University of Tehran Press

Journal of Crops Improvement

Online ISSN: 2345-6957

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

Evaluation of phytochemical traits in different ecotypes of marshmallow (*Althaea* spp.)

Amin Arjmand[1] | Mohsen Ebrahimi[2]✉ | Mohamad Reza Bihamta[3] | Narges Moradi[4]

1. Department of Agricultural Sciences and Plant Breeding, Aburihan Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: amin.arjmand@ut.ac.ir
2. Corresponding author, Department of Agricultural Sciences and Plant Breeding, Aburihan Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: mebrahimi@ut.ac.ir
3. Department of Agriculture and Plant Breeding, Karaj College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: mrghanad@ut.ac.ir
4. Department of Agricultural Sciences and Plant Breeding, Aburihan Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: na_moradi@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 19 March 2023
Received in revised form
31 May 2023
Accepted 7 June 2023
Published online
20 September 2023

Keywords:
Anthocyanin
Cholinesterase enzyme
Ecotype
Marshmallow

ABSTRACT

Objective: Marshmallow (*Althaea* spp.) is a plant belonging to the Malvaceae family and is native to Asia, South Africa, and America. It is found in Iranian natural pastures throughout the country. The purpose of this research is to identify the best ecotypes of Golkhtami in terms of phytochemical traits studied in this experiment and to introduce the best ecotypes for further research and to be used as crossbreeding parents in crossbreeding projects.

Methods: In this study which was investigated in nine ecotypes and three different species, phytochemical traits including total flavonoid content, total anthocyanin content, tyrosinase enzyme inhibitory activity, and cholinesterase inhibitory activity were evaluated in different ecotypes of marshmallow.

Results: The results showed that the Kermanshah ecotype of Althaea officinalis had the highest amount of flavonoids (18.47 mg of quercetin per gram of extract) and cholinesterase inhibitory activity (28.37 mg/ml based on IC50), while the Bushehr ecotype of A. ficifolia had the highest amount of anthocyanins (6.45 mg) and the Yazd ecotype of A. officinalis had the highest tyrosinase enzyme inhibitory activity (84.25 mg/ml based on IC50). Pearson's correlation coefficients revealed a positive and significant correlation between the investigated traits. In orthogonal comparisons, the Kermanshah, Mazandaran, and Isfahan ecotypes of A. officinalis had the highest levels of flavonoids and cholinesterase inhibitory activity. Cluster analysis by the WARD method showed that the ecotypes related to one species were placed in one group.

Conclusion: These findings suggest that the studied species and ecotypes have high diversity, which can be useful for improvement and selection of phytochemical traits in marshmallow. The investigated ecotypes can be used as the base population and initial parents of the cross in further experiments.

Cite this article: Arjmand, A., Ebrahimi, M., Bihamta, M. R., & Moradi, N. (2023). Evaluation of phytochemical traits in different ecotypes of marshmallow (*Althaea* spp.). *Journal of Crops Improvement*, 25 (3), 755-767.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.356938.2801

© The Authors.
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.356938.2801

انتشارات دانشگاه تهران

به زراعی کشاورزی

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

شاپا الکترونیکی: ۲۳۴۵-۶۹۵۷

ارزیابی صفات فیتوشیمیایی در اکوتیپ‌های مختلف گل‌ختمی (*Althaea* sp.)

امین ارجمند[۱] | محسن ابراهیمی[۲]✉ | محمدرضا بی‌همتا[۳] | نرگس مرادی[۴]

۱. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: amin.arjmand@ut.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: mebrahimi@ut.ac.ir

۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: mrghanad@ut.ac.ir

۴. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: na_moradi@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۷
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۶/۲۹

کلیدواژه‌ها:
آنتوسیانین
آنزیم کولین استراز
اکوتیپ
گل ختمی

چکیده

هدف: گل‌ختمی متعلق به جنس Althaea و خانواده Malvaceae می‌باشد. این گیاه بومی آسیا، جنوب آفریقا و آمریکا است. این گیاه در سراسر ایران در مراتع طبیعی یافت می‌شود. هدف از انجام این پژوهش شناسایی بهترین اکوتیپ‌های گل‌ختمی از نظر صفات فیتوشیمیایی موردمطالعه در این آزمایش و معرفی بهترین اکوتیپ‌ها به‌منظور پژوهش‌های بیش‌تر و استفاده به‌عنوان والدین تلاقی در پروژه‌های به‌نژادی می‌باشد.

روش پژوهش: در این پژوهش صفات فیتوشیمیایی در نُه اکوتیپ و سه گونه مختلف بررسی شد. این صفات شامل میزان فلاونوئید کل، محتوی آنتوسیانین کل، میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم تیروزیناز و میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم کولین استراز بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که از نظر میزان فلاونوئید و میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم استیل‌کولین‌استراز اکوتیپ کرمانشاه از گونه *A. officinalis* به‌ترتیب ۱۸/۴۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره و ۲۸/۳۷ (mg/ml IC۵۰ مبتنی بر)، از نظر میزان آنتوسیانین اکوتیپ بوشهر متعلق به گونه *A. ficifolia*، ۶/۴۵ میلی‌گرم بر گرم عصاره خشک و از نظر میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم تیروزیناز اکوتیپ یزد با ۸۴/۲۵ (mg/ml IC۵۰ مبتنی بر)، بالاترین مقادیر را داشتند. پس از محاسبه ضرایب همبستگی پیرسون مشخص شد که بین صفات موردبررسی همبستگی مثبت و معنادار وجود دارد. در مقایسات اورتوگونال نیز اکوتیپ‌های کرمانشاه، مازندران و اصفهان متعلق به گونه *A. officinalis* از نظر میزان فلاونوئید و میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم کولین‌استراز دارای بالاترین مقدار بودند. در تجزیه خوشه‌ای به‌روش WARD اکوتیپ‌های مربوط به هر گونه در گروه مجزا قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: بنابراین با توجه به تنوع بالا بین گونه‌ها و اکوتیپ‌های موردمطالعه، به‌منظور اصلاح و گزینش صفات فیتوشیمیایی در گل ختمی از اکوتیپ‌های بررسی‌شده در این آزمایش می‌توان به‌عنوان جمعیت پایه و والدین اولیه تلاقی استفاده کرد.

