

مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس بومادران زرد (*Achillea biebersteinii* Afan.) استان خراسان با استفاده از روشهای آماری چند متغیره

سید فاضل میراحمدی^{۱*}، محمدرضا حسندخت^۲، فاطمه سفیدکن^۳ و محمداسماعیل حسینی^۴

*- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

پست الکترونیک: Mirahmadif@ut.ac.ir

۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۴- استادیار، پارک علم و فناوری دانشکده کشاورزی، صنایع غذایی و منابع طبیعی دانشگاه سیدنی، استرالیا

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۹

چکیده

بومادران زرد (*Achillea biebersteinii* Afan.) گیاهی متعلق به تیره *Astraceae* می‌باشد که در اروپا، ترکیه، ایران و آسیای مرکزی یافت می‌شود. علاوه بر کاربرد در طب سنتی، این گیاه به سبب ویژگی‌های اسانس در طب نوین و استفاده در صنایع مختلف بسیار قابل توجه می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اجزای اسانس نه جمعیت مختلف بومادران زرد استان خراسان بود. بدین منظور، پس از استخراج اسانس و محاسبه عملکرد آن در هر جمعیت بر مبنای وزن خشک گیاه، ترکیب‌های اسانس آنها با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شدند. متوسط عملکرد اسانس جمعیت‌ها با سه تکرار تعیین شد که توده گلول و چلمیر به ترتیب با ۱/۶۲٪ و ۱/۶٪ بالاترین عملکرد را در بین سایر توده‌ها به خود اختصاص دادند. در مجموع ۲۳ ترکیب در تمام اسانس‌ها شناسایی گردید که مونوترپن‌های اکسیژنه (۷۳/۱ - ۴۷/۹٪) اصلی‌ترین گروه اجزای اسانس را در میان توده‌های مورد مطالعه به خود اختصاص دادند. ۸،۱-سینئول، مشتقات نپتالاکتون، پارا-سیمن، آلفا-ترپینن و سیس-کریزانتیل استات، به ترتیب سهم هر ترکیب در تشکیل درصد کل اجزای اسانس جمعیت‌های مختلف مورد بررسی، به عنوان اجزای عمده بودند و لاواندولیل ۲-متیل بوتیرات و سیس-کریزانتول به عنوان نادرترین ترکیب‌های اسانس جمعیت‌های مختلف شناسایی شدند و تنها در دو جمعیت مورد مطالعه وجود داشتند. با توجه به بازده اسانس بالا و غنی بودن از سه ترکیب پارا-سیمن، ۸،۱-سینئول و نپتالاکتون ($4\alpha\text{-}7\alpha,7\alpha\text{-}\beta\text{-Nepetalactone}$) که دارای اثرهای بیولوژیکی شناخته شده می‌باشند، دو توده گلول و ازغده مناسبترین نمونه‌ها جهت استفاده در صنایع مختلف، به ویژه دارویی به شمار می‌روند.

واژه‌های کلیدی: *Achillea biebersteinii* Afan. اسانس، ۸،۱-سینئول، نپتالاکتون، پارا-سیمن.

مقدمه

ریزوم دار و اغلب معطر می‌باشند که در سراسر دنیا از جمله اروپا، غرب آسیا و شمال آفریقا، بخش‌هایی از استرالیا، زلاندنو و آمریکای شمالی پراکنش دارند (Rechinger, ۱۹۸۸)

بومادران با نام علمی *Achillea* متعلق به تیره *Astraceae*، دارای بیش از ۱۰۰ گونه گیاه علفی چندساله،

آسکاریدول به‌عنوان ترکیب‌های اصلی اسانس شناسایی شده‌اند. (Bader *et al.*, 2003; Baris *et al.*, 2006; Rahimmalek *et al.*, 2009; Esmaeili *et al.*, 2006).

اندام‌های مختلف بومادران زرد (برگ، ساقه، گل) جمع‌آوری شده از منطقه ماکو در استان آذربایجان غربی نشان داد که بالاترین درصد اسانس (۲۲٪) متعلق به برگ‌های این گیاه بود. در این مطالعه کامفور (۳۸/۱-۳۳٪)، بورنتول (۲۲/۶-۷/۳٪) و ۸،۱-سینئول (۲۲/۳-۹/۶٪) به‌عنوان ترکیب‌های عمده اسانس این گیاه شناسایی شدند؛ در صورتی که در مطالعه‌ای مشابه بر روی این گیاه، جمع‌آوری شده از شمال تهران، آسکاریدول و پیریتون اجزای اصلی آن را تشکیل می‌دادند (Esmaeili *et al.*, 2006; Rustaiyan *et al.*, 1998). Jaimand و Rezaee (۱۹۹۵) طی مطالعه‌ای به بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس‌های بومادران بیابانی، زرد و زاگرس پرداختند. آنها ترکیب‌های عمده موجود در اسانس بومادران زرد را پیریتون، ۸،۱-سینئول، لیمونن و پارا-سیمن گزارش نمودند.

در مطالعه‌ای دیگر، ترکیب‌های شیمیایی اسانس سه توده بومادران زرد جمع‌آوری شده از اصفهان و لرستان بعد از کشت در شرایط مزرعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت که چهار ترکیب اصلی کامفور، آلفا-ترپینئول، بورنتول و اسپاتونول بالاترین درصد اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند (Rahimmalek *et al.*, 2009).

