ درصد) شناسایی شدند. ترکیبات اصلی عبارتند از: اسید پالمیتیک (۸/۴۳ درصد)، ۱،۲ در اتیل-سیکلوهگزادکان (۶/۰۴ درصد)، نیوفتالین (۴/۶۵ درصد) و متیل لینولنات (۴/۱۱ درصد). تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی آنالیز GC-MS این گونه گزارش نشده است.

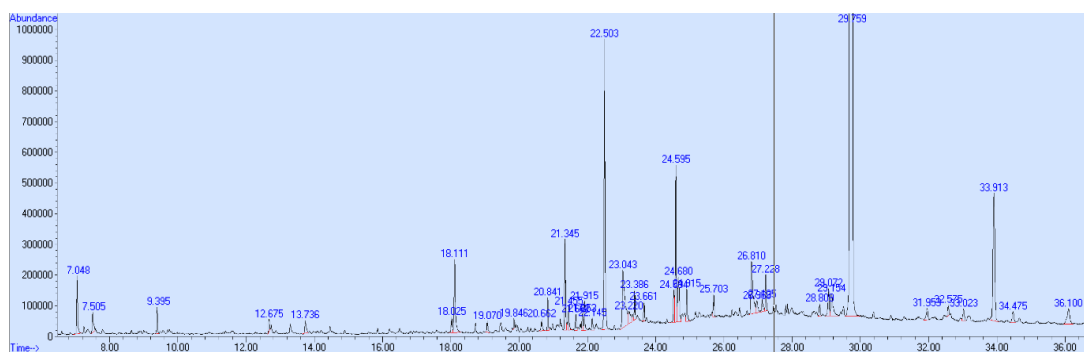


شکل ۳- کروماتوگرام یونی استخراج شده (XIC) کوئرسیتین و اداکت‌های یونی مربوطه، $[M-H]^-$ در m/z ۳۰۱/۹۱
Figure 3- Extracted ion chromatogram (XIC) of quercetin and corresponding mass adducts, $[M-H]^-$, at m/z 301.91

جدول ۳- درصد ترکیبات شناسایی شده در فرکشن کلروفرمی ریشه گیاه سیلن

Table 3- The percentage of compounds identified in the chloroform fraction of the *S. conoidea*

Percentage (%)	Compounds	Percentage (%)	Compounds	Percentage (%)	Compounds	Percentage (%)	Compounds
0.90	Methyl arachidate	1.47	Eicosane	1.54	Octadecane	3.32	2-Heptenal, (E) (trans)-
1.88	1H-Indene, 5-butyl-6-hexyloctahydro	8.43	Palmitic Acid	4.65	Neophytadiene	1.40	Cyclopentanol, 2-chloro-, trans-
0.73	Tridecanoic acid, 2-ethyl-2-methyl-, ethyl ester	0.87	Isopropyl palmitate	6.04	Cyclohexadecane, 1,2-diethyl-	1.27	Iso-Amyl butyrate
3.02	n-Tetracosanol-1	8.86	Methyl linoleate	1.30	Phytone	0/6	2-Decenal, (E)-
1.09	Heptacosane	4.11	Methyl linolenate	1.69	Bicyclo[4.1.0]heptane, 3-methyl	0.94	2,4 Decadienal
1.09	2-Octene	1.13	Docosane	0.88	Phytol	0.96	Hexadecane
1.98	Sebacic acid, di (2-propylpentyl) ester	1.81	Methyl stearate	0.75	Nonadecane	0.67	2-Methyl-6,7-methylenedioxy-4[1H]quinolone
1.11	Dimethyl-flubendazole	0.12	Octadecane, 1-chloro	1.14	Methyl palmitate	0.42	Methyl n-tetradecanoate
2.41	Nonacosane	1.24	1-Methylcyclohexene oxide	1.44	Desoxy-dihydroestrone	0.73	2-Ethylhexanoic acid, TMS (trimethylsilyl ester)
Percentage of major Compound Groups							
Hydrocarbon derivatives	Fatty acid derivatives	Terpene derivatives	Steroids	Heterocycle derivatives	Silane derivatives	Miscellaneous	Total Identified %
20.58 %	63.98 %	6.82 %	1.44 %	3.02%	0.73 %	1.40 %	97.98 %



شکل ۴- کروماتوگرام گازی-طیف سنج جرمی فرکشن کلروفرمی ریشه سیلن هرز

Figure 4- Gas chromatogram-mass spectrometer of the chloroform fraction of *S. conoidea* root

