

استخراج و اندازه‌گیری ترکیب کوئرستین در اندامهای مختلف سه گونه گیاهی بومادران *Achillea tenuifolia* Lam. و *Achillea biebersteinii* Afan. *Achillea millefolium* L.

کامکار جایمند^۱، هلن اهرابی اصلی^{۲*} و اعظم منفرد^۳

۱- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۲- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد، اداره کل استاندارد استان تهران، پست الکترونیک: helenahrabi@yahoo.com

۳- استادیار، دانشگاه پیام نور، تهران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: ۲۶ مهر ۱۳۸۹

چکیده

فلاونوئیدها طبقه بزرگی از پلی فنل‌ها با بیش از ۴۰۰۰ ترکیب هستند، که در گیاه نقش آنتی‌اکسیدانی را در فتوسنتز به عهده دارند و در انسان دارای اثرهای آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، جلوگیری‌کننده سرطان و محافظت‌کننده از قلب می‌باشند. ترکیب کوئرستین در گروه فلاونول قرار دارد و برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق، استخراج و اندازه‌گیری ترکیب کوئرستین در سه گونه گیاهی بومادران *Achillea tenuifolia*، *A. biebersteinii* و *A. millefolium* بود. نمونه‌ها در اوایل خردادماه ۱۳۸۹ از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور جمع‌آوری و سپس از اندام‌های مختلف (گل، برگ و ساقه) با روشهای مختلف استخراج انجام گردید. در روش اول، نمونه با حلال کلروفرم توسط دستگاه سوکسله به مدت ۷۲ ساعت استخراج گردید. در روش دوم، به نمونه قبلی که با حلال کلروفرم استخراج شده بود پس از جدا کردن حلال، متانول اضافه کرده و مجدداً عمل استخراج انجام گردید. در روش سوم، با توجه به میزان ماده خشک از گیاه تازه و با حلال‌های متانول و اسید استیک (به نسبت ۱:۹) توسط دستگاه آسیاب برقی خرد و همزمان صاف گردید. در روش چهارم، ابتدا گیاه تازه با دستگاه آسیاب برقی خرد شد و سپس با حلال‌های متانول و اسید استیک (به نسبت ۱:۹) و به مدت یک هفته خیسانده سپس صاف گردید، بعد همه نمونه‌های بدست آمده به حجم ۳۰ میلی‌لیتر تغلیظ گردیدند. جمعاً ۳۶ نمونه بدست آمدند که میزان ترکیب کوئرستین توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بیشترین مقادیر ترکیب کوئرستین در گل (۲۱۶۴ ppm) و برگ *A. millefolium* (۲۰۶۴ ppm) به روش استخراج با سوکسله و حلال متانول بدست آمد. بیشترین مقدار کوئرستین در ساقه *A. millefolium* (۲۰۳۴ ppm)، به روش خیساندن با حلال متانول بدست آمد و کمترین مقادیر کوئرستین در روش استخراج با کلروفرم، در برگ *A. millefolium* (۱۲۷ ppm)، در ساقه *A. biebersteinii* (۱۱۰ ppm) و در ساقه *A. tenuifolia* (۲۳ ppm) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: بومادران، *A. tenuifolia* Lam.، *A. biebersteinii* Afan.، *A. millefolium* L.، فلاونوئید، کوئرستین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC).

مقدمه

بومادران (*Achillea*) در ایران ۱۹ گونه گیاه علفی چندساله و اغلب معطر دارد و از خانواده کاسنی (*Asteraceae*) است. گونه‌های انحصاری آن عبارتند از: *A. eriophora* *A. callichroa* *A. aucheri* *A. pachycephala* *A. oxydonta* *A. kellalensis* و *A. talagonica* و دیگر گونه‌های آن علاوه بر ایران در عراق، آناتولی، سوریه، قفقاز، لبنان، فلسطین، روسیه مرکزی، ماورای قفقاز، ترکمنستان، افغانستان، آسیای جنوب غربی و آسیای مرکزی نیز می‌رویند (مظفریان، ۱۳۷۷). گونه‌های دیگری که در ایران مشاهده شده‌اند عبارتند از: *A. biebersteinii* *A. aucheri* *A. aleppica* *A. filipendula* *A. cuneatiloba* *A. conferta* *A. millefolium subsp. Elbursensis* *A. millefolium* *A. setacea* *A. oligocephala* *A. nobilis* *A. wilhelmsii* *A. vermicularis* *A. tenuifolia* (مظفریان، ۱۳۷۷).

