بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه دارویی *Ferula assafoetida* L. در دو رویشگاه طبیعی استان‌های سمنان و خراسان

مرتضی مهرپور[۱]، بهاره کاشفی[۱*]، محمد مقدم[۲]

[۱]گروه کشاورزی، واحد دامغان، دانشگاه آزاداسلامی، دامغان، ایران

[۲]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/٤/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۸/۲۱

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه آنغوزه (*Ferula assafoetida* L.) در دو استان سمنان و خراسان رضوی در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت. اندازه‌گیری میزان فنل‌کل با استفاده از روش فولین- سیوکالتیو، فلاونوئید کل با روش کلرید آلومینیوم، تانن (فولیندنیس) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها نیز با استفاده از روش‌های DPPH و FRAP اندازه‌گیری گردیدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بیشترین میزان فنل کل (۱/۰۱٤ و ۲/۸ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک) به‌ترتیب در عصاره برگ از استان خراسان و سمنان مشاهده گردید. حداکثر میزان تانن به‌ترتیب در عصاره‌های ساقه و برگ استان خراسان و سمنان مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش DPPH (۱۱۱۱/۰۸ و ۷۳۱/٦۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌ترتیب در عصاره ریشه نمونه خراسان و عصاره ساقه سمنان مشاهده شد. به طورکلی، بالاترین میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید کل به‌ترتیب در عصاره برگ و ریشه گیاه در استان سمنان بدست آمد. همچنین اندام ریشه در خراسان از بالاترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود. بررسی داده‌ها حاکی از آن است که کیفیت و کمیت ترکیبات شیمیایی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آنها بسته به نوع اندام، تنوع رویشگاهی و سپس روش‌های ارزیابی متفاوت است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آنغوزه، تانن، خراسان و سمنان، فلاونوئید، فنل

[*]**مسئول مکاتبه**: bahareh.kashefi@gmail.com

مقدمه

آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) گیاهی علفی، کرک‌دار، چندساله و مونوکارپیک متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) می‌باشد (Wyk and Wink, 2004). خاستگاه این گیاه استپ‌های ایران و قسمت‌هایی از افغانستان می‌باشد. در ایران فلات مرکزی و مناطق کویری تا سلسله جبال زاگرس در استان‌های فارس، کرمان، خراسان، یزد، سمنان، هرمزگان، سیستان و بلوچستان، اصفهان، لرستان، کهکیلویه و بویراحمد و بوشهر به‌عنوان رویشگاه اصلی این گیاه ذکر شده‌اند (Leaman, 2006). از فراورده اندام‌های رویشی آن برای درمان هیستری، سیاه سرفه و زخم معده استفاده می‌شود. همچنین عصاره برگ‌ها و ساقه‌های خشک آن به عنوان داروی نیروبخش کاربرد خوراکی دارد (Elisabetsky et al., 1992). پودر صمغ آن به‌عنوان چاشنی غذا و از جوشانده آن به‌عنوان داروی ضدکرم مصرف خوراکی دارد (Seetharam and Pasricha, 1987). همچنین جوشانده ریشه‌های خشک شده این گیاه به عنوان داروی ضدانقباض و ضدتشنج کاربرد دارد.

اگرچه مواد موثره گیاهان دارویی اساساً با هدایت فرایند های ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی سنتز آنها به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد و سبب تغییر در رشد، مقدار و کیفیت مواد موثره آنها می‌گردد (Yanive and Palevitch, 1982). متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند ترکیبات فنلی دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (Mathew and Abraham, 2006). همچنین تانن‌ها با اثرات درمانی فراوان، ترکیباتی گس و قابضند و توانایی پیوستگی به پروتئین‌ها را داشته و باعث رسوب آنها می‌شوند (Omidbeygi, 2008).

ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهی به‌طورکلی ماهیت فنلی داشته و شامل ترکیب‌هایی نظیر توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها، اسیدهای فنلی (مشتقات اسید بنزوئیک و اسید سینامیک)، فلاونوئیدها و دی‌ترپن‌ها می‌باشند که به دو روش سنجش می‌شوند (Shahidi, 1997). این مواد معمولاً به‌منظور جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش زمان ماندگاری استفاده می‌شوند (Shi et al., 2005). تست DPPH یکی از قدیمی‌ترین روش‌های سنجش غیرمستقیم خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که براساس واکنش رادیکال آزاد پایدار DPPH با ترکیبات دهنده هیدروژن مانند فنل‌ها استوار می‌باشد. تست FRAP بر پایه توانایی ترکیبات فنلی در احیای Fe^{+3} به Fe^{+2} استوار می‌باشد (Roginsky and Lissi, 2005). شواهد زیادی وجود دارد که بیانگر سمی بودن و اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی‌اکسیدان‌های موجود در مواد غذایی می‌باشد. به همین دلیل امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن و کاهش ابتلاء به بعضی از بیماری‌های مزمن، مصرف گیاهان، میوه‌جات و سبزیجات با عوارض جانبی کمتر و درمان مفیدتر را توصیه می‌نمایند (Hunter, 2002).

