بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه کاشان

پژوهشکده اسانس‌های طبیعی

پایان‌نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته شیمی و فناوری اسانس

عنوان :

شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاه *Acinos graveolens* و ارزیابی اثرات بیولوژیک این گیاه و گیاه *Eremurus stenophyllus* و طراحی، سنتز و ارزیابی اثر ضداکسیدان و ضدسرطان مشتق دی آزوی مولکول Resveratrol

استاد راهنما :

دکتر عبدالرسول حقیر ابراهیم آبادی

دکتر حسین نعیمی

استاد مشاور:

دکتر حسین بتولی

توسط:

ناهیده سادات حقیقی

شهریور ماه ۱۳۹۲

تقدیم به:

پیامبر خاتم ،محمد مصطفی و یگانه منجی جهان بشریت حضرت مهدی (عج)

تقدیم به پدر و مادر عزیزم که اگر هم اکنون در چنین جایگاهی قرار گرفتم به خاطر دعاها و حمایت‌های بی دریغشان است.

همچنین تقدیم می‌کنم به همسرم، آقای مهدی میرابی که همراهی صدیق و یاری وفادار طی دوران تحصیل بود و من موفقیتم را مدیون صبر و شکیبایی ایشان هستم.

تشکر و قدردانی

حمد و سپاس خدای متعالی را که توفیق کسب دانش به ما عطا فرمود.

و اما سپاسگزارم از استاد بزرگوار و ارجمندم، جناب **آقای دکتر ابراهیم آبادی**، چرا که بدون راهنمایی های دلسوزانه‌ی ایشان سختی کار برایم دوچندان می‌نمود و با آرزوی سلامتی برایشان که همراهی و حضورشان در پیشبرد این پایان نامه مایه‌ی دلگرمی من بود و با سپاس فراوان از جناب **آقای دکتر نعیمی** که بهره‌مندی از راهنمایی‌های ایشان در این پروژه مایه‌ی سعادت من بود.

و همچنین با سپاس از استاد مشاورم، جناب **آقای دکتر بتولی** که از ارائه هرگونه راهنمایی دریغ ننمودند.

همچنین از داوران بزرگوار، جناب **آقای دکتر دهقانی** و **سرکار خانم دکتر اخباری** کمال تشکر را دارم.

و با تشکر از کارشناسان آزمایشگاه سرکار خانم مازوچی و سرکار خانم مبارک و همچنین با تشکر از کارمندان محترم پژوهشکده‌ی اسانس‌های طبیعی قمصر که از ارائه‌ی هرگونه یاری دریغ ننمودند.