مقدار و اجزای اسانس گیاهان دارویی بشدت تحت تأثیر ژنتیک گیاه، عوامل محیطی، مرحله رشدی گیاه (رویشی، غنچه‌دهی، گلدهی، گلدهی کامل، بذر و میوه)، نوع اندام گیاهی و زمان برداشت می‌باشد. تطابق توده‌های گیاهی با شرایط محیطی حاکم بر رویشگاه آن در طی زمان عامل ایجاد تنوع ژنتیکی و متعاقباً ایجاد

گونه (۷ گونه) در ایران ۱۹ گونه (Chevallier, 1963; 1966). از این گیاه دارویی به‌طور خودرو یافت می‌شوند (Rechinger, 1963). یکی از این گیاهان *Achillea biebersteinii* Afan. با نام فارسی بومادران زرد یا بومادران مزرعه‌روی است که گیاهی چندساله و معطر، با ساقه‌های منفرد یا بندرت چندتایی و به ارتفاع ۱۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر با کرک‌های انبوه است. برگ‌ها در این گیاه با تقسیمات شانهای و پوشیده از کرک بوده که در قسمت میانی ساقه فاقد دم‌برگ هستند. شکل کلی گل‌آذین به صورت دیهیم انبوه ساده یا مرکب با ۳۰ تا ۲۰۰ کپه یا بیشتر است که گل‌های زبانه‌ای آنها به رنگ زرد هستند. زمان گلدهی و میوه‌دهی بومادران زرد از اواسط بهار تا اواسط تابستان گزارش شده‌است. علاوه بر ایران (شمال، شمال‌غرب، غرب، مرکز و شمال‌شرق)، این گیاه در اروپا، ترکیه و آسیای مرکزی نیز یافت می‌شود (Rechinger, 1963).

بومادران زرد در طب سنتی کشور اردن به‌عنوان داروی ضدنفخ مورد استفاده قرار می‌گیرد، در صورتی که در ترکیه به‌عنوان داروی تسکین‌دهنده دردهای شکمی و التیام‌دهنده زخم‌های پوستی کاربرد دارد (Bader *et al.*, 2003). فعالیت بالای ضدقارچی و ضدباکتریایی و نیز خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی اسانس این گیاه اخیراً به اثبات رسیده‌است (Baris *et al.*, 2006). همچنین، خاصیت التیام‌بخشی قابل ملاحظه عصاره اندام‌های هوایی این گیاه در مرحله گلدهی در زخم‌های ناشی از بریدگی مدل‌های حیوانی توسط Kupeli Akkol و همکاران (۲۰۰۹) نشان داده شده‌است.

مطابق مطالعات شیمیایی اجزای عمده اسانس بومادران زرد را مونوترپن‌های اکسیژنه تشکیل می‌دهند. در این گیاه پیریتون، کامفور، بورنتول، ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن و

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه و اسانس‌گیری

بیکره رویشی *A. biebersteinii* در زمان گلدهی کامل از نُه رویشگاه طبیعی در استان خراسان در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۸۸ جمع‌آوری گردید (جدول ۱). در انتخاب رویشگاه‌ها فاصله جغرافیایی (حداقل فاصله ۵۰ کیلومتر) و تنوع اقلیمی در نظر گرفته شد. در هر رویشگاه نمونه‌های گیاهی طوری انتخاب شدند که برآیند مناسبی از توده‌های گیاهی آن منطقه باشند. مواد گیاهی در هر بار یوم گروه علوم باغبانی واقع در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران شناسایی شدند. اندام‌های هوایی برداشت شده در سایه خشک گردید و بعد توسط آسیاب برقی خرد شدند. ۱۰۰ گرم از پودر گیاه خشک شده جهت استخراج اسانس به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت توسط دستگاه تیپ کلونجر طبق فارماکوپه بریتانیا اسانس‌گیری شد (British Pharmacopoeia, 1993) و بازده اسانس (درصد حجم به وزن خشک) براساس سه تکرار محاسبه گردید. نمونه‌های اسانس جمع‌آوری شده در ظروف شیشه‌ای تیره و در بسته در یخچال و دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تنوع در اجزای تشکیل‌دهنده اسانس آنهاست (Heywood, 2002). همانند سایر گونه‌های جنس بومادران، بومادران زرد نیز گیاهی دگرگشن است که یکی از عوامل اصلی تنوع ژنتیکی و احتمالاً تنوع شیمیایی در آن محسوب می‌شود (Bourdot, 1980). با در نظر گرفتن موارد فوق، مشاهده تنوع بالای اجزای اسانس بومادران زرد در مطالعات انجام شده در داخل و خارج از ایران (پتانسیل بالای این گیاه در ایجاد دامنه وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی)، محرز بودن خواص دارویی این گیاه در مطالعات گوناگون و طب سنتی، مطالعات محدود انجام شده بر روی این گونه در کشور و نبود هیچ‌گونه گزارشی از منطقه مورد بررسی در این مطالعه و نیز با توجه به اهمیت استان خراسان به‌عنوان یکی از مناطق اصلی پراکنش این گیاه در کشور (Rechinger, 1963)، مطالعه حاضر با هدف مقایسه و ارزیابی ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاه دارویی بومادران زرد و افزایش اطلاعات در مورد تنوع شیمیایی اسانس این گیاه در مناطق عمده پراکش آن در ایران انجام شد.

