

بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس گل و برگ گیاه *Anthemis cotula* L. از استان گیلان

محمد باقر رضایی^{۱*}، کامکار جایمند^۱

۱- اعضاء هیات علمی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
*آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۱۶-۱۳۱۸۵، تلفن و نمابر: ۵-۴۴۱۹۵۹۰۱ (۰۲۱)
پست الکترونیک: mrezaee@rifr-ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۱۵

تاریخ تصویب: ۸۶/۲/۲۰

چکیده

مقدمه: جنس بابونه یا *Anthemis* از خانواده Asteraceae می‌باشند، که حدود ۱۳۰ گونه از جنس آن در جهان انتشار دارند، این جنس در ایران ۳۹ گونه گیاه علفی یک ساله و چند ساله دارد. طبق منابع روی این گونه تحقیقی صورت نگرفته است.
هدف: هدف از این مطالعه، بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس گل و برگ گیاه *Anthemis cotula* L. از استان گیلان است.

روش بررسی: در این بررسی نمونه در اواسط خرداد ۱۳۸۴ از رودبار در استان گیلان جمع‌آوری گردید. ترکیب‌های روغن‌های فرار از گل و برگ به روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری و توسط دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شد.

نتایج: ترکیب‌های عمده در گل عبارتند از: N-nonadecane (۱۰/۸ درصد)، cedrane (۹/۲ درصد) و (E,E)- α -farnesene (۶ درصد) و ترکیب‌های عمده در برگ عبارتند از: 1-eicosane (۱۱ درصد)، benzyl salicylate (۸/۹ درصد) و aromadendrene (۷/۱ درصد) می‌باشد.

نتیجه‌گیری: بنابراین با توجه به تحقیق صورت گرفته و بررسی تحقیقات دیگر محققین تفاوت در نوع و میزان ترکیب‌ها در گونه *Anthemis cotula* L. با سایر گونه‌ها وجود دارد.

گل‌واژگان: بابونه، اسانس، *Anthemis cotula* L.، N-nonadecane



مقدمه

از آنجا که گیاهان دارویی در دنیا جهت تغذیه و درمان بیماری‌ها بسیار موثر و از اهمیت خاصی برخوردار است، توجه به ترکیب‌های موجود در گونه‌های دارویی و معطر به خصوص گونه‌های بومی کشور، مورد توجه محققین و پژوهشگران این رشته قرار گرفته است. هم‌اکنون کشور ما غنی از این گونه‌های مهم می‌باشد. در این راستا محققین اقدام به بررسی مناطق رویشی آن‌ها نموده و برحسب اولویت‌ها نسبت به شناسایی ترکیب‌های موجود در آن و بومی بودن گونه اقدام نموده‌اند. جنس بابونه یا *Anthemis* از خانواده *Asteraceae* می‌باشند، که حدود ۱۳۰ گونه از جنس آن در جهان انتشار دارند، این جنس در ایران ۳۹ گونه گیاه علفی یک ساله و چند ساله دارد، که تعداد ۱۵ گونه آن انحصاری در ایران و دیگر گونه‌ها، علاوه بر ایران در عراق، افغانستان، پاکستان، آنتولی، آسیای مرکزی، لیبی، قبرس، سینا، سوریه، فلسطین، ماورای قفقاز، تالش، ترکمنستان، لبنان و قفقاز نیز می‌رویند [۱]. بعضی از گونه‌های این خانواده عبارتند از *Anthemis*, *Matricaria*, *Chrysanthemum*, *Pyrethrum*. در میان گونه‌های این خانواده، بابونه، *Matricaria chamomilla* شناخته‌تر از دیگر گونه‌ها می‌باشد، ترکیب‌های عمده روغن فرار این گونه عبارتند از: آلفا - بیسابولول و کامازولین که در بعضی ترکیب‌ها گونه‌های این خانواده مشترک دارند. این تحقیق برای اولین بار روی این گونه صورت می‌گیرد، از این‌رو ترکیب‌های شناسایی شده در آن از اهمیت، خاصی برای صنایع مختلف برخوردار است. طبق منابع موجود، ترکیب‌های شیمیایی موجود، در گونه *Anthemis nobilis* L. شامل فلاونوئیدها، اسیدهای پلی فنولیک، ترپن‌ها، و سزکویی‌ترین‌ها هستند، که توسط Klimes و Teedrogen گزارش شده است [۹، ۱۶]. Pascual و Bicchi & Frattini نیز طبق تحقیقاتی که روی اسانس دو گونه از این جنس انجام داده‌اند تفاوت در میزان و نوع ترکیب را تایید نموده‌اند [۳، ۱۲]. اطلاعات شیمیایی در رابطه با کمیت و کیفیت ترکیب‌های اسانس گونه *A. carpatica* برای اولین بار مورد بررسی و