مواد موثره در گیاهان مختلف برحسب شرایط اقلیمی و محیط رشد گیاهان، دارای مقادیر متفاوتی می‌باشند (Berimani, 1997). با توجه به اهمیت گیاهان دارویی بومی که اغلب در کشورمان از نظر مواد موثره دارویی ناشناخته باقی مانده‌اند، هدف از این تحقیق بررسی میزان فنل کل، فلاونوئید، تانن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه آنغوزه بدست آمده از اندام‌های مختلف در دو رویشگاه طبیعی آن به منظور شناخت بهتر این گیاه و فراهم نمودن زمینه لازم برای تحقیقات آینده بر روی این گیاه جهت استفاده آن در صنایع مختلف از جمله داروسازی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ به‌منظور اندازه‌گیری میزان فنل کل، فلاونوئید، تانن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی بدست آمده از اندام‌های مختلف گیاه آنغوزه از دو رویشگاه طبیعی این گیاه در دو استان صورت گرفت. نمونه‌های گیاهی از روستای مجن (آبشار مجن) از توابع شهرستان شاهرود در استان سمنان (طول جغرافیایی ' ۳۰ °۵۴ شمالی و عرض جغرافیایی ' ۴۰ °۳۶ شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۲۳۰۰ متر، خاک منطقه دارای بافت لومی شنی با اسیدیته ۸/۱۵، متوسط بارندگی منطقه حدود ۱۵۵/۲ میلی‌متر، حداقل و حداکثر درجه حرارت منطقه ۱۱/۸- و ۴۰/۶ درجه سانتی‌گراد) و روستای چلپو از توابع شهرستان کاشمر در خراسان رضوی (طول جغرافیایی ' ۲۶ °۵۸ شمالی و عرض جغرافیایی ' ۳۶ °۳۵ شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۱۷۰۰ متر، خاک منطقه دارای بافت لومی شنی با اسیدیته ۸/۳، متوسط بارندگی منطقه حدود ۲۹/۶ میلی‌متر، حداقل و حداکثر درجه حرارت منطقه به‌ترتیب ۱۱/۴- و ۲۳/۴ درجه سانتی‌گراد) جمع‌آوری شدند. پس از جمع‌آوری نمونه‌ها از هر منطقه ریشه، ساقه و برگ‌ها جداگانه در دمای اتاق و سایه با تهویه مناسب خشک شدند. سپس اجزاء خشک شده گیاه آسیاب و از آنها عصاره متانولی تهیه شد. برای این منظور ۱۰ گرم نمونه پودر شده گیاهی را به‌مدت ۴۸ ساعت داخل ۱۰۰ سی‌سی محلول متانول ۸۰ درصد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به وسیله پمپ خلاء صاف و با استفاده از دستگاه روتاری حلال از عصاره جدا گردید.

اندازه‌گیری فنل: اندازه‌گیری فنل کل به روش ابراهیم‌زاده و همکاران (Ebrahimzadeh et al., 2008) انجام شد. ۰/۵ سی‌سی عصاره بدست آمده با ۵ سی‌سی فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) مخلوط گردید و ٤ سی‌سی کربنات سدیم یک مولار اضافه شد. محلول حاصل ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و در طول موج ۷٦۵ نانومتر در اسپکتروفتومتر خوانده شده و از طریق منحنی استاندارد اسیدگالیک محاسبه و برحسب اکی‌والان گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک گزارش گردید.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید: اندازه‌گیری فنل کل به روش ابراهیم‌زاده و همکاران (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008) انجام شد. ۰/۵ سی‌سی از عصاره متانولی، ۱/۵ سی‌سی متانول، ۰/۱ سی‌سی آلومنیوم‌کلرید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ سی‌سی استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ سی‌سی آب مقطر مخلوط شدند. محلول حاصل نیم ساعت در تاریکی قرار گرفته و در طول موج ٤۱۵ نانومتر خوانده شده و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و برحسب میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک گزارش گردید.

اندازه‌گیری تانن: اندازه‌گیری تانن با روش راجانا (Rangana, 1977) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. محلول استاندارد شامل ۱۰۰ میلی‌گرم اسیدتانیک در یک لیتر آب دی‌یونیزه تهیه گردید. ۵ میلی‌لیتر معرف فولین دنیس (۷۵۰ میلی‌لیتر آب، ۵۰ گرم سدیم تنگستات، ۱۰ گرم اسید فسفومولبیدیک و ۲۵ میلی‌لیتر اسیدفسفریک به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر) و ۱۰ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم اشباع (۲۵ گرم کربنات سدیم بی‌آب در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل و پس از سرد شدن صاف گردید) به آن اضافه و به حجم رسانیده شد. جذب نوری مخلوط حاصل در طول موج ۷٦۰ نانومتر یادداشت و با استفاده از منحنی استاندارد مقادیر تانن محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش (DPPH): میزان مهار رادیکال‌های DPPH به روش ابراهیم‌زاده و همکاران (Ebrahimzadeh et al.,

2008) مورد ارزیابی قرار گرفت. ۸ میلی‌گرم عصاره تهیه شده وزن و در ۵ سی‌سی متانول حل گردید. در این مرحله رادیکال پایدار دی‌فنیل‌پیکریل هیدرازیل یا DPPH به غلظت ۰/۱ میلی‌مولار تهیه و برای هر عصاره ۸ غلظت ساخته شد. پس از افزودن عصاره‌ها، ۲ سی‌سی متانول و ۲ سی‌سی DPPH اضافه گردید و به‌مدت ۱۵ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفته و در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شدند. اعداد توسط فرمول زیر به درصد مهار تبدیل و ضمن تعیین معادله خط، درصد مهار ۵۰ یا IC_{50} محاسبه و براساس میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد.

$$DPPH = \frac{(Ac - As)}{AC} * 100$$ درصد مهار رادیکال‌های آزاد

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت احیاکنندگی آهن III (FRAP): برای محاسبه این فاکتور از روش بنزی و استرین (Benzie and Strain, 1996) استفاده شد. محلول‌های استاندارد سولفات آهن II با غلظت‌های ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومول در لیتر تهیه شد. محلول FRAP شامل بافر استات (۰/۳ مولار، pH=۳/٦)، معرف TPTZ و محلول ۲۰ میلی‌مولار کلرید آهن III شش آبه به نسبت ۱۰:۱:۱ حجمی بطور تازه تهیه و در جای تاریک نگهداری شدند. بسته به قدرت مهارکنندگی نمونه، محلولی شامل ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر هگزان تهیه شد و ۳۰ میکرولیتر آن با ۹۰۰ میکرولیتر محلول FRAP و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط و ورتکس گردید و پس از رسیدن دمای آن به ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری، میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شده و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

