Research Article

Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research DOI: 10.22092/ijrfpbgr.2025.367646.1468

Vol. 32, No. 2, Page 170-183 (2025)

Phytochemical Evaluation of Leaf Extract from Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) in Various Habitats of Iran

Mansoureh Sedaghati [1*], Mohammad Hasan Assare[2], Ali Ammarellou [3], Seyed Mohsen Hesamzadeh-Hejazi[4], Mohammad Ali Ebrahimi [5], Hamid Sobhanian [6]

1* - Corresponding author, Researcher, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: sedaghati2012@gmail.com.
2- Prof., Seed and Plant Certification and Registration Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3- Assoc. Prof., New Biotechnology Research Institute, Zanjan University, Zanjan, Iran
4- Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
5- Prof., Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
6- Assist. Prof., Faculty of Science, Payame-Noor University, Tehran, Iran.

Received: 13/11/2024 Revised: 31/10/2024 Accepted: 01/02/2025

Abstract

Background and Objectives

Urtica dioica (stinging nettle) is a dioecious plant that has received significant attention in traditional medicine and pharmacology due to its unique medicinal compounds. Several species of nettle exist, with three species of particular medicinal interest found in Iran. The large nettle (*Urtica dioica* L.) is recognized as the main medicinal species because its leaves contain medicinal compounds. The ideal time for harvesting and collecting its leaves in the field is from May to September. The most critical phytochemical compounds of this plant are caffeic acid, gallic acid, vanillic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, and synergic acid. This research could enhance the understanding of medicinal and economic values of large nettle and provide strategies for its optimal utilization. This study aimed to investigate, identify, and compare the quality and quantity of the main compounds in large nettle across various habitats.

Materials and Methods

In this research, five distinct habitats were selected in Iran, and the plant samples were taken to investigate the phytochemical compounds in *Urtica dioica*. During the growth season, at the flowering stage, appropriate shoots from *Urtica dioica* were collected in five habitats from the provinces of Zanjan (Zanjan 1 and 2), Mazandaran (Amol), Gilan (Lahijan), and Tehran (National Botanical Garden of Iran). Plant samples were taken randomly in three replicates at short intervals during peak sunlight hours to preserve sample quality. To measure the phenolic compounds, a hydroalcoholic extract was prepared using the Folin-Ciocalteu reagent and analyzed with UV-Vis spectrophotometer and the secondary metabolites were detected using HPLC. The obtained data were subjected to one-way ANOVA for total phenol content and phenolic compounds, and Duncan's multiple range test was employed for comparison between habitats. Statistical analysis was conducted using SAS 9 software and Excel 2016 software.

Copyright: © 2025 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijrfpbgr.areeo.ac.ir//) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Results

The highest total phenol content with a value of 0.25 mg/g DW of Caffeic acid was obtained in the National Botanical Garden sample, which significantly differed from other regions, indicating a higher antioxidant capacity of this sample than the other ones in producing phenolic compounds. The result of HPLC analysis showed the highest values of Gallic acid (4.1 mg/g DW) was found in Zanjan 2, Vanillic acid (1.67 mg/g DW) in Lahijan, and Caffeic acid (12 mg/g DW) in Amol. Both Ferulic acid (30 mg/g DW) and Chlorogenic acid (117 mg/g DW) were obtained in the National Botanical Garden sample, which were significantly higher than those for other locations. Also, the higher value of Syringic acid (16.3 mg/g DW) was obtained in the National Botanical Garden sample, but it had no significant differences with the other habitats.

Conclusion

Finally, the results of this study indicate a variation in the production of phytochemical compounds of *Urtica dioica* in different habitats. This variation in the amount of production can be related to various factors such as environmental conditions, soil type, humidity, temperature, and even harvesting time. Since the amounts of total phenols in the leaf extract of Nettles from the National Botanical Garden of Iran were significantly different from other habitats, it can be said that these samples have higher antioxidant properties than other habitats studied. On the other hand, the high amount of total phenols in this habitat can indicate the cultivation conditions of this plant, including irrigation, fertile soil, pest control, and also sunlight on more days of the year, all of which affect the quality and concentration of phenolic compounds. In any case, to standardize extraction and analysis processes to ensure the quality and efficacy of final pharmaceutical and industrial products, attention to this plant is essential. Moreover, public awareness and training for farmers regarding the cultivation and harvesting of *Urtica dioica* can enhance the quality and quantity of its production.

Keywords: Antioxidant Capacity, Caffeic acid, Gallic acid, Nettle, Total phenol.

ارزیابی فیتوشیمیایی عصاره برگ گزنه درشت (*Urtica dioica* L.) در بعضی از رویشگاه‌های ایران

منصوره صداقتی[1*]، محمدحسن عصاره[2]، علی عمارلو[3]، سیدمحسن حسام‌زاده[4]، محمدعلی ابراهیمی[5] و حمید سبحانیان[6]

۱*- نویسنده مسئول، محقق، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
پست‌الکترونیک: sedaghati2012@gmail.com

۲ - استاد، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳ - دانشیار، پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

٤ - دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

٥ - استاد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

٦ - استادیار، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

دریافت: ۱٤۰۳/۰۸/۲۳ اصلاحات نهایی: ۱٤۰۳/۱۰/۱۷ پذیرش: ۱٤۰۳ /۱۱/۱۳

چکیده

سابقه و هدف:

گزنه گیاهی دوپایه است که به دلیل ترکیبات مؤثره و خواص دارویی ویژه‌اش، در طب سنتی و داروسازی مورد توجه قرار گرفته است. گزنه دارای گونه‌های متعددی است که سه گونه عمده آن از نظر دارویی مورد توجه بوده و در ایران نیز یافت می‌شوند. گزنه درشت با نام علمی *Urtica dioica* L.، به عنوان گونه دارویی شناخته می‌شود و برگ‌های آن دارای ترکیبات دارویی است. بهترین زمان برداشت و جمع‌آوری برگ‌ها از اردیبهشت تا شهریورماه است. از مهمترین ترکیبات فیتوشیمیایی این گیاه می‌توان به کافئیک اسید، گالیک اسید، وانیلیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید و سینرژیک اسید اشاره کرد. اجرای این تحقیق می‌تواند به درک بهتر ارزش‌های دارویی و اقتصادی گزنه درشت کمک کند و راهکارهایی برای استفاده بهینه از این گیاه ارائه دهد. هدف از این مطالعه، شناسایی و مقایسه کمیت و کیفیت ترکیبات فیتوشیمیایی در گزنه درشت در پنج رویشگاه متفاوت بود.

