دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2019.122699.2361
جلد ۳۵، شماره ۱، صفحه ۱۱-۱ (۱۳۹۸) شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1398.35.1.93.1.1576.32

بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس بومادران البرزی (*Achillea millefolium* L. subsp. *elbursensis*) از رویشگاه و مزرعه

فاطمه عسکری[1*]، مهدی میرزا[2]، مصطفی گلی‌پور[3] و سمیه فکری قمی[4]

۱- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
پست الکترونیک: fasgari@rifr-ac.ir؛ Fatemeh_askari2002@yahoo.com
۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- کارشناس، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۷ تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۷

چکیده

جنس بومادران (*Achillea*) در ایران ۱۹ گونه گیاه علفی، چندساله و بیشتر معطر دارد. این جنس از خانواده کاسنی دارای خصوصیات گیاهی پیچیده‌ای است. کامازولن ترکیب عمده موجود در اسانس گل و برگ *Achillea millefolium* L. subsp. *elbursensis* گزارش شده که در صنایع غذایی، آرایشی-بهداشتی و دارویی کاربرد دارد. با توجه به اینکه این زیرگونه انحصاری ایران است و در مورد کشت این گونه هیچ تحقیقی انجام نشده است، مطالعه مقدماتی در مورد نحوه کشت و تأثیر آن بر روی مواد مؤثره انجام شد. بدین‌منظور، بذر گیاه بومادران البرزی در مهرماه ۱۳۹۵ از تنها رویشگاه آن در دیزین جمع‌آوری شد. در ابتدای اسفندماه در گلخانه کشت گردید و اواسط فروردین ۱۳۹۶ گیاهچه‌ها به مزرعه منتقل شدند. در مردادماه بوته‌ها گل داده و اندام هوایی برای استخراج اسانس در دو سال متوالی جمع‌آوری شدند. برای مقایسه با نمونه‌های طبیعی، اندام هوایی بومادران در مردادماه ۱۳۹۶ در مرحله گلدهی از دیزین جمع‌آوری شد. اندام‌های گیاه شامل برگ و گل‌آذین در آزمایشگاه خشک و به‌وسیله آسیاب پودر شدند. روغن‌های اسانسی به روش تقطیر با آب بدست آمد و توسط GC-FID و GC/MS مورد تجزیه قرارگرفتند. بازده (وزنی/وزنی) اسانس آبی‌رنگ برگ و گل‌آذین بومادران رویشگاه به‌ترتیب ۰/۱۱٪ و ۰/۵۳٪ و بومادران کشت شده به همان ترتیب در سال ۱۳۹۶ برابر ۰/۲۸٪ و ۰/۵۰٪ و در سال ۱۳۹۷ برابر ۰/۲۶٪ و ۱/۳۰٪ بود. کامازولن به‌عنوان بیشترین درصد ترکیب اسانس برگ و گل‌آذین بومادران رویشگاه به‌ترتیب ۵/۷٪ و ۵۲/۵٪ بود. مقدار آن به همان ترتیب در نمونه‌های بومادران کشت شده سال اول ۵۰/۶٪ و ۶۷/۱٪ و در سال دوم ۵۹/۶٪ و ۷۱/۳٪ بود. کاریوفیلن الکل، کاریوفیلن اکساید، کامفور، بورنئول و بتا-اودسمول دیگر ترکیب‌های شاخص بودند. کامازولن یک ترکیب مهم و اساسی در این گونه است که در تمام اندام هوایی نمونه کشت شده وجود داشت، در حالی که فقط در گل‌آذین نمونه رویشگاه یافت شد.

واژه‌های کلیدی: *Achillea millefolium* L.، اسانس، ترکیب‌های شیمیایی، کامازولن، کشت.

مقدمه

خانواده Asteraceae تعداد زیادی گیاه گلدار را تشکیل می‌دهد که در حدود ۶۰۰ جنس شامل بیش از ۲۳۰۰۰ گونه است. یکی از جنس‌های شناخته شده این خانواده، *Achillea* L. است. جنس بومادران در ایران ۱۹ گونه گیاه علفی، چندساله و بیشتر معطر دارد. این جنس از خانواده کاسنی دارای خصوصیات گیاهی پیچیده‌ای است. از بومادران در طب سنتی استفاده می‌کنند و به مقدار بسیار زیادی در عطاری‌ها به نام سر زردو به فروش می‌رسد (Mozaffarian, 1996).

گونه‌های *Achillea* برای استفاده در مواد شیمیایی، دارویی و داروهای سنتی و محلی بسیار مهم هستند. آنها به‌عنوان درمان مؤثر تونیک، آرام‌بخش، دیورتیک و سرماخوردگی توصیه شده‌اند و به‌طور گسترده برای درمان بیماری‌های معده، دستگاه گوارش، هموروئید، التهاب، تب و ترمیم زخم تجویز شده‌اند (Mohammadhosseinia *et al*., 2017).