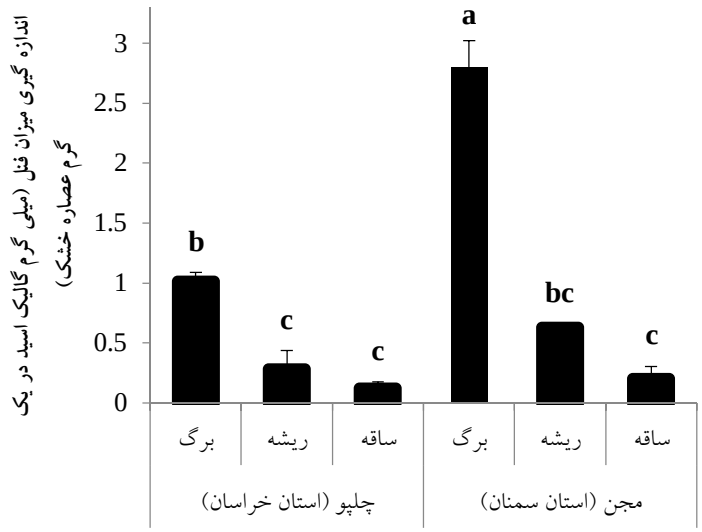
این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

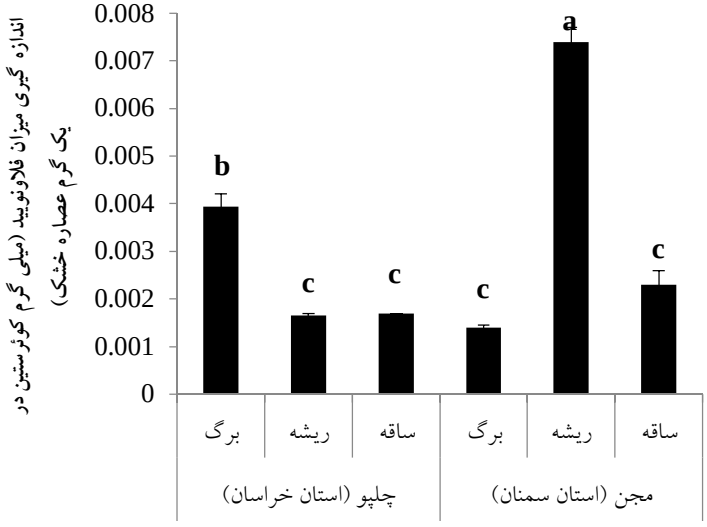
نتایج تجزیه واریانس در مورد ارزیابی میزان فنل و فلاونویید کل مندرج در جدول ۱ نشان داد، مناطق مختلف برداشت و اندام‌های مختلف گیاه و اثر متقابل آنها بر میزان فنل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. میزان فنل کل عصاره گیاهان رویش یافته در استان سمنان (۱/٤٤ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک) بیشتر از نمونه‌های استان خراسان (۰/٤۲ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک) بود. همچنین در بررسی میزان فنل کل در اندام‌های مختلف دیده شد که بیشترین (۲/۰۸ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک) و کمترین (۰/۱۵ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک) آن به‌ترتیب در برگ و ساقه این گیاه مشاهده شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها مشخص نمود، بیشترین میزان فنل‌کل (۲/۸ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک) در برگ‌های گیاهان برداشت شده از استان سمنان وجود دارد. در صورتی که کمترین میزان فنل کل (۰/۱۲ و ۰/۲ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک) در ساقه گیاهان هر دو استان و همچنین به میزان ۰/۲۸ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک در ریشه گیاهان جمع آوری شده از استان خراسان رضوی دیده شد (شکل ۱).

میزان فلاونوئید عصاره نمونه های استان سمنان (۰/۰۰۳۳ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک) بیشتر از نمونه های استان خراسان (۰/۰۰۲۸ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک) بود. بیشترین میزان فلاونویید (۰/۰۰٤ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک) و کمترین آن (۰/۰۰۲۱

میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک) به‌ترتیب در ریشه و ساقه گیاه مشاهده شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها مشخص نمود، بیشترین میزان فلاونوئید (۰/۰۰۷٤ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک) در ریشه گیاه در استان سمنان، در صورتی که کمترین میزان آن (۰/۰۰۱٤ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک) در برگ نمونه‌های استان سمنان و همچنین به میزان ۰/۰۰۱۷ و ۰/۰۰۱٦ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک در ریشه و ساقه گیاهان جمع‌آوری شده از استان خراسان رضوی دیده شد (شکل ۲).



شکل ۱: مقایسه میانگین اثرات متقابل میزان فنل کل در دو منطقه برداشت و اندام‌های مختلف گیاه آنغوزه



شکل ۲: مقایسه میانگین اثرات متقابل میزان فلاونوئید در دو منطقه برداشت و اندام‌های مختلف گیاه آنغوزه

نتایج ارزیابی تجزیه واریانس در مورد تانن در جدول ۱ نشان داد مناطق مختلف برداشت و اندام‌های مختلف گیاه و اثر متقابل آنها بر میزان تانن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. میزان تانن عصاره

گیاه در استان سمنان (۰/۰۰۱۹۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کمتر از گیاهان جمع‌آوری شده از استان خراسان (۰/۰۰۱۹٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود. همچنین در بررسی میزان تانن در اندام‌های مختلف دیده شد که بیشترین (۰/۰۰۱۹۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین (۰/۰۰۱۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) آن به ترتیب در ساقه و برگ این گیاه مشاهده شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها مشخص نمود، بیشترین میزان تانن (۰/۰۰۱۹٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در برگ‌های گیاه استان سمنان وجود دارد. در صورتی که کمترین میزان فلاونوئید (۰/۰۰۱۹۲ و ۰/۰۰۱۹۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در ریشه و ساقه گیاهان استان سمنان و همچنین بیشترین میزان تانن (۰/۰۰۱۹٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در ساقه گیاهان جمع‌آوری شده از استان خراسان رضوی و نیز کمترین میزان مربوط به ریشه گیاه و به میزان (۰/۰۰۱۹۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) دیده شد (شکل ۳).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر مناطق برداشت و اندام‌های مختلف بر صفات مورد ارزیابی در گیاه آنغوزه

