

ارزیابی میزان پارتنولاید در جمعیت‌های بابونه کبیر *Tanacetum parthenium* بومی ایران

ریحانه زندی^۱، محمدحسین میرجلیلی^{۲*}، علی سنبلی^۳، حسن رضادوست^۳
^{۱*} پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، گروه کشاورزی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
^۲ پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، گروه بیولوژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
^۳ پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، گروه فیتوشیمی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
*نویسنده مسئول: m-mirjalili@sbu.ac.ir

چکیده

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*) متعلق به خانواده آستراسه^۱ می‌باشد و پراکنش جهانی دارد. منشأ آن جنوب شرقی اروپا و آسیا می‌باشد. *T. parthenium* مصارف دارویی گسترده‌ای از جمله درمان تب، حالت تهوع، التهاب مفاصل را دارد اما خواص ضدسرطان و ضدمیگرنی آن در حال حاضر مورد توجه می‌باشد. این گیاه منبع غنی از سزکوئی‌ترین لاکتون‌ها به خصوص پارتنولاید (Parthenolide) می‌باشد و از این رو تقاضا برای آن به صورت جهانی در حال افزایش می‌باشد. از آنجاکه جمعیت‌های متفاوتی از این گونه در ایران وجود دارد، آزمایشی در جهت بررسی میزان پارتنولاید آن‌ها طراحی شد. در این آزمایش از نتایج کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) استفاده شد که در طی آن عصاره‌های تهیه شده با استونیتریل: آب (۱:۹) از ۱۲ جمعیت گیاه بابونه کبیر به دستگاه تزریق شد. نتایج حاصل، میزان پارتنولاید متفاوت از ۰/۰۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه در آهار تهران تا ۲/۸۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه در دزباد بالا نیشابور را نشان داد. باتوجه به میزان اندک تولید پارتنولاید در این گیاه و اقتصادی نبودن جمع‌آوری گیاه از طبیعت و استخراج ماده مؤثره موردنظر، می‌توان از نتایج این آزمایش در جهت انتخاب جمعیت برتر استفاده کرد و در شرایط آزمایشگاهی که بستر مناسب و تحت کنترلی می‌باشد به تولید این ماده اقدام نمود. در نتیجه سرمایه‌گذاری برای کشت بافت این گیاه مقرون به صرفه اقتصادی می‌باشد و می‌تواند راه را برای تولید انبوه با کیفیت فراهم کند و همچنین شرایط برای مطالعات بیشتر و بهبود تکنیک‌های بیوتکنولوژی را به وجود بیاورد.

کلمات کلیدی: آستراسه، بابونه کبیر، تولید انبوه، کشت بافت، HPLC.

مقدمه

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*)، تاریخچه بسیار جالبی دارد؛ این گیاه سالیان سال برای سردرد، آرتریت و زخم‌های پوستی استفاده می‌شده است. همچنین این گیاه برای کاهش و رفع تب به کار برده شد که از آن به بعد با نام Feverfew شناخته می‌شود (University of Maryland, medical center). در کنار تمامی این‌ها، خواص ضدمیگرنی، ضداسپاسم و التهاب، میکروب و آنتی‌اکسیدانی هم برای بابونه کبیر ذکر شده است (Pareek et al. 2011). Feverfew متعلق به خانواده آستراسه و زیر خانواده آنتیمیده^۲ می‌باشد. منبع آن در بالکان و آناتولی است که امروزه بیشتر در اروپا، آسیا، استرالیا و ایالات متحده دیده می‌شود (Pareek et al. 2011). پراکنش بابونه کبیر را در بخش‌های شمالی، شمال شرقی، شمال غربی و مرکزی ایران می‌توان مشاهده کرد (Mozaffarian 2007). عصاره *T. parthenium* حاوی سزکوئی‌ترین لاکتون با ارزشی به نام پارتنولاید^۳ می‌باشد. به دلیل حضور این ماده، بابونه کبیر گیاهی قابل توجه