از جنس *Achillea*، ۱۱۵ گونه در نیمکره شمالی گزارش شده است. در ترکیه، ۴۸ گونه و در مجموع ۵۴ تاکسا ثبت شده است که ۲۴ گونه بومی ترکیه هستند. تاکنون، ۳۱ تاکسای وحشی از *Achillea* در ترکیه مورد مطالعه قرار گرفته است. در اسانس بیشتر آنها، کامفور و ۸،۱–سینئول به‌عنوان مواد اصلی شناسایی شده است. ترکیب‌های اسانس ۳۱ گونه توسط Baser (۲۰۱۶) بررسی شده است که نام گونه‌ها و مقدار بازده اسانس آنها، که بین کمتر از ۰/۱٪ تا حداکثر ۱/۲٪ متغیر بود، در ذیل ارائه می‌شود.

A. aleppica subsp. *aleppica* (۰/۲–۰/۶٪)، *A. biebersteinii* (۰/۲–۱/۲٪)، *A. biserrata* (۰/۰۷٪)، *A. coarctata* (۰/۹٪)، *A. cretica* (<۰/۱٪)، *A. cucullata* (۰/۴٪)، *A. falcate* (۰/۳–۰/۸٪)، *A. filipendulina* (۰/۸٪)، *A. formosa* subsp. *amanica* (<۰/۱٪)، *A. goniocephala* (۰/۴)، *A. gypsicola* (۰/۶۵)، *A. hamzaoglui* (۰/۰۷)، *A. ketenoglui* (۰/۱)، *A. kotschyi* subsp. *kotschyi* (<۰/۰۱)، *A. lycaonica* (۰/۹)، *A. magnifica* (۰/۵–۰/۹)، *A. millefolium* subsp. *millefolium* (۰/۶)، *A. multifidi* (۱/۰۶)، *A. nobilis* subsp. *neilreichii* (۰/۳)، *A. oligocephala* (۱/۰)، *A. phrygia* (۰/۷)، *A. pseudoaleppica* (۱/۲)، *A. salicifolia* subsp. *salicifolia* (۰/۰۸)، *A. schischkinii* (۰/۳)، *A. setacea* (۰/۰۱)، *A. sieheana* (۰/۳–۱/۲)، *A. sintenisii* (۰/۶)، *A. tenuifolia* (۰/۲–۰/۶)، *A. teretifolia* (۰/۵–۰/۶)، *A. vermicularis* (۰/۳) و *A. wilhelmsii* (۰/۳).

چندین جمعیت از گونه‌های مختلف *Achillea* از مناطق مختلف مجارستان بررسی شد. ترکیب‌های شیمیایی ۲۲۰ جمعیت با دستگاه GC/MS شناسایی شد. ترکیب اصلی اسانس گونه‌های *A. asplenifoliu*، *A. setacea* و *A. collina* کامازولن بود. ترکیب شاخص گونه *A. setacea* فارنسن بود. در گونه‌های *A. distans*، *A. crithmifolia*، *A. nobilis*، *A. pannonica* و *A. ochroleuca* ترکیب‌های شاخص متنوع و غیر از کامازولن بود (Hethelyi *et al*., 1989). این گونه‌ها به‌عنوان گیاهان دارویی و معطر استفاده می‌شوند (Twaij, 1983).

در اسانس گیاه *A. millefolium*، (با بازده خشک ۰/۷٪)، ترکیب‌های شاخص سابینن (۱۷/۶٪)، ۸،۱–سینئول (۱۳٪)، بورنئول (۱۲/۴٪)، بورنیل استات (۸/۰٪)، آلفا–پینن (۶/۳٪)، بتا–پینن (۶/۳٪)، ترپینن۴–اُل (۶/۲٪) و کامازولن (۵/۳٪) گزارش شدند (Nadim *et al*., 2011).

Jaimand و همکاران (۲۰۰۶) اسانس گونه *A. mellifolium* L. subsp. *elbursensis* را با دو روش استخراج کردند. در روش تقطیر با آب بازده اسانس در گل‌آذین ۰/۵٪ و در برگ ۰/۱٪ و با روش تقطیر با بخار آب در گل‌آذین ۰/۲٪ و در برگ ۰/۱٪ بدست آمد. ترکیب‌های عمده در روش تقطیر با آب، در گل‌آذین عبارت از کامازولن (۵۴٪)، کامفور (۸٪) و ایزوبورنئول (۷/۶٪) و در اسانس برگ، کامازولن (۳۵٪)، ایزوبورنئول (۱۸/۲٪) و پارا–سیمن (۱۴/۸٪) و با روش تقطیر با بخار آب ترکیب‌های عمده گل‌آذین عبارت از کامازولن (۷۸/۴٪) و

لانگیفولن (۷/۶٪) و در اسانس برگ کامازولن (۸۲/۵٪) و جرماکرن بی (۳/۶٪) بودند.

کامازولن در صنایع عطرسازی و آرایشی-بهداشتی کاربرد دارد (Jaimand *et al*., 2006). این ترکیب جزء اصلی اسانس بابونه نیز است ولی فقط در گل وجود دارد. در گونه مورد نظر این ترکیب در تمام اندام‌های گیاه وجود دارد.

