بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه پیام نور

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

دانشکده کشاورزی

گروه علمی بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان پایان نامه:

ارزیابی کمی آلکالوئیدهای گیاهان باززایی شده ی کاتارانتوس روزئوس در شرایط این ویترو در دو حالت طبیعی و ترانسژنیک با اگروباکتریوم رایزوجنز

استاد راهنما:

دکتر فرح فراهانی

استاد مشاور:

دکتر غلامرضا بخشی خانیکی

نگارش:

سیده طاهره نبوی

ماه و سال:

دی ۱۳۸۸

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم ، تحقیقات و فناوری

دانشگاه پیام نور
استان تهران
واحد کرج

شماره : .....
تاریخ : .....
پیوست : .....

بسمه تعالی

تصویب نامه
پایان نامه کارشناسی ارشد

تحت عنوان :

ارزیابی کمی آلکالوئیدهای گیاهان باززایی شده کاتارانتوس روزئوس در شرایط این ویترو در دوحالت طبیعی و ترانسژنیک با اگروباکتریوم رایزوجنز که تهیه و به هیات داوران ارائه گردیده است مورد تائید می باشد .

تاریخ دفاع : ۸۹/۱/۲۳ نمره : ۱۹/۵ درجه ارزشیابی : عالی

اعضای هیات داوران :

نام و نام خانوادگی	هیات داوران	مرتبه علمی	امضاء
۱- دکتر فرح فراهانی	استاد راهنما	استادیار	
۲- دکتر غلامرضا بخشی خانیکی	استاد مشاور	استاد	
۳ - دکتر محمد علی ابراهیمی	استاد داور	استادیار	
۴ - دکتر محمد علی ابراهیمی	نماینده گروه آموزشی	استادیار	
۵- مهندس محبوبه طالبی	نماینده تحصیلات تکمیلی	کارشناس ارشد	

کرج - بلوار امامزاده حسن - بعد از چهارراه مصباح - نرسیده به میدان استاندارد
تلفن گویا : ۲ - ۲۸۰۱۰۳۰ و ۲-۲۸۰۲۰۰۱ و ۸ -۲۸۲۱۵۵۶ و ۲-۲۸۰۵۸۰۱ و ۷-۲۸۱۳۵۹۵ دورنگار : ۲۸۰۵۸۰۰

تقدیم به:

پیشگاه مقدس و ملکوتی

حضرت بقیه الله الاعظم، امام عصر، ارواحنافداه

پروردگارا! در کلبه محقر من چیزی هست که در بارگاه کبریایی تو نیست؛ من چون تویی دارم اما تو، چون تویی نداری.

سپاسگزاری

سپاس خداوند سبحان را که دریچه‌های روشن علم و دانش را بر دل تاریک بشر گشود، و به ما توان داد تا در راه پرفراز و نشیب دانش گام برداریم.

از سرکار خانم دکتر فرح فراهانی استاد گرامی و راهنمای اینجانب که در کلیه ی مراحل اجرای این تحقیق با راهنمایی‌ها و پیشنهادات ارزنده، صرف وقت و حضور مستمرشان، من را مورد لطف و مرحمت خویش قرار دادند و در طول دوران تحقیق از محضر ایشان درس‌ها آموختم و پندها گرفتم، کمال تشکر و قدردانی را ابراز می‌نمایم.

از جناب آقای دکتر غلامرضا بخشی خانیکی استاد ارجمند و مشاور که نهایت کمک و همکاری را با اینجانب داشتند سپاسگزاری می کنم.

از سرکار خانم سارا احسن مسئول آزمایشگاه سلولی مولکولی دانشگاه آزاد قم که در طول انجام این تحقیق با صبر و شکیبایی، تجربیات ارزنده ی خود را در اختیار اینجانب گذاشتند و در قرار دادن کلیه ی ابزار و وسایل در اختیار من هیچ مضایقه ای ننمودند کمال تشکر را دارم.