استناد: ارجمند، امین؛ ابراهیمی، محسن؛ بی‌همتا، محمدرضا؛ و مرادی، نرگس (۱۴۰۲). ارزیابی صفات فیتوشیمیایی در اکوتیپ‌های مختلف گل‌ختمی (*Althaea* sp.). *به‌زراعی کشاورزی*، ۲۵ (۳)، ۷۵۵-۷۶۷. DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.356938.2801

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

CC BY NC

۱. مقدمه

در سال‌های اخیر آگاهی نسبت به گیاهان دارویی افزایش یافته است و اهمیت گیاهان دارویی نیز نسبت به گذشته بیش‌تر شناخته شده است. داروهای گیاهی به‌راحتی در دسترس، ایمن و کارآمد هستند و به‌ندرت عوارض جانبی دارند (Siddiqui, 2021). تخمین زده می‌شود ۷۰ تا ۸۰ درصد مردم در سراسر جهان برای رفع نیازهای اولیه مراقبت‌های بهداشتی خود به نوعی متکی به داروهایی سنتی و به‌طور عمده گیاهی هستند. گیاهان دارویی از طریق تهیه مواد تشکیل‌دهنده داروها یا ایفای نقش اصلی در کشف دارو کمک بزرگی به علم پزشکی کرده‌اند. اما با وجود پیشرفت در حوزه گیاهان دارویی، هم‌چنان خواص ترکیبات فعال بسیاری از گیاهان دارویی ناشناخته مانده است (AC, 2004). گل ختمی متعلق به جنس Althaea و خانواده Malvaceae می‌باشد. این گیاه بومی آسیا، جنوب آفریقا و آمریکا است. ایران یکی از مراکز تنوع اصلی این گیاه محسوب می‌شود و در سراسر ایران در مراتع طبیعی یافت می‌شود (Kianitalaei *et al*., 2019). استفاده از گیاهان خانواده Malvaceae از گذشته تا به امروز رایج است، از جمله این گیاهان می‌توان *Althaea officinalis* و *Althaea rosea* و *Althaea ficifolia* را نام برد. گل ختمی در طب سنتی به‌طور گسترده‌ای در درمان بیماری‌های گوارشی، تنفسی، دیابت و بیماری‌های دهان استفاده می‌شود (Al-Snafi, 2013). پلی‌ساکارید موجود در گیاه، مونوسیت‌های انسانی رو وادار به تولید سیتوکنین می‌کند که فعالیت ضدالتهابی دارند و سیستم ایمنی بدن را تحریک می‌کنند. فعالیت‌های دارویی گل ختمی در طب مدرن نیز تأیید شده است (Golshani *et al*., 2015). این گیاه برای درمان بیماری‌های دندان و زخم معده نیز مؤثر است (Sutovska *et al*., 2011). خواص دارویی اثبات‌شده در گل ختمی در درجه اول به موسیلاژی نسبت داد می‌شود که در ریشه‌ها و برگ‌ها وجود دارد. ریشه‌ها با اسید اضافی معده مقابله می‌کنند و برای درمان زخم معده، ورم معده و مشکلات روده مانند سندروم روده تحریک‌پذیر تجویز می‌شوند (Valiei, 2011). از دیگر خواص گل ختمی می‌توان اثرات ضدویروسی، ضدتوموری، کاهش سرفه و تحریک گلو و کاهش واکنش‌های آلرژیک در حساسیت‌های فصلی را نام برد (Ali Shah *et al*., 2011). ریشه گل ختمی حاوی موسیلاژ، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، آنتوسیانین، بتائین، گالاکتوز، گلوکز و سایر اسیدهای فنلیک می‌باشد. برگ و گل این گیاه نیز دارای مقادیر مختلفی از ترکیبات فلاونوئیدی، اسید اولئیک، ریبوفلاوین، آنتوسیانین، سیتوسترول، ریبوفلاوین و سایر ترکیبات فیتوشیمیایی می‌باشد (Fahamiya *et al*., 2016). در پژوهش‌های مختلف ثابت شده است که ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Akbari *et al*., 2023). ریشه گل ختمی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آرام‌کننده است و در رفع سرفه‌های شدید استفاده می‌شود (Šutovská *et al*., 2009). عصاره این گیاه در برابر باکتری‌های بی‌هوازی دندان فعالیت ضدباکتریایی دارد و پیشنهاد شده است از عصاره این گیاه به‌منظور پیشگیری و درمان بیماری‌های دندان به‌عنوان داروی موضعی استفاده شود (Iauk *et al*., 2003). با توجه به این‌که ایران یکی از مراکز تنوع این گیاه محسوب می‌شود و از طرفی اهمیت دارویی گیاه گل‌ختمی، به‌منظور شناسایی تنوع فیتوشیمیایی و ژنتیکی این گیاه که اساس و پایه شروع برنامه به نژادی و به‌زراعی می‌باشد، انجام این پژوهش ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف از انجام این پژوهش، شناسایی بهترین اکوتیپ‌های گل ختمی از نظر صفات فیتوشیمیایی موردمطالعه در این آزمایش و معرفی بهترین اکوتیپ‌ها به‌منظور پژوهش‌های بیش‌تر و استفاده به‌عنوان والدین تلاقی در پروژه‌های به‌نژادی می‌باشد.

