

ارزیابی میزان فنل تام و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بومادران، درمنه و بابونه

چکیده:

مقدمه و هدف: مصرف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مشتق از گیاهان باعث کاهش شیوع بسیاری از بیماری‌های مزمن می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی میزان فنل تام و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بومادران، درمنه و بابونه بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. ابتدا ساقه‌های هوایی گیاهان مورد مطالعه شامل: بومادران، درمنه و بابونه در مجاورت هوا و در سایه خشک شده و پودر گردید. عصاره‌های هیدروالکلی به روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق تهیه شدند. در این مطالعه برای ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی از پنج آزمون به نام: دی فنیل پیکریل هیدرازیل، توان آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس، توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن، فسفومولیبیدنم و قدرت احیا کنندگی که مکانیسم همگی براساس اهدای الکترون استوار است استفاده شد. برای اندازه‌گیری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آزمون فنل و فلاونوئید تام به کار رفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار اکسل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به گیاه درمنه بود. الگوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل، توان آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس و قدرت احیاء کنندگی از بیشترین به کمترین مقدار مربوط به درمنه، بابونه و بومادران بود. الگوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو روش فسفومولیبیدنم و فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس به ترتیب مربوط به درمنه، بومادران و بابونه بود.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی گیاهان بومادران، درمنه و بابونه در تمامی مدل‌های مورد مطالعه سطوح مختلفی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دادند. بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به گیاه درمنه بود.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل تام، فلاونوئید تام، گیاهان دارویی

علی میرزایی*

مهدی اکبرتبارطوری**

هیبت‌اله صادقی***

بهمن شریفی****

*دکترای بیوشیمی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی

یاسوج، دانشکده پزشکی،

مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

**دکترای تغذیه، استادیار دانشگاه علوم پزشکی

یاسوج، دانشکده بهداشت، گروه تغذیه

***دکترای بیوشیمی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی

یاسوج، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان

دارویی، گروه بیوشیمی

****متخصص چشم پزشکی، استادیار دانشگاه علوم

پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه چشم پزشکی

تاریخ وصول: ۱۳۸۹/۳/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۴/۱

نویسنده مسئول: علی میرزایی

پست الکترونیک: mirzaee3a2003@yahoo.com

مقدمه

می‌رود (۵). گیاه درمنه^(۲) دارای اثرات ضد انگلی، ضد باکتری و ضد دیابت می‌باشد (۷ و ۶). مصرف عمده گیاه بابونه^(۳) به خاطر اثرات ضد التهابی، ضد نفخ و همچنین برای درمان ناراحتی‌های دستگاه گوارش و تنفسی می‌باشد (۸).

بومادران و درمنه دو تا از گیاهان دارویی منطقه یاسوج و بابونه یکی از گیاهان دارویی مهم منطقه ممسنی می‌باشند که به طور سنتی مورد استفاده دارویی قرار می‌گیرند. با توجه به این که عوامل بسیار زیادی از قبیل: آب و هوا، خاک و ارتفاع، اختلاف در گونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و روش اندازه‌گیری‌های آنتی‌اکسیدان‌ها در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی از جمله: فنل، فلاونوئید تام و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند (۹). از طرف دیگر تا کنون مطالعه‌های آنتی‌اکسیدانی بر روی هیچ‌کدام از گیاهان فوق صورت نگرفته است، لذا این تحقیق جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی گیاهان نامبرده جهت استفاده‌های درمانی و تحقیقی بیشتر انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. ابتدا نمونه‌های گیاهی بومادران و درمنه از مناطق اطراف شهر سی سخت و بابونه از منطقه اطراف شهر نورآباد ممسنی

شواهد زیادی وجود دارد که بیان‌گر سمی بودن و اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی اضافه شده به مواد غذایی مانند؛ بوتیل هیدرواکسی آیزول، بوتیل هیدرواکسی تولوئن و ترت بتا هیدروکسی کینون می‌باشد. علاوه بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان در حیوانات آزمایشگاهی از معایب استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی است (۱)، بنابراین نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های قوی با سمیت کمتر و اثربخشی بیشتر یک ضرورت جدی است. به همین دلیل امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه‌جات و سبزیجات را توصیه می‌نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری ایجاد می‌نمایند (۲).

