

تنوع ترکیب اسانس در برخی جمعیت‌های *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut.

شمال غرب ایران: ترکیب شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی

فریبا محسن زاده^{۱*} و پارسا چهرگانی راد^۲

^۱ ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه فارماکولوژی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۲

چکیده

گیاه *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut. از تیره کاسنیان گیاهی بوته‌ای و چند ساله است که عموماً در ارمنستان، ایران و آناتولی میانی پراکنش دارد. این گونه به طور سنتی در داروها مورد استفاده قرار گرفته است. هدف این پژوهش بررسی ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌های برخی از جمعیت‌های *A. haussknechtii* در شمال غرب و غرب ایران است. اسانس *A. haussknechtii* با روش تقطیر با آب از چهار جمعیت جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان‌های آذربایجان غربی و همدان تهیه شد و با کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) تجزیه و تحلیل شد. فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها علیه چهار باکتری گرم مثبت و چهار باکتری گرم منفی با استفاده از تعیین MIC و روش انتشار در آگار-ژل بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمد چهارده ترکیب به عنوان اجزای اصلی اسانس‌ها شناسایی شدند و فراوان‌ترین ترکیبات عبارتند از ۱،۸-سینئول، کامفور، آلفا-توجون، کامفن، بتا-توجون و پارا-سیمن. اسانس جمعیت شماره ۱ بیشترین فعالیت را علیه *Escherichia coli*، *Enterobacter aerogenes*، *Serratia marcescens* و *Staphylococcus aureus* نشان داد، اما بیشترین فعالیت علیه *St. saprophyticus*، *Bacillus megaterium* و *B. cereus* در جمعیت شماره ۳ و برای *Citrobacter amalonaficus* در جمعیت شماره ۴ مشاهده شد. مقادیر MIC اسانس‌ها از ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه باسیلوس مگاتریوم تا ۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه سیتروباکتر آمالونافیکوس متغیر بود. این مطالعه وجود ترکیب شیمیایی ۱،۸-سینئول/کامفور/کامفن در گونه *A. haussknechtii* را نشان می‌دهد، اما تنوع شیمیایی قابل توجهی نیز بین جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد. یافته‌ها نشان داد که اسانس‌های مورد مطالعه فعالیت ضدباکتریایی خوبی دارند و بنابراین می‌توانند به عنوان محصولات بهداشتی طبیعی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت بیولوژیکی، ترکیبات شیمیایی، ترکیبات فرار، اسانس، ضد میکروب

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: f.mohsenzadeh@basu.ac.ir

مقدمه

گونه‌ها به راحتی قابل تشخیص باشند. درجه بالایی از تنوع در ریخت‌شناسی و تشریح ساختارهای رویشی و زایشی در این تیره وجود دارد که آن را برای تاکسونومیست‌ها جذاب می‌کند (۱۷، ۹).

جنس *Anthemis* دومین جنس بزرگ در قبیله

تیره آفتابگردان (Asteraceae) یکی از پیشرفته‌ترین تیره‌های دولپه‌ای از نظر ریخت‌شناسی است. این تیره دارای تقریباً ۱۶۰۰-۱۷۰۰ جنس و ۲۴۰۰۰ گونه است که آن را به یکی از بزرگترین تیره‌ها در گیاهان گلدار تبدیل می‌کند. ویژگی‌هایی مانند گل‌آذین با مکانیسم خاص تولید گرده، ساختار پاپوس و ویژگی‌های میوه و دانه باعث می‌شود

به جمعیت‌های دیگر از لحاظ بیشتر صفات به ویژه عملکرد اسانس و زود بازده بودن برتری دارند (۶،۷).

پژوهش‌های مختلف نشان داده اند که عملکرد اکوتیپها از منطق‌های به منطقه دیگر تغییر میکند و این نشان دهنده اثر متقابل گونه‌های گیاهی با محیط میباشد (۱۰). بررسی انجام شده روی اکوتیپ‌های وابسته نشان داده است که بین اکوتیپ‌های مختلف از نظر ترکیب شیمیایی اسانس تفاوت معنی داری وجود دارد (۶،۷).

با توجه به تاثیر ژنتیک گیاه و شرایط محیط در ایجاد تیپ‌های شیمیایی متنوع بابونه و اهمیت آنها در کاربردهای دارویی و صنعتی، این پژوهش با هدف شناخت عوامل رویشگاهی و محیطی و آزمون نقش جمعیت‌ها در میزان نوع ترکیب‌ها و مقادیر آنها و شناخت و معرفی جمعیت‌های دارای بالاترین میزان اسانس و خواص دارویی انجام شده است.