سیده طاهره نبوی

دی ۱۳۸۸

فهرست مطالب

عنوان.....شماره صفحه

چکیده فارسی ۱
فصل اول: مقدمه ۲
مقدمه ۳
۱-۱- معرفی گیاه پروانش (کاتارانتوس روزئوس) ٦
۱-۲- مشخصات گیاه شنا سی کاتارانتوس روزئوس ۸
۱-۳- عادات رشدی ۱۱
۱-٤- ازدیاد ۱۱
۱-۵- خواص دارویی ۱۲
۱-۵-۱- مکانیسم عمل ضد سرطانی آلکالوئیدهای کاتارانتوس روزئوس ۱٤
۱-٦- تعریف آلکالوئید ۱۵
۱-٦-۱- خواص شیمیایی آلکالوئیدها ۱٦
۱-٦-۲- آلکالوئیدهای گیاه پروانش (*catharanthus roseus L.*) ۱۷
۱-٦-۲-۱- وین کریستین (Vincristine) ۱۹
۱-٦-۲-۲- وین بلاستین(Vinblastine) ۲۱
۱-٦-۲-۳- وینکامین(Vincamine) ۲۲
۱-٦-۲-٤-وین پوستین (Vinposetine) ۲۳
۱-٦-۲-۵- آجمالیسین (Ajmalicine) ۲۳
۱-٦-۲-٦- سرپانتین(serpantine) ۲٤
۱-٦-۲-۷- ریزرپین (Riserpine) ۲۵
۱-٦-۲-۸- ایبوگین(Ibogaine) ۲۷
۱-٦-۲-۹- روزینیدین (Rosinidin) ۲۷
۱-٦-۲-۱۰- ویندولین(vindoline) ۲۸
۱-٦-۲-۱۱- کاتارانتین(catharanthine) ۲۹
۱-٦-۲-۱۲- ویندزین(Vindesine) ۲۹

۱-٦-۲-۱۳- وینورلبین(Vinorelbine) ۳۰
۱-۷- عصاره گیری آلکالوئید ها ۳۰
۱-۷-۱-کروماتوگرافی ۳۰
۱-۷-۱-۱- تاریخچه ۳۱
۱-۷-۲- روش‌های کروماتوگرافی ۳۲
۱-۷-۲-۱- انواع کروماتوگرافی ۳۲
۱-۷-۲-۲- انتخاب بهترین روش کروماتوگرافی ۳۳
۱-۷-۲-۳- مزایای کروماتوگرافی ۳٤
۱-۷-۳- کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا(HPLC) ۳۵
۱-۷-۳-۱- کاربردهای HPLC ۳٦
۱-۷-۳-۲- انواع HPLC ۳٦
۱-۸- انتقال ژن ۳۷
۱-۸-۱- تولید گیاهان تراریخته ۳۸
۱-۹- روش های انتقال ژن به گیاهان ۳۸
۱-۹-۱- انتقال ژن به وسیله ی ناقل ۳۹
۱-۹-۲- انتقال ژن به روش مستقیم ۳۹
۱-۹-۲-۱- روش های فیزیکی ۳۹
۱-۹-۲-۲- روشهای شیمیایی ۳۹
۱-۹-۳- جذب DNA توسط سلولها و بافت های گیاهی ۳۹
۱-۱۰- انتقال ژن به گیاه به واسطه ی باکتری آگروباکتریوم ۳۹
۱-۱۰-۱- طبقه‌بندی جنس ها و طیف میزبانی در باکتری اگروباکتریوم ٤۳
۱-۱۰-۲- باکتری اگروباکتریوم رایزوژنز ٤٦
۱-۱۰-۳- TDNA ٤۷
۱-۱۰-٤- مراحل ترانسفورماسیون با استفاده از باکتری آگروباکتریوم ٤۹
۱-۱۰-۵- مزایای ترانسفورماسیون با باکتری آگروباکتریوم ۵۰
فصل دوم: بررسی منابع ۵۲
۲-۱- تاریخچه ی پژوهشی ۵۳
۲-۲- استخراج متالولیت های ثانویه و ارزیابی میزان آن ۵٦

