

بررسی تنوع فیتوشیمیایی اسانس جمعیت‌های مختلف بومادران (*Achillea nobilis* L.)

رقیه عظیمی^{۱*}، فاطمه سفیدکن^۲، پروین صالحی^۳، اعظم منفرد^۴ و محمود نادری^۵

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور، مرکز تهران شرق

۲ و ۳. استاد، استادیار و کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

۴. استادیار، دانشگاه پیام نور، مرکز تهران شرق

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۷/۱۲)

چکیده

جنس بومادران در ایران ۱۹ گونه گیاه علفی چندساله و معطر دارد که شش گونه آن انحصاری ایران است. در این تحقیق با هدف بررسی اسانس جمعیت‌های مختلف بومادران با نام علمی *Achillea nobilis* L. (بومی ایران) در شرایط زراعی، بذری ۲۲ جمعیت گیاه از رویشگاه‌های مختلف گردآوری شده و در مزرعه تحقیقاتی کشت شد. سرشاخه‌های گل‌دار در هنگام اوج گلدهی برداشت و پس از خشک کردن در سایه، اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب صورت گرفت. اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های رنگ‌نگاری گازی (گازکروماتوگرافی) (GC) و رنگ‌نگاری گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/Mass) تجزیه شدند. بازده اسانس‌ها از ۰/۳۳ درصد تا ۱/۴۴ درصد متفاوت بود. کمترین بازده اسانس در جمعیت سمنان (۰/۳۳ درصد) و بیشترین بازده اسانس در جمعیت سنندج (۱/۴۴ درصد) مشاهده شد. تجزیه خوشه‌ای (کلاستر) بر پایه ترکیب‌های اسانس‌ها نشان داد که کل نمونه‌های (accessions) مورد بررسی در دو خوشه جداگانه قرار گرفتند. ترکیب اصلی اسانس خوشه ۱-آرتمیزیاکتون بود که بیشترین میزان آن (۸۵/۵ درصد) در جمعیت سنندج بود. در اسانس جمعیت‌های گرگان-۲ (۸۴/۵ درصد، مراوه تپه-۱ ۸۱/۶ درصد، زنجان-۱ ۸۱/۳ درصد، گلستان-۲ ۸۰/۲ درصد و گلستان-۳ ۸۰/۱ درصد آرتمیزیاکتون وجود داشت. در اسانس نمونه‌های خوشه ۲-میزان آرتمیزیاکتون کمتر بوده و این جمعیت‌ها بر پایه میزان آلفا-توجون، بتا-توجون، ۸،۱-سینئول و سیس-کریزانتنول به صورت بسیار متمایزی گروه‌بندی شدند. جمعیت همدان-۲ موجود در این گروه‌بندی منبع غنی از سیس-کریزانتنول (۴۱/۷ درصد) بود. جمعیت‌های گرگان-۱ و خرم‌آباد منابع غنی از آلفا-توجون (به ترتیب ۵۲/۱ درصد و ۴۹/۳ درصد) بودند و جمعیت گرگان-۱ بالاترین میزان بتا-توجون (۱۷/۹ درصد) را داشت.

واژه‌های کلیدی: *Achillea nobilis*، آرتمیزیاکتون، اسانس، آلفا-توجون، سیس-کریزانتنول.

مقدمه

در عرصه منابع طبیعی ایران حدود ۸۰۰۰ گونه وحشی خودرو (متعلق به ۱۲۰۰ جنس و ۱۵۰ خانواده) یافت می‌شود (Ghahrman, 1996). شمار بسیاری از آن‌ها دارویی هستند. جنس بومادران (*Achillea*) شامل گیاهان چندساله علفی است که در بخش‌هایی از اروپا

و آسیا به صورت خودرو رویش دارند (Mozaffarian, 2008; Shariati et al., 2010). جنس بومادران شامل ۹۰۰ جنس و حدود ۱۳۰۰۰ گونه است که در نقاط مختلف کره زمین پراکنده‌اند (Azadbakht, 1999). بیشترین انتشار این خانواده در نواحی معتدل و سرد کره زمین است (Omidbaigi, 2005). به‌طور کلی ۱۱۵

درصد) و ترانس-ورینول (۱۴/۱ درصد) گزارش شدند (Kazemizadeh *et al.*, 2011). در تحقیق دیگری در ایران اسانس *A. nobilis* در سه مرحله رویشی شامل آغاز گلدهی، اوج گلدهی و پس از گلدهی بررسی شد. آلفا-توجون (۶۴-۲۵ درصد) به عنوان فراوانترین ترکیب موجود در اسانس این گونه شناسایی شد (Azizi *et al.*, 2010). Rustaiyan *et al.* (2011) در اسانس یک نمونه خودرو از *A. nobilis* سی ترکیب شناسایی کردند که ۹۵/۴ درصد از اسانس را تشکیل می داد. ترکیب عمده اسانس آرتیمیزیاکتون (۴۶/۷ درصد) بود. در تحقیق دیگری ترکیب های عمده اسانس *A. nobilis* آلفا توجون (۳۴/۰۶ درصد)، ۸،۱- سینئول (۱۴/۱۴ درصد) و بتا-سدرن اپوکسید (۹/۶۳ درصد) گزارش شدند (Ghani *et al.*, 2008). در این تحقیق نیز نمونه خودرو بررسی شده بود. ترکیب های اصلی بسیاری از گونه های بومادران ۱،۸-سینئول و بورنئول گزارش شده اند که ترکیب ۱،۸-سینئول استفاده دارویی فراوانی دارد (Santos & Rao, 2000). هدف از این تحقیق بررسی و مقایسه کمیت و کیفیت اسانس جمعیت های مختلف بومادران تماشایی (*Achillea nobilis*) در شرایط زراعی بود.