مواد و روشها

مواد گیاهی: بخش‌های هوایی گونه *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut. در مرداد ۱۴۰۲ از چهار جمعیت مختلف از استان‌های آذربایجان غربی و همدان جمع‌آوری شد (شکل ۱). نمونه‌های گواهی‌شده این گونه در هرباریوم محلی گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران نگهداری می‌شوند. مکان‌ها و اطلاعات جمع‌آوری در جدول ۱ ثبت شده است.

جدول ۱- محل‌های جمع‌آوری جمعیت‌های مختلف درمنه زاگرسی

شماره	آدرس	ارتفاع
۱	آذربایجان غربی، جاده ارومیه به سلماس، گوشچی	۱۳۸۷
۲	آذربایجان غربی، بوکان	۱۳۹۸
۳	همدان، قروه	۱۵۴۰
۴	همدان، نوژه	۱۷۲۶

Anthemideae است که دارای گیاهان یک‌ساله و چندساله است. در ایران برای جنس *Anthemis* ۳۹ گونه علفی یک‌ساله و چندساله گزارش شده است که از این تعداد ۱۵ گونه بومی ایران هستند (۶). یکی از گونه‌های فراوان *Anthemis haussknechtii* در ایران بابونه زاگرسی (Boiss. & Reut) است. بابونه زاگرسی گیاهی یک‌ساله است که عمدتاً در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی، کردستان، ایلام، همدان، لرستان، چهارمحال‌بختیاری، فارس و خوزستان پراکنش دارد (۷). گونه‌های *Anthemis* دارای خواص دارویی متعدد هستند که در طب سنتی مورد توجه بوده اند.

گیاهان دارای اسانس و عصاره‌های گیاهی هزاران سال هستند که در نگهداری مواد غذایی، داروسازی، داروهای جایگزین و درمان‌های طبیعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اسانس‌ها منابع بالقوه ترکیبات ضد میکروبی جدید، به ویژه در برابر عوامل بیماری‌زای باکتریایی هستند. اسانس گیاهان معطر و دارویی از دوران باستان به داشتن فعالیت بیولوژیکی، به ویژه خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی شناخته شده‌اند. فعالیت زیستی اسانس به ترکیب شیمیایی آنها بستگی دارد که توسط ژنوتیپ گیاه تعیین می‌شود و تا حد زیادی تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند منشأ جغرافیایی، شرایط محیطی و زراعی قرار دارد (۲،۵،۶،۷،۹).

بابونه زاگرسی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است که در صنایع دارویی آرایشی و غذایی کاربرد فراوان دارد فرآورده‌های آن خاصیت درمانی ضد التهاب ضد قارچ ضد باکتری‌ی‌باشد و به دلیل داشتن خاصیت آرامبخشی در درمان برخی بیماری‌ها موثر است. برخی بررسی‌های پیشین نشان داده که بین جمعیت‌های مختلف بابونه از نظر مقدار اسانس و مختلف، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود داشته و جمعیت‌های ایلام و سقز، کمترین مقدار میانگین رشد رویشی و عملکرد اسانس را داشتند و جمعیت‌های کوه‌دشت و کرمانشاه نسبت

برخی از میکروارگانیسم‌ها از مجموعه کشت‌های نوع ایرانی، تهران، ایران و برخی دیگر از نمونه‌های محلی (Lio) تهیه شدند. برای استفاده در آزمایش‌ها، ارگانیسم‌ها در محیط کشت مایع مغذی و آگار مغذی (Oxoid، کمبریج، انگلستان) کشت مجدد داده شدند. برای آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی از آگار تست حساسیت تشخیصی (DST) (Oxoid) استفاده شد (۲۹، ۱۳).

زیست‌سنجی: برای زیست‌سنجی، سوسپانسیون با حدود ۱,۵ × ۱۰^۸ سلول در هر میلی‌لیتر در محلول نمکی استریل، همانطور که توسط فوریز و همکاران (۱۹۹۰) شرح داده شده است، تهیه شد. آزمایش حساسیت با استفاده از روش انتشار آگار-ژل تعیین شد (۲۸، ۱۹). در هر دیسک، ۳۰ میکرولیتر اسانس ضروری بارگذاری شد. سوبه‌های باکتریایی جدا شده ابتدا به مدت ۱۸ ساعت قبل از استفاده در محیط کشت مغذی کشت داده شدند. سوسپانسیون‌های تلقیح استاندارد شدند و سپس با ۳۰ میکرولیتر برای هر دیسک در محیط کشت DST، اثر اسانس روی آنها آزمایش شد. پلیت‌ها بعداً به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ ± ۰,۵ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و پس از آن، مناطق مهار رشد مشاهده شدند. اثرات این آنتی‌بیوتیک‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد (۲۷-۲۴)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم در هر دیسک)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم در هر دیسک)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم در هر دیسک) و تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم در هر دیسک) (خریداری شده از شرکت پادتان‌طب، تهران، ایران) مقایسه شد.