تجزیه و تحلیل قرار گرفته و ترکیب *Anthemideae* از خانواده گیاهی *Asteraceae* مشاهده شده است [۴]. در ادامه گزارش‌ها ترکیب‌های اسانس گل و برگ در گونه *A. montana* تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است [۶]. با بررسی ریشه گونه *A. montana* وجود ترکیب *dehydroneryl isovalerate* مورد تایید (Herisset و Nahrstedt) قرار گرفته است [۸، ۱۱]. همچنین با توجه به اهمیت گونه‌های این خانواده که بومی ایران هستند (Bicchi, et al. 1987) با بررسی اسانس گونه‌های *A. nobilis* و *A. ruthenica* ترکیب‌های متفاوتی را در آن مشاهده نمودند. [۳، ۴]. Thomas گزارش کرد که ترکیب‌های 2-methylidene-1,3-propanediol و 1,3-butanediol esterified همراه ترکیب‌های *angelic acid* و *isobutyric acid* در اسانس گونه *Roman camomile* را مشاهده نموده است [۱۷]. مطالعه دیگری نیز از طرف Nano و همکارانش روی اسانس گونه *A. nobilis* (که توسط آقای Lawrence نیز مجدداً مورد بررسی قرار گرفته است) انجام شده است که ترکیب‌های موجود در آن به نسبت بعضی از گونه‌های این خانواده متفاوت ذکر کرده است [۱۰]. در تحقیق دیگری ترکیب‌های اسانس گونه *A. ruthenica* نیز با اسانس گونه *Matricaria chamomilla* مقایسه شد [۱۴] و تفاوت در میزان بازده و ترکیب‌ها مشاهده گردید. بررسی گونه‌های بومی به خصوص گونه‌های بابونه در شرایط مختلف آب و هوایی ایران و تعیین روش‌های مناسب کشت آن‌ها جهت افزایش میزان ماده موثره و تولید انبوه آن باید از اهداف بعدی محققین این رشته باشد تا از این طریق ماده اولیه مورد نیاز تولید کنندگان را فراهم شود. با توجه به ترکیب‌های موجود در گیاه می‌توان به مضرات آن نیز اشاره نمود، چای تهیه شده از گل‌های بابونه که حاوی مقدار زیادی دانه‌های گرده است، سبب ایجاد حساسیت‌های شدید جلدی، آنافیلاکسی و دیگر حالات آلرژی در افرادی که نسبت به گل‌های پیرتر و غیره حساسند، شده است. در حقیقت افرادی که نسبت به گیاهان خانواده کمپوزیته حساسیت دارند، باید از



مصرف بابونه و دیگر فرآورده‌های گیاهی مربوط به این خانواده خودداری نمایند.

مواد و روش‌ها

الف - جمع‌آوری و شناسایی

در این بررسی گونه *Anthemis cotula* L. از استان گیلان بعد از رودبار و از ارتفاع ۳۰۰ متر، در اواسط خرداد ۱۳۸۴ جمع‌آوری گردیده، این گونه توسط کارشناس مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع با کد ۸۹ (MPB) شناسایی شد.

ب - روش استخراج اسانس

پس از جمع‌آوری نمونه گل و برگ جدا و در دمای اطاق و به دور از نور خشک گردید، از نمونه‌ها به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) برای مدت ۳ ساعت، اسانس‌گیری به عمل آمد. میزان بازده اسانس براساس وزن خشک به ترتیب در گل و برگ ۰/۰۴ درصد و ۰/۰۸ درصد، محاسبه شد. اسانس‌ها تا زمان تجزیه در شیشه‌های غیر قابل نفوذ از هوا و نور در یخچال نگهداری شدند.

ج - دستگاه کروماتوگرافی گازی

کروماتوگراف گازی مدل GC-9A Shimadzu مجهز به دتکتور F.I.D. (یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن) و داده‌پرداز EuroChrom 2000 از شرکت Knauer آلمان، ستون DB-1 که ستون نیمه قطبی است به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون است. برنامه‌ریزی حرارتی آن، از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه انجام گردید. گاز حامل هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر ۲/۵ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع تنظیم شده است. نسبت شکافت برابر ۱:۱۰۰، برای رقیق کردن نمونه استفاده گردید. دمای قسمت تزریق ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردیده است.