چکیده

در این مطالعه آنالیز کمی و کیفی اسانس سرشاخه هوایی گیاه آویشنک و بررسی خواص بیولوژیک عصاره متانولی گیاه فوق و اندام های میوه، ساقه و برگ از گیاه سریش زرین و نیز طراحی و سنتز مشتق دی‌آزو مولکول رزوراترول به منظور بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی آن صورت گرفته است. اسانس‌گیری از سرشاخه هوایی آویشنک با دستگاه SDE انجام شد. آنالیز و شناسایی اسانس حاصل بوسیله دستگاه‌های GC و GC-MS انجام پذیرفت و ۹۳ درصد کل اسانس شناسایی شد. اجزاء اصلی اسانس عبارت بودند از جرماکرن-دی (۵۶.۶۵٪)، بای سیکلو جرماکرن (۸.۶۹٪) و کاریوفیلن اکسید (۷.۴۶٪). فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با روش DPPH و آزمون بتاکاروتن تعیین گردید. در سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH مقایسه IC_{50} آویشنک (µg/ml ۵/۳۳±۵۰/۳۴) با BHT (۰/۵۱ ± ۱۶/۱۳) خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را نشان داد اما میوه و ساقه سریش زرین IC_{50} بالای ۱۰۰۰ و برگ آن IC_{50} معادل (۴۰۱/۲±۵/۳۵µg/ml) را نشان داد که نشان دهنده خاصیت آنتی اکسیدانی ضعیف آن‌ها بود. مقادیر فنول تام عصاره‌ها در مورد گیاه آویشنک (۵۱/۰۵±۰/۷۱µg/mg) و برای میوه، برگ و ساقه سریش زرین به ترتیب (۰/۵۶±۱۱/۵۹،۲/۹۶± ۵/۴۷، ۵/۶۷±۰/۸۷ میکروگرم بر میلی‌گرم) بدست آمد. در روش بتاکاروتن درصد مهار لینولئیک اسید عصاره آویشنک (۵/۰±۴۶/۱) در مقایسه با BHT (۵/۰±۹۴/۱) متوسط و در مورد میوه، برگ و ساقه سریش با درصدهای مهار به ترتیب (۳/۳±۲۳/۴، ۳/۰±۸/۶، ۰/۰) در مقایسه با BHT (۵/۰±۱۰۰) قابل توجه نبود. سمیت سلولی گیاه در روش کشندگی میگوی آب شور در مورد آویشنک LC_{50} معادل با (۱۰۰µg/ml ± ۸۰۰) و برای ساقه و برگ سریش زرین به ترتیب LC_{50} معادل (۱۸ µg/ml ±۴۳۰ ، ۱۰/۸±۶۳۷) بدست آمد. در مجموع هیچ یک از عصاره‌ها خاصیت ضد سرطانی قابل توجهی نشان نداند. در سنجش فعالیت ضد میکروبی، اندام‌های سریش اثر چندانی نشان ندادند و گیاه آویشنک در سه مورد از باکتری‌ها اثر ضد باکتری مختصری نشان داد. طراحی و سنتز مشتق دی‌آزو مولکول رزوراترول به منظور بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی انجام گرفت و سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی محصول، ۲- (۳و۴-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول با روش DPPH ، IC_{50} (۲/۲۵±۰/۳µg/ml) و تست سمیت سلولی با استفاده از لارو میگوی آب شور، LC_{50}معادل (۵۰±۰/۰µg/ml) را نشان داد.

کلمات کلیدی: آویشنک، سریش زرین، اسانس، اثر ضد اکسیدان، فعالیت ضد میکروبی، سمیت سلولی، سنتز، دی آزو، رزوراترول، ۲- (۳و۴-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مباحث نظری

۱-۱- مقدمه..... ۲
۱-۲- ترکیبات طبیعی..... ۳
۱-۲-۱- آلکالوئیدها..... ۴
۱-۲-۲- گلیکوزیدها..... ۴
۱-۲-۳- تانن ها..... ۵
۱-۲-۴- موسیلاژها..... ۵
۱-۲-۵- فلاونوئیدها..... ۶
۱-۲-۶- استروئیدها..... ۶
۱-۲-۷- اسانس ها..... ۶
۱-۲-۷-۱- اسانس های ترپنی..... ۶
۱-۲-۷-۲- فنیل پروپانوئیدها..... ۷
۱-۲-۷-۳- اسانس‌های متفرقه..... ۷
۱-۲-۷-۴- استخراج اسانس..... ۷
۱-۲-۷-۵- دستگاه SDE ۸
۱-۲-۷-۶- کروماتوگرافی گازی..... ۹
۱-۲-۷-۷-شاخص بازداری کواتس..... ۱۱
۱-۲-۷-۸- کاربرد اسانس ها..... ۱۲
۱-۳- عصاره های گیاهی..... ۱۲
۱-۳-۱- روش های استخراج ۱۳
۱-۳-۱-۱- استخراج عصاره با سوکسه..... ۱۳
۱-۴- آنتی اکسیدان ها..... ۱۴

۱-۴-۱- روش‌های سنجش فعالیت ضد اکسیدانی.....۱۵
۱-۴-۱-۱- آزمایش بی رنگ شدن بتا کاروتن در حضور لینولئیک اسید.....۱۶
۱-۴-۱-۲-سنجش مقدار تام فنول با FCR ۱۶
۱-۴-۱-۳-سنجش ظرفیت به دام انداختن رادیکالDPPH ۱۷
۱-۵- ترکیب‌های ضد میکروب.....۱۸
۱-۵-۱-کشت و تکثیر میکروارگانیسم ها.....۱۹
۱-۵-۲- محیط های کشت.....۱۹
۱-۵-۳- سنجش فعالیت ضد میکروبی.....۱۹
۱-۶-سمیت سلولی.....۲۰
۱-۷- طراحی و سنتز مشتق دی آزوی مولکول رزوراترول.....۲۱
۱-۷-۱-طیف گیری با NMR.....۲۴
۱-۷-۱-۱-اجزای دستگاهNMR.....۲۵
۱-۷-۱-۲-تهیه نمونه.....۲۵
۱-۸- گیاه شناسی.....۲۶
۱-۸-۱- تیره‌ی نعناعیان.....۲۶
۱-۸-۲- جنس *Acinos*.....۲۷
۱-۸-۳- *Acinos graveolens* یا آویشنک.....۲۷
۱-۸-۴- تیره لاله.....۲۸
۱-۸-۵- جنس سریش.....۲۸
۱-۸-۶- گونه‌ی سریش زرین.....۲۹