¹ Asteraceae

² Anthemideae

³ Parthenolide

در صنعت دارو و غذا به شمار می‌آید (Pareek *et al.* 2011). استفاده‌های مختلف دارویی و مطالعات انجام گرفته، نشان می‌دهد که این گیاه می‌تواند برای سردردهای میگرنی و انواع سرطان مفید واقع شود. به همین سبب تقاضا برای این ماده ارزشمند رو به افزایش می‌باشد و ما تصمیم گرفتیم که میزان پارتنولاید در ۱۲ جمعیت بابونه کبیر بومی ایران را مورد بررسی قرار دهیم و با توجه به نتیجه آزمایش بتوانیم راهبردهایی نظیر معرفی جمعیت برتر در نمونه‌های مورد آزمایش از نظر میزان پارتنولاید، توجیه اقتصادی بودن تکنیک کشت بافت و پیشنهاد به‌کارگیری این روش برای جمعیت مورد نظر، ایده پردازی برای تولید انبوه و با کیفیت پارتنولاید و بررسی تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌ها را مطرح و بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در ۱۲ جمعیت بابونه کبیر «جدول ۱»، اندام هوایی خشک و پودر شده برای عصاره‌گیری مورد استفاده قرار گرفته شد.

مواد شیمیایی

استاندارد پارتنولاید از شرکت فایتولب (CAS 20554-84-1, Dutendorfer Straße, Germany) تهیه شد. استونیتریل دستگاه HPLC برای آنالیزها از شرکت مرک^۵ (Darmstadt, Germany) تهیه شد و آب دیونیزه (18.2 MΩ.cm) تولیدی از دستگاه Milipore Direct-Q3 UV به‌عنوان آب HPLC در نظر گرفته شد و برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفت.

عصاره‌گیری

عصاره‌گیری با پروتکل Chaves *et al.* 2008 انجام شد که طی آن ۱۰۰ میلی‌گرم از گیاه پودر شده با ۱۰ میلی‌گرم استونیتریل: آب (۱:۹) بعد از ۱۵ دقیقه التراسونیک استخراج انجام شد.

کروماتوگرافی

تمامی مراحل توسط دستگاه کروماتوگرام مایع با کارایی بالا Waters Alliance e2695 Separations Module انجام شد. تمامی جداسازی با ستون KNAUER C18 (Eurosphere, 5μm, 250 mm×4.6 mm) صورت گرفت. سرعت جریان قسمت سیال ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. فاز سیال A، آب و فاز سیال B، استونیتریل بود. ستون در دمای محیط قرار گرفت و طول موج فرابنفش روی ۲۲۰ نانومتر تنظیم شد.

⁴ Phytolab

⁵ Merck

⁶ deionized

جدول ۱- مختصات جغرافیایی محل‌های جمع‌آوری

ردیف	نام نمونه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۱	سمنان، شه میرزاد	۳۵°۴۷'	۵۳°۱۸'	۲۳۸۰
۲	گیلان، ماسوله	۳۷°۱۰'	۴۸°۵۹'	۱۱۹۳
۳	قم، روستای اول	۳۴°۱۶'	۵۰°۵۹'	۲۵۰۱
۴	لرستان، ازنا	۳۳°۱۸'	۴۹°۱۶'	۲۳۵۰
۵	همدان، روستای مراد بیگ	۳۵°۳۴'	۴۸°۲۶'	۱۸۵۰
۶	لرستان، دره دورک	۳۳°۰۶'	۴۰°۱۶'	۱۹۱۴
۷	خراسان، نیشابور، دیزباد بالا	۳۶°۶۴'	۵۹°۲۸'	۱۶۸۰
۸	یزد، ده بالا	۳۱°۳۶'	۵۴°۰۷'	۲۴۶۴
۹	تهران، کوه توچال	۳۵°۴۷'	۵۱°۲۴'	۳۰۰۰
۱۰	تهران، آهار	۳۵°۵۴'	۵۱°۳۰'	۱۹۹۵
۱۱	کاشان، قمصر	۳۳°۴۴'	۵۱°۲۵'	۱۹۱۰
۱۲	قم، روستای وشنو	۳۴°۳۲'	۵۰°۵۳'	۱۰۷۵

