

## ترکیبات شیمیایی و اثر ضدباکتریایی اسانس گیاه بومادران (*Achillea wilhelmsii* C. Koch) جمع‌آوری شده از شهرستان خوی

علی امین خانی

استادیار، گروه شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی، خوی، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۵/۱۲

### چکیده

در این تحقیق سرشاخه‌های هوایی و گلدار گیاه بومادران *Achillea wilhelmsii* در اوایل خردادماه از منطقه خوی جمع‌آوری و روغن اسانسی آن به روش تقطیر با آب با استفاده از طرح کلونجر و بازده ۰/۲۷ درصد استخراج گردید. جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS انجام گرفت. تعداد ۴۰ ترکیب در اسانس گیاه مورد مطالعه شناسایی گردید که به ترتیب کامفور (۳۲/۳ درصد)، او-۸-سینئول (۲۱/۱۲ درصد)، لینالول (۷/۲۱ درصد) و آلفا-پینن (۵/۲۵ درصد) از مهمترین ترکیبات موثره اسانس گیاه بودند. بخش عمده ترکیبات شناسایی شده را منوترین‌ها تشکیل می‌دادند. بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس گیاه علیه سه گونه از باکتری‌های گرم مثبت و منفی به روش حفر چاهک انجام گرفت. نتایج نشان داد که سه باکتری *Escherichia. coli* و *S. epidermidis*, *Shigella flexnery* و *S. saprophyticus* با قطر هاله‌های ۱۷-۲۸ میلی متر در برابر اسانس حساس بوده، در حالی که باکتری‌های *S. aureus* و *Salmonella typhi* با قطر هاله‌های ۱۱-۱۳ میلی متر از حساسیت حدواسطی برخوردار بودند.

واژگان کلیدی: بومادران، روغن اسانسی، او-۸-سینئول، فعالیت ضد باکتریایی، کامفور، لینالول

### مقدمه

می‌روید (مظفریان، ۱۳۷۵)، دارای ساقه تقریباً ضخیم، استوانه‌ای، کم و بیش ایستاده، مختصراً کرک پوش یا ظاهراً فاقد آن است. برگ‌ها تماماً دارای تقسیمات شانه‌ای، خطی، تقریباً استوانه‌ای، به طور مختصر گشوده، کرکدار، با تقسیمات همپوش یا فاصله‌دار می‌باشد. موسم گلدهی آن اردیبهشت و خرداد ماه است (قهرمان، ۱۳۶۸). بومادران از زمان‌های قدیم توسط ایرانیان به عنوان گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گرفت. این گیاه به علت

بومادران گیاهی است متعلق به تیره Asteraceae که در مناطق مختلف اروپا، نواحی معتدل آسیا (به خصوص کشور ایران) و نواحی شمالی آمریکا می‌روید. این جنس بیش از ۱۰۰ گونه زینتی و دارویی دارد که ۱۹ گونه از آن در ایران گزارش شده است. *Achillea wilhelmsii* که در نواحی البرز مرکزی (اطراف تهران)، نواحی مرکز و شرقی شمال غرب ایران و مخصوصاً اطراف خوی به وفور

بررسی تأثیر اسانس این گیاه بر روی برخی از باکتری‌های گرم مثبت (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*) و گرم منفی (*Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*) صورت گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### الف) جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و اسانس‌گیری

گیاه بومادران *Achillea wilhelmsii* در موسم گلدهی، از اطراف خوی جمع‌آوری و در هرباریوم موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع مورد شناسایی قرار گرفت. روغن اسانسی بومادران، از اندام‌های هوایی پس از خشک کردن گیاه بدست آمد. به این ترتیب که مقدار ۱۰۰ گرم پودر خشک گیاه به روش تقطیر با آب طرح کلونجر به مدت شش ساعت اسانس‌گیری به عمل آمد. پس از جدا کردن آب از اسانس توسط سدیم سولفات، وزن گردید، که بازده آن ۰/۲۷ درصد نسبت به وزن گیاه خشک محاسبه شد (صمصام شریعت، ۱۳۷۱).

##### ب) روش شناسایی ترکیبات

اجزای روغن اسانسی حاصل از گیاه مورد مورد مطالعه به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)، مورد شناسایی قرار گرفت. شناسایی ترکیب‌ها با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان بازداری، اندیس بازداری، کواتس، مطالعه کتابخانه‌ای و همچنین اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتر دستگاه GC/MS انجام گرفت. همچنین درصد نسبی اجزای تشکیل دهنده اسانس با محاسبه سطح زیر پیک منحنی کروماتوگرام مربوط به اجزای تشکیل دهنده اسانس محاسبه گردید (Adams, 1995).

##### ۱- مشخصات و برنامه حرارتی دستگاه GC/MS

دستگاه گاز کروماتوگراف HP-6890 کوپل شده با طیف سنج جرمی HP-5973 ستون HP-5MS (5% phenyl dimethyl siloxane) به طول ۲۹/۶ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت فیلم در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد. برنامه ریزی دمایی از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه

دارا بودن تانن، مواد تلخ و معطر، مقوی اعصاب و قلب می‌باشد، به طوری که در موارد درمانی مختلف مانند خستگی عمومی، ضعف و التهاب ماهیچه‌های قلبی و همچنین در بیماری‌های عصبی مانند ضعف اعصاب، هیستری، صرع و قولنج‌های تشنج‌آور مفید و مصرف می‌شده است (زرگری، ۱۳۷۱؛ امیدبیگی، ۱۳۸۴).

