بسم الله الرحمن الرحیم

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست‌شناسی – میکروبیولوژی

عنوان:

فعالیت های ضد میکروبی، سلولی ملکولی و بیوشیمیایی اسانسهای اسطوخدوس و نعنا فلفلی

استاد راهنما:

دکتر ایرج رسولی

استاد مشاور:

دکتر مسعود تقی زاده

دانشجو: طلوع اله قدری

تقدیر و تشکر

بسم الله الرحمن الرحیم

به نام رب العالمین

این یقین من است هر آنچه اکنون پیش روی شماست، مقوله ای است که زمانی فقط در مقام نظر بود و اگر چراغی فرا راه من نبود، این امر هیچگاه به ساحت عمل نمی رسید.

چراغ فرا راه من، بزرگی، فرزانگ ی و تواضع آن سوی بندگی استاد ارجمند و گرانمایه ام جناب آقای دکتر رسولی است، که پیوسته بر راهم و تمامی آینده ام، که بر همگان روشن است گرما می بخشد، امید می دهد، شوق می افریند و راه مینماید . من نیز بر سبیل همان آیین پیشین و ایستاده بر ساحت ادب، بالاترین مراتب سپاس و تشکر خویش را نثار استادی بزرگ، انسانی شریف و یک بزرگزاده تبار والای انسانیت می نمایم.

همچنین مراتب قدردانی و تشکر خود را تقدیم مشاور محترم این پروژه جناب آقای دکتر تقی زاده و همچنین کارشناس محترم آزمایشگاه سرکار خانم علیپور می نمایم و پیوسته همکاریها و معاضدتهای صمیمانه و بزرگوارانه ایشان در یاد و خاطر من چون ودیعتی بزرگ بر جای خواهد ماند.

با احترام:طلوع الله قدری

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
عنوان طرح	1
تقدیر وتشکر	2
چکیده	4
کلیات	7
معرفی گیاهان مورد مطالعه	38
مواد و روشها	88
نتایج	118
جداول	119
نمودارها	161
بحث و نتیجه گیری	176
منابع	184
چکیده انگلیسی	198

چکیده:

حصول اطمینان از سلامت و ایمنی هر ترکیب دارویی، آرایشی یا مکمل غذایی جدید برای مصرف کنندگان پیش از ورود محصول به بازار دارویی ضروری می باشد، در نتیجه، مصرف روزافزون گیاهان دارویی ایجاب می کند که جوانب توکسیکولوژیکی آنها بررسی ش ود. از جمله این گیاهان : اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*) ونعنا فلفلی(*Mentha spicata*). اسطوخدوس برای رفع خستگی، آرامش ،مقوی معده، معرق، ضد تشنج و...ونعنا به عنوان باد شکن، ضد تشنج، ضد سرفه، آرام بخش و...مصرف می شوند. لازم می‌بینیم که مطالعه حاضر را در خصوص ویژگیهای ضد میکروبی (روشهای دیسک پلیت –تعیین حداقل غلظتهای مهار کنندگی (MIC) و کشندگی (MBC OR MFC)) اسانسها (برای اسانسهای موثر – مطالعه سینتیک مرگ میکروبی)، آنتی اکسیدانی(تست بتا کاروتن و فعالیت رادیکال زدایی با تست DPPH) اندازه‌گیری مقدار کل ترکیب های فنلی از طریق تست FRAP برای سنجش توانایی و قدرت آنتی اکسیدان سرم خون در احیای آهن از فرم Fe^{+3} به Fe^{+2} ،سیتوتوکسسیتی (سلول سرطانی و سلولهای تک هسته ای خون محیطی با روش MTT)، سنجش توکسسیته تحت حاد (Subchronic toxicity) اسانسها (با Wistar rats) وسنجش پارامترهای هماتولوژیک، هیستوپاتولوژیک و بیوشیمی سرم (urea, creatinine, glutamic-oxalacetic transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT)، آنالیز RBC،WBCs و هماتوکریت هموگلوبین و در پایان آنالیز هیستوپاتولوژیک قلب، کبد، ، کلیه و طحال) وسنجش موتاژنسیتی و آنتی موتاژنسیتی (Ames test) با استفاده از سویه های TA98 TA100 , باکتری *Salmonella typhimurium* در حضور و غیاب سیستم فعال کننده متابولیکی روغنهای اسانسی نعنا و اسطوخدوس که در کشور ما بطور وسیعی مصرف می شود انجام دهیم . میزان حساسیت باکتریها به اسانس نعنافلفلی به صورت : اشرشیاکلی> استافیلوکوکوس ارئوس >کلبسیلا پنومونیه >استرپتوکوکوس فکالیس > سدوموناس ائروجینوزا > کاندیدا البیکانس می باشد . میزان حساسیت باکتریها به اسانس اسطوخدوس به صورت : استافیلوکوکوس ارئوس >اشرشیاکلی >کلبسیلا پنومونیه >استرپتوکوکوس فکالیس> سدوموناس ائروجینوزا >کاندیدا البیکانس می باشد. اسانس نعنا فلفلی و اسطوخدوس خصوصیات آنتی اکسیدانی و آنتی پراکسیدانی دارند . اسانس نعنا فلفلی فعالیت رادیکال زدایی در مقدار کل ترکیب های فنلی 89/43 میکروگرمGAE/mg و 30/52 ٪ظرفیت رادیکال زدایی DPPH دارد. دراسانس اسطوخدوس فعالیت رادیکال زدایی در مقدار کل ترکیب های فنلی 43 /85