۲-۳- استخراج وسنجش متابولیت های ثانویه ی گیاه پروانش ۵۸
۲-۳-۱- استخراج آلکالوئیدهای گیاهان دارویی کشت یافته در این ویترو ٦٤
۲-٤- استخراج متابولیت های ثانویه ی گیاهان *In vitro* پروانش ٦٥
۲-۵- مطالعه ی اثرات ضد میکروبی گیاه پروانش ٦٩
۲-۵-۱- مطالعه ی اثرات ضد میکروبی و ضد سیتوتوکسیک پروانش تحت شرایط *In vitro* ۷۱
۲-٦- تاریخچه ی انتقال ژن ۷۲
۲-۷- انتقال ژن به گیاهان داروئی مختلف توسط اگروباکتریوم ۷۳
۲-۸- تولید گیاهان ترانسژنیک پروانش توسط روشهای مختلف انتقال ژن ۷٦
۲-۸-۱- انتقال ژن به گیاه پروانش توسط باکتری اگروباکتریوم رایزوجنز ۷۸
۲-۹- استخراج آلکالوئید از گیاهان ترانسژنیک پروانش ۸٤
۲-۱۰- مسیرهای سنتز آلکالوئید در کاتارانتوس روزئوس ۸٦
۲-۱۱- افزایش تولید آلکالوئیدها ی پروانش در این *In vitro* و *In vivo* ۸۹
فصل سوم: مواد و روشها ۹٤
۳-۱- مواد و وسایل مورد نیاز ۹۵
۳-۱-۱- مواد گیاهی ۹۵
۳-۱-۲- مواد شیمیایی مورد نیاز ۹۵
۳-۱-۳- دستگاهها و وسایل مورد نیاز ۹٦
۳-۲- محیط کشت و چگونگی آن ۹۷
۳-۲-۱- ترکیبات محیط کشت ۹۷
۳-۲-۱-۱- قند بعنوان منبع انرژی ۹۷
۳-۲-۱- ۲- مواد غذایی معدنی ۹۷
۳-۲-۱-۳- مواد غذایی آلی ۹۸
۳-۲-۱-٤- ویتامین ها ۹۸
۳-۲-۱-۵- اسید های آمینه ۹۸
۳-۲-۱-٦- تنظیم کننده های رشد و هورمونها ۹۸
۳-۳- محیط کشت MS و روش تهیه ی آن ۱۰۱
۳-۳-۱- طرز تهیه ی محلولهای ذخیره (استوک) در محیط MS ۱۰۲
۳-۳-۱-۱- عناصر پرمصرف ۱۰۲

۳-۳-۱-۲- عناصر کم مصرف ۱۰۲
۳-۳-۱-۳- ویتامین ها ۱۰۲
۳-۳-۱-٤- آهن ۱۰۳
۳-۳-۱-۵- تنظیم کننده های رشد ۱۰۳
۳-٤- روش تهیه ی یک لیتر محیط کشت MS بدون هورمون از محلولهای ذخیره ای..... ۱۰۳
۳-۵- روشهای سترون سازی..... ۱۰٤
۳-۵-۱- روش سترون سازی ابزار و وسایل ۱۰٤
۳-۵-۲- روش سترون سازی محیط کشت ۱۰٤
۳-٦- تهیه ی محیط کشت برای جوانه زنی بذرها ۱۰۵
۳-٦-۱- جمع آوری و تهیه بذر..... ۱۰۵
۳-٦-۱-۱- روش استریل کردن بذور ۱۰٦
۳-٦-۲- کشت بذور ۱۰٦
۳-٦-۲-۱- شرایط محیطی رشد بذور ۱۰٦
۳-٦-۳- جوانه زنی بذور ۱۰٦
۳-۷- ساخت محیط MS به همراه هورمون برای کشت کالوس ۱۰۷
۳-۷-۱- کشت قسمت هیپوکوتیل اکسپلنت برای ایجاد کالوس ۱۰۷
۳-۷-۱-۱- تولید کالوس..... ۱۰۷
۳-۸- روش کشت سوسپانسیون گیاهان *In vitro* پروانش..... ۱۰۸
۳-۹- استخراج آلکالویید از گیاهان *In vitro* پروانش ۱۰۸
۳-۹-۱- روش عصاره گیری از کالوسها برای استخراج آلکالوئید ۱۰۸
۳-۹-۱-۱- روش استخراج آلکالوئید از کالوسها ی غیر ترانسژنیک ۱۰۸
۳-۱۰- روش ساخت محیط کشت LB..... ۱۱۱
۳-۱۰-۱- کشت باکتری در محیط کشت LB..... ۱۱۲
۳-۱۱- انتقال ژن باکتری *Agrobacterium rhizogenes* به گیاه *In vitro* پروانش ۱۱۲
۳-۱۱-۱- روش ساخت محیط کشت ½ MS مایع ۱۱۳
۳-۱۱-۲- روش ساخت محیط کشت ½ MS مایع به همراه آنتی بیوتیک ۱۱۳
۳-۱۱-۳- روش ساخت محیط کشت ½ MS جامد به همراه آنتی بیوتیک..... ۱۱۳
۳-۱۲- مراحل انتقال ژن از باکتری *Agrobacterium rhizogenes* به گیاه پروانش ۱۱٤