MIC اسانس نیز با استفاده از تکنیک‌های رقت لوله‌ای در محیط کشت مولر-هینتون برات (مرک) طبق NCCLS (2008) تعیین شد. آزمایش‌ها حداقل سه تا پنج بار برای هر ارگانیسم تکرار شدند و داده‌ها پس از آنالز آماری با روش‌های مناسب (t-Student test, Anova) به صورت میانگین ± خطای استاندارد ۳ تا ۵ نمونه ارائه شده‌اند (۳۰-۳۲).

جداسازی اسانس: بخش‌های هوایی گیاهان در سایه و در دمای اتاق خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده گیاه (۵۰۰ گرم) به مدت ۴ ساعت تحت تقطیر مستقیم با آب (مواد گیاهی در آب جوش) با استفاده از دستگاه کلونجر (فراز طب تجهیز، تهران، ایران) قرار گرفتند. اسانس‌ها به مدت ۴ ساعت روی Na₂SO₄ بدون آب خشک شده و برای تجزیه و تحلیل بیشتر در دمای ۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۹، ۲۷).

شناسایی اجزای اسانس: اجزای اسانس با استفاده از GC-MS از طریق تطبیق پیک و با استفاده از شاخص‌های بازداری آنها روی ستون Innowax FSC (Shimadzu، کیوتو، ژاپن) شناسایی شدند. دمای فر از ۵۰ درجه سانتیگراد تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه برنامه‌ریزی شد. گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱,۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود. دمای تزریق‌کننده و آشکارساز FID به ترتیب ۲۵۰ و ۳۰۰ درجه سانتیگراد بود. نمونه‌های اسانس بدون حلال (۱، ۰ میکرولیتر) با استفاده از تزریق حالت تقسیم‌شده (نسبت ۱:۶۰) تزریق شدند. شاخص‌های بازداری برنامه‌ریزی شده با دما (RI) با استفاده از یک سری همولوگ از n-آلکان‌ها (C9-C20) محاسبه شدند. تطبیق کامپیوتری با کتابخانه‌های تجاری (Wiley و Mass Finder نسخه ۲,۱) (۱، ۱۸، ۱۹، ۲۵)، کتابخانه Baser از اجزای اسانس، که از ترکیبات و اجزای اصلی اسانس‌های شناخته شده ساخته شده است، و داده‌های گزارش شده کتابخانه‌ای در توصیف نهایی اجزای اسانس مورد استفاده قرار گرفت (۱۷، ۱۸).

باکتریهای مورد آزمایش: سوبه‌های استاندارد میکروارگانیسم‌های زیر به عنوان ارگانیسم‌های مورد آزمایش استفاده شدند:

Enterobacter aerogenes (PTCC 1221), *Serratia marcescens* (PTCC 1111), *Escherichia coli* (Lio), *Citrobacter amalonaticus* (PTCC 1499), *Bacillus cereus* (PTCC 1247), *Bacillus megaterium* (PTCC 1017), *Staphylococcus saprophyticus* (Lio), and *Staphylococcus aureus* (ATCC 6633)

نتایج

در اسانس‌های همه جمعیت‌ها مشاهده شد. در جمعیت شماره ۲، جمع‌آوری شده از تیریزبوکان در آذربایجان غربی، ۱۸-سینثول (۳۵٫۶۱٪) درصد بالاتری نسبت به سایر جمعیت‌ها داشت. بیشترین مقدار کامفور نیز در همین جمعیت (شماره ۲)، جمع‌آوری شده از بوکان در آذربایجان غربی ارزیابی شد. جمعیت شماره ۱ (جمع‌آوری شده از قوشچی، آذربایجان غربی) بالاترین درصد کامفن (۱۵٫۵۱٪) را نشان داد. بیشترین مقدار پارا-سیمن، آلفا-توجون و بتا-توجون به ترتیب در جمعیت‌های ۱، ۲ و ۴ تعیین شد (جدول ۲).