میکروگرمGAE/mg و 13/58٪ظرفیت رادیکال زدایی DPPH میباشد. نتیجه تست بتا کاروتن دراسانس نعنا فلفلی در مدت 60 دقیقه 32/89 درصد ودر مورد اسطوخدوس 30/47٪میباشد که با دو آنتی اکسیدان سنتتیک BHAوBHTمقایسه شده است . تست Ferric-reducing antioxidant power در سرم خون موش گاواژشده با اسانس نعنا فلفلی به میزان 100 میکرولیتر در روز، افزایش 27/03 درصد را نشان میدهد ودر اسانس اسطوخدوس افزایش67/57 درصد را نشان میدهد. خوراندن روغن های اسانسی به موش وآثار درمانی آن: دراسانس نعنا فلفلی 42/4درصد افزایش وزن دیده شد . میزان 69/43٪ کاهش در شمار گلبول های قر مزو میزان 61/7٪کاهش در شمار گلبول های سفیددیده شد و کاهش در سطوح هموگلوبین و هماتوکریت دیده شد . شمار پلاکتها تغییری در حجم نشان نداده است . سطح اسید اوریک خون به میزان ٪77.7 کاهش یافته است. میزان تری گلیسیرید 159/26٪افزایش یافته است . سطح کلی کلسترول 120/13٪افزایش یافته است و آنزیم SGPTوSGOT کاهش یافته است میزان آنزیم کبدی Alkaline phosphatase افزایش یافته است. در مورد اسانس اسطوخدوس 37/61٪ افزایش وزن داریم. کاهش در سطوح هموگلوبین و هماتوکریت دیده شد . سطح اسید اوریک 76/82٪کاهش یافته است. میزان تری گلیسیرید116/3٪ افزایش یافته است. آنزیم SGPT کاهش یافته است و میزان آنزیم کبدی Alkaline phosphatase افزایش یافته است. 30 روز بعد از مصرف خوراکی اسانس های نعنا فلفلی و اسطوخدوس در بافتهای قلب، کلیه، طحال آسیبی مشاهده نشد ولی بافت کبد در هر دو مورد دچار نکروز شد، که م یزان نکروز بافت کبد با اسانس خوراکی اسطوخدوس شدیدتر بود . در روغنهای فرار نعنا فلفلی و اسطوخدوس فعالیت سیتوتوکسیک بسیار خوبی روی رده سلول سرطانی انسانی (سلول هلا) نشان دادند. روغن فرار نعنا فلفلی در رقت 0/002 به میزان 88/55درصد سلول سرطانی هلا را از بین بـردو IC50 برابر0/001 (µg/ml) نشان داد و روغن فرار اسطوخدوس در رقت 0/0025 به میزان 50/04 درصد سلول سرطانی هلا را از بین برد و IC50 برابر1/1(µg/ml) نشان داد. با افزایش غلظت اسانس های نعنا فلفلی و اسطوخدوس میزان فعالیت سیتوتوکسیک آنها نیز افزایش می یابد. در سلول های خون محیطی روغن فرار اسطوخدوس در رقت 0/001 به میزان 7/7٪ سلول های لنفوسیت خون را از بین برد و IC50 برابر0/001 (µg/ml) نشان داد وروغن اسانسی نعنا فلفلی در رقت 0/001 باعث از بین رفتن 6/7٪ از لفوسیت های خون محیطی شد و IC50 برابر0.001(µg/ml) نشان داد. درتست ایمز با دو سویه سالمونلا تیفی موریوم TA 100 و*TA 98* بدون حضورعصاره میکروزوم کبدی (S9) درهر دو اسانس نعنافلفلی و اسطوخدوس هیچگونه اثر موتاژنی دیده نمیشود. درسویه TA 100 درحضورS9،

اسانس نعنافلفلی تا حداکثر15٪ و اسانس اسطوخدوس تا میزان حداکثر 10٪خاصیت موتاژنی دارند. درسویه TA98 درحضورS9، اسانس اسطوخدوس به میزان تقریبی 100٪ خاصیت موتاژنی دارد ودر حضور اسانس نعنافلفلی به میزان حداکثر 10٪خاصیت موتاژنی دارد . درتست آنتی موتاژنی هر دو سویه باکتریایی درهر دو اسانس نعنافلفلی و اسطوخدوس بدون حضور عصاره کبدی به میزان100٪ خاصیت آنتی موتاژنی دارند. سویه TA 100 درحضور S9 اسانس نعنافلفلی تا حداکثر 87٪ و اسانس اسطوخدوس تا میزان حداکثر 65٪ خاصیت آنتی موتاژنی دارند . درسویه TA98 درحضور S9، اسانس اسطوخدوس به میزان تقریبی 97٪خاصیت موتاژنی ودر حضور اسانس نعنافلفلی به میزان 93٪خاصیت آنتی موتاژنی دارد . نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر میتواند دریچه ای در جهت شناخت قویتر موادی که سالها به عنوان دارو بدون محدودیت مصرف شده وتوجهی به عوارض جانبی آن نمی شد بازکند و همچنین گامی در جهت پیشگیری ویا درمان سرطان ودیگر بدخیمی های گریبان گیر بشریت باشد.

واژگان کلیدی: اسطوخدوس، نعنافلفلی، آنتی اکسیدان، موتاژن، توکسسیته، سیتو توکسسیته

کلیات

مقدمه:

در هر مخلوقی حکمتی نهفته است . از جمله نعمتهای خدادادی گیاهان دارویی می باشند که از قدیم‌الایام بشر با آنها آشنا گشته و جهت معالجات بیماران خود مورد استفاده قرار داده است . پیشرفت‌های علمی و فن آوری طی دو دهه اخیر، اهمیت و نقش گیاهان دارویی را در تأمین نیازهای بشر به ویژه در حیطه درمان دو چندان ساخته است. امروزه با بهره‌گیری از روشها و فنون تخصصی، مهمترین مواد و ترکیبهای مؤثر گیاهی شناسایی و در ساخت انواع داروها و ترکیبهای شفابخش بکار گرفته می شود. اثرات جانبی داروهای شیمیایی، الزامات زیست محیطی و روند تدریجی گرایش به سوی فرآورده های طبیعی سبب شده اند تا به گیاهان دارویی توجه بیشتر شود . رویکرد سالهای اخیر بشر به استفاده از داروهای گیاهی سبب شده است صنایع بسیار گسترده ای در ارتباط با تبدیل فرآورده های گیاهی به داروهای گیاهی در کشور های توسعه یافته و رو به توسعه بوجود آید. گیاه دارویی به گیاهی گفته می شود که یک و یا تعدادی از اندام های آن حاوی مواد فعال بیولوژیکی و مواد موثره بوده و اثر فیزیولوژیکی بر پیکر موجود زنده بر جای می گذارد و نیز کاشت، داشت و برداشت این گیاهان به خاطر استفاده از مواد موثره آن صورت می گیرد . تامین مواد اولیه این صنایع عمدتا توسط کشورهایی انجام می شود که از منابع مناسبی برخوردار هستند یکی از کشورهایی که استعداد با لقوه ای در این زمینه دارد کشور پهناور ایران است که با مساحتی بیش از 164 میلیون هکتار زمین، با آب و هوای متنوع و فلور غنی بیش از 8000 گونه گیاهی که بیش از 1000 گونه آن دارویی و معطر می باشد شرایط بسیار مناسبی را برای حضور در این عرصه در پیش رو دارد . این مرز و بوم به صورت کاملا استثنایی، فصل مشترک چشمگیری با گیاهان دیگر نقاط جهان از جمله قاره اروپا، آفریقا و آمریکا و حتی دورترین نقطه واقع در نیمکره جنوبی دارند که این خود یکی از بارزترین صفات رویشهای گیاهی ایران است . تجسسهای گیاه‌شناسی نشان داده است که

هنوز گیاهان ناشناخته زیادی در نقاط مختلف ایران وجود دارند، که می‌توانند گونه‌ها و یا حتی جنس‌های جدیدی برای گیاهان دنیا باشند. همچنین پژوهشهای فیتوشیمیایی در گیاهان ایران در طی 20 سال گذشته، نشان داده است که مواد مؤثره و ترکیبهای شیمیایی جدیدی را می توان از این گیاهان جدا نمود و جالب آنکه گیاهان مشترک با سایر کشورهای جهان، خصوصیات بسیار جالب توجهی از لحاظ وجود مواد مؤثره و یا ترکیبات جدید، افزون بر ترکیبهای گزارش شده همان گیاهان در کشورهای دیگر، نشان می‌دهند و همین امر گیاهان دارویی ایران را به عنوا ن مواد اولیه قابل توجه در بازارهای جهانی مطرح نموده است. یک محقق «هومیوپاتی» در دانشگاه «میشیگان»، می گوید افزودن این گیاهان و ادویه جات به غذا به حفظ وزن سالم کمک می کند . علاوه بر اینکه درجلوگیری از ابتلا به برخی انواع سرطان، کاهش فشار خون، کنترل قند خون و بهبود سلامت قلب و عروق نیز موثرند . از گذشته های دور گیاهان اسانس دار جهت تهیه ادویه جات به عنوان افزودنی به غذاها، از اهمیت خاصی برخوردار بوده است . به طور کلی اسانسها شامل گروه شیمیایی خاصی موسوم به ترپنها هستند و یا منشاء ترپنی دارند . این مواد به روغنهای فرار نیز معروف هستند. این ترکیبات بو و مزه خاصی داشته و وزن مخصوص آنها غالباً از آب کمتر است . مطالعات جدید نشان می دهد که ادویه جات (مخلوط گیاهان اسانس دار) مانند داروها، در سلامتی و تنظیم بسیاری از اعمال بدن مانند تحریک برای هضم، جذب و یا د فع، یا تقویت معده و اشتهاآوری تأثیر بسزایی دارند . هم چنین آروماتراپی یا رایحه درمانی که برای تسکین و یا درمان بیماری ها از قدیم مورد استفاده بوده در سال های اخیر دوباره مورد توجه و کاربرد قرار گرفته است . یکی از کاربردهای رایحه درمانی، در دفع مشکلات سوء هاضمه است. یکی از پژوهشهای مهم امروز دنیا، بررسی اثرهای ضد سرطانی گیاهان و امکان تهیه داروهای مؤثر از آنها برای درمان بیماری سرطان می‌باشد که در ابعاد بسیار وسیع در حال انجام می‌باشد. بدین نحو که کلیه گیاهان جهان یکی پس از دیگری مورد این آزمایشها قرار م ی‌گیرند تا به اثر گیاه و در نتیجه مواد مؤثره دست یابند . جیره غذایی انسان شامل انواع مختلفی از ترکیبات ضد سرطانی مثل فیبرها، ترکیبات پلی فنولیک، فلاونوییدها، ایزو فلاونوییدها، توکوفرولها و اسید اسکوربیک و. . میباشد (**Ames et al.1983**) . چون غنای مواد مؤثره گیاهان ایران به علل تنوع در شرایط آب و هوایی بسیار بالا بوده، لذا بررسی آنها برای این امر که یکی از مشکلهای پزشکی جهان است، امری حیاتی می باشد. حصول اطمینان از سلامت و ایمنی هر ترکیب دارویی آرایشی یا مکمل غذایی جدید برای مصرف کنندگان پیش از ورود محصول به بازار دارویی ضروری می باشد و متخصصین بر این باورند که طبیعی بودن به معنای بی خطر بودن نیست. به مرور زمان که گیاهان دارویی جدیدی کشف می شوند احتمال مصرف نادرست این گیاهان و عوارض جانبی