فصل دوم: دستگاه‌ها، مواد و روش‌ها

۲-۱- دستگاه‌ها، مواد و وسایل مورد استفاده.....۳۳
۲-۱-۱- دستگاه‌های مورد استفاده.....۳۳
۲-۱-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده.....۳۵
۲-۱-۳- میکروارگانیسم‌ها و آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده.....۳۷
۲-۲- منابع گیاهی مورد استفاده.....۳۸
۲-۲-۱- جمع آوری نمونه‌های گیاهی.....۳۸
۲-۲-۲- آماده سازی و خشک کردن نمونه‌های گیاهی.....۳۸
۲-۲-۳- اسانس گیری از گیاه آویشنک.....۳۹

۲-۲-۴- جداسازی و شناسایی اجزای اسانس با دستگاه GC-MS ۳۹
۲-۳- عصاره گیری از نمونه‌های گیاهی ۴۰
۲-۳-۱-تعیین بازده استخراج ۴۱
۲-۴-بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ۴۱
۲-۴-۱-بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH ۴۱
۲-۴-۲-اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی ۴۳
۲-۴-۳-آزمایش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در حضور لینولئیک‌اسید ۴۴
۲-۵-فعالیت ضدمیکروبی ۴۶
۲-۵-۱-روش انتشار در آگار ۴۶
۲-۵-۲-تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد ۴۷
۲-۶-آزمون سمیت سلولی(کشندگی لارو میگوی‌آب‌شور) ۴۷
۲-۷-سنتز مشتق دی آزوی مولکول رزوراترول ۴۸

فصل سوم: بحث و نتیجه‌گیری

۳-۱- ترکیبات فرار گیاه آویشنک ۵۱
۳-۱-۱- استخراج ترکیبات فرار گیاه ۵۱
۳-۱-۲- شناسایی ترکیبات فرار گیاه ۵۱
۳-۲- استخراج عصاره متانولی گیاهان ۵۶
۳-۳- آزمون های سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی ۵۷
۳-۳-۱- آزمون DPPH ۵۷
۳-۳-۲- آزمون بتاکاروتن ۶۳
۳-۳-۳- بررسی کل ترکیب‌های فنولی به روش Folin-Ciocalteus ۶۰
۳-۴- فعالیت ضد میکروبی ۶۶
۳-۴-۱- روش دیسک دیفیوژن ۶۶
۳-۴-۲- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد ۶۷
۳-۵- آزمون سمیت سلولی ۶۸
۳-۶- طراحی و سنتز ۲- (۳و۴-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول ۷۱
۳-۶-۱- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ۲- (۳،۴-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول ۷۱
۳-۶-۲- بررسی فعالیت ضد سرطانی ۲- (۴،۳-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول ۷۴
نتیجه گیری ۷۵

پیشنهاد ها..... ۷۵
منابع و مآخذ..... ۷۷
پیوست۱: طیف‌های GC سرشاخه هوایی آویشنک..... ۸۲
پیوست۲: طیف جرمی اجزای اصلی در اسانس گیاه آویشنک..... ۸۳
پیوست۳: طیف ^{1}H NMR مشتق دی آزوی مولکول رزوراترول..... ۸۵
پیوست۴: طیف IR مشتق دی آزوی مولکول رزوراترول..... ۸۶