سرشاخه گلدار بومادران، در رفع گاستریت‌های حاد و مزمن، رفع نفخ و ترش کردن غذا، بند آوردن خون و علاج زخمهای توام با خونریزی، موثر است (زرگری، ۱۳۷۱؛ میرحیدر، ۱۳۷۳؛ DerMarderosian, 2001). به دلیل عدم سازگاری داروهای سنتزی با طبیعت انسان، ظهور عوارض جانبی نامطلوب و فراوانی گیاهان در ایران، توجه محققان به گیاهان و استفاده از مواد مؤثره آنها را بیش از پیش نمایان تر می‌کند تا بتوانند با مطالعه مواد موثر گیاهان و خواص آنها، در تولید خالص و استاندارد مواد دارویی استفاده کنند. ترکیبات موجود در سرشاخه‌های گلدار گیاه *Achillea wilhelmsii* جمع‌آوری شده از کرمان توسط Afsharypour و همکاران (۱۹۹۶) گزارش شده است. همچنین در سال ۱۳۸۲ آزادبخت و همکاران ترکیبات اسانسی برگ و گل گیاه *Achillea wilhelmsii* جمع‌آوری شده از نکا را مورد بررسی قرار دادند و حدود ۲۲ ترکیب را در آن شناسایی کردند. Javidnia و همکاران (۲۰۰۴) اسانس اندام‌های هوایی گیاه *Achillea wilhelmsii* جمع‌آوری شده از منطقه فارس را استخراج، و حدود ۵۷ ترکیب را در آن شناسایی کردند. در سال ۱۳۸۷ عزیزی و همکاران اجزای اسانس گیاه *Achillea wilhelmsii* جمع‌آوری شده از شیراز و مشهد را مورد بررسی قرار دادند، و حدود ۳۰ ترکیب را در گیاه جمع‌آوری شده از مشهد و ۳۲ ترکیب را در نمونه شیراز شناسایی کردند. به دلیل اهمیت زیاد این گونه گیاهی و فراوانی آن در طبیعت منطقه، همچنین استفاده زیاد مردم منطقه از گیاه، این تحقیق با هدف تعیین ترکیبات موجود در گیاه و مقایسه ترکیب مواد تشکیل دهنده اسانس گیاه در مناطق مختلف ایران و همچنین

بعد از قرار دادن در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری گردید. باکتری‌های مورد مطالعه شامل سه گونه از باکتری‌ها شامل *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis* و سه گونه از باکتری‌های گرم منفی *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* بودند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری MSTATC در قالب طرح کاملاً تصادفی برای سه تکرار انجام گرفت.