در اسانس *A. millefolium* که در استونی و اروپا کشت می‌شد تنوع در بازده و ترکیب بسیاری وجود داشت. بازده اسانس ۹/۵-۰/۹ میلی‌لیتر در هر کیلوگرم گزارش شد. در مجموع ۱۰۲ ترکیب شناسایی شد. بیشترین ترکیب‌ها عبارت از: سابینن، بتا-پینن، ۸،۱-سینئول، آرتمیزیاکتون، لینالول، آلفا-توجون، بتا-توجون، کامفور، بورنئول، فنچیل استات، بورنیل‌استات، ترانس-بتا-کاریوفیلن، جرماکرن‌دی، کاریوفیلن اکساید، بتا-بیزابولول، سیگما-کادینول و کامازولن بودند. اسانس نمونه‌های جمع‌آوری شده از استونی، مجارستان، یونان، مولداوی، لاتویا، لتوانی و آلمان حاوی مقادیر زیادی ترکیب‌های مونوترپن و کامازولن بودند؛ در حالی که اسانس نمونه‌های جمع‌آوری شده از فرانسه، بلژیک، روسیه، ارمنستان، اسپانیا و ایتالیا از نظر ترکیب‌های مونوترپن‌های اکسیژن‌دار غنی بودند و مقدار کمی کامازولن داشتند. محصولات دارویی کشورهای یونان، استونی، مولداوی و اسکاتلند از نظر ترکیب‌های سزکویی‌ترپن غنی بودند (Orav *et al*., 2006).

ترکیب‌های شیمیایی اسانس گل و برگ *A. millefolium* L. ssp. *millefolium* به‌وسیله دستگاه‌های GC و GC/MS مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفت. در مرحله گلدهی ترکیب‌های غالب هر دو اندام حاوی مونوترپن (در حدود ۸۰٪) بودند. ۸،۱-سینئول در اسانس گل ۲۹٪ و در اسانس برگ ۲۵٪ وجود داشت. ترانس-سابینن هیدرات به‌عنوان دومین ترکیب مهم در گل ۱۵٪ و در برگ ۱۰٪ بود. جرماکرن‌دی در اسانس گل ۰/۷٪ و در اسانس برگ ۷٪ وجود داشت. در مرحله رویشی در اسانس برگ‌ها، مونوترپن‌ها کمتر از ۳٪ و سزکویی‌ترپن‌ها ۹۲٪ بودند و جرماکرن‌دی ترکیب غالب (۶۵٪) بود (Figueiredo *et al*., 1992).

تحقیقات اولیه بر روی اسانس *A. millefolium* subsp. *millefolium*، خواص ضدمیکروبی در مقابل *Streptococcus pneumoniae*، *Clostridium perfringens*، *Candida albicans*، *Mycobacterium smegmatis*، *Acinetobacter lwoffii* و *Candida krusei* نشان داد (Candan *et al*., 2003).

ترکیب‌های اسانس بعضی از گونه‌های بومادران که برای رفع عفونت زخم‌ها بکار می‌رود و به‌عنوان داروی افسانه‌ای از این گیاه نام برده‌اند، توسط Mitich (۱۹۹۰) مورد آزمایش قرار گرفته است.

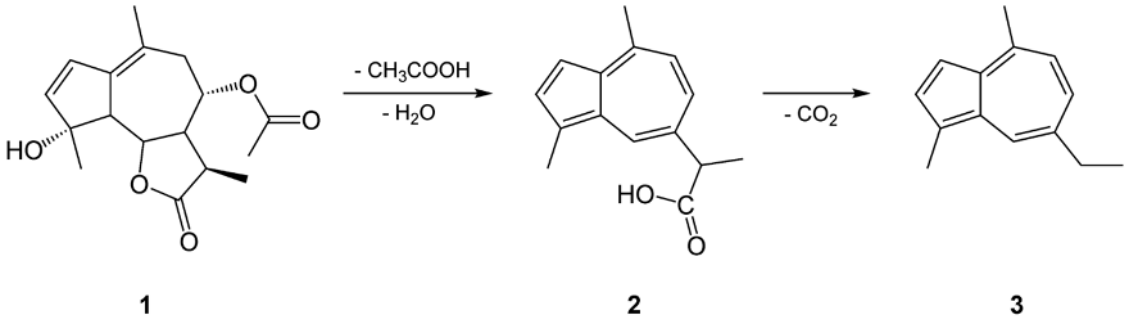
Weyerstahl و همکاران (۱۹۹۷) گل‌های *A. eriophora* DC. را از منطقه بادجه در ۴۵ کیلومتری شمال شیراز و از ارتفاع ۷۰۰ تا ۳۰۰۰ متر (در ژوئن ۱۹۹۴) جمع‌آوری نمودند و به روش تقطیر با بخار آب اسانس‌گیری کردند. آنان بازده اسانس را ۱/۲ و ترکیب‌های عمده آن را ۸،۱-سینئول (۳۴/۲)، آلفا-پینن (۷/۶) و بتا-پینن (۶/۲) گزارش کردند. نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه بمو درصد بیشتری از ترکیب‌های ۸،۱-سینئول و بتا-پینن نسبت به منطقه بادجه داشت.

با توجه به اینکه در مورد کشت این گونه هیچ تحقیقی انجام نشده، مطالعه مقدماتی در مورد نحوه کشت و تأثیر آن بر روی مواد مؤثره ضروری به‌نظر می‌رسید. بنابراین بهترین زمان کاشت و برداشت، تولید محصول یکنواخت، جلوگیری از تخریب مراتع با توصیه‌های مناسب کاشت، داشت و برداشت و ایجاد زمینه اشتغال از اهداف این پژوهش است.