۳-۱۳- باززایی کالوس ها پس از تلقیح باکتری آگروباکتریوم رایزوجنز ۱۱۵
۳-۱٤- استخراج آلکالوئید از گیاهان باززایی شده ی ترانسژنیک ۱۱۵
۳-۱٤-۱- روش استخراج آلکالوئید از کالوس های ترانسژنیک ۱۱٦
۳-۱٤-۲- روش استخراج آلکالوئید از ریشه های موئین ۱۱٦
۳-۱۵- آنالیزهای آماری ۱۱۷
فصل چهارم: نتایج و بحث ۱۱۸
٤-۱- کشت *In vitro* گیاه پروانش (*Catharanthus roseus L.*) ۱۱۹
٤-۱-۱-کشت بذر ۱۱۹
٤-۱-۲- کشت قطعات هیپوکوتیل در محیط کشت جامد ۱۲۱
٤-۲- تولید متابولیت های ثانویه از کالوسها در کشت سوسپانسیون ۱۲٤
٤-۲-۱- رشد کالوس ۱۲٤
٤-۲-۲- استخراج آلکالوییدها ۱۲۸
٤-۳- بررسی متابولیت های ثانویه با روش HPLC در گیاهان طبیعی رشد یافته در *In vitro* ۱۲۹
٤-٤- تولید گیاهان پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تراریخت ۱۳۳
٤-٤-۱- روند رشد ریشه های مویین ۱۳٦
٤-۵- باززایی گیاهان پروانش تراریخت ۱۳۸
٤-٦- تولید متابولیت های ثانویه از گیاهان پروانش تراریخت ۱٤۰
٤-٦-۱- بررسی مقدار آلکالوئیدها در گیاهان طبیعی و گیاهان تراریخت بعد از انتقال ژن ... ۱٤۰
٤-٦-۲- بررسی نوع آلکالوئیدها بعد از انتقال ژن در گیاهان ترانسژنیک ۱٤۳
٤-۷- مقایسه میزان متابولیت های ثانویه از گیاهان پروانش *In vitro* و تراریخت ۱٤٦
پیشنهادات ۱٤۹
فهرست منابع ۱۵۱
چکیده انگلیسی ۱٦۷

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- گیاه پروانش (*Catharanthus roseus L.*) ۱۰
شکل ۱-۲- ساختار مولکولی آلکالوئید وین کریستین ۲۰
شکل ۱-۳- ساختار مولکولی آلکالوئید وین بلاستین ۲۲
شکل ۱-٤- ساختار مولکولی آلکالوئید وینکامین ۲۳
شکل ۱-٥- ساختار مولکولی آلکالوئید وین پوستین ۲۳
شکل ۱-٦- ساختار مولکولی آلکالوئید آجمالیسین ۲٤
شکل ۱-۷- ساختار مولکولی آلکالوئید سرپانتین ۲٥
شکل ۱-۸- ساختار مولکولی آلکالوئید ریزرپین ۲٦
شکل ۱-۹- ساختار مولکولی آلکالوئید ایبوگین ۲۷
شکل ۱-۱۰- ساختار مولکولی آلکالوئید روزینیدین ۲۸
شکل ۱-۱۱- ساختار مولکولی آلکالوئید ویندولین ۲۸
شکل ۱-۱۲- ساختار مولکولی آلکالوئید کاتارانتین ۲۹
شکل ۱-۱۳- ساختار مولکولی آلکالوئید ویندزین ۲۹
شکل ۱-۱٤- ساختار مولکولی آلکالوئید وینورلبین ۳۰
شکل ۱-۱٥- انتقال ژن به گیاه بااگروباکتریوم ٤۰
شکل ۱-۱٦- شمای یک پلاسمید Ti نوع (octopine) و ناحیه ی T-DNA این پلاسمید ٤۸
شکل ۱-۱۷- چگونگی ورود ژن از اگروباکتریوم به گیاه ٥۱