جدول ۱- مناطق جمع‌آوری جمعیت‌های مختلف گیاه بومادران زرد

ردیف	محل جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر)
۱	بوژان، نیشابور	۵۹°۰۳'	۳۶°۱۳'	۱۶۰۰
۲	چلمیر، درگز	۵۸°۳۴'	۳۷°۳۱'	۱۵۸۴
۳	گوجگی، مشهد	۵۹°۵۶'	۳۶°۳۱'	۲۱۰۰
۴	آمان آباد، مشهد	۵۹°۳۲'	۳۵°۵۸'	۱۲۱۰
۵	آدگ، نیشابور	۵۸°۵۳'	۳۶°۱۱'	۱۲۶۰
۶	آزغد، مشهد	۵۹°۲۴'	۳۶°۱۹'	۱۸۰۰
۷	گلول، شیروان	۵۸°۱۱'	۳۷°۳۷'	۲۱۰۰
۸	گلمکان، چناران	۵۹°۱۳'	۳۶°۲۹'	۱۳۱۵
۹	آرتکند، کلات نادری	۵۹°۵۱'	۳۶°۴۸'	۱۴۸۰

شناسایی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس

آنالیز GC با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Thermo-UFM صورت گرفت. از هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه و ستون PH-5 به طول ۱۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۴ میکرومتر بود، استفاده شد. دمای ستون در ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳ دقیقه نگهداری و بعد با سرعت ۸۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و به مدت ۵/۸ دقیقه در این دما ثابت ماند. دمای محفظه تزریق و دکتور (FID) ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. درصد‌های نسبی با استفاده از نرم‌افزار کروماتوپیک CR4-A بدون استفاده از فاکتور تصحیح سطح زیر منحنی برآورد شد.

برای آنالیز GC/MS از گاز کروماتوگراف واریان ۳۴۰۰ متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۴۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، بتدریج با سرعت ۴ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید. از گاز حامل هلیوم با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون استفاده شد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۰۰ بود.

شناسایی مواد تشکیل‌دهنده اسانس با سه روش: مقایسه شاخص بازداری اجزای اسانس با آنچه که در منابع وجود داشت (Davies, 1990؛ Adams, 1995)، مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای اسانس با طیف

جرمی موجود در کتابخانه دستگاه GC-MS و در نهایت تزریق همزمان نمونه‌های استاندارد از ترکیب‌های شناخته شده در اسانس‌ها، انجام شد.

تجزیه داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به عملکرد اسانس با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ انجام شد و میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۱٪ مقایسه شد. برای تحلیل عاملی، تعیین ضرایب همبستگی و تجزیه تری‌پلات از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۱ با استفاده از تکنیک چرخش عامل‌ها به روش واریماکس استفاده گردید. آنالیز خوشه‌ای با روش وارد (Wards method) و براساس فاصله اقلیدوسی با استفاده از ماتریکس داده‌های حاصل از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس انجام شد.

نتایج

بررسی اجزای اسانس توده‌های مورد مطالعه با استفاده از کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی در مجموع موجب شناسایی ۲۳ ترکیب در تمام اسانس‌های مورد بررسی گردید. مونوترپن‌های اکسیژنه (۷۳/۱-۴۸٪) به غیر از توده جمع‌آوری شده از منطقه ارتکنند، اصلی‌ترین گروه اجزای اسانس را در میان توده‌های جمع‌آوری شده تشکیل می‌دادند که در این میان گیاهان جمع‌آوری شده از منطقه ازغد بالاترین میزان (۷۳/۱٪) را به خود اختصاص داد. مونوترپن‌های هیدروکربنه (۴۸/۷-۲۲/۹٪) دومین گروه غالب اجزای اسانس در میان جمعیت‌های مورد بررسی بودند که توده

جدول ۳ نتایج تجزیه به عامل‌های اصلی را نشان می‌دهد. میزان واریانس هر عامل بیانگر اهمیت آن عامل در تبیین واریانس کل صفات مورد بررسی است. در این بررسی آماری پنج عامل اصلی که مقادیر ویژه آنها بالاتر از دو بودند، توانستند در مجموع ۹۱/۹٪ از کل واریانس در بین صفات (اجزای اسانس) را توجیه نمایند. در تجزیه تری‌پلات داده‌های حاصل از آنالیز اسانس‌های بومادران زرد از پنج عامل اصلی بدست آمده، سه عامل اول که دارای مقادیر ویژه بالاتر از سه بودند و بیشترین درصد از واریانس کل را توجیه می‌نمودند استفاده شد (در این مطالعه، بار عاملی بالاتر از ۰/۶۸ برای هر صفت در هر عامل ملاک قرار گرفتن آن صفت در آن عامل است). بر این اساس، توده‌ها در ۳ گروه مستقل قرار گرفتند، به‌صورتی که گروه الف شامل توده اُرتکنند، گروه ب شامل توده چلمیر و گروه ج شامل ۷ توده باقی‌مانده بود (شکل ۲).

به منظور تعیین وجود و نحوه همبستگی میان اجزای اصلی اسانس جمعیت‌های مختلف در این مطالعه، ضرایب همبستگی پیرسون میان هر جفت از متغیرهای مورد آزمون محاسبه گردید (جدول ۴).

جمع‌آوری شده از منطقه ارتکنند (۰/۴۸/۷٪) حاوی بیشترین مقدار از آنها بود. در میان ۹ توده مورد بررسی تنها ۶ توده حاوی مقادیر بسیار ناچیزی (کمتر از ۰/۰۵٪ تا ۰/۰۳٪) از سزکویی‌ترین‌های اکسیژنه بودند. عمده ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس توده‌های مختلف را ۸،۱-سینئول (۰/۱۲/۸-۰/۵۴/۹٪)، مشتقات نپتالاکتون (۰/۴۳/۳-۰/۷/۸٪)، پارا-سیمن (۰/۱۶/۹-۰/۳۴/۸٪)، آلفا-تریپین (۰/۱۱/۶-۰/۳/۲٪) و سیس-کریزانتینیل استات (۰/۱۷/۷-۰/۸/۹٪) تشکیل دادند و بالاترین مقادیر این ترکیب‌ها به‌ترتیب در توده‌های بوژان، امان‌آباد، اُرتکنند، اُرتکنند و گوجگی بدست آمد. در مقابل لاواندولیل ۲-میتیل بوتیرات (۰/۰۱٪) و سیس-کریزانتینول (۰/۰۸٪) نادرترین ترکیب‌های اسانس توده‌های مورد بررسی بودند که به‌ترتیب، تنها در اسانس توده‌های جمع‌آوری شده از مناطق ارتکنند و چلمیر دیده شدند (جدول ۲).