ویژگی‌های کامازولن

کامازولن یک ترکیب شیمیایی معطر با فرمول مولکولی $C_{14}H_{16}$ و وزن مولکولی ۱۸۴/۲۸۲ g/mol در انواع گیاهان ازجمله بابونه (*Matricaria chamomilla*)، افسنطین (*Artemisia absinthium*) و بومادران (*Achillea millefolium*) است (The Merck Index, 1989). این

ترکیب یک مشتق آبی بنفش از آزولن است که از بیوسنتز ماتریسین سزکویی‌ترپن‌ها بدست می‌آید (Safayhi *et al*., 1994) (شکل ۱). چگالی آن در دمای ۲۰°C برابر ۰/۹۸۸۳ و نقطه ذوب آن ۲۵°C و نقطه جوش آن ۱۶۱°C است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کامازولن ثابت شده است (Capuzzo *et al*., 2014).



شکل ۱- بیوسنتز کامازولن (۳) از ماتریسین (۱) به طریق کربوکسیلیک اسید کامازولن (۲)

مواد و روش‌ها

بذر گیاه بومادران البرزی (*Achillea millefolium* L. subsp. *Elbursensis*) در مهرماه ۱۳۹۵ از تنها رویشگاه آن در منطقه دیزین در استان تهران (ارتفاع ۲۸۰۰ متری) جمع‌آوری شد. نمونه هرباریومی از این گیاه تهیه و به بخش گیاه‌شناسی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور ارسال شد. این گونه توسط متخصص شناسایی تیره چتریان در هرباریوم مؤسسه، شناسایی شد.

پس از انجام آزمون‌های جوانه‌زنی، بذر بومادران البرزی در ابتدای اسفندماه در سینی کشت و در گلخانه به‌طور غیرمستقیم کشت گردید. پس از یک هفته بیشتر بذرها در سینی کشت سبز شده و در اواخر اسفندماه گیاهچه‌ها به گلدان منتقل شدند و تا انتقال گیاهچه‌ها به زمین، به‌طور مرتب آبیاری و به‌صورت دستی وجین شدند. در اواسط فروردین ۱۳۹۶، گیاهچه‌ها در تراکم‌های مختلف به مزرعه منتقل شدند. عملیات داشت در مزرعه انجام شد. در مردادماه بوته‌ها گل دادند و برای استخراج اسانس جمع‌آوری شدند. جمع‌آوری اندام هوایی بومادران البرزی کشت شده در مزرعه، در دوسال متوالی ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ انجام شد.

از سویی اندام هوایی بومادران البرزی در مرداد ۱۳۹۶ در مرحله گلدهی از دیزین جمع‌آوری شد. اندام‌های گیاه شامل برگ و گل‌آذین در آزمایشگاه خشک و به‌وسیله آسیاب پودر شدند. روغن‌های اسانسی به روش تقطیر با آب بدست آمد. برای جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های GC-FID و GC/MS استفاده شد. مشخصات این دستگاه‌ها به‌شرح زیر بود.

کروماتوگراف گازی فوق سریع (GC-FID)

مدل Thermo-UFM مجهز به دتکتور FID و داده‌پرداز با نرم‌افزار Chrom-card 2006 مورد استفاده قرار گرفت. ستون DB-5 نیمه‌قطبی (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۴ میکرون) بود. گاز حامل، هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع، دمای قسمت تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود.

مشخصات گازکروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

کروماتوگراف گازی Varian-3400 متصل شده با طیف‌سنج جرمی (Saturn II)، ستون DB-5 نیمه‌قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون است. دتکتور Ion trap، گاز

حامل هلیم، سرعت جریان گاز حامل ۳۵ml/min بود. با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (Tr)، شاخص بازداری (RI)، طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس اقدام گردید. درصد کمّی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد (Adams, 2011؛ Davies, 1990؛ Shibamoto, 1987).

نتایج

بازده (وزنی/وزنی) اسانس آبی‌رنگ برگ و گل‌آذین *Achillea millefolium* L. subsp. *elbursensis* (بومادران) رویشگاه به‌ترتیب ۰/۱۱٪ و ۰/۵۳٪ و بومادران کشت شده به همان ترتیب در سال ۱۳۹۶ برابر ۰/۲۸٪ و ۰/۵۰٪ و در سال ۱۳۹۷ برابر ۰/۲۶٪ و ۱/۳۰٪ بود.

در اسانس برگ و گل‌آذین بومادران رویشگاه به‌ترتیب ۱۹ و ۲۴ ترکیب که در مجموع ۸۰/۱٪ و ۹۳/۹٪ کل اسانس و نمونه‌های کشت شده در سال اول هر دو اندام ۱۷ ترکیب که در مجموع ۸۰/۷٪ و ۹۱/۳٪ کل اسانس را تشکیل دادند و در سال دوم ۱۶ و ۱۴ ترکیب که در مجموع ۸۹/۷٪ و ۹۵/۱٪ کل اسانس را تشکیل دادند، شناسایی شد. در جدول ۱ ترکیب‌های مهم اسانس‌ها به‌همراه درصد و شاخص بازداری آورده شده است.