میزان و ترکیب اسانس: بازده اسانس (حجمی/وزنی، بر اساس جرم خشک) گونه *Anthemis haussknechtii* در جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه از ۰٫۸۶ تا ۱٫۱۴ درصد متغیر بود. نتایج تجزیه و تحلیل اسانس‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که چهارده ترکیب در اسانس‌های *Anthemis haussknechtii* شناسایی شده است، اما تفاوت‌های معنی‌داری بین جمعیت‌ها وجود دارد. سه ترکیب، شامل ۱۸-سینثول، کامفور و کامفن، به طور مداوم

جدول ۲- میزان ترکیبات عمده (درصد) تشکیل دهنده اسانس بخش‌های هوایی *A. haussknechtii* جمع‌آوری شده از جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه در غرب ایران

RI*	Compounds	Populations			
		1	2	3	4
900	n-nonane	8.75	6.2	6.4	2.8
924	Tricyclene	0.37	0.38	-	0.27
930	α -Thujone	14.6	2.62	6.12	11.63
947	Camphene	14.51	4.98	2.09	1.26
972	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	0.35	0.38	-	0.12
994	<i>myrcene</i>	0.8	0.5	-	0.3
1017	<i>para</i> -Cymen-8-ol	0.38	-	-	12.50
1028	<i>p</i> -Cymene	3.81	3.78	1.46	2.38
1031	1,8-Cineole	27.24	35.61	17.15	10.8
1059	γ -Terpinene	0.3	0.43	4.48	-
1100	linalool	2.65	0.9	1.76	2.9
1102	β -Thujone	5.02	1.14	2.27	-
1125	Chrysanthenone	3.42	1.33	3.25	25.09
1143	Camphor	30.68	37.97	28.81	27.97
1258	Carvone	0.21	0.18	4.65	0.22
1263	Chrysanthenyl acetate	0.2	-	5.72	0.86
1406	Z-caryophyllene	3.78	3.2	6.55	4.2
1479	γ -gurjunene	1.6	1.4	0.9	1.2
1522	γ -gurjunene	2.5	2.8	1.7	0.9
1576	Spathulenol	8.65	12.75	19.2	20.50
1582	caryophyllene oxide	6.4	19.7	12.6	18.9

مقادیر بر اساس درصد ارائه شده است. هر داده معرف میانگین سه نمونه است. ۱-۴، جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه

۳. اسانس‌ها رشد سویه‌های باکتریایی را مهار کردند و قطر هاله عدم رشد از ۹٫۰ تا ۴۸٫۰ میلی‌متر، بسته به حساسیت

خواص آنتی‌باکتریال: فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها در برابر هشت سویه باکتریایی مورد مطالعه قرار گرفت (جدول

مگاتریوم و باسیلوس سرئوس نشان داد و اثرات آنها نیز بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مورد مطالعه است. از آنجایی که مقایسه اندازه هاله عدم رشد به تنهایی قابل اعتماد نیست، MIC اسانس گیاهی تهیه شده از جمعیت شماره ۱ نیز طبق روش (2008) NCCLS تعیین شد. نتایج نشان داد که MIC اسانس گیاهی در برابر ارگانسیم‌های مورد آزمایش بین ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در برابر باسیلوس مگاتریوم و ۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر در برابر سیتروباکتر آمالونافیکوس متغیر بود.

باکتری‌های آزمایش شده، ایجاد کردند. برای اسانس جمعیت شماره ۱، میزان عدم رشد مناطق در برابر برخی از سویه‌های باکتریایی (اشرشیا کلی، انتروباکتر آئروژنز، سراتیا مارسسنس و استافیلوکوکوس اورئوس) بالاتر از اسانس‌های سایر جمعیت‌ها بود. اسانس تهیه شده از جمعیت شماره ۲ بالاترین هاله عدم رشد (۲۳.۵ میلی‌متر) را در برابر سیتروباکتر آمالونافیکوس نشان داد. اسانس جمعیت شماره ۳ به ترتیب بالاترین هاله عدم رشد (۳۶، ۴۳ و ۴۸ میلی‌متر) را در برابر استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، باسیلوس

جدول ۳- فعالیت ضد میکروبی اسانس تهیه شده از جمعیت‌های مختلف *A. haussknechtii* بر اساس قطر هاله ممانعت از رشد (میلی‌متر) و حداقل غلظت بازدارنده (MIC)