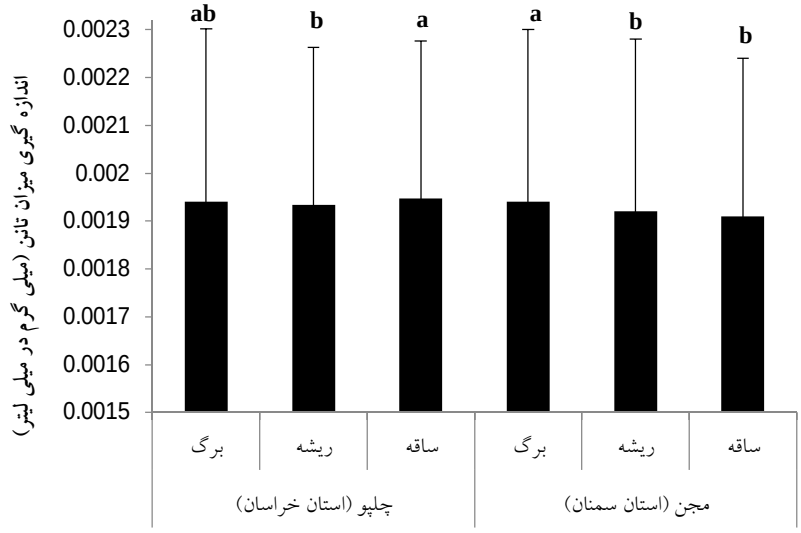
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				
منطقه برداشت		فنل کل	فلاونوئید	تانن	فعالیت‌آنتی‌اکسیدانی (DPPH)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP)
اندام گیاهی	۱	۱/۸۳**	۰/۰۰۰۰۰۳٦۱**	۹/۳۸**	۱٤۳۸٤۷/۸۱**	۱/۲۳٦*
منطقه برداشت × اندام	۲	٤/۱۲**	۰/۰۰۰۰۰۵۵۷**	۲/۷۲**	۲۰۳۱۷۹/۱۸**	۰/۸۸۳*
گیاهی	۲	۰/۹٤**	۰/۰۰۰۰۱۷۷**	۳/۳۸**	۱۰۵۰۲۰/٤۲**	۱/۰۳۱*
اشتباه	۱۰	۰/۰۵	۰/۰۰۰۰۰۰۱۲	۱/۵۵	۷۳٦۹/٦۷	۰/۱٤۱
ضریب تغییرات (٪)		۲٦/۰۸	۱۱/۰۳	۰/۲	۱۱/۸۵	۲۱/٦۱

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرات ساده مناطق برداشت و اندام گیاهی مورد استفاده بر میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بدست آمده از آنغوزه

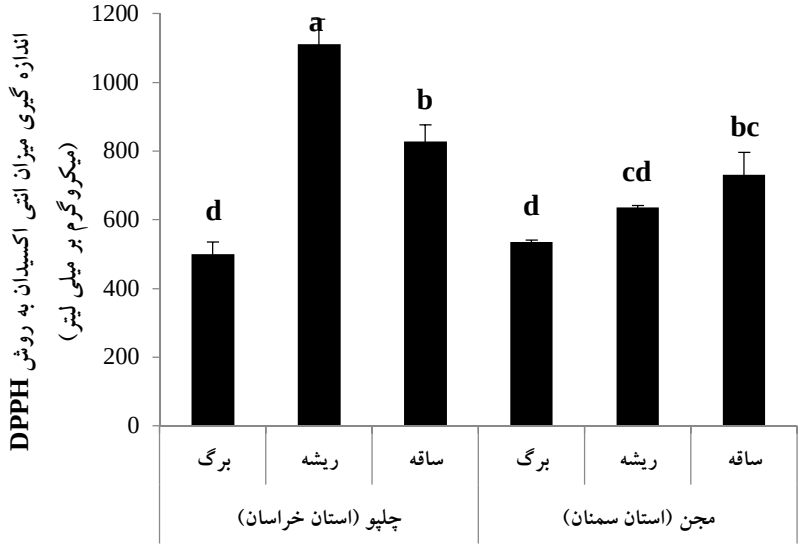
مناطق برداشت	اندام گیاهی	فنل کل (mgGAE/g)	فلاونویید (mgQE/g)	تانن (mg/ml)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	
					DPPH (µg/ml)	FRAP (mg/ml)
استان خراسان		۰/٤۲^{b}	۰/۰۰۲۸^{b}	۰/۰۰۱۹٤^{a}	۸۱۳/٦^{a}	۱/٤٤^{b}
استان سمنان		۱/٤٤^{a}	۱/۰۰۳۳^{a}	۰/۰۰۱۹۲^{b}	٦۳٤/۸^{b}	۲/۰٦^{a}
	ریشه	۰/٤۵^{b}	۰/۰۰٤^{a}	۰/۰۰۱۹۲^{b}	۸۷۳/۸^{a}	۲/۱۵^{a}
	ساقه	۰/۱۵^{b}	۰/۰۰۲۱^{b}	۰/۰۰۱۹۳^{b}	۷۸۰/۱^{a}	۱/۳۱^{b}
	برگ	۲/۰۸^{a}	۰/۰۰۲٦^{a}	۰/۰۰۱۹^{b}	۵۱۸/۷۳^{b}	۱/٦۷^{ab}

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH و FRAP: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد، مناطق مختلف برداشت و اندام‌های مختلف گیاه و اثر متقابل آنها بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارها بطورکلی مشخص نمود، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به این روش از گیاهان بدست آمده از استان خراسان (۸۱۳/٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بیشتر از گیاهان جمع‌آوری شده از استان سمنان (٦۳٤/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) می‌باشد. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف به این روش به‌ترتیب در ریشه

(۸۷۳/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و ساقه (۷۸۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و کمترین میزان در عصاره برگ (۵۱۸/۷۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) آنغوزه حاصل شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها مشخص نمود، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به روش DPPH در ریشه گیاهان برداشت شده از استان خراسان به میزان ۱۱۱۱/۰۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در صورتی که کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره از برگ گیاهان هر دو منطقه به میزان ۵۰۱/۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از استان خراسان و ۵۳۶/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر از استان سمنان حاصل شد (شکل ٤).