بیشترین درصد ترکیب اسانس هر دو اندام (بجز برگ رویشگاه) کامازولن بود. مقدار کامازولن در اسانس برگ و گل‌آذین رویشگاه به‌ترتیب ۵/۷٪ و ۵۲/۵٪ بود. مقدار آن در اسانس برگ و گل‌آذین در سال اول به‌ترتیب ۵۰/۶٪ و ۶۷/۱٪ و در سال دوم به همان ترتیب ۵۹/۶٪ و ۷۱/۳٪ بود.

دیگر ترکیب‌های شاخص اسانس، کامفر و بورنئول بودند. بیشترین درصد ترکیب‌های اسانس برگ رویشگاه، کاریوفیلن الکل (۱۳/۳٪)، کاریوفیلن اکساید (۷/۴٪)، بتا–اودسمول (۷/۸٪) و کامازولن (۱۵/۷٪) بود.

بحث

در این تحقیق بازده (وزنی/وزنی) اسانس برگ بومادران رویشگاه و کشت شده در دو سال متوالی به‌ترتیب ۰/۱۱٪، ۰/۲۸٪ و ۰/۲۶٪ و همچنین بازده اسانس گل‌آذین به همان ترتیب ۰/۵۳٪ و ۰/۵۰٪ و ۱/۳۰٪ بود. افزایش بازده اسانس برگ کشت شده و همین‌طور گل‌آذین در سال دوم قابل توجه بود. این نتیجه با گزارش جایمند و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد. آنان بازده اسانس گل‌آذین و برگ *A. mellifolium* L. subsp. *elbursensis* از رویشگاه را به‌ترتیب ۰/۵–۰/۲٪ و ۰/۱ بدست آوردند (Jaimand *et al*., 2006).

افزایش مقدار اسانس در برگ در شرایط کشت شده در مقایسه با برگ رویشگاه را می‌توان به آبیاری منظم گیاهان کشت شده نسبت داد. همچنین افزایش بازده اسانس گل‌آذین در سال دوم را می‌توان وابسته به استقرار و سازگاری گیاه با شرایط کشت دانست.

اسانس گیاه بیشتر در کرک‌های ترشحی برگ و به‌ویژه در گل‌آذین تشکیل می‌شود (Cernaj *et al*., 1983؛ Motl *et al*., 1990).

در ذیل مقادیر بازده اسانس گونه‌های مختلف *Achillea* با هم مقایسه شده‌اند.

بازده اسانس اندام هوایی *A. millefolium* از هند، ۰/۷٪ (*Nadim et al*., 2011) و استونی ۹/۵–۰/۹٪ (Orav *et al*., 2006) و اندام هوایی *A. eriophora* رویشگاه شیراز، ۱/۲٪ (Weyerstahl *et al*., 1997) گزارش شد. همچنین در گزارش Baser (۲۰۱۶) بازده اسانس *A. millefolium* subsp. *millefolium* ۰/۶٪ گزارش شده است.

براساس فارماکوپه اروپا، بازده اسانس گل و اندام هوایی *A. millefolium* L.، نباید کمتر از ۲ml/kg و پروآزولن‌ها، به‌ویژه کامازولن کمتر از ۰/۰۲٪ بر مبنای وزن خشک باشد.

جدول ۱- ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس

Achillea millefolium* L. subsp. *elbursensis **(بومادران البرزی) طبیعی و کشت شده (در دو سال متوالی)**