۲. پیشینه پژوهش

تیروزیناز آنزیمی کلیدی در مسیر بیوسنتز رنگدانه‌های بیولوژیک و ملانین است، این آنزیم کاتالیزور مرحله اول سنتز ملانین در پستانداران و مسئول واکنش‌هایی است که در میوه‌ها باعث تخریب و قهوه‌ای شدن آن‌ها پس از برداشت

محصول می‌شود. به‌علاوه، در پستانداران و انسان این آنزیم در ارتباط با بسیاری از بیماری‌های مرتبط با تیرگی پوست از جمله هایپرپیگمنتاسیون و لکه‌های پوستی می‌باشد (Hseu *et al*., 2015). به‌دلیل اهمیت آنزیم تیروزیناز در صنایع آرایشی، غذایی به‌ویژه در ارتباط با فرآورده‌های دارویی مرتبط با بسیاری از بیماری‌های پوستی، مهارکنندگان این آنزیم بسیار موردتوجه هستند. دسته‌های مختلفی از مهارکنندگان صناعی و طبیعی این آنزیم توسط پژوهش‌گران مختلف معرفی شده و موردبررسی قرار گرفته‌اند. از میان دسته‌های مهارکننده‌های مختلف آنزیم تیروزیناز مشتقات فنلی مختلف از جمله فلاونوئیدها را می‌توان نام برد که در منابع گیاهی مختلف یافت می‌شوند (Ullah *et al*., 2016). فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات پلی‌فنلیک می‌باشند که در سال‌های اخیر اثرات فارماکولوژی این ترکیبات روی بیماری آلزایمر موردتوجه بیش‌تری قرار گرفته است، فلاونوئیدها هم‌چنین اثرات ضدالتهابی، ضدباکتری و اثرات ضدتوموری دارند و به‌عنوان فیلتر حفاظتی در بدن عمل می‌کنند (Młodzińska, 2009). آنزیم استیل‌کولین استراز نیز نقش مهمی را در فعال‌سازی سیستم عصبی مرکزی ایفا می‌کند، این آنزیم استیل‌کولین را به کولین و استیک‌اسید تبدیل می‌کند. استیل کولین هم به‌عنوان ناقل عصبی در سیستم عصب مرکزی نقش ایفا می‌کند و بیش‌فعالی این آنزیم منجر به بروز بیماری آلزایمر می‌شود، مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز یکی مهم‌ترین اهداف درمانی این بیماری می‌باشد (Gupta *et al*., 2008). بازدارنده‌های این آنزیم همانند تاکرین، فیزواستگمین و دونپیزول برای درمان این بیماری استفاده می‌شوند و به‌دلیل پیچیدگی‌های شیمیایی گیاهان و گستره وسیع ترکیب‌های فعال بیولوژیکی، تصور بر این است که گیاهان می‌توانند تیمار جایگزینی برای بیماری آلزایمر باشند (Legay, 2000). آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های طبیعی متعلق به خانواده فلاونوئیدها هستند و در اندام‌های مختلف گیاه مانند میوه‌ها، گل، ساقه، ریشه و برگ وجود دارند. یکی از تأثیرات مهم آنتوسیانین‌ها در بدن جلوگیری از بیماری‌های قلب و عروقی است (De Pascual-Teresa & Sanchez-Ballesta, 2008) پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که آنتوسیانین‌ها در کاهش و درمان التهاب‌های عصبی نقش مؤثری دارند و هم‌چنین مشخص است که آنتوسیانین‌ها در درمان و پیشگیری بیماری آلزایمر نیز مؤثر هستند. از دیگر کاربردهای دارویی آنتوسیانین‌ها می‌توان پیشگیری و درمان بیماری پارکینسون را نام برد (Henriques *et al*., 2020).

۳. روش‌شناسی پژوهش

۳. ۱. محل اجرای آزمایش

این پژوهش در دو سال ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ در گلخانه پژوهشی دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان دانشگاه تهران واقع در شهرستان پاکدشت با طول جغرافیایی ۵۱ درجه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه شمالی و ارتفاع ۱۰۱۳ متری از سطح دریا و در فاصله ۳۶ کیلومتری جنوب‌شرقی تهران انجام گرفت.

۳. ۲. صفات موردارزیابی، طرح آزمایشی و تیمارها

صفات فیتوشیمیایی موردارزیابی در این پژوهش شامل میزان فلاونوئیدکل، محتوای آنتوسیانین‌کل، میزان فعالیت مهاری آنزیم تیروزیناز، میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم کولین‌استراز بودند. تیمارها شامل اکوتیپ‌های مختلف از گونه‌های متفاوت گل‌ختمی (جدول۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار موردارزیابی قرار گرفت، تیمارها نیز با مقایسه میانگین دانکن در سطح ۵ درصد و ۱ درصد موردارزیابی قرار گرفتند. تیمارها شامل اکوتیپ‌های کرمانشاه، مازندران و اصفهان از گونه *A. officinalis*، اکوتیپ‌های یزد، کرمان و خوزستان از گونه *A. rosea* و اکوتیپ‌های شیراز، بوشهر و قزوین از گونه *A. ficifolia* بودند. اکوتیپ‌های مورداستفاده در این پژوهش از سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور دریافت شد.

جدول ۱. مشخصات و محل جمع‌آوری گونه‌ها و اکوتیپ‌های مورداستفاده در پژوهش

شماره نمونه	محل جمع‌آوری (اکوتیپ)	ارتفاع از سطح دریا	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	گونه
۱	کرمانشاه	۱۴۰۰	°۳۴,۳۲۷۷	°۴۷,۰۷۷۸	*A. officinalis*
۲	مازندران	۴۰	°۳۶,۵۶۵۹	°۵۳,۰۵۸۶	*A. officinalis*
۳	اصفهان	۱۵۷۵	°۳۲,۶۵۳۹	°۵۱,۶۶۶۰	*A. officinalis*
۴	یزد	۱۲۳۷	°۳۱,۸۹۷۴	°۵۴,۳۵۶۹	*A. rosea*
۵	خوزستان	۱۲	°۳۱,۴۳۶۰	°۴۹,۰۴۱۳	*A. rosea*
۶	کرمان	۱۷۵۶	°۳۰,۲۸۳۹	°۵۷,۰۸۳۴	*A. rosea*
۷	شیراز	۱۵۰۰	°۲۹,۵۹۲۶	°۵۲,۵۸۳۶	*A. ficifolia*
۸	قزوین	۱۳۴۷	°۳۶,۲۷۹۵	°۵۰,۰۰۴۶	*A. ficifolia*
۹	بوشهر	۱۸	°۲۸,۹۱۴۵	°۵۰,۸۲۷۹	*A. ficifolia*

۳. ۳. عصاره گیری از نمونه‌ها

عصاره‌گیری از ریشه و به‌روش سوکسله (عصاره متانولی) که یکی از مرسوم‌ترین و شناخته‌شده‌ترین روش‌های استخراج عصاره در آزمایشگاه است انجام شد (Krishnaiah *et al*., 2012).