از مصارف عمده بومادران می‌توان به خواص دارویی آن در بند آوردن خون، معرق بودن، محرک رشد، درمان ناراحتی‌های گوارشی، اسهال، نفخ شکم، به‌عنوان آنتی‌بیوتیک، کاهش‌دهنده تب، درمان بی‌خوابی، دارای اثر آرام‌بخش، خواص استروژنیک، داروی تقویتی برای کبد، درمان سیروز، هپاتیت کبدی، درمان التهاب مفاصل، به‌عنوان دهان‌شویه، درمان خونریزی ریه، کاهش سریع سرماخوردگی، دارای خواص اکسپکتورانت، التیام برای زخم‌ها و جراحات قدیمی، درمان مناسب برای کاهش اوره و ترشح مخاط مثانه اشاره کرد (Spriggs, 1998). فلاونوئیدها ترکیب‌های پلی‌فنولیکی هستند که در همه غذاها با سرچشمه گیاهی وجود دارند. فلاونوئیدها دارای

اثرهای مختلفی بر روی سیستم سلولی پستانداران هستند (Melzig, 1996) و در این رابطه اهمیت گروه‌های هیدروکسیل موجود در جایگاه‌های ۵ و ۷ حلقه‌ی A هسته‌ی فلاون ثابت شده‌است. آنها دارای اثرهایی از قبیل خواص ضدالتهابی، ضدزخم، سیتوتوکسیک، خواص آنتی‌اکسیدانی، همچنین دارای اثرهای مختلفی بر روی آنزیم‌ها هستند (Sanchez de Rojas et al., 1996). فلاونوئیدها دارای اثرهای بازدارنده بر روی عملکرد پلاکت‌ها و لوکوسیت‌ها و دارای اثرهای محافظتی بر روی سلول‌های اندوتلیال هستند و به این ترتیب از اثر متقابل بین دیواره‌ی رگ‌ها و خون که باعث شروع ترومبوز می‌شوند جلوگیری می‌کنند. این عمل را از طریق اثر بر روی فاکتور بافتی مونوسیت‌های انسان که خود از عوامل شروع‌کننده‌ی انعقاد خون است انجام می‌دهند (Lale et al., 1996).

از مهمترین اثرهایی که در تحقیقات امروزی برای فلاونوئیدها قائل شده‌اند خواص آنتی‌اکسیدانی قوی آنها است (Lale et al., 1996؛ Hertog et al., 1997؛ Haraguchi et al., 1996؛ Ishikawa et al., 1997؛ Katan & Hollman, 1998؛ Sanchez de Rojas et al., 1996).

به این ترتیب فلاونوئیدها می‌توانند دارای آثار درمانی در رابطه با بیماریهایی که در اثر استرس‌های اکسیداتیو تولید می‌شوند مانند آترواسکلروز کرونری، صدمات ایسکمی، دیابت ملیتوس، پروسه‌های پیری و سرطان باشند (Haraguchi et al., 1996). آنها با ممانعت از اکسیداسیون LDL، باعث کاهش خطرات ابتلا به بیماریهای ایسکمی قلبی (IHD) و آترواسکلروز کرونری می‌شوند (Ishikawa et al., 1997؛ Katan & Sanchez de Rojas et al., 1996؛ Hollman, 1998).

لوتئولین را شناسایی و اندازه‌گیری کردند. در این روش گیاه خشک ابتدا با کلروفرم مخلوط شده، سپس کلروفرم جدا و باقیمانده گیاه در متانول حل می‌شود و توسط دستگاه HPLC شناسایی و اندازه‌گیری می‌شود. با این روش میزان کوئرستین به مقدار بالایی شناسایی گردیده‌است.

در تحقیقی که Dadáková و همکاران (۲۰۱۰) بر روی *Achillea millefolium* و گیاهان دیگر انجام دادند به دو روش استخراج متانولی و تهیه عصاره چای اقدام نمودند. در روش استخراج متانولی ترکیب‌های فلاونوئیدی بعد از هیدرولیز با اسید کلریدریک توسط متانول استخراج شده و سپس با دستگاه HPLC شناسایی و اندازه‌گیری شدند که میزان کوئرستین mg/kg (216.0 ± 10.8) گزارش شده‌است. در روش دیگر یعنی تهیه عصاره چای، نمونه با آب داغ ۹۰ درجه ترکیب شده و پس از سرد شدن صاف گردیده و بعد مایع زیر صافی ساتریفوژ شده و در دمای یخچال نگهداری و جهت شناسایی و اندازه‌گیری به دستگاه HPLC تزریق می‌شود که در این روش میزان کوئرستین $1/75 mg/g$ گزارش شده‌است.

