

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده‌ی علوم  
گروه آموزشی زیست‌شناسی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد  
در رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان:

**بررسی فیتوشیمیایی و برخی جنبه‌های آللوپاتیک گیاه خوشاریزه  
*Echinophora orientalis*، یک گونه بومی ایران**

اساتید راهنما:

دکتر سید مهدی رضوی

دکتر علیرضا قاسمیان

استاد مشاور:

مهندس شهابت هدایت

پژوهشگر:

سارا بنی ابراهیم

تابستان ۹۲

## تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌های ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقررات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

اینجانب سارا بنی ابراهیم دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی دانشکده‌ی علوم دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۰۲۲۴۳۳۱۱۱ که در تاریخ ۹۲/۶/۳۰ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان بررسی فیتوشیمیایی و برخی جنبه‌های آللوپاتیک گیاه خوشاریزه *Echinophora orientalis*، یک گونه بومی ایران دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

- (۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.
- (۲) مسئولیت صحت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.
- (۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.
- (۴) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقررات مربوطه و با رعایت اصل امانتداری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام.
- (۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هرگونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.
- (۶) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.
- (۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقررات مربوطه رفتار نماید.

نام و نام خانوادگی دانشجو: سارا بنی ابراهیم

امضا

تاریخ ۹۲/۶/۳۰



دانشکده‌ی علوم  
گروه آموزشی زیست‌شناسی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد  
در رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان:

بررسی فیتوشیمیایی و برخی جنبه‌های آللوپاتیک گیاه خوشاریزه *Echinophora orientalis*، یک گونه بومی ایران

پژوهشگر:

سارا بنی‌ابراهیم

ارزیابی و تصویب شده‌ی کمیته‌ی داوران پایان‌نامه با درجه‌ی .....  
.....

| نام و نام خانوادگی  | مرتبه‌ی علمی | سمت                                | امضاء |
|---------------------|--------------|------------------------------------|-------|
| دکتر سید مهدی رضوی  | دانشیار      | استاد راهنما و رئیس کمیته‌ی داوران |       |
| دکتر علیرضا قاسمیان | استادیار     | استاد راهنما و رئیس کمیته‌ی داوران |       |
| مهندس شهامت هدایت   | مربی         | استاد مشاور                        |       |
| دکتر صابر زهری      | دانشیار      | داور                               |       |

شهریور - ۱۳۹۲

تقدیم به پدر و مادرم

که از نگاهشان صلابت

از رفتارشان محبت

و از صبرشان ایستادگی را آموختم.

(و یزکیهم و یعلمهم الکتاب و الحکمه)

با تشکر و سپاس از استاد دانشمند و پر مایه ام جناب آقای دکتر سید مهدی رضوی که از محضر پر فیض تدریستان ، بهره ها برده ام.

با امتنان بیکران از مساعدت های بی شائبه ی جناب آقای دکتر علیرضا قاسمیان و آقای مهندس شهامت هدایت.

با تقدیر و درود فراوان خدمت پدر و مادر بسیار عزیز ، دلسوز و فداکارم که پیوسته جرعه نوش جام تعلیم و تربیت ، فضیلت و انسانیت آنها بوده ام و همواره چراغ وجودشان روشنگر راه من در سختی ها و مشکلات بوده است.

با تشکر فراوان خدمت خواهر عزیزم که در این مدت حضور مهربانش یاری بخشم بود .

با سپاس بی دریغ خدمت دوستان عزیزم خانم ها الهام مقری و ندا شفیعی که مرا صمیمانه و مشفقانه یاری دادند.

و با تشکر خالصانه خدمت همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده اند.

