Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants
ISSN: 2322-3235 (Print), 2783-4697 (Online) http:// http://ecophytochemical.gorganiau.ac.ir

Doi: 10.30495/ejmp.2022.1968061.1706
Dor: 20.1001.1.23223235.1401.10.3.7.5

Phytochemical and antioxidant activity of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz. essential oil in different habitats of Golestan province

Masoumeh Mazandarani

Associate Professor, Department of Biology, Gorgan Branch, Islamic azad University, Gorgan, Iran,
Email:dr.mazandarani@yahoo.com

Serial 39, 10th year, Number 3, Autumn 2022 (85-96)

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 05-09-2021
Revised: 08-10-2022
Accepted: 22-10-2022

Keywords
Antioxidant
Camphor
Essential oil
Flavonoide and phenol
Golestan province
Tanacetum parthenium L.

Abstract

Tanacetum parthenium (L.) Schultz. with a worldwide reputation as af ever reducer, pain reliever, antiseptic and anti-inflammatory has similar therapeutic uses in the natural habitats of Golestan province. In this research, to investigate the phytochemical and antioxidant properties the plant leaves were collected from two different habitats of Golestan province, 990 meters (Ziyarat) and Deraz Nu (2200 meters), located in the southwest of the province at full flowering stage (July 2018). Essential oils were evaluated and analyzed by using the water distillation (Celvenger apparatus) and GC/MS methods, respectively. Extraction was obtained by using maceration method, the total phenol and flavonoids as well as evaluation of antioxidant performance of the extract samples were measured using DPPH and spectrophotometry methods, respectively. Based on the results more than 30 compounds were in both samples, which accounted for 97.3% the camphor (43.12-54.8 %), camphene (6.9-10.04 %), bornyl acetate (6.06-3.1 %), 1-8-cineol and p-cymene (3.1-3.36 %) that were the most important components of essential oil in both habitats. With the increase in altitude in the habitat of 2200 meters the total flavonoid and total phenol increased up to 148.2 ± 0.7 mg GAE /gr and 218.7 ± 218.7 mg GAE /gr, respectively, while the highest antioxidant activity was also up to 89.5 ± 1.1% in DPPH free radicals. The findings shows that secondary metabolites was increased in high altitude habitats and this issue has been documented in the scientific documentation of medicinal uses of this plant in high altitudes as anti-inflammatory, pain reliever and treatment of infections.

Please cite this article as Masomeh Mazandarani. 2022. Phytochemical investigation and evaluation of antioxidant activity of essential oils from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz. leaves in different habitats of Golestan province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*. 10(3): 85-96.

© 2022. All Rights Reserved

فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی

شاپا: (چاپی) ۲۳۲۲-۳۲۳۵ (آنلاین) ۴۶۹۷-۲۷۸۳، http://ecophytochemical.gorganiau.ac.ir

Doi: 10.30495/ejmp.2022.1968061.1706
Dor: 20.1001.1.23223235.1401.10.3.7.5

بررسی فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه دارویی *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz. در رویشگاه‌های مختلف استان گلستان

معصومه مازندرانی*

دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران، رایانامه: dr.mazandarani@yahoo.com

سال دهم، شماره ۳۹، پاییز ۱۴۰۱ / صفحات: ۹۶-۸۵

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۳۰

واژه‌های کلیدی:
آنتی‌اکسیدان
اسانس
استان گلستان
بابونه کبیر
فنل
فلاونویید
کامفور

چکیده

گیاه دارویی بابونه کبیر(مخلصه) (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz.) دارای شهرت جهانی به‌عنوان تب بر، مسکن، ضدعفونی کننده و ضدالتهاب است و در رویشگاههای طبیعی استان گلستان نیز مصارف مشابه درمانی دارد. در این تحقیق به‌منظور بررسی فیتوشیمیایی اسانس و مقایسه عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه در رویشگاه‌های مختلف استان، برگ‌های گیاه در مرحله گلدهی کامل به‌ترتیب از دو رویشگاه جنگلی ۹۹۰ متر (زیارت) و کوهستان دراز نو (۲۲۰۰ متر) واقع در جنوب غرب استان در اواخر تیرماه ۱۳۹۸ جمع‌آوری گردید. اسانس‌گیری با استفاده از روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) و شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از روش GC/MS ارزیابی گردید. عصاره‌گیری با استفاده از روش خیساندن، اندازه‌گیری میزان فنل و فلاونویید کل و ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی نمونه عصاره‌ها نیز به‌ترتیب با استفاده از روش‌های DPPH و اسپکتوفوتومتری انجام گرفت. نتایج نشان داد با افزایش ارتفاع میزان فلاونویید کل تا ۲/۱۴۸ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک و فنل کل تا ۷/۲۱۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک گیاه افزایش یافت، ضمن اینکه از بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز (۸۹ درصد) در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH برخوردار بود. به‌ترتیب ترکیبات کامفور (۱۲/۴۳-۸/۵۴ درصد)، کامفن (۹/۶-۰۴/۱۰ درصد)، بورنیل استات (۱/۳-۰۶/۶ درصد)، او۸- سینئول و پارا- سیمن هر کدام (۱/۳-۳۶/۳ درصد) از مهمترین ترکیبات متشکله اسانس در هر دو رویشگاه بودند که با افزایش ارتفاع در رویشگاه ۲۲۰۰ متر بیشترین میزان اسانس و بالاترین کمیت و کیفیت مواد موثره نیز گزارش گردید. این موضوع می‌تواند در تایید عملکرد بهتر دارویی این گیاه در ارتفاعات و همچنین مستندسازی علمی استفاده‌های دارویی از این گیاه را به‌عنوان ضدالتهاب، ضدباکتری و مسکن در رفع و التیام زخم، تسکین دردهای میگرنی، زانو و قاعدگی را قابل بحث سازد.