۳. ۴. سنجش میزان فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید به‌روش Chang *et al*. (2002) اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا یک میلی‌گرم از عصاره برگ را در یک میلی‌لیتر متانول حل کرده، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره گیاهی با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم‌کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات‌پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه جذب مخلوط در ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. از کوئرستین در غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰، ..... و ۱۰۰) میکروگرم بر میلی‌لیتر برای رسم منحنی استاندارد استفاده و نتایج برحسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد.

۳. ۵. سنجش آنتوسیانین کل

به‌منظور ارزیابی آنتوسیانین‌کل ابتدا ۰/۰۴ سی‌سی عصاره متانولی برگ را در دو لوله جداگانه ریخته، به یکی ۳/۶ میلی‌لیتر بافر پتاسیم‌کلراید (۰/۰۲۵ مولار) در pH ۱ و به دومین لوله آزمایش ۳/۶ میلی‌لیتر بافر سدیم‌استات (۰/۴ مولار) در pH ۴/۵ افزوده و جذب هر یک از لوله‌ها در طول موج‌های ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد (Lako *et al*., 2007). مقدار آنتوسیانین‌کل برحسب میلی‌گرم آنتوسیانین معادل Cyanidin-3-glucosid در گرم محاسبه شد.

۲. ۶. سنجش میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم تیروزیناز

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت بازدارندگی تیروزیناز از روش Zheng *et al*. (2013) استفاده شد. عصاره‌ها به‌صورت تازه در محلول DMSO[1] و در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و بعد با محلول DMSO به غلظت‌های کم‌تر (۱۵ تا ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) رقیق‌سازی شدند. ۵۰ میکرولیتر محلول نمونه آزمایشی با ۴۵۰ میکرولیتر بافرفسفات‌سدیم ۰/۰۵

۱. دی‌متیل‌سولفوکسید

میلی‌مولار با pH ۶/۸ حل شده و سپس ۵۰۰ میکرولیتر محلول ال- تیروزین ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به آن اضافه شد. در نهایت ۵۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی تیروزیناز (۲۰۰ واحد بر میلی‌لیتر) اضافه شد. از محلول DMSO و کوجیک‌اسید به‌ترتیب به‌عنوان نمونه شاهد و کنترل مثبت استفاده شد. مخلوط واکنشی (۱/۵ میلی‌لیتر) با ورتکس به‌خوبی مخلوط گردید و جذب نمونه در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت نتایج برحسب (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) بیان شد.

۳. ۷. سنجش میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم کولین استراز

به‌منظور ارزیابی میزان مهار آنزیم کولین‌استراز از روش Amessis *et al.* (2014) استفاده شد. در این روش بازدارندگی آنزیم کولین‌استراز توسط استیل‌کولین یدید که به تیوکولین تبدیل می‌گردد، تعیین می‌شود. واکنش تیوکولین با DTNB[1] منجر به تشکیل آنیون زردرنگ به نام نیتروبنزوئیک‌اسید می‌شود. در این روش ۳۲۵ میکرولیتر محلول ۵۰ میلی‌مولار بافر تریس pH ۸ (۱۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی در غلظت‌های مختلف (۰/۵ تا ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و ۲۵ میکرولیتر محلول آنزیمی (۰/۲۶ واحد بر میلی‌لیتر) به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تیمار شد. سپس ۷۵ میکرولیتر محلول استیل کولین‌یداد ۱۵ میلی‌مولار و ۴۷۵ میکرولیتر محلول ۳ میلی‌مولار DTNB اضافه شده و در نهایت جذب نمونه در طول موج ۴۱۲ نانومتر قرائت شد. از گالانتامین به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در نهایت نتایج برحسب (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) بیان شد.

۳. ۸. آنالیزهای آماری

داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش پس از آزمون نرمال‌بودن بر پایه طرح کاملاً تصادفی با درنظرگرفتن چهار تکرار تجزیه و تحلیل شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۱/۹ و نرم‌افزار SPSS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نیز به استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۴. یافته‌های پژوهش

۴. ۱. فلاونوئید کل

از نظر میزان فلاونوئیدکل اکوتیپ کرمانشاه از گونه *A. officinalis* با ۱۸/۴۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بالاترین مقدار و اکوتیپ قزوین از گونه *A. ficifolia* با ۱۲/۰۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره کم‌ترین مقدار فلاونوئید را داشتند. هم‌چنین دامنه مقادیر فلاونوئید کل نشان‌دهنده تنوع بالا در اکوتیپ‌ها و گونه‌های موردمطالعه بود. به‌طوری‌که حتی درون گونه‌ها و بین اکوتیپ‌های متعلق به یک گونه نیز از نظر میزان فلاونوئیدکل تفاوت معنی‌دار وجود داشت (شکل۱).

۴. ۲. آنتوسیانین کل

از نظر میزان آنتوسیانین اکوتیپ بوشهر متعلق به گونه *A. ficifolia* با ۶/۴۵ میلی‌گرم آنتوسیانین بالاترین مقدار و اکوتیپ‌های یزد و خوزستان از گونه *A. rosea* به‌ترتیب با ۲/۰۵ و ۲/۰۲ میلی‌گرم آنتوسیانین کم‌ترین مقدار را داشتند. از نظر میزان آنتوسیانین بین و درون گونه‌های موردمطالعه تنوع بالایی وجود داشت (شکل ۲).