هدف از این تحقیق، استخراج و اندازه‌گیری ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین (Quercetin) در سه گونه بومادران جمع‌آوری شده از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران می‌باشد. با توجه به این‌که تحقیقی در این زمینه در ایران انجام نشده و با توجه به خواص دارویی ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین که برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود، بررسی میزان این ترکیب در این گیاهان از اهمیت خاصی برخوردار است (Middleton & Kandaswami, 1986).

کوئرستین یک فلاونول است، فلاونوئیدی مشتق شده از گیاهان که از آن به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای استفاده می‌شود (Stewart et al., 2008). کوئرستین برای جلوگیری از آزادسازی هیستامین (یک ماده شیمیایی التهابی، که در علائم آلرژی مانند عطسه و خارش نقش دارد) در برخی از سلول‌های ایمنی بدن، مؤثر است (Jaber, 2002). در یک مطالعه تحقیقاتی در سال ۲۰۰۷ که بر روی ۴۱ بزرگسال صورت گرفت، محققان دریافتند که مصرف ۷۳۰ میلی‌گرم کوئرستین روزانه به مدت ۲۸ روز، کمک به کاهش فشار خون در افراد مبتلا به این بیماری می‌کند (Edwards et al., 2007). تحقیقات بر روی سلول‌ها نشان داده‌است که کوئرستین کمک به کُند شدن رشد برخی از انواع سلول‌های سرطانی می‌کند. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که کوئرستین از انواع سرطان، مانند سرطان روده، جلوگیری می‌کند (Shoskes et al., 1999).

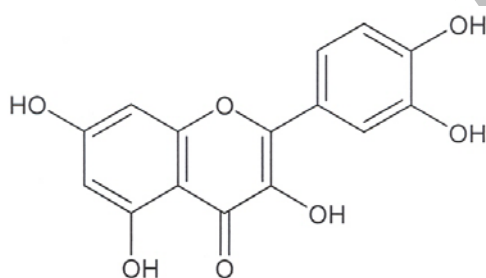
Guédon و همکاران (۱۹۹۲) اولین بار تحقیقی را بر روی دو گونه *Achillea millefolium* و *Achillea ceretanum* انجام دادند و ترکیب‌های فلاونوئیدی برگ و گل این گونه‌ها را شناسایی کردند. در این تحقیق، فلاونوئیدهای عمده، آپی‌ژنین و لوتئولین بودند که عمدتاً به‌صورت O-۷-گلیکوزید و ۷-مالونیل گلیکوزید یافت شدند.

Ivancheva و همکاران (۲۰۰۲) مطالعه‌ای را روی ۷ گونه از *Achillea* (*A. setacea*؛ *A. millefolium*)؛ *A. fraasii*؛ *A. clavenae*؛ *A. abrotanoides*؛ W.K. *A. clasiana* و *A. lingulata* انجام دادند و ترکیب‌های عمده‌ای مانند 6-hydroxyflavonol 3, 6, 4'-trimethyl ethers و 6-hydroxyflavones گلیکوزید لوتئین، کمفرول و کوئرستین و C-گلیکوزیل فلاون‌های آپی‌ژنین و

زرد از الکل غلیظ، در ۹۵ تا ۹۷ درجه آب‌گیری شده قابل تهیه است. حداکثر جذب آن در طیف UV در ۲۵۸ و ۳۷۵ نانومتر است. یک گرم آن در ۲۹۰ میلی‌لیتر الکل خالص و در ۲۳ میلی‌لیتر الکل جوش، حل می‌گردد. در اسید استیک گلاسیال محلول و در آب غیرمحلول است. در محلول قلیایی به رنگ زرد می‌باشد. مزه محلول الکلی آن خیلی تلخ است (Merck Index, 2001).

خصوصیات شیمیایی ترکیب کوئرستین

ترکیب کوئرستین (Quercetin) با نام‌های 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone و benzopyran-4-one و نام‌های معمول دیگری چون meletin, sophoretin, cyanidenolon 1522 دارای فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_7$ جرم مولکولی ۳۰۲/۲۴ به فرم ساختمانی نشان داده شده در شکل ۱ است. از نظر فیزیکی به صورت سوزن‌های



شکل ۱- فرمول ساختمانی کوئرستین

۳۰ میلی‌لیتر رسانده شد. هدف از استفاده از حلال کلروفرم جدا کردن کلروفیل از نمونه بود که وقتی در مرحله بعد از حلال متانول استفاده می‌شود اندازه‌گیری با دتکتور UV دستگاه HPLC بهتر انجام شود، ولی هدف از اندازه‌گیری در این مرحله مشخص نمودن استخراج کوئرستین با حلال کلروفرم نیز بود.