آنها افزایش می یابد. استفاده از روغنهای اسانسی عاری از اثرات توکسیک نیست. در حال حاضر مطالعات کمی در مورد سمیت نهفته روغن های اسانسی مثل اثرات سیتوژنی و موتاژنی صورت گرفته است . بیشتر کشورها قوانین خاصی برای استفاده از روغنهای اسانسی ندارند به همین علت، مصرف روزافزون گیاهان دارویی ایجاب می کند که جوانب توکسیکولوژیکی آنها بررسی شود. این نکته بسیار مهم است که دامنه اطلاعاتمان را در مورد اثرات بیولوژیکی این ترکیبات روی سلامت انسان، کشاورزی و محیط زیست افزایش دهیم و به همین منظور آزمایشهای بررسی سمیت ترکیبات جدید به صورت in vivo روی حیوانات آزمایشگاهی یا به طریق in vitro روی انواع سلولها انجام می گیرد. اسطوخدوس ونعنا از سبزیهای مفیدی است که در تهیه انواع غذاها بکار می رود بعنوان یک گیاه دارویی مفید نیز از قدیم مورد استفاده بوده است . در این گیاهان ترکیبات بسیاری وجود دارد . با توجه به احتمال ورود ترکیب از این گیاه دارویی به بازار مصرف و با عنایت به اثرات درمانی ذیل و در دسترس نبودن اطلاعات کافی در خصوص اثرات سمی آن در این تحقیق بر آن شدیم تا سمیت انها را نیز بررسی نماییم . عملکرد بسیاری از موتاژنها وکارسینوژنها در حین تولید انواع اکسیژن واکنش پذیر (ROS) می باشد. تولید انواع اکسیژن واکنش پذیر با آلودگی محیط، تابش اشعه ماورائ بنفش و پروسه های معمولی متابولیک در ارتباط است . انواع اکسیژن واکنش پذیر یک نقش کلیدی در پروسه های تخریبی دارد مثل اسیب به ماده ژنتیکی و موتاسیون که میتواند منجر به سرطان، بیماریهای قلبی و پیری شود. مصرف آنتی اکسیدان ها در رژیم غذایی یک فاکتور مهم در دفاع بدن انسان علیه انواع اکسیژن واکنش پذیر میباشد. همچنین تعدادی از آنتی اکسیدان ها به عنوان عوامل ضد سرطانزایی شناخته شده اند (**Stavric 1994) .**

اسانس‌های طبیعی

علاقه انسان برای معالجه‌ی بیماری‌ها و استفاده از خوشبوکننده ها به اوایل تاریخ بشریت بر می گردد. بخورهای معطر و عطرها احتمالاً از زمان کشف آتش استفاده می شده است. مصری‌ها، فینیقی ها، یهودی ها، یونانی ها و رومی ها نقش بزرگی در پیشرفت خوشبوکننده‌ها داشته‌اند **(Mesmin 2000. Marcell1990).**

وسعت استفاده از ترکیب ها معطر از مصر تا اسرائیل، یونان، روم و تمام مدیترانه بود . در شرق، وداس، یکی از مهم‌ترین کتاب‌های مذهب هند و یکی از قدیمی ترین کتاب‌های مدون در زمینه کاربرد عطرها و خوشبو کننده ها در مراسم دینی و درمان بیماری ها است **(Curtis et al. 1994)**. در اواخر قرن هجده عصری جدید در شیمی به علت

تلاش‌های لاوازیه بوجود آمد، که منجر به انتشار کتاب «آموزش‌های مقدماتی در شیمی » در سال 1789 شد (**Brock et al. 1992**). اولین مقاله بر روی اسانس‌های توسط هاتن– لابیلاردیر در سال 1818 منتشر شد. او یک آنالیز مقدماتی روی اسانس سقز انجام داده بود که نسبت پنج به هشت کربن و هیدروژن را به دست آورد . در سال 1833، دوماس روش آنالیز اسانس ها را تکمیل نمود . شیمیست‌ها پژوهش هایی در زمینه ی اسانس آغاز کردند، آن‌ها روغن‌های اسانسی را با هیدروکلریک اسید واکنش دادند و با استفاده از این فرآیند، ترپن هیدروکلرید را به دست آوردند و مقداری از آن را نوبلور کردند و توانستند آن را بهتر شناسایی کنند . مزیت این روش در این بود که اغلب محصول‌ها مخلوطی از سه یا چهار ماده بودند که قبلاً آن ها را به صورت ماده خالص در نظر می گرفتند. با استفاده از این روش برتلوت اسانس سقز را بررسی کرد و توانست آلفا و بتا پینن و آلفا و بتا کامفن و تعدادی سزکویی ترپن و دی ترپن را آنالیز کند. با این وجود، اولین ترکیب های آزمایشی از یک ترپن را ککوله ساخت که ساختار سیمول را برای آن پیشنهاد کرد. دو سال بعد بوچاردت یک دی ترپن را به وسیله پلیمریزاسیون ایزوپرن تهیه کرد که یک دستاورد مهم در مطلعه دی ترپن‌ها بود (**Mesmin et al. 2000**). در 1877، تیلدن در مورد ترپن‌ها نوشت: «شناخت ما از ترکیب‌ها و خواص آن‌ها بی نهایت ناقص است، امیدواریم با روش قابل قبولی بتوانیم آن‌ها را شناسایی و طبقه بندی کنیم»(**Tilden1875**). اوتو والاچ با جدیت در زمینه شناسایی و طبقه بندی ترپن‌ها کار کرد که حاصل کار او در بیش از صد مقاله چاپ شد. در سال 1887 او ارتباط بین 12 منوترپن گوناگون را با پینن به دست آورد (**Ruzicka et al. 1932**). او کارهای خود در زمینه شیمی ترین را در کتابی در سال 1909 منتشر و در آن قانون ایزوپرن را پیشنهاد نمود. رزیکا از نتایج پیش کسوتان بهره‌برداری کرد و قانون ایزوپرن را دوباره مطرح نمود و آن را به عنوان یک ابزار برای بررسی ساختار این گونه ترکیب‌ها معرفی کرد. او همچنین اولین کسی بود که از روش هیدروژن زدایی برای بررسی ساختار پلی ترپن‌ها استفاده کرد. او اسکلت ساختاری بسیاری از سزکویی، دی و تری ترپن‌ها را شناسایی کرد. او همچنین ساختار لانسترول را بررسی نمود (**Ruzicka et al. 1973**).