---

۱. نیتروبنزوئیک اسید

شکل ۱. مقایسه میانگین فلاونوئیدکل در اکوتیپ‌های گل‌ختمی موردمطالعه

شکل ۲. مقایسه‌میانگین آنتوسیانین در اکوتیپ‌های گل‌ختمی موردمطالعه

۴. ۳. میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم کولین استراز

اکوتیپ کرمانشاه و اصفهان متعلق به گونه *A. officinalis* به‌ترتیب با ۲۸/۳۷ و ۲۷ (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) دارای بالاترین میزان و اکوتیپ‌های یزد و خوزستان از گونه *A. rosea* به‌ترتیب با ۱۲/۲۵ و ۱۱/۹ (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) دارای کم‌ترین مقدار مهار آنزیم استیل کولین‌استراز بودند (شکل۳).

شکل ۳. مقایسه میانگین میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم استیل‌کولین‌استراز در اکوتیپ‌های مختلف گل‌ختمی موردمطالعه

۴. ۴. میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم تیروزیناز

از نظر میزان عغالیت بازدارندگی آنزیم تیزوزیناز‌اکوتیپ‌های یزد، خوزستان و کرمان که همگی متعلق به گونه *A. rosea* بودند به‌ترتیب با ۸۴/۲۵، ۸۲/۳۷ و ۷۷/۶۲ (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) بالاترین مقدار و اکوتیپ کرمانشاه از گونه *A. officinalis* با ۴۷/۸۷ (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) کم‌ترین میزان فعالیت مهاری آنزیم‌تیروزیناز را دارا بودند. نتایج حاکی از این بود که از نظر میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم‌تیزوزیناز همه اکوتیپ‌های گونه *A. rosea* در یک گروه و بالاتر از اکوتیپ‌های گونه‌های دیگر قرار گرفتند (شکل ۴).

شکل ۴. مقایسه میانگین میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم تیروزیناز در اکوتیپ‌های مختلف گل‌ختمی موردمطالعه

۴. ۵. محاسبه همبستگی پیرسون صفات فیتوشیمیایی

پس از محاسبه ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات شیمیایی مشخص شد بین میزان فلاونوئید و میزان فعالیت مهاری آنزیم تیروزیناز ۰/۹۰ همبستگی وجود دارد. همبستگی بین میزان فلاونوئید و فعالیت مهاری آنزیم کولین‌استراز نیز ۷۷ درصد بود. میزان همبستگی بین آنتوسیانین با تیروزیناز و فلاونوئید نیز به‌ترتیب ۸۱ و ۶۲ درصد به‌دست آمد (جدول ۲).

جدول ۲. همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده در اکوتیپ‌های مختلف گل ختمی

صفات	فلاونوئید	آنتوسیانین	تیروزیناز
فلاونوئید	۱	۰/۶۲۷*	–
آنتوسیانین	–	۱	–
تیروزیناز	۰/۹۰۴**	۰/۸۱۸*	۱
کولین استراز	۰/۷۷۰*	۰/۷۰۸*	۰/۷۵۴*

* و **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

۴. ۶. مقایسات اورتوگونال بین اکوتیپ‌های مورد‌آزمایش

به‌منظور شناسایی بهترین گونه‌ها از نظر صفات موردارزیابی، مقایسات گروهی بین اکوتیپ‌ها انجام گرفت. در نهایت مشخص شد از نظر میزان آنتوسیانین گونه *A. ficifolia* که شامل اکوتیپ‌های شیراز، بوشهر و قزوین بود با میانگین ۵/۵۵ میلی‌گرم بالاترین مقدار را نسبت به سایر گونه‌ها داشت. از نظر میزان فلاونوئید نیز، گونه *A. officinalis* که شامل اکوتیپ‌های کرمانشاه، مازندران و اصفهان بود با میانگین ۱۵/۹۸میلی‌گرم بالاترین مقدار را نسبت به سایر گونه‌ها داشت. پس از انجام مقایسات اورتوگونال بین اکوتیپ‌ها از نظر میزان فعالیت مهاری آنزیم تیروزیناز مشخص شد که گونه *A.*

rosea که شامل اکوتیپ‌های یزد، کرمان و خوزستان بود با میانگین ۸۱/۴۱ (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) دارای بالاترین مقدار است. از نظر میزان فعالیت مهاری آنزیم کولین‌استراز نیز، گونه *A. officinalis* با میانگین ۲۶/۳۳ (mg/ml مبتنی بر IC۵۰) دارای بالاترین مقدار بود (جدول ۳).

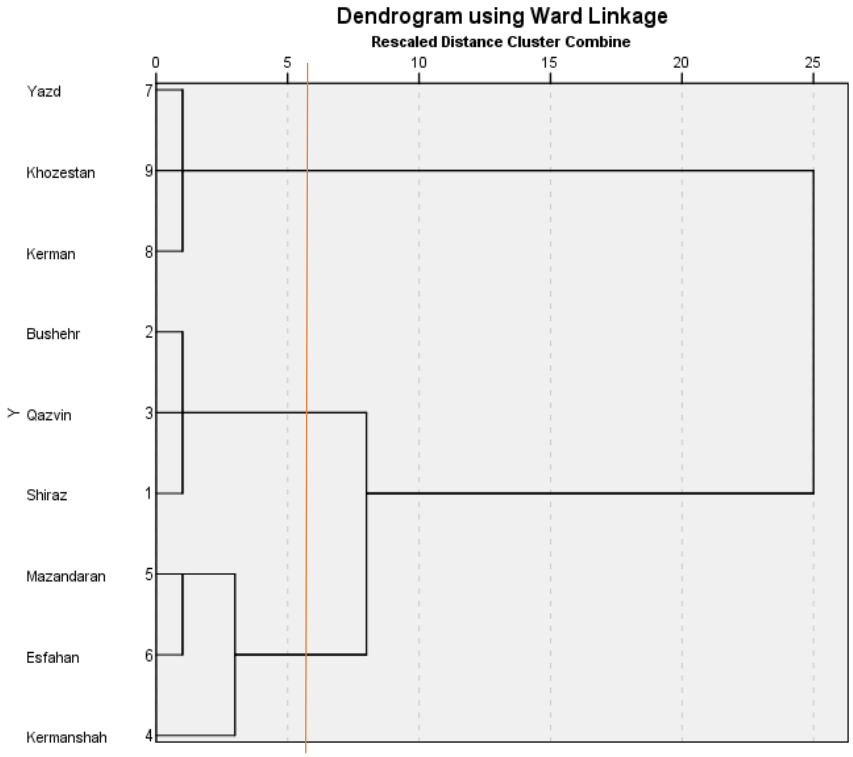
جدول ۳. مقایسات اورتوگونال صفات اندازه‌گیری‌شده در اکوتیپ‌های مختلف گل‌ختمی