	Populations					Standard antibiotics			MIC	
	1	2	3	4	A	b	c	d	EOa ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	STD ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Bacteria										
<i>Escherichia coli</i>	28±4	14±2	12.5±4	22±5	24±4.3	-	9±1.4	-	8	8
<i>Enterobacter aerogenes</i>	24±4	19±5	12.5±4	18.5±2	19±4	-	16±3	20±4	11	6
<i>Serratia marcescens</i>	28±6	16±4	14±4	23.5±4	20±5	-	13±1	21±3	8	6
<i>Citrobacter amalonaficus</i>	12±3	23.5±4	14±4	17±2	17±2	-	16±1.6	15±2	10	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	16±2.5	15±3	12±1	16±1.5	21±2	8.5±1	8.2±0.8	9±1	10	4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	17±2	19.5±2	36±5	21±2	23±5	18±2	15.5±3	-	12	4
<i>Bacillus megaterium</i>	26±5	19±4	43±6	25.5±3	22±4	-	15±4	11±2	8	2
<i>Bacillus cereus</i>	18±3	18.5±4	48±8	28±6	25±3	23±3.6	22±4	21±3	9	4

۱-۴، جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه. داده‌ها نشان می‌دهد که اسانس تهیه شده از جمعیت‌های مورد مطالعه در برابر باکتری‌های مورد مطالعه موثر بوده و اثر بازدارندگی رشد دارند. a، کلرامفنیکل؛ b، پنسیلین؛ c، تتراسایکلین؛ d، نالیدیکسیلین اسید؛ EO، اسانس؛ STD، آنتی‌بیوتیک استاندارد کلرامفنیکل، MIC اسانس فقط برای موثرترین جمعیت مورد مطالعه ارزیابی شده است.

(انتروباکتر آئروژنز) و ۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر (سیتروباکتر آمالونافیکوس) مشاهده شد (جدول ۳). آنالیز داده‌ها با روش‌های آماری نشان داد که تفاوتها از نظر آماری معنی‌دار است ($P \leq 0.05$).

بحث

در این پژوهش، چهار جمعیت از گونه *A. haussknechtii* که در مناطق شمال غربی ایران می‌رویند، از نظر ترکیبات اسانس مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج تجزیه و تحلیل اسانس‌های

مقادیر MIC کلرامفنیکل استاندارد بین ۱ تا ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر بود. نتایج نشان داد که آنتی‌بیوتیک استاندارد فعالیت قوی‌تری نسبت به اسانس گیاهی در برابر اکثر سویه‌های باکتریایی نشان می‌دهد، اما در یک مورد (اشرشیا کلی)، اثر اسانس گیاهی بیشتر از کلرامفنیکل است. کمترین MIC (۶ میکروگرم در میلی‌لیتر) برای اسانس در برابر باسیلوس مگاتریوم و برای سایر سویه‌های باکتریایی ۷ (اشرشیا کلی)، ۸ (استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، سنت اورئوس، باسیلوس سرئوس و سراتیا مارسسنس)، ۱۰

۲) فعالیت ضد باکتریایی آن علیه برخی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد. نتایج آزمایش‌های ضد باکتریایی، فعالیت‌های خوب اسانس‌ها را در برابر سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه نشان داد (جدول ۳). MIC اسانس اسانس در برابر برخی از سویه‌های باکتریایی بالا و حتی بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد بود، در برخی موارد، و در غلظت‌های پایین مهار قابل توجهی نشان داد. از سوی دیگر، می‌توان از جدول ۳ نتیجه گرفت که اسانس‌های *A. haussknechtii* اثر مهاری قابل توجهی در برابر همه سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه دارند. از آنجایی که بین ترکیب شیمیایی اسانس‌ها و فعالیت‌های ضد باکتریایی آنها رابطه‌ای وجود دارد (۱۶-۱۲)، می‌توان گفت که فعالیت ضد باکتریایی بالای اسانس‌های اسانس *A. haussknechtii* ظاهراً مربوط به وجود ۱،۸-سینئول، کامفور، کامفن، α -توجون، β -توجون و p -سیمن است. برخی گزارش‌های قبلی نیز نشان داده‌اند که ۱،۸-سینئول و کامفور دارای خواص ضد باکتریایی هستند (۱۷، ۱۸)، کامفور و پارا-سیمن (۲۳ - ۲۰) (کامفن و پارا-سیمن و β -thujene (۲۰) فعالیت ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند. با این وجود، سایر اجزای جزئی موجود در اسانس‌های اساسی این گونه ممکن است بر فعالیت ضد باکتریایی آن تأثیر بگذارند. بر اساس نتایج ما، جمعیت‌های شماره ۱ و ۳ حاوی بیشترین مقدار کامفن و همچنین درصد بالایی از کامفور و ۱،۸-سینئول در کل بود و فعالیت ضدباکتریایی در این جمعیت نیز بالا است.