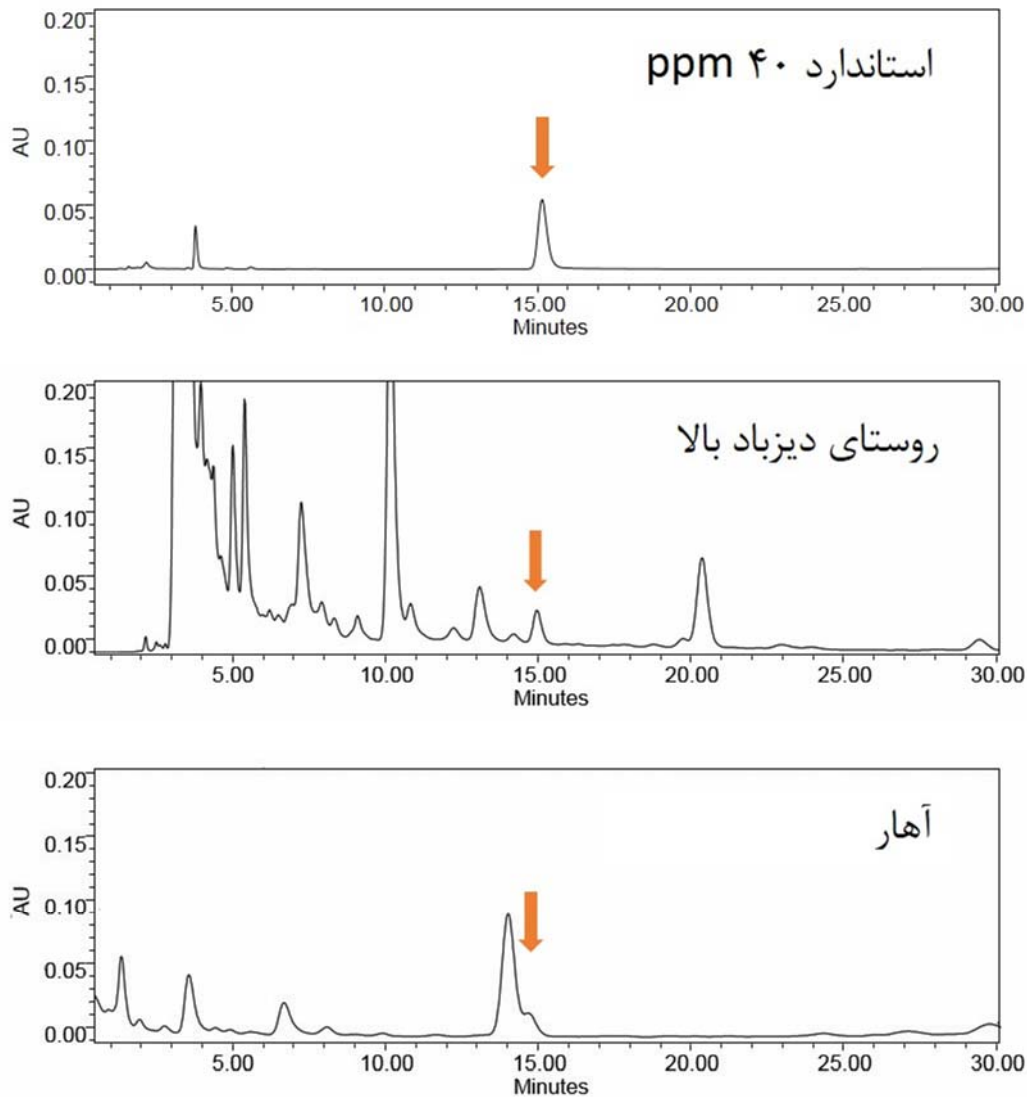
نتایج و بحث

دستگاه‌های شناسایی متفاوتی از قبیل کروماتوگرافی، طیف‌سنجی و آنالیزهای حرارتی موجود هستند (Choudhary *et al.* 2011). از میان آن‌ها HPLC به دلیل کارایی بالا، دقت و سرعت برای انجام این آزمایش انتخاب شد.

آنالیزهای انجام شده با دستگاه HPLC نشان داد که سزکوئی‌ترین لاکتون هدف ما (پارتنولاید) میزان متفاوتی در ۱۲ نمونه دارد «جدول ۲» «شکل ۱». محتوای پارتنولاید به دست آمده در بیشترین حالت برای نمونه ۷ (نیشابور) می‌باشد که برابر با ۲,۸۱۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه و در کمترین میزان برابر با ۰,۰۲۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه برای نمونه ۱۰ (آهار) می‌باشد.