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- دستگاه SDE..... ۹
شکل ۱-۲- عصاره گیری با دستگاه سوکسله..... ۱۴
شکل ۱-۳- رادیکال DPPH..... ۲۳
شکل ۱-۴- مشتق دی آزو مولکول رزوراترول..... ۲۳
شکل ۱-۵- طرحی از اجزای تشکیل دهنده دستگاه NMR..... ۲۵
شکل ۱-۶- گیاه آویشنک..... ۲۸
شکل ۱-۷- گیاه سریش زرین..... ۳۰

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار ۳-۱- اجزای اصلی اسانس گیاه آویشنک از منطقه قمصر.....۵۳
نمودار۳-۲- مقایسه اجزای اصلی مشترک اسانس گیاه آویشنک در سه منطقه مختلف.....۵۵
نمودار ۳-۳- میزان درصد مهار نسبت به منفی غلظت محلول متانولیBHT.....۵۷
نمودار ۳-۴- نمودار درصد مهار- منفی لگاریتم غلظت سرشاخه هوایی گیاه آویشنک.....۵۹
نمودار ۳-۵- نمودار درصد مهار- منفی لگاریتم غلظت برگ سریش زرین.....۶۲
نمودار۳-۶- مقایسه درصد مهار بتاکاروتن در عصاره های گیاهی و استاندارد.....۶۴
نمودار۳-۷- مقایسه معادل گالیک‌اسید ترکیبات فنولی اندام‌های مختلف گیاه سریش زرین.....۶۵
نمودار۳-۸- درصد مرگ و میر میگوها با غلظت‌های مختلف سرشاخه هوایی گیاه آویشنک.....۶۸
نمودار۳-۹- درصد مرگ و میر میگوها با غلظت های مختلف عصاره ساقه سریش زرین.....۶۹
نمودار۳-۱۰- درصد مرگ و میر میگوها با غلظت‌های مختلف عصاره برگ سریش زرین.....۷۰
نمودار۳-۱۱- درصد مهار- منفی لگاریتم غلظت مشتق دی آزوی مولکول رزوراترول.....۷۲
نمودار۳-۱۲- مقایسه نتایج آزمون DPPH مشتق دی آزو با مشتق ایمینی وBHT.....۷۳
نمودار۳-۱۳- درصد مرگ و میر میگوها با غلظت‌های مختلف مشتق دی‌آزوی رزوراترول.....۷۴

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- مشتقات ایمینی رزوراترول..... ۲۲
جدول ۱-۲- فعالیت مهار رادیکال DPPH توسط مشتقات ایمینی رزوراترول..... ۲۲
جدول۲-۱: دستگاه‌های مورد استفاده..... ۳۳
جدول۲-۲: انواع مواد شیمیایی مورد استفاده..... ۳۵
جدول۲-۳: انواع میکروارگانیسم‌های مورد استفاده..... ۳۷
جدول۲-۴: آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده..... ۳۷
جدول ۳-۱- بازده استخراج ترکیبات فرار از گیاه آویشنک..... ۵۱
جدول ۳-۲- ترکیب درصد اجزای فرار در اسانس گیاه آویشنک..... ۵۲
جدول ۳-۳- بازده عصاره سرشاخه هوایی گیاه آویشنک..... ۵۶
جدول ۳-۴- مقایسه بازده عصاره گیری اندام های مختلف گیاه سریش زرین..... ۵۶
جدول ۳-۵- درصدهای مهار استاندارد BHT..... ۵۷
جدول ۳-۶- $IC_{۵۰}$ استانداردBHT..... ۵۸
جدول ۳-۷- درصدهای مهار DPPH برای هر غلظت از عصاره گیاه آویشنک..... ۵۸
جدول ۳-۸- نتایج آزمون DPPH برای سرشاخه هوایی آویشنک..... ۵۹
جدول ۳-۹- درصدهای مهار DPPH برای هر غلظت از میوه سریش زرین..... ۶۰
جدول ۳-۱۰- درصد های مهار DPPH برای هر غلظت از ساقه سریش زرین..... ۶۰
جدول ۳-۱۱- درصد های مهار DPPH برای هر غلظت از برگ سریش زرین..... ۶۱
جدول ۳-۱۲- نتایج آزمون DPPH برای برگ سریش زرین..... ۶۲
جدول ۳-۱۳- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH برای اندام‌های مختلف گیاه سریش زرین..... ۶۲