علاوه بر این، نتایج ما نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی به اسانس‌ها حساس‌تر هستند. نتایج مشابهی قبلاً توسط برخی محققان دیگر گزارش شده است (۲۴، ۲۸، ۳۰-۳۳). اثر ضدباکتریایی علیه دو باکتری گرم مثبت (*Bacillus megaterium* و *B. cereus* بیشترین و کمترین فعالیت ضدباکتریایی علیه یک باکتری گرم منفی (*Citrobacter amalonaficus*) بود. با توجه به سه ترکیب (۱،۸-سینئول، کامفن و کامفور) به عنوان اجزای اصلی اسانس‌ها جمعیت‌های مختلف بود می‌توان نتیجه

اسانسی، وجود چهارده ترکیب اصلی را در اسانس‌های *A. haussknechtii* نشان داد. ۱،۸-سینئول، کامفور، کامفن، α -توجون، β -توجون و p -سیمن بیشترین مقدار را داشتند و در بین آنها، ۱،۸-سینئول، کامفور و کامفن در اسانس‌های اسانسی همه جمعیت‌ها مشترک بودند. نتایج ما با نتایج منتشر شده توسط برخی از پژوهشگران پیشین (۴-۱) که ۱،۸-سینئول، کامفن و کامفور را به عنوان اجزای اصلی اسانس *A. haussknechtii* معرفی کردند، تفاوت دارد و بسیار شبیه به گزارش‌های *Aleskerova* و همکاران است (۹). برخی پژوهش‌ها نشان دادند ترکیبات اصلی اسانس ضروری، کافور و ۱،۸-سینئول هستند، اما با برخی گزارش‌های دیگر متفاوت است (۴).

در یک مطالعه، ترکیبات اصلی اسانس‌های *A. haussknechtii* به عنوان کافور، لیمونن، ۱،۸-سینئول و کامفن گزارش شدند ۱،۸-سینئول، لیمونن، کامفور، کامفن و β -توجون نیز به عنوان ترکیبات اصلی در اسانس *A. haussknechtii* گزارش شدند (۱، ۴، ۸، ۹، ۱۵، ۱۷).

تفاوت‌های یافت‌شده بین نتایج ما و نتایج سایر نویسندگان را می‌توان به این واقعیت نسبت داد که اسانس گروهی ناهمگن از مخلوط‌ها هستند که تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند. کیفیت و کمیت اسانس به مراحل رشد، شرایط اکولوژیکی و سایر عوامل بر اساس نحوه استخراج اسانس ضروری مرتبط است (۱۱، ۲۸، ۳۳). از آنجایی که ترکیبات اسانس ضروری همه جمعیت‌ها با درصد بالای ۱، ۸-سینئول، کامفور و کامفن مشخص شدند، می‌توانیم شیمیوتایپ ۱، ۸-سینئول/کامفور/کامفن را در جمعیت‌های *A. haussknechtii* در مناطق شمال غربی ایران معرفی کنیم. با در نظر گرفتن شرایط جغرافیایی مختلف برای جمعیت‌های مورد مطالعه (جدول ۱)، نتوانستیم رابطه مشخصی بین شرایط محیطی و ترکیبات اسانس ضروری گیاهان پیدا کنیم.

از آنجایی که *A. haussknechtii* یک گیاه دارویی است (۱)،

شیمیایی ۱۸-سینئول/کامفور/کامفن در مناطق شمال غربی ایران معرفی شد، اما تنوع شیمیایی بالایی بین جمعیت‌ها وجود دارد. یافته‌ها همچنین نشان داد که اسانس‌های اساسی *A. haussknechtii* فعالیت‌های ضد باکتریایی عالی دارند و بنابراین پتانسیل زیادی برای استفاده به عنوان منبعی برای محصولات بهداشتی طبیعی دارند، اما کیفیت اسانس و فعالیت بیولوژیکی آن به شرایط اکولوژیکی رشد آن مربوط می‌شود. این بدان معناست که خواص بیولوژیکی گیاهان دارویی، به عنوان مثال فعالیت ضدباکتریایی، نه تنها از نظر ژنتیکی، بلکه تحت تأثیر شرایط محیطی و جغرافیایی رشد آنها نیز قرار می‌گیرد.