نظر به این که گیاهان یکی از منابع مهم آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند، بررسی‌ها در این زمینه رو به افزایش می‌باشد. گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشند، می‌توانند باعث حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو شوند (۳). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند؛ سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته مغزی می‌شوند (۴).

گیاه بومادران^(۱) دارای اثرات ضد التهابی بوده و برای درمان زخم‌ها و سوختگی‌ها به کار

1-Achillea wilhelmina
2-Artemisia Martima
3-Matricaria Recutica

فعالیت آنتی‌اکسیدانی تام نمونه‌های عصاره به وسیله روش ون گادو و همکاران^(۳) (۱۹۹۷) ارزیابی شد (۱۳). روش محاسبه دقیقاً مشابه روش قبل است. برای اندازه‌گیری توانایی احیاء کنندگی نمونه‌های عصاره از روش بنزی و استرین^(۴) (۱۹۹۶) با اندکی تغییر استفاده شد (۱۴). فعالیت احیاء کنندگی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول آهن در میلی‌گرم وزن خشک عصاره محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به طریق کمپلکس فسفومولیبیدیم از روش پریئو و همکاران^(۵) (۱۹۹۹) استفاده شد (۱۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر میلی‌گرم وزن خشک عصاره محاسبه شد.

پتانسیل احیاء کنندگی نمونه‌ها و استاندارد بر طبق روش ماگالیس^(۶) اندازه‌گیری شد. بوتیل هیدرواکسی آنیزول به عنوان استاندارد به کار رفت (۱۶).

پس از وارد کردن داده‌ها در نرم افزار اکسل^(۷) معادله خطی رگرسیون^(۸) و معادله خطی هر آزمون با استفاده از غلظت‌های مختلف و مشخص به طور

جمع‌آوری شده و سپس به وسیله متخصص گیاه‌شناسی تأیید شدند.

در ادامه گیاهان فوق در سایه خشک شدند و سپس عصاره‌های هیدروالکلی (اتانول ۷۰ درصد) به روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت در دو نوبت تهیه شدند و با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان در دمای پایین به پودر عصاره تبدیل شده و نتایج بر حسب گرم عصاره گزارش شدند.

مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره گیاهی به روش فولین سیکالتو اندازه‌گیری گردید (۱۰). مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد.

مقادیر فلاونوئیدها در نمونه عصاره‌های گیاهی به روش زیشن و همکاران^(۱) اندازه‌گیری شدند (۱۱). مقادیر فلاونوئید تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکروگرم به ازای گرم عصاره محاسبه شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره گیاهی به وسیله روش ری و همکاران^(۲) (۱۹۹۹) ارزیابی شد. ابتدا درصد مهاررادیکال آزاد محاسبه شد. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره بیان گردید. ترولکس ساختمانی شبیه به ویتامین E دارد و به عنوان استاندارد به طور وسیعی در تحقیقات از آن استفاده می‌شود (۱۲).

1- Zhishen et al
2-Re et al
3-Von Gadow et al
4-Benzie & Strain
5-Prieto et al
6-magalis
7-Excell
8-Regression

در روش فسفومولیبدیم محدود فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۵۹۰-۵۶۳/۳ میکرومول ترولکس در گرم عصاره بود که بر حسب بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به؛ درمنه، بومادران و بابونه بود (نمودار ۲).

در روش توان احیاء کنندگی جذب نوری رابطه مستقیمی با توان احیاء کنندگی دارد، یعنی جذب نوری بیشتر بیانگر خاصیت احیاء کنندگی بیشتر است. بیشترین و کمترین جذب نوری به ترتیب مربوط به درمنه و بومادران بود.

از بتا هیدرواکسی آنیزول که یک آنتی‌اکسیدان سنتزی است به عنوان استاندارد استفاده شد. جذب نوری آن در غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر معادل ۱/۵ برابر جذب نوری (غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) درمنه بود، بنابراین قدرت احیاء کنندگی بتا هیدرواکسی آنیزول ۱/۵ برابر درمنه بود.

بحث و نتیجه‌گیری

میزان فنل تام و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان هر منطقه بستگی به پارامترهای زیادی از جمله؛ آب و هوا، خاک و ارتفاع و گونه‌های مختلف گیاهان دارد (۵)، لذا هدف از این مطالعه بررسی میزان فنل تام و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بومادران، درمنه و بابونه بود.