فهرست نمودارها

نمودار ٤-١- درصد جوانه زنی بذر گیاه پروانش ١٢٠
نمودار ٤-٢- میانگین تولید و رشد کالوس از قطعات هیپوکوتیل در محیط کشت جامد (تاریکی) ١٢٣
نمودار ٤-٣- میانگین تولید و رشد کالوس از قطعات هیپوکوتیل در محیط کشت جامد (روشنایی) ١٢٣
نمودار ٤-٤- مقایسه میانگین تولید و رشد کالوس در محیط کشت جامد در شرایط تاریکی و روشنایی .. ١٢٤
نمودار ٤-٥- میانگین رشد کالوس در محیط کشت مایع سوسپانسیون ١٢٧
نمودار ٤-٦- مقایسه میانگین رشد کالوس در محیط کشت جامد و مایع سوسپانسیون ١٢٧
نمودار ٤-٧- آنالیز HPLC برای سنجش میزان متابولیت های ثانویه ریشه گیاه طبیعی پروانش ١٣١
نمودار ٤-٨- آنالیز HPLC برای سنجش میزان متابولیت های ثانویه کالوس گیاه طبیعی پروانش ١٣٢
نمودار ٤-٩- روند رشد، تعداد و طول ریشه های مویین کالوسهای ترانسژنیک ١٣٧
نمودار ٤-١٠- مقایسه میانگین مقدار وزنی گیاه و مقدار وزنی ترکیبات آلکالوییدی ١٤٢
نمودار ٤-١١- نتایج حاصل از HPLC ترکیبات آلکالوییدی ریشه تراریخت گیاه پروانش ١٤٢
نمودار ٤-١٢- نتایج حاصل از HPLC ترکیبات آلکالوییدی کالوس تراریخت گیاه پروانش ١٤٤
نمودار ٤-١٣- مقایسه زمان جداسازی ترکیبات آلکالوییدی در آنالیز HPLC ١٤٧
نمودار ٤-١٤- مقایسه میانگین درصد ترکیبات آلکالوییدی حاصل از آنالیز HPLC ١٤٨

فهرست جداول

جدول ۱-۱- رده بندی گیاه پروانش ٦
جدول ۱-۲- آلکالوئیدهای مهم گیاه پروانش ۱۸
جدول ۳-۱- نیازهای غذایی و هورمونی کشت بافت گیاهی (باقری، ۱۳۸٦) ۹۹
جدول ۳-۲- ترکیبات معدنی محیط کشت پایه MS بر حسب میلی گرم بر لیتر ۱۰۰
جدول ۳-۳- مواد آلی تکمیل کننده در محیط کشت MS بر حسب میلی گرم بر لیتر ۱۰۰
جدول ۳-٤- محلولهای ذخیره مورد استفاده برای هر لیتر محیط کشت پایه MS ۱۰۱
جدول ۳-۵- مواد مورد نیاز برای ساخت محیط کشت LB، ویژه ی کشت باکتری اگروباکتریوم . ۱۱۱
جدول ٤-۱- وزن اولیه ی گیاهان پیش از استخراج آلکالوئید و وزن محلول آلکالوییدی و میزان آلکالوئیدها به ترتیب قبل و بعد از HPLC ۱٤۲
جدول ٤-۲- زمان جداسازی ترکیبات آلکالوییدی در HPLC (ریشه و کالوس گیاهان طبیعی و تراریخت *In vitro*) ۱٤۷

چکیده فارسی:

پروانش یکی از مهمترین گیاهان داروئی و زینتی در جهان است. در این تحقیق بذرهای پروانش پس از استریل شدن، به منظور تولید گیاهچه در محیط پایه ی MS، کشت داده شدند. قطعات ناحیه ی هیپوکوتیل گیاهچه های تولید شده که ۴۵-۳۵ میلیمتر طول داشتند، برای ایجاد کالوس در محیط MS جامد که حاوی هورمون NAA و BA بود، (در دو شرایط تاریکی و روشنایی) و محیط سوسپانسیون (برای بررسی روند تولید آلکالوئیدها) قرار داده شدند. پس از ۸ هفته چون کالوس های محیط تاریکی رشد بیشتری را نشان دادند، در آزمایشات بعدی از آنها استفاده گردید و به ۲ قسمت تقسیم شدند. قسمت نخست تحت عملیات استخراج آلکالوئید قرار گرفتند و قسمت دوم به منظور ترانسفورماسیون ژنتیکی و تولید ریشه های موئین در محیط کشت MS ½ مایع که حاوی کلونی هائی از باکتری اگروباکتریوم رایزوجنز کشت یافته در محیط LB بود، به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس برای انجام فرایند انتقال ژن به مدت ۴۸ ساعت در محیط MS جامد قرار داده شدند. پس از آن به منظور از بین رفتن باکتری ها، با محیط MS ½ مایع که حاوی آنتی بیوتیک سفاتوکسیم بود شسته شدند. به منظور باززایی و تولید ریشه های موئین، کالوس های تراریخت شده در محیط MS ½ جامد بدون هورمون، در شرایط تاریکی قرار داده شدند. شکل گیری ریشه های موئین ۵ روز پس از ترانسفورماسیون کاملاً مشهود بود و پس از ۶۰ روز ریشه هایی به طول ۹-۸ سانتی متر تولید شد. ریشه های موئین، از کالوس های ترانسژنیک جدا گردید و هر یک از آنها جداگانه تحت عملیات استخراج آلکالوئیدها قرار گرفتند. نتایج آنالیزHPLC برای ۳ آلکالوئید استخراجی نشان داد که میزان آلکالوئیدهای حاصل از ریشه های موئین۵۸/۲۵ ٪، کالوس های ترانسژنیک ۵۸/۸۲ ٪ و کالوس های غیر ترانسژنیک ۴۰/۳۶ ٪ بود و میزان آلکالوئیدهای ریشه های موئین۲۰٪ بیشتر از گیاهان غیرترانسژنیک بود.