گرفت که فعالیت ضدباکتریایی بالا علیه *Bacillus megaterium* و *B. cereus* مربوط به وجود ترکیبات فوق است. همچنین مشخص است که فعالیت‌های ضدباکتریایی یا بیولوژیکی اسانس و عصاره‌های گیاهان دارویی ممکن است بر اساس تغییرات در ترکیب شیمیایی آنها که ممکن است مربوط به منشأ، محل، شرایط محیطی و مراحل رشد مواد گیاهی جمع‌آوری شده باشد، تغییر کند (۸،۱۱) و با این حال، ترکیبات اصلی یا فرعی ممکن است باعث فعالیت ضد میکروبی نشان داده شده شوند (۱۶، ۱۸، ۲۲، ۲۸، ۳۲).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که ۱۸-سینئول، کامفور و کامفن ترکیبات اصلی جمعیت‌های مورد مطالعه هستند، بنابراین وجود تیپ

منابع

۲-کنشلو ف.، سفید کن ف.، کنشلو ه.، علیزاده م.ع. (۱۳۹۵). بررسی کمی و کیفی اسانس نه جمعیت کاشته شده *Anthemis pseudocotula* Biss. علوم باغبانی ایران. ۴۷: ۷۳۸-۷۳۱.

۱-کنشلو ف.، سفید کن ف.، کنشلو ه.، علیزاده م.ع. (۱۳۹۶). بررسی کمی و کیفی اسانس هشت جمعیت کاشته شده *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reutt. دو ماهنامه علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۳: ۹۴۱-۹۴۹.

3-Adams RP. (1995). Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Carol Stream: Allured Publishing.

4-Aleskerova AN, Fokina GA, Serkerov SV. (1986). Composition of the essential oils of *Artemisia fragrans*, *A. spicigera* and *A. szowitziana*. Chem Natu Comp, 22, 116-117.

5-Amin Salehi M., Abdolkarim Chehregani Rad A., Afshar S., Hooker J., Maleki S., Golshani A. and Samanfar B. (2024). Evaluation of phenolic content, antimicrobial susceptibility, and cytotoxic effects of *Vaccinium corymbosum* L. fruit extracts at different ripening stages. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 64: 1-14.

6-Awouafack MD, Kouam SF, Hussain H, Ngamga D, Tane P, Schulz B, Green IR, Krohn K. (2008). Antimicrobial prenylated dihydrochalcones from *Eriosema glomerata*. *Planta Med*, 74, 50-54.

7-Bounatirou S, Smiti S, Miguel MG, Faleiro L, Rejeb MN, Neffati M, Costa MM, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG. (2007). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitus* Hoff. et Link. *Food Chem*, 105, 146-155.

8-Bulatovic, V. M., Menkovic, N. R., Vajs, V. E., Milosavljevic S. M. & Djokovic, D. D. (1997). Essential oil of *Anthemis carpatica*. *Journal Essential Oil Research*, 9, 397-400.

9-Bulatovic, V. M., Menkovic, N. R., Vajs, V. E., Milosavljevic S. M. & Djokovic, D.D. (1998). Essential oil of *Anthemis montana*. *Journal Essential Oil Research*, 10, 223-226.

10-Chavan, M. J., Wakte, P. S. & Shinde, D. B. (2010). Analgesic and anti-inflammatory activity of caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. *Phytomedicine*, 17, 149-151.

11-Chehregani A, Mohsenzadeh F, Mirazi N, Hajisadeghian S, Baghali Z. (2010). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Tripleurospermum disciforme* in three developmental stages. *Pharm Biol*, 48, 1280-1284.

12-Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, Totté J, Pieters L, Vlietinck AJ. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J Ethnopharmacol*, 79, 213-220.