|  |  |
|--|--|
| نام خانوادگی دانشجو: بنی ابراهیم نام: سارا   |  |
| عنوان پایان‌نامه: بررسی فیتوشیمیایی و برخی جنبه های آللوپاتیک گیاه خوشاریزه <i>Echinophora orientalis</i> ، یک گونه بومی ایران   |  |
| اساتید راهنما: دکتر سید مهدی رضوی و دکتر علیرضا قاسمیان<br>استاد مشاور: مهندس شهامت هدایت  |  |
| مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد   | رشته: زیست‌شناسی                       |
| گرایش: فیزیولوژی گیاهی   | دانشگاه: محقق اردبیلی                  |
| دانشکده: علوم پایه   | تاریخ دفاع: ۱۳۹۲/۶/۳۰ تعداد صفحات: ۱۱۴ |
| چکیده:<br>گیاه <i>Echinophora orientalis</i> ، گیاهی چندساله، پایا و متعلق به تیره چتریان است. پراکنش جهانی این گیاه در ترکیه، ایران و قفقاز است و در ایران پراکنش آن به استان‌های غرب و شمال غربی محدود می‌شود. در بعضی مناطق ایران از اندام‌های هوایی آن به عنوان سبزی بهاره برای درست کردن آش استفاده می‌شود و یا به عنوان علوفه برای دام‌ها کاربرد دارد. در ترکیه از ریشه این گیاه به عنوان چاشنی برای درست کردن حلوا که یک شیرینی ترکیه-ای است استفاده می‌شود. در این تحقیق گیاه مورد نظر از نظر فیتوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. ترکیبات فرار برگ، گل آذین و ریشه این گیاه به روش تقطیر با بخار آب حاصل شده و توسط روش GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت. در مجموع ۲۳، ۴۸ و ۵۵ ترکیب به ترتیب از برگ، گل آذین و ریشه شناسایی شد. علاوه بر این متابولیت‌های ثانویه غیرفرار ریشه گیاه نیز مورد بررسی قرار گرفت. پودر ریشه خشک شده گیاه با استفاده از دستگاه سوکسیله عصاره‌گیری شد و عصاره هگزانی و دی‌کلرومتانی ریشه این گیاه با روش TLC پره‌پاراتیو مورد آنالیز قرار گرفت. در این بررسی‌ها، ترکیب ایکوزان از عصاره دی‌کلرومتانی گیاه استخراج شد. بلورهای عصاره متانولی نیز به روش ریکریستالیزاسیون خالص شد و بررسی‌ها نشان داد قند ساکارز است. ساختار این ترکیبات با استفاده از روش‌های اسپکتروسکوپی مختلف نظیر NMR و IR تعیین شد. بر روی عصاره‌ها و اسانس‌های این گیاه تست‌های مختلف آللوپاتی انجام گرفت که نتایج نشان داد عصاره‌ها و اسانس‌های این گیاه دارای اثرات ضد قارچی قوی بر علیه <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> است. فعالیت فیتوتوکسیک در هیچ یک از عصاره‌ها و اسانس‌ها دیده نشد. اسانس‌ها و عصاره‌های این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان ندادند. |  |
| کلید واژه‌ها: <i>Echinophora orientalis</i> ، ترکیبات فرار، متابولیت‌های ثانویه، ایکوزان، ساکارز.  |  |

فصل اول: عنوان کلیات پژوهش

|         |  |    |
|---------|--|----|
| ۱-۱     | فیتوشیمی و اهمیت آن.....                                 | ۲  |
| ۲-۱     | مراحل یک مطالعه فیتوشیمیایی.....                         | ۳  |
| ۳-۱     | متابولیسم، متابولیت‌های اولیه و ثانویه.....              | ۴  |
| ۱-۳-۱   | آلکالوئیدها.....   | ۶  |
| ۲-۳-۱   | فنیل پروپانوئیدها.....                                   | ۷  |
| ۳-۳-۱   | پلی کتیدها.....  | ۷  |
| ۴-۳-۱   | ترپنوئیدها.....  | ۸  |
| ۱-۴-۳-۱ | همی‌ترین.....  | ۸  |
| ۲-۴-۳-۱ | مونوترپن‌ها.....   | ۹  |
| ۳-۴-۳-۱ | سزکوئی‌ترین‌ها.....                                      | ۱۰ |
| ۴-۴-۳-۱ | دی‌ترین‌ها.....  | ۱۰ |
| ۵-۴-۳-۱ | سزترین‌ها.....   | ۱۱ |
| ۶-۴-۳-۱ | تری‌ترین‌ها.....   | ۱۱ |
| ۷-۴-۳-۱ | تتراترین‌ها.....   | ۱۲ |
| ۸-۴-۳-۱ | پلی‌ترین‌ها.....   | ۱۲ |
| ۴-۱     | شیمی اسانس.....  | ۱۳ |
| ۱-۴-۱   | خواص و کاربردهای اسانس.....                              | ۱۴ |
| ۵-۱     | گیاهان دارویی.....                                       | ۱۷ |
| ۶-۱     | دگراسیبی (آلوپاتی).....                                  | ۱۸ |
| ۱-۶-۱   | آللوکمیkal.....  | ۱۹ |
| ۲-۶-۲   | مکانیسم‌های عمل مواد آللوکمیkal.....                     | ۲۰ |
| ۳-۶-۱   | دگراسیبی در مدیریت علف‌های هرز.....                      | ۲۰ |
| ۷-۱     | علف هرز تاج‌خروس.....                                    | ۲۲ |
| ۸-۱     | قارچ <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....               | ۲۳ |
| ۹-۱     | مشخصات گیاه‌شناسی.....                                   | ۲۴ |
| ۱-۹-۱   | مشخصات تیره‌چتریان.....                                  | ۲۴ |
| ۱-۱-۹-۱ | مشخصات جنس <i>Echinophora</i> .....                      | ۲۵ |
| ۲-۱-۹-۱ | مشخصات گونه <i>Echinophora orientalis</i> .....          | ۲۷ |
| ۱۰-۱    | پیشینه تحقیق.....  | ۲۹ |
| ۱-۱۰-۱  | ترکیبات شیمیایی جنس <i>Echinophora</i> .....             | ۲۸ |
| ۲-۱۰-۱  | خواص آلوپاتیک جنس <i>Echinophora</i> .....               | ۳۴ |
| ۳-۱۰-۱  | ترکیبات شیمیایی گونه <i>Echinophora orientalis</i> ..... | ۳۶ |