مواد و روش ها

بذر بومادران تماشایی از بانک ژن منابع طبیعی ایران وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور تهیه (جدول ۱) و در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه تحقیقات البرز واقع در شهرستان کرج کشت شد. اندام هوایی بومادران در اواخر خردادماه ۱۳۹۲ برداشت شد. نمونه ها در دمای معمولی اتاق ۲۵-۲۲ درجه سلسیوس و در سایه به مدت دست کم یک هفته قرار داده شدند تا خشک شده و رطوبت آنها به کمتر از ۵ درصد رسید. برای تعیین درصد رطوبت نهایی هر نمونه در هنگام اسانس گیری، پس از تعیین ماده خشک سرشاخه، ۸۰ گرم نمونه خشک اندام هوایی حاوی برگ و گل و سرشاخه های گیاه آسیاب و به روش تقطیر با آب، با دستگاه شیشه ای طرح کلونجر به مدت ۲ ساعت انجام شد و بازده اسانس، با در نظر گرفتن درصد رطوبت، برحسب وزن خشک نمونه محاسبه

گونه از جنس بومادران در اوراسیا وجود دارد (Zargari, 1992). بومادران در مناطق مختلف کشورمان به صورت خودرو رشد می کند (Mozaffarian, 2002).

اسانس بومادران بیشتر در کرک های ترشگی برگ و ساقه و به ویژه گل های گیاه تشکیل می شود. اسانس این گیاه ویژگی پادباکتریایی و پادتورمی دارد که از آن در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی در تولید کرم ها و پمادهایی برای لطافت پوست و درمان تورم های پوستی استفاده می شود (Omidbaigi, 1995; Upton *et al.*, 2011) در طب سنتی نیز از بومادران برای درمان بعضی از بیماری های گوارشی و درمان تب، زخم و سرماخوردگی عمومی و همچنین درمان کم اشتهاهی استفاده می شود (Omidbaigi, 1997; WHO, 2009). گل ها، پیکر رویشی و برگ های بومادران ویژگی دارویی دارند. استفاده از دم کرده بومادران سبب کاهش فشارخون و نیز سبب درمان نارسایی های کیسه صفرا می شود (Omidbaigi, 1997).

بومادران تماشایی (Kerner Formanek *A. nobilis* subsp. *neilreichii*) گونه ای با گل های سفید غشائی، کمی کرک های برهم خوابیده یا تا حدودی بی کرک است که بیشتر در مناطق شمال، شمال غرب و شمال شرق کشور پراکنش دارد. گیاهی به نسبت دیرگل، با ارتفاع به نسبت بلند (حدود ۶۵ سانتی متر) است. گل های سفید متمایل به کرم و به نسبت درشت دارد. تولید گل آذین های جانبی کمی کرده و بیشتر به صورت تک گل روی بوته دیده می شود. این گونه طول دوره گلدهی متوسطی دارد و موسم گل آن خرداد-تیر است (Gahrman, 1996).

ترکیب های تشکیل دهنده اسانس بومادران تنوع فیتوشیمیایی زیادی نشان می دهد در یکی از تحقیقات پیشین روی اسانس بومادران تماشائی (*Achillea nobilis* L. subsp. *neilreichii*)، گیاه در مرحله گلدهی کامل از محل رویش خود واقع در روستای داماش، شرق رودبار گیلان گردآوری شد. بازده اسانس برای گل و برگ، به ترتیب ۱/۸ و ۱ درصد وزنی- وزنی به دست آمد. ترکیب های اصلی در اسانس گل ۱،۸-سینئول (۱۰/۳ درصد)، ژرانول ایزووالرات (۸/۴ درصد) و ترکیب های اصلی اسانس برگ ۱،۸-سینئول (۱۷/۳)

باسرعت افزایش دمای ۳ درجه سلسیوس در دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیشتر از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزه کردن (یونیزاسیون) ۷۰ الکترون‌ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

نتایج و بحث

بازده اسانس

در جدول ۱ بازده اسانس نمونه‌های مختلف بومادران آورده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود بازده اسانس نمونه‌ها از ۰/۳۳ درصد تا ۱/۴۴ درصد متغیر بود. کمترین میزان بازده اسانس مربوط به جمعیت سمنان (۰/۳۳ درصد) و بیشترین میزان بازده اسانس مربوط به جمعیت کردستان- سنندج (۱/۴۴ درصد) بود. به‌طور کلی بازده اسانس جمعیت‌های همدان (۱/۳۲ درصد)، گلستان-مراوه تپه (۱/۲۶ درصد)، مازندران-الاش (۱/۱۷ درصد) و گلستان-گرگان (۱/۰۴ درصد) بالاتر از دیگر جمعیت‌ها بود (شکل ۱).

جدول ۱. محل گردآوری و دیگر مشخصات بذرهای

Achillea nobilis

Table 1. Place of collection and other characters of *Achillea nobilis* seeds

Oil yield	Weight of 1000 seeds	Name and Place of collection	Gen bank code
0.75	0.51	Khalkhal	12384
0.58	0.15	Zanjan1	23156
0.79	0.23	Zanjan2	23148
0.91	0.1	Zanjan3	24013
0.33	0.04	Semnan	21606
1.44	0.38	Sanandaj	9902
0.47	0.03	Khoramabad	9489
0.56	0.21	Golestanpark1	18632
0.98	0.05	Golestanpark2	20166
1.04	0.21	Gorgan1	12932
1.02	0.16	Gorgan2	20221
0.90	0	Gorgan3	21289
0.94	0.02	Maravehtape1	16273
1.26	0.06	Maravehtape2	16590
0.84	0.11	Rudsar	21169
0.86	0.12	Siahkal	21174
1.17	0.08	Alasht	16298
0.84	0.08	Arak	15587
0.79	0.04	Hamedan1	4453
0.85	0	Hamedan2	26494
0.74	0.16	Yazd	18706
0.56	0.09	Unknown	24277

شد. اسانس‌ها تا هنگام تجزیه در شیشه در بسته در یخچال نگهداری شد.