نتیجه گیری

در این مطالعه برای اولین بار ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت بیولوژیک شش فرکشن غیرقطبی تا قطبی (پترولیوم اتر، کلروفرم، دی کلرومتان، اتیل استات، متانول و آب) و آنالیز LC-MS و GC-MS فرکشن‌های فعال بیولوژیک (متانولی و کلروفرمی) ریشه گونه *S. conoidea* گزارش شد. در آنالیز LC-MS ترکیبات آپیژنین، دیوسمین، سورتیزین گلیکوزید و هسپریدین و در آنالیز GC-MS ترکیبات اسید پالمیتیک، ۱،۲-دی اتیل-سیکلوهگزادکان، نئوفتادین و متیل لینولات به عنوان ترکیبات فیتوشیمیایی اصلی شناسایی شدند. این ترکیبات می‌توانند به عنوان عوامل بالقوه آنتی باکتریال و آنتی اکسیدان در مطالعات آتی در نظر گرفته شوند.

اعلام تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه گنبد کاووس و پژوهشکده شیمی و مهندسی شیمی به خاطر مساعدت در استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

- [1] Ramalingum, N. & Mahomoodally, M. (2014). The therapeutic potential of medicinal foods. *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.*, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2014/354264>
- [2] Akhtar, M.S., Hossain, M.A. & Said, S.A. (2017). Isolation and characterization of antimicrobial compound from the stem-bark of the traditionally used medicinal plant *Adenium obesum*. *J. tradit. complement. med.* 7 (3), 296-300. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.08.003>
- [3] Mahomoodally, M.F. & Dilmohamed, S. (2016). Antibacterial and antibiotic potentiating activity of *Vangueria madagascariensis* leaves and ripe fruit pericarp against human pathogenic clinical bacterial isolates. *J. Tradit. Med. Complement. Ther.* 6 (4), 399-403. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.09.002>
- [4] Greuter, W. (1995). *Silene* (Caryophyllaceae) in Greece: a subgeneric and sectional classification. *Taxon*, 44 (4), 543-581. <https://doi.org/10.2307/1223499>
- [5] Hoseini, E., Ghahremaninejad, F., Assadi, M. & Edalatiyan, M.N. (2017). Seed micromorphology and its implication in subgeneric classification of *Silene* (Caryophyllaceae, Sileneae). *Flora*, 228, 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.01.006>
- [6] Khoshoo, T. & Bhatia, S. (1963a). Cytology of some *Rubiaceae* of the north-western Himalayas, Proceedings/Indian Academy of Sciences. Springer India New Delhi, 36-44.
- [7] Khoshoo, T.N. & Bhatia, S. (1963b). Cytogenetical approach to the taxonomy of *Silene conoidea-conica* complex, Proceedings/Indian Academy of Sciences. Springer, 368-378. <https://doi.org/10.1007/BF03052062>
- [8] Eggens, F., Popp, M., Nepokroeff, M., Wagner, W.L. & Oxelman, B. (2007). The origin and number of introductions of the Hawaiian endemic *Silene* species (Caryophyllaceae). *Am. J. Bot.* 94 (2), 210-218. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.2.210>