روش دوم- بعد از مرحله اول (استخراج با کلروفرم) از ۸۰ سی‌سی متانول بر روی همان نمونه اول با روش سوکسله به مدت ۷۲ ساعت انجام گردیده، سپس نمونه را به حجم ۳۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم.

مواد و روشها

جمع‌آوری نمونه‌های مورد آزمایش

با توجه به فصل رویش، نمونه‌های بومادران از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران در اوایل خردادماه ۱۳۸۹ جمع‌آوری گردیده‌است.

استخراج

استخراج ترکیب‌های گیاهی به چهار روش زیر انجام شده‌است:

روش اول- مقدار ۲ گرم از اندام‌های خشک شده سه گونه گیاه (گل، برگ و ساقه) به روش سوکسله با ۸۰ سی‌سی کلروفرم به مدت ۷۲ ساعت مورد استخراج قرار گرفت. سپس حلال جدا شده و باقیمانده به حجم

استفاده از HPLC است. دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Knauer مدل Well Chrom 2000، دارای پمپ مدل Maxi-star K-1000 و دتکتور uv-vis مدل Spectrophotometer K-2500 بود که در ۲۹۰ نانومتر تنظیم گردید. ستون مورد استفاده Eurosphere 100C₁₈ به طول ۲۵ سانتی متر و قطر ۴ میلی متر بود. به عنوان فاز متحرک از: متانول: آب: اسید استیک (۵۰:۴۵:۵) با شدت جریان یک میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. مقدار نمونه تزریق شده ۲۰۱ μl بود و انجام آزمایش ۲۰ دقیقه به طول انجامید.

آماده سازی استانداردها و رسم منحنی کالیبراسیون

استانداردهای مورد استفاده در این طرح ترکیب کوئرستین Quercetin dehydrate با نام علمی 3, 3', 4', 5, 6-Pentahydroxyflavone با فرمول مولکولی C₁₅H₁₀O₇, 2H₂O و با جرم مولکولی 338.27 M مقدار ۲۵ گرم از شرکت Fluka خریداری گردید. میزان ترکیب کوئرستین با تهیه منحنی استانداردها به صورت زیر بررسی شد. برای رسم منحنی خط کالیبراسیون جهت ترکیب کوئرستین با غلظت های متفاوتی از هفت نمونه استاندارد با غلظت های (۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۷۵۰، ۱۰۵۰، ۱۵۰۰ و ۲۱۰۰) تهیه و بعد به دستگاه تزریق گردید. سپس میزان ترکیب کوئرستین در اندام های مختلف سه گونه بومادران محاسبه شدند.

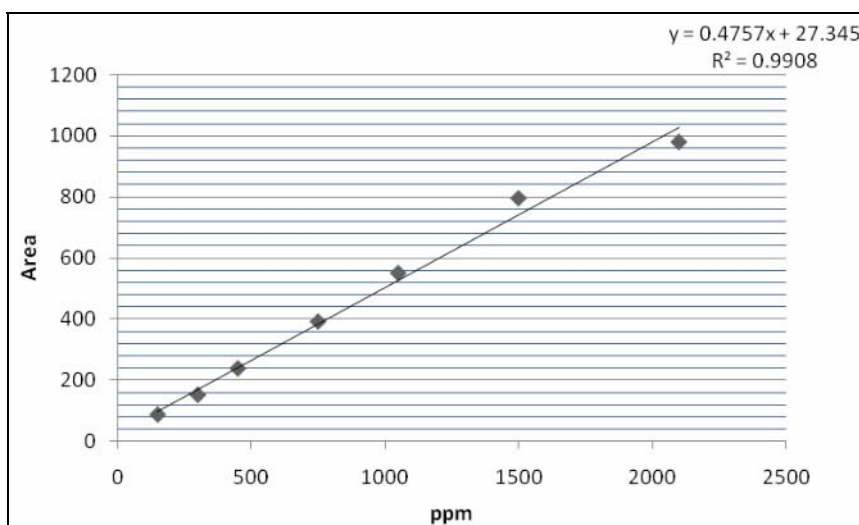
روش سوم- در این روش با توجه به میزان ماده خشک هر قسمت از گیاه، حدود ۵-۴ گرم از اندام های گیاه تازه (گل، برگ و ساقه) را باحلال متانول-اسید استیک (۱:۹) توسط همزن برقی، مخلوط کرده و بلافاصله با کاغذ صافی عصاره را صاف کرده و سپس نمونه را به حجم ۳۰ میلی لیتر می رسانیم. هدف از استفاده از اسید استیک به مقدار کم، جدا کردن بهتر ترکیب های فلاونوئیدی بود. Daigle و Conkerton (۱۹۸۲) بر روی ۳۶ گونه کار کردند و حلال مورد استفاده جهت جداسازی ترکیب های فلاونوئیدی از فاز متحرک متانول: آب: اسید استیک (۵۰:۴۵:۵) استفاده نمودند.