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس

به‌منظور جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس، از دستگاه‌های رنگ‌نگاری گازی (GC) و رنگ‌نگاری گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. میزان ۰/۲ میکرولیتر توسط سرنگ ۱۰ میکرولیتری برداشته و به دستگاه GC تزریق شد. درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر اسانس پس از جداسازی به همراه شاخص بازداری محاسبه شد. همچنین میزان ۱ میکرولیتر از هر اسانس در ۲ میلی‌لیتر دی کلرومتان رقیق شد و به دستگاه رنگ‌نگاری متصل به طیف‌سنج جرمی تزریق و طیف‌های جرمی مربوط به ترکیب‌های موجود در اسانس به‌منظور بررسی کیفی (شناسایی) به‌دست آمد. در نهایت، شناسایی ترکیب‌های موجود در هر اسانس با استفاده از نمایه (اندیس)‌های بازداری (Retention Index) و پیشنهادی‌های کتابخانه‌ای رایانه دستگاه رنگ‌نگاری متصل به طیف‌سنج جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیب‌های استاندارد انجام شد.

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه GC: دستگاه GC مورد استفاده رنگ‌نگاری گازی فراسریع مدل Thermo-UFM ستون ph-5 (به طول ۱۰ متر، قطر درونی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت حالت ساکن ۰/۴ میکرومتر) داشت. دمای اولیه، ۶۰ درجه سلسیوس (بازمان نگهداری ۳ دقیقه) بود که با ۸۰ درجه سلسیوس افزایش در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۰ درجه سلسیوس رسید. گاز حامل هلیوم (با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد) بود که با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد.

دستگاه GC/MS: رنگ‌نگاری گازی متصل به طیف‌سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون BD-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه حالت ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی گرمایی ستون GC/MS از ۲۴۰-۴۰ درجه سلسیوس

۲۳ ترکیب شناسایی شد. که آلفا-توجون با ۲۹/۰ درصد و ۸۰۱- سینئول با ۱۱/۷ درصد و بتا-توجون با ۱۱/۵ درصد و آرتمیزیاکتون با ۱۰/۴ درصد و سیس-کریزانتنون با ۸/۴ درصد بیشترین میزان اجزای اسانسی را داشت. در اسانس جمعیت ۲۰۲۲۱ (منشأ بذر گلستان) ۱۱ ترکیب شناسایی شد. در این جمعیت ترکیب عمده و اصلی اسانس شامل آرتمیزیاکتون با ۸۰/۱ درصد بود. در اسانس جمعیت ۴۴۵۳ (منشأ بذر همدان) ۱۸ ترکیب شناسایی شد، که آرتمیزیاکتون با ۵۷/۶ درصد و سیس-کریزانتنون با ۸/۵ درصد بیشترین میزان اجزای اسانسی را داشت. در اسانس جمعیت ۲۱۲۸۹ (منشأ بذر گلستان- گرگان) ۹ ترکیب شناسایی شد که در این جمعیت، بیشترین میزان ترکیب اسانسی را آرتمیزیاکتون (۸۴/۵ درصد) شامل شد. در اسانس جمعیت ۱۶۲۷۸ (منشأ بذر مراوه تپه) ۱۰ ترکیب شناسایی شد که ۹۶/۷ درصد از اسانس را تشکیل می‌دادند. در نمونه‌های که از این جمعیت گردآوری شده بود بیشترین میزان ترکیب اسانسی را آرتمیزیاکتون (۸۱/۶ درصد) شامل شد. در اسانس جمعیت ۲۱۱۷۴ (منشأ بذر گیلان-سیاهکل) ۲۹ ترکیب شناسایی شد که سیس-کریزانتنون با ۱۵/۷ درصد، ۸۰۱- سینئول با ۱۲/۳ درصد، آلفا-توجون با ۱۱/۴ درصد، آرتمیزیاکتون با ۹/۵ درصد بیشترین میزان اجزای اسانسی را به خود اختصاص دادند. در اسانس جمعیت ۹۴۸۹ (منشأ بذر خرم‌آباد) ۱۹ ترکیب شناسایی شد و آلفا-توجون با ۴۹/۳ درصد، ۸۰۱- سینئول با ۱۵/۵ درصد، بتا-توجون با ۱۱/۷ درصد، سیس-کریزانتنون با ۵/۱ درصد بالاترین میزان ترکیب‌های اصلی اسانس را شامل شدند و میزان ۸۰۱- سینئول در این جمعیت بالاترین میزان در بین دیگر جمعیت‌های مورد بررسی بود. در اسانس جمعیت ۱۵۵۸۷ (منشأ بذر استان مرکزی) ۲۰ ترکیب شناسایی شد و آرتمیزیاکتون با ۳۰/۶ درصد، سیس-کریزانتنون با ۲۳/۷ درصد، ۱۰۸- سینئول با ۷/۵ درصد، کامفن با ۶/۳ درصد، آلفا-توجون با ۵/۲ درصد بیشترین میزان اجزای اسانسی را داشت. بالاترین درصد کامفن و تریپنین-۴-ال در بین همه نمونه‌ها متعلق به جمعیت استان مرکزی بود. در اسانس جمعیت ۱۶۲۹۸ (منشأ بذر الاشت) ۱۳ ترکیب شناسایی شد که آرتمیزیاکتون با ۸۶/۳ درصد و آلفا-توجون با ۹/۳ درصد بالاترین میزان

در یکی از تحقیقات پیشین روی اسانس بومادران تماشائی (*Achillea nobilis L. subsp. neilreichii*)، گیاه در مرحله گلدهی کامل از رویشگاه خود واقع در روستای داماش، شرق رودبار گیلان گردآوری شد. بازده اسانس برای گل و برگ، به ترتیب ۱/۸ و ۱ درصد وزنی-وزنی به دست آمد. (Kazemizadeh et al., 2011). در حالی که در این تحقیق بازده اسانس نمونه‌ها از ۰/۳۳ درصد تا ۱/۴۴ درصد متغیر بود.

کیفیت اسانس

ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس سرشاخه گلدار جمعیت‌های مختلف شناسایی شد و نتایج به دست آمده از این تحقیق به صورت زیر بود.