در این مطالعه، نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌ها براساس تمامی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس مبنای تعیین دوری و نزدیکی توده‌های جمع‌آوری شده قرار گرفت (شکل ۱). در فاصله اقلیدوسی ۱۰، توده‌ها به ۳ گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند. گروه اول شامل ۴ توده بوژان، ازغد، گل‌ول و آدگ بود. گروه دوم از ۴ توده امان‌آباد، گل‌مکان، چلمیر، گوجگی و گروه سوم نیز تنها از توده اُرتکنند تشکیل شده بود.

جدول ۲- اجزای تشکیل دهنده اسانس جمعیت‌های مختلف بومادران زرد جمع‌آوری شده از استان خراسان

ردیف	نام ترکیب	شاخص										درصد ترکیب
		بازداری	بوژان	چلمیر	گوجگی	امان‌آباد	ادگ	ازغد	گلول	گلمکان	ارتکند	
۱	α -thujene	۹۳۱	۰/۲۱	۰/۱	۰/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۱	۰/۲	-	۰/۱	RI, MS
۲	α -pinene	۹۳۹	۲/۷	۱/۲	۱/۲	۱/۳	۱/۷	۲/۵	۲/۶	۱/۷	۱/۷	RI, MS, CoI
۳	camphene	۹۵۲	۱/۲	۰/۴	۰/۳	۰/۲	۰/۱	۰/۷	۰/۴	۰/۵	۰/۱	RI, MS, CoI
۴	yomogi alcohol	۹۹۸	۰/۶	۰/۶	۰/۴	۰/۴	۰/۶	۰/۵	۰/۹	۰/۵	۰/۶	RI, MS
۵	α -phellandrene	۱۰۰۲	۱/۶	۰/۴	۰/۷	۰/۵	۱/۳	۱/۴	۱/۳	۰/۸	۰/۴	RI, MS
۶	α -terpinene	۱۰۱۸	۳/۷	۶/۷	۳/۲	۳/۴	۴/۳	۳/۹	۴/۵	۳/۵	۱۱/۶	RI, MS
۷	<i>p</i> -cymene	۱۰۲۵	۱۷/۷	۲۰/۳	۱۷/۴	۱۹/۵	۱۹/۸	۱۶/۹	۱۹/۷	۱۷/۵	۳۴/۸	RI, MS, CoI
۸	1,8-cineole	۱۰۳۳	۵۴/۹	۱۲/۸	۲۵/۲	۱۴/۱	۴۰/۹	۵۳	۴۲/۶	۳۱/۸	۱۹/۵	RI, MS, CoI
۹	artemisia ketone	۱۰۶۳	-	۰/۲	-	۰/۱	-	-	-	-	-	RI, MS
۱۰	artemisia alcohol	۱۰۸۳	-	۰/۱	۰/۱	-	۰/۲	-	-	۰/۱	-	RI, MS
۱۱	<i>trans</i> -sabinene hydrate	۱۰۹۶	-	۰/۱	۰/۱	-	-	۰/۱	-	۰/۵	-	RI, MS
۱۲	linalool	۱۰۹۸	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۱	۰/۱	-	۰/۲	-	۰/۲	RI, MS, CoI
۱۳	<i>cis</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol	۱۱۲۰	۰/۷	۲/۲	۲/۳	۲/۳	۱/۶	۰/۸	۰/۹	۱/۹	۱/۸	RI, MS
۱۴	chrysanthenone	۱۱۲۵	۰/۲	۰/۵	۰/۷	۰/۶	۰/۵	۰/۲	۰/۲	۰/۴	۰/۳	RI, MS

ادامه جدول ۲- اجزای تشکیل دهنده اسانس جمعیت‌های مختلف بومادران زرد جمع‌آوری شده از استان خراسان

ردیف	نام ترکیب	شاخص									درصد اسانس	
		بازداری	بوژان	چلمیر	گوجگی	امان‌آباد	ادگ	ازغد	گلول	گلمکان		ارتکند
۱۵	camphor	۱۱۴۳	۳/۹	۱/۶	۲/۷	۱/۴	۴/۲	۳/۵	۱/۴	۳/۳	۱/۳	RI, MS, CoI
۱۶	cis-chrysanthenol	۱۱۶۲	-	۰/۸	-	-	-	-	-	-	-	RI, MS
۱۷	terpinen-4-ol	۱۱۷۷	۰/۷	-	۰/۹	۰/۷	۱	۰/۹	۰/۹	۰/۷	۰/۶	RI, MS, CoI
۱۸	α -terpineol	۱۱۸۹	۱/۴	۰/۶	۱/۹	۰/۵	۱/۴	۱/۹	۲/۲	۰/۷	۰/۱۶	RI, MS, CoI
۱۹	cis-chrysanthenyl acetate	۱۲۶۲	۱/۷	۷/۳	۸/۹	۶/۸	۳/۸	۲/۳	۳/۶	۴/۳	۳/۵	RI, MS
۲۰	4 α -7 α ,7 α - β -Nepetalactone	۱۳۸۵	۷/۸	-	-	-	-	۱۴/۹	۱۰/۴	۳۰/۲	۲۰	RI, MS
۲۱	4 α ,7- β ,7 α - α -nepetalactone	۱۳۹۰	-	۴۰/۹	۲۵/۹	۴۳/۳	-	-	-	-	-	RI, MS
۲۲	lavandulyl 2-methyl butyrate	۱۵۱۳	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۱	RI, MS
۲۳	spathulenol	۱۵۷۶	-	-	۰/۳	tr	۰/۱	۰/۱	۰/۱	-	۰/۱	RI, MS
	Monoterpene hydrocarbons		۲۷	۲۹	۲۲/۹	۲۵	۲۸/۱	۲۵/۵	۲۹/۱	۲۴/۱	۴۸/۷	
	Oxygenated monoterpenes		۷۱/۵	۶۷/۲	۶۹	۶۹/۹	۶۸/۴	۷۳/۱	۶۷/۱	۷۲/۹	۴۸	
	Oxygenated sesquiterpenes		-	-	۰/۳	tr	۰/۱	۰/۱	۰/۱	-	۰/۱	
	Total		۹۹/۱	۹۶/۸	۹۲/۶	۹۵/۳	۹۷/۲	۹۹/۲	۹۷/۶	۹۷/۴	۹۷/۳	
			۰/۶۶	۱/۶	۰/۶۳	۱/۱۴	۰/۵	۱/۲۱	۱/۶۲	۰/۶۳	۰/۵۹	