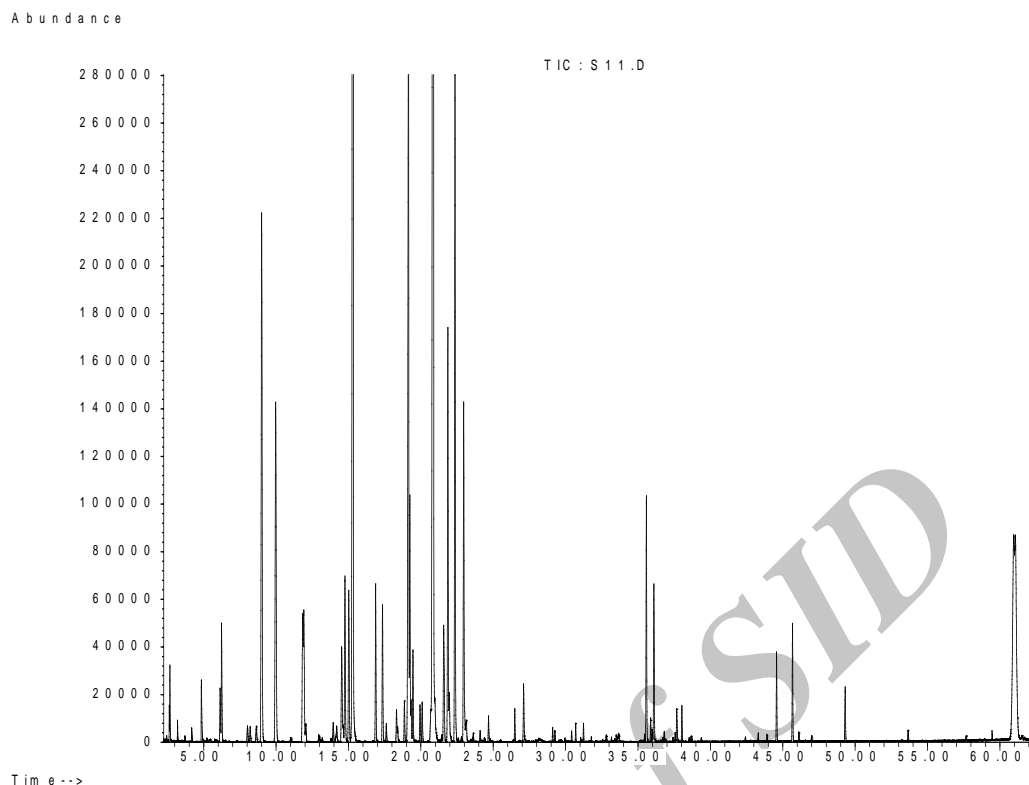
### نتایج

در این تحقیق تعداد ۴۰ ترکیب در اسانس بومادران با استفاده از کروماتوگرام GC شناسایی شد که ۹۷/۵۷ درصد ترکیبات موجود در اسانس گیاه را تشکیل می‌داد (شکل ۱). روغن اسانسی بدست آمده دارای رنگ زرد روشن، بویی تند و بازده آن ۰/۲۷ درصد نسبت به وزن گیاه خشک محاسبه گردید. ترکیبات عمده اسانس به ترتیب شامل کامفور (۳۲/۳ درصد)، او۱ - سینئول (۲۱/۱۲ درصد)، لینالول (۷/۲۱ درصد)، آلفا- پینن (۵/۲۵ درصد)، ترپینن-۴-ال (۵/۱ درصد)، کامفن (۳/۲۷ درصد)، بروئنول (۳/۵۳ درصد) بود، که در جدول ۱ همراه با زمان بازداری و اندیس کوآتس آنها گزارش شده است. نتایج تجزیه واریانس داده‌های تست میکروبی اثر اسانس گیاه مورد مطالعه در محیط رشد باکتری‌های مورد مطالعه در مقایسه با اثر آنتی بیوتیک استاندارد (جنتامایسین) برای مقایسه در جدول ۲ آورده شده است.

سانتیگراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه که به مدت ده دقیقه در دمای اولیه و ۵ دقیقه در دمای نهایی ثابت ماند. حلال مورد استفاده هگزان نرمال بود. دمای محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتیگراد بوده و گاز حامل هلیوم که سرعت جریان آن ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و زمان اسکن ۳۰ دقیقه بود.

### ج) تست میکروبی

بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس با استفاده از روش حفر چاهک بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار صورت گرفته است (Bauer et al., 1966). در ابتدا از باکتری‌های مورد بررسی سوسپانسیون تهیه شد. درون لوله‌های آزمایش با توجه به مقدار باکتری‌ها، محیط مولر هیتون برات ریخته و اتوکلاو شد. سپس با یک لوپ سترون از پتری دارای باکتری‌های مورد بررسی، مقداری باکتری برداشته و به لوله آزمایش دارای محیط مولر هیتون برات منتقل گردید تا سوسپانسیون تهیه شود و حدود ۲۴ ساعت لوله‌های آزمایش در گرمخانه با حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا باکتری‌ها رشد کنند. سپس کدورت لوله با کدورت شاهد مک فارلند سنجیده شد. پس از تهیه سوسپانسیون، در شرایط سترون در زیر لامینار فلو و کنار شعله، یک سواب سترون داخل لوله آزمایش محتوی سوسپانسیون باکتری تهیه گردید و مایع اضافی با فشار سواب از بالای سطح سوسپانسیون خارج شد، سپس سواب به طور یکنواخت بر تمام سطح محیط کشت مولر هیتون در سه جهت کشیده و کشت سفره‌ای تهیه گردید. بعد از حفر چاهک در محیط کشت ۵۰ میکرولیتر از اسانس گیاه مربوطه به داخل آن ریخته شد و



شکل ۱: کروماتوگرام GC مربوط به اسانس گیاه بومادران

جدول ۱: ترکیبات شناسایی شده در روغن اسانس گیاه بومادران (*Achillea wilhelmsii*)

ردیف	نام ترکیب	زمان بازداری	اندیس کوتس	درصد ترکیب
۱	ایزو پنتیل استات	۶/۱۳	۸۷۲	۰/۳۶۱
۲	۲-متیل بوتیل استات	۶/۲۳	۸۷۵	۰/۸۸۱
۳	ایزو بوتیل ایزوبوتیرات	۸/۰۳	۹۱۴	۰/۱۳۸
۴	تری سایکلن	۸/۲۲	۹۱۸	۰/۱۱۴
۵	آلفا-توجن	۸/۶۴	۹۲۴	۰/۱۲۴
۶	آلفا-پینن	۹/۰۱	۹۲۹	۵/۲۵
۷	کامفن	۹/۹۷	۹۴۳	۳/۷۲
۸	بنزالدهید	۱۱/۰۱	۹۵۹	۰/۱۱۴
۹	ساینن	۱۱/۸۳	۹۷۲	۱/۱۵۸
۱۰	بتا-پینن	۱۱/۹۳	۹۷۴	۱/۲۷
۱۱	ایزو پنتیل پروپانوات	۱۲/۰۵	۹۷۶	۰/۱۷
۱۲	ایزو بوتیل ۲-متیل بوتانوات	۱۳/۹۳	۱۰۰۵	۰/۱۶
۱۳	ایزو بوتیل ۳-متیل بوتانوات	۱۴/۱۹	۱۰۱۰	۰/۱۷۳
۱۴	آلفا-ترپینن	۱۴/۵۳	۱۱۱۶	۱/۰۸
۱۵	ایزو پنتیل ایزو بوتانوات	۱۴/۷۶	۱۰۲۰	۱/۳۹
۱۶	پارا-سایمن	۱۵/۰۲	۱۰۲۶	۱/۳۳
۱۷	۸-ا-سینئول	۱۵/۳۱	۱۰۳۱	۲۱/۱۲
۱۸	گاما-ترپینن	۱۶/۸۸	۱۰۶۱	۱/۱۸