مواد و روش‌ها

پنج رویشگاه متمایز برای بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی گزنه انتخاب شدند. به همین منظور در فصل رشد در مرحله گلدهی، سرشاخه‌های مناسب از گزنه‌های پنج رویشگاه از استان‌های زنجان (زنجان ۱ و ۲)، مازندران (آمل)، گیلان (لاهیجان) و تهران (باغ ملی گیاه‌شناسی ایران) جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها در یک فاصله زمانی کوتاه از اندام‌های هوایی گیاهان در ساعات اوج تابش خورشید در سه تکرار به صورت تصادفی برداشت شدند، تا کیفیت آنها حفظ شود. به منظور سنجش محتوای ترکیبات فنلی، عصاره هیدروالکلی تهیه شد و با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis) و به‌منظور شناسایی ترکیبات فنلی خاص از دستگاه HPLC استفاده شد. نتایج داده‌های آزمایشگاهی برای محتوای کل فنل و ترکیبات فنلی خاص، مورد تجزیه واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند و برای مقایسه بین رویشگاه‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. برای تحلیل آماری از نرم‌افزار SAS9 و برای رسم نمودارها از Excel2016 استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان داد بیشترین مقدار فنل تام، با ۰/۲۵ میلی‌گرم اسید کافئیک بر گرم وزن خشک به نمونه‌های باغ ملی گیاه‌شناسی تعلق

Copyright: © 2025 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijrfpbgr.areeo.ac.ir//) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

داشت که نشان‌دهنده میزان بالای آنتی‌اکسیدانی این نمونه نسبت به سایر نمونه‌ها در تولید ترکیبات فنلی بود. نتایج آنالیز HPLC، نشان داد که بیشترین میزان اسید گالیک (۴/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در زنجان ۲، اسید وانیلیک (۱/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در لاهیجان، اسید کافئیک (۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در آمل، اسید فرولیک (۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و اسید کلروژنیک (۱۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در نمونه باغ ملی گیاه‌شناسی ایران بدست آمد که با بقیه مناطق تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین بیشترین میزان اسید سینرژیک (۱۶/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در نمونه باغ ملی گیاه‌شناسی ایران بدست آمد ولی از لحاظ آماری با بقیه رویشگاه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری

در نهایت نتایج این پژوهش، نشان‌دهنده تنوع در میزان تولید ترکیبات فیتوشیمیایی گزنه در رویشگاه‌های مختلف بوده است. این تنوع در مقدار تولید می‌تواند به عوامل مختلفی ازجمله شرایط محیطی، نوع خاک، رطوبت، دما و حتی زمان برداشت مرتبط باشد. از آنجا که مقادیر فنل تام در عصاره برگ گزنه‌های باغ ملی گیاه‌شناسی ایران نسبت به سایر رویشگاه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت، می‌توان گفت این نمونه‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر رویشگاه‌های مورد مطالعه دارد. از سویی مقدار بالای فنل تام در این رویشگاه، می‌تواند نشان‌دهنده شرایط کشت این گیاه ازجمله آبیاری، خاک حاصلخیز، کنترل آفات و تابش نور خورشید در روزهای بیشتری از سال باشد که همگی بر کیفیت و غلظت ترکیبات فنلی اثرگذار هستند. به منظور استانداردسازی فرایندهای استخراج و آنالیز برای تضمین کیفیت و کارایی محصولات نهایی دارویی و صنعتی، توجه به این گیاه ضروری به نظر می‌رسد، به‌علاوه، آگاهی عمومی و آموزش کشاورزان در مورد کشت و برداشت گزنه می‌تواند به بهبود کمیت و کیفیت تولید آن کمک کند.

واژه‌های کلیدی: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل تام، کافئیک اسید، گزنه، گالیک اسید

مقدمه

گزنه (*Urtica dioica L.*) گیاهی پایا و علفی که دارای مصارف دارویی و اقتصادی بسیاری است. گزنه دارای گونه‌های متعددی است (۳۵ تا ۴۵ گونه) ولی سه گونه عمده آن از نظر دارویی مورد توجه هستند و در ایران نیز یافت می‌شوند که عبارتند از: گزنه درشت (*U. dioica* L.)، گزنه کوچک (*U. urens* L) و گزنه یونانی (*U. pilulifera* L.) (Shahidi, 2004). نکته قابل ذکر این است که این سه گونه تفاوت چندانی باهم ندارند و دو گونه *U. dioica* و *U. urens* از زمان‌های بسیار دور مورد توجه بوده و از گونه‌های مهم به‌شمار می‌آیند. گزنه درشت یا دو پایه با نام علمی *Urtica dioica* L.، در کتاب‌های طب سنتی با نام انجره کبیر یا نبات النار نیز شناخته می‌شود (Farzami *et al*., 2003).

عصاره الکلی گیاه گزنه به دلیل داشتن طیف وسیعی از ترکیبات بیولوژیکی از مدت‌ها پیش در طب سنتی مورد استفاده بوده است. این ترکیبات بیولوژیکی شامل: فنل‌ها، فلاون‌ها، فلاونول‌ها، آلکالوئیدها، کاروتنوئیدها، تری‌ترپن‌ها، کاروتن و گزانتوفیل‌ها هستند (Modaresi *et al*., 2013). از کاربردهای دارویی آن می‌توان به درمان آرتریت روماتید، درمان عفونت مثانه و مجاری ادراری، بزرگ‌شدگی پروستات، پایین‌آورنده قند خون و اسید اوریک، حساسیت فصلی، کمبود آهن، درمان کم‌خونی، کنترل سلول‌های سرطانی، خوراک دام و ماکیان، تولید فیبر در صنعت غذایی و نساجی و درمان آکنه اشاره کرد (Julia *et al*., 2007; Gatti *et al*., 2008). در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی در ساخت داروها و درمان بیماری‌ها با توجه به محتویات متابولیت‌های متنوع گیاهی و ساختارهای شیمیایی و فعالیت‌های بیولوژیکی آنها، رو به افزایش است، زیرا گزارش‌هایی مبنی بر عوارض نامطلوب مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در حیوانات آزمایشگاهی که باعث سرطان و آسیب‌های کبدی شده، ارائه گردیده است (Mahmoudi *et al*., 2007). همین شک به ایمنی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مصنوعی یا سنتزی، باعث شده

تا محققان با جستجو برای جایگزینی این ترکیبات، به سمت بررسی ترکیبات گیاهان عالی و آروماتیک سوق داده شوند. این ایمنی در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکالی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهی به‌ویژه ترکیبات فنلی حاصل می‌شود که به پیشگیری مؤثر بسیاری از بیماری‌ها ازجمله سرطان و بیماری‌های قلبی- عروقی منجر می‌گردد (Dillard & German, 2000). فنل‌ها دارای ظرفیت قوی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد هستند. در بررسی‌ها نشان داده شده که افزایش غلظت ترکیبات فنلی به‌طور مستقیم، میزان توانایی عصاره‌های مختلف آنها را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد (Bahrami-Karkevandi *et al*., 2011).