در اسانس جمعیت ۲۶۴۹۴ (منشأ بذر همدان) شمار ۲۱ ترکیب شناسایی شد. ترکیب‌های عمده و اصلی اسانس سرشاخه گلدار شامل سیس-کریزانتنون (۴۱/۷ درصد)، آلفا-توجون (۱۰/۲ درصد)، کافور (۸/۱ درصد)، ایندیپون (۵/۴ درصد) بودند. همچنین میزان کافور (Camphor) در این جمعیت بالاترین میزان در بین دیگر جمعیت‌های مورد بررسی بود. در اسانس جمعیت ۱۲۹۳۲ (منشأ بذر گلستان) ۱۸ ترکیب شناسایی شد که ترکیب‌های عمده اسانس شامل آلفا-توجون (۵۲/۱ درصد) و بتا-توجون (۱۷/۹ درصد) و ۸۰۱- سینئول (۹/۹ درصد) بودند. این جمعیت نسبت به دیگر نمونه‌ها بالاترین میزان آلفا-توجون و بتا-توجون را داشت. در اسانس جمعیت ۱۲۳۴۸ (منشأ بذر خلخال) ۱۴ ترکیب شناسایی شد که ترکیب آرتمیزیاکتون (۷۲/۶ درصد) بیشترین میزان ترکیب اسانسی را به خود اختصاص داد. در اسانس جمعیت ۲۳۱۵۶ (منشأ بذر زنجان) ۱۳ ترکیب شناسایی شد و آرتمیزیاکتون با ۸۱/۳ درصد بالاترین میزان ترکیب اصلی را شامل شد. در اسانس جمعیت ۲۱۶۰۶ (منشأ بذر سمنان) ۱۵ ترکیب شناسایی شد. که آرتمیزیاکتون با ۷۳/۳ درصد بالاترین میزان ترکیب اسانسی را داشت. در اسانس جمعیت ۲۳۱۴۸ (منشأ بذر زنجان) ۱۹ ترکیب شناسایی شد. بیشترین درصد ترکیب‌های اصلی اسانسی در این جمعیت، ترکیب آرتمیزیاکتون با ۶۶/۳ درصد و سیس-کریزانتنون با ۸/۳ درصد بود. در اسانس جمعیت ۱۸۷۰۶ (منشأ بذر یزد)

دامنه تغییرپذیری ۸،۱- سینئول از ۱ درصد تا ۱۵/۵ درصد بود. بیشترین میزان ۸،۱- سینئول (۱۵/۵ درصد) در جمعیت لرستان-خرم‌آباد و کمترین میزان آن (۱ درصد) در جمعیت‌های سنندج و زنجان مشاهده شد و در جمعیت‌های گیلان-رودسر (۱۲/۷ درصد) و شهرستان سیاهکل (۱۲/۳ درصد) میزان ۸،۱- سینئول شایان ملاحظه بود. ۸،۱- سینئول از مواد اصلی تشکیل‌دهنده اسانس اکالیپتوس است. تأثیر میکروبی‌کشی داشته و به‌طور گسترده در تهیه مواد دارویی به‌کار می‌رود. در تهیه شربت اکسپکتورانت (Expectorant) و درمان برونشیت مزمن کاربرد دارد. به‌طور موضعی یک داروی بی‌حس‌کننده قوی است که در درمان حالت‌های تورم به‌کار می‌رود. در اسپری‌ها، داروهای شستشو و در انواع روغن‌های پوستی و نیز در تهیه عطر و همچنین حشره‌کش‌ها کاربرد دارد (Klein, 2011).

نتایج به‌دست‌آمده تنوع فیتوشیمیایی بالایی را در میزان اسانس و نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده نمونه‌های مناطق مختلف کشور، نشان داد. ترکیب اصلی اسانس بسیاری از نمونه‌ها آرتمیزیاکتون بود، آرتمیزیاکتون یک منوترپن اکسیژن‌دار است که می‌تواند درد و التهاب را کاهش دهد، همچنین تأثیر پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) و پادمیکروبی قوی دارد (Lutgen, 2013).

دامنه تغییرپذیری ترکیب آرتمیزیاکتون از ۰/۹ درصد تا ۸۶/۷ درصد متغیر بود. کمترین میزان آرتمیزیاکتون (۰/۹ درصد) در جمعیت لرستان-خرم‌آباد مشاهده شد و بیشترین میزان آرتمیزیاکتون (۸۵/۵ درصد) در جمعیت سنندج مشاهده شد و در بسیاری از جمعیت‌های دیگر نیز میزان آرتمیزیاکتون شایان توجه بود. دیگر ترکیب‌هایی که در نمونه‌ها مشاهده شد شامل آلفا-توجون، بتا-توجون، ۸،۱-سینئول، سیس-کریزانتنول و کافور بود.

جدول ۳. خلاصه مشخصات آمار توصیفی شامل میانگین، بیشینه، کمینه و انحراف معیار برای هر یک از ترکیب‌های موردبررسی

بر پایه تجزیه ۲۲ جمعیت *A. nobilis*

Table 3. Survey of statistic characters contains mean, minimum, maximum and standarad deviation of components for 22 population of *A. nobilis*