tr: مقادیر کمتر از ۰/۰۰۵؛ RI: شاخص بازداری؛ MS: طیف جرمی؛ CoI: تزریق همزمان نمونه‌های استاندارد

جدول ۳- مقادیر ویژه، واریانس، درصد تجمعی واریانس عامل‌ها و بار عاملی صفات (اجزای اسانس) مورد مطالعه

عامل ۵	عامل ۴	عامل ۳	عامل ۲	عامل ۱	عامل‌ها
۲/۰۶	۲/۶۶	۳/۶۴	۳/۹۹	۷/۸۷	مقادیر ویژه
۹/۳۶	۱۲/۱۰	۱۶/۵۳	۱۸/۱۵	۳۵/۷۷	میزان واریانس توجیه شده (%)
۹۱/۹۰	۸۲/۵۴	۷۰/۴۵	۵۳/۹۲	۳۵/۷۷	درصد تجمعی واریانس توجیه شده
					اجزای اسانس
					بار عاملی
-۰/۰۶	۰/۴۰	۰/۰۶	-۰/۰۸	۰/۸۷ **	α -thujene
-۰/۱۹	-۰/۰۲	-۰/۲۸	-۰/۱۴	۰/۹۳ **	α -pinene
۰/۵۴	-۰/۱۶	-۰/۰۱	-۰/۳۷	۰/۶۸ **	camphene
-۰/۱۲	۰/۳۲	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۵۵	yomogi alcohol
۰/۲۴	۰/۰۴	-۰/۳۱	-۰/۴۰	۰/۸۲ **	α -phellandrene
-۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۲۲	۰/۹۴ **	۰/۰۲	α -terpinene
-۰/۱۴	۰/۰۹	۰/۰۰	۰/۹۸ **	-۰/۰۷	p-cymene
۰/۲۲	۰/۰۱	-۰/۳۶	-۰/۳۲	۰/۸۴ **	1,8-cineole
۰/۱۱	۰/۳۳	۰/۷۶ **	-۰/۱۵	-۰/۴۲	artemisia ketone
۰/۸۷ **	۰/۱۰	۰/۰۵	-۰/۱۳	-۰/۳۲	artemisia alcohol
۰/۱۲	-۰/۶۹ **	-۰/۰۴	-۰/۱۹	-۰/۲۲	trans-sabinene hydrate
-۰/۰۲	۰/۸۱ **	۰/۲۸	۰/۳۷	-۰/۲۰	linalool
۰/۰۹	-۰/۰۴	۰/۱۹	۰/۱۲	-۰/۹۶ **	cis-p-menth-2-en-1-ol
۰/۲۴	۰/۱۹	۰/۰۳	-۰/۱۹	-۰/۹۱ **	chrysanthenone
۰/۷۳ **	-۰/۲۷	-۰/۲۶	-۰/۳۸	۰/۳۸	camphor
۰/۰۲	۰/۰۸	۰/۹۵ **	-۰/۰۲	-۰/۱۸	cis-chrysanthenol
۰/۱۴	۰/۱۷	-۰/۹۲ **	-۰/۱۸	۰/۲۳	terpinen-4-ol
۰/۰۶	۰/۶۱	-۰/۴۱	-۰/۴۴	۰/۴۳	α -terpineol
-۰/۰۴	۰/۳۰	۰/۲۴	-۰/۲۲	-۰/۸۹ **	cis-chrysanthenyl acetate
-۰/۱۲	۰/۰۴	-۰/۱۴	۰/۹۷ **	-۰/۰۴	lavandulyl 2-methyl butyrate
۰/۲۵	۰/۶۸ **	-۰/۵۰	-۰/۱۸	-۰/۳۴	spathulenol
-۰/۲۸	-۰/۲۲	۰/۴۴	-۰/۰۷	-۰/۸۰ **	nepetalactones

** معنی‌دار بودن صفت مورد نظر در عامل (با فرض بزرگتر یا مساوی بودن از ۰/۶۸)

جدول ۴- ضرایب همبستگی ۵ ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس جمعیت‌های مورد مطالعه

نیپتالاکتون‌ها	سیس-کریزانتیل استات	۸،۱-سینئول	پارا-سیمن	آلفا-تریپنین	۱
					آلفا-تریپنین
			۱	۰/۹۶**	پارا-سیمن
		۱	-۰/۴۱	-۰/۳۸	۸،۱-سینئول
	۱	-۰/۴۷	-۰/۰۱	۰/۲۳	سیس-کریزانتیل استات
۱	-۰/۵۲	-۰/۸۹**	-۰/۰۱	۰/۰۰	نیپتالاکتونها

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

بحث

مجموع، می‌توان گفت در صورتی که به منظور استفاده در صنایع مرتبط بالاترین درصد اسانس و خاصیت اسانس مورد نظر باشد دو توده گلول (۱/۶۲٪ اسانس و ۷۷/۸٪ مجموع سه ترکیب عمده) و ازغد (۱/۲۱٪ اسانس و ۸۰/۲٪ مجموع سه ترکیب عمده) مناسبترین نمونه‌ها خواهند بود.