نام ترکیب‌ها	شاخص کواتس	رویشگاه طبیعی		کشت شده در مزرعه			
				۱۳۹۶		۱۳۹۷	
		برگ	گل‌آذین	برگ	گل‌آذین	برگ	گل‌آذین
ρ-cymene	۱۰۲۶	–	۱/۰	۱/۲	۱/۳	۱/۴	۱/۴
1,8-cineole	۱۰۳۳	–	۲/۴	۱/۶	۱/۸	۶/۸	۳/۰
camphor	۱۱۴۳	۱/۲	۷/۶	۲/۳	۴/۶	۲/۴	۲/۵
borneol	۱۱۶۵	۱/۰	۷/۴	۴/۳	۳/۳	۵/۷	۲/۱
α-terpineol	۱۱۸۹	–	۰/۷	۰/۲	۰/۳	۱/۲	۰/۳
methyl chavicol	۱۱۹۶	–	۰/۶	۰/۴	۰/۴	–	–
(E-2)-decanal	۱۲۰۴	۰/۴	۰/۵	۰/۴	–	–	–
thymol	۱۲۹۰	۰/۳	–	–	–	–	–
carvacrol	۱۲۹۸	–	–	–	۰/۷	–	–
geranyl acetate	۱۳۸۱	–	۰/۴	–	۰/۵	–	۱/۰
trans-myrtanol acetate	۱۳۸۷	–	–	–	۰/۲	–	–
α-cederene	۱۴۰۹	۰/۶	۰/۲	۱/۵	–	–	–
E-caryophyllene	۱۴۱۸	۵/۳	۲/۷	۳/۷	۳/۴	۲/۲	۴/۲
γ-gurjunene	۱۴۷۷	–	۰/۳	–	۳/۲	–	–
β-chamigrene	۱۴۷۸	۶/۰	۰/۳	–	–	۰/۴	۳/۸
germacrene D	۱۴۸۰	–	۰/۴	۱/۴	–	۲/۸	۰/۵
bicyclogermacrene	۱۴۹۴	۱/۰	۰/۵	۰/۶	–	۱/۳	–
E-nerolidol	۱۵۶۴	۴/۴	۷/۹	۰/۷	۱/۷	۱/۷	۲/۳
caryophyllene alcohol	۱۵۷۰	۱۳/۳	۰/۵	–	۰/۷	–	–
spathulenol	۱۵۷۶	۴/۴	–	۲/۵	۰/۸	۰/۴	–
caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۷/۴	۲/۷	–	–	۱/۲	۰/۷
humulene epoxide II	۱۶۰۸	۱/۲	۰/۳	–	–	–	–
β-eudesmol	۱۶۵۱	۷/۸	۱/۹	۱/۳	۱/۳	۱/۰	۱/۱
(Z,E)-farnesyl acetate	۱۷۰۱	۷/۰	–	–	–	–	–
chamazulene	۱۷۳۲	۵/۷	۵۲/۵	۵۰/۶	۶۷/۱	۵۹/۶	۷۱/۳
oplopanone	۱۷۴۰	۰/۷	۰/۵	۰/۷	–	–	–
khusimol	۱۷۴۳	۲/۴	۰/۳	۰/۳	–	۰/۶	–
α-sinensal	۱۷۵۷	–	۱/۳	–	–	۱/۰	۰/۹
total		۷۰/۱	۹۳/۹	۷۳/۷	۹۱/۳	۸۹/۷	۹۵/۱

سه جمعیت از بذر *A. millefolium* aggregate که بر روی زیستگاه‌های شور صربستان می‌روید از نظر عملکرد اسانس و ترکیب‌های شیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند. ۹۹ ترکیب شیمیایی شناسایی شد که در سه کموتیپ شامل کامازولن، ترانس‌کاریوفیلن و بتا-پینن (در جمعیت تحت عنوان P1)، لاواندولیل‌استات، کامازولن و ترانس‌کاریوفیلن (در جمعیت تحت عنوان P2) و ترانس-کریزانتنیل استات، ترانس‌کاریوفیلن و جرماکرن‌دی (در جمعیت تحت عنوان P3) قرار می‌گیرند. بالاترین عملکرد اسانس (۱/۰۱٪) و پایین‌ترین عملکرد (۰/۳۲٪) به‌ترتیب برای جمعیت P1 و P3 تعیین شد (Stevanovic *et al*., 2015).

در ۱۹ گونه *Achillea* از ترکیه شامل *aleppica* subsp. *Aleppica*، *biebersteinii*، *biserrata*، *coarctata*، *cucullata*، *falcata*، *goniocephala*، *gypsicola*، *kotschyi* subsp. *Kotschyi*، *lycaonica*، *magnifica*، *phrygia*، *pseudoaleppica*، *salicifolia* subsp. *salicifolia*، *schischkinii*، *sintenisii*، *teretifolia*، *vermicularis* و *wilhelmsii* دو ترکیب ۸،۱-سینئول و کامفور، به‌عنوان ترکیب‌های شاخص معرفی شده‌است (Baser, 2016).

در این تحقیق کامازولن که یک ترکیب مهم و اساسی در زیرگونه *A. mellifolium* L. subsp. *elbursensis* است در تمام اندام هوایی نمونه کشت شده وجود داشت، در حالیکه فقط در گل‌آذین نمونه رویشگاه یافت شد. در جدول ۲ ترکیب‌های شیمیایی گونه *A. mellifolium* از مناطق مختلف و همچنین گونه‌های دارای کامازولن آورده شده است. کامازولن در تمام اندام‌های گونه *A. mellifolium* جمع‌آوری شده از ایران، هند، استونی و صربستان به نسبت‌های متفاوت یافت شد ولی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از کشور پرتغال و ترکیه وجود نداشت. کامازولن همچنین در گیاه *A. collina* جمع‌آوری شده از رومانی وجود داشت. در گونه *A. eriophora* ترکیب شاخص ۸،۱-سینئول (۳۴/۲٪)، در گونه *A. aleppica subsp* ترکیب شاخص کامفور (۳۴٪) و در گونه *A. biebersteinii* ترکیب شاخص پیپریتون (۵۰٪) بود.