۱/۰۶	۱۰۶۹	۱۷/۳۵	سیس ساینین هیدرات	۱۹
۰/۱۳۵	۱۰۷۴	۱۷/۶۱	سیس لینالول اکسید	۲۰
۰/۳۴	۱۰۸۸	۱۸/۳۱	تریپنولن	۲۱
۰/۱۴۱	۱۰۸۹	۱۸/۴۰	ترانس لینالول اکسید	۲۲
۰/۳۱	۱۰۹۸	۱۸/۸۶	ترانس ساینین هیدرات	۲۳
۷/۲۱	۱۱۰۳	۱۹/۱۵	لینالول	۲۴
۲	۱۱۰۶	۱۹/۲۴	۲-متیل بوتیل ۲-متیل بوتانوات	۲۵
۰/۶۴	۱۱۱۱	۱۹/۴۵	آمیل ایزو والرات	۲۶
۰/۲۸	۱۱۲۳	۱۹/۹۴	سیس پارامنت ۲-ان ۱-ال	۲۷
۰/۳	۱۱۲۶	۲۰/۰۹	آلفا- کامفالنال	۲۸
۳۲/۳	۱۱۴۳	۲۰/۸۵	کامفور	۲۹
۳/۵۳	۱۱۶۷	۲۱/۸۶	بورنئول	۳۰
۵/۱	۱۱۷۸	۲۲/۳۵	تریپن ۴-ال	۳۱
۲/۶	۱۱۹۲	۲۲/۹۶	آلفا- تریپنول	۳۲
۰/۲۷	۱۱۹۷	۲۳/۱۶	میرتنول	۳۳
۰/۰۷۲	۱۲۲۲	۲۴/۱۰	سیس کارونول	۳۴
۰/۲۲۶	۱۲۸۶	۲۶/۴۹	بورنیل استات	۳۵
۰/۴۷	۱۳۰۲	۲۷/۱۰	تیمول	۳۶
۰/۰۸۶	۱۳۶۱	۲۹/۱۰	اوزنول	۳۷
۰/۰۶۲	۱۳۹۹	۳۰/۴۰	سیس جاسمون	۳۸
۱/۶۲۳	۱۵۶۷	۳۵/۵۸	ترانس نریدول	۳۹
۱/۱۴	۱۵۸۵	۳۶/۱۰	کاریو فیلن اکسید	۴۰
جمع کل		۹۷/۵۷%		

جدول ۲: نتایج تست بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه بومادران (روش حفر چاهک)

نوع باکتری	جنتامایسین	* قطر هاله مهار رشد (میلی متر)
<i>S. aureus</i>	PTCC 1113	۱۰/۶۶۷±۱/۵۳
<i>S. epidermidis</i>	PTCC 1349	۲۷/۶۶۷±۲/۰۸
<i>S. saprothiticus</i>	PTCC 1379	۱۲/۳۳۳±۱/۱۵
<i>Salmonella typhi</i>	PTCC 1185	۱۲/۶۶۷±۱/۵۳
<i>Shigella flexnery</i>	PTCC 1234	۱۹/۳۳۳±۰/۵۸
<i>E. coli</i>	PTCC 1330	۱۶/۶۶۷±۱/۵۳

\* قطر هاله > ۸ ← مقاوم، ۸ ≤ قطر هاله ≤ ۱۲ ← نیمه حساس، ۱۲ > قطر هاله ← حساس (Nostro, 2000)

بحث

در این تحقیق ۹۷/۵۷ درصد از ترکیبات موجود در اسانس گیاه بومادران مورد شناسایی قرار گرفت. ترکیبات عمده اسانس به ترتیب شامل کامفور (۳۲/۳ درصد)، او-۸-سینئول (۲۱/۱۲ درصد)، لینالول (۷/۲۱ درصد)، آلفا-پینن (۵/۲۵ درصد)، ترپینن-۴-ال (۵/۱ درصد)، کامفن (۳/۷۲ درصد)، بورنئول (۳/۵۳ درصد) بودند، که مهمترین آنها منوترپن و بقیه سزکویی ترپنوئید بودند. در تحقیقی مشابه عمده ترکیبات شناسایی شده در سرشاخه‌های گلدار گیاه بومادران جمع آوری شده از کرمان شامل کامفور، بورنئول، لینالول، او-۸-سینئول، بودند، که میزان سزکویی ترپن‌های آن ۲۹ درصد گزارش شده بود (Afsharipour et al., 1996). همچنین عمده ترکیبات شناسایی شده در برگ و گل گیاه بومادران جمع آوری شده از نکا شامل کامفور (۲۴/۱ درصد)، او-۸-سینئول (۲۲/۳ درصد)، میرتنول (۱۱/۱ درصد)، بورنئول (۸/۵ درصد)، برای برگ، کامفور (۲۱/۲ درصد)، میرتنول (۱۴/۴ درصد)، میرتنیل استات (۸/۹ درصد)، یوموگی الکل (۸/۷ درصد) و بورنئول (۸/۲ درصد) بودند که سزکویی ترپن‌ها (۵/۳ درصد) ترکیبات را تشکیل می‌دادند (آزاد بخت و همکاران، ۱۳۸۲). عمده ترکیبات موجود در اسانس اندام‌های هوایی گیاه بومادران جمع آوری شده از منطقه فارس شامل کاواکول (۲۵/۱ درصد)، لینالول (۱۱ درصد)، او-۸-سینئول (۱۰/۳ درصد)، ترانس نرویلیدول (۹ درصد) و بورنئول (۶/۴ درصد) بود که ۷۳ درصد اسانس را منوترپن‌ها و ۱۳/۵ درصد آن را سزکویی ترپن‌ها تشکیل می‌دادند (Javidnia et al., 2004).