اختصاصی رسم شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد.

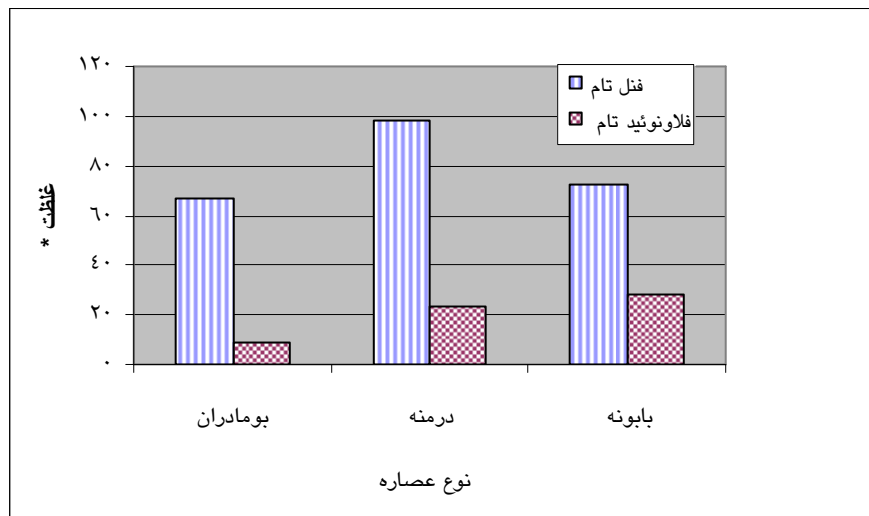
یافته‌ها

محتوای فنلی برای نمونه‌ها در محدوده بین ۶۷-۹۸/۸ میلی‌گرم بود. مقدار فنل تام نمونه‌ها به ترتیب بیشترین به کمترین مقدار درمنه، بابونه و بومادران بود. مقدار فلاونوئید تام نمونه‌ها بین ۱۹/۲-۳۸/۲ میکروگرم بود. بابونه دارای بیشترین و درمنه کمترین مقدار بود (نمودار ۱).

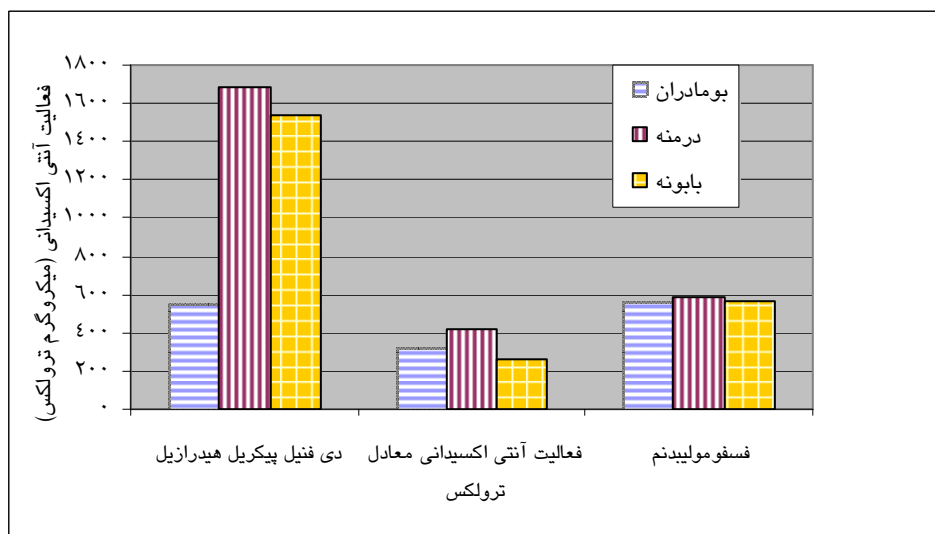
فعالیت به دام‌اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل در عصاره‌های مختلف به ترتیب از بیشترین به کمترین مربوط به؛ درمنه، بابونه و بومادران بود (نمودار ۲).

در آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها به ترتیب از بیشترین به کمترین مربوط به درمنه، بومادران و بابونه بود. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۴۲۰/۳ \pm ۶/۴۲ و کمترین ۲۵۹ \pm ۲/۵۱ میکرومول ترولکس بود (نمودار ۲).

در آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی آهن احیا شده محدوده فعالیت آنتی‌اکسیدانی آهن احیا شده از ۵۰۷ تا ۹۱۵ میکرومول آهن فروس در میلی‌گرم عصاره بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب بیشترین به کمترین عبارت از؛ درمنه، بابونه و بومادران بود.



نمودار ۱: میانگین میزان فنل و فلاونوئید تام عصاره‌های هیدروالکلی بومادران، درمنه و بابونه (*واحد اندازه گیری فنل تام میلی گرم اسید گالیک در گرم و فلاونوئید تام میلی گرم در گرم عصاره)



نمودار ۲: میانگین میزان فعالیت ضد رادیکالی دی فنیل پیکریل هیدرازیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس و فسفومولیبیدنم عصاره‌های هیدروالکلی بومادران، درمنه و بابونه

در مطالعه‌ای میزان فنل تام بومادران در عصاره اتانولی ۱۱۸ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک گیاه و میزان فنل تام بابونه ۸۸۴ میلی‌گرم اسید گالیک درصد گرم گیاه تازه گزارش شد (۵). که خیلی بیشتر از میزان به دست آمده در این تحقیق

نتایج این مطالعه نشان داد گیاه درمنه دارای بیشترین مقدار فنل تام و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و شاید بتوان گفت که خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی این گیاه مربوط به ترکیبات فنلی موجود در آن می‌باشد.

تری پیریدیل تریازین زرد رنگ به کمپلکس فرس آبی رنگ استوار است که به وسیله الکترون دهنده گی آنتی اکسیدانها صورت می گیرد (۲۲). رنگ آبی ایجاد شده در طول موج ۵۹۳ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قابل اندازه گیری است و رابطه خطی با قدرت الکترون دهنده گی آنتی اکسیدانهای مورد آزمایش دارد (۲۳).

در این روش گیاهانی که دارای مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی آهن احیاء شده بالایی هستند، پتانسیل خنثی کردن رادیکالهای آزاد موجود در بدن را دارند که به ترتیب بیشترین خاصیت ضد رادیکالی مربوط به درمنه، بابونه و بومادران بود. شاید بتوان گفت که خاصیت محافظت کبدی گیاه درمنه به خاطر خاصیت احیاء کنندگی و پتانسیل خنثی سازی رادیکالهای آزاد است و به همین خاطر از آن در طب سنتی در درمان اختلالات کبدی - صفراوی استفاده می شود (۲۴).

روش فسفومولیبدیم - کمپلکس روش اسپکتروفتومتری است که از طریق تشکیل کمپلکس فسفومولیبدیم برای اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی به کار می رود. اصول آزمایش براساس احیاء مولیبدیم ۶ ظرفیتی به مولیبدیم ۵ ظرفیتی استوار است که به وسیله نمونه های مورد آزمایش صورت می گیرد. در نتیجه کمپلکس مولیبدیم ۵ ظرفیتی سبز رنگ در محیط اسیدی تشکیل می شود (۲۵). در این تحقیق نتایج حاصل از فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ترولکس و فسفومولیبدیم در خصوص الگوی فعالیت آنتی اکسیدانی یکسان بود.

است. علت این اختلاف می تواند ناشی از به کار بردن روش های مختلف اندازه گیری، استخراج، استانداردهای مختلف برای بیان نتایج، نوع خاک و آب و هوا باشد (۵).

مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده بابونه اسانس های ضروری و ترکیبات فلاونوئیدی است. علاوه بر این ترکیبات، انواع موسین، کومارین، اسید کربوکسیل فنلی، اسید آمینه، کولین و فیتواسترول در بابونه یافت شده است (۱۷).

در بومادران وجود فلاونوئیدهایی از قبیل کوئرتستین و روتین باعث فعالیت های ضد اسپاسمی می شود (۱۸).

رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل یک رادیکال آزاد است که به طور وسیعی برای آزمایش پاک کردن رادیکال های آزاد مورد استفاده قرار می گیرد (۱۹).

درمنه و بومادران به ترتیب دارای بیشترین و کمترین قدرت مهار رادیکال دی فنیل پیکریل بودند. فعالیت بالای ضد رادیکالی درمنه را می توان عمدتاً به خاطر وجود اسید کلروژنیک دانست که قدرت آنتی اکسیدانی آن شبیه به اسید آسکوربیک می باشد و ممکن است این گیاه در درمان آسیب های اکسیداتیوی مؤثر باشد (۲۰).