از سویی، گزنه در طبیعت نیز به علت رشد سریع و متراکم، با تولید زی‌توده بالا و محصولات نهایی با کیفیت و با ثبات، آن را به گیاهی با ارزش افزوده تبدیل کرده است (Virgilio *et al*., 2015). در بررسی‌های مختلف نشان داده شده که گزنه دارای ترکیباتی مانند فرولیک اسید، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، گالیک اسید، وانیلیک اسید، ایزوکوئرسیترین، آلفاتوکوفرول، بتاکاروتن، بوتیریک اسید، کامفرول، روتین، تانن، اسکوربیک اسید، وانیلین، سینامیک اسید، کومارین، گلیسین، لیگنن و لینولئیک اسید می‌باشد که همگی دارای خواص ضدسرطانی هستند (Eghbal *et al*., 2017). بنابراین عصاره و اسانس حاصل از برگ گزنه می‌تواند جایگزین خوبی برای مواد نگهدارنده صنعتی باشد، به طور مثال، پماد آن به عنوان لوسیون ضدخارش و ضدسرطان استفاده شود و جایگزینی مناسب در سس مایونز به جای بنزوات سدیم (که غلظت بسیار اندک آن نیز خطرناک است) باشد (Salehzadeh *et al*., 2014).

برگ‌های گزنه بخش دارویی آن به‌شمار می‌رود و بهترین زمان برداشت و جمع‌آوری آنها از اردیبهشت‌ماه تا شهریورماه است. گیاه گزنه در نقاط مرطوب ایران، به‌ویژه نواحی شمالی، غربی و ارتفاعات انتشار دارد (Mojaverian *et al*., 2010؛ Wetherilt, 1992). بررسی‌های مختلف نشان داده است که برگ گزنه دارای ویتامین‌های C، K، B، پانتوتن اسید، تانن، پروتئین، مواد معدنی (Fe، Cu، Mn و Ni) و ترکیبات اسانس (Cavacrol، Carvone، Naphthalene و ...) است. تارهای آن، استیل کولین و هیستامین، ساقه و ریشه این گیاه نیز دارای فلاونوئیدها است (Kukrić *et al*., 2012). همچنین در بخش‌های هوایی گلیکوزیدهای فلاونول و اسیدهای فنولیک گزارش شده است (Grevsen *et al*., 2008; Otles and Yalcin, 2012). ترکیبات فنلی موجود در گزنه شامل کافئیک اسید، فرولیک اسید، سیناپیک اسید، فیستین و میریستین است (Mahmoudi *et al*., 2007) که در پیشگیری از بروز سرطان‌ها و درمان آنها مؤثر هستند (Ghorbani, 2014). خواص ضدویروسی (Ammarellou *et al*., 2012) و اثر ضدتکثیری بر سلول‌های سرطانی پروستات انسانی (Krystofora *et al*., 2010)، این گیاه را مورد توجه خاص قرار داده است. برخی ترکیبات فنلی مهم گیاه گزنه با خواص بیولوژیکی و کاربرد مربوط به شرح ذیل است.

وانیلیک اسید (Vanillic Acid): اثرهای آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی، ظرفیت محافظت عصبی و ضدسرطانی؛

فرولیک اسید (Frolic Acid): استفاده گسترده در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی، ضد التهاب، ضدمیکروب، ضدسرطان و ضد دیابت؛

اسید گالیک (Gallic Acid): آنتی‌تیروزیناز، آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب، توسعه‌دهنده عکاسی، صنعت دباغی و ضد توموری؛

اسید کافئیک (Caffeic acid): به عنوان مکمل برای تقویت عملکرد ورزشی، خستگی ناشی از ورزش، کاهش وزن، سرطان، HIV/AIDS و تبخال، کاهش سمیت شیمی‌درمانی و پرتودرمانی، جلوگیری از پیری زودرس و بیماری‌های عصبی مانند بیماری پارکینسون کاربرد دارد.

همچنین گزنه به علت فیبر بالایی که دارد، در صنعت نساجی نیز به صورت خمیر فیبر و در صنعت غذایی مانند کتان و کنف عمل می‌کند (Dreyer *et al*., 1996). با توجه به هتروزیگوت بودن این گیاه برای به دست آوردن محصول کلون آن، بر روی کشت بافت و کشت ریشه آن تحقیقاتی انجام شده است (Gatti, *et al*., 2008; Luna, 2001;

(Ammarellou *et al.*, 2012; Sedaghati *et al.*, 2018) از سویی، با توجه به اثر مطلوب ضدباکتریایی عصاره الکلی گزنه و نتایج مشابه عصاره این گیاه دارویی با آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین، می‌توان چنین استنباط نمود که وجود ترکیبات ثانویه ضدمیکروبی در این گیاه می‌تواند اثرهای درمانی مؤثری بر عفونت ادراری داشته باشد. به همین دلیل می‌توان گفت که عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی گزنه می‌تواند جایگزین مناسب دیگری برای درمان عفونت مجاری ادراری باشد (Eghbal *et al.*, 2017).

از آنجایی که شرایط اقلیمی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاهان دارویی اثرگذار است و برای کشت و اهلی‌سازی گیاهان دارویی، الگوبرداری از طبیعت ضروری است، ازاین‌رو در این تحقیق مقایسه و بررسی رویشگاه‌ها از لحاظ تأثیر اقلیم بر خصوصیات فیتوشیمیایی و شناسایی بهترین شرایط رویشی برای این گیاه پرداخته شده است.

تأثیر عوامل اقلیمی بر گیاهان دارویی مختلف متفاوت است (Omidbaygi, 2010). از مهمترین عوامل محیطی که تأثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌گذارد، می‌توان به درجه حرارت محیط، ارتفاع محل و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اشاره کرد (Davise and Albrigo, 1994). در این رابطه، در پژوهشی که توسط Farsi و همکاران (۲۰۱۱)، بر روی گیاه نعناع (*Mentha longifolia*) در مناطق مختلف استان لرستان انجام شد، بیشترین و کمترین میزان اسانس به ترتیب در گیاهان منطقه خرم‌آباد و الشتر مشاهده گردید. در بررسی Shahraki و همکاران (۲۰۱۳) نیز بر روی گیاه *Proveskia abrotanoides* Karel. در منطقه کیاسر با ارتفاع بیشتر نسبت به پارک ملی گلستان، بازده و حجم اسانس بیشتری نشان داد. در بررسی دیگری، فیتوشیمیایی گیاه باریجه، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی گل باریجه منطقه قوچان و بیشترین میزان محتوی فلاونوئیدی و فنل کل این گیاه مربوط به رویشگاه نیشابور بود. همچنین تحقیقات زیادی بر روی گیاه چای کوهی (*Stachys lavandulifolia* Vahl.) در مناطق مختلف ایران انجام شده است. در مطالعه‌ای که Kargar و همکاران (۲۰۱۵)، بر روی ارتباط ویژگی‌های عملکردی چای کوهی با برخی از ویژگی‌های خاکی و توپوگرافی در حوضه آبخیز لاسم انجام دادند، دریافتند که خصوصیات توپوگرافی بر مورفولوژی و شاخص‌های رشد گیاه مؤثر نبوده، ولی ویژگی‌های خاکی اثر معنی‌داری را بر شاخص‌های رشد داشته است.