نتایج تجزیه خوشه‌ای، ۳ گروه مستقل از توده‌های مورد بررسی را نشان داد. گروه اول که شامل ۴ توده بوژان، ازغد، گلول و آدگ بود کمترین مقادیر نیپتالاکتون (۱/۱۷٪-۳/۸٪) و سیس-کریزانتیل استات (۱/۷٪-۳/۸٪) و بیشترین مقادیر ۸،۱-سینئول (۴۰/۹٪-۵۴/۹٪) را دارا بودند، در حالی که اسانس گروه دوم که از ۴ توده آمان‌آباد، گلمکان، چلمیر و گوجگی تشکیل شده بود برخلاف گروه اول بیشترین مقادیر نیپتالاکتون (۲۵/۹٪-۴۳/۳٪) و سیس-کریزانتیل استات (۴/۳٪-۸/۹٪) و کمترین مقادیر ۸،۱-سینئول (۳۱/۸٪-۱۲/۸٪) را به خود اختصاص داده بودند. گروه سوم نیز که تنها شامل یک توده ارتکنند بود تقریباً حد متوسطی از سه ترکیب نامبرده را به خود اختصاص داد، به طوری که دارای ۲۰٪ نیپتالاکتون، ۳/۵٪ سیس-کریزانتیل استات و ۱۹/۵٪ ۸،۱-سینئول بود. تفاوت دیگر این توده با سایر توده‌ها وجود درصد ناچیزی از ترکیب لاواندولیل ۲-متیل بوتیرات بود که در

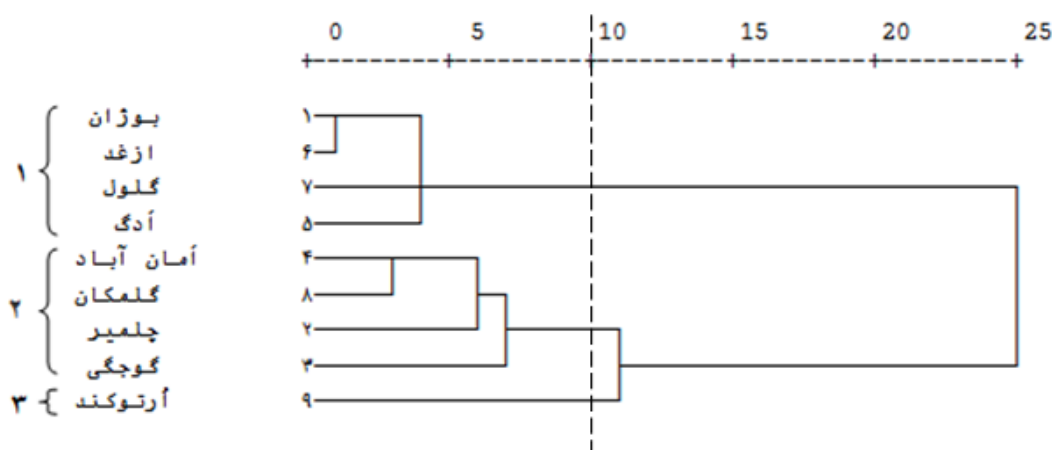
مقایسه بازده اسانس در جمعیت‌های مختلف بومادران زرد تفاوت معنی‌داری را میان آنها نشان داد. بیشترین و کمترین مقدار اسانس استحصالی به ترتیب متعلق به توده‌های بومادران زرد جمع‌آوری شده از منطقه گلول در شمال خراسان (۱/۶۲٪) و منطقه آدگ (۰/۵٪) در مرکز این استان بود. جمعیت‌های چلمیر، ازغد و آمان‌آباد نیز به ترتیب با ۱/۶٪، ۱/۲۱٪ و ۱/۱۴٪ به‌عنوان سایر جمعیت‌ها با توان بالای اسانس شناخته شدند. در مطالعات قبلی میزان اسانس بومادران زرد (اردن)، ۰/۷-۰/۶۳٪ (ترکیه) و ۲/۷-۰/۴۲٪ (ایران و در شرایط کشت کنترل شده) گزارش شده بود.

نتایج بدست‌آمده از این مطالعه نشان‌دهنده تنوع قابل ملاحظه در مقادیر اجزای اسانس‌های مورد بررسی می‌باشد. مجموع سه ترکیب پارا-سیمن، ۸،۱-سینئول و مشتقات نیپتالاکتون که سهم عمده‌ای در ایجاد خواص اسانس نمونه‌های مورد مطالعه ایفا می‌نمایند، از ۶۸/۶٪ تا ۸۰/۴٪ در توده‌های مختلف متفاوت بود. جمعیت‌های بوژان و ازغد به ترتیب با ۸۰/۴٪ و ۸۰/۲٪ بالاترین میزان سه ترکیب نامبرده را دارا بودند، در شرایطی که توده گوجگی کمترین میزان را از لحاظ دربرداشتن این ترکیب‌ها به خود اختصاص داد. در

هیدروکربن دار آن (۴۸/۷٪) نسبت به مونوترپن‌های اکسیژن دار (۴۸٪) بیشتر بود. گروه ب که شامل یک توده چلمیر بود تنها توده‌ای بود که حاوی مونوترپن اکسیژنه سیس کریزانتنول بود، در حالی که بر خلاف بقیه توده‌ها ترپین-۴-آل نداشت. گروه ج که ۷ توده باقی مانده را شامل می‌شد از نظر دربرداشتن ترکیب‌هایی همچون ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن، آلفا-ترپین و نسبت مونوترپن‌های اکسیژنه به مونوترپن‌های هیدروکربنه اختلاف معنی داری با هم نداشتند.