اسانس‌ها

روغن‌های اسانسی به مواد فراری که به وسیله تقطیر از یک گونه گیاهی معطر به دست می آید گفته می شود (**Gwinn1985**) البته با تقطیر فقط اسانس ها خارج نمی شوند بلکه بسیاری متابولیت های دیگر از جمله چربی ها،

کومارین‌ها، آنتراکینون‌ها و برخی آلکالوئیدها و. . . نیز قابل تقطیر هستند. بنابراین به تعریف دقیق‌تری نیاز است. به طور کلی اسانس‌ها از مولکول‌های ترپنوئید تشکیل شده‌اند اما در ترکیب بسیاری از اسانس ها موادی وجود دارد که از مسیرهای تهیه دیگری منشأ گرفته‌اند، اسانس‌ها به طور کلی در زمان تقطیر بی رنگ و یا مایل به زرد هستند . آن‌ها اندکی در آب محلول هستند و به طور کامل در اتانول حل می شوند و با روغن های گیاهی، چربی ها و واکس ها به آسانی مخلوط می‌شوند (**واترمن1379**). ارتفاع از سطح دریا، شرایط آب و هوایی، خاک و نور از جمله عوامل مؤثر بر اسانس یک گیاه از نظر کمی و کیفی است. همچنین سن گیاه، زمان جمع آوری آن (حتی ساعت و روز) و نژاد آن هم می‌تواند تأثیرگذار باشد (**سفیدکن1375، آیینه چی 1370**). یکی از مهمترین عوامل تأثیرگذار که توجه کمتری به آن شده است مسأله کشت گیاه و زمان برداشت در مراحل گوناگون رشد است.

کاربرد اسانس‌ها

اسانس‌ها در صنایع آرایشی، بهداشتی، غذایی و دارویی به کار می روند. اسانس‌ها علاوه بر اینکه برای خوش طعم کردن و معطر ساختن داروها به کار می روند، در برخی از داروها نیز به عنوان پایدار کننده و محافظت کننده کاربرد دارند. به طور کلی خواص درمانی شناخته شده برای اسانس ها عبارتند از: گندزا، ضد نفخ، ضد انگل، هضم کننده غذا، محرک سیستم اعصاب مرکزی (که مصرف زیاد آن‌ها باعث تشنج می‌شود)، مقوی معده، صفرا آور، ضد تشنج، قاعده آور و سقط جنین. در استعمال خارجی، بعضی اسانس ها باعث جلوگیری از التهاب پوست و ضد زخم می باشند (**واترمن 1379**). روغن‌های اسانسی به عنوان آنتی اکسیدان در فرآورده‌های غذایی کاربرد دارند.

ویژگی‌های فیزیکی اسانس‌ها

اسانس‌ها دارای فعالیت نوری هستند، هر اسانس دارای چرخش نوری معین و ثابتی است . ضریب شکست یکی دیگر از خصوصیات فیزیکی است (**واترمن 1379**). از ضریب شکست برای تعیین درجه خلوص استفاده می‌شود. اسانس‌ها به طور کلی با آب غیر قابل اختلاط بوده ولی به مقدار کم در آب حل شده و بوی خود را به آب می دهند. اسانس‌ها در اتر، الکل، کلروفرم، بنزن و اغلب حلال های آلی حل می شوند. اسانس‌ها در اثر مجاورت با هو ا اکسیده و رزینی می‌شوند (**سفیدکن1375، آیینه چی1370**). به همین دلیل باید آن‌ها را در جای خشک و خنک و در ظرف دربسته و پر و شیشه‌های تیره رنگ نگهداری کرد (**واترمن1379**).

نقش اسانس‌ها در گیاه

اسانس‌ها نقش‌های گوناگونی در گیاه به عهده دارند از جمله : 1- جذب حشره‌های گرده افشان را به عهده دارد . 2- برای دفع حشره های موذی (عامل محافظت کننده) در گیاه می‌باشد. 3- در مقابل زخم خوردگی، گیاه را محافظت می‌کند. 4- اسانس‌ها در محیط های بسیار گرم از تبخیر آب گیاه جلوگیری می کنند، زیرا گرما را جذب می‌نمایند(**Gwinther1952**).

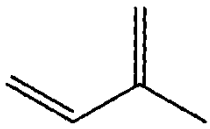
مواد شیمیایی تشکیل دهنده اسانس‌ها

اسانس‌ها اغلب از دو گروه ترکیب شیمیایی عمده تشکیل شده‌اند که عبارتند از: ترپن‌ها و فنیل پروپن‌ها که باید آن‌ها را عامل اصلی طعم و عطر اسانس دانست (**صمصام شریعت1369 ، Eschenmoser 1990**).

ترپن‌ها

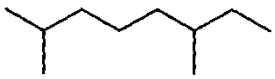
اصطلاح‌ترپن به طور اختصاصی برای هیدروکربن ها به کار می رود. در حالی که ترپنوئید عمومی تر بوده و به تمام ترکیب‌هایی که از واحد ایزوپرن بدون در نظر گرفتن عوامل موثر در آن ها ساخته شده‌اند اطلاق می گردد . اصطلاح ترپن اولین بار توسط ککوله بعد از این که آن را از روغن سقز استخراج کر د رایج شد . این نام به ایزومرهای هیدروکربنی دارای فرمول عمومی $C_{10}H_{16}$ اتلاق می‌شد. سپس اوتو والاچ قانون ایزوپرن را مطرح کرد . چند سال بعد این قانون توسط رزیکا دوباره مطرح شد و اصل پایه‌ای در شیمی ترپن‌ها شد. قانون ایزوپرن می‌گوید که ترپن‌های

ساخته شده در طبیعت از واحدهای ایزوپرن که به صورت سر به دم متصل هستند تشکیل شده اند (**Ruzicka et al. 1959**).