جدول ۳-۱۴- درصد مهار لینولئیک اسید عصاره گیاه آویشنک.....۶۳
جدول ۳-۱۵- درصد مهار لینولئیک اسید اندام های مختلف گیاه سریش زرین.....۶۳
جدول ۳-۱۶- محتوای فنولی عصاره گیاه آویشنک.....۶۴
جدول ۳-۱۷- محتوای فنولی عصاره اندام‌های گیاه سریش زرین.....۶۵
جدول ۳-۱۸- نتایج اندازه گیری قطر هاله عدم رشد سرشاخه هوایی گیاه آویشنک..... ۶۶
جدول ۳-۱۹- نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم/ میلی گرم).....۶۷
جدول ۳-۲۰- نتایج مربوط به تست سمیت سلولی سرشاخه هوایی آویشنک.....۶۸
جدول ۳-۲۱- نتیجه تست سمیت سلولی سرشاخه هوایی گیاه آویشنک.....۶۹
جدول۳-۲۲- نتایج مربوط به تست سمیت سلولی ساقه گیاه سریش زرین.....۶۹
جدول۳-۲۳- نتایج مربوط به تست سمیت سلولی برگ گیاه سریش زرین.....۷۰
جدول ۳-۲۴- مقایسه نتایج تست سمیت سلولی اندام های مختلف گیاه سیرش زرین.....۷۰
جدول ۳-۲۵- درصد های مهار DPPH برای هر غلظت از ۲-(۴،۳-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول.....۷۱
جدول۳-۲۶- نتیجه آزمون DPPH برای ۲-(۴،۳-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول.....۷۲
جدول ۳-۲۷- مقایسه نتایج آزمون DPPH مشتق دی آزو با مشتق ایمینی و BHT.....۷۳
جدول ۳-۲۸-داده‌های مربوط به تست سمیت سلولی ۲-(۴،۳-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول.....۷۴
جدول ۳-۲۹- نتجه تست سمیت سلولی برای ۲-(۳،۴-دی هیدروکسی فنیل آزو) فنول.....۷۴

فصل اول

مباحث نظری

۱–۱– مقدمه

گیاهان دارویی از سابقه‌ای بسیار درخشان به ویژه درکشورهای باستانی مانند چین، یونان، مصر، ایران و هندوستان برخوردار است. در ایران باستان استفاده از گیاهان به عنوان دارو، ضدعفونی کننده و معطرکننده مرسوم بوده است[۱]. خدمات علما و دانشمندان مسلمانی نظیر جابربن‌حیان، زکریای رازی، ابونصرفارابی، ابوعلی‌سینا و ... که سرآمد علوم شیمی، پزشکی و داروسازی عصر خود بودند، به اندازه‌ای است که هنوز هم جوامع انسانی از پرتو آن‌ها در زمینه‌های مذکور استفاده می‌کنند. شاید اولین داروخانه گیاهی در قرن سوم هجری در بغداد شکل گرفت. اما به دلیل اینکه تا آن زمان دانش بشری فاقد معیارها و استانداردهای لازم برای تشخیص درست گونه‌های گیاهی بود،گاهی گونه‌ها و گیاهان متعددی با یک عنوان ولی با خواص متفاوت به مردم ارائه می‌شدند. بعدها مواد مؤثره‌ی موجود در گیاهان دارویی جایگزین مواد خام گیاهی گردید و به تدریج باب شیمی گیاهی گشوده شد تا اینکه امروزه تعداد زیادی از داروهای مدرن از منابع گیاهی استخراج می‌گردند[۲]. کیمیاگران اسانس را جوهره گیاه نامیده‌اند و بر اساس این تفکر، اسانس شکل مادی نیروهای حیاتی و روحی موجود در گیاهان است. بنابراین نیروهای مزبور بر روی وضعیت بیولوژیکی بدن تأثیرگذارند که موجب تقویت قدرت دفاع طبیعی بدن نیز می‌گردند. به عبارتی اسانس‌ها، واسطه‌ای برای ارتباط مستقیم انسان و گیاه، روی وضعیت روحی و انرژی فرد می‌باشند. با گسترش این علم، استخراج اسانس مورد توجه بیشتر قرار گرفت و به همراه عصاره‌های گیاه، قرنها به عنوان پایه بیشتر داروها و یا به تنهایی به عنوان دارو جهت درمان بیماریهای مزمن و همگانی بکار می‌رفتند[۳]. گیاه درمانی یا بکارگیری گیاهان برای درمان و یا پیشگیری از بیماری‌ها