اسانس هیچ‌یک از نمونه‌های دیگر دیده نشد، همچنین این توده بیشترین درصد از دو ترکیب پارا-سیمن و آلفا-ترپین را نسبت به سایر توده‌های مورد بررسی داشت.

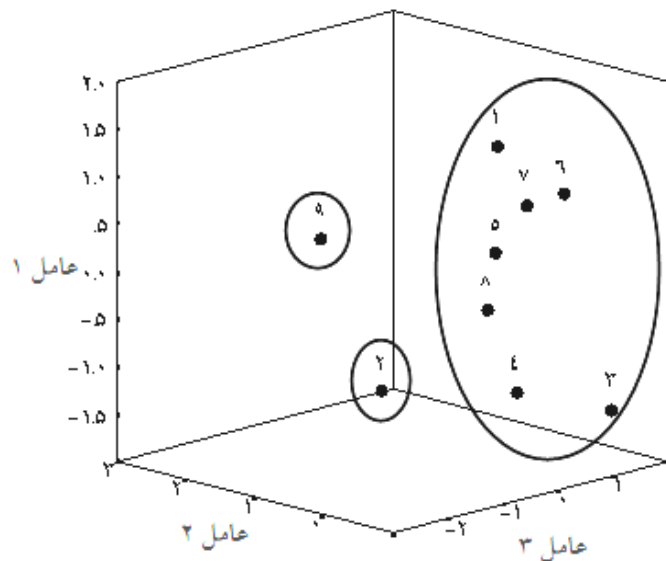
بر مبنای نتایج حاصل از تجزیه تری پلات، توده‌های مورد بررسی در سه گروه مستقل قرار گرفتند. گروه الف که تنها از توده آرکتند تشکیل شده بود در فاصله معنی داری از دو توده دیگر قرار گرفت. مهمترین ویژگی این گروه که آن را از سایر گروه‌ها متمایز می‌نمود درصد مونوترپن‌های



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۹ توده وحشی بومادران زرد براساس درصد اجزای اسانس با استفاده از روش Ward

تمامی نمونه‌های اسانس با افزایش درصد پارا-سیمن، آلفا-ترپین نیز به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین تنها همبستگی منفی و معنی دار بین نپتالاکتون‌ها و ۸،۱-سینئول به مقدار ۰/۸۹- دیده شد، یعنی در تمامی نمونه‌ها با افزایش نپتالاکتون به میزان معنی داری شاهد کاهش ۸،۱-سینئول و به عکس هستیم.

نتایج حاصل از تجزیه همبستگی برای پنج ترکیبی که بیشترین سهم را در بین بقیه اجزای اسانس به خود اختصاص داده بودند، نشان داد که بین بعضی از اجزا همبستگی معنی داری وجود داشت. به طوری که تنها همبستگی مثبت و معنی دار بین پارا-سیمن و آلفا-ترپین (۰/۹۶) در سطح ۱٪ وجود داشت، بدین معنی که در



شکل ۲- گروه‌بندی جمعیت‌های مختلف بومادران زرد مورد مطالعه براساس سه عامل اصلی

موجود در اسانس بومادران زرد بودند (Jaimand & Rezaee, 1995). در مطالعات دیگری که بر روی این گیاه انجام شده است، ۸،۱-سینثول، کامفور، کریزانتنون و پارا-سیمن به‌عنوان اجزای اصلی اسانس بومادران زرد معرفی شدند که تقریباً با نتایج مطالعه حاضر مشابه بود. گرچه بعضی ترکیب‌های دیگر مانند پیریتون، آسکاریدول و بورنتول نیز ترکیب‌های غالب در بعضی از گزارش‌های مربوط به اسانس این گیاه بودند، اما در نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه این ترکیب‌ها وجود نداشتند. این در حالیست که دو ترکیب از مشتقات نپتالاکتون که عمده ترکیب‌های مورد بررسی در اسانس‌های این مطالعه را تشکیل می‌دادند، به‌عنوان نخستین گزارش در این بررسی مشاهده شدند (Rahimmalek et al., 2009; Baris et al., 2006; Esmaili et al., 2006; Bader et al., 2003; Sokmen et al., 2004).

مقایسه نتایج بدست آمده از اسانس‌های مورد بررسی در این مطالعه، شباهت‌ها و تفاوت‌هایی را در ترکیب‌های آنها با گزارش‌های قبلی بر روی همین گیاه به وضوح نشان داد. در گزارشی که از اجزای اسانس این گیاه از منطقه ازبکستان داده شد مونوترپن‌های اکسیژن دار (۸۴٪) بیشترین مقدار ترکیب‌های شناسایی شده را به خود اختصاص دادند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (Kordali, 2009). در این مطالعه ۸،۱-سینثول و کامفور ترکیب‌های عمده تشکیل‌دهنده اسانس بودند. همچنین در گزارش مشابهی از اسانس بومادران زرد بومی ایران نیز مونوترپن‌ها (۷۰٪) بالاترین مقادیر اجزای اسانس این گیاه را تشکیل می‌دادند که از این نظر با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. در این مطالعه چهار ترکیب پیریتون، ۸،۱-سینثول، لیمونن و پارا-سیمن به‌عنوان اجزای اصلی اسانس این گیاه گزارش شدند که دو ترکیب ۸،۱-سینثول و پارا-سیمن در مطالعه حاضر نیز از ترکیب‌های اصلی