استناد: معصومه مازندرانی (۱۴۰۱). بررسی فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه دارویی *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz. در رویشگاه‌های مختلف استان گلستان. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۰ (۳)، ۹۶-۸۵

مقدمه

برطبق گزارش‌های سازمان جهانی بهداشت در سه دهه اخیر، شیوع بیماری‌های عفونی (عفونت‌های باکتریایی، قارچی و ویروسی)، افزایش مقاومت باکتریایی و بروز التهابات میگرنی و سرطان، هنوز هم از مهمترین عوامل مرگ و میر جهانی در قرن ۲۱ محسوب می‌شوند (Weli et al., 2021; Ceylanet al., 2019; Rolain et al., 2016). لذا با توجه به سابقه دیرینه ترکیبات دارویی طبیعی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، طبعاً دنیا بدنبال کشف و استخراج مواد طبیعی دارویی با خواص ضدعفونی کننده و ضدالتهاب می‌باشد که اغلب از ترکیبات طبیعی قابل دسترس، موثر و کم خطر طبیعی به‌عنوان درمان‌های مقرون به صرفه و با کمترین عوارض جانبی مطرح است که به ویژه از گیاهان دارویی با سابقه کهن در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، قابل استخراج است (Mazandarani et al., 2014 and 2017).

گیاه دارویی بابونه کبیر (مخلصه) *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz.Bip. با نام جنس مترادف *Chrysanthemum* L. متعلق به تیره آفتابگردان، با حدود ۲۶ گونه علفی و بوته‌ای معطر و چند ساله در ایران (۱۲ گونه اندمیک) با اسامی فارسی: بابونه کبیر، مینای جنگلی و مخلصه مطرح است. خاستگاه گیاه شبه جزیره بالکان و قزاقستان می‌باشد که بیشتر در کنار جاده‌های جنگلی، مزارع، مناطق آفتابگیر مرزهای جنگلی و مدیترانه‌ای آسیا، اروپا، چین، ژاپن و کانادا گزارش شده و هم اکنون در سراسر دنیا به جهت مصارف دارویی، به‌عنوان تب بر، ضدالتهاب، ضدعفونی کننده و مسکن، مخصوصا تحت نام‌های مختلف گیاه‌شناسی: *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh. ،*Leucanthemum parthenium* (L.) Gren and Gordon ،*Pyrethrum parthenium* (L.) Bernh و *Matricaria parthenium* (L.) و به‌طور متناوب به‌عنوان عضوی از جنس *Matricaria* مطرح است، کشت می‌شود (Huda et al., 2022; Shafaghat et al., 2017; Mazaffarian 2007; Pareek et al., 2011). در گزارش‌های مشابه از این گیاه بوته‌ای و معطر (۳۰ تا ۸۰ سانتی‌متر) با برگ‌های سبز متناوب، تقریباً بدون کرک، گلهای سفید و زرد شبیه بابونه با قطر حدود ۲ سانتی‌متر گزارش شده که در فاصله ماه‌های تیر تا مهر با بوی قوی و تلخ در خوشه‌های متراکم با سطح صاف (دیهیم) شکوفا می‌شود (Huda et al., 2022). قرن‌هاست که در فرهنگ دارویی اروپا، آسیا و ایران از این گیاه به‌عنوان مقوی سیستم ایمنی، ضدالتهاب، تب بر، مسکن و ضداسپاسم در درمان سردردهای میگرنی، آرتریت روماتوئید، معده درد، دندان درد، پسوریازیس، گزیدگی، مشکلات قاعدگی، آلرژی، سرگیجه، تهوع، استفراغ و حملات میگرنی نیز استفاده می‌شود (Sadat- Hoseini et al., 2017; Shafaghat et al., 2017; RIos and Recsio, 2005; Paric et al., 2011). در بررسی تاریخچه استفاده دارویی از این گیاه، دیوسکورید پزشک یونانی قرن اول از آن به عنوان مقوی، مسکن درد و ضدالتهاب در تسکین درد، تب و درمان زخم‌های عفونی سربازان در جنگ استفاده کرده است (Chavez and Chavez, 1999; Setty and Sigal, 2005; Sadat-Hosseini et al., 2017) که در بررسی‌های آزمایشگاهی و بالینی نیز از فراورده‌های دارویی این گیاه (ترپنوییید، پارتنولید، فلاونوییید و سزکویی ترپن لاکتون) به‌عنوان آنتی اکسیدان، ضدباکتریال، ضدقارچ، ضدالتهاب، ضدمیگرن و ضدسرطان نام برده شده است (Pourianezhad et al., 2016; Shafaghat et al., 2017; Hadjiakhondi et al., 2003). از متابولیت‌های ترپنوییید، فلاونوییید و سزکویی ترپن لاکتون (پارتنولید) به‌عنوان مهمترین ترکیبات ثانوی دارویی در گونه‌های مختلف این جنس نام برده شده است

Mazandarani et al., 2012; Hadjiakhondi et al.,) 2003; Ozer et al., 2006; Shafeghat et al., 2012; Shafeghat et al., 2017) و در واقع عملکرد این متابولیت‌های ثانوی طبیعی و پارتنولید را در درمان انواع سرطان با اثر کاهش استرس‌های اکسیداتیو و مهار رادیکال‌های آزاد در نابودی سلول‌های سرطانی گزارش کرده‌اند (Czyz et al., 2013).