## فصل دوم: مواد و روش‌ها

|    |   |
|----|---|
| ۳۸ | ۱-۲ جمع‌آوری و شناسایی گیاه.....                            |
| ۳۹ | ۲-۲- آماده‌سازی نمونه گیاهی.....                            |
| ۳۹ | ۳-۲- مواد و تجهیزات مورد نیاز.....                          |
| ۴۰ | ۴-۲- روش کار.....   |
| ۴۰ | ۲- ۱-۴- بررسی فیتوشیمیایی.....                              |
| ۴۰ | ۲- ۱-۴- بررسی ترکیبات فرار.....                             |
| ۴۰ | ۲- ۱-۴- تقطیر اسانس.....                                    |
| ۴۲ | ۲- ۱-۴- آنالیز اسانس.....                                   |
| ۴۲ | ۲- ۱-۴- مشخصات دستگاه GC/MS.....                            |
| ۴۲ | ۲- ۱-۴- شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس.....              |
| ۴۲ | ۲- ۱-۴- شاخص بازداری کوارتس.....                            |
| ۴۴ | ۲- ۱-۴- بررسی ترکیبات غیرفرار.....                          |
| ۴۴ | ۲- ۱-۴- عصاره‌گیری.....                                     |
| ۴۵ | ۲- ۱-۴- تغلیظ.....  |
| ۴۶ | ۲- ۱-۴- بررسی مقدماتی عصاره‌ها.....                         |
| ۴۸ | ۲- ۱-۴- جداسازی اجزای تشکیل دهنده عصاره‌ها.....             |
| ۵۲ | ۲- ۱-۴- خالص‌سازی ترکیبات جداشده.....                       |
| ۵۳ | ۲- ۱-۴- بررسی خواص آلوپاتی عصاره‌ها و اسانس‌ها.....         |
| ۵۳ | ۲- ۱-۴- بررسی خواص ضدقارچی.....                             |
| ۵۵ | ۲- ۱-۴- بررسی اثرات آلوپاتی بر روی بذر تاج‌خروس و کاهو..... |
| ۵۵ | ۲- ۱-۴- بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها.....              |

## فصل سوم: نتایج

|    |   |
|----|---|
| ۵۸ | ۳-۱- نتایج اسانس‌گیری.....                                |
| ۵۹ | ۳-۱- آنالیز اسانس‌ها.....                                 |
| ۶۳ | ۳-۱- توصیف ترکیبات عمده اسانس‌ها.....                     |
| ۶۹ | ۳-۲- نتایج عصاره‌گیری.....                                |
| ۷۰ | ۳-۳- نتایج حاصل از تخلیص عصاره‌ها.....                    |
| ۷۰ | ۳-۳-۱- عصاره‌ی ان-هگزانی.....                             |
| ۷۰ | ۳-۳-۲- عصاره دی‌کلرومتانی.....                            |
| ۷۰ | ۳-۳-۱- تفسیر طیف ترکیب شماره ۲ از عصاره دی‌کلرومتانی..... |
| ۷۲ | ۳-۳-۳- بلور متانولی.....                                  |
| ۷۲ | ۳-۳-۱- تفسیر طیف بلور متانولی.....                        |
| ۷۵ | ۳-۴- نتایج بررسی‌های آلوپاتی.....                         |
| ۷۵ | ۳-۴-۱- نتایج آزمایش ضدقارچ.....                           |

|         |   |
|---------|---|
| ۷۷..... | ۳-۴-۲- نتایج اثرات علف کشی.....                 |
| ۷۷..... | ۳-۴-۲-۱- اثرات آلوپاتی بر روی بذر کاهو.....     |
| ۸۰..... | ۳-۴-۲-۲- اثرات آلوپاتی بر روی بذر تاج خروس..... |
| ۸۳..... | ۳-۵- نتایج تست آنتی اکسیدانی اسانس ها.....      |

### فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

|         |                                |
|---------|--------------------------------|
| ۸۵..... | ۴-۱- بحث و نتیجه گیری کلی..... |
| ۹۱..... | ۴-۲- پیشنهادات.....            |
| ۹۲..... | منابع.....                     |
| ۹۲..... | پیوست.....                     |

## فهرست جدول‌ها

| شماره و عنوان جدول  | صفحه |
|---|------|
| ۱-۳- اطلاعات اسانس گیری.....  | ۵۸   |
| ۲-۳- ترکیبات اسانس برگ، گل آذین و ریشه گیاه <i>Echinophora orientalis</i> .....                   | ۵۹   |
| ۳-۳- گره‌بندی ترکیبات اسانس برگ، گل آذین و ریشه گیاه <i>Echinophora orientalis</i> .....          | ۶۳   |
| ۴-۳- اطلاعات مربوط به هر یک از عصاره‌ها.....  | ۶۹   |
| ۵-۳- جابه‌جایی شیمیایی مربوط به طیف C-NMR ترکیب شماره ۲ عصاره‌دی کلرومتانی.....                   | ۷۱   |
| ۶-۳- جابه‌جایی شیمیایی مربوط به طیف C-NMR ترکیب شماره ۲ عصاره‌دی کلرومتانی.....                   | ۷۱   |
| ۷-۳- جابه‌جایی شیمیایی مربوط به طیف H-NMR بلور متانولی.....                                       | ۷۳   |
| ۸-۳- جابه‌جایی شیمیایی مربوط به طیف C-NMR بلور متانولی.....                                       | ۷۴   |
| ۹-۳- بررسی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر روی جوانه‌زنی بذر، رشد ساقه‌چه و رشد ریشه‌چه کاهو.....      | ۷۸   |
| ۱۰-۳- میزان IC50 عصاره‌ها بر روی جوانه‌زنی، رشد ساقه‌چه، رشد ریشه‌چه در کاهو.....                 | ۷۸   |
| ۱۱-۳- بررسی غلظت‌های مختلف اسانس‌ها بر روی جوانه‌زنی بذر، رشد ساقه‌چه و رشد ریشه‌چه کاهو.....     | ۷۹   |
| ۱۲-۳- میزان IC50 اسانس‌ها بر روی جوانه‌زنی، رشد ساقه‌چه، رشد ریشه‌چه در کاهو.....                 | ۸۰   |
| ۱۳-۳- بررسی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر روی جوانه‌زنی بذر، رشد ساقه‌چه و رشد ریشه‌چه تاج‌خروس..... | ۸۱   |
| ۱۴-۳- میزان IC50 عصاره‌ها بر روی جوانه‌زنی، رشد ساقه‌چه، رشد ریشه‌چه در تاج‌خروس.....             | ۸۱   |
| ۱۵-۳- بررسی غلظت‌های مختلف اسانس‌ها بر روی جوانه‌زنی بذر، رشد ساقه‌چه و رشد ریشه‌چه تاج‌خروس..... | ۸۲   |
| ۱۶-۳- میزان IC50 اسانس‌ها بر روی جوانه‌زنی، رشد ساقه‌چه، رشد ریشه‌چه در تاج‌خروس.....             | ۸۳   |