د - تجزیه با دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Varian 3400 متصل به طیف‌سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله یونی^۱ و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت. ستون مورد استفاده مانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC است. درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفرلاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردیده است. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداري آنها که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7 - C25) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و توسط برنامه کامپیوتری نوشته شده به زبان بیسیک محاسبه گردیدند و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده [۲،۷،۱۵] و نیز با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنویدها Wiley در کامپیوتر دستگاه GC/MS تایید گردیدند. محاسبه‌های کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز FuroChrom 2000 به روش نرمال کردن سطح^۲ و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ^۳ مربوط به طیف‌ها انجام شده است.

نتایج

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌نمایید ترکیب‌های عمده در گل عبارتند از: n-nonadecane (۱۰/۸ درصد)، cedrane (۹/۲ درصد) و (E,E)- α -farnesene (۶ درصد) و ترکیب‌های عمده در برگ عبارتند از: 1-eicosane (۱۱ درصد)، benzyl salicylate (۸/۹ درصد) و aromadendrene (۷/۱ درصد) می‌باشند. با توجه به شناسایی صورت گرفته روی ترکیب‌های اندام مختلف گونه *Anthemis cotula* L. می‌توان مشاهده نمود که بعضی از ترکیب‌ها فقط در گونه‌های این خانواده مشاهده شده و مابقی خاص این گونه است.

¹ Ion trap

² Area normalization method

³ Response factors



جدول شماره ۱- شناسایی ترکیب‌های اسانس گل بابونه بهاری (*Anthemis. cotula* L.)

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	گل	برگ
۱	بنا - پینن	۹۷۸	۰/۶	--
۲	ان-اُکتانال	۹۹۷	۱/۲	--
۳	پارا - سیمن	۱۰۲۷	۱/۱	--
۴	ترانس - سبینین هیدرات	۱۰۹۷	۴/۴	۱/۱
۵	۸۳۴۱- پارا- منتاترین	۱۱۰۸	۲/۳	--
۶	پینوکامفتول	۱۱۶۸	۱/۰	۰/۲
۷	ایزو- پینوکامفتول	۱۱۸۰	۰/۸	--
۸	۲- دکانون	۱۱۹۳	۱/۳	۰/۱
۹	میرتنول	۱۱۹۶	۰/۶	۰/۶
۱۰	ترانس - دی هیدرو کارون	۱۲۰۰	۱/۱	--
۱۱	ترانس - ساینین هیدرات استات	۱۲۵۴	۱/۰	۰/۴
۱۲	بورنیل استات	۱۲۸۷	۰/۶	--
۱۳	سیس- دی هیدرو- آلفا- ترینیل استات	۱۳۱۵	۱/۳	--
۱۴	ترانس کارویل استات	۱۳۴۰	--	۱/۱
۱۵	کارواکرول استات	۱۳۷۱	۱/۵	۳/۰
۱۶	دودکانال	۱۴۰۶	۱/۰	۱/۶
۱۷	بنا - سدرن	۱۴۱۶	۱/۱	--
۱۸	گاما - المن	۱۴۳۴	۰/۷	--
۱۹	آرومادندرن	۱۴۳۸	۰/۵	۷/۱
۲۰	سدرن	۱۴۴۲	۹/۲	--
۲۱	آلفا - آکورادین	۱۴۶۶	۳/۱	۱/۵
۲۲	گاما- مورولن	۱۴۷۹	۱/۴	۱/۱
۲۳	جرماکرین - دی	۱۴۸۵	۲/۳	--
۲۴	(ای - ایی) - آلفا - فارنسن	۱۵۰۴	۶/۰	۰/۴
۲۵	متیل پتانئات	۱۵۱۷	۱/۳	۰/۵
۲۷	بنا - کالاکورن	۱۵۶۶	۰/۹	۰/۷
۲۸	کاریوفیلن الکل	۱۵۷۳	۰/۴	۰/۹
۲۹	سپاتولنول	۱۵۷۷	۰/۷	۰/۳
۳۰	گلوبولول	۱۵۸۳	۰/۳	۰/۹
۳۱	۲- فنیل اتیل تیگلات	۱۵۸۷	۲/۲	۱/۱
۳۲	ویریدیفلورول	۱۵۹۳	۱/۵	۰/۵
۳۳	ان - هگزادکان	۱۶۰۱	۰/۳	۰/۵
۳۴	هومولن اپوکسید ۱۱	۱۶۰۷	۰/۶	۰/۹
۳۵	ای - سدرول	۱۶۲۰	۱/۵	۰/۹
۳۶	گاما - اودسمول	۱۶۳۱	۰/۷	۰/۶



ادامه جدول شماره ۱- شناسایی ترکیب‌های اسانس گل بابونه بهاری (*Anthemis. cotula* L.)