گزنه نیز با توجه به مصارف چندگانه، حفاظت، کشت و بررسی‌های فیتوشیمیایی و سیتوژنتیک آن مورد توجه قرار گرفته است. در سال‌های اخیر، تولید فیبر طبیعی، موضوع مهم و مورد توجه کشورهای اروپایی بوده و کشاورزان با کشت آن برای تولید فیبر، کاغذ و داروی گیاهی، تجارت خوبی داشته‌اند (Bisht *et al.*, 2012). تجزیه اسانس گزنه به وسیله کروماتوگرافی نیز نشان داد، اسانس آبی برگ این گیاه شامل فیتول، بتادکانون، ایزوالمیسین، آلفا- پلاندرن، لینالول، اتیل هگزانوات، منتا دی.ان و بنزآلدهید است. عصاره الکلی آن نیز شامل کافئیک اسید، روتین، کویرستین، هیپرین و ایزوکویرسیترین بود (Khorsand *et al.*, 2017).

در مطالعه دیگری، میزان مواد مؤثره گیاه گزنه در رویشگاه طبیعی، سه منطقه با ارتفاع (صفر، ۸۰۰، ۱۸۰۰ متری) انتخاب شده و نتایج نشان داد اختلاف کاملاً معنی‌داری بین درصد مواد مؤثره در طبقات ارتفاعی مختلف وجود داشته و افزایش ارتفاع باعث کاهش درصد بسیاری از ترکیبات شده است (Saeb *et al.*, 2012). هدف از این مطالعه، شناسایی و مقایسه کمیت و کیفیت ترکیبات فیتوشیمیایی در گزنه درشت در پنج رویشگاه متفاوت بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و مناطق مورد مطالعه

با همکاری بخش فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان، پنج رویشگاه در استان‌های زنجان (زنجان ۱ و ۲)، مازندران (آمل)، گیلان (لاهیجان) و تهران (باغ ملی گیاه شناسی ایران) انتخاب شدند. سپس سرشاخه‌های گزنه

(*Urtica dioica* L.) از پنج رویشگاه در تیر و مردادماه سال ۱۳۹۷، در فصل رشد و در مرحله گلدهی در سه تکرار جمع‌آوری گردیدند. مشخصات رویشگاهی مناطق با استفاده از اطلاعات ایستگاه‌های سینوپتیک هر منطقه، شامل موقعیت جغرافیایی، بارندگی و دمای سالانه، رطوبت نسبی، نوع خاک و منطقه و ارتفاعات مختلف در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱- مشخصات اکولوژیکی رویشگاه‌های جمع‌آوری نمونه‌های گزنه (*Urtica dioica*)

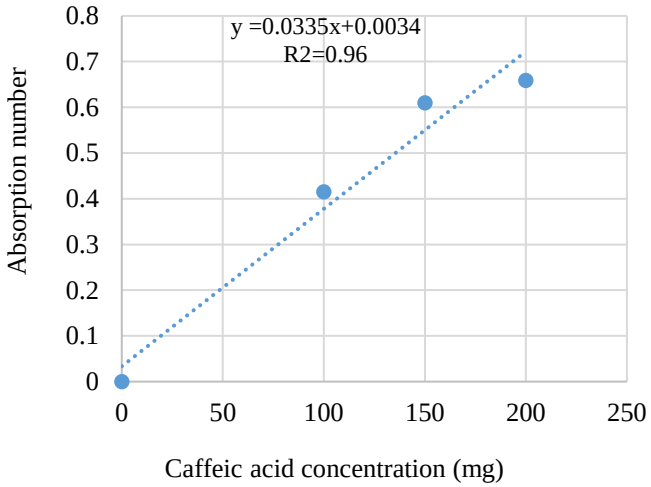
Table 1: Ecological specifications of *Urtica dioica* sample collection habitats

Location	Amol	Lahijan	Tehran	Zanjan1	Zanjan2
Geographical Coordinates	N 36° 47' 06" E 52° 34' 60"	N 37° 25' 00" E 50° 00' 00"	N 35° 44' 32" E 51° 10' 55"	N 36° 79' 24" E 48° 57' 13"	N 36° 83' 62" E 48° 62' 31"
Elevation (m)	76	94	1276	2268	2686
Annual Precipitation (mm)	1000-1500	1200-1500	300-400	400-600	400-600
Annual Temperature °C	15-20	20-30	10-15	10-15	10-15
Relative Humidity	70-90	70-80	50-70	60-80	60-80
Soil Type	Organic and clay	Loam and clay	Loam and clay	Clay & sandy (med texture)	Clay and sandy (medium texture)
Climate classification	Mild and humid climate	Mild and humid climate	Semi-arid to moderate	Mountain climate	Mountain climate

روش تحقیق

به منظور سنجش محتوای ترکیبات فنلی، عصاره هیدروالکلی تهیه شده و با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis) و به‌منظور شناسایی متابولیت‌های ثانویه از HPLCاستفاده شد (Singleton *et al*., 1999).

تهیه عصاره هیدروالکلی: برای تهیه عصاره، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بافت گیاهی به دقت توزین شده و با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ در حضور نیتروژن مایع کاملاً ساییده و بعد در میکروویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و به مدت ۸ دقیقه درrpm ۱۲۰۰ سانتریفوژ شد، آنگاه ۵۰ میکرولیتر عصاره را برداشته با ۷۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط کرده، سپس ۵۰ میکرولیتر فولین–سیوکالتیو (FC) اضافه نموده و دوباره با هم مخلوط شدند. بعد از ۳ دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم اشباع اضافه کرده و حجم مخلوط با آب مقطر به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از یک ساعت مقدار جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. کافئیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد (شکل ۱) و براساس معادله خط به دست آمده از منحنی استاندارد کافیئک اسید $y = 0.0335x + 0.0034$ و $R^2 = 0.96$ میزان فنل تام با واحد میزان برابر میلی‌گرم کافئیک اسید در گرم عصاره گزارش گردید. آزمایش‌ها سه بار تکرار شده و میانگین‌ها گزارش شدند.



شکل ۱- منحنی استاندارد کافئیک اسید برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی تام عصاره ***Urtica dioica***

Fig. 1: Standard Curve of Caffeic Acid to measure Total Phenolic Compounds of *Urtica dioica*

- **مشخصات دستگاه HPLC مورد استفاده:** به‌منظور شناسایی متابولیت‌های ثانویه از دستگاه HPLC Unicam مدل ساخت انگلستان با سیستم فاز معکوس دارای ستونC-Lichrocart 18 به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ۴/۵ سانتی‌متر و قطر ذرات ۵ میکرومتر استفاده شد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی به این ستون تزریق شد. فاز متحرک شامل: استونیتریل ۴۰٪، اسید استیک ۱٪ و آب مقطر ۵۹٪ بود که دارای سرعت چرخش یک میلی‌لیتر بر دقیقه است. دتکتور این سیستم از نوع آرایه Diode بوده و نوع و مقدار هر ماده براساس زمان بازداری پیک خروجی و سطح زیر منحنی آن با استفاده از نمونه‌های استاندارد مشخص گردید.