معادلی است برای فیتوتراپی که سابقه‌ای بسیار قدیمی در دنیا دارد. با توجه به اینکه کشور ایران از ذخیره‌ی غنی گیاهی برخوردار است و بسیاری از گیاهان این سرزمین از لحاظ قابلیت‌های مختلف فیتوشیمیایی، ضد میکروبی، دارویی و غیره مورد بررسی قرار نگرفته‌اند لذا شایسته است قابلیت گیاهان بکر آن ارزیابی شود که در این پژوهش بر روی گیاهان *Acinos graveolens* و *Eremurus stenophyllus* بررسی صورت گرفت.

از طرفی طی ۲۰۰ سال اخیر با سنتز داروهای جدید و ابداع داروهای سنتتیک کارایی و اثربخشی گیاهان بخصوص از نظر سرعت و قدرت اثر در مقایسه با نسل جدید داروها زیر سوال رفت و به تدریج در اذهان مردم کشورهای پیشرفته کمرنگ شد. اما این حقیقت که داروهای جدید نیز در اکثر موارد با استفاده از مولکول‌های طبیعی استخراج شده از گیاهان و با تغییراتی بر روی آن‌ها به منظور اثربخشی بیشتر، قوی‌تر و کم عارضه‌تر بدست می‌آیند همچنان ادامه یافت. در حال حاضر نیز اکثر داروهای به ظاهر سنتتیک موجود بطور مستقیم یا غیر مستقیم از گیاهان دارویی اقتباس شده‌اند. در تولید داروهای جدید گیاهی این باور کهن به دانسته‌های علمی تبدیل گشته که گیاه موجودی است پیچیده که با داشتن هزاران ترکیب در خود که هر کدام می‌تواند متعادل کننده‌ی اثر ترکیبات دیگر باشد بایستی به صورت کامل عرضه شود[۴]. در این خصوص نیز دراین پژوهش تلاش برای سنتزمشتق دی آزو از مولکول resveratrol، که این ماده بطور طبیعی در گیاهانی چون انگور، بادام زمینی، توت سفید و انواع گیاهان دارویی وجود دارد انجام گرفت. این ماده فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی دارد که سنتز مشتق دی آزو از این مولکول به منظور بهبود این خصلت صورت گرفت.

۱-۲-ترکیبات طبیعی

گیاهان گستره‌ی وسیعی از ترکیبات آلی را سنتز می‌کنند که به عنوان متابولیت‌های اولیه و ثانویه دسته بندی می‌شوند. اگرچه مرزهای دقیق بین این دو گروه در بعضی موارد می‌تواند کمی محو شود. متابولیت‌های اولیه ترکیباتی هستند که نقش اساسی را درحیات گیاه مثل تنفس، رشد و توسعه‌ی گیاه دارند. اینها شامل فیتواسترول‌ها، چربی‌ها، نوکلئوتیدها، آمینواسیدها و اسیدهای آلی می‌شود. در مقابل فراوانی متابولیت‌های ثانویه کمتر است و اغلب منحصر به گونه‌های خاصی

هستند. امروزه عملکرد آن‌ها در گیاه مورد توجه قرار گرفته است به گونه‌ای که در بعضی موارد دیده شده نقش کلیدی در محافظت گیاهان دربرابر گیاه‌خواران وآلودگی‌های میکروبی دارند همچنین به عنوان جلب کننده‌ی حشرات گرده افشان، پراکندگی دانه توسط حیوانات، به عنوان عوامل ضد درد، محافظت در برابر UV، استفاده‌ی آن‌ها به عنوان فیبر، رنگ، چسب، روغن‌ها، موم-ها،عوامل طعم‌دهنده، داروها و عطرها و به عنوان منبع قوی برای داروهای طبیعی جدید، آنتی-بیوتیک‌ها، حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها مورد توجه قرار گرفتند[۵]. در واقع مواد ثانویه برای تداوم حیات ضروری نیستند. ازجمله شامل آلکالوئیدها، فلاونوییدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، تانن‌ها، موسیلاژها و غیره هستند[۶].