Compound	mean	minimum	maximum	Standard deviation	CV
α -pinene	0.62	0.00	4.20	1.08	173.37
camphene	0.76	0.00	6.30	1.60	209.93
sabinene	3.00	1.50	4.90	0.91	30.41
myrcene	0.33	0.00	2.10	0.65	198.74
1,8-cineole	5.15	1.00	15.50	4.52	87.65
artemisia ketone	56.00	0.90	86.70	32.51	58.06
terpinolene	2.75	0.00	7.60	2.09	76.14
α -thujone	8.42	0.00	52.10	15.36	182.38
β -thujone	2.63	0.00	17.90	4.90	186.27
trans-p-mentha-2,8-dien-1-ol	0.13	0.00	2.80	0.60	469.04
chrysanthenone	0.04	0.00	0.60	0.13	365.47
trans plnocarveol	0.16	0.00	1.20	0.38	232.17
Camphor	1.87	0.00	8.10	2.04	109.18
Cis chrysanthenol	5.80	0.00	41.70	10.00	172.37
Terpinen-4-ol	0.84	0.00	4.30	1.34	160.35
α -terpineol	0.41	0.00	1.80	0.60	144.15
Verbenone	0.47	0.00	1.40	0.34	72.75
Trans chrysanthenyl acetate	0.35	0.00	2.80	0.86	250.09
Cis chrysanthenyl acetate	0.45	0.00	4.90	1.12	247.30
Lavandulyl acetate	0.10	0.00	1.20	0.28	297.15
Menthyl acetate	0.41	0.00	4.50	1.06	256.43
α -terpinyl acetat	0.44	0.00	1.10	0.29	65.53
γ -gurjunene	0.36	0.00	1.10	0.28	78.61
indipone	2.04	0.40	5.40	1.35	66.28
Lavandulyl isovalerate	0.20	0.00	0.70	0.26	128.17
Lavandulyl 2-methyl butyrate	0.17	0.00	0.60	0.26	153.65
Cubenol	1.07	0.00	4.40	1.52	141.67
β -eudesmol	0.07	0.00	0.70	0.19	273.03
intermedeol	1.72	0.00	4.80	1.37	79.73
α -thujene	0.01	0.00	0.20	0.04	469.04
p-cymene	0.02	0.00	0.50	0.11	469.04

شهرستان آلاشت و بیشترین میزان آن (۴۱/۷ درصد) در جمعیت همدان ۲ مشاهده شد و در اسانس جمعیت‌های ۱۲۹۳۲ (منشأ بذرگلستان-گرگان ۱) و ۱۶۵۹۰ (منشأ بذرگلستان-مراوه تپه ۲) ترکیب سیس-کریزانتنول دیده نشد.

سیس کریزانتنول با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{16}O$ یک منوترپن اکسیژن‌دار و جزء اصلی در اسانس گیاه افسنطین است که پس از دوره گلدهی (اکتبر یا نوامبر)، میزان آن ممکن است به بیش از ۶۰ درصد در اسانس برسد (Carnatet et al., 1992). سیس-کریزانتنول ویژگی پادباکتری دارد (Kim et al., 2003). گیاهان حاوی این ترکیب در تهیه داروهای گیاهی ضد عفونی‌کننده، ضد کرم و ضد اسپاسم کاربرد دارند (Yashphe et al., 1987).

دامنه تغییرپذیری آلفا-توجون از ۰/۳ درصد تا ۵۲/۱ درصد متغیر بود، کمترین میزان آلفا-توجون (۰/۳ درصد) مربوط به جمعیت زنجان ۲ و بیشترین میزان آلفا-توجون (۵۲/۱ درصد) مربوط به جمعیت گلستان-گرگان ۱ بود و در جمعیت لرستان-خرم‌آباد نیز میزان آلفا-توجون (۴۹/۳ درصد) شایان ملاحظه بود.

دامنه تغییرپذیری بتا-توجون نیز از ۰/۷ درصد تا ۱۷/۹ درصد بود که کمترین میزان بتا-توجون (۰/۷ درصد) مربوط به جمعیت سمنان و بیشترین میزان آن (۱۷/۹ درصد) مربوط به جمعیت استان گلستان شهرستان گرگان ۱ بود.

آلفا-توجون با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{16}O$ یک منوترپن اکسیژن‌دار نامحلول در آب و محلول در اتانول، دی‌اتیل اتر و کلروفرم است (Carnat et al., 1992). توجون یک داروی قوی ضد مالاریاست و در طبیعت به صورت مخلوطی از ایزومرهای آلفا و بتا وجود دارد. اسانس‌های حاوی توجون در طب سنتی برای رفع نارسایی‌های هورمونی زنان، سقط جنین، ناراحتی‌های گوارشی، درمان میخچه، زگیل، آکنه، تب، سرفه، روماتیسم، اسکوربوت و ورم کاربرد دارند. روغن‌های گیاهی حاوی توجون به‌عنوان مره‌دهنده و معطرکننده به کار می‌روند، ولی استفاده از آن‌ها در غذاها و نوشابه‌ها در بعضی از کشورها ممنوع است.

دامنه تغییرپذیری اینترمدول از ۰/۵ درصد تا ۴/۸ درصد متغیر بود که کمترین میزان اینترمدول (۰/۵ درصد) در جمعیت زنجان ۲ و بیشترین میزان اینترمدول (۴/۸ درصد) در جمعیت سمنان مشاهده شد. و در اسانس جمعیت‌های ۲۱۲۸۹ (منشأ بذر گرگان ۳) و ۱۶۲۷۳ (منشأ بذر گلستان-مراوه تپه ۱) و ۲۳۱۴۸ (منشأ بذر زنجان ۳) ترکیب اینترمدول دیده نشد. اینترمدول نیز یک منوترپن اکسیژن‌دار دافع حشرات است که به‌طور شایان توجهی باعث دفع کنه می‌شود (Chen et al., 2008). همچنین تأثیر ضد افزونشی قوی علیه یاخته‌های HL-60 در سرطان خون دارد (Jeong et al., 2002).

دامنه تغییرپذیری کافور از ۰/۴ درصد تا ۸/۱ درصد متغیر بود که کمترین میزان کافور (۰/۴ درصد) در جمعیت گلستان-گرگان ۱، لرستان-خرم‌آباد و بیشترین میزان کافور (۸/۱ درصد) در جمعیت همدان ۲ بود و در اسانس جمعیت‌های ۲۱۲۸۹ (منشأ بذرگلستان-گرگان ۳)، ۲۴۲۷۷ (منشأ بذر ناشناخته)، ۹۹۰۲ (منشأ بذرکردستان-سنندج)، ۱۸۶۳۲ (منشأ بذر گلستان ۱)، ۱۶۵۹۰ (منشأ بذرگلستان-مراوه تپه ۲) ترکیب کافور دیده نشد. کافور جزء منوترپنوئیدهای دو حلقه‌ای و از دسته کامفن‌ها است. این ترکیب در گیاهان تیره لابیاته و کمپوزیته به‌طور معمول یافت می‌شود و در عطرسازی به کار می‌رود. ماده‌ای مقوی محرک دستگاه تنفس، ضد درد ملایم و ضد روماتیسم و ضد خارش موضعی و ضد تشنج است. در صنعت برای تهیه بعضی از مواد پلاستیکی به کار می‌رود (Sedaghat, 2007).