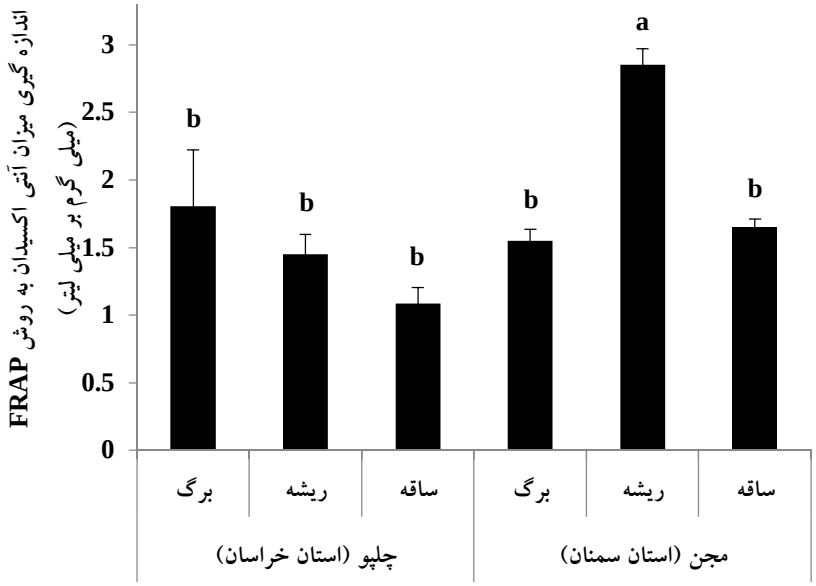
شکل ۳: مقایسه میانگین اثرات متقابل میزان تانن در دو منطقه برداشت و اندام‌های مختلف گیاه آنغوزه



شکل ٤: مقایسه میانگین اثرات متقابل فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در دو منطقه برداشت و در اندام‌های مختلف آنغوزه

در مناطق مختلف برداشت و انـدام‌هـای مختلـف گیاه و اثر متقابل آنها بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP در سطح احتمال پـنج درصـد معنـی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسـه میـانگین اثـرات سـاده تیمارها بطورکلی مشخص نمود، میزان فعالیت آنتـی-اکسیدانی عصاره به این روش از گیاهان بدست آمـده در استان سمنان (۲/۰٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بالاتر از گیاهان استان خراسان (۱/٤٤ میلی‌گرم بـر میلـی‌لیتـر) مـی‌باشـد. همچنـین در بررسـی میـزان فعالیـت آنتی‌اکسیدانی به این روش در اندام‌های مختلف دیـده شد که بیشـترین (۲/۱۵ میلـی‌گـرم بـر میلـی‌لیتـر) و کمترین (۱/۳۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) فعالیت به‌ترتیب در ریشه و ساقه این گیاه حاصل شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثـرات متقابـل تیمارهـا مشـخص نمود، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بـه روش FRAPدر گیاهان برداشت شده از استان سمنان و در اندام ریشه گیاه، بـه میـزان ۲/۸۵ میلـی‌گـرم بـر میلی‌لیتر مشاهده شد. در صورتی کـه بـین انـدام‌هـای دیگر در هر دو اسـتان تفـاوت معنـی‌داری در میـزان فعالیت آنتـی‌اکسـیدانی بـه ایـن روش مشـاهده نشـد (شکل ۵).



شکل ۵: مقایسه میانگین اثرات متقابل فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP در دو منطقه برداشت و در اندام‌های گیاه آنغوزه

بحث

تغییرات فاکتورهای اکولوژیکی نقش موثری را بر رشد و افزایش کمیت و کیفیـت مـواد مـوثره گیاهـان دارویی دارند. در نظر گرفتن ویژگی‌های محل رویش، موقعیـت جغرافیـایی، انـدام گیـاه و تـاثیر عوامـل اکولوژیک بر روی گیاه در طبیعت، از عمده عـواملی هستند که می‌تواند بر میـزان مـواد مـوثره گیـاه تـاثیر زیادی داشته باشد. در اکوسیستم‌های طبیعـی عـواملی مانند رطوبت، آب، شدت نور و ارتفاع از سطح دریـا بر روی خصوصیات ظاهری و ترکیب‌های گیاه تـاثیر مسـتقیم دارد و همچنـین خصوصـیات فیزیکـی و شیمیایی خاک نیز حائز اهمیت‌اند که از جمله عوامـل اساسی و تعیین کننـده کمیـت و کیفیـت مـواد مـوثره دارویی در گیاهان هستند (Omidbeygi, 2009).

زیستگاه گیاه از طریق تغییرات اقلیمی می‌تواند بر فرآیند تشکیل مواد موثره ثانوی در اندامهای مختلـف

گیاه تاثیرگذار باشد. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق مشخص گردید که عامل ارتفاع، اقلیم سرد، شدت نور و کاهش دما در منطقه مجن استان سمنان نسبت به منطقه چلپو در استان خراسان باعث افزایش میزان ترکیبات ثانوی گیاه و بالطبع کثرت عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن شده است. در مجموع محاسبه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به‌روش FRAP نسبت به روش DPPH برتری داشت، زیرا روش FRAP که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را براساس توانایی احیاءکنندگی آهن می‌سنجد در حقیقت تخمین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل در آب را نشان داد که به وسیله این روش درصد بیشتری از آنتی‌اکسیدان‌ها قابل شناسایی می‌باشد.