۱-۲-۱-آلکالوئیدها

آلکالوئیدها به عنوان مواد ازته‌ای که خاصیت قلیایی دارند و در محیط اسیدی نمک تولید می‌کنند تعریف می‌شوند. بسیار متنوع می‌باشند و بر حسب خصوصیات بیوشیمیایی و شیمیایی در۳ گروه قرار می‌گیرند.

الف: آلکالوئیدهای حقیقی: منشا آن‌ها اسیدهای آمینه و ترکیبات شیمیایی هتروسیکلیک ازت‌دار می‌باشند.

ب: پروتوآلکالوئیدها: این دسته از آلکالوئیدها از اسیدهای آمینه ساخته شده و محتوی ترکیبات شیمیایی ازت‌دار خطی (غیر حلقوی) می‌باشند.

ج: آلکالوئیدهای کاذب: این دسته از آلکالوئیدها از اسیدهای آمینه تشکیل نشده‌اند ولی در ساختمان شیمیایی آن‌ها ازت وجود دارد.

بعضی از انواع آلکالوئیدها دارای اثرهای کاملا بارز و شاخص دارویی هستند و ازاین لحاظ بسیار مفید و ارزشمندند. در این مورد می‌توان از کافئین، استریکنین، کینین، مورفین و امثال آن نام برد.

۱-۲-۲- گلیکوزیدها

گلیکوزیدها در مسیرهای مختلف متابولیکی به شکل‌های گوناگونی ساخته می‌شوند. این مواد دارای ساختمان شیمیایی پیچیده و مخصوصی هستند و در بدن انسان اثرهای خاصی نیز بر جای

می‌گذارند. گلیکوزیدها پس از هیدرولیز به ترکیبات قندی (گلیکون) و غیر قندی (آگلیکون) تبدیل می‌شوند. آگلیکون‌ها مصارف فراوانی در داروسازی دارند. یکی از مهمترین ترکیبات گلیکوزیدی، گلیکوزیدهای سیانوژنتیک هستند که از مهمترین آن‌ها می‌توان آمیگدالین را نام برد که بطور وسیعی در گیاهان خانواده‌ی گل سرخ، پروانه آسا، کتان و برخی خانواده‌های دیگر وجود دارد. یکی دیگر از گلیکوزیدهای مهم آنتراکینون‌ها هستند که نقش عمده‌ای در درمان یبوست دارند. از گیاهان حاوی آنتراکینون‌ها می‌توان از سنا، سیاه‌توسه، ریواس و ... نام برد. از دیگر گلیکوزیدها می-توان به گلیکوزیدهای قلبی، ساپونینی، فلاونوئیدی، کومارینی و ... نام برد.

۱–۲–۳– تانن ها

این ترکیبات عموما سخت و قابض‌اند و توانایی پیوستگی به پروتئین‌ها را دارند و باعث رسوب آنها می‌شوند. به لحاظ داشتن این خاصیت قرن‌هاست برای تبدیل پوست حیوانات به چرم (در دباغی) مورد استفاده قرار می‌گیرند. تانن‌ها به چند دسته‌ی کلی تقسیم می‌شوند، شامل تاننهای هیدرولیز شونده، تانن‌های متراکم و تانن‌های کاذب.
تانن‌ها بویژه از پوست درختان بلوط و ریشه‌ها و ریزوم برخی گیاهان تیره‌ی گلسرخ قابل استخراج اند.

۱–۲–۴– موسیلاژها

موسیلاژها، کربوهیدارات‌هایی هستند با ساختمان شیمیایی بسیار پیچیده و با وزن مولکولی زیاد. این مواد در الکل‌ها غیر محلول می‌باشند. در آب حل می‌شوند و پس از جذب آب متورم و حجیم می‌گردند. از گیاهانی که حاوی ترکیبات موسیلاژی می‌باشند و در صنایع دارویی از اهمیت خاصی برخوردارند می‌توان ختمی، سینوم، ستراریا و ... را نام برد. مهمترین خواص دارویی آن‌ها، خاصیت ضد سوزش آن‌هاست که برای مداوای زخم‌های موجود در دستگاه گوارش و عفونت‌های مخاط، حلق و گلو مورد استفاده قرار می‌گیرند. ازخاصیت جذب آب آن‌ها برای کاهش آب موجود در دستگاه گوارش (در اسهال‌های مزمن به عنوان قابض) استفاده می‌کنند[۶].