جدول ۲- میزان پارتنولاید در جمعیت‌های *T. parthenium* بومی ایران

نمونه	کد نمونه	میزان پارتنولاید (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه)
سمنان، شه میرزاد	۱	۰/۰۶۹
گیلان، ماسوله	۲	۰/۱۳۰
قم، روستای اول	۳	۰/۰۷۴
لرستان، ازنا	۴	۰/۴۱۵
همدان، روستای مراد بیگ	۵	۰/۱۷۸
لرستان، دره دورک	۶	۰/۵۷۹
خراسان، نیشابور، دیزباد بالا	۷	۲/۸۱۱
یزد، ده بالا	۸	۰/۱۰۱
تهران، کوه توچال	۹	۰/۰۳۳
تهران، آهار	۱۰	۰/۰۲۴
کاشان، قمصر	۱۱	۰/۰۲۷
قم، روستای وشنو	۱۲	۱/۰۲۸



شکل ۱- کروماتوگرام پارتنولاید: استاندارد، روستای دیزباد بالا (بیشترین میزان پارتنولاید) و آهار (کمترین میزان پارتنولاید)

مطالعات نشان می‌دهد که شرایط کشت و اقلیم، مواد شیمیایی موجود در گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Hadian, et al. 2011, Aghaei, et al. 2013, Khadivi-Khub, et al. 2014). تفاوت مشاهده شده در میزان پارتنولاید می‌تواند دلایل گسترده‌ای داشته باشد که به‌عنوان مثال می‌توان به نقش اصلی شرایط محیطی و کشت و کار اشاره کرد. Hanover 1992، بیان کرد که بیوسنتز ترپن‌ها به شدت وابسته به ژنتیک و شرایط محیطی می‌باشد. با توجه به این موضوع می‌توان بررسی ژنتیکی را هم به‌عنوان کار بعدی در دست اقدام قرار داد.

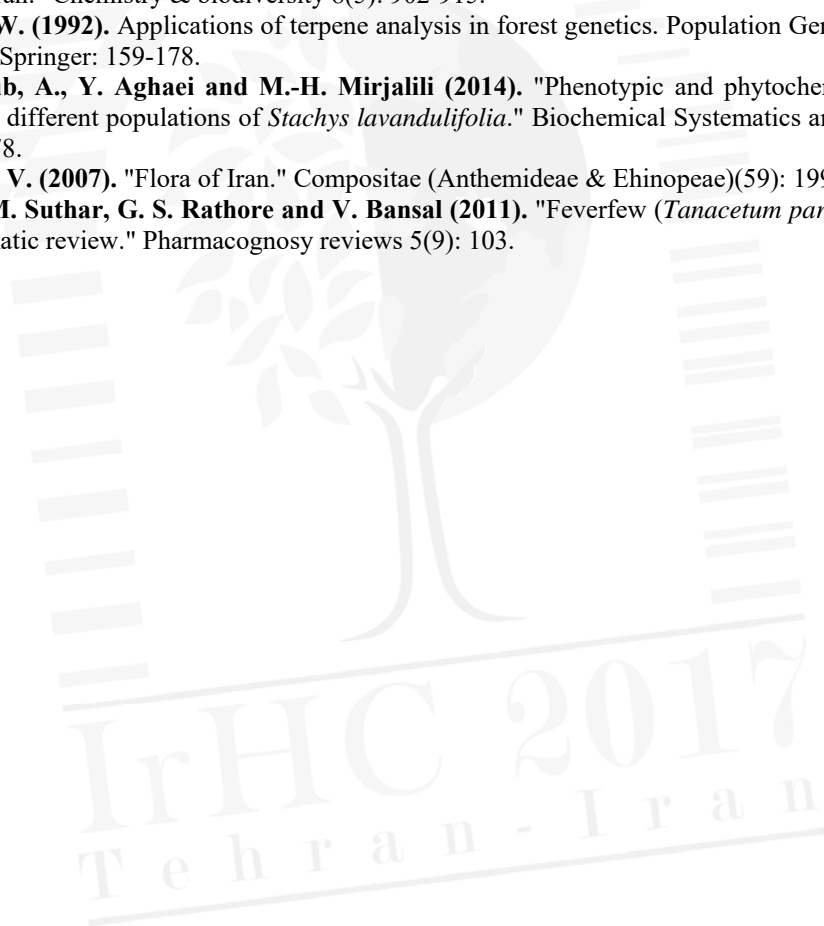
مطالعه ما نشان داد که بابونه کبیر منبع خوبی برای پارتنولاید، ماده‌ای مناسب برای بیماری‌های کلیدی عصر حاضر مانند میگرن و سرطان، می‌باشد. براساس نتایج حاصل از آنالیز HPLC و مشخص شدن برتری نمونه جمع‌آوری شده از روستای دیزباد بالا واقع در شهر نیشابور، احتمالاً نشان‌دهنده این است که تفاوت در اقلیم و شرایط رویش در میزان ماده مؤثره تأثیر دارد و در کنار آن این امکان را به ما می‌دهد تا با بررسی شرایط آزمایشگاه، استفاده از تکنیک‌های متفاوت کشت بافت و در ادامه آن بهره‌وری از مهندسی متابولیک، میزان این ماده ارزشمند را افزایش دهیم و استخراج آن را از نظر اقتصادی توجیه کنیم و در نهایت به تولید انبوه برسیم.