## فهرست شکل‌ها

شماره و عنوان شکل صفحه

- شکل ۱-۱: مثال‌هایی از همی‌ترین‌ها..... ۹
- شکل ۱-۲: مثال‌هایی از مونوترین‌ها..... ۹
- شکل ۱-۳: مثال‌هایی از سزکوئی‌ترین‌ها..... ۱۰
- شکل ۱-۴: مثال‌هایی از دی‌ترین‌ها..... ۱۱
- شکل ۱-۵: مثال‌ای از تتراترین‌ها..... ۱۲
- شکل ۱-۶: علف هرز تاج خروس *Amaranthus retroflexus* L..... ۲۳
- شکل ۱-۷: تصویر هرباریومی گونه *Echinophora orientalis*..... ۲۸
- شکل ۱-۲: شمای کلی دستگاه کلونجر..... ۴۱
- شکل ۲-۲: شمای کلی دستگاه سوکسیله..... ۴۴
- شکل ۲-۳: دستگاه روتاری..... ۴۶
- شکل ۲-۴: TLC آنالیتیکال، عکس سمت راست عصاره ان-هگزانی و عکس سمت چپ عصاره دی‌کلرومتانی..... ۴۷
- شکل ۲-۵: TLC پره‌پاراتیو درون تانک حلال..... ۴۹
- شکل ۲-۶: TLC پره‌پاراتیو از عصاره ان-هگزانی (طول موج ۳۶۵ نانومتر)..... ۵۰
- شکل ۲-۷: TLC پره‌پاراتیو از عصاره دی‌کلرومتانی (طول موج ۳۶۵ نانومتر)..... ۵۱
- شکل ۲-۸: خالص سازی باند ۱ و ۴ ان-هگزانی (طول موج ۳۶۵ نانومتر)..... ۵۲
- شکل ۲-۹: خالص سازی باند ۲ دی‌کلرومتانی (طول موج ۳۶۵ نانومتر)..... ۵۳
- شکل ۳-۱: بتا-میرسن..... ۶۴
- شکل ۳-۲: آلفا و بتا پابین..... ۶۵
- شکل ۳-۳: پی-سایمن..... ۶۶
- شکل ۳-۴: لیمونن..... ۶۷
- شکل ۳-۵: میریستیسین..... ۶۸
- شکل ۳-۶: فالکارینول..... ۶۸
- شکل ۳-۷: ان-اکتانال..... ۶۹
- شکل ۳-۸: ساختار ایکوزان..... ۷۲
- شکل ۳-۹: ساختار ساکارز..... ۷۴
- شکل ۳-۱۰: میزان بازداری غلظت‌های مختلف عصاره‌های ان-هگزانی، دی‌کلرومتانی و متانولی بر روی قارچ

اسکلروتینا ۷۵

- شکل ۳-۱۱: میزان بازداری غلظت‌های مختلف اسانس برگ، گل‌آذین و ریشه بر روی قارچ اسکلروتینا..... ۷۶
- شکل ۳-۱۲: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ، گل‌آذین و ریشه در DPPH..... ۸۳
- شکل پ-۱: طیف کروماتوگرام اسانس برگ *Echinophora orientalis*..... ۱۰۰
- شکل پ-۲: طیف کروماتوگرام اسانس گل‌آذین *Echinophora orientalis*..... ۱۰۱
- شکل پ-۳: طیف کروماتوگرام اسانس ریشه *Echinophora orientalis*..... ۱۰۲
- شکل پ-۴: طیف H-NMR ایکوزان (CDCL<sub>3</sub> و ۴۰۰ MHz)..... ۱۰۳
- شکل پ-۵: طیف گسترده H-NMR ایکوزان (CDCL<sub>3</sub> و ۴۰۰ MHz)..... ۱۰۴
- شکل پ-۶: طیف C-NMR ایکوزان (CDCL<sub>3</sub> و ۴۰۰ MHz)..... ۱۰۵

- شکل پ-۷: طیف گسترده C-NMR ایکوزان ( $CDCl_3$  و ۴۰۰ MHz) ..... ۱۰۶
- شکل پ-۸: طیف FT-IR ایکوزان در پودر KBr ..... ۱۰۷
- شکل پ-۹: طیف H-NMR ساکارز ( $D_2O$  و ۴۰۰ MHz) ..... ۱۰۸
- شکل پ-۱۰: طیف گسترده H-NMR ساکارز ( $D_2O$  و ۴۰۰ MHz) ..... ۱۰۹
- شکل پ-۱۱: طیف گسترده H-NMR ساکارز ( $D_2O$  و ۴۰۰ MHz) ..... ۱۱۰
- شکل پ-۱۲: طیف C-NMR ساکارز ( $D_2O$  و ۴۰۰ MHz) ..... ۱۱۱
- شکل پ-۱۳: طیف گسترده C-NMR ساکارز ( $D_2O$  و ۴۰۰ MHz) ..... ۱۱۲
- شکل پ-۱۴: طیف گسترده C-NMR ساکارز ( $D_2O$  و ۴۰۰ MHz) ..... ۱۱۳
- شکل پ-۱۵: طیف FT-IR ساکارز در KBr ..... ۱۱۴