نتایج این تحقیق نشان داد که گیاه بومادران دارای خاصیت ضد رادیکالی است که این نتیجه با بعضی مطالعه های انجام شده همخوانی دارد (۲۱).

مکانیسم آزمایش فعالیت آنتی اکسیدانی آهن احیاء شده بر اساس توانایی احیاء کمپلکس فریک

در نهایت این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی بومادران، درمنه و بابونه در تمامی مدل‌های مورد مطالعه سطوح مختلفی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دادند. بنابراین می‌توانند به عنوان منابع امیدبخش جهت تأمین منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی باشند.

تقدیر و تشکر

از مسئولان مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، معاونت آموزش تحقیقات و فناوری و مدیریت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به دلیل حمایت مالی این تحقیق قدردانی می‌شود.

احیاء آهن فریک به عنوان یک اندکس برای پتانسیل الکترون دهی به کار می‌رود. این روش بر اساس مکانیسم افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش است.

در این روش ترکیبات آنتی‌اکسیدان با فری سیانور پتاسیم، تری کلرور استیک و کلرور فریک ترکیب شده و کمپلکس سبز رنگی ایجاد می‌نمایند که در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیانگر قدرت احیاءکنندگی نمونه می‌باشد (۲۶).

الگوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آهن احیاء شده با دی فنیل پیکریل هیدرازیل و توان آنتی‌اکسیدانی یکسان، ولی با دو آزمون فسفومولیبدنم و فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس اختلاف داشت.

نتایج یکسان بین فعالیت پاکسازی رادیکال دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل و پتانسیل احیاء کنندگی نمونه‌ها توجیه کننده استفاده این گیاهان در درمان بعضی از بیماری‌ها می‌باشد (۲۷).

بر اساس نتایج این تحقیق ترکیبات فنلی تمام گیاهان مورد استفاده به عنوان دهنده الکترون عمل نموده و بنابراین ممکن است بتوانند در بدن واکنش‌های ناخواسته ایجاد شده به وسیله رادیکال‌های آزاد را پایان دهند و به همین دلیل مصرف ترکیبات فنلی برای بالا بردن آنتی‌اکسیدان‌های سرم یا پلاسما توصیه می‌شوند.

The Antioxidant Activities and Total Phenolic of *Artemisia Martima*, *Achillea Millefolium* and *Matricaria Recutica*

Mirzaei A^{*},
Akbarbar M^{**},
Sadeghi H^{***},
Sharifi B^{****}.

^{*}Assistant Professor of Biochemistry, Medicinal Plant Research Center, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Science, Yasuj, Iran.

^{**}Assistant Professor of Nutrition, Department of Nutrition, Faculty of Health, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

^{***}Associate Professor of Biochemistry, Department of Biochemistry, Herbal Medicine Research Center, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

^{****}Assistant Professor of Ophthalmology, Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received:06/06/2010

Accepted:22/06/2010

Corresponding Author: Mirzaei A
Email: mirzaee3a2003@yahoo.com

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Consumption of plant derived antioxidant contributes to reducing risks of certain chronic and degenerative diseases. The aim of the present study was to study the antioxidant activities and total phenolic of *Artemisia Martima*, *Achillea Millefolium* and *Matricaria Recutica*

Materials & Methods: The present study was conducted at Yasuj University of Medical Sciences in 2009. The Stem and flower sample of plants were air-dried, and then grinded and were finally extracted by ethanol: water (70: 30) for 48 h in room temperature. Extracts were filtered and dried under vacuum system. The antioxidant activity of three ethanol extract of the medicinal plants, *Artemisia martima*, *Achillea millefolium* and *Matricaria recutica*, were analyzed by five different methods; (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, 2, 20azinobis-(3-ethylbenzthiazoline -6-sulphonic acid (ABTS) radical cation, Ferric-reducing antioxidant power assay (FRAP), phosphomolybdenum (PMB) and reducing power (RP). In addition, for determination of antioxidant components, the total phenolic content was also analyzed. The collected data was analyzed by SPSS software.