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	گل	برگ
۳۷	بنا - آکورنول	۱۶۳۹	۱/۱	۰/۴
۳۸	آلفا - کادینول	۱۶۵۴	۱/۲	۱/۹
۳۹	دی هیدرو - اودسمول	۱۶۶۲	۱/۵	۰/۸
۴۰	آر- تورمرون	۱۶۶۹	۱/۴	--
۴۱	آکورنون	۱۶۸۷	۰/۹	۰/۴
۴۲	ان - هپتادکان	۱۷۰۰	۳/۶	۰/۷
۴۳	(ایی، ایی) - فارنسول	۱۷۲۵	۱/۱	۱/۴
۴۴	(زد) - نوسیفرول	۱۷۲۸	۱/۰	۰/۸
۴۵	(ایی، زد) - فارنسول	۱۷۴۶	--	۱/۴
۴۶	بنزیل بنزوآت	۱۷۶۰	۰/۷	--
۴۷	ان - پنتادکانول	۱۷۷۵	۳/۶	۵/۹
۴۸	آکورون	۱۸۲۲	--	۱/۵
۴۹	سیکلوپنتادکانولید	۱۸۳۷	--	۰/۹
۵۰	آلفا - چینوپودیئول	۱۸۵۳	۰/۶	--
۵۱	بنزیل سالیسیلات	۱۸۶۱	۱/۴	۸/۹
۵۲	ان - هگزادکانول	۱۸۶۸	۲/۰	--
۵۳	ان - نونادکان	۱۹۰۱	۱۰/۸	۵/۵
۵۴	سیکلو هگزادکانولید	۱۹۳۲	۱/۰	۲/۸
۵۵	۱-ایکوسان	۱۹۷۹	۵/۶	۱۱/۰
۵۶	ایزوپروپیل هگزادکانوآت	۲۰۲۸	--	۲/۱
۵۷	ان - هنیکوسان	۲۰۹۹	--	۲/۵
۵۸	متیل اوکتادکانوآت	۲۱۳۲	--	۱/۹
۵۹	۲- فنیل اتیل آنترانیلات	۲۱۳۷	--	۴/۰
۶۰	اینسنسول	۲۱۶۲	--	۰/۹
۶۱	اینسنسول استات	۲۱۷۸	۰/۷	۰/۵
۶۲	(زد) - متیل کومونات	۲۲۳۵	--	۱/۴
۶۳	۴ - اپی - آبیت ال	۲۳۴۰	۲/۷	۲/۷
۶۴	دهیدرو آبیت ال	۲۳۶۰	۳/۵	--
۶۵	سیس - فرروگینئول استات	۲۴۰۸	۲/۱	۰/۹

بحث و نتیجه‌گیری

طبق منابع موجود، گونه‌های *Anthemis cotula* L. از جمله گونه *Anthemis cotula* L. دارای ترکیب‌های مهمی از جمله: فلاونوئیدی، اسیدهای پلی فنولیک و ترپن‌ها هستند که

توسط محققین این رشته گزارش شده است [۱۸،۹]. در این تحقیق ترکیب‌های اسانس همان طوری که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌نماید گل گونه *Anthemis cotula* L. دارای ترکیب‌های عمده: n-nonadecane (۱۰/۸ درصد)، cedrane



۱۹۹۴ از منطقه Sara در یوگوسلاوی سابق که به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری و سپس تجزیه نمونه اسانس توسط دستگاه‌های GC و GC/MS صورت پذیرفته بود [۵]. ترکیب‌های عمده را شامل: α -thujone (۴۰/۲ درصد)، β -thujone (۱۳/۳ درصد)، yomogi alcohol (۱۸/۵ درصد) و terpinen-4-ol (۹/۷ درصد)، که این ترکیب‌ها ۸۴/۹ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دادند [۵]. همچنین Bulatovic روی تجزیه اسانس *Anthemis montana* اقدام نمود و ترکیب‌های عمده را α -thujone (۴۶/۹ درصد)، β -thujone (۱۶ درصد)، و trans-chrysanthemyl acetate (۱۱/۳ درصد)، که ۷۴/۲ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دادند، اعلام کرد [۶].

بنابراین با توجه به تحقیق صورت گرفته و بررسی تحقیقات دیگر محققین، تفاوت در نوع و میزان ترکیب‌ها در گونه *Anthemis cotula* L. با سایر گونه‌ها وجود دارد.