فهرست علائم اختصاری

| مفهوم یا توضیح                        | علامت اختصاری |
|---------------------------------------|---------------|
| GasChromatography-MasSpectroscopy     | GC-MS         |
| Thin Layer Chromatography             | TLC           |
| Ultra Violet                          | UV            |
| Relative Factor                       | RF            |
| Infra-Red                             | IR            |
| Nuclear Magnetic Reasonance           | NMR           |
| Proton NMR                            | H-NMR         |
| Carbon-13 NMR                         | C-NMR         |
| 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl         | DPPH          |
| Half maximal inhibitory concentration | IC50          |
| Potato dextrose agar                  | PDA           |

فصل اول:

کلیات پژوهش

## ۱-۱ علم فیتوشیمی<sup>۱</sup> و اهمیت آن

فیتوشیمی شاخه‌ای از علم شیمی است که به بررسی و مطالعه تعداد متنوع و زیادی از ترکیبات طبیعی که توسط گیاهان تولید و ذخیره می‌گردد، می‌پردازد و رابطه مستقیمی با ساختمان شیمیایی این مواد، بیوسنتز، انتشار طبیعی و فعالیت بیولوژیکی آن‌ها دارد که بحث و بررسی این فرآورده‌های بیولوژیکی نیاز به آگاهی از روش‌های مناسب برای جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی مواد متشکله موجود در گیاهان دارد (امید بیگی، ۱۳۷۴).

فیتوشیمی یک زمینه بسیار گسترده است که به طور کلی شیمی گیاهی<sup>۲</sup> نامیده می‌شود. تحقیقات در زمینه فیتوشیمی برای رشته‌های بیشماری اهمیت دارد مثل فیزیولوژی گیاهی<sup>۳</sup>، بیوشیمی گیاهی<sup>۴</sup>، کموسیستماتیک<sup>۵</sup> (که اغلب کموتاکسونومی گفته می‌شود)، بیوتکنولوژی گیاهی<sup>۶</sup> و فارماکوگنوزی.<sup>۷</sup> فیزیولوژی گیاهی به بررسی فرایندهای زیستی و تاثیر عوامل مختلف خارجی مثل اشعه ماوراء بنفش مرئی (UV-Vis)، درجه حرارت، ماهیت خاک، آب و هوا و.... بر روی ساختار ترکیبات فعال در گیاهان می‌پردازد. بیوشیمی گیاهی به تحولات بیوشیمیایی که نقش اساسی در بیوسنتز ترکیبات فعال (متابولیت‌های اولیه و ثانویه) گیاهان دارد، می‌پردازد. کموسیستماتیک شامل طبقه‌بندی گیاهان بر اساس شیمی و بیوشیمی آن‌ها است. هر خانواده، جنس، یا گونه گیاهی، یک دسته مشخصی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند و این ترکیبات به عنوان صفات تاکسونومیک در طبقه‌بندی گیاهان استفاده می‌شوند (واکسموندکا- هاجونس و همکاران، ۲۰۰۸).

---

<sup>1</sup> phytochemistry

<sup>2</sup> plant chemistry

<sup>3</sup> physiology

<sup>4</sup> plant biochemistry

<sup>5</sup> chemosystematics

<sup>6</sup> plant biotechnology

<sup>7</sup> pharmacognosy



مهمترین کاربرد روش‌های فیتوشیمیایی در رشته فارماکونوزی است. فارماکونوزی بخشی از علم داروسازی است که بر روی محصولات طبیعی و ترکیبات وابسته به آن که فعالیت بیولوژیکی نشان می‌دهند تمرکز دارد، از این رو این مواد در درمان مورد استفاده قرار می‌گیرند. در سال‌های اخیر بازگشت به گیاه درمانی مشاهده می‌شود. این بازگشت بیشتر به علت حضور ترکیبات بیولوژیکی فعال مثل ترکیبات ضدسرطان در آن‌ها است. امروزه، داروهای با منشا طبیعی به علت اثربخشی بالا و سمیت پایین مورد توجه قرار گرفته‌اند و از آن‌ها به طور گسترده استفاده می‌شود. مواد گیاهی اغلب از منابع طبیعی به دست می‌آیند به این دلیل، نیاز به کنترل خلوص و ارزیابی ترکیبات شیمیایی دارند تا اثر درمانی مورد نظر به دست آید.