در بررسی‌های مشابه از ترپنوییدهای کامفور تا ۴۶ درصد، بورنیل استات تا ۲۵ درصد، کریزانتموم استات تا ۱۹ درصد، توجن (۲ تا ۵ درصد) و ژرماکرن – دی (تا ۱۲ درصد) به‌عنوان ضدالتهاب ضدباکتری، ضدقارچ و ضدعفونی کننده در اسانس گیاه گزارش شده است (Haziri et al., 2009; Shafeghat et al., 2017; Shafeghat et al., 2012). همچنین درررویشگاه‌های ترکیه نیز از کامفور تا (۶۱ درصد) و کامفن (۱۲درصد) در اسانس گیاه با خواص ضدباکتریال، ضددرد و ضدالتهاب گزارش شده است (Shafeghat et al., 2017; Polatoglu et al., 2010). گزارش فیتوشیمیایی اسانس گیاه از رویشگاه‌های شمال غرب ایران نیز از کامفور (۵۳ درصد)، کامفن (۲/۹ درصد) و بورنیل استات تا ۶/۵ درصد گزارش شده است و این در حالیست که در بررسی‌های مشابه نیز در اروپا میزان تغییرات مواد موثره دارویی گیاه مثل کامفور (از ۱۰ تا ۵۳ درصد) و کامفن (۴ تا ۱۰ درصد) بسته به شرایط رویشگاهی، اندام، زمان و مکان برداشت و میزان ماندگاری متغیر گزارش شده است (Izadi et al., 2010; Jaimand, 1999 Shafeghat et al., 2017; Mazandarani et al., 2015;). در بررسی‌های مشابه نیز عملکرد گیاه را در درمان آرتریت، سردرد میگرنی،، یبوست، درماتیت، گوش درد، تب، سردرد، التهابی ناشیاز نیش حشرات، اختلالات قاعدگی، پسوریازیس، اسپاسم معده، سرگیجه، سرفه و سرماخوردگی را به این ترکیبات و سزکویی ترپن لاکتونهای گیاه نسبت دادند (Di Cesare Mannelli et al., Pittler et al., 2004 2015;). بومیان آمریکای مرکزی و جنوبی نیز از جوشانده برگ و گل این گیاه برای درمان قولنج، درد کلیه، تهوع صبحگاهی، معده درد، اسپاسم رحمی، درمان دیسمنوره، سردرد و گوش درد استفاده می‌کردند (Pittler et al., 2004). در حال حاضر مهم ترین ماده فعال بیولوژیکی گیاه را ترپنوییدها، سزکویی ترپن لاکتون (پارتنولید) و فلاونوییدهای کوئرستین، لوتئولین و آپی ژنین معرفی کرده‌اند که به نوعی بیشتر در غدد سطحی برگ (۲/۰ – ۵/۰ درصد) و تا ۸۵ درصد از کل محتوای سسکویی ترپن را تشکیل می‌دهد (Heptinstall et al., 1992; Ghavam et al., 2021;). در این تحقیق نیز با توجه به شهرت دارویی این گیاه در رویشگاههای مختلف استان به‌عنوان مقوی ایمنی، ضدالتهاب، مسکن، ضدعفونی کننده در درمان زخم و دردهای میگرنی و قاعدگی، به بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی اسانس و عصاره گیاه در رویشگاههای مختلف استان در دو ارتفاع ۹۹۰ متری جنگلی و کوهستانی (۲۲۰۰ متر) پرداختیم.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه گیاهی: در این تحقیق برگهای گیاه در زمان گلدهی کامل در اواخر تیرماه ماه ۱۳۹۸ از رویشگاههای جنگلی زیارت ۹۰۰ متربا اقلیم مرطوب تا ارتفاعات کوهستانی دراز نو ۲۲۰۰ متر با اقلیم نیمه مرطوب سرد برای انجام آزمایشات نمونه‌برداری شد و همزمان نمونه هرباریومی آن در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی با کد هرباریومی NO: HRC MP 456. شناسایی گردید نمونه گیاهان برای اسانس‌گیری در سایه و در دمای محیط خشک شدند.

اسانس‌گیری از نمونه‌ها: حدود ۲۰۰ گرم اندام خشک شده گیاه در مخزن مخصوص دستگاه تقطیر با آب (طرح کلونجر) قرار گرفت و توسط جریان آب به‌مدت۴ ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس‌ها از ۹/۰ درصد در زیارت ۹۰۰ متر تا ۸/۱ درصد در ارتفاعات ۲۲۰۰ متری درازنو، (میلی‌لیتر اسانس به ۲۰۰ گرم گیاه خشک) نسبت به وزن گیاه بود. کلیه اسانس‌ها بلافاصله پس از استخراج با سدیم سولفات آبگیری و تا انجام آزمایشات مربوطه در ویال سربسته ریخته شده و با فویل آلومنیوم پوشیده شدند و در داخل یخچال نگهداری (۲ درجه سانتی‌گراد) شدند.

تعیین ترکیب شیمیایی اسانس‌ها: به‌منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانسی، اسانس هر گیاه به دستگاه گاز کروماتوگراف ساخت شرکت شیمادزو ژاپن با طیف‌سنج (GC/MS) تزریق گردید. دستگاه دارای ستون موبینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی۶۰ تا ۲۷۵ و همراه با افزایش تدریجی ۵ درجه در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه به‌مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. گاز حامل هلیوم و دمای تزریق ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. پس از تزریق اسانس به دستگاه و مشاهده طیف کروماتوگرام که حضور تعداد زیادی ترکیب را نشان می‌داد، با استفاده از زمان بازداری (Rt)، طیف جرمی، مقایسه با ترکیبات موجود در کتابخانه اطلاعات کامپیوتری، شناسایی ترکیبات اسانس و تعیین درصد کمی در آن‌ها انجام گرفت.

عصاره گیری: نمونه‌های برگ گیاه در فاز گلدهی را در فضای آزمایشگاه خشک و با اتانول ۸۰ درصد به روش خیساندن به‌مدت ۳ ساعت عصاره‌گیری گردید و پس از خارج کردن حلال از عصاره به کمک روتاری و سپس در دمای یخچال نگهداری گردید (Mazandarani et al., 2013).