جدول ۲- مقایسه ترکیب‌های شیمیایی شاخص موجود در اسانس اندام‌های مختلف گونه‌های *Achillea*

نام گونه	رویشگاه	ترکیب‌های شاخص و درصد آنها	منبع
A. millefolium اندام هوایی	Shimla, Himachal Pradesh, India	sabinene (17.6%), 1,8-cineole (13.0%), borneol (12.4%), bornyl acetate (8.0%), α-pinene (6.3%), β-pinene (6.3%), terpinene 4-ol (6.2%), chamazulene (5.3%)	*Nadim et al*., 2011
A. millefolium گل	Dizin, Iran	chamazulene (78%)	Jaimand *et al*., 2006
A. millefolium برگ	Dizin, Iran	chamazulene (82%)	Jaimand *et al*., 2006
A. millefolium L. subsp. *elbursensis* گل	Dizin, Iran	chamazulene (54%), camphor (8%), isoborneol (7.6%),	Jaimand *et al*., 2006
A. millefolium L. subsp. *elbursensis* برگ	Dizin, Iran	chamazulene (35%), isoborneol (18.2%), ρ-cymene (14.8%)	Jaimand *et al*., 2006
A. millefolium L. subsp. *elbursensis* گل	Dizin, Iran	chamazulene (78.4%), longifolene (7.6)	Jaimand *et al*., 2006
A. millefolium L. subsp. *elbursensis* برگ	Dizin, Iran	chamazulene (82.5%), germacrene B (3.6%)	Jaimand *et al*., 2006
A.millefolium اندام هوایی	Estonia	sabinene, β-pinene, 1,8-cineole, artemisia keton, linalool, α-thujen, β-thujen, camphor, borneol, fenchyl acetate, bornyl acetate, E-caryophyllene, germacrene D, caryophyllene oxide, β-bisabolol, δ-cadinol, chamazulene	Orav *et al*., 2006
A. millefolium L. ssp. *Millefolium* گل	Portugal	1,8-cineole (29%), trans sabinene hydrate (15%), germacrene D (0.7%)	Figueiredo *et al.*, 1992
A. millefolium L. ssp. *Millefolium* برگ	Portugal	1,8-cineole (25%), trans sabinene hydrate (10%), germacrene D (7%)	Figueiredo *et al.*, 1992
A. millefolium subsp. *millefolium*	Turkey	1,8-cineole (25%), camphor (17%), α-terpineol (10%)	Candan *et al*., 2003
A. millefolium subsp. *millefolium* اندام هوایی	Turkey	δ-cadinene (19%), limonene oxide (10%), allo-aromadendrene (6%), caryophyllene oxide (6%), β-caryophyllene (5%)	Kocak *et al*., 2010
A. millefolium subsp. *millefolium*	Turkey	α-bisabolol (12%), caryophyllene oxide (8%), muurola-4,10(14)-dien-1-ol (7%)	Turkmenoglu *et al*., 2015
A. millefolium aggregate	Serbia	Chamazulene (15.84%), trans-caryophyllene (8.98%), β-pinene (8.89%)	Stevanovic *et al*., 2015
A. millefolium aggregate	Serbia	lavandulyl acetate (14.88%), chamazulene (13.89%), *trans*-caryophyllene (7.57%)	Stevanovic *et al*., 2015
A. millefolium aggregate	Serbia	*trans*-chrysanthenyl acetate (21.33%), *trans*-caryophyllene (9.53%), germacrene D (7.07%)	Stevanovic *et al*., 2015
A. eriophora DC.	Shiraz, Iran	1,8-cineole (34.2%), α-pinene (7.6%), β-pinene (6.2%)	Weyerstahl *et al*., 1997
A. aleppica subsp. *aleppica*	Turkey	camphor (34%), 1,8-cineole (20-26%), ρ-cymene (14%), α-terpineol (9%), α-pinene (4%), α-bisabolol oxide (4%), T-cadinol (4%), caryophyllene oxide (3%), spathulenol (3%), camphor (3%)	Toncer *et al*., 2010; Iscan *et al*., 2006
A. biebersteinii	Turkey	piperiton (50%), a-terpinyl acetate (7%), ρ-cymene (27%), Borneol (7%) a-thujene (13%), p-cymene (5%), β-thujene (3%), borneol (3%), ascaridol (62%), ρ-cymene (16%)	Oskay & Yesilada, 1984
A. collina Becker	Timişoara, Romania	chamazulene (38.89%), germacrene D (12.90%), β-caryophyllene (11.52%), β-pinene (10.66%)	Jianu *et al*., 2015

سپاسگزاری

نویسندگان از مسئولان محترم مؤسسه و رئیس بخش تحقیقات گیاهان دارویی به‌دلیل امکاناتی که برای اجرای این طرح در اختیارشان قرار دادند، صمیمانه قدردانی و سپاسگزاری می‌نمایند. همچنین از همکاران آزمایشگاه شیمی گیاهی و از آقای دکتر ولی‌اله مظفریان به‌دلیل شناسایی گونه گیاهی بی‌نهایت قدردانی می‌شود. در پایان لازم است از کلیه همکارانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری کردند، تشکر و سپاسگزاری نماییم.