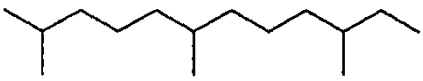


ساختار ایزوپرن (2-1و 3 بوتادی ان)

ترپن‌ها بر اساس تعداد واحدهای C_5 طبقه بندی می‌شوند: همی ترپن‌ها، C_5؛ منو ترپن‌ها، C_{10}؛ سزکویی ترپن‌ها، C_{15}؛ دی ترپن ها، C_{20}؛ سستر ترپن ها، C_{25}؛ تری ترپن ها، C_{30}؛ و تترا ترپن ها، C_{40} و پلی ترپن $(C_5)_n$.
اسانس‌ها دارای مخلوط پیچیده‌ای از ترپن های فرار هستند که از منوترپن ها و سزکویی ترپن ها و در بعضی موارد دی ترپن‌ها تشکیل شده‌اند. دی ترپن‌ها (20 کربنی) در اسانس بعضی گیاهان (نظیر زنجبیل) وجود دارند ولی در اغلب موارد اهمیت چندانی ندارند.



2 واحد= منوترپن و 3 واحد= سزکویی ترپن

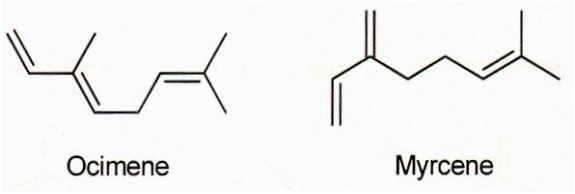


اگر چه ترپن ها به صورت زیست شناختی از مولکول ایزوپرن مشتق می‌شوند ولی باید یک مسیر بیوتهیه را طی کنند (**Harborne 1998**).

منوترپن‌ها

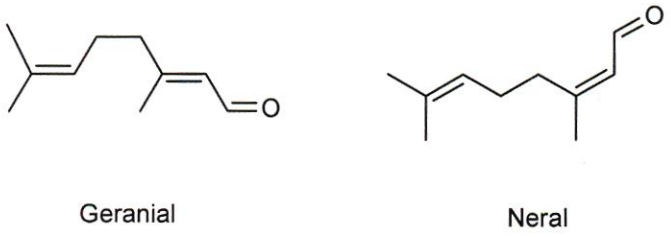
منوترپن‌ها از ساده ترین نوع ترپنوئیدهایی هستند که در طبیعت وجود داشته و از روغن های اسانسی به دست آمده از برگ‌ها، پوست و ریشه ی گیاهان گوناگون جداسازی می شوند. این ترکیب‌ها بویی دلپذیر داشته و به طور گسترده ای در صنایع عطرسازی مورد استفاده قرار می گیرند. نقطه جوش منوتوپن‌ها بین 180-140 درجه سلسیوس است .
منوترپن‌ها به سه گروه تقسیم می شوند: منو ترپن‌های خطی مانند: ژرانیول، منوترپن‌های تک حلقه‌ای مانند: لیمونن، منوترپن‌های دو حلقه‌ای مانند: آلفا و بتاپینن.

منواز مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به ترکیب‌های اسیمن و میرسن اشاره نمود.



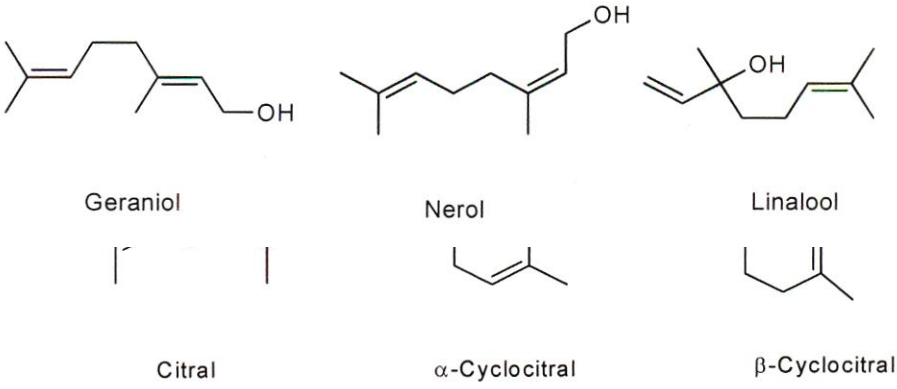
منوترپن‌های خطی به دسته‌های گوناگون شیمیایی تقسیم می‌گردند. مانند:

ترکیب‌های آلدئیدی:

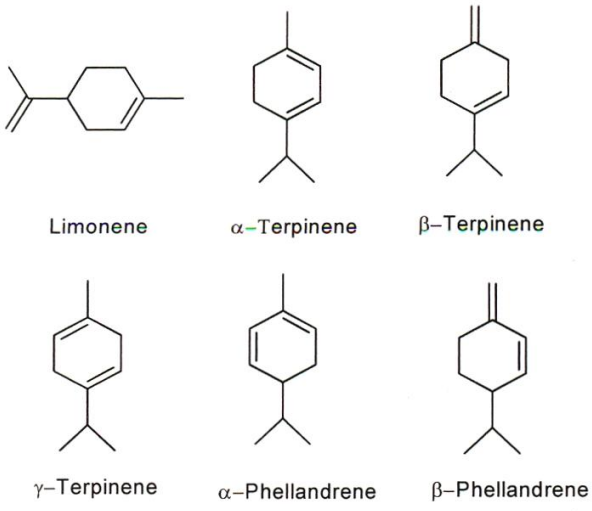


ترکیب های الکلی:

مثالی از .