درصد و اجزای ترکیبات موجود در اسانس گیاه *Achillea wilhelmsii* جمع آوری شده از دو منطقه مشهد و شیراز با هم مقایسه شد. در توده مشهد با بازده اسانس ۰/۶۵ درصد، کامفور (۱۹/۰۶ درصد)، سمبرن (۱۰ درصد)، او-۸-سینئول (۸/۷۸ درصد)، آلفا-پینن (۸/۰۶ درصد) و لینالول (۷/۴۷ درصد) عمده‌ترین ترکیبات بودند، در حالی که برای توده شیراز با بازده اسانس ۰/۲

درصد عمده‌ترین ترکیبات ایزوپتیل ایزووالرات (۹/۴۶ درصد)، آلفا-پینن (۸/۷۵ درصد)، او-۸-سینئول (۸/۷ درصد)، او-۱۰-اپی-گاما-اودسمول (۵/۶۵ درصد) بودند (عزیزی و همکاران، ۱۳۸۷). روغن‌های اسانسی حاصل از *A. millefolium* که به صورت وحشی در شمال یونان می‌روید، استخراج شد و بوسیله GC/MS تجزیه و شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبات منوترپن و سزکویی ترپن آن آسکاریدول (۴۲/۷ درصد) و او-۸-سینئول (۱۰/۵ درصد)، پاراسیمین (۷/۴ درصد)، آلفا-ترپینن (۷ درصد) بودند (Chatzopoulou and Katsiotis, 1992).

اجزای فرار گیاه *A. Crithmifolia* استخراج و شناسایی آن بوسیله GC/MS انجام گرفت، که عمده‌ترین ترکیبات آن شامل آلفا-ترپینئول (۲۵ درصد) و کامفور (۱۹/۸۹ درصد) بودند (Tzakou et al., 1993). در سال ۱۹۹۶ روغن‌های اسانسی گیاه *A. millefolium* L. ssp. مورد بررسی و مواد متشکله آنها توسط کروماتوگرافی گازی شناسایی گردید که در آن درصد منوترپن‌ها ۷۱/۶ درصد بود، که سیس-کارونول (۵ درصد) و ترانس کارونول (۳/۷ درصد) و سیس ساینول (۲/۵ درصد) بود (Afsharypour and Asgari, 1996).

روغن‌های اسانسی حاصل از سه گونه *A. talagonica*، *A. biebersteinii* و *A. Vermicularis* در دانشکده داروسازی دانشگاه تهران مورد بررسی قرار گرفت. عمده ترکیبات موجود در اسانس این سه گونه که با استفاده از GC/MS شناسایی شد، آسکاریدول (۳۷ درصد)، پی‌پریتون (۱۷ درصد) و کامفور (۱۲ درصد) بود (Rustaiyan and Komeilizadeh, 1998). در سال ۱۹۹۸ روغن اسانسی گیاه *A. chrysocoma* بوسیله تقطیر با آب و راندمان ۰/۲۷ درصد استخراج و شناسایی ترکیبات بوسیله GC/MS انجام گرفت. حدود ۴۸ ترکیب از ۷۹ پیک مشاهده شده شناسایی شدند که او-۸-سینئول (۱۷ درصد) مهمترین ترکیب اسانس مربوطه گزارش گردید (Slavoljub et al., 1998).

درصد) و او۸- سینئول (۱/۸ و ۱۳/۵ درصد) بود (Esmaili et al., 2006). بورئول، بورئیل استات، کامفور، آلفا و بتا- توجون و او۸- سینئول عمده‌ترین ترکیبات موجود در روغن اسانسی *A. umbellata* و *A. lingulata* بودند (Kundakovic et al., 2007). در مورد تست میکروبی با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به اسانس گیاه مورد مطالعه به ترتیب *Staphylococcus epidermidis* با قطر هاله ۲۸ میلی متر، *Shigella flexnery* (۱۹ میلی متر)، *Escherichia coli* (۱۷ میلی متر) بودند، در حالی که سه باکتری *Staphylococcus aureus* با قطر هاله ۱۱ میلی متر، *Staphylococcus saprophiticus* (۱۲ میلی متر)، *Salmonella typhi* (۱۳ میلی متر) نسبت به اسانس گیاه دارای حساسیت حد واسطی بودند.

تحقیقات خوبی روی خواص ضدباکتریایی برخی از گونه‌های بومادران انجام گرفته است که به برخی از آنها اشاره می‌گردد. مهمترین ترکیبات استخراج شده از گیاه *A. holosericea*، کامفور (۲۰/۹۳ درصد)، بورئول (۱۶/۲۶ درصد)، گیاه *A. taygetea* او۸- سینئول (۲۶/۶۳ درصد)، کامفور (۲۵/۷۱ درصد) و گیاه *A. frasi* کامفور (۱۶/۳ درصد)، او۸- سینئول (۱۱/۹۴ درصد) بودند. تست میکروبی اسانس گیاهان مذکور بر روی ۶ گونه باکتری (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*) به روش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) انجام گرفت. نتایج نشان داد که اسانس گیاه *A. holosericea* کاملاً بی‌اثر بود. ولی اسانس دو گونه دیگر تاثیر متوسطی از خود نشان دادند. اسانس گیاهان مذکور برخلاف معمول روی باکتری‌های گرم منفی موثرتر از باکتری‌های گرم مثبت بود (Magiatis et al., 2002).