دامنه تغییرپذیری ایندیپون از ۰/۴ درصد تا ۵/۴ درصد متغیر بود که کمترین میزان ایندیپون (۰/۴ درصد) مربوط به جمعیت گلستان-گرگان ۳ و بیشترین میزان ایندیپون (۵/۴ درصد) مربوط به جمعیت همدان ۲ بود. ایندیپون با فرمول شیمیایی $C_{15}H_{24}O$ یک منوترپن اکسیژن‌دار است.

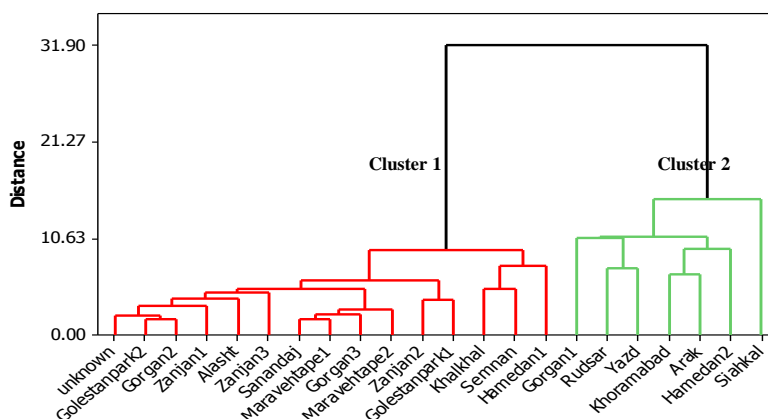
دامنه تغییرپذیری سیس-کریزانتنول از ۰/۳ درصد تا ۵۰/۸ درصد متغیر بود و کمترین میزان سیس-کریزانتنول (۰/۳ درصد) در جمعیت استان مازندران

گزارش شده است که توجون برای یاخته‌های مغز و کبد سمی است و اگر در یک وعده بیش از حد مجاز استفاده شود، می‌تواند باعث تشنج شود. عوارض ناشی از مصرف اسانس‌های حاوی توجون اضطراب و بی‌خوابی است (Carnat et al., 1992). ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس بومادران با تحقیقات پیشین تفاوت‌ها و همانندی‌هایی را نشان می‌دهد، در یکی از تحقیقات پیشین روی اسانس بومادران تماشائی گردآوری شده از محل رویش خود واقع در روستای داماش، شرق رودبار گیلان ترکیب‌های اصلی در اسانس برگ و گل ۸۰۱-سینئول گزارش شدند (Kazemizadeh et al., 2011). در تحقیقی دیگر در ایران اسانس *A. nobilis* در سه مرحله رویشی شامل آغاز گلدهی، اوج گلدهی و بعد از گلدهی بررسی شد. آلفا-توجون (۶۴-۲۵ درصد) به‌عنوان فراوان‌ترین ترکیب موجود در اسانس این‌گونه شناسایی شد (Azizi et al., 2010). در تحقیقی دیگر در اسانس یک نمونه خودرو از *A. nobilis* ترکیب عمده اسانس آرتمیزیاکتون

بود (Rustaiyan et al., 2011). در تحقیقی دیگر ترکیب‌های عمده اسانس *A. nobilis* آلفا توجون (۳۴/۰۶ درصد)، ۸۰۱-سینئول (۱۴/۱۴ درصد) و بتا-سدرن اپوکسید (۹/۶۳ درصد) گزارش شدند (Ghani et al., 2008). درحالی‌که در این تحقیق ترکیب عمده اسانس بیشتر نمونه‌ها آرتمیزیاکتون بود در صورتی‌که در برخی دیگر از نمونه‌ها سیس-کریزانتنول و آلفا و بتا توجون اجزای اصلی اسانس بودند.

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای (کلاستر) بر پایه نوع و درصد ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها، جمعیت‌ها را در ۲ گروه متفاوت قرار داد (شکل ۱). خوشه‌ای-۱ شامل ۱۵ جمعیت است و به دو گروه تقسیم می‌شود؛ گروه اول شامل ۳ جمعیت است و گروه دوم شامل ۱۲ جمعیت است. خوشه‌ای-۲ شامل ۷ جمعیت است و به دو گروه تقسیم می‌شود؛ گروه اول شامل ۱ جمعیت (سیاهکل) است و گروه دوم شامل ۶ جمعیت است.



شکل ۱. نمودار درختواره‌ای به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward بر پایه میزان ترکیب‌های اسانس در ۲۲ جمعیت *A. nobilis*

Figure 1. Dendrogram of cluster analysis by Ward method according to the amounts of oil components in 22 population of *A. nobilis*

توجون، ۸۰۱-سینئول، سیس-کریزانتنول، آرتمیزیاکتون به‌صورت بسیار متمایزی گروه‌بندی شدند و همه جمعیت‌های موجود در خوشه‌بندی-۲ به لحاظ داشتن آلفا-توجون و ۱،۸-سینئول و بتا-توجون و آرتمیزیاکتون مشترک بودند. جمعیت همدان-۲ موجود در این خوشه‌بندی منبع غنی از سیس-کریزانتنول

در جمعیت‌های موجود در خوشه‌بندی-۱ ترکیب اصلی در همه نمونه‌ها آرتمیزیاکتون بود و بیشترین میزان آرتمیزیاکتون (۸۵/۵ درصد) در جمعیت سنندج مشاهده شد. درحالی‌که در خوشه‌بندی-۲ میزان آرتمیزیاکتون نسبت به خوشه‌بندی-۱ بسیار کمتر بوده و این جمعیت‌ها بر پایه میزان ترکیب‌های آلفا-توجون، بتا-

۴۱/۷ درصد) بود و جمعیت خرم‌آباد بالاترین میزان ۱،۸- سینثول (۱۵/۵ درصد) را در بین همه نمونه‌ها داشت و جمعیت‌های گرگان-۱ و خرم‌آباد منبع غنی از آلفا- توجون (به ترتیب ۵۲/۱ درصد و ۴۹/۳ درصد) بودند و جمعیت گرگان-۱ بالاترین میزان بتا-توجون (۱۷/۹ درصد) را در بین دیگر نمونه‌ها داشت.