روش چهارم- حدود ۵-۴ گرم (بسته به میزان ماده خشک) از اندام های گیاه تازه (گل، برگ و ساقه) را با حلال متانول-اسید استیک (۱:۹) توسط همزن برقی، مخلوط کرده و به مدت یک هفته خیسانده بعد با کاغذ صافی عصاره را صاف کرده و سپس نمونه را به حجم ۳۰ میلی لیتر می رسانیم.

سپس ۳۶ نمونه با روش های ذکر شده تهیه و در یخچال نگهداری و برای تعیین میزان ترکیب کوئرستین، به دستگاه HPLC تزریق گردید و طبق روش Daigle و Conkerton (۱۹۸۲) تجزیه انجام گردید.

شرایط دستگاهی HPLC

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می باشد. یکی از روش های دقیق جهت اندازه گیری ترکیب های کوئرستین



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون ترکیب کوئرستین

نتایج

بررسی‌های انجام شده بر روی سه گونه بومادران نشان دادند که اندام هر گونه با توجه به روش مورد استفاده دارای میزان متفاوتی از ترکیب کوئرستین می‌باشد (جدول ۱). از آنجا که حضور این ترکیب در اندام‌های مختلف (گل، برگ و ساقه) سه گونه برای ما ارزشمند می‌باشد، انتخاب اندام گونه و روش بهینه برای صنایع، جهت استخراج ترکیب فوق از اهمیت خاصی برخوردار است.

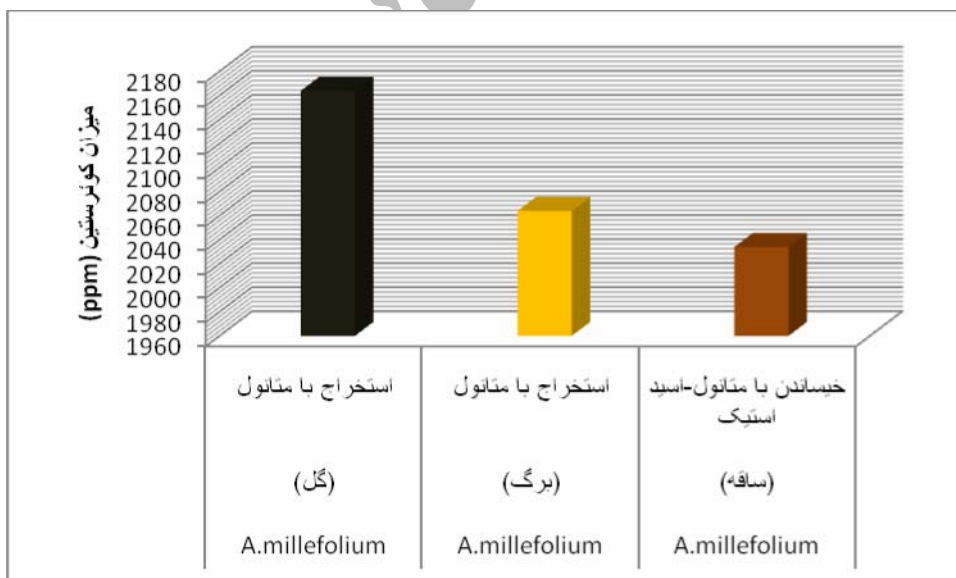
با توجه به نتایج بدست آمده در جدول ۱، در این بررسی سه گونه بومادران *A. millefolium*، *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران جمع‌آوری گردیدند. نتایج بدست آمده در شکل ۲ نشان می‌دهد که در شرایط کشت یکسان بیشترین مقادیر کوئرستین بدست آمده به روش استخراج با سوکسله با

حلال متانول در گل *A. millefolium* (۲۱۶۴ ppm)، و در برگ *A. millefolium* (۲۰۶۴ ppm)، در ساقه *A. millefolium* (۲۰۳۴ ppm)، به روش خیساندن با حلال متانول و کمترین مقادیر کوئرستین بدست آمده مربوط به روش استخراج با کلروفرم است که در برگ *A. millefolium* (۱۲۷ ppm)، در ساقه *A. biebersteinii* (۲۳ ppm)، و در ساقه *A. tenuifolia* (۱۱۰ ppm) بدست آمد.