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل: میزان فلاونویید کل توسط روش آلومینیوم کلراید مورد بررسی قرار گرفت (Pourmord et al., 2006)، در این روش ۵/۰ میلی‌لیتر از عصاره اتانلی گیاه را با ۵/۱ میلی‌لیتر اتانول، با ۱/۰ سی‌سی از آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۱/۰ سی‌سی از استات پتاسیم یک مولار و ۸/۲ سی‌سی از آب مقطر مخلوط گردید. برای تهیه شاهد هم از اتانول خالص جایگزین عصاره گیاه شد سپس در دمای محیط آزمایشگاه و در تاریکی برای ۳۰ دقیق نگهه داشته شد، سپس جذب محلول را در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرایت گردید و به جهت رسم منحنی استاندارد از غلظتهای مختلف استاندارد کوئرستین (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در لیتر استفاده شد و از معادله خط بدست آمده برای تعیین غلظت فلاونویید کل استفاده شد. نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در میلی‌لیتر اسانس محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فنل کل: میزان کل ترکیبات فنولی توسط رنگ‌سنجی به‌وسیله روش فولین- سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2006). روش کار به این صورت بود که ۲۰ میکرو لیتر از اسانس با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر معرف فولین به محلول فوق اضافه شد بعد از گذشت زمان ۸-۱ دقیقه، ۳۰۰ میکرو لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه شد و نمونه‌ها بعد از هم زدن با همزن لوله‌ای به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد و سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتردر طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در میلی‌لیتر اسانس محاسبه شد (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2006).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش بـه دام اندازی رادیکـال آزاد (DPPH): توانـایی عصـاره‌هـا بـــرای جـــذب رادیکـــال‌هـــای DPPH طبـــق روش Ebrahimzadeh و همکاران (۲۰۱۰) تعیین شد. ابتدا غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون از اسانس‌هـا تهیـه شـد. یـک میلـی‌لیتـر از محلول متانولی یک میلی‌مولار DPPH با ۳ میلـی‌لیتـر محلول عصاره در متانول (۴۰۰-۵۰ میکروگرم عصاره خشک) مخلوط و به شدت ورتکس شد و بـه مـدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تـاریکی نگـه‌داری شـد. و جذب در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و فعالیت بر حسب درصد نسبی DPPH طبق معادله ۱ به دست می‌آید.

(۱)

$$\text{درصد DPPH} = \frac{\text{درصد جذب شاهد} - \text{درصد جذب نمونه}}{\text{درصد جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

روش آنالیز آماری: بـرای تجزیـه وتحلیـل داده‌هـا از طرح کاملاً تصادفی از نـرم‌افـزار SAS اسـتفاده شـد. مقایسه میانگین‌ها بـا اسـتفاده از آزمـون دانکـن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

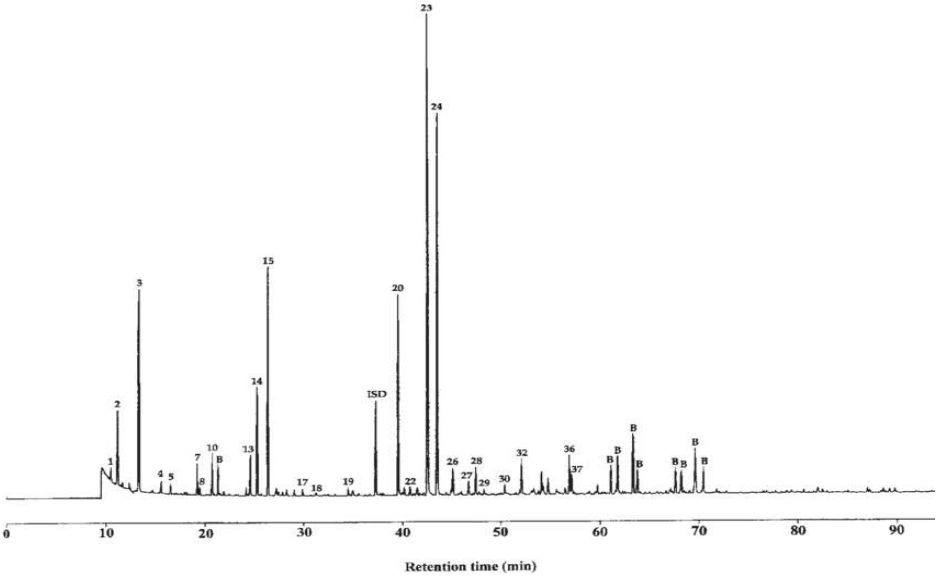
نتایج ارزیابی فیتوشیمیایی اسانس و عصاره مندرج در جدول‌هـای ۱ و ۲ لیسـت شـده اسـت کـه تنـوع میزان اسانس گیاه در رویشگاه زیارت از ۹/۰ درصد تا افزایش میزان اسـانس استحصـالی از گیـاه را تـا ۸/۱ درصد در ارتفاع ۲۲۰۰ متر و ارتقاء کمیـت و کیفیـت اسـانس در رویشـگاه مرتفـع ۲۲۰۰ متـری را نشـان می‌دهد. به‌طوری‌که در رویشگاه مرتفع درازنـو (۲۲۰۰ متر) تعداد ۳۰ ترکیب شناسـایی گردیـد کـه تـا ۳/۹۷ درصد از حجم اسانس را به خود اختصـاص دادنـد و به‌ترتیـب ترکیبـات کـامفور (۱۲/۴۳- ۸/۵۴ درصـد)، کامفن (۹/۶- ۰۴/۱۰ درصد) ، بورنیـل اسـتات (۱/۳- ۰۶/۶ درصد)، او۸- سینئول و پارا- سیمن هر کـدام (۱/۳- ۳۶/۳ درصـد) از مهمتـرین ترکیبـات متشـکله اسانس در هر دو رویشگاه بودنـد و اینکـه بـه‌ترتیـب ترکیبات مونوترپن‌هـای اکسـیژنه (کـامفور) بیشـترین مقدار اسانس را به خود اختصاص داده‌اند (جدول ۱). در جدول ۲ نیز نشان می‌دهد که با افزایش ارتفـاع در رویشـگاه درازنـو (۲۲۰۰ متـر) از بیشـترین میـزان ترکیبات اسانس، میزان فنل توتـال (۹/۱ mgEGA/g± ۶/۱۴۸) میلی‌گرم معادل گالیک اسید، فلاونویید توتال (۸/۰mgEQU±۷/۲۱۸) میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک گیاه) و عملکرد آنتی‌اکسیدانی نیز تا ۸۹ درصـد (۱/۱٪±۵/۸۹=DPPH) برخـوردار بـود.