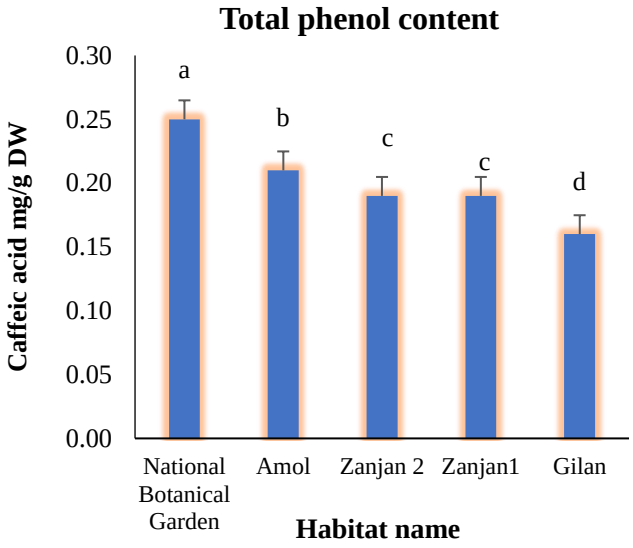
تجزیه آماری

نمونه‌های جمع‌آوری شده در پنج رویشگاه در سه تکرار برای محتوای کل فنل و ترکیبات فنلی خاص اندازه‌گیری شدند. داده‌های جمع‌آوری شده مورد تجزیه واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند و برای مقایسه بین رویشگاه‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن، استفاده گردید. برای تحلیل آماری از نرم‌افزار SAS9 و برای رسم نمودارها از Excel2016 استفاده شد.

نتایج

مقدار تام ترکیبات فنلی: میزان تام ترکیبات فنلی بر مبنای مقادیر جذب ناشی از واکنش عصاره گزنه با معرف فولین-سیوکالتو و براساس مقایسه آن با محلول استاندارد کافئیک اسید و طبق معادله خط به دست آمده از منحنی استاندارد کافئیک اسید محاسبه گردید (شکل ۲). اساس کار در روش فولین-سیوکالتو، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۲۵ نانومتر نشان می‌دهد. مخلوط متانول-آب و یا متانول به تنهایی برای استخراج ترکیبات فنلی از بافت گیاهی به کار می‌رود (Mazied *et al*., 2011).

نتایج مقایسه رویشگاه‌ها بر میزان فنل تام از لحاظ آماری معنی‌دار بود، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین میزان فنل تام با ۰/۲۵ و ۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک اسید کافئیک به ترتیب مربوط به نمونه‌های باغ ملی گیاه‌شناسی و لاهیجان بود که با سایر رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل ۲).



شکل ۲- میانگین محتوای کل فنل ***Urtica dioica*** در پنج رویشگاه

Fig. 2: Means of total phenol content *Urtica dioica* in five habitats

حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن، تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

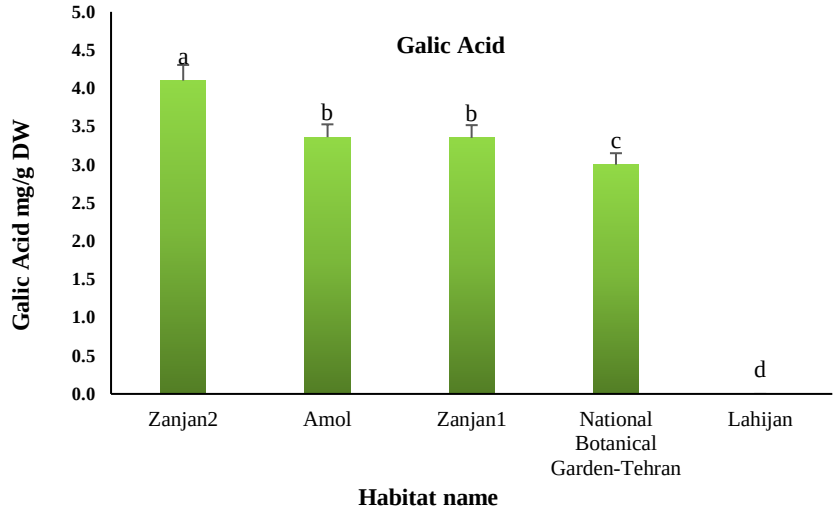
Means followed by the same letter no significant differences (p≤0.05) based on DMRT.

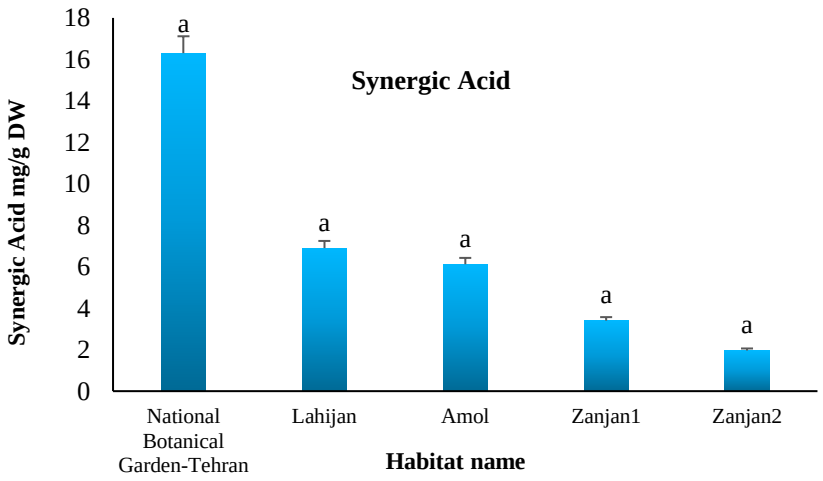
سپس با استفاده از HPLC، ترکیبات فنلی خاص نمونه‌ها جمع‌آوری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در تمامی ترکیبات فنلی بین رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. اسید گالیک در زنجان ۲، اسید وانیلیک در لاهیجان، اسید کافئیک در آمل، اسید فرولیک و اسید کلروژنیک در باغ ملی گیاه‌شناسی ایران نسبت به سایر تیمارها بیشتر بوده و با بقیه مناطق اختلاف معنی‌داری داشتند، همچنین اسید گالیک در لاهیجان، اسید سینرژیک در زنجان ۲، اسید وانیلیک در آمل و باغ ملی گیاه‌شناسی ایران، اسید فرولیک، اسید کلروژنیک و اسید کافئیک در زنجان ۱ کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در ضمن اسید سینرژیک در باغ ملی گیاه‌شناسی ایران نیز بالاتر بود ولی بین رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳ و ۴).

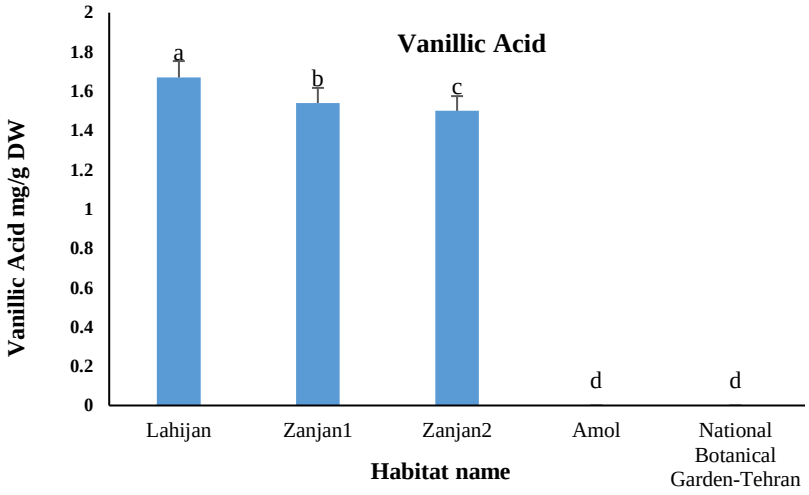
بحث و نتیجه‌گیری

شناسایی رویشگاه‌های مختلف و ارزیابی تأثیر عوامل محیطی بر صفات ریختی و عملکرد کمّی و کیفی مواد مؤثره گیاهان دارویی، کمک مهمی در اهلی کردن و حفظ تنوع ژنتیکی این گیاهان محسوب می‌شود (Yavari *et al.*, 2010). نتایج این پژوهش، نشان‌دهنده تنوع در میزان تولید ترکیبات فیتوشیمیایی گزنه در رویشگاه‌های مختلف است. این تنوع در مقدار تولید می‌تواند به عوامل مختلفی ازجمله شرایط محیطی، نوع خاک، رطوبت، دما و حتی زمان برداشت مرتبط باشد. در این مطالعه، مقادیر فنل تام در عصاره برگ گزنه‌های باغ ملی گیاه‌شناسی ایران نسبت به سایر رویشگاه‌ها با تفاوت معنی‌داری بالاتر بود. از سویی، مقادیر بالای فنلی در عصاره گزنه ارتباط مستقیم با ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی آن دارد (Thi & Hwang, 2014; Bahrami-Karkevandi *et al.*, 2011; Piluzza & Bullitta, 2011)، بنابراین می‌توان گفت نمونه‌های باغ ملی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر رویشگاه‌های مورد مطالعه داشتند. از سوی دیگر، مقدار بالای فنل تام در این رویشگاه، می‌تواند نشان‌دهنده شرایط کشت این گیاه شامل آبیاری، خاک حاصلخیز، کنترل آفات و تابش نور خورشید در روزهای بیشتری از سال باشد که

همگی بر کیفیت و غلظت ترکیبات فنلی اثرگذار هستند. در تأیید نتایج به دست آمده نیز، Saharkhiz (۲۰۰۵) بیان داشته که میزان ترکیبات فنلی در مناطق مختلف و شرایط رشدی متفاوت تحت تأثیر عوامل محیطی، ژنتیکی و اثرهای متقابل آنهاست (Saharkhiz, 2002). از سویی، بر خلاف برخی از پژوهش‌ها که افزایش فنل تام با افزایش ارتفاع یا کاهش بارندگی و دما ارتباط مستقیم داشته و باعث افزایش میزان فنل تام می‌شود (Abyar *et al.*, 2019; AghaAlikhani & Kohanmoo, 2022)، میزان فنل تام در رویشگاه‌های مورد مطالعه از نظر خصوصیات اکولوژیکی (جدول ۱) ارتباطی بین ارتفاع، دما، میزان بارندگی، نوع اقلیم و خاک مشاهده نشد، اما می‌توان بیان کرد که تابش نور خورشید، تنش مقطعی وارده در منطقه و زمان برداشت می‌تواند بر تولید و مقدار متابولیت‌های ثانویه اثرگذار باشد.





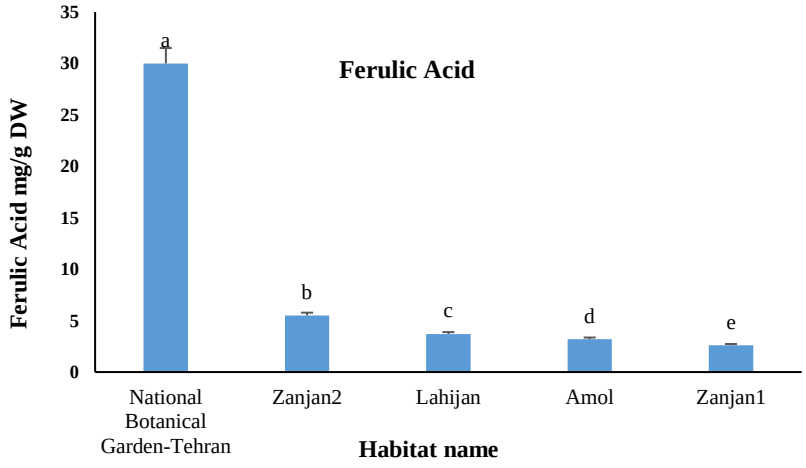


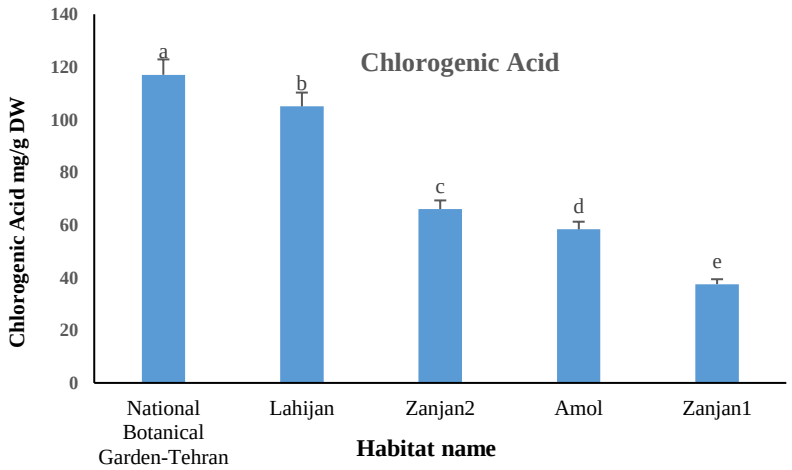
شکل ۳- مقایسه میانگین اسیدهای گالیک، سینرژیک و وانیلیک در رویشگاه‌های مورد مطالعه در گونه ***Urtica dioica***