جدول ۴. میانگین ترکیب‌های موجود در خوشه‌بندی ۱ و ۲

Table 4. Means of compounds in Clusters 1 & 2

No	compound	Retention Index	Means in Clusters 1	Means in Clusters 2
1	α -pinene	940	0.6	1.7
2	camphene	954	1.1	2.7
3	sabinene	974	2.7	3.1
4	myrcene	992	--	1.4
5	1,8-cineole	1032	2.7	10.5
6	artemisia ketone	1063	76.9	11.2
7	terpinolene	1090	4.0	1.0
8	α -thujone	1103	2.7	24.3
9	β -thujone	1115	1.0	8.0
10	trans-p-mentha-2,8-dien-1-ol	1123	--	2.8
11	chrysanthenone	1130	--	0.4
12	trans pInocarveol	1140	0.4	1.1
13	camphor	1147	2.4	2.4
14	cis chrysanthenol	1165	1.2	16.7
15	terpinen-4-ol	1178	1.5	2.2
16	α -terpineol	1190	0.6	1.2
17	verbenone	1206	0.5	0.8
18	trans chrysanthenyl acetate	1238	--	1.9
19	cis chrysanthenyl acetate	1265	0.4	2.5
20	lavandulyl acetate	1290	--	0.7
21	menthyl acetate	1295	1.8	1.3
22	α -terpinyl acetat	1350	0.4	0.6
23	γ -gurjunene	1477	0.4	0.5
24	indipone	1498	1.8	2.6
25	lavandulyl isovalerate	1510	0.5	0.5
26	lavandulyl 2-methyl butyrate	1513	0.5	0.5
27	cubenol	1647	0.9	2.6
28	β -eudesmol	1650	0.5	0.5
29	intermedeol	1667	1.8	2.3
30	p-cymene	1046	0.5	0.5
Total percentage of identified compounds			97.04	96.61

ترکیب‌های شیمیایی یادشده می‌تواند استفاده شود، افزون بر این توصیه دارویی می‌تواند با توجه به ترکیب‌های شیمیایی و ویژگی دارویی هر جمعیت، توده و یا نمونه شیمیایی صورت گیرد تا داروی مورد استفاده بیشترین تأثیر را داشته باشد و مصرف‌کننده نیز باعلاقه و اطمینان خاطر بیشتری، داروی گیاهی را مصرف کند. در این صورت می‌توان انتظار داشت کشت و صنعت گیاهان دارویی با موفقیت روبه‌رو شود.

سپاسگزاری

از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور برای فراهم آوردن امکان این تحقیق و همچنین از همکاران محترم بانک ژن منابع طبیعی کشور که گردآوری بذر و کشت گیاه در مزرعه را انجام دادند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش تفاوت شایان ملاحظه‌ای نسبت به گزارش‌های پیشین در زمینه کمیت و کیفیت اسانس بومادران تماشایی داشت و تیپ‌های شیمیایی جدیدی از این گیاه دارویی شناسایی شد که می‌تواند برای کاشت و به‌دست آوردن ترکیب‌های شیمیایی یادشده و استفاده در برنامه‌های اصلاحی استفاده شود، از این موارد می‌توان به جمعیت سنندج غنی از آرتمیزیاکتون (۸۵/۵ درصد) و جمعیت گلستان- گرگان سرشار از آلفا-توجون (۵۲/۱ درصد) و بتا-توجون (۱۷/۹ درصد) و جمعیت همدان غنی از سیس-کریزانتول (۵۰/۸ درصد) و جمعیت گلستان- خرم‌آباد بالاترین میزان ۸،۱-سینثول (۱۵/۵ درصد) اشاره کرد، که هرکدام از این نمونه‌ها برای استحصال