جدول ۱: مقایسه کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه در دو رویشگاه ۹۹۰- ۲۲۰۰ متر زیارت و درازنو در استان گلستان

NO	Compound	*Rt.	**KI	A(%)	B(%)
۱	α-thujene	4.8	924	0.61	-----
۲	α- pinene	5.8	932	0.58	----
۳	camphene	6.5	946	10.04	6.9
۴	sabinene	6.9	964	0.02	0.3
۵	β - pinene	7.1	979	0.03	----
۶	β- myrcene	8.1	982	0.21	1.6
۷	α- phellanderene	8.3	1008	0.320	0.6
۸	p- cymene	8.5	1020	3.17	----
۹	1,8-cineole	8.7	1026	3.36	0.1
۱۰	- terpinene۲	8.9	1054	1.76	1.2
۱۱	α- terpineole	9.8	1082	0.27	----

۱۲	linalool	11.3	1095	0.81	0.2
۱۳	Linalool oxide	11.6	1096	0.37	----
۱۴	camphore	12.07	1141	54.8	43.01
۱۵	borneole	12.75	1165	0.38	2.9
۱۶	Terpinene 4 –ol	15.2	1178	1.58	0.1
۱۷	Linalool acetat	15.3	1141	0.13	----
۱۸	Bornyl acetat	19.54	1287	6.06	3.1
۱۹	α- cubenene	20.44	1381	0.36	1.07
۲۰	Geranyl acetat	21.7	1379	0.37	3.17
۲۱	caryophyllene	22.4	1418	0.15	5.9
۲۲	Trans- β - farnesene	23.98	1454	0.49	8.3
۲۳	Cis- β - farnesene	27.6	1462	0.09	----
۲۴	Germacrene -D	28.1	1484	2.13	1.9
۲۵	Bornyl iso valerate	29.8	1512	2.01	0.5
۲۶	β- sesquiphellanderene	30.4	1525	0.64	----
۲۷	Caryophyllene oxide	31.4	1537	3.99	1.28
۲۸	- cadineneϒ	34.2	1551	0.51	----
۲۹	- eudesmolϒ	34.6	1630	1.7	----
۳۰	valencene	34.7	1639	0.37	----
۳۱	total			97.31	82.13

Class components: Monoterpene Hydrocarbones(1,2,3,4,5, 6, ,8,9, 10,11 in A= 20.05% and in B= 10.1%)
Oxygenate Monoterpene (7, 12, 13, 14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24, 25 in A=70.05% and in B=70.75%)
Sesquiterpene Hydrocarbone (26, 27 in A = 4.63 % and in B= 1.28 %)
Number of identified compounds: (A= 30 and B=18)
Yield(A=1.8.%, B=0.9%)
*Rt.: Retention time; **KI: Kovats indicate
A= Deraznoo region with 2200 m Height ; B= Ziarat region with 990 m Height



شکل ۱: کروماتوگرام آنالیز مواد موثره اسانس گیاه در رویشگاه درازنو – ۲۲۰۰ متر

جدول ۲: ارزیابی و مقایسه میزان فنل و فلاونویید کل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه *Tanacetum parthenium* L. در دو رویشگاه ۲۲۰۰-۹۹۰ متری استان گلستان.

species	Extraction	Total phenolic content (mg GAE/g extract)	Total flavonoid content (mgQUE/g extract)	Antioxidant activity DPPH(%)
T. parthenium L.	990 m	68.01±0.3 mg GAE g-1 DW	74.04± 0.6 mg QUE g-1 DW	78.5 ± 1.1 %
T.parthenium L.	2200 m	148.6 ± 1.9 mg GAE g-1 DW	218. 7± 0.8 mg QUE g-1 DW	89.5 ± 1.1 %

Values expressed are mean ± S.D. pf three parallel measurments . GAE, Gallic acid equivalent; QU, Quercetin equivalent

بحث

همانطور که اطلاعات مندرج در جداول ۱ و ۲ نشان می‌دهد، مونوترپن‌های اکسیژنه و هیدروژنه: کامفور، کامفن، بورنیل استات، ۱و۸- سینئول و پارا –سیمن بیشترین کمیت اسانس را در هر دو رویشگاه (۹۹۰- ۲۲۰۰ متر) به خود اختصاص داده اند و اینکه با افزایش ارتفاع در رویشگاه کوهستانی درازنو کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس از جمله کامفور از ۴۳ درصد تا میزان ۸/۵۴ درصد و میزان ترکیبات فنلی و فلاونویید نیز افزایش نشان داد و به بالاترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی تا ٪۱/۱±۵/۸۹ در مهار رادیکال آزاد رسید. در بررسی‌های مشابه نیز تنوع کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس و سایر متابولیت‌های ثانوی گیاه را بسته به مکان و زمان برداشت گیاه، نوع حلال، نحوه استخراج، زمان برداشت و میزان ماندگاری نمونه‌ها متفاوت گزارش گردید (Mazandarani et al., 2013; Ghavam et al., 2021). تاریخچه استفاده دارویی از این گیاه به قرن اول میلادی بر می‌گردد که از فراورده‌های دارویی گیاه به واسطه حضور ترکیبات موثره ترپنویيدی و سزکویی ترپن لاکتون به‌عنوان مقوی تب بر، مسکن و ضدالتهاب در درمان زخم‌های عفونی سربازان جنگی استفاده شده است (Hadjiakhondi et al., 2003; Jonson et al., 1984; Chavez and Chavez, 1999; Setty and Sigal, 2005). لذا با توجه به افزایش روند رو به رشد آمار مرگ و میر ناشی از بیماری‌های عفونی و التهابی (Weli et al., 2021; Ceylanet al., 2019; Rolain et al., 2016)، متخصصان بهداشت و درمان به دنبال کشف و استخراج مواد طبیعی ضدباکتریال و ضدالتهاب از گیاهان دارویی قابل دسترس، موثر و کم خطر با سابقه دیرینه در درمان می‌باشند (Ghavam et al., 2021; Mazandarani et al., 2014 and 2017). در این رابطه گزارش‌های فراوانی از کمیت و کیفیت مواد موثره گیاه در رویشگاه‌های مختلف ایران، اروپا و آسیا ارایه شده که از ترکیبات کامفور، کامفن و بورنیل استات به‌عنوان مهمترین ترکیبات ضدباکتریال، ضدقارچ و ضدالتهاب نام برده شده است (Mazandarani et al., 2014; Shafeghat et al., 2017; Polatogloo et al., 2010) و اینکه افزایش ۸/۰ تا ۹۹/۰ درصدی اسانس گیاه در رویشگاههای کوهستانی (افزایش میزان کامفور تا ۶۱ درصد و کامفن تا ۱۲ درصد) گزارش شده است (Chehregani et al., 2010; Ozturk et al., 2010; Shafaghat et al., 2017; Ghavam ; 2021). در گزارش‌های فیتوشیمیایی اسانس نیز از رویشگاه‌های شمال غرب ایران نیز از کامفور (۵۳ درصد)، کامفن (۲/۹ درصد) و بورنیل استات تا ۶/۵ درصد گزارش شده است که بسته به شرایط رویشگاهی، اندام، زمان و مکان برداشت و میزان ماندگاری متغیر گزارش شده است و طبعاً در تغییر میزان عملکرد دارویی گیاه نیز موثر می‌باشد (Izadi et al., 2010; Jaimand, 1999; Shafeghat et al., 2017; Mazandarani et al., 2015; Pittler et al., 2004; Di Cesare Mannelli et al., 2015). بومیان آمریکای مرکزی و جنوبی نیز از