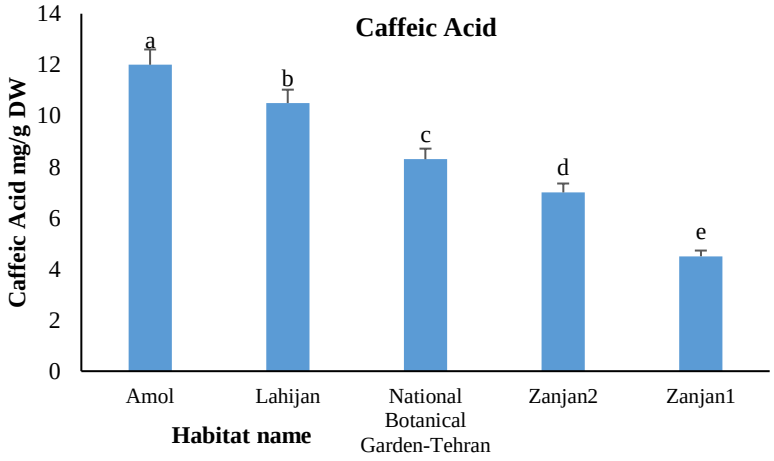
Fig. 3: Means of Gallic Acid, Synergic Acid and Vanillic Acid in *Urtica dioica* habitats.

حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن، تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by the same letter show no significant differences (p≤0.05) based on DMRT.







شکل ۴- مقایسه میانگین اسیدهای فرولیک، کلروژنیک و کافیک در رویشگاه‌های گونه ***Urtica dioica***

Fig. 4: Means of Ferulic Acid, Chlorogenic Acid and Caffeic Acid in *Urtica dioica* in habitats.

حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن، تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by the same letter show no significant differences (p≤0.05) based on DMRT.

در اندازه‌گیری ترکیبات فنلی خاص با HPLC، نتایج نشان داد که در رویشگاه باغ ملی گیاه‌شناسی ایران، کلروژنیک اسید و در رویشگاه آمل کافئیک اسید بیشتر بود و نسبت به سایر رویشگاه‌ها نیز تفاوت آماری داشتند. کلروژنیک اسید و کافئیک اسید دو نمونه از عمده‌ترین اسیدهای فنولیک موجود در گزنه هستند که به ترتیب در داروهای اختلالات کبدی، گوارشی و لاغری مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ترکیب‌ها مستقیم و یا غیرمستقیم به عنوان اکسیدکننده، رادیکال‌های آزاد سلول‌ها را جذب می‌کنند. همچنین، اسید کلروژنیک خاصیت ضد دیابتی هم داشته و احتمالا یکی از دلایل کاهش قند خون توسط گزنه باشد (Arion *et al*., 1997).

نتایج این مطالعه نشان داد که نمونه‌های زنجان ۲ به عنوان منبع غنی از گالیک اسید نسبت به چهار رویشگاه دیگر بوده و می‌توانند در تولید مکمل‌های دارویی و غذایی مورد استفاده قرار گیرند، این افزایش می‌تواند به دلیل ارتفاع و دمای پایین آن منطقه باشد. ترکیبات فنلی، ازجمله گالیک اسید و کافئیک اسید، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی شناخته می‌شوند و می‌توانند در پیشگیری از بیماری‌های مزمن و سرطان مؤثر باشند. با توجه به آنالیز عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه توسط Eghbal و همکاران (۲۰۱۷)، عمده‌ترین ترکیبات فنلی جدا شده، کلروژنیک اسید، وانیلیک اسید، میرستین و روتین بودند که خاصیت ضدمیکروبی نیز نشان داده‌اند (Eghbal *et al*., 2017).

اگر فقط یک رویشگاه را بتوان در این بخش معرفی نمود، به نظر رویشگاه باغ ملی گیاه‌شناسی ایران از نظر میزان تولید سینرژیک اسید، فرولیک اسید و کلروژنیک اسید بهتر از سایر رویشگاه‌ها است و این راهی برای کشت پایدار و کمک به حفاظت آن است ولی از نظر تولید وانیلیک اسید توصیه ترکیبات فیتوشیمیایی آن نیاز است. همچنین، استانداردسازی فرایندهای استخراج و آنالیز برای تضمین کیفیت و کارایی محصولات نهایی باید مورد توجه قرار گیرد. به‌علاوه، آگاهی عمومی و آموزش کشاورزان در مورد کشت و برداشت گزنه می‌تواند به بهبود کمیت و کیفیت تولید کمک کند. هم‌چنین، بررسی تأثیر روش‌های مختلف کشت و مدیریت زراعی بر کیفیت و غلظت ترکیبات می‌تواند به

بهینه‌سازی تولید این گیاه در جهت اهلی‌سازی و کشت پایدار کمک نماید.