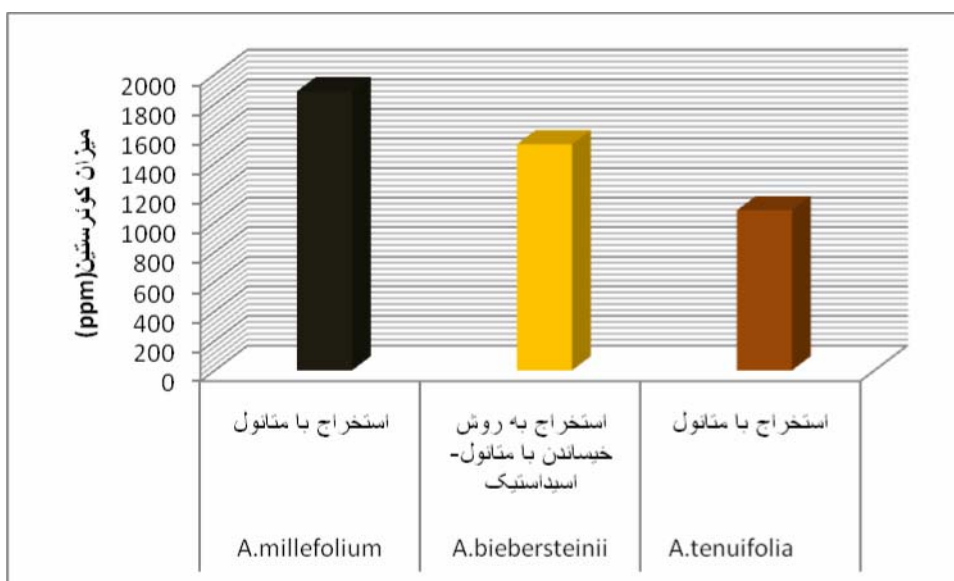
با توجه به میانگین مقادیر بدست آمده از کل گیاه در سه گونه گیاهی بومادران، مطابق جدول ۱ بیشترین مقدار کوئرستین مربوط به *A. millefolium* (۱۸۸۸ ppm) به روش متانول، در *A. biebersteinii* (۱۵۲۹ ppm) به روش خیساندن با حلال متانول- اسید استیک، و در *A. tenuifolia* (۱۰۸۳ ppm) به روش متانولی مطابق شکل ۴ می‌باشد.

جدول ۱- میزان ترکیب کوئرستین در سه گونه گیاهی بومادران

نام گیاه	اندام مورد استفاده	روش اول (استخراج با حلال کلروفرم)	روش دوم (استخراج با حلال متانول)	روش سوم (استخراج همزمان با حلال متانول- اسید استیک)	روش چهارم (خیساندن با حلال متانول- اسید استیک)
کوئرستین (ppm)					
<i>A. millefolium</i> (بومادران هزاربرگ)	گل	۳۲۶	۲۱۶۴	۸۶۷	۱۱۲۵
	برگ	۱۲۷	۲۰۶۴	۱۶۶۹	۱۰۸۷
	ساقه	۲۴۲	۱۴۳۷	۱۰۲۷	۲۰۳۴
میانگین					
<i>A. biebersteinii</i> (بومادران زرد)	گل	۱۸۶	۱۶۵۳	۵۸۴	۱۹۰۱
	برگ	۱۴۳	۷۲۲	۱۶۶۸	۱۸۶۸
	ساقه	۱۱۰	۹۵۱	۳۵۳	۸۱۷
میانگین					
<i>A. tenuifolia</i> (بومادران بیابانی)	گل	۷۶۳	۱۶۳۱	۲۶۹	۹۱۴
	برگ	۹۰۷	۱۲۷۵	۱۲۵۹	۱۷۵۷
	ساقه	۲۳	۳۴۳	۲۷۹	۵۱۱
میانگین					
		۵۶۴	۱۰۸۳	۶۰۲	۱۰۶۰



شکل ۳- بیشترین مقادیر کوئرستین بدست آمده در اندام‌های مختلف



شکل ۴- مقایسه میانگین کوئرستین در سه گونه گیاهی بومادران

روی ۳۴ فلاونوئید توسط دستگاه HPLC انجام گرفته بود و شامل ترکیب کوئرستین نیز می‌شد، انجام گردید. با توجه به میانگین مقادیر بدست آمده از کل گیاه در سه گونه گیاهی بومادران، بیشترین مقدار کوئرستین مربوط به *A. millefolium* (۱۸۸۸ ppm) به روش متانول، در *A. biebersteinii* (۱۵۲۹ ppm) به روش خیساندن با حلال متانول- اسید استیک، و در *A. tenuifolia* (۱۰۸۳ ppm) به روش استخراج با متانول مطابق شکل ۴ می‌باشد. با توجه به این که سه گونه مورد نظر در باغ گیاه‌شناسی ملی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در سال ۱۳۸۹ نمونه‌برداری شدند، نتایج بدست آمده در یک شرایط محیطی یکسان بدست آمده‌است.