بررسی میزان رطوبت نسبی در دو منطقه مورد مطالعه نشان داد که رطوبت نسبی در منطقه مجن استان سمنان بیشتر از منطقه چلپو استان خراسان بود که این خود می‌تواند دلیلی بر افزایش میزان فنل‌کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان این منطقه باشد. به طوریکه در بررسی‌های مشابه لاوریل و همکاران (Laurel et al., 1999) گزارش کردند افزایش رطوبت نسبی باعث تجمع هایپریسین در عصاره گل‌های گیاه گل راعی شد. از عوامل دیگر تاثیرگذار بر متابولیت‌های ثانویه می‌توان به ارتفاع محل رویشگاه گیاه اشاره کرد به طوری که نتایج این بررسی نشان داد با افزایش ارتفاع، متابولیت‌های ثانویه نیز در گیاه افزایش پیدا می‌کند که در همین راستا همتی و همکاران (Hemati et al., 2006) گزارش کردند که افزایش ارتفاع باعث افزایش فنل و فلاونوئید در گیاه سرخ‌ولیک می‌شود، همچنین گاریولاو همکاران (Gariola et al., 2010) نشان دادند که مقدار فنل و فلاونوئید در گیاه فاگوپیروم (*Fagopyrum tataricum*) با افزایش ارتفاع و تغییر در شرایط اکولوژیکی افزایش می‌یابد همچنین جاکولا و همکاران (Jaakola et al., 2004) بیان داشتند که در ارتفاعات بالاتر از ۱۵۰۰ متر، مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی وجود دارد که تاییدکننده نتایج این تحقیق است. در تحقیقی دیگر توسط کورتیچیاتوو همکاران (Corticchiato et al., 1998) نشان دادند. رابطه خطی بین ارتفاع از سطح دریا با تعدادی از ترکیبات شیمیایی گیاه آویشن گزارش شده است که شدت نور، دوره‌های نوری و دما نیز بر روی سنتز بسیاری از متابولیت‌های ثانویه تاثیر می‌گذارند (Hohtola, 2007). این عوامل نیز خود تحت تاثیر ارتفاع منطقه قرار می‌گیرند. در تحقیقات مشابه ضرغامی و همکاران (Zarghami et al., 2012) بر روی گونه‌های دارویی مورد، گلپر، هواچوبه، کنگر و کاسنی نشان داده شد که یک رابطه مستقیم میان افزایش ارتفاع و متعاقب آن اثر استرس‌های اکولوژیکی با میزان مواد موثره فنلی و فلاونوئیدی و از همه مهم‌تر افزایش توان مهار رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدانی عصاره آن گیاهان دارد. همچنین اثر متقابل شوری و ارتفاع نیز می‌تواند تاثیرگذار باشد، به‌طوری‌که در بررسی قربانعلی و همکاران (GhorbanAli et al., 2011) بر روی برخی اثرات رویشگاه‌های مختلف روی ترکیبات فلاونوئیدی، پلی-فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی سنجد (*Elaeagnus angustifolia*) نشان دادند که با افزایش ارتفاع و افزایش شوری میزان این مواد در گیاه افزایش پیدا می‌کند که این امر با نتایج حاصله مطابقت ندارد، چرا که در نتایج ما با افزایش ارتفاع از میزان EC خاک کاسته شده ولی میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و همچنین میزان آنتی‌اکسیدان گیاه افزایش پیدا کرده است. همچنین اثر متقابل ارتفاع و دمای هوا نیز بر میزان متابولیت‌های ثانویه تاثیرگذار است بطوریکه در پژوهش قاسمی و همکاران (Ghasemi et al., 2011) با بررسی تاثیر فاکتورهای محیطی بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید کل در گیاه گردو به این نتیجه رسیدند که

بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل در منطقه کوهستانی و کمترین میانگین دمای روزانه می‌باشد که با این نتایج همراستاست.

یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار بر متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، نوع اندام‌های گیاهی است بطوری‌که میزان متابولیت‌های ثانویه در اندام‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است. بررسی اندام‌های مختلف نشان داد در هر دو منطقه چلپو در استان خراسان و مجن در استان سمنان و در هر سه اندام گیاهی (ریشه، ساقه و برگ) اختلاف در میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار شد. در بررسی اسپیریفار و هاسانلو (Sepehrifar and Hasanlu, 2009) بر میزان پلی‌فنل‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی میوه و برگ گیاه قره‌قاط به این نتیجه رسیدند تغییرات اکولوژیکی باعث تغییرات معنی‌داری در میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه شده است. همچنین در بررسی که توسط کریمی و همکاران (Karimi et al., 2010) بر روی برگ گیاه شابیزک (*Atropa belladonna* L.) صورت گرفت، اثر معنی‌دار ارتفاع، فصل و تأثیر متقابل این دو بر تغییرات میزان برخی از متابولیت‌های ثانویه در این گیاه تأیید شد. همچنین در پژوهشی مشابه که بر روی میزان فنل و فلاونوئید اندام‌های مختلف (برگ، ریشه، ساقه، گل، میوه) گیاه شابیزک در سه رویشگاه این گیاه انجام گرفت مشخص شد بیشترین میزان فنل در برگ‌های گیاه و کمترین میزان آن در ساقه گیاه مشاهده شد (Khatir nameni and Mazandarani, 2011). در پژوهشی دیگر که به سنجش محتوای فنل و فلاونوئید کل و بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ساقه و برگ ٦ گونه میخک وحشی ایران پرداختند به این نتیجه رسیدند که تفاوت شرایط منطقه مانند تغییرات اقلیمی، ارتفاع و تغییر خزانه ژنتیکی در سطح جنس، تاثیر معنی‌داری بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارد (Saboora et al., 2013). زووکو و همکاران (Zovko et al., 2010) به بررسی میزان فنل و فلاونوئید کل در اندام‌های مختلف زرشک پرداختند و نشان دادند که بیشترین میزان ترکیبات فوق در برگ گیاه نسبت به اندام‌های دیگر بیشتر بوده که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. زینلی و همکاران (Zeinali et al., 2014) نیز به بررسی فیتوشیمیایی گیاه باریجه پرداختند که بیشترین میزان فنل‌کل در ریشه گیاه و کمترین میزان آن در برگ گیاه مشاهده شد که با نتایج تحقیق مغایرت ندارد. در بررسی دیگر بر روی میزان متابولیت‌های ثانویه و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی (ساقه، برگ، گل و محور گل) گیاه مرزه سهندی (*Satureja sahendica*) انجام گرفت به این نتیجه رسیدند که اندام مورد استفاده و عوامل اکولوژیکی نقش انکارناپذیری در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه دارند (Tabatabaei raisi et al., 2007). مشاهدات این تحقیق و همچنین نتایج سایر محققین نشان می‌دهد که نوع اندام مورد استفاده می‌تواند تاثیر شگرفی بر میزان متابولیت‌های ثانویه داشته باشد.