مقایسات	آنتوسیانین	فلاونوئید	کولین استراز	تیروزیناز
F1+F2+F3 VS OTHER	۲۰۴۰۴/۵**	۱۲۰۹۶**	۹۰۲/۶۴**	۱۸۰/۵۰**
R1+R2+R3 VS OTHER	۱۴۸۷۲**	۱۶۹۱/۱۶**	۷۷۷۷/۳۶**	۱۴۷/۵۶**
O1+O2+O3 VS OTHER	۴۳۶/۵۵**	۲۲۸۳۲/۹**	۱۳۹۷۹/۱**	۱۰۵/۶۰**

اکوتیپ کرمانشاه: O1؛ اکوتیپ مازندران: O2؛ اکوتیپ اصفهان: O3؛ اکوتیپ یزد: R1؛ اکوتیپ کرمان: R2؛ اکوتیپ خوزستان: R3؛ اکوتیپ شیراز: F1؛ اکوتیپ بوشهر: F2؛ اکوتیپ قزوین: F3.
* و **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

۴. ۷. تجزیه خوشه‌ای داده‌های فیتوشیمیایی

در تجزیه‌خوشه‌ای به‌روش WARD اکوتیپ‌ها در چهار گروه قرار گرفتند، به‌طوری‌که اکوتیپ‌هایی که مربوط به یک گونه بودند در یک گروه قرار گرفته و تشابه ژنتیکی بیش‌تری با هم داشتند. اکوتیپ‌های یزد، کرمان و خوزستان که هر سه مربوط به گونه *A. rosea* بودند در یک گروه قرار گرفتند. از طرفی در یک گروه قرارگرفتن اکوتیپ یزد و کرمان با توجه به محیط جغرافیایی تقریباً مشابه یزد و کرمان از قبل نیز قابل انتظار بود. اکوتیپ‌های شیراز، بوشهر و قزوین نیز که همگی از گونه *A. ficifolia* بودند در یک گروه قرار گرفتند. در مورد گونه *A. officinalis* نیز اکوتیپ‌های مازندران و اصفهان و کرمانشاه در یک گروه قرار گرفتند.



شکل ۵. تجزیه‌خوشه‌ای براساس روش WARD در اکوتیپ‌های مختلف گل‌ختمی

۵. بحث

میزان فلاونوئیدکل در اکوتیپ‌های موردبررسی نشان‌دهنده وجود این ترکیبات در ریشه گل‌ختمی بود و این نتیجه با پژوهش Sendker *et al*. (2017) مطابقت داشت. لازم به ذکر است که وجود فلاونوئید کل در همه گونه‌ها و اکوتیپ‌های موردمطالعه تأیید شد و این مشاهده نیز با پژوهش Xue *et al*. (2021) مطابقت داشت. با توجه به این‌که اکوتیپ‌های کرمانشاه، مازندران و اصفهان به‌ترتیب بالاترین مقادیر فلاونوئید کل را داشتند و از طرفی هر سه متعلق به گونه *A. officinalis* می‌باشند، بنابراین این گونه به‌منظور اصلاح برای افزایش میزان فلاونوئید در پژوهش‌ها و پروژه‌های اصلاحی آینده می‌توان استفاده کرد. طی مطالعه‌ای که توسط Miguel (2011) انجام شد، مشخص گردید آنتوسیانین با مهار آنزیم آلفا گلوکوسیداز روده‌ای در فرایند تبدیل دی‌ساکارید به مونوساکارید تأخیر انداخته و از این طریق سبب کاهش قند خون می‌شود. در این پژوهش وجود آنتوسیانین در تمامی گونه و اکوتیپ‌های موردمطالعه تأیید شد و این نتایج با نتایج مطالعه اشراقی و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت داشت. وجود مقادیر متفاوت آنتوسیانین در تمامی اکوتیپ‌های موردمطالعه، خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه را تأیید کرده و مطابق با پژوهش مطهری‌نیا و همکاران (۱۳۹۰) بود. به‌طور کلی از نظر میزان آنتوسیانین‌کل گونه *A. ficifolia* نسبت به سایر گونه‌ها مقدار بالاترین داشته و بنابراین از تلاقی‌های درون‌گونه‌ای به‌منظور بهره‌مندی از هتروزیس برای افزایش آنتوسیانین کل می‌توان استفاده کرد. پژوهش در مورد بازدارنده آنزیم استیل‌کولین‌استراز در میان منابع طبیعی و به‌ویژه گیاهان در عرصه تحقیقاتی رو به گسترش می‌باشد (Murray *et al*., 2013). در این پژوهش برای اولین بار میزان فعالیت مهاری این آنزیم در گونه‌ها و اکوتیپ‌های مختلف گل‌ختمی موردبررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از تنوع بالای گونه‌ها و اکوتیپ‌های مختلف گل ختمی نسبت به میزان فعالیت مهاری این آنزیم بود. با توجه به این‌که اکوتیپ کرمانشاه از نظر دو صفت میزان فلاونوئید کل و میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم کولین‌استراز دارای بالاترین مقدار می‌باشد. بنابراین در روند اصلاح این گیاه در پژوهش‌های آینده به‌منظور افزایش میزان صفات بررسی‌شده در این پژوهش، اکوتیپ کرمانشاه گزینه مناسبی برای استفاده به‌عنوان یکی از والدین تلاقی می‌باشد. مطالعات مختلفی بر روی منابع گیاهی گوناگون مهارکننده آنزیم تیروزیناز صورت گرفته است (Jo *et al*., 2012). در این پژوهش برای اولین بار میزان فعالیت مهاری آنزیم تیروزیناز در گل ختمی موردبررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از این بود که گونه‌ها و اکوتیپ‌های گل ختمی از نظر میزان فعالت مهاری آنزیم تیروزیناز دارای تنوع قابل‌ملاحظه‌ای می‌باشند. گونه *A.rosea* بیش‌تر به‌عنوان یک گونه زینتی شناخته می‌شود و تا به‌حال مطالعات بسیار کمی در مورد کاربرد دارویی این گیاه صورت گرفته است. با توجه به این‌که این گونه از نظر آماری مقدار بالاتر و تفاوت معنی‌داری از نظر میزان فعالیت بازدارندگی آنزیم تیروزیناز نسبت به سایر گونه‌ها دارد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت این گونه دارای پتانسیل دارویی نیز می‌باشد و البته برای اثبات این موردنیاز به مطالعات بیش‌تر توسط پژوهش‌گران در آینده می‌باشد. با توجه به همبستگی مثبت بین صفات فیتوشیمیایی در روند اصلاح این گیاه انتخاب برای هر کدام از صفات می‌تواند به نوعی افزایش میزان سایر صفات را نیز به دنبال داشته باشد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مقایسات گروهی در روند اصلاح گیاهان گل‌ختمی اگر هدف اصلاح‌گر افزایش میزان فلاونوئید و میزان فعالیت مهاری آنزیم کولین‌استراز باشد، گونه *A. officinalis* بهترین انتخاب است و درصورتی‌که هدف اصلاح‌گر میزان بالای آنتوسیانین و فعالیت مهاری آنزیم تیروزیناز باشد به‌ترتیب گونه‌های *A. ficifolia* و *A. rosea* بهترین انتخاب خواهند بود. تجزیه خوشه‌ای داده‌های فیتوشیمیایی به‌روش WARD نیز نشان‌دهنده وجود تنوع در بین اکوتیپ‌های موردبررسی بود.