Dadáková و همکاران (۲۰۱۰) مقدار کوئرستین در *A. millefolium* در روش استخراج متانولی را حداکثر 108 ± 2160 ppm گزارش نمودند. در تحقیق کنونی میانگین مقادیر کوئرستین، در (گل، برگ و ساقه) و به

بحث

ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین دارای خواص دارویی بوده و برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شوند (Middleton & Kandaswami, 1986). اصولاً استخراج ترکیب کوئرستین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی یا به‌عنوان افزودن رنگ بکار می‌روند. این ترکیب رادیکال‌های آزاد در بدن را که باعث سرطان و بیماری‌هایی از قبیل اترواسکلروز می‌شوند، پاک‌سازی نموده و در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی سودمند می‌باشد (Rice-Evans et al., 1996). بررسی میزان این ترکیب‌ها در گیاه به‌دلیل اثرهای دارویی، از اهمیت خاصی برخوردار است.

در مطالعه حاضر، استخراج و اندازه‌گیری ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین از سه گونه بومادران *A. millefolium*، *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* با توجه به بررسی منابع مورد نظر انجام شد. این روش براساس مقاله‌ای که توسط Daigle و Conkerton (۱۹۸۲)

منابع مورد استفاده

- مظفریان، و.، ۱۳۷۷. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. فرهنگ معاصر، ۶۷۰ صفحه.

- Daigle, D.J. and Conkerton, E.J., 1982. High-performance liquid chromatography of 34 selected flavonoids. *Journal of Chromatography*, 240: 202-205.
- Dadáková, E., Vrchotová, N. and Tříska, J., 2010. Content of selected biologically active compounds in tea infusions of widely used European medicinal plants. *Journal of Agrobiology*, 27(1): 27-34.
- Guédo, D., Abbe, P. and Lamaison, J.L., 1993. Leaf and flower head flavonoids of *Achillea millefolium* L. subspecies, *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(5): 607-611.
- Edwards, R.L., Lyon, T., Litwin, S.E., Rabovsky, A., Symons, J.D. and Jalili, T., 2007. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *The Journal of Nutrition*, 137(11): 2405-2411.
- Hertog, M.G.I., Sweetnam, P.M. and Fehily, A.M., 1997. Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly study. *American Journal of clinical Nutrition*, 65(5): 1489-1494.
- Haraguchi, H., Saito, T., Ishikawa, H., Date, H., Kataoka, S., Tamura, Y. and Mizutani, K., 1996. Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*. *Planta Medica*, 62(3): 217-220.
- Ishikawa, T., Suzukawa, M., Ito, T., Yoshida, H., Ayaori, M., Nishiwaki, M., Yonemura, A., Hara, Y. and Nakamura, H., 1997. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *American Journal of clinical Nutrition*, 66(2): 261-266.
- Ivancheva, S., Tomas-Barberan, F. and Tsvetkova, R., 2002. Comparative analysis of flavonoids in *Achillea* Sp. Sect. *Millefolium* and Sect. *Parmica*. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 55: 43-46.
- Jaber, R., 2002. Respiratory and allergic diseases: from upper respiratory tract infections to asthma. *Primary Care*, 29(2): 231-261.
- Katan, M.B. and Hollman, P.C.H., 1998. Dietary flavonoids and cardiovascular disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 8: 1-4.
- Lale, A., Herbert, J.M., Augereau, J.M., Billon, M., Leconte, M. and Gleye, J., 1996. Ability of different flavonoids to inhibit the procoagulant activity of adherent human monocytes. *Journal Natural Products*, 59(3): 273-276.
- Melzig, M.F., 1996. Inhibition of adenosine deaminase activity of aortic endothelial cells by selected flavonoids. *Planta Medica*, 62(1): 20-21.

روش استخراج با متانول (۱۸۸۸ ppm) بدست آمد که تقریباً مشابه نتایج تحقیق گذشته می باشد. قابل ذکر است که در گزارش Dadáková و همکاران (۲۰۱۰) نتایج ارائه شده از سرشاخه های هوایی گیاه بوده است، در حالی که در تحقیق حاضر نتایج مربوط به سه قسمت از اندام های گیاهی است. برخی تفاوتها هم می تواند ناشی از تفاوت در زمان برداشت و شرایط اقلیمی محل جمع آوری نمونه باشد.