۱-۲-۵- فلاونوئیدها

فلاونوئیدها ترکیبات پلی فنول شامل ۱۵ کربن با دو حلقه‌ی آروماتیک هستند که با یک پل ۳ کربنه به هم متصل شدند. در ۵ گروه می‌توانند قرار گیرند. فلاونول، فلاونون، آنتوسیانین، فلاون، فلاون-۳-ال و ایزو فلاون. فلاون‌ها و مشتقات آن‌ها (فلاونوئیدها) موادی هستند که بصورت آزاد در بسیاری از گیاهان و یا بصورت ترکیب با گلیکوزیدها وجود دارند. عموما محلول در آب هستند و مهمترین مشتقات فلاون‌ها به رنگ زرد می‌باشند. فلاون ها در گیاهان خانواده‌ی کاسنی، پروانه آسا، سداب و برخی خانواده‌های دیگر یافت می‌شوند [۶،۵].

۱-۲-۶- استروئیدها

استروئیدها، گروهی از ترکیبات آلی هستند که از تری ترپن‌های چهار حلقه‌ای مشتق می-شوند و دارای ساختار کلی سیکلوپنتاپرهیدروفنانترن می‌باشند. معمولا گروه‌های متیل در کربن‌های ۱۰و۱۳ وجود دارند و در کربن ۱۷ زنجیر جانبی آلکیلی ممکن است وجود داشته باشد. تنوع در استروئیدها ناشی از تعداد گروه‌های متیل افزایشی، پیکربندی زنجیر جانبی و گروه‌های عاملی متصل به حلقه‌هاست [۷،۸].

۱-۲-۷- اسانس ها

اسانس‌ها موادی هستند کم و بیش فرار و معطر که هم با تقطیر با بخار یا تقطیر خشک و یا بوسیله‌ی روش‌های مکانیکی (برای مرکبات) بدست می‌آیند.
به طور کلی اسانس‌های گیاهی بر اساس ساختار شیمیایی بصورت زیر تقسیم بندی می‌شوند.

۱-۲-۷-۱- اسانس های ترپنی: این گروه خود به ۳ دسته تقسیم می‌شود که نکته‌ی مشترک میان آن‌ها وجود واحد ۵ کربنه‌ی ایزوپرن است.
الف) همی‌ترپن‌ها که شامل یک واحد ایزوپرن هستند مانند تیگلیک اسید و ایزو والریک اسید که هر دو در پرتقال و گریپ فروت وجود دارند.

ب) مونوترپن‌ها، ۱۰ کربنه و شامل دو واحد ایزوپرن هستند. می‌توان آن‌ها را به ۳ گروه عمده تقسیم کرد.

۱- غیرحلقوی

۲- یک‌حلقه ای مثل لیمونن

۳- دو حلقه‌ای مثل کامفن، پینن، توجن و...

ج) سزکوای‌ترپن‌ها که شامل ۱۵ کربن می‌باشند.

۱-۲-۷-۲- فنیل‌پروپانوئیدها: مسیر بیوسنتز کاملا متفاوتی دارند و از ماده‌ی حد واسط شیکمیک اسید ساخته شده‌اند. یک اسکلت ۹ کربنه شامل یک زنجیر ۳ کربنه و یک حلقه‌ی آروماتیک دارند. زنجیره‌ی جانبی معمولا حاوی یک پیوند دوگانه است ولی وجود اکسیژن پدیده ایست که در آن گاهی روی می‌دهد.

۱-۲-۷-۳- اسانس های متفرقه: به عنوان مثال اسانس خردل شامل آلیل ایزوتیوسیانات که درگیاهان خانواده‌ی کراسینره[۱] وجود دارد و آلیل سولفاید که در اسانس سیر و آنغوزه موجود است [۹].

۱-۲-۷-۴- استخراج اسانس

فرایند جداسازی ترکیبات معطر بطور معمول به یکی از روش‌های زیر انجام می‌شود[۱۱،۱۰].

۱- تقطیر

الف- تقطیر با آب

ب- تقطیر با آب و بخار آب

ج- تقطیر با بخار آب

۲- فشردن

الف- روش اسفنجی

ب- روش قیفی

۱- Cracienrae