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در این پژوهش صفات فیتوشیمیایی موردمطالعه دربین گونه‌ها داری تنوع قابل‌ملاحظه‌ای بودند. به‌طوری‌که گونه *A. officinalis* از نظر فعالیت مهاری آنزیم استیل‌کولین‌استراز و میزان فلاونوئید، گونه *A. ficifolia* از نظر آنتوسیانین و هم‌چنین گونه *A. rosea* از نظر میزان مهار آنزیم تیروزیناز بالاترین مقدار را داشتند، بنابراین با توجه به تنوع بالا و تلاقی‌پذیربودن این گونه‌ها با یکدیگر، به‌منظور بهره‌مندی از هتروزیس به‌عنوان والدین تلاقی و جمعیت اولیه در پروژه‌های به‌زراعی و اصلاحی می‌توان از آن‌ها استفاده کرد.

۷. تشکر و قدردانی

از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان به‌دلیل در اختیارگذاشتن امکانات آزمایشگاه و گلخانه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

اشراقی، سید سعید؛ امین، غلامرضا و فخری، سوسن (۱۳۸۸). مطالعه اثرات ضدباکتریایی و فیتوشیمیایی عصاره تام دوازده گونه از گیاهان بومی ایران بر سوش‌های بیماری‌زای نوکاردیا. *تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک (پژوهش و سازندگی)*، ۲۲ (۱)، ۶۲-۷۳.

مطهری‌نیا، یوسف؛ رضایی، محمدعلی؛ زندی، فرید؛ حسینی، وریا؛ رشیدی، احمد؛ احمدی‌نیاز، مبین؛ امینی‌پور، ادریس و رحمانی، محمدرضا (۱۳۹۰). مقایسه اثر ضد قارچی عصاره ریشه شیرین‌بیان، گیاه ختمی و کتوکونازول بر مالاسزیا فورفور. *ارمغان دانش*، ۱۶ (۵ (۶۵))، ۴۲۵-۴۳۲.

References

AC, H. (2004). No TitleMedicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodiversity and Conservation*, *13*, 1477-1517.

Akbari, A., Izadi-Darbandi, A., Bahmani, K., Farhadpour, M., Ebrahimi, M., Ramshini, H., & Esmaeili, Z. (2023). Assessment of phenolic profile, and antioxidant activity in developed breeding populations of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *48*(8), 102639. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102639

Al-Snafi, A. E. (2013). The Pharmaceutical importance of Althaea officinalis and Althaea rosea: A review. *International Journal of PharmTech Research*, *5*(3), 1378-1385.

Ali Shah, S. M., Akhtar, N., Akram, M., Shah, P. A., Saeed, T., Ahmed, K., & Asif, H. M. (2011). Pharmacological activity of *Althaea officinalis* L. *Journal of Medicinal Plant Research*, *5*(24), 5662-5666.

Amessis-ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L. V, Serralheiro, M. L., Eduarda, M., & Araújo, M. (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops & Products*, *53*, 6-15. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.008

Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). *Estimation of Total Flavonoid Content in*

Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *10*(3), 178-182.

De Pascual-Teresa, S., & Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: From plant to health. *Phytochemistry Reviews*, *7*(2), 281-299. https://doi.org/10.1007/s11101-007-9074-0

Eshraghi, Seyed Saeed, Amin, G., & Fakhri, S. (1388). Studying the antibacterial and phytochemical effects of total extracts of 12 species of native Iranian plants on Nocardia pathogenic strains. *Veterinary research and biological products*, *22*(1), 62-73. SID. https://sid.ir/paper/200805/fa. (In Persian).