نیاز به ترکیبات جدید و مفید برای کمک در هم‌هی جنبه‌های زندگی بشری در حال رشد است. مقاومت دارویی میکروب‌ها، ظهور ویروس‌های جدید، مشکل بیماری‌های مکرر در افراد با پیوند عضو و رشد سریع شیوع عفونت‌های قارچی، عواملی هستند که نیاز به کشف داروهای گیاهی جدید و در نتیجه افزایش مطالعات فیتوشیمی را می‌طلبد (اولیور، ۲۰۰۷).

## ۱-۲ مراحل یک مطالعه فیتوشیمیایی

مراحل مختلف یک مطالعه فیتوشیمیایی به ترتیب زیر می‌باشد:

- انتخاب منبع گیاهی و استخراج عصاره فعال: روش استخراج باید به دقت طراحی شود، چون انتخاب نوع روش شیمیایی استخراج بر نوع ترکیبات نهایی اثر می‌گذارد.
- تفکیک عصاره فعال به جزءهای کوچکتر به روش‌های مختلف کروماتوگرافی و نگهداری آن‌ها برای جداسازی مولکول‌های فعال.
- در نهایت تعیین ساختمان مولکولی ترکیبات جدا شده به روش‌های مختلف طیف‌سنجی (جانانی، ۱۳۹۱).

### ۱-۳ متابولیسم، متابولیت‌های اولیه و متابولیت‌های ثانویه

متابولیسم به تمام واکنش‌های شیمیایی موجود در ماده زنده اطلاق می‌شود که توسط آنزیم‌ها تنظیم و کنترل می‌شوند. راه‌های متابولیسمی اولیه، متابولیت‌های اولیه<sup>۱</sup> را تولید می‌کنند، که تقریباً در همه جای طبیعت حضور دارند و برای تمام اشکال حیات ضروری هستند.

متابولیت‌های اولیه طی فرآیند فتوسنتز در گیاهان تولید شده و سپس در ساخت ترکیبات سلول به کار می‌روند. این ترکیبات مستقیماً در رشد و متابولیسم درگیر هستند و شامل قندهای معمولی، آمینواسیدها، پورین‌ها و پیرمیدین‌ها، کلروفیل‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و... هستند (پنگلی<sup>۲</sup>، ۲۰۰۴).

یکی از ویژگی‌های بارز گیاهان ظرفیت آن‌ها در سنتز و ذخیره‌سازی طیف گسترده‌ای از ترکیبات با وزن مولکولی کم است که به این ترکیبات به اصطلاح متابولیت‌های ثانویه<sup>۳</sup> یا ترکیبات طبیعی<sup>۴</sup> گفته شود. گرچه تنها فقط ۲۰-۳۰ درصد از گیاهان عالی تاکنون در زمینه فیتوشیمی بررسی شده‌اند، اما بالغ بر ۱۰۰۰۰۰ متابولیت ثانویه تاکنون جداسازی و تعیین ساختار شده‌اند. در مقایسه با متابولیت‌های اولیه که برای زندگی هر گیاهی ضروری هستند، متابولیت‌های ثانویه معمولاً در تعداد محدودی از گیاهان ایجاد می‌شوند و برای سال‌های زیادی مواد زائد و یا بی‌فایده در نظر گرفته می‌شدند، در سه دهه گذشته آشکار شد که این مواد نقش‌های بسیار مهمی برای گیاه سازنده آن ایفا می‌کنند. البته هر گیاهی قادر به تولید هر نوع ترکیب ثانویه‌ای نیست، برخی از ترکیبات نیز تنها منحصر و محدود به گونه‌ی خاصی هستند (وینک<sup>۵</sup> و همکاران، ۲۰۱۰).

---

<sup>1</sup> Primary metabolites

<sup>2</sup> Pengelly

<sup>3</sup> Secondary metabolites

<sup>4</sup> Natural products

<sup>5</sup> Wink

نقش متابولیت‌های ثانویه عبارتند از:

- دفاع در برابر گیاه‌خواران (حشرات، مهره‌داران)، قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها
- دفاع در برابر سایر گیاهان و رقابت برای نور، آب و مواد غذایی
- نقش جاذب حیوانات گرده افشان و پراکننده بذر
- ترکیبات علامت دهنده برای برقراری ارتباط بین گیاهان و میکروارگانیسم‌های همزیست
- حفاظت در برابر نور UV و یا سایر استرس‌های فیزیکی
- انجام عملکردهای فیزیولوژیکی
- تاثیر بر زندگی انسان، استفاده انسان از آن به عنوان دارو، چاشنی، رنگدانه و ... (وینک و همکاران ۲۰۱۰).