جوشانده برگ و گل این گیاه برای درمان قولنج، درد کلیه، تهوع صبحگاهی، معده درد، اسپاسم رحمی، درمان دیسمنوره، سردرد و گوش درد استفاده می کردند (Pittler et al., 2004) و این خواص را به حضور مواد فعال بیولوژیکی گیاه (ترپنوییدها، سزکویی ترپن لاکتون‌های (پارتنولید) و فلاونوییدهای کوئرستین، لوتئولین و آپی ژنین نسبت دادند که به نوعی بیشتر در غدد سطحی برگ (۲/۰– ۵/۰ درصد) و تا ۸۵ درصد از کل محتوای سسکویی ترپن را تشکیل می‌دهد (Ghavam Heptinstall et al., 1992 et al., 2021;) که در تایید مصارف دارویی گیاه به‌عنوان ضدالتهاب و مسکن در درمان عفونت‌های زخم، تسکین دردهای میگرنی، زانو و قاعدگی قابل بحث است (Sadat- Hoseini et al., 2017; Recsio, 2005; Paric et al., 2011; Walia et qal, 2020). در بررسی‌های قبلی نیز از این ترکیبات به‌عنوان مهمترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان، ضدباکتریال، آنتی‌اسپاسم و ضدالتهاب در ترکیه، ایران و کوزووو گزارش شده است (Ghavam, 2021; Shafeghat et al., 2017; Alvarez et al., 2010; Wang et al., 2015; Haziri et al., 2009). در بررسی مشابه که توسط شفقت و همکاران انجام گرفت مهمترین ترکیبات اسانس برگهای دو گونه بومی از این گیاه را در ارتفاعات خلخال و اسالم (۲۱۵۰ متر)، به‌ترتیب شامل : کامفور (۸/۵۳ درصد)، ترانس بتا– فارنزن (۳/۸ درصد)، و کامفن (۹/۶ درصد) با خواص ضدباکتری، ضدقارچ و ضدکاندیدا در رفع عفونت‌های پوستی و واژینال نام برده شده است (Shafeghat et al., 2009; Tofighi eta al., 2015; Cordeiro et al., 2013). در این رابطه از عملکرد ترکیبات: کامفور، کامفن، بورنیل استات، آلفا و بتا– پینن به همراه پارتنولید حتی در دوز کم نیز علیه *E.coli* و گونه‌ها مختلف *S.aureus* در التیام زخم و عفونت‌های پوستی گزارش شده است (Ozer et al., 2006) و عملکرد گیاه را به‌عنوان ضدالتهاب، ضد باکتری و ضد قارچ در درمان زخم‌های عفونی، آرتریت، سردرد میگرنی، یبوست، درماتیت، گوش درد، تب، سردرد، اختلالات قاعدگی، پسوریازیس، اسپاسم معده، سرگیجه، سرفه و سرماخوردگی را به این ترکیبات و سزکویی ترپن لاکتونهای گیاه نسبت دادند که با کاهش استرس‌های اکسیداتیو و مهار رادیکال‌های آزاد و کمپلکس کیناز، یک مهارکننده قوی در سنتز پروستاگلاندین در نابودی سلول‌های سرطانی و در درمان لوسمی موثر است (Alvarez et al., 2010; Baranello et al., 2015 ; Tomsone et al., 2013; Sokovic et al., 2010; Wang et al., 2015). همچنین شواهد علمی نشان میدهد عصاره اتانولی برگ گیاه با مسدود کردن کانال‌های باز پتاسیم، اسپاسم عضلات صاف را مهار و به‌عنوان یک مهارکننده‌های قوی ترشح سروتونین از پلاکت‌ها می‌باشد (Prashanth et al., 2015; Baranello et al., 2015 Rezaei et al., 2017; Tadic et al., 2019; Huda et al., 2022) و به همین دلیل استفاده خوراکی دوز روزانه ۱۲۵ میلی‌گرم از برگ خشک شده از گیاه *T.parthenium* دارای حداقل ۲/۰ درصد پارتنولید را برای بیماران میگرنی بصورت بدون نسخه اعلام نمودند (Huda et al., 2022; Mahmoodzadeh et al., 2017; Tomsone et al., 2013) در گزارش‌های دیگر نیز از مونوترپن‌های گیاه به عنوان ضد قارچ و حشره کش (Alvares et al., 2001; Ceylan et al., 2019)، آرام بخش و مسکن (Di Cesare et al., 2015) و همچنین ضد التهاب و تب بر ارایه شده است (Mahmood zade et al., 2017; Polatoglu et al., 2011; Rezaei et al., 2017) یقیناً یافته‌های این تحقیق و بررسی گزارشهای مشابه می‌تواند در مستند سازی علمی عملکرد دارویی این گیاه موثر باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