- Esmacili, A., Nematollahi, F., Rustaiyan, A., Moazami, N., Masoudi, S. and Bamasian, S., 2006. Volatile constituents of *Achillea pachycephala*, *A. oxydonta* and *A. biebersteinii* from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2): 2353-3256.
- Heywood, V.H., 2002. The Conservation of Genetic and Chemical Diversity in Medicinal and Aromatic Plants: 13-22. In: Sener, B. (Ed.). *Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 426p.
- Jaimand, K. and Rezaee, M.B., 1995. Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 5: 27-46.
- Kordali, S., Cakir, A., Akcin, T.A., Mete, E., Akcin, A., Aydin, T. and Kilic, H., 2009. Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Industrial Crops and Products*, 29: 562-570.
- Kupeli Akkol, E., Koca, U., Pesin, I. and Yilmazer, D., 2009. Evaluation of the Wound Healing Potential of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) by in vivo Excision and Incision Models. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 39: 1-7.
- Rahimmalek, M., Sayed Tabatabaei, B.E., Etemadi, N., Hossein Golid, S.A., Arzania, A. and Zeinalie, H., 2009. Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. *Industrial crops and products*, 29: 348-355.
- Rechinger, K.H., 1963. *Flora Iranica*. No. 158. Akademische Druke-U, Verlagsanstalt Wien Austria, 234p.
- Rustaiyan, A., Komeilizadeh, H., Shariatpanahi, M.S., Jassbi, A.R. and Masoudi, S., 1998. Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 10: 207-209.
- Sokmen, A., Sokmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Unlu, M. and Akpulat, H.A., 2004. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Phytotherapy Research*, 18(6): 451-456.

در پایان باید گفت، از آنجایی که اثرهای بیولوژیکی اسانس حاصل از مواد گیاهی بشدت تحت تأثیر ترکیب‌های تشکیل دهنده آنهاست (Heywood, 2002)، تنوع بالای ترکیب های اسانس بومادران زرد که در این مطالعه و مطالعات دیگر مشاهده شده است امکان گزینش توده‌هایی از این گیاه با فعالیت‌های بیولوژیکی خاص جهت کاربرد در صنایع دارویی و آرایشی- بهداشتی را امکان‌پذیرتر می‌سازد و اهمیت اقتصادی گیاه دارویی بومادران زرد را بیش از پیش آشکار می‌نماید.

منابع مورد استفاده

- Adams, R.P., 1995. Identification of Essential Oil Component by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA, 456p.
- Bader, A., Flamini, G., Cioni, P.L. and Morelli, I., 2003. Essential oil composition of *Achillea santolina* L. and *Achillea biebersteinii* Afan. collected in Jordan. *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 36-38.
- Baris, O., Gulluce, M., Sahin, F., Ozer, H., Kilic, H., Ozkan, H., Sokmen, M. and Ozbek, T., 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Turkish Journal of Biology*, 30: 65-73.
- Bourdot, G.W., 1980. A study of the growth and development of Yarrow (*Achillea millefolium* L.). Doctoral (PhD) Theses, Lincoln College, New Zealand.
- British Pharmacopoeia, 1993. HMSO, Unipub London, 1750p.
- Chevallier A., 1996. *The Encyclopedia of Medicinal Plants*. Dorling Kindersley Publishing Inc, London, 336p.
- Davies, N.W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography*, 503: 1-24.

A comparative study on chemical constituents of essential oils from different populations of *Achillea biebersteinii* Afan. growing wild in khorasan using multivariate statistical analyses

S.F. Mirahmadi^{1*}, M.R. Hasandokht², F. Sefidkon³ and M.E. Hassani⁴

1*- Corresponding author, MSc. student of Horticultural Sciences, College Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, E-mail: mirahmadif@ut.ac.ir

2- Horticultural department, College Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3- Medicinal Plants Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

4- Australian Technology Park, Faculty of Agriculture, Food and Natural Resources, University of Sydney, Australia

Received: July 2010

Revised: October 2010

Accepted: October 2010

Abstract

Achillea biebersteinii Afan. is a member of Asteraceae and occurs wild in different parts of the world including Europe, Turkey, Iran and central Asia. In addition to traditional medicine, the plant is also considered in modern medicine and different industries because of its essential oil characteristics. The present study was conducted to investigate the essential oil content and composition of nine populations of *A. biebersteinii* collected from different parts of Khorasan Province. For this purpose, after calculating essential oil content of each population with three independent experiments, chemical constituents of oils were identified by means of GC and GC-MS analyses. The results showed that Golool (1.62%) and Chelmir (1.60%) contained the highest amount of essential oil. Totally, 23 components were characterized in the essential oil of all populations with oxygenated monoterpenes (47.9-73.1%) as the principle fraction. While 1,8-cineole, nepetalactone, *p*-cymene, α -terpinene and *cis*-chrysanthenyl acetate were identified as the prevalent constituents of all investigated essential oils, lavandulyl 2-methyl butyrate and *cis*-chrysanthenol were the rarest ones. Due to the high content of essential oil and high levels of 1,8-cineole, nepetalactone derivatives and *p*-cymene which are well-known biologically active compounds, Golool and Azghad populations seem to be suitable for application in relevant industries.

Key words: *Achillea biebersteinii* Afan., essential oil, 1,8-cineole, nepetalactons, *p*-cymene.