روغن‌های اسانسی اندام‌های هوایی گیاه *A. teretifolia* و *A. setacea* استخراج و شناسایی شد. او۸- سینئول با ۱۸/۵ درصد، ساینین با ۱۰/۸ درصد عمده‌ترین ترکیبات

ترکیب روغن‌های اسانسی حاصل از گیاه *A. tenuifolia* جمع‌آوری شده از ایران که از قسمت‌های هوایی گیاه استخراج شده و راندمان آن ۰/۲۳ درصد بود، با دستگاه GC/MS مورد شناسایی قرار گرفت. تعداد ۴۸ ترکیب شناسایی شد که ۸۸ درصد از کل اسانس استخراجی بود. ترکیبات عمده آن کامفور (۱۸ درصد)، او۸- سینئول و لیمونن (۹ درصد)، اسپاتولونول (۷ درصد) بود (Rustaiyan and Majob, 1999). ترکیبات موجود در اسانس حاصل از دو نمونه *A. phrygia* Bdiss. et Ball که بومی کشور ترکیه می‌باشد، بوسیله تقطیر با آب جداسازی و بوسیله GC/MS شناسایی شد. در یکی از نمونه‌ها ۹۲ ترکیب (۹۹/۲ درصد از کل اسانس) و در نمونه دوم ۸۸ ترکیب (۹۳/۵ درصد از کل اسانس) شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبات در دو نمونه، سیس- پی پریئول (۳۱/۲ و ۱۱/۲ درصد)، ترانس- پارا- منت- ۲- ان- ۱- ال (۱۴/۷ و ۱۱ درصد) سیس- پارا- منت- ۲- ان- ۱- ال (۷/۲-۹/۹ درصد) و او۸- سینئول (۹/۱-۹/۹ درصد) بود (Baser et al., 2000). عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس گیاه *A. tenuifolia* کامفور (۲۲ درصد)، بورئول (۶/۴ درصد) بودند (Aghajani et al., 2000). در تحقیق دیگر که توسط Stojanovic و همکاران (۲۰۰۴) انجام گرفت، ترکیبات موجود در اسانس گونه‌های *A. holosericea* و *A. cleavennae* به وسیله GC/MS مورد تجزیه قرار گرفت. عمده ترکیبات در گونه *A. cleavennae* شامل کامفور (۴۱/۸ درصد)، او۸- سینئول (۲۲/۵ درصد) بود، در حالی که ترکیبات عمده در اسانس گونه *A. holosericea* شامل بورئول (۳۰/۲ درصد) و کامفور (۱۴/۸ درصد) بود. روغن‌های اسانسی گیاه *A. conferta* جمع‌آوری شده از طالقان بوسیله تقطیر با آب استخراج شد. حدود ۴۸ ترکیب در آن شناسایی شد که کامفور با ۲۲/۱ درصد و او۸- سینئول با ۱۰ درصد عمده‌ترین ترکیبات آن بودند (Saeidnia et al., 2005).

اسانس ساقه و برگ گیاه *A. biebersteinii*، به ترتیب کامفور (۳۸/۱ و ۳۳/۷ درصد)، بورئول (۲۲/۶ و ۲۰/۸

گرم مثبت (*Enterococcus faecalis*) با روش انتشار دیسک انجام گرفت. *Escherichia coli* نسبت به اسانس غیرحساس بود، ولی سایر باکتری‌ها نیمه حساس بودند. ترکیبات روغن‌های اسانسی گل، برگ و ساقه گیاه *A. tenuifolia* جمع آوری شده از خلخال و خواص ضدباکتری آن روی ۴ نوع باکتری *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* مورد بررسی قرار گرفت. عمده ترکیبات آن برای گل لیمون (۲۳/۲ درصد)، آلفا-کادینول (۱۸/۲ درصد)، ساقه لیمون (۲۳/۶ درصد)، آلفا-پینن (۱۳/۴ درصد) و برگ لیمون (۲۵/۲ درصد) و آلفا-پینن (۱۴/۴ درصد) بود. اسانس هر سه قسمت گیاه روی باکتری *Pseudomonas aeruginosa* بی اثر بود. ولی سه باکتری دیگر نسبت به اسانس گل، برگ و ساقه حساسیت حدواسط داشتند (Shafaghat, 2009). دانشمندان نشان داده اند که اجزای فنولی اسانس، کامفور (Mario et al., 1998)، او-۸-سینئول (Carson and Riley, 1995) و لینالول (Ross, 1980)، خواص ضدباکتریایی قوی نشان می‌دهند و اینکه اغلب آنتی بیوتیک‌ها در مقابل باکتری‌های گرم منفی کمتر یا غیرفعال می‌باشند (Outtara et al., 1997; Mangena and Muyima, 1999)، در حالی که اسانس گیاهان معدودی در مقابل همه باکتری‌های انتخاب شده فعالیت خوبی از خود نشان می‌دهند و مانع از رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌گردد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

آنچه که از نتایج این تحقیق و تحقیقات سایرین مشاهده می‌شود، این است که در اسانس گیاه جمع آوری شده از مناطق مختلف رویشگاهی، ترکیبات کامفور، او-۸-سینئول، لینالول به عنوان مهمترین ترکیبات مشابه در همه گیاهان گزارش شده است و تفاوت در ترکیبات عمده و سایر ترکیبات، همچنین درصد منوترپن و سزکوئی ترپن‌ها ناشی از اختلاف شرایط اقلیمی مناطق مختلف و از همه مهمتر زمان‌های متفاوت جمع‌آوری گیاه در مراحل مختلف رشد و نمو می باشد. بنابراین شرایط متفاوت