بررسی یافته‌های این تحقیق و تحلیل یافته‌های مشابه دیگران در رویشگاههای مختلف دنیا، حاکی از تاثیر زمان و مکان برداشت، نوع رویشگاه، نوع حلال و روش استخراج بر کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس و عصاره و همچنین عملکردهای مختلف دارویی گیاه بابونه کبیر (*T .parthenium* L.) به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدباکتری، ضدقارچ، مسکن و ضدسرطان می‌باشد. همچنین همسو با یافته‌های این تحقیق مشخص شد که نه تنها ترکیبات: مونو ترپنوییدهای اکسیژنه و هیدروژنه (کامفور)، فلاونوییید، پلی‌فنل و سزکویی‌ترپن لاکتون‌های پارتنولید، مخصوصاً با افزایش ارتفاع و افزایش سهم تاثیر استرس‌های اکولوژیک، افزایش یافت بلکه میتوان نتیجه گرفت که همزمان بتا افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره، طبعا می‌توان همسو با یافته‌های دیگران، سهم افزایش عملکرد ضدالتهابی و ضدباکتریالیی گیاه را نیز توجیه نماید و از آنجایی که این ترکیبات به‌عنوان ضدباکتری و قارچ نیز گزارش شده‌اند و اثرات ضدالتهابی آنها نیزدر بررسی‌های مختلف invitro, invivo گزارش شده است، تحلیل بسیار خوبی خواهد بود در مستندسازی علمی استفاده‌های دارویی سنتی از این گیاه در منطقه مخصوصا رویشگاه‌های کوهستانی استان گلستان، به‌عنوان مقوی ایمنی، تب بر، رفع سردردهای میگرنی، آرتریت روماتویید، آنتی‌باکتریال، ضدقارچ، ضدالتهاب و ضدعفونی کننده و مسکن در درمان بیماری‌های شایع منطقه، لذا پیشنهاد می‌نماید در بررسی‌های بعدی میزان پارتنولید عصاره‌های مختلف گیاه در رویشگاههای مختلف نیز ارزیابی گردد و همزمان به اثرات ضدالتهابی و ضد پاتوژنیک عصاره‌ها نیز در شرایط invitro, invivo پرداخته شود

References

1. Alvarez, C.P.P., Bishop, C.D., and Pascual, V.M.J. 2001. Antifungal activity of the essential oil of flower heads of arland *Chrysanthemum (Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. Phytochemy. 57: 99-102.
2. Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry, 102: 1233–1240.
3. Di Cesare Mannelli, L., Tenci, B., Zanardelli, M., Maidecchi, A., Lugli, A., Mattoli, L., Ghelardini, C. 2015. Widespread pain reliever profile of a flower extract of *Tanacetum parthenium*. Phytomedicine, 22: 752–758. [Cross Ref].
4. Baranello, M.P., Bauer, L., Jordan, C.T., and Benoit, D.S.W. 2015. Micelle delivery of parthenolide to acute myeloid leukemia cells. Cell. Mol. Bioeng. 2015, 8: 455–470. [CrossRef]
5. Ceylan S., Cetin S., Camadan Y., Saral O., and Tutus A. 2019. Antibacterial and antioxidant activities of traditional medicinal plants from the Erzurum region of turkey. Ir. J. Med. Sci. 188: 1303–9.
6. Czyz, M., Koprowska, K., and Sztiller-Sikorska, M. 2013. Parthenolide reduces the frequency of ABCB5-positive cells and clonogenic capacity of melanoma cells from anchorage independent melanospheres. Cancer Biol. Ther. 14, 135–145. [CrossRef] [PubMed]
7. Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.J. and Bahramian, F. 2010.

Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. Var. *angustifolius, V. odorata, B. hyrcana* and *C. speciosum*. Pakistan journal of pharmaceutical sciences, 23(1): 29-34.