گیاهان اغلب مخلوط‌ای پیچیده از متابولیت‌های ثانویه تولید می‌کنند، که باعث می‌شود این مواد با هم اثر سینرژتیک نشان دهند. ساختارهای این ترکیبات در طول ۵۰۰ میلیون سال تکامل، شکل گرفته و بهینه‌سازی شده است، بسیاری از آن‌ها خواص بیولوژیکی و دارویی منحصر به فردی را نشان می‌دهند که باعث می‌شود برای ساخت دارو یا آفت کش طبیعی مناسب باشند.

متابولیت‌های ثانویه در تنوع ساختاری بالا در گیاهان ایجاد شده‌اند. یکی از ویژگی‌های آن‌ها ذخیره-شدن در غلظت‌های نسبتاً بالا در اندام‌هایی است که آن‌ها را تولید نکرده‌اند. حمل‌ونقل این مواد در مسافت‌های طولانی توسط آوندهای چوبی و آبکش انجام می‌شود. مواد آبدوست در واکوئل‌ها و متابولیت‌های چربی دوست در لاتکس و مجرای رزین و سلول‌های چربی و کوتیکول ذخیره‌سازی می‌شوند (وینک و همکاران ۲۰۱۰).

متابولیت‌های ثانویه با توجه به منشا بیوسنتزشان در ۴ دسته قرار می‌گیرند:

آلکالوئیدها، فنیل پروپانوئیدها، پلی‌کتیدها و ترپنوئیدها

## ۱-۳-۱ آلکالوئیدها<sup>۱</sup>

آلکالوئیدها بسیار متنوع هستند، به طوری که تعداد آلکالوئیدهای شناخته شده موجود در گیاهان بر چند هزار عدد بالغ می‌گردد. این گروه، بزرگترین گروه متابولیت‌های ثانویه می‌باشند و چنان که از نامشان پیداست خاصیت قلیایی دارند و در محیط اسیدی تولید نمک می‌نمایند. آلکالوئیدها در انسان واکنش‌های فیزیولوژیکی قوی همراه با اثرات مخصوص ایجاد می‌کنند که بر روی سیستم عصبی اثر می‌گذارند (ابراهیم‌پور و عیدی‌زاده، ۱۳۸۸).

آلکالوئیدها را بر حسب خصوصیات بیوشیمیایی و شیمیایی در ۳ گروه قرار می‌دهند.

۱- آلکالوئیدهای حقیقی<sup>۲</sup>: منشا آنها اسیدهای آمینه آرژینین، هیستیدین و... است و ترکیبات شیمیایی هتروسیکلیک نیتروژن‌دار می‌باشند. مثل: آتروپین<sup>۳</sup>، نیکوتین<sup>۴</sup> و مورفین<sup>۵</sup>

۲- پروتوآلکالوئیدها<sup>۶</sup>: این دسته از آلکالوئیدها از اسیدهای آمینه ساخته شده و محتوی ترکیبات شیمیایی نیتروژن‌دار خطی (غیر حلقوی) می‌باشند. مثل: مسکالین<sup>۷</sup>.

۳- آلکالوئیدهای کاذب<sup>۸</sup>: این دسته از آلکالوئیدها از اسید آمینه تشکیل نشده‌اند ولی در ساختمان شیمیایی آنها نیتروژن وجود دارد.

نقش واقعی آلکالوئیدها در پیکر گیاهان تاکنون شناخته نشده است ولی برخی از دانشمندان معتقدند که مزه تلخ آنها سبب دفع حشرات از گیاهان می‌گردد. بعضی از انواع آلکالوئیدها دارای اثرات کاملاً بارز و شاخص دارویی‌اند و از این لحاظ بسیار مفید و گران‌قیمت هستند. در این مورد می‌توان از کافئین، استریکنین، کینین، مرفین را نام برد (ابراهیم‌پور و عیدی‌زاده، ۱۳۸۸).

---

<sup>1</sup> Alkaloids

<sup>2</sup> True alkaloids

<sup>3</sup> Atropine

<sup>4</sup> Nicotin

<sup>5</sup> Morphine

<sup>6</sup> Proto alkaloids

<sup>7</sup> Mescaline

<sup>8</sup> Pseudo alkaloids