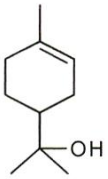


منوترپن‌های تک حلقه‌ای

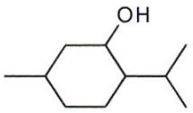


منوترپن‌ه‌ای تک حلقه‌ای به دسته‌های گوناگون شیمیایی تقسیم بندی می‌شوند. مانند:

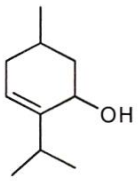
ترکیب های الکلی:



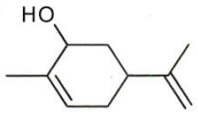
α–Terpineol



Menthol

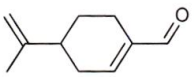


Piperitol

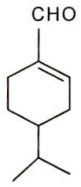


Carveol

ترکیب‌های آلدهیدی:

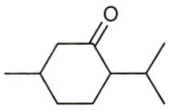


Perillaldehyde

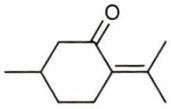


Phellandral

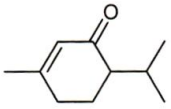
ترکیب‌های کتونی:



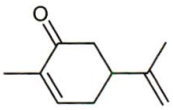
Menthone



Pulegone



Piperitone

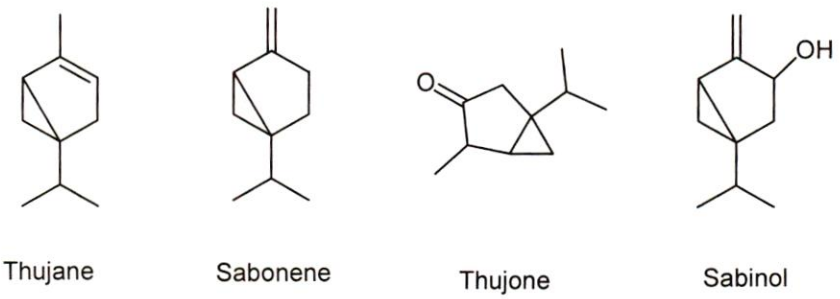


Carvone

منوترپن‌های دو حلقه‌ای

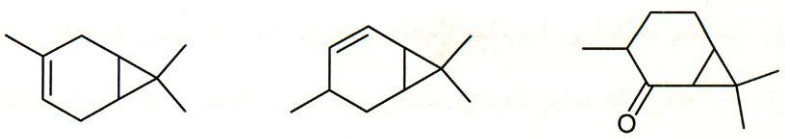
در این منوترپن‌ها اندازه یکی از حلقه ها شش عضوی است ولی تعداد اعضای دومین حلقه در منوترپن‌های دو حلقه‌ای، متفاوت می‌باشد و به پنج گروه تقسیم بندی می‌شوند (**Still 1978**).

a) توجان‌ها: یکی از دو حلقه منوترپنی شش عضوی و دیگری سه عضوی است اما حقله سه عضوی برخلاف مورد کار آنها درون حلقه شش عضوی قرار دارد



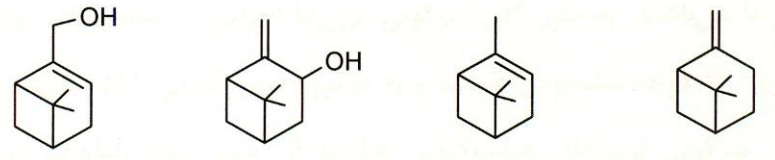
Thujane Sabonene Thujone Sabinol

b) کاران‌ها: این دسته از ترکیب ها به علت داشتن حلقه سه عضوی متحمل انواع نو آرایی می‌شوند. مثال مهم این ساختار ترکیب 3- کارن است که در روغن کاج سوزنی موجود می‌باشد.



3-Carene 4-Carene Carone

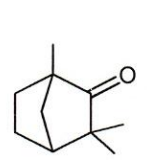
c) پینان‌ها: این ترکیب‌ها دارای یک حلقه سیکلوبوتانی هستند که به آسانی تحت واکنش های باز شدن حلقه قرار می‌گیرند. معروف‌ترین منوترپن‌هایی که دارای ساختار پینان می باشند عبارتند از: میرترول، پینو کاروئول، آلفا- پینن و بتا- پینن .



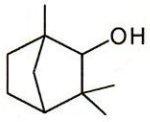
myrtenol pinocarveol α-pinene β-pinene

d) کامفن‌ها: این گروه از منوترپن های دو حلقه ای 5 و 6 عضوی هستند. مهم‌ترین اعضای این خانواده عبارتند از: بورنئول (موجود در اسانس هل و گشنیز)، کامفن و کافور در رزماری.

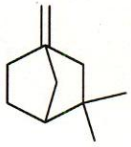
e) فنجان‌ها: از مهم‌ترین ترکیب‌ها این گروه که به شکل طبیعی یافت می شوند می‌توان از فنچون (در اسانس رازیانه) و فنچیل الکل (موجود در اسانس کاج) نام برد (**Finar 1956**).



Fenchone



Fenchyl alcohol



α–Fenchene

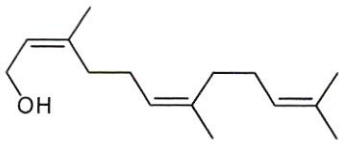
بر طبق سیستم نام گذاری آیوپاک، نام های توجن، کارن و پینان همچنان مورد استفاده قرار می گیرند در حالی که سایر نام‌های منوترپن‌ها تغییر کرده و به صورت مشتق بورنان و نوربورنان در نظر گرفته می‌شوند.

سزکویی ترپن‌ها

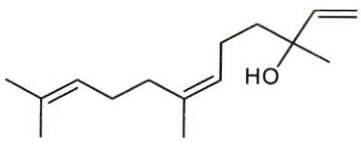
این گروه از ترپن‌ها شامل هیدروکربن‌هایی با فرمول عمومی $C_{15}H_{24}$ و مشتق‌های اکسیژنه آن‌ها می‌باشند. به طور کلی سزکویی ترپن‌ها اجزایی از اسانس های روغنی با نقطه جوش بالای 200 درجه سلسیوس هستند و به دو گروه هیدروکربنی و اکسیژن دار تقسیم می شوند(**Ruzicka et al. 1959**). سزکویی ترپن‌های هیدروکربنی عبارتند از: خطی، تک حلقه‌ای، سه حلقه‌ای و چهار حلقه‌ای.