(۹/۲ درصد) و (E,E)- α -farnesene (۶ درصد) و ترکیب‌های عمده در برگ شامل: 1-eicosane (۱۱ درصد)، benzyl salicylate (۸/۹ درصد) و aromadendrene (۷/۱ درصد) است، که طی مراحل اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با توجه به تجزیه دستگاهی نمونه‌ها به دست آمده است. رضایی و همکاران، ۲۰۰۶ در طی گزارش خود، روی اسانس گونه *Anthemis altissima* L. var. *altissima* ترکیب‌های عمده در گل را، spathulenol (۱۸/۷ درصد)، caryophyllene oxide (۹/۳ درصد)، 1-eicosene (۷ درصد) و sabinene (۶/۲ درصد) و در برگ spathulenol (۱۸/۲ درصد)، caryophyllene oxide (۹/۵ درصد)، methyl hexadecanoate (۸ درصد) و isocaryophyllene (۷/۴ درصد) اعلام داشته‌اند [۱۳]. همچنین در گزارشی که توسط Bulatovic روی اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گونه *Anthemis carpatica* در سال

منابع

1. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names, Farhang Mo'aser publication, 1998. 7816: pp: 560.
2. Adams RP. Identification of essential oils by Ion trap Mass Spectroscopy. Academic Press, San Diego, CA. 1989.
3. Bicchi C and Frattini, C. Considerations and remarks on the Analysis of *Anthemis nobilis* L. essential oil by capillary Gas chromatography and "Hypbenated" Techniques. *J. chromatogr.* 1987; 411: 237-249.
4. Bruno M, Diaz JG and Herz W. Germacranolides from *Anthemis cupaniana*. *Phytochemistry*, 1991; 10: 3458-3460 (1991).
5. Bulatovic VM, Menkovic NR, Vajs VE, Milosavljevic SM and Djokovic DD. Essential oil of *Anthemis carpatica*, *J. Essent. Oil Res.* 1997; 9: 397 - 400.
6. Bulatovic VM, Menkovic NR, Vajs VE, Milosavljevic SM and Djokovic DD. Essential oil of *Anthemis montana*, *J. Essent. Oil Res.* 1998; 10: 223-226.
7. Davies NW. Gas Chromatographic Retention Index of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl silicone and Carbowax 20 M phases. *J. Chromatogr.* 1990; 503: 1-24.
8. Herisset A, Chaumont JP and Paris R. *Les Flavonoides de la camomille Romane (Anthemis nobilis L.)*, variete Simple. *Plant. Med. Phytother.* 1973; 3: 234-240.
9. Klimes J, Lamparsky D and Scholz E. vorkommen neuer bifunktioneller Ester im Romisch-Kamillenol (*Anthemis nobilis* L.). *Helv. Chem. Acta*, 1981; 64: 2338.
10. Lawrence BM. Essential oils 1981-1987. Allured publishing Corp., Carol stream, IL. 1989.
11. Nahrstedt A, Wray V, Grotjahn L, Fikenscher LH and Hegnauer R. New acylated cyanogenic diglycosides from fruits of *Anthemis cairica*. *Planta Med.* 1983; 49: 143-148.



12. Pascual TJ, Caballero E, Caballero C, Anaya J and Gonzalez MS. Aliphatic esters of *Chamamelum fuscum* Essential oil. *Phytochemistry*, 1983; 22: 1757-1759.
13. Rezaee MB, Jaimand K and Assareh MH. Chemical Constituents of the leaf and flower Oils from *Anthemis altissima* L. var. *altissima* from Iran, *Journal of essential oil Research*, 2006; Vol. 18, No. 2, pp: 152-153.
14. Savin K, Ivanic R and Miric M. *Anthemis ruthenica* M.B., Composition of its volatile oil. *Acta Pharm. Yugoslav.*, 1981; 31: 243-247.
15. Shibamoto T. Retention Indices in Essential oil Analysis. In: *Capillary Gas Chromatography in Essential oil analysis*. Edits., P. Sandra and C. Bicchi, 1987; 259-274, Dr. Alfred Huethig Verlag, Heidelberg.
16. Teeddrogen MW. Ein Handbuch fur die praxis auf wissenschaftlicher Grundlage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 1989.
17. Thomas AF. The occurrence of some diesters in *Roman camomille* oil. *Helv. Chim. Acta*, 1981; 64: 2397-2400.
18. Wichtl M. Teeddrogen, Ein Handbuch fur die praxis auf wissenschaftlicher Grundlage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 1989.