از حمایت‌های مالی و امکانات آزمایشگاهی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Abyar, S., Fakhrayi, B., Mahdinezad, N., 2019. The effect of ecological factors on the amount of gum and the chemical composition of the essential oil of the medicinal plant *Ferula assa-foetida* L. Journal of Plant Process and Function, 8(30), 126-134 (In Persian).
- AghaAlikhani, M., Kohanmou, M. A., 2021. The effect of habitat altitude on the essential oil content and its active substances of German Chamomile in South-west Iran. Iranian Medicinal Plants Technology, 4(2), 44-57 (in Persian).
- Ammarellou, A., Kazemeitabar, K., Najafei, H.Z., Mortazavei, N. and Ammarellou, N. 2012. Effects of different culture media on rooting of *Urtica dioica* L. stem cuttings, Journal of Soil Science and Environmental Management, 3(7): 172-175.
- Arion, WJ, Canfield, WK, Ramos, FC, Schindler, PW, Burger, HJ, Hemmerle, H, Schubert, G, Below, P, Herling, AW, 1997. Chlorogenic acid and hydroxynitrobenzaldehyde: new inhibitors of hepatic glucose 6-phosphatase. Arch Biochem Biophys. 15; 339(2):315-22.
- Bahrami-Karkevandi M, Moshtaghian SJ, Mahzoni P, Adibi S, Kazemi S., 2011. The effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia Aucheri* on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. Jour. Shahrekord University Medicinal Science 12(4): 33-40 (In Persian).
- Bisht, B., Bhandari, S. and Bisht, N S., 2012. *Urtica dioica* (L): an undervalued, economically important plant, Agricultural Science Research Journals, 2(5): 250-252.
- Davise, F.S. and Albrigo, L.G. 1994. Citrus. CAB. International Press, Wallington, UK, P 814.
- Dillard CG, and German GB. 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. Jour. Sci Food Agric. 80: 1744-1756.
- Dreyer, J, Dreyling, G, Feldmann, F., 1996. Cultivation of stinging nettle *Urtica diocia L*. with high fiber content as a raw material for producing fiber and cellulose: Qualitative and quantitative differentiation of ancient clones. Journal of Applied Botany and Food Quality, 70 (1-2): 28-39.
- Eghbal H., Moazenzadeh O., Kazaemzadeh A.A., Amirzadeh S., 2017. A review of the chemical compounds present in the hydroalcoholic extract of *Urtica dioica* L. and comparing its therapeutic effect with ciprofloxacin against common bacteria isolated from patients with urinary tract infections in Valie Asr Hospital, Meshkinshahr, Journal of Application of Chemistry in The Environment, 9(36): 1-11 (In Persian).
- Farsi, A., Hemmati, K.H., Ghasemnejad, A. and Rezainejad, A., 2011. The morphological characteristics and unit of essential oil of *Mentha longifolia* in different regions of the Lorestan province. First National Congress on Science and Technology of Modern Agriculture (In Persian).
- Farzami, B., Ahmadvand, D., Vardasbi, S., Majin, F.J., Khagani, Sh., 2003, Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leaf extract in perifused Islets of Langerhans and its *in vivo* effects in normal and streptozotocin diabetic rats. Jour. Ethnopharmacol. 89(1):47-53.
- Gatti, E., Di Virgilio, N., Baronti, S., Bacci, L., 2008. Development of *Urtica dioica* L. Propagation Methods for Organic Production of Fiber, 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, June 16-20. Archived at http://orgprints.org/view/projects/conference.html.
- Ghorbani, S., 2014. Extraction of antioxidants from nettle plant by ultrasound waves and its effect on the stability of linseed oil, Master's thesis of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Mako Branch, 55 p. (In Persian).
- Grevsen, K., Frette, X. C. and Christensen L. P., 2008. Concentration and Composition of Flavonol Glycosides and Phenolic Acids in Aerial Parts of Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) are affected by Nitrogen Fertilization and by Harvest Time. European Journal of Horticultural Science, 73(1): 20-27.
- Julia, E., Chrubasika, B.D.R., Hildebert, W. and Sigrum, C., 2007. A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part I: Herba Urticae Phytomedicine. 14:423-35.
- Kargar, M., Jaafarianm Z., Tamartash, R. and Alavi S.J., 2015. The effects of some soil properties and topography on some functional traits of *Stachys lavandulifolia* Vahl. In Angemar rangeland, Lasem watershed. Journal of Rangeland. 8(4):342-350 (In Persian).
- Khorsand H., Ardestan F., Pajoum Shariati F., 2017. Investigation of compounds isolated from the Iranian nettle plant (*Urtica dioica*) and the antibacterial properties of its essential oil and extract, Fourth

Conference on Separation Science and Engineering, https://civilica.com/doc/632775. (In Persian).
- Krystofora O, Adam V, Babula P, Zehnalek J, Beklova M, Havel L, Kizek R, 2010. Effect of Various Doses of Selenite on Stinging Nettle. International Journal of Environmental Research. Public Health, 7:3804-38015.
- Kukrić, Z., Topalić-Trivunović, L., Kukavica, B., Matoš. B., Pavičić, S., Boroja, M., Savić, A., 2012. Characterization of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Nettle Leaves (*Urtica dioica* L.), Actperiodica technologica, 43, 1-342.
- Luna, T., 2001. Propagation Protocol for Stinging Nettle (*Urtica dioica*), Native Plants Journal, 2(2):110-111
- Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Yasini, S., 2007. Antinociception and locomotors impairment induction by methanolic extract of *Urtica dioica*. International Journal of Biotechnology, 4(2): 181-185 (In Persian).
- Mazied, M., Khan, T.A., and Mohammad, F., 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Biology and Medicine, 3(2): 232-249.
- Modaresi Chahardehi, A., Ebrahim, D., Fariza Salima, S., Abolhasani, F.B., 2013. Investigation of the effect of the alcoholic extract of nettle plant (*Urtica dioica* L) on a number of Gram-negative and Gram-positive bacteria. Medicinal Plants Journal, 42(11): 98-104 (In Persian).
- Mojaverian, SM., Sajadi, P., Zali, SH., 2010, A study on comparative advantage in the export of Iranian medicinal plants. Faculty of Sciences. University Djillali Liabes of Sidi Bel Abbes (Algeria); 364 p. (In Persian).
- Omidbaygi, R., 2010. Production and processing of medicinal plants. Publication, Astane Ghodse Razavi, Mashad, Iran 1: 347 (In Persian).
- Otles, S. and Yalcin, B., 2012. Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk and Leaves of Nettle. The Scientific World Journal, pp.564367.
- Piluzza G, Bullitta S., 2011. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethno-veterinary use in the Mediterranean area. Pharmaceutical Biology. 49(3): 240-7.
- Saeb, K., Kakoubi, A., Baba Khani, B., Hosseini Boldaji, S. A., Rahdari, B., Pourshamsian, K., & Jafari Hajjati, R., 2012. Investigation of the effect of altitude on the amount of medicinal compounds in *Urtica dioica* L. in the Ramsar region. Journal of Plant and Ecosystem Science, 8(33), 1-10 (In Persian).
- Saharkhiz, M.J., 2002. The effect of the time of harvesting the fruit of the medicinal plant anise on the essential oil and its constituents, master's thesis in horticulture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. 77 p. (In Persian).
- Salehzadeh A., L. Asadpour, A., Sadat Naeemi, E. Houshmand, 2014. Antibacterial activity of methanolic extract of Sambucus and *Urtica Fioica* against clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 11(5): 38-40.
- Sedaghati M., M.H. Assareh, M.A. Ebrahimi, S.M. Hesamzadeh-Hejazi, H. Sobhanian, 2018, Effect of culture media and growth regulators on micro propagation of medicinal plant *Urtica dioica* L., Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 26(1), 44-52. 10.22092/IJRFPBGR.2018.116655 (In Persian).
- Shahidi, B., 2004, Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. Jour. Ethnopharmacol. 94: 301-305.
- Shahraki, S., Mahdavi, K.H., Hosseini, S.A., Mazandarani, M. and Tavan, M. 2013. Investigation quantity and quality of essential oils the *Proveskia abrotanoides* Karel. (Case study: International Park of Golestan and Kyasar Mazandaran). Eco Phytochemical Journal of Medicinal Plant. 3: 68-81 (In Persian).
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants through folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology. 299:152–178. doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Thi ND and Hwang ES., 2014. Bioactive Compound Contents and Antioxidant Activity in Aronia (*Aronia melanocarpa*) Leaves Collected at Different Growth Stages. Preventive Nutrition and Food Science 19(3): 204-12.
- Virgilio, N.D., Papazoglou, E.G., Jankauskiene, Z., Lonardo, S.D., Praczyk, M., Wielgusz, K., 2015. The potential of Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) as a crop with multiple uses Industrial Crops and Products, 68: 42–49
- Wetherilt, H., 1992. Evaluation of Urtica Species as Potential Sources of Important Nutrients," Developments in Food Science, 29, 15-25.
- Yavari, A.R., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E., 2010. Evaluation of some ecological factors, morphological traits, and essential oil productivity of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 227-238 (In Persian).