سزکویی ترپن‌های خطی

در این ترکیب ها 4 پیوند دو گانه حاصل از قرار گرفتن خ طی 3 واحد ایزوپرن وجود دارد که برای بوجود آمدن هر حلقه، یکی از پیوندهای دو گانه کاهش می‌یابد(**رابینسون 1363**).

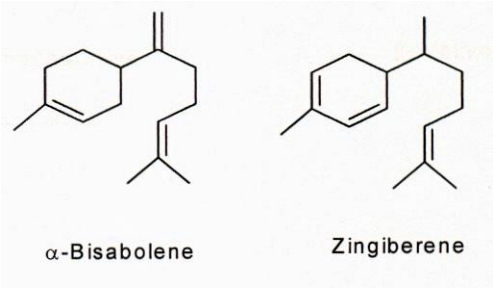


Farnesol

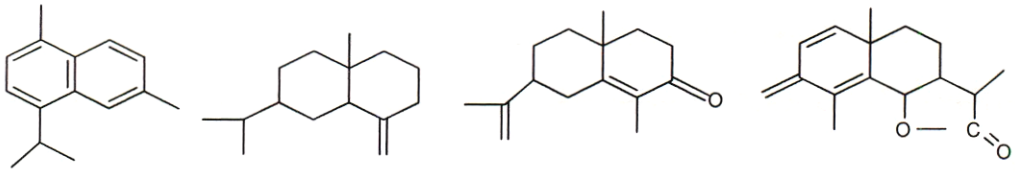


Nerolidol

سزکویی ترپن‌های تک حلقه‌ای

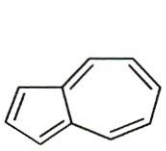


سزکویی ترپن‌های دو حلقه‌ای

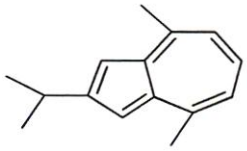


آزولن‌ها

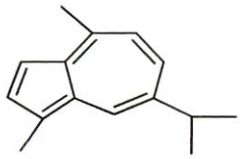
واژه آزولن بر اساس رنگ آبی اجزاء اسانس بابونه توسط پیس نامگذاری گردید. آزولن‌ها در اسانس‌های زیادی از جمله اسانس کافور، کبابه چینی، برنجاسف و . . . دیده شده‌اند. آزولن‌های طبیعی در اسانس ها به دو صورت هستند یا حضورشان رنگ قابل تشخیص به اسانس ها می دهند یا به شکل مشتق های سزکویی ترپن ها بوده که با روش های شیمیایی یا فیزیکی قابل تبدیل به آزولن رنگی می باشند. آزولن‌های گوناگون بر اساس رنگ مربوطه قابل تشخیص می‌باشند. بر اساس پژوهش‌های پلاتنر و فاو ترکیب پایه همه آزولن‌ها هیدروکربور دو حلقه‌ای $C_{10}H_8$ به نام عمومی آزولن می‌باشد.



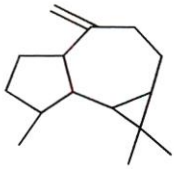
Azulene



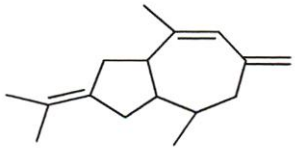
Vetivazulene



Guaiazulene



Aromadendrene

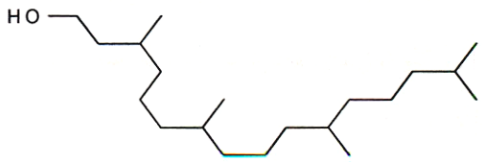


β–Vetivone

دی ترپن‌ها

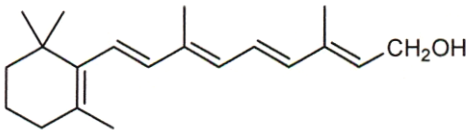
دی ترپن‌ها از چهار واحد ایزوپرنی تشکیل شده و اصولاً در رزین های گیاهی به وفور یافت می‌شوند (**Encyclopædia Britannica 2009**). دی ترپن‌ها به صورت خطی، تک حلقه‌ای، دو حلقه‌ای و سه حلقه‌ای وجود دارند.

دی ترپن‌های خطی مانند: فیتول.



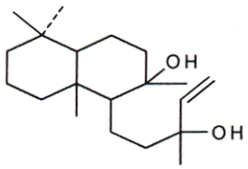
Phytol

دی ترپن‌های تک حلقه‌ای مانند: ویتامین A.

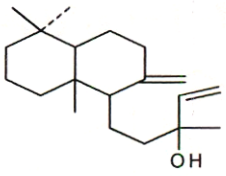


Vitamin A1

دی ترپن‌های دو حلقه‌ای مانند: اسکلارئول و مانول.



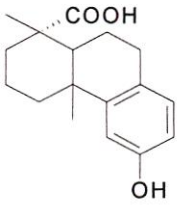
Sclareol



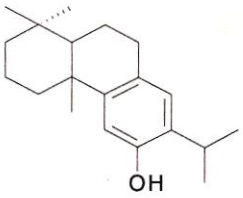
Manool

دی ترپن‌های سه حلقه‌ای

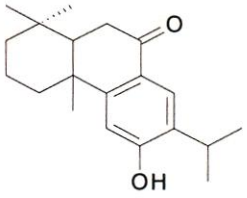
این ترکیب‌ها بیشتر به صورت اسیدها و الکل های رزینی هستند و در بخش‌های غیر فرار رزین‌های طبیعی وجود دارند (**Encyclopædia Britannica 2009**).



Podocarpic acid



Ferruginol



Sugiol

تری ترپن‌ها

تری ترپن‌ها به طور گسترده در سلسله گیاهی و جانوری یافت می شوند، و در حالت آزاد، به صورت گروه های استری و یا گلوکوزیدی وجود دارند و به سه گروه خطی، چهار حلقه ای و پنج حلقه ای تقسیم می شوند(**Encyclopædia Britannica. 2009**):