در تحقیقی مشاهده شد که گیاه آنغوزه دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت رادیکال آزاد، هیدروکسیل ۲ و ۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH) و سوپرآنتی‌اکسیدان می‌باشد که با نتایج در این گیاه مطابقت دارد (Ziaulhaq et al., 2012). در تحقیقی فعالیت آنتی‌اکسیدانی زیره سیاه را با دو روش بتا کاروتن و ۲و۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) بررسی شد که نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مربوط به ترکیبات فنولیک است (Bamdad et al., 2006)، همچنین جوانمردی و همکاران (Javanmardi et al., 2003) ضمن بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی ۲۳ توده ریحان بومی ایران گزارش نمودند که یک رابطه خطی مثبت بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل‌های کل

توده‌های ریحان مورد مطالعه وجود دارد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین جمشیدی و همکاران (Jamshidi et al., 2010) عصاره متانولی چند گیاه بومی مازندران را از نظر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی مورد بررسی قرار دادند. آنها نشان دادند که ارتباط مستقیمی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات پلی‌فنلی گیاه وجود دارد، که با نتایج حاصله همراستا است. پترسون و همکاران (Peterson et al., 2001) فعالیت آنتی‌اکسیدانی جوی دو سر را با دو روش DPPH و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن اندازه‌گیری کرده و میزان ترکیبات فنولیک کل عصاره را تعیین کردند. این محققین نشان دادند بین میزان ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده ارتباط خوبی وجود دارد. به‌دلیل تنوعی که در ترکیبات گیاهان مختلف وجود دارد، معمولاً از چند روش برای بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی بهره می‌برند، تا معایب روش‌های مختلف پوشانده شود. بهمین دلیل از هردو روش استفاده شد و پس از مقایسه دو روش با یکدیگر نتایج نشان از برتری روش FRAP نسبت به DPPH داشت زیرا توسط این روش میزان بیشتری از رادیکال‌های آزاد شناسایی گردید. در بررسی دیگر نشان دادند که حلال عصاره‌گیری تاثیر بسیار زیادی بر استخراج تانن دارد به صورتی که اتانول می‌تواند حداکثر استخراج را ایجاد نمایند اما آب خاصیت استخراج تانن از گیاه نعناع فلفلی را ندارد (Bagheri et al., 2012).

گیاهان دارویی، منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که قابلیت آهسته کردن یا جلوگیری از اکسید شدن سایر مولکول‌ها را دارد. اکثر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قادرند، رادیکال‌های آزاد، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را از طریق انتقال الکترون‌های منفرد حذف کنند (Lioyd and Phillips, 1999). به عبارت دیگر این مواد سلامت قلب و عروق را بهبود می‌بخشند.

نتیجه‌گیری نهایی

براساس مطالعه اخیر گیاه آنغوزه به واسطه داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فنلی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی است که طبعاً میزان آن ترکیبات و عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه آنغوزه، بسته به عوامل و فاکتورهای محیطی در دو رویشگاه و اندام‌های مختلف گیاه متفاوت بود. نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین میزان فنل‌کل در عصاره برگهای گیاه در هر دو رویشگاه مشاهده شد، بیشترین میزان تانن در استان خراسان و سمنان به ترتیب در اندام ساقه و برگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به روش DPPH در استان خراسان در ریشه و در استان سمنان در ساقه گیاه و به روش FRAP از استان خراسان در برگ و در استان سمنان در ریشه مشاهده شد. به‌طورکلی با توجه به نتایج بیان شده شاید بتوان منطقه مجن در رویشگاه سمنان را به‌عنوان عملکرد آنتی‌اکسیدانی بالاتر نسبت به منطقه چلپو در رویشگاه خراسان معرفی نمود.

References

1. Bagheri, A., Mokhtari, T., Hosseini nia, A., Shenavai, M. 2012. The effect of solvent extraction of tannin extract quantitative and qualitative performance Peppermint. National conference on natural products and medicinal plants, 2: 1-6.
2. Bamdad, F., Kadivar, M., Keramat, J. 2006. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. Food Science and Technology, 41: 7-20.
3. Benzie, I.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘‘antioxidant power’’: The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239: 70-76.