REFERENCES

1. Azadbakht, M. (1999). *Classification of Medicinal Plants*, Teimurzadeh Publication, 270 pages, Tehran, Iran. (in Farsi)
2. Azizi, M., Chizzola, R., Ghani, A. & Oroojalian, F. (2010). Composition at different development stages of the essential oil of four *Achillea* species grown in Iran. *Natural Product Communications*, 5, 283-290.
3. Carnat, A.P., Madesclaireb, M., Chavignonb, O. & Lamaisona, J.L. (1992). cis-Chrysanthenol, a main component in essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing in Auvergne (Massif Central), France. *Journal of Essential Oil Research*, 4(5), 487-490.
4. Cernaj, P., Liptakova H., Mohr, G., Repeak, M. & Honcariv, R. (1983). Variability of the content and composition of essential oil during ontogenesis of *Achillea collina* Becker. *Herbs of Hungary*, 22, 21-27.
5. Chen, J., Cantrell, C.L., Duke, S.O. & Allen, S.O. (2008). Repellency of callicarpinal and intermedeol against workers of imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 101(2), 265-271.
6. Demirci, F., Demirci, B., Gorboz, L., Yesilada, E. & Baser, K.H.C. (2009). Characterization and biological activity of *Achillea teritifolia* Willd. and *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek essential oils. *Turkish Journal of Biology*, 33, 129-136.
7. Ghani, A., Azizi, M., Hassanzadeh Khayat, M. & Pahlavanpourfard Jahromi, A.A. (2008). Analysing Essential Oils of Two Wild Populations of *Achillea wilhelmsii* Koch., *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 12(45), 581-589 (b).
8. Ghahrman, A. (1996). *Flora of Iran*, Volume 15, Publications of Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, Iran. 125p.
9. Jeong, S.H., Koo, S.J., Choi, J.H., Park, J.H., Ha, J., Park, H.J. & Lee, K.T. (2002). Intermedeol isolated from the leaves of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* induces the differentiation of human acute promyelocytic leukemia HL-60 Cells. *Planta Medica*, 68(10), 881-885.
10. Kazemizadeh, Z., Moradi, A. & Yousefi, M. (2011). Volatile Constituents from Leaf and Flower of *Achillea nobilis* L. subsp. *neilreichii* from North of Iran, *Journal of Medicinal Plants*, 10(2) (In Farsi)
11. Kim, K.J., Kim, Y.H., Yu, H.H., Jeong, S.I., Cha, J.D., Kil, B.S. & You, Y.O. (2003). Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Chrysanthemum boreale*. *Planta Medica*, 69(3), 274-277.
12. Klein, DR. (2011). *Organic Chemistry*. John Wiley & Sons press. 1360 P.
13. Lutgen, P. (2013). Artemisia ketone, phytosterols and lipid metabolism. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 37-49.
14. Mozaffarian, V. (2002). *A Dictionary of Iranian plant names*, Farhang Moaser Publication, Tehran, Iran. Third Edition, 671 pages. (in Farsi)
15. Mozaffarian, V. (2008). *Flora of Iran, Asteraceae Family*, Publication of Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, Iran. 443 pages. (in Farsi)
16. Omidbaigi, R. (1995). *Approach to the production and processing of medicinal plants*, Volume 1, Fekr-e-Rooz Publication, Tehran, Iran. 283 pages. (in Farsi)
17. Omidbaigi R. (1997). *Approach to the production and processing of medicinal plants*, Volume 2, Tarahan-e-Nashr Publication, 313 pages. Tehran, Iran. (in Farsi)
18. Omidbaigi, R. (2005). *Production and processing of medicinal plants*, Volume 2, Astan Quds Razavi Publication, 438 pages. Mashad, Iran. (in Farsi)
19. Rustaiyan, A., Masoudi, S., Ezatpour, L., Taherkhani, M. & Aghajani, Z. (2011). Composition of the essential oils of *Anthemis hyalina* DC., *Achillea nobilis* L. and *Cichorium intybus* L. three Asteraceae herbs growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14(4), 472-480.
20. Santos, F.A. & Rao, V.S.N. (2000). Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1.8 cineole a terpenoid Oxid present in many plant essential oils. *Phytotherapy Research*, 14(4), 240-244.
21. Sedaghat, S. (2007). *Chemistry of Essential Oils, Methods for Separation and Identification Essential Oils Composition*, 197 pages. Tehran, Iran. (in Farsi)
22. Shariati, M., Tahmasb, A. & Modarres Hashemi, S.M. (2010). Investigate the effect of different treatments on seed dormancy breaking of *Achillea* (*Achillea millefolium*). *Journal of Research and Development*, 56, 57, 2-8.
23. Upton, R., Graff, A., Jolliffe, G., Länger, R. & Williamson, E. (2011). *American Herbal Pharmacopoeia: Botanical Pharmacognosy- Microscopic Characterization of Botanical Medicines*. CRC Press, 800p.
24. WHO. (2009). *Monographs on Selected Medicinal Plants* (Volume 4). World Health Organization Press. Geneva Switzerland, 447p.
25. Yashphe, J., Feuerstein, I., Barel, S. & Segal, R. (1987). The antibacterial and antispasmodic activity of *Artemisia herba alba* Asso. II. Examination of essential oils from various chemotypes. *Pharmaceutical Biology*, 25(2), 89-96.
26. Zargari, A. (1992), *Medicinal Plants*, Volume 3, Tehran University Press, 925 pages. (in Farsi)

Phytochemical variation of the essential oils of different populations of *Achillea nobilis* L.

Roghayeh Azimi^{1*}, Fatemeh Sefidkon², Parvin Salehi³, Aazam Monfared⁴ and Mahmood Naderi⁵

1. Former M.Sc. Student, Payam Noor University, Tehran Shargh Center, Tehran, Iran

2, 3, 5. Professor, Assistant Professor and M.Sc. Graduate, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

4. Assistant Professor, Payam Noor University, Tehran Shargh Center, Tehran, Iran

(Received: Jun. 22, 2014 - Accepted: Oct. 4, 2014)

ABSTRACT

The *Achillea* genus has 19 herbaceous aromatic species in Iran, six of them are endemic. One of the native species of this genus is *Achillea nobilis*. In traditional medicine, different parts of *Achillea* species are used because of antiseptic, anti-inflammatory, antihistamine and antioxidant properties. In this research, the seeds of *Achillea nobilis* were collected from different provinces of Iran and cultivated in the field of Alborz Research Station, Karaj, Iran. In order to compare the essential oil content and composition, flowering shoots were collected in full flowering stage. The plant materials were dried at shade and their essential oils were obtained by hydro-distillation. The oils were analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Results showed that the oil yields varied from 0.33% to 1.44%. Semnan sample was produced the minimum amount of oil yield whereas Kordistan population had maximum oil yield. Cluster analysis divided all accessions into two clusters. The main compound in the oils of first cluster was artemisia ketone. The highest amount of Artemisia ketone (85.5%) was found in the oil of Sanandaj population. In the oil of Ghorghan-2, 84.5%, Maraveh Taph 81.6%, Zanzan-1 81.3%, Golestan-2, 80.2% and Golestan-3, 80.1% of Artemisia ketone were identified. In the oils of cluster 2, the percentage of Artemisia ketone was very low. The accessions contained alpha-thujone, beta-thujone and 1, 8-cineole in their oils. Hamedan-2 population was a rich source of cis-chrysanthenol, Gorgan-1 and Khoramabad populations were the rich sources of alpha-thujone and Gorgan-1 contained highest amount of beta-thujone.

Keywords: *Achillea nobilis*, *Artemisia ketone*, α -thujone, cis-chrysanthenol, essential oil.

* Corresponding author E-mail: razimi548@yahoo.com

Tel: +98 919 907 9981