منابع مورد استفاده

- Adams, R.P., 2011. Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy. Academic Press: New York, 809p.
- Baser, K.H.C., 2016. Review: essential oils of *Achillea* species of Turkey. Natural Volatiles and Essential Oils, 3(1): 1-14.
- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. and Akpulat, H.A., 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). Journal Ethnopharmacology, 87: 215-220.
- Capuzzo, A., Occhipinti, A. and Maffei, M.E., 2014. Antioxidant and radical scavenging activities of chamazulene. Natural Product Research, 28(24): 2321-2323.
- Cernaj, P., Liptakova, H., Mohr,G., Repeak, M. and Honcariv, R., 1983. Variability of the content and composition of essential oil during ontogensis of *Achillea collina* Becker. Herb Hung., 22: 21-27.
- Davies, N.W., 1998. Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl and carbowax 20M phases. Journal of Chromatography, 503: 1-24.
- Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pais, M. and Scheffer, J.J.C., 1992. Composition of the essential oils from leaves and flowers of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium*. Flavour and Fragrance Journal, 7(4): 219-222.
- Hethelyi, E., Danos, B. and Tetenyi, P., 1989. Phytochemical studies on the essential oils of species belonging to the *Achillea* genus by gas chromatography/mass spectrometry. Biomedical and Environmental Mass Spectrometry Banner, 18(8): 629-636.
- Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Arabaci, T., Kupeli, E. and Baser, K.H.C., 2006. Biological activity and composition of the essential oils of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* DC. subsp *aleppica*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(1): 170-173.
- Jaimand, K., Rezaee, M.B. and Mozaffarian, V., 2006. Chemical constituents of the leaf and flower oils from *Achillea millefolium* subsp. e*lbursensis* Hub.Mor. from Iran rich in chamazulene. Journal Essential oil of Research, 18: 293-295.
- Safayhi, H., Sabieraj, J., Sailer, E.R. and Ammon, H.P., 1994. Chamazulene: an antioxidant-type inhibitor of leukotriene B4 formation. Planta Medica, 60(5): 410-413.
- Shibamoto, T., 1987. Retention indices in essential oil analysis: 259-274. In: Sandra, P. and Bicchi, C., (Eds.). Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Dr. Alfred Huethig Verlag, New York, 435p.
- Stevanovic, Z.D., Pljevljakusic, D., Ristic, M., Sostaric, J., Kresovic, M., Simic, I. and Vrbnieganin, S., 2015. Essential oil composition of *Achillea millefolium* agg. populations collected from saline habitats in Serbia. Journal Essential Oil Bearing Plants, 18(6): 1343-1352.
- The Merck Index, 1989. An Encyclopedia of Chemicals Drugs and Biologicals. Merck Authors, 11th Edition, 2031p.
- Toncer, O., Basbag, S., Karaman, S., Diraz, E. and Basbag, M., 2010. Chemical composition of the essential oils of some *Achillea* species growing wild in Turkey. International Journal of Agriculture and Biology, 12(4): 527-530.
- Turkmenoglu, F.P., Agar, O.T., Akaydin, G., Hayran, M. and Demirci, B., 2015. Characterization of volatile compounds of eleven *Achillea* species from Turkey and biological activities of essential oil and

- Weyerstahl, P., Marschall, H., Seelmann, I. and Rustaiyan, A., 1997. Constituents of the essential oil of *Achillea eriophora* DC. Flavour and Fragrance Journal, 12: 71-78.

methanol extract of *A. hamzaoglui* Arabaci et Budak. Molecules, 20: 11432-11458.

- Twaij, H.A.A., 1983. Some pharmacological studies of *Achillea santolina* L. and *Achillea micrantha* M.B. Fitoterapia, 54: 25-32.

Essential oil compositions of wild and cultivated *Achillea millefolium* L. subsp. *elbursensis*

F. Askari[1*], M. Mirza[2], M. Golipour[2] and S. Fekri Qomi[2]

1*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: July 2018 Revised: September 2018 Accepted: October 2018

Abstract

The genus *Achillea* has 19 species of herbaceous, perennial and aromatic plant in Iran. This genus of compositae family has complex characteristics. Chamazolene is a major component of essential oil of inflorescence and leaf, reported to be used in food, cosmetic, and pharmaceutical industries. *A. millefolium* L. subsp. *elbursensis* is an endemic subspecies of Iran and no studies have been conducted on the cultivation of this species; therefore a preliminary study was conducted on the cultivation and its effect on secondary metabolites. For this purpose, the seeds of *Achillea* were collected from Dizine area in October 2016. The seeds of *Achillea* were cultivated in a greenhouse at the beginning of March and seedlings were transplanted to the farm in late April 2017. At flowering stage in August, aerial parts were collected in two consecutive years to obtain the essential oils. To compare the essential oil of cultivated samples with habitat samples, the aerial parts of *Achillea* were collected from Dizin at the flowering stage in August 2017. The plant parts including leaf and inflorescence were dried in laboratory and were crushed to particles. The essential oils were obtained by hydrodistillation and were analyzed by GC-FID and GC/MS. The color of *A. millefolium* essential oils was dark blue. The yields of *A. millefolium* essential oils of leaf and inflorescence (w/w dried weight) from habitat samples were 0.11% and 0.53%, respectively, and from cultivated samples were 0.28% and 0.50% in 2017 and 0.26% and 1.30% in 2018, respectively. Chamazulene was the major constituent of leaf (5.7%) and inflorescence (52.5%) oils in the habitat samples. The content of this compound in cultivated samples was 50.6% and 67.1% in the first year, and 59.6% and 71.3% in the second year, respectively. Another major constituents were caryophyllene alcohol, caryophyllene oxide, camphor, borneol and β-eudesmol. Chamazulene as major compound of the oil, found in all aerial parts of cultivated samples, while, it was found only in the inflorescence of wild sample.

Keywords: *Achillea millefolium* L., essential oil, chemical composition, chamazulene, cultivation.