- 13-Forbes AA, Sahm DF, Weissfeld AS, Trevino EA. (1990). Method for testing antimicrobial effectiveness. In: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM, eds. *Bailey Scott's Diagnostic Microbiology*. St. Louis: Mosby, 171-194.
- 14-Ghelardini, C., Galeotti, N., Mannelli, L. D. C., Mazzanti, G. & Bartolini, A. (2001). Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. *II Farmaco*, 56, 387-389.
- 15-Goren, A. C., Piozzi, F., Akcicek, E., Kılıç, T., Çarıkçı, S., Mozioglu, E. & Setzer, W. N. (2011). Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 448-453.
- 16-Güllüce M, Sökmen M, Daferera D, Agar G, Ozkan H, Kartal N, Polissiou M, Sökmen A, Sahin F. (2003). In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. *J Agric Food Chem*, 51, 3958-3965.
- 17-Imelouane B, Amhamdi H, Wathelet JP, Ankit M, Khedid K, El Bachiri A. (2009). Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Int J Agric Biol*, 11, 205-208.
- 18-Jalsenjak V, Peljnjak S, Kustrak D. (1987). Microcapsules of sage oil: Essential oils content and antimicrobial activity. *Pharmazie*, 42, 419-420.
- 19-Jennings WG, Shibamoto T. (1980). Quantitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary GC. New York: Academic Press.
- 20-Joulain D, Koenig WA, Hochmuth DH. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils. Hamburg: Hamburg Library of Mass Finder 2.1.
- 21-Joulain D, Koenig WA. (1998). The atlas of spectra data of sesquiterpene hydrocarbons. Hamburg: E.B.-Verlag.
- 22-Kotan R, Kordali S, Cakir A. (2007). Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Z Naturforsch, C, J Biosci*, 62, 507-513.
- 23-Legault, J. & Pichette, A. (2007). Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of alpha humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(12), 1643-16437.
- 24-Mangena T, Muyima NY. (1999). Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letts Appl Microbiol*, 28, 291-296.
- 25-Mann, C. & Staba, E. J. (1986). The chemistry, pharmacology and commercial formulation of chamomile. Herbs Spices and Medicinal plants, Recent Advances in Botany, Craker L. E. and Simon J. E. editors. Horticulture, and Pharmacology, Vol. 1, Oryx Press, Phoenix, AZ, p: 235-280.
- 26-Marotti, M., Dellacecca, V., Piccaglia, R. & Glovanelli, E. (1993). Agronomic and chemical evaluation of three varieties of *Foeniculum vulgare* Mill. *Acta Horticulture*, 331, 63-69.
- 27-Mc Lafferty FW, Stauffer DB. (1989). The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. New York: John Wiley.
- 28-Minaiyan M, Ghassemi-Dehkordi N, Mohammadzadeh B. (2006). Antiulcer effect of *Tripleurospermum disciforme* (C.A. Mey) Shultz Bip on pylorus ligated (Shay) rats. *Res Pharmaceut Sci*, 1, 15-21.
- 29-Mohsenzadeh F, Chehregani A, Amiri H. (2011). Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different developmental stages. *Pharm Biol*, 49, 920-926.
- 30-Moreira MR, Ponce AG, De Valle CE, Roura SI. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-LWT*, 38, 565-570.
- 31-Ouattara B, Simard RE, Holley RA, Piette GJ, Bégin A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *Int J Food Microbiol*, 37, 155-162.
- 32-Ozcan M, Erkmén O. (2001). Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. *Euro Food Res Technol*, 212, 658-660.

Essential Oil Composition Diversity in Some Populations of *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut. in Northwestern Iran: Chemical Composition and Antibacterial Activity

Mohsenzadeh F.¹ and Chehregani Rad P.²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamadan, I.R. of Iran.

² Department of Pharmacology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The plant *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut., belonging to the Asteraceae family, is a bushy perennial species generally distributed in Armenia, Iran, and central Anatolia. This species has been traditionally used in medicines. The aim of this research was to study the chemical composition and antibacterial activity of the essential oils from some populations of *A. haussknechtii* in northwestern and western Iran. The essential oil of *A. haussknechtii* was obtained by hydro-distillation from four populations collected from different areas of West Azerbaijan and Hamadan provinces and was analyzed by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). The antibacterial activity of the essential oils was investigated against four Gram-positive and four Gram-negative bacteria using MIC determination and the agar-gel diffusion method. Based on the results, fourteen compounds were identified as the main constituents of the essential oils, with the most abundant compounds being 1,8-cineole, camphor, α -thujone, camphene, β -thujone, and p-cymene. Population No. 1 exhibited the highest activity against *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, and *Staphylococcus aureus*, while the highest activity against *St. saprophyticus*, *Bacillus megaterium*, and *B. cereus* was observed in population No. 3, and against *Citrobacter amalonaficus* in population No. 4. The MIC values of the essential oils ranged from 6 $\mu\text{g/mL}$ against *Bacillus megaterium* to 12 $\mu\text{g/mL}$ against *Citrobacter amalonaficus*. This study demonstrates the presence of the 1,8-cineole/camphor/camphene chemotype in *A. haussknechtii*, but there is also significant chemical diversity among the studied populations. The findings indicate that the studied essential oils possess good antibacterial activity and can therefore be used as natural health products.

Keywords: Biological Activity, Chemical Compounds, Volatile Compounds, Essential Oil, Antimicrobial