Results: For all antioxidant activity assays, *Artemisia martima* had the highest antioxidant activity value and also total phenol content. Antioxidant capacity analyses revealed that the FRAP and DPPH had comparable results. Antioxidant activity at 1 mg/mL, in ABTS were in the order *Artemisia martima* > *Achillea millefolium* > *Matricaria recutica*. Similar trend was observed for PMB content. RP, FRAP and DPPH were in the order *Artemisia martima* > *Matricaria recutica* > *Achillea millefolium*.

Conclusion: The extracts showed a variety of antioxidant activities in all antioxidant assay system. This study demonstrated that *Artemisia martima* crude extract exhibit significant antioxidant activity.

Key words: Antioxidant Activity, Total Phenol, Total Flavonoids, Medicinal Herbs

REFERENCES:

1. Ito N, Fukushima S, Hagiwara A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70: 343-7.
2. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agric* 2001; 54: 495-511.
3. Rice-Evans C. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism and bioactivity. *Free Rad Biol Med* 2004; 36: 827-8.
4. Prior RL, Cao G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications. *Hortic Sci* 2000 ;35: 588-92.
5. David R, Zbigniew A. Aqueous extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) inflorescences suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 murine macrophages. *Journal of Medicinal Plants Research* 2010;4(3): 225-34.
6. Yashphe J, Segal R, Brever A, Erdreiot G. Antibacterial activity of *Artemisia herba alba*. *J Pharmaceut Sci* 1979; 68: 924-31.
7. Twajj HA, Al-Badr AA. Hypoglycemic activity of *Artemisia Herba alba*. *J Ethnopharmacol* 1988; 24:123-6.
8. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry* 1998; 44: 1309-1315.
9. Kumar Gupta A, Neelam M. Hepatoprotective activity of aqueous ethanolic extract of chamomile capitula in paracetamol intoxicated albino rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 2006; 1(1): 17-20.
10. McDonald S, Prenzler PD, Autolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry* 2001; 73: 73-84.
11. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 1999; 64: 555-9.
12. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice- Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology* 1999 ; 26: 1231- 7.
13. Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF. Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibosed tea (*Aspalathon linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997; 45: 632-8.
14. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 1996; 239: 70-6.
15. Prieto P, Pineda M, Aguilar MM. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 1999; 269: 337-41.
16. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap J Nutr* 1986; 44: 307-15.
17. GOsztoła B, Nemeth E, Sarosi SZ, Szabo K, Kozak A. Comparative evaluation of chamomile (*Matricaria recutita* L.) populations from different origin. *International Journal of Horticultural Science* 2006; 12(1): 91-5.
18. Nakayoma J, Yamada M. Suppression of active oxygen-induced cyto toxicity by flavonoids. *Biochem Pharmacol* 1995; 45: 265-7.
19. Shimoji Y, Tamura Y, Nakamura Y, Nanda K, Nishidai S, Nishikawa Y, et al. Isolation and identification of DPPH radical scavenging compounds in kurosu (Japanese unpolished rice vinegar). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002; 50: 6501-3.
20. Soon SK, Chung KL1, Sam S, Hyun AJ, Jae SC. Chlorogenic acid, an antioxidant principle from the aerial parts of *artemisia iwayomogi* that acts on 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Arch Pharm Res* 1997; 20: 148-54.
21. Nickavar B, Kamalinejad M, Haj-Yahya M, Shafagh B. Comparison of the free radical scavenging activity of six iranian achillea. species. *Pharmaceutical Biology* 2006; 44: 208-12.

22. Benzie IFF, Wai Y, Strain JJ. Antioxidant (reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *Journal of Nutritional Biochemistry* 1999; 10: 146–50.
23. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 1841.
24. Janbaz KH, Gilani AH. Evaluation of the protective potential of artemisia maritima extract on acetaminophen- and CCl₄-induced liver damage. *Journal of Ethnopharmacology* 1995; 47: 43-7.
25. Kanner J, German B, Granit R, German B, Kinsella JE. Natural antioxidants in grapes and wines. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 64-9.
26. Jayaprakash GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed extracts on peroxidation models in-vitro. *J Agric Food Chem* 2001; 55: 1018-22.
27. Dhawan BN, Patnik GR, Rastogy RAT, Singh KK, Tandol TS. Screening of Indian plants for biological activity. *YL India Exp B* 1977; 15: 108.