بنابراین از نکات قابل توجه در این تحقیق، می توان به میزان بالای ترکیب کوئرستین در ساقه بومادران اشاره کرد که برای اولین بار در این تحقیق استخراج و اندازه گیری شد. از موارد دیگر این تحقیق می توان به نوع روش مناسب جهت دستیابی به بیشترین مقدار کوئرستین در این گونه ها توجه کرد که در گونه *A. millefolium* روش استخراج با حلال متانول، در گونه *A. biebersteinii* به روش استخراج به وسیله خیساندن با حلال متانول و در گونه *A. tenuifolia* به روش استخراج با حلال متانول می باشد.

بنابراین شرکت های دارویی که این نوع مواد را در محصولات خود استفاده می نمایند می توانند با استفاده از نتایج بدست آمده نسبت به استحصال صنعتی این ترکیب برای محصولات خود اقدام نمایند.

سپاسگزاری

این طرح با حمایت های مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران انجام شده است. از زحمات کلیه عزیزانی که در این طرح ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می نمایم.

- flavonoids from the traditional remedy *Satureja obovata*. *Planta Medica*, 62(3): 272-274.
- Shoskes, D.A., Zeitlin, S.I., Shahed, A. and Rajfer, J., 1999. Quercetin in men with category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. *Urology*, 54(6): 960-963.
 - Spriggs, D., 1998. Selected flavonoids, *Journal of Chromatography*, 240: 202-205.
 - Stewart, L.K., Soileau, J.L., Ribnicky, D., Wang, Z.Q., Raskin, I., Poulev, A., Majewski, M., Cefalu, W.T. and Gettys, T.W., 2008. Quercetin transiently increases energy expenditure but persistently decreases circulating markers of inflammation in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Metabolism Clinical and Experimental*, 57: S39-S46.
 - Merck Index, 2001. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Quercetin, page 1438-1439, Thirteenth Edition, Published by Merck Research Laboratories Division of Merck and Co., Inc. Whitehouse Station, NJ, USA.
 - Middleton, E.Jr. and Kandaswami, C., 1986. The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, inflammation and cancer: 619-652. In: Harborne, J.B. (Ed.) *The flavonoids, Advances in Research Since Chapman and Hall*, London, 676p.
 - Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Pagange, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7): 933-956.
 - Sanchez de Rojas, V.R., Somoza, B., Ortega, T. and Villar, A.M., 1996. Isolation of vasodilatory active

Archive of SID

Extraction and Determination of Quercetin in *Achillea millefolium* L., *Achillea biebersteinii* Afan. and *Achillea tenuifolia* Lam.

K. Jaimand¹, H. Ahrabi Asli^{2*} and A. Monfared³

1- Department of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

2*- Corresponding author, Institute and Research of Tehran Standard, Tehran, Iran, E-mail: helenahrabi@yahoo.com

3- Academic member of Payam-e-Nor University, Tehran, Iran

Received: November 2010

Revised: January 2011

Accepted: January 2011

Abstract

Flavonoids, are a large class of polyphenols, with more than 4000 combinations. They have an antioxidant role in plant photosynthesis and in human body have such as antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and protection of the heart. Quercetin is in flavonol group, is used to fight with viruses and cancer cells. In this study, extraction and measurement of quercetin were carried out in *A. millefolium* L., *A. biebersteinii* Afan. and *A. tenuifolia* Lam. species. Samples were collected in early June 2010 from experiment farms, in Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran. Various extraction methods were tested using different organs (flowers, leaves and stems) performed. The extraction from stem is reported for the first time. In the first extraction was performed soxhlet apparatus using with chloroform solvent for 72 hours. In the second method the previous sample with chloroform solvent extraction had been performed after separating the solvent, adding methanol extraction surgery was performed again. The third method, depending on the amount of plant matter with solvents methanol and acetic acid (ratio 9:1) by small electric mill and was filtered, in the end a new method with solvents, methanol and acetic acid (ratio 9:1) by electric mill crushed and then soaked for a week and was filtered. Then all samples were concentrated into 30 ml. Totally 36 samples were obtained by the amount quercetin contents in 36 obtained samples were measured combined with High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The highest amount of quercetin (2164 ppm) obtained in flower of *A. millefolium*. In second method with methanol by soxhlet apparatus were 2064 ppm in leaves, and was 2034 ppm in stem, in fourth method Macerated with methanol related to first method in *A. millefolium* was lowest 127 ppm amount, in stem of *A. biebersteinii* was 110 ppm and 23 ppm was obtained from *A. tenuifolia* stem.

Key words: Achillea, *A. millefolium* L., *A. biebersteinii* Afan., *A. tenuifolia* Lam., flavonoid, quercetin, High-Performance Liquid Chromatography (HPLC).