4. Berimani, M., 1997. Effects of nitrogen at different stages of plant life and the production of its oil *Dracocephalum moldavica*. MSc Thesis, Tarbiat Moalem University, 135 p.
5. Corticchiato, M., Tomi, F., Bernardini, A.F. 1998. Composition and infraspecific variability of essential oil from *Thymus babarona* Lois. Biochemical Systematics and Ecology, 26: 915-932.
6. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacology, 1: 7-14.
7. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. Turkish Journal of Biology, 32: 43-49.
8. Elisabetsky, E., Figueiredo, W., Oliveria, G. 1992. Traditional amazonian nerve tonics as antidepressant agents: Chaunochiton kappleri: a case study. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 1: 125-162.
9. Gariola, S., Shariff, N., Bhate, A. 2010. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants. Journal of Medicinal Plant Research, 5: 1825-1829.
10. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 1128-1133.
11. GhorbanAli, M., Saadatmand, L., Niakan, M. 2011. Evaluation of the effects of habitat on the flavonoid, Polyphenols, anthocyanins and antioxidant activity of herbs measures (*Elaeagnus angustifolia*). The First National Conference on Issues of Modern Agriculture, 3: 1-5.
12. Hemati, K.H., Sharifani, M., Kalati, H. 2006. Flavenoid content of Hawthorn (*Crataeguus monogyna*) in Iran. Acta Horticulturae. International Horticultural Congress-International.
13. Hohtola, A. 2007. Northern plant as a source of bioactive products. In: Taulavuori and Tauravuori (eds.) Physiology of Northern Plants under changing environment. Res. Signpost India, 291-307.
14. Hunter, K.J. 2002. The antioxidant activity and composition of fresh, frozen, jarred and canned vegetable. Innovative Food cience and Emerging Technologies, 3: 399-406.
15. Jaakola, L., Maatta-Riihinen, K.R., Karenlampi, S. 2004. Activation of flavenoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. Planta, 218: 721-728.
16. Jamshidi, M., Ahmadi ashtiani, H.R., Rezazadeh, SH., Fathiazad, F., Mazandarani, M., Khaki, A. 2010. Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of some plant species native to the Mazandaran. Journal of Botany, 2(34): 1-3.
17. Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum accessions*. Food Chemistry, 83: 547-550.
18. Karimi, F., Amini Eshkevari, T., Zeinali, A. 2010. Differences of total alkaloid, atropine and scopolamine contents in leaves of *Atropa belladonna* L. from Vaz area-north of Iran in relation to some environmental and phonological factors. Iranian Journal of Plant Biology, 1: 77-88.
19. Khatir nameni, M., Mazandarani, M. 2011. Of total flavonoids and phenolic different organs of medicinal plant Deadly nights hade (*Atropa belladonna* L.) in the jungle province Tvskstan. National Conference on Medicinal Plants, 2: 2-7.
20. Laurel, F.R., Servio, R.P., Valerie, B.K. 1999. Direct and indirect effects of climate change on St. John's wort, *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). Oecologia, 120: 113-122.
21. Leaman, D.J. 2006. Medicinal plant conservation. Newsletter of the medicinal plant specialist group of the IUCN species survival commission. Silphion, 13: 6-24.
22. Lioyd, D.R., Phillips, D.H. 1999. Oxidative DNA damage mediated by copper (II), iron (II) and nickel (II) fenton reactions: evidence for site-specific

mechanisms in the formation of double-strand breaks, 8-hydroxydeoxyguanosine and putative intrastrand cross-links. Mutation Research, 424: 23-36.
23. Mathew, S., Abraham, T.E. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. The journal Food and Chemical Toxicology, 44: 198-206.
24. Omidbeygi, R. 2008. Production and processing of medicinal plants, Institute Press Astan Qods Razavi. Mashhad, 347 p.
25. Omidbeygi, R. 2009. Processing of medicinal plants, Publication of Astan Qods Razavi, 1: 240-245.
26. Peterson, D.M., Emmons, C.L. and Hibbs, A. 2001. Phenolic antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. The Journal of Cereal Science, 33: 97-103.
27. Rangana, S. 1977. Manual for analysis of fruits and vegetables products. Tata McGraw Hill Co. Pvt. Ltd. New Dehli, 634 p.
28. Roginsky, V., Lissi, E.A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry, 92: 235-254.
29. Saboora, A., Dadmehr, Kh., Ranjbar, M. 2013. Total phenolic and flavenoid contents and investigation on antioxidant properties of stem and leaf extracts in six Iranian species of wild *Dianthus* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29: 281-295.
30. Seetharam, K.A., Pasricha, J.S. 1987. Condiments and contact dermatitis of the finger-tips. Indian journal of dermatology, venereology and leprology, 53: 325-228.
31. Sepehrifar, R., Hasanlu, T. 2009. Study of polyphenolic compounds, anthocyanins and flavonoids and antioxidant herbs Tom cranberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) collected from four different regions of Iran. Journal of Medicinal Plants, 1(33): 66-74.
32. Shahidi, F. 1997. Natural antioxidants: an overview, In: Natural antioxidants, chemistry, health effects and applications, Shahidi, F. (ed.) AOCS Press Champaign, Illinois, USA, 1-10.
33. Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J. 2005. Extraction of polyphenolics from Plant material for functional foods engineering and technology. Food Reviews International, 21: 1-12.
34. Tabatabaei raisi, A., Khaligi, A., Kashi, A. 2007. Antioxidant activity and chemical compositions of essential oil of aerial parts of *Satureja sahendica* Bornm. Pharmaceutical Sciences, 3: 1-6.
35. Wyk, B.E., Wink, M. 2004. Medicinal plants of the world: an illustrated scientific guide to important medicinal plants and their uses. Timber Press USA, 221 p.
36. Yanive, Z., Palevitch, D. 1982. Effects of drought on the secondary metabolite of medicinal and aromatic plants, 1-23. In: Atal and Kapur (eds.) Cultivation and Utilization of Medicinal Plants. CSIR Jammu-Tawi, India, 877p.
37. Zarghami Moghaddam, P., Mazandarani, M., Zolfaghari, M.R. 2012. Antibacterial and antioxidant activities of root extract of *Onosma dichroanthum* Boiss. In North of Iran. African Journal of Microbiology Research, 6: 1776-1781.
38. Zeinali, Z., Hemmati, Kh., Mazandarani, M. 2014. Aut ecology, ethnopharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of *Ferula gummosa* Boiss. In different regions of Razavi Khorasan Province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 1: 11-22.
39. ZiaULHaq, M., Shahid Shakir, A., Ahmad, S. 2012. Antioxidant potential of various parts of *Ferula assa-foetida* L. Journal of Medicinal Plants, 6: 3254-3258.
40. Zovko Koncic, M., Kremer, D., Karlovic, K. 2010. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. Food and Chemical Toxicology, 48: 2176-21.