*A. setacea* بودند و او-۸-سینئول با ۱۹/۹ درصد، بورنئول با ۱۱/۹ درصد و کامفور با ۱۱/۱ درصد عمده‌ترین ترکیبات *A. teretifolia* بودند. خواص ضدباکتری اسانس دو گونه مورد نظر با دو روش انتشار دیسک (DD) و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) بر روی ۱۴ باکتری انجام گرفت. نتایج نشان داد که اکثر باکتری‌ها نسبت به اسانس نیمه حساس یا غیر حساس بودند، تنها *Clostridium perfringens* نسبت به اسانس هر دو گونه حساس بود (Unlu et al., 2002). در تحقیق دیگر روغن اسانسی گونه *A. clavennae* مورد بررسی قرار گرفت که مهمترین مواد موثره آن شامل کامفور (۲۹/۵ درصد)، میرسن (۵/۵ درصد) و او-۸-سینئول (۵/۳ درصد) بودند. خواص ضد باکتری اسانس آن نیز با روش انتشار دیسک علیه ۴ باکتری گرم مثبت و ۴ باکتری گرم منفی انجام گرفت. و نتایج آن نشان داد که حساسیت باکتری‌های گرم منفی نسبت به اسانس، بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت بود (باکتری‌های گرم مثبت نیمه حساس بودند) (Bezic et al., 1984). او-۸-سینئول (۲۴/۶ درصد)، کامفور (۱۶/۷ درصد) و آلفا-ترینئول (۱۰/۲ درصد) مهمترین ترکیبات استخراج شده از گیاه *A. millefolium* بود، که خواص ضد میکروبی اسانس گیاه مذکور علیه باکتری‌های *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter lwoffii*, *Clostridium perfringens* و *Mycobacterium smegmatis* با روش انتشار دیسک و کمترین غلظت مهارکنندگی رشد انجام شد، که اسانس گیاه فعالیت کم ضدباکتریایی از خود نشان داد (Candan et al., 2003). روغن‌های اسانسی و خاصیت ضد باکتری گیاه *A. clypeolata* مورد بررسی قرار گرفت (Simic et al., 2005). عمده ترکیبات آن، ای-گاما- بیسابولون (۱۷/۹ درصد)، او-۸-سینئول (۱۶ درصد)، بورنئول (۱۱/۹ درصد) و کاریوفیلن اکسید (۱۱/۵ درصد) بودند. بررسی خاصیت ضدباکتریایی گیاه مذکور روی سه باکتری گرم منفی (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) و یک باکتری



صمصام شریعت، س. (۱۳۷۱). عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی، صفحه ۵۴-۱۴.

عزیزی، م.، غنی، ع.، حسن زاده خیاط، م. و پهلوان‌پور فرد جهرمی، ا.ا. (۱۳۸۷). مقایسه اجزای اسانس دو توده وحشی بومادران (*Achillea wilhelmsii*). علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال دوازدهم. شماره چهل و پنجم (ب). صفحات ۵۹۰-۵۸۱.

قهرمان، ا. (۱۳۶۸). فلور رنگی ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. جلد ۱۱. شماره ۱۲۵۸.

مظفریان، و. (۱۳۷۵). فرهنگ نام‌های گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر. تهران. صفحه ۱۲.

میرحیدر، ح. (۱۳۷۳). معارف گیاهی. دفتر نشر فرهنگ اسلامی. تهران. جلد پنجم، صفحه ۵۳۷.

Adams, R.P. (1995). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corp. Carol Stream, IL.

Afsharypour, S., Asgary, S. and Lockwood, G.B. (1996). Constituents of the essential oil of *Achillea wilhelmsii* from Iran. *Planta Medica*. 62: 77-78.

Afsharypour, S. and Asgary, S. (1996). Volatile constituents of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium* from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*. 11: 265-267.

Baser, K.H.C., Demirci, B., Kaiser, R. and Duman, H. (2000). Composition of the Essential Oil of *Achillea phrygia* Boiss. et Ball. *Journal of Essential Oil Research*. 12: 327-329.

Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Truck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45: 493-496.

Bezic, N., Skocibusic, M., Dunkic, V. and Radonic, A. (2003). Composition and Antimicrobial Activity of *Achillea clavennae* L. Essential Oil. *Phytotherapy Research*. 17: 1037-1040.

اکولوژیک بر کمیت و کیفیت مواد مؤثر اسانس تاثیرگذار بوده که در نتایج این تحقیق و دیگران قابل مشاهده است. نتایج تست میکروبی نیز از این جهت می‌تواند جالب باشد که اسانس گیاه مورد مطالعه در مقابل همه باکتری‌های انتخاب شده فعالیت خوبی از خود نشان می‌دهد و مانع از رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌گردد. احتمالاً اجزای فعال اسانس با بیشترین درصد (کامفور، ۸۱-۸۰- سینئول) مسئول بوی خوش، تند و فعالیت مناسب ضد میکروبی اسانس گیاه مورد مطالعه می‌باشند، که می‌توان با مطالعه خواص ترکیبات با درصد بالای اسانس آن را به خواص قابل توجه درمانی آن نسبت داد. همچنین با توجه به بحث‌های بالا می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ترکیبی از مواد موجود در اسانس با درصدهای متفاوت مؤثرتر از یک یا دو ماده موجود در اسانس به عنوان فراوان ترین ماده در اسانس برای فعالیت ضد باکتریایی می‌تواند باشد. با توجه به فراوانی عظیم و تنوع زیاد گونه‌های گیاهی در کشورمان، توجه به استفاده از آنها را به جای داروهای سنتزی، چه در درمان و چه در پیشگیری از بیماری‌ها بیش از پیش آشکار می‌کند. همچنین می‌توان به عنوان یک صنعت مهم و صادراتی می‌توان به توسعه و کشت این گیاهان اقدام و داروهای گیاهی عاری از عوارض جانبی تولید نمود.