Fahamiya, N., Shiffa, M., Aslam, M., & Muzn, F. (2016). Unani perspective of Khatmi (*Althaea officinalis*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *5*(6), 357-360.

Golshani, Y., Zarei, M., & Mohammadi, S. (2015). Acute/Chronic Pain Relief: Is Althaea officinalis Essential Oil Effective? *Avicenna Journal of Neuro Psych Physiology*, *2*(4). https://doi.org/10.17795/ajnpp-36586

Gupta, V. K., Fatima, A., Faridi, U., Negi, A. S., Shanker, K., Kumar, J. K., Rahuja, N., Luqman, S., Sisodia, B. S., Saikia, D., Darokar, M. P., & Khanuja, S. P. S. (2008). Antimicrobial potential of Glycyrrhiza glabra roots. *Journal of ethnopharmacology*, *116*(2), *377-380.* https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.037.

Henriques, J. F., Serra, D., Dinis, T. C. P., & Almeida, L. M. (2020). The Anti-Neuroinflammatory Role of Anthocyanins and Their Metabolites for the Prevention and Treatment of Brain Disorders. *International journal of molecular sciences*, *21*(22), 8653. https://doi.org/10.3390/ijms21228653.

Hseu, Y. C., Cheng, K. C., Lin, Y. C., Chen, C. Y., Chou, H. Y., Ma, D. L., Leung, C. H., Wen, Z. H., & Wang, H. M. (2015). Synergistic Effects of Linderanolide B Combined with Arbutin, PTU or Kojic Acid on Tyrosinase Inhibition. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *16*(12), 1120-1126. https://doi.org/10.2174/1389201016666150907112819.

Iauk, L., Bue, A. M. Lo, Milazzo, I., Rapisarda, A., Blandino, G., & Melissa, L. (2003). *Antibacterial Activity of Medicinal Plant*, *604*(5), 599-604.

Jo, Y., Seo, G., Yuk, H., & Lee, S. (2012). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of methanol extracts from Magnolia denudata and *Magnolia denudata* var. purpurascens flowers. *Food Research International*, *47*(2), 197-200. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.032.

Kianitalaei, A., Feyzabadi, Z., Hamedi, S., & Qaraaty, M. (2019). Althaea Officinalis in Traditional Medicine and modern phytotherapy. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, *9*(2), 154-161.

Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2012). Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. *Chemical Engineering Research and Design*, *90*(5), 622-632.

Lako, J., Trenerry, V. C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., & Premier, R. (2007). Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, *101*(4), 1727-1741. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.031.

Legay C. (2000). Why so many forms of acetylcholinesterase?. *Microscopy research and technique*, *49*(1), 56-72. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(20000401)49:1<56::AID-JEMT7>3.0.CO;2.

Młodzińska, E. (2009). Survey of plant pigments: molecular and environmental determinants of plant colors. *Acta Biologica Cracovienca Series Botanica*, *51*(1), 7-16.

Motaharinia, Y., Rezaei, M.A., Zandi, F., Hosseini, V., Rashidi, Ahmad, Ahmadniaz, Mobin, Aminipour, Idris, & Rahmani, Mohammadreza. (2011). Comparing the antifungal effect of licorice root extract, marshmallow plant and ketoconazole on Malassezia furfur. *Armaghane Danesh*, *16*(5), 425-432. SID. https://sid.ir/paper/77465/fa. (In Persian).

Miguel, M. G. (2011). *Anthocyanins: Antioxidant and / or anti-inflammatory activities*, *01*(06),

7-15.

Valiei, M. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the flower and root hexane extracts of Althaea officinalis in Northwest Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, *5*(32), 6972-6976. https://doi.org/10.5897/jmpr11.963

Murray, A. P., Faraoni, M. B., Castro, M. J., Alza, N. P., & Cavallaro, V. (2013). Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. *Current neuropharmacology*, *11*(4), 388-413.

Šutovská, M., Nosáľová, G., Šutovský, J., Fraňová, S., Prisenžňáková, L., & Capek, P. (2009). Possible mechanisms of dose-dependent cough suppressive effect of Althaea officinalis rhamnogalacturonan in guinea pigs test system. *International Journal of Biological Macromolecules*, *45*(1), 27-32.

Xue, T. T., Xu, H. B., Tang, Z. S., Duana, J. A., Liu, H. B., Shi, X. B., & Song, Z. X. (2021). Progress in chemical compositions and pharmacological activities of *Althaea officinalis*. *Medicine Research*, *5*(2), 210002.

Sendker, J., Bo, I., Lengers, I., Brandt, S., Jose, J., Stark, T., Hofmann, T., Fink, C., Abdel-aziz, H., & Hensel, A. (2017). Phytochemical characterization of low molecular weight constituents from marshmallow roots (*Althaea officinalis*) and inhibiting effects of the aqueous extract on human hyaluronidase-1. *Journal of Natural Products, 80*(2), *290-297.* https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00670.

Siddiqui, M. (2021). Phytochemical Analysis of Some Medicinal Plants. *Liaquat Medical Research Journal*, *3*(1), 1-5. https://doi.org/10.38106/lmrj.2021.36.

Sutovska, M., Capek, P., Franova, S., Joskova, M., Sutovsky, J., Marcinek, J., & Kalman, M. (2011). Antitussive activity of *Althaea officinalis* L. polysaccharide rhamnogalacturonan and its changes in guinea pigs with ovalbumine-induced airways inflammation. *Bratislavské lekárske listy*, *112*(12), 670-675.

Ullah, S., Son, S., Yun, H. Y., Kim, D. H., Chun, P., & Moon, H. R. (2016). Tyrosinase inhibitors: a patent review (2011-2015). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, *26*(3), 347-362.

Zheng, Z., Tan, H., Chen, J., & Wang, M. (2013). Fitoterapia Characterization of tyrosinase inhibitors in the twigs of Cudrania tricuspidata and their structure–activity relationship study. *Fitoterapia*, *84*, 242-247. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.12.006