8. Ghavam, M. 2021. *Tripleurospermum disciforme* (C.A.Mey.) Sch. Bip., *Tanacetum parthenium* (L.) Sch.Bip, and *Achillea biebersteinii* Afan.: efciency, chemical profle, and biological properties of essential oil . Ghavam Chem. Biol. Technol. Agric. 8:45.
9. Hadjiakhondi, A., Ameri, N., Khalighi, S.F. and Rustaiyan, A, 2003. A new Guaianolide from *Tanacetum fruticulosum* Ledeb. Daru. 11: 171-174.
10. Haziri, A., Govori, S., Ismaili, M., Faiku, F., and Haziri, I. 2009. Essential oil of *Tanacetum parthenium* L. from East park of Kosova. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 5(4): 226-228.
11. Huda E. Mahood L., Majeed Kadhem Abbas and Nisar Ahmad Zahid, 2022. Micropropagation of Feverfew (*Tanacetum arthenium*) and Quantification of Parthenolide Content in Its Micropropagated and Conventionally Grown Plants. Horticulturae, 8, 50
12. Izadi, Z., Esna-Ashari, M., Piri, K. and Davoodi, P, 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of feverfew (*Tanacetum parthenium*) essential oil. Int. J. Agric. Biol. 12(5): 759-763.
13. Jaimand, K. 1999. Chemical compositions of the essential oil of *T. parthenium*. J. Med. Arom. Plants Res. 3: 15-26.
14. Jonson, E.S. 1984. Feverfew; A traditional herbal remedy for migraine arthritis. Sheldon press, London, England. P. 185.
15. Mahmoodzadeh, Y., Mazani, M., and Rezagholizadeh, L. 2017. *Tanacetum parthenium* extract on Hepatoprotective effect of methanolic CCl4-induced liver damage in rats. Toxicol. Rep. 4: 455–462. [CrossRef].
16. Majed-Jabari, T., Vatanpoor, H., Rustaiyan, A., Masoudi, S. and Monfared, A. 2002. Composition of the essential oil of *Tanacetum khorassanicum* (Krasch.) Parsa. a new species from Iran. J. Essent. Oil Res. 14: 380-381.
17. Mazandarani M., Zarghami Moghadam P., Zolfaghari M.R., and Ghaemi E. 2012. Effect of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in *Onosma dichroantum* Boiss. Journal of Medicinal Plants Research 2012; 6: 4481-8.
18. Mazandarani, M., Ghafourian, M., Khormali, A. 2014. Ethnopharmacology, antibacterial and antioxidant activity of *Dittrichia graveolens* (L.) W. Greuter. Which has been used as remedies antirheumatic, anti-inflammation and ant infection against Leishmaniasis in traditional medicine of Gorgan, Iran. Crescent Journal of Medical and Biological Sciences 1(4): 125-129 .
19. Mazandarani, M., Gelare Borhani and Fathiazad, F. 2014. Phytochemical analysis, antioxidant activity and ecological requirements of *Capparis spinosa* L. in Golestan and Semnan provinces (North of Iran). Journal of Medicinal Plants and By-products (2014) 1: 21-26.
20. Mazandarani, M., Sineh Sepehr, K., Baradaran, B., Zarghami Moghaddam, P., and Khuri, V., 2013. Autecology, phytochemical and antioxidant activity of *Peganum harmala* L. seed extract in North of Iran (Tash Mountains). Journal of Medicinal Plants and By-products (2013) 2: 85-90.
21. Mozaffarian, V. 2007. A Dictionary of Iranian Plant Names, Farhang Moaser Publishers. Tehran, Iran. 534-536.
22. Ozer, H., Kilic, H., Gulluce, M. and Sahin, F. 2006. Essential oil composition of *Tanacetum sorbifolium* (Boiss.) Grierson from Turkey. Flav. Frag. J. 21: 543-545.
23. Pareek, A.; Suthar, M.; Rathore, G.; Bansal, V. 2011. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. Pharmacogn. Rev. 2011, 5, 103. [CrossRef]
24. Pourianezhad, F., Tahmasebi, S., Abdusi, V., Nikfar, S., and Mirhoseini, M. 2016. Review on feverfew, a valuable medicinal plant. J. HerbMed. Pharmacol, 5: 45–49.

25. Polatoglu, K., Demirci, F., Demirci, B., Gören, N. and Baser, K. H. C., 2010. Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. essential oils from Turkey. J. Oleo Sci. 59(4): 177-184.
26. Polatoglu, K., Demirci, B., Görena N. and Baser, K.H.C. 2011. Essential oil composition of endemic *Tanacetum zahlbruckneri* (Nab.) and *Tanacetum tabrisianum* (Boiss.) Sosn. and Takht. from Turkey. Nat. Prod. Res. 25(6): 576-584.
27. Prashanth, S., Pooja, S., Suchetha, K.N., Vidya, V.K. 2015. Radical scavenging and antioxidant activities of ethanolic and aqueous extract from the leaves of Feverfew *(Tanacetum parthenium* L.) and a synthetic compound parthenolide. J. Pharmacogn. Phytochem. 2015, 4, 223–227.
28. Rezaei F., Jamei R., and Heidari R. 2017. Evaluation of the phytochemical and antioxidant potential of aerial parts of Iranian *Tanacetum parthenium*. Pharm Sci. 23:136-42.
29. Rolain J.M., Abat, C., Jimeno, M.T., Fournier, P.E., and Raoult, D. 2016. Do we need new antibiotics? Clin Microb Infect Dis. 22: 408–15.
30. Sadat-Hosseini, M., Farajpour, M., Boroomand, N., and Solaimani-Sardou, F. 2017. Ethno pharmacological studies of indigenous medicinal plants in the south of Kerman, Iran. J. Ethnopharmacol. 199, 194–204. [CrossRef]
31. Sadat-Hosseini, M., Farajpour, M., Boroomand, N., and Solaimani-Sardou, F. 2017. Ethnopharmacological studies of indigenous medicinal plants in the south of Kerman, Iran. J. Ethnopharmacol. 199: 194–204. [CrossRef].
32. Shafaghat, A., Sadeghi, H., and Oji, K. 2009. Composition and antibacterial activity of essential oils from leaf, stem and root of *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh. from Iran, Nat. Prod. Communic. 4(6): 859-860.
33. Shafaghat, A. 2012. Antibacterial activity and sesquiterpenoid contents of the essential oil of *Tanacetum punctatum* (Desr.) Grierson. J. Essent. oil Bearing Plants. 15(2): 270-275.
34. Sokovic, M., Glamoclija, J., Marin, P.D., Dejan Brkic, D., and Griensven, L.J.L.D. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model, Molecules. 15(11): 7532-7546.
35. Tadi´c, V., Živkovi´c, J., Bigovi´c, D., and Žugi´c, A. 2019.Variation of parthenolide and phenolic compounds content in different parts of *Tanacetum parthenium* (L.) Schulz Bip., Asteraceae during 18 months storage. Lek. Sirovine 39, 35–39. [CrossRef]
36. Tomsone, L., and Ruma, Z. 2013. Comparison of different solvents for isolation of phenolic compounds from horseradish (*Armoracia rusticana* L.) leaves. Res. Rural Dev. 1: 104–110.
37. Wang, M. and Li, Q. 2015. Parthenolide could become a promising and stable drug with anti-inflammatory effects. Nat. Prod. Res. 29(12): 1092-1101.
38. Weli, A., Al-Omar, W., Al-Sabahi, J., Gilani, S., Alam, T., Philip, A., Hossain, M., Touby, S. 2021. Biomarker profiling of essential oil and its antibacterial and cytotoxic activities of *Cleome austroarabica*. Adv. Biomark Sci. Technol. 3: 1–7.