#### منابع

آزادبخت، م. مرتضی سمنانی، ک. و خوانساری، ن.

(۱۳۸۲). بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس برک و گل

گیاه *Achillea wilhelmsii* C. Koch. فصلنامه گیاهان

دارویی. شماره ششم. صفحات ۵۸-۵۵.

امیدبیگی، ر. (۱۳۸۴). تولید و فرآوری گیاهان دارویی.

انتشارات آستان قدس رضوی. مشهد. جلد دوم. صفحه

۴۳۸

زرگری، ع. (۱۳۷۱). گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه

تهران. جلد سوم. صفحه ۱۱۶.

- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, H.A.A. and Akpulat, S. (2003).** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 87: 215–220.
- Carson, C.F. and Riley, T.V. (1995).** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil *Melaleuca arternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78: 264–269.
- Chatzopoulou, P. and Katsiotis, S. (1992).** An ascaridole containing essential oil of *Achillea millefolium* L. complex wild in northern Greece. *Journal of Essential Oil Research*. 4(5): 457-9.
- Der Marderosian, A. (2001).** The review of natural products. Missouri: Facts and Comparison press. pp. 636-637.
- Esmacili, A., Nematollahi, F., Rustaiyan, A., Moazami, N., Masoudi S. and Bamasian, S. (2006).** Volatile constituents of *Achillea pachycephala*, *A. oxyodonta* and *A. biebersteinii* from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*. 21(2): 253–256.
- Javidnia, K., Miri, R. and Sadeghpour, H. (2004).** Composition of the volatile oil of *Achillea wilhelmsii* C. Koch from Iran. *DARU*. 12(2): 63 - 66.
- Kundakovic, T., Fokialakis, N., Kovacevic, N. and Chinou, I. (2007).** Essential oil composition of *Achillea lingulata* and *A. umbellata*. *Flavour and Fragrance Journal*. 22(3): 184 – 187.
- Magiatis, P., Skaltsounis, A.L., Chinou, I. and Haroutounian, S.A. (2002).** Chemical Composition and *in-vitro* Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Three Greek *Achillea* Species Z. *Zeitschrift für Naturforschung*. 57: 287-290.
- Mangena, T. and Muyima, N.Y.O. (1999).** Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*. 28: 291-296.
- Mario, D.I.M., Alessandra, T.P., Antonio, F. and Carmela, C. (1998).** In vivo activity of *Salvia officinalis* oil against *Botrytis cinerea*. *Journal of Essential Oil Research*. 10: 157–160.
- Onawunmi, G.O., Yisak, W.A. and Ogunlana, E.O. (1984).** Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citrates* (DC.) Stapf. *Journal of Ethnopharmacology*. 12: 279–286.
- Outtara B., Simard, R.E., Holley R.A., Piettt G.J. and Begin, A. (1997).** Antimicrobial activity of selected fatty acids and essential oils against six meatspoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*. 37: 155-162.
- Ross, S.A., El-Keltawi, N.E. and Megalla, S.E. (1980).** Antimicrobial activity of some Egyptian aromatic plants. *Fitoterapia*. 51: 201–205.
- Rustaiyan, A. and Komeilizadeh, H. (1998).** Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 10: 207-209.
- Rustaiyan, A. and Mojab, F. (1999).** The Composition of The Essential Oil of *Achillea tenuifolia* Lam. From IRAN. *Iranian Journal of chemistry and chemical Engineering*. 18 (2): 108-110.
- Saeidnia, S., Gohrri, A.R., Yassa, N. and Shafiee, A.C. (2005).** Composition of the volatile oil of *Achillea conferta* DC. From Iran. *DARU*. 13(1): 134-136.
- Shafaghat, A. (2009)** Composition and antibacterial activity of the volatile oils from different parts of *Achillea tenuifolia* Lam. from Iran. *Journal of Medicinal Plants*. 8(31): 93-98.
- Simic, N., Palic, R. and Randjelovic, V. (2005).** Composition and antibacterial activity of *Achillea clypeolata* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 20: 127–130.
- Slavoljub, R., Mihallo, S. and Nebojsa, R. (1998).** The Essential oil of *Achillea chrysocoma*. *Journal of Essential Oil Research*. 10: 329-332.
- Stojanovic, G., Asakawa, Y., Palic, R. and Radulovic, N. (2004).** Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* and *Achillea holosericea* essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 20 (1): 86 – 8.
- Tzakou, O., Loukis, A. and Argyriadou, N. (1993).** Volatile constituents of *Achillea crithmifolia* flowers from Greece N. *Journal of Essential Oil Research*. 5(3): 345-346.
- Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe. B. and Sokmen, A. (2002).** Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*. 83: 117-121.