- [9] Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Aktumsek, A., Ceylan, R., Uysal, S., Mocan, A., Yilmaz, M.A., Picot-Allain, C.M.N., Ćirić, A. & Glamočlija, J. (2018a). Functional constituents of six wild edible *Silene* species: A focus on their phytochemical profiles and bioactive properties. *Food Biosci.*, 23, 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.03.010>
- [10] Mamadalieva, N.Z., Lafont, R. & Wink, M. (2014). Diversity of secondary metabolites in the genus *Silene* L. (*Caryophyllaceae*)—Structures, distribution, and biological properties. *J. Divers.*, 6 (3), 415-499. <https://doi.org/10.3390/d6030415>
- [11] Ullah, F., Ayaz, A., Saqib, S., Zaman, W., Butt, M.A. & Ullah, A. (2019). *Silene conoidea* L.: A Review on its systematic, ethnobotany and phytochemical profile. *Plant Sci. Today*, 6 (4), 373-382. <https://doi.org/10.14719/pst.2019.6.4.571>
- [12] Mahmoodi, S., Taleghani, A., Akbari, R. & Mokaber-Esfahani, M. (2022). *Rhamnus pallasii* subsp. *sintenisii* fruit, leaf, bark and root: Phytochemical profiles and biological activities. *Arab. J. Chem.* 15 (7), 103924. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103924>
- [13] Taghavi, T., Patel, H., Akande, O.E. & Galam, D.C.A. (2022). Total anthocyanin content of strawberry and the profile changes by extraction methods and sample processing. *Foods*, 11 (8), 1072. <https://doi.org/10.3390/foods11081072>
- [14] Wiegand, I., Hilpert, K. & Hancock, R.E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat. Protoc.*, 3 (2), 163-175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- [15] Pluskal, T., Castillo, S., Villar-Briones, A. & Orešič, M. (2010). MZmine 2: modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. *BMC Bioinformatics*, 11 (1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-395>
- [16] Adams, R.P. (2017). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. Gruver, TX USA: Texensis Publishing.
- [17] Davies, N., (1990). Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. *J. Chromatogr., A*, 503, 1-24. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)81487-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)81487-4)
- [18] Masada, Y. (1976). Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 14 (11), 17A. <https://doi.org/10.1093/chromsci/14.11.17A-a>
- [19] Lam, K.Y., Ling, A.P.K., Koh, R.Y., Wong, Y.P. & Say, Y.H. (2016). A review on medicinal properties of orientin. *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.*, 4104595. <https://doi.org/10.1155/2016/4104595>
- [20] Al-Dhabi, N.A., Valan Arasu, M., Park, C.H. & Park, S.U., (2015). An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *EXCLI J.*, 14, 59-63. <https://doi.org/10.17179/excli2014-663>
- [21] Mamadalieva, N.Z. (2012). Phytoecdysteroids from *Silene* plants: distribution, diversity and biological (antitumour, antibacterial and antioxidant) activities. *Bol. latinoam. Caribe Plantas Med. Aromát.*, 11 (6), 474-497.
- [22] Manzoor, M.F., Ahmad, N., Ahmed, Z., Siddique, R., Zeng, X.A., Rahaman, A., Muhammad Aadil, R. & Wahab, A. (2019). Novel extraction techniques and pharmaceutical activities of luteolin and its derivatives. *J. Food Biochem.*, 43 (9), e12974. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12974>
- [23] Parhiz, H., Roohbakhsh, A., Soltani, F., Rezaee, R. & Iranshahi, M. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytother. Res.*, 29 (3), 323-331. <https://doi.org/10.1002/ptr.5256>
- [24] Zengin, G., Rodrigues, M.J., Abdallah, H.H., Custodio, L., Stefanucci, A., Aumeeruddy, M.Z., Mollica, A., Rengasamy, K.R. & Mahomoodally, M.F. (2018b). Combination of phenolic profiles, pharmacological properties and in silico studies to provide new insights on *Silene salsuginea* from Turkey. *Comput. Biol. Chem.*, 77, 178-186. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.10.005>
- [25] Mohti, H., Taviano, M.F., Cacciola, F., Dugo, P., Mondello, L., Zaid, A., Cavò, E. & Miceli, N. (2020). *Silene vulgaris* subsp. *macrocarpa* leaves and roots from morocco: Assessment of the efficiency of different extraction techniques and solvents on their antioxidant capacity, brine shrimp toxicity and phenolic characterization. *Plant Biosyst.*, 154 (5), 692-699. <https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1674404>
- [26] Mahmoud, S., Hassan, A., Abu El Wafa, S.A. & Mohamed, A.E.-S. (2021). UPLC-MS/MS profiling and antitumor activity of *Silene succulenta* Forssk. Growing in Egypt. *Azhar nt. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 1 (2), 58-62. <https://doi.org/10.21608/aijpms.2021.57206.1039>
- [27] Hussein, I.A., Srivedavyasari, R., Atef, A., Mohammad, A.-E.I. & Ross, S.A. (2020). Chemical constituents from *Silene schimperiana* Boiss. belonging to *Caryophyllaceae* and their chemotaxonomic significance. *Biochem. Syst. Ecol.*, 92, 104113. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104113>
- [28] Olennikov, D. (2019). Ecdysteroids, flavonoids, and phenylpropanoids from *Silene nutans*. *Chem. Nat. Compd.* 55 (1), 127-130. <https://doi.org/10.1007/s10600-019-02632-8>
- [29] Kashchenko, N.I., Olennikov, D.N. & Chirikova, N.K., (2021). Phytohormones and elicitors enhanced the ecdysteroid and glycosylflavone content and antioxidant activity of *Silene repens*. *Appl. Sci.*, 11 (23), 11099. <https://doi.org/10.3390/app112311099>
- [30] Ali, Z., Ahmad, V.U., Ali, M.S., Iqbal, F., Zahid, M. & Alam, N. (1999). Two new C-glycosylflavones from *Silene conoidea*. *Nat. Prod. Res.*, 13 (2), 121-129. <https://doi.org/10.1080/10575639908048832>