سیاسگزاری

نویسنده‌ها از دانشگاه شهید بهشتی برای حمایت مالی این پروژه تشکر و قدردانی می‌کنند. همچنین تشکر ویژه از آقای حمید احدی در راستای همکاری ایشان برای آنالیزهای HPLC را داریم.

منابع

- Aghaei, Y., M. Hossein Mirjalili and V. Nazeri (2013). "Chemical diversity among the essential oils of wild populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl (Lamiaceae) from Iran." *Chemistry & biodiversity* 10(2): 262-273.
- Chaves, J. S. and F. B. Da Costa (2008). "A proposal for the quality control of *Tanacetum parthenium* (feverfew) and its hydroalcoholic extract." *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18(3): 360-366.
- Choudhary, N. and B. S. Sekhon (2011). "An overview of advances in the standardization of herbal drugs." *Journal of Pharmaceutical Education and Research* 2(2): 55.
- Hadian, J., M. Hossein Mirjalili, M. Reza Kanani, A. Salehnia and P. Ganjipoor (2011). "Phytochemical and morphological characterization of *Satureja khuzistanica* Jamzad populations from Iran." *Chemistry & biodiversity* 8(5): 902-915.
- Hanover, J. W. (1992). *Applications of terpene analysis in forest genetics. Population Genetics of Forest Trees*, Springer: 159-178.
- Khadivi-Khub, A., Y. Aghaei and M.-H. Mirjalili (2014). "Phenotypic and phytochemical diversity among different populations of *Stachys lavandulifolia*." *Biochemical Systematics and Ecology* 54: 272-278.
- Mozaffarian, V. (2007). "Flora of Iran." *Compositae (Anthemideae & Ehinopeae)*(59): 199-261.
- Pareek, A., M. Suthar, G. S. Rathore and V. Bansal (2011). "Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review." *Pharmacognosy reviews* 5(9): 103.



Parthenolide Evaluation in *Tanacetum parthenium* Populations from Iran

Reyhaneh Zandi¹, Mohammad Hossein Mirjalili^{1*}, Ali Sonboli², Hassan Rezadoost³

^{1*} Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti, University, G. C., Evin, Tehran, 1483963113, Iran

² Department of Biology, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti, University, G. C., Evin, Tehran, 1483963113, Iran

³ Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid, Beheshti University, G. C., Evin, Tehran, 1483963113, Iran

*Corresponding Author: m-mirjalili@sbu.ac.ir

Abstract

Tanacetum parthenium (L.) Schultz-Bip. (Feverfew) is classified as Asteraceae family which has global distribution and originated from south-eastern Europe and Asia. *T. parthenium* has a wide variety of medical applications including relieving fever, nausea and inflammation. Still, anti-cancer and anti-migraine properties have received considerable attention. This plant is a rich source of sesquiterpene lactones especially Parthenolide (PN) which has widely useful medical properties. Therefore, there is increasingly substantial demand for PN all over the world. Due to fact that various types of this species exist in Iran, this study investigated the amount of PN in them. To this end, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was employed. During this process, the extracts produced with MeCN: H₂O (9:1) from 12 types of *T. parthenium* were injected in the system. The results indicated different amount of PN ranging from 0.024 to 2.811(mg/g_{DW}). With regards to the small amount of PN production in this plant and heavy costs of collecting it from nature, the results can be contribute to selecting the most efficient type of this species and producing PN in laboratory which is under control. Hence, any investment for tissue culturing can be cost-efficient followed by high quality mass production of it. Also, this study can be an impetus for further investigation and enhancement of biotechnological methods.

Keywords: Anti-cancer, Anti-migraine. Asteraceae, Feverfew, HPLC, Plant tissue culture