کلمات کلیدی: پروانش، آپوسیناسه، گیاهان ترانسژنیک، اگروباکتریوم رایزوجنز، استخراج آلکالوئید

فصل اول

مقدمه

مقدمه

با اینکه تاکنون تحولات عظیم و قابل توجهی در صنایع داروسازی در ارتباط بـا روش تهیـه ی داروهای مختلف صورت گرفته است، اما با این وجود نه تنها از اهمیت گیاهان داروئی کاسـته نـشده است، بلکه در اثر اعتقاد و گرایش خاص مردم به سوی مواد طبیعی و آثار جانبی کمتر آنها، در مـوارد متعددی مواد حاصل از این گیاهان جایگزین داروهای سنتزی شده اند که از چند دیدگاه قابل بررسی هستند.

داروهای سنتزی در عین حال که دارای اثرات درمانی انتخابی بر روی بیمـاری هـای مـشخص هستند؛ ولی از عوارض فراوان این داروها نیز نباید غافل ماند. در برخی مـوارد عـوارض جـانبی کـه داروهای سنتزی ایجاد می کنند شاید خطراتی کمتر از خود بیماری نداشته باشند؛ در حالیکـه گیاهـان دارویی اغلب اثرات درمانی کافی و عوارض جانبی بسیار ناچیز دارند.

اکثر داروهای سنتز شده در اثر امکانات مادی و صنعتی کشورهای پیشرفته در کارخانجات این کشورها تهیه می شوند و بعد از طی مراحل مختلف به اشکال گونـاگون و بـا قیمـت بـالا در اختیـار مصرف کننده قرار می گیرند؛ در نتیجه مبلغی از بودجه سالانه کشورها صرف خرید این داروهـا مـی شوند.

شرایط اقلیمی متنوع کشور ما جایگاه مناسبی برای رشد و پرورش انواع گیاهان مـی باشـد. بـه همین خاطر می توان انواع مختلف گیاهان دارویی را به صورت خودرو و یا کـشت داده شـده، و بـه مقدار فراوان تهیه کرد. خوشبختانه در کشور ما نیز روز به روز گرایش به طب سنتی بیشتر شده است و مطالعه درباره ی اثرات درمانی و مکانیسم تأثیر مواد مؤثر گیاهان دارویی روی قسمت های مختلف

بدن، در مراکز علمی و تحقیقاتی کشور رو به گسترش است؛ انتظار می رود در جهت کشت گیاهان دارویی، افزایش مواد مؤثره و استخراج آنها و تولید اشکال متنوع دارویی قابل مصرف از این ترکیبات، کوشش های بیشتری بعمل آید. نظر به اینکه در گیاه پروانش ، مواد موثره ی فراوانی وجود دارد که از آلکالوئیدهای گروه ایندول[1] می باشند و در صنایع داروسازی اهمیت زیادی دارند (یارنل[2]، ۲۰۰٤)، این گیاه به عنوان هدف تحقیق انتخاب گردید.

در همین راستا در این پروژه به دنبال آن بوده ایم، که به روش مناسبی برای استخراج بیشتر آلکالوئیدهای گیاه دارویی پروانش دست یابیم؛ سپس میزان کل آلکالوییدهای این گیاه را که در ۲ حالت ترانسژنیک و غیر ترانسژنیک استخراج شده بودند، اندازه گیری کنیم و مشاهده نمائیم که از کدام حالت آلکالوئید بیشتری بدست می آید.

در حالیکه انواع بیماری های سرطان در حال افزایش می باشد و بیماران مبتلا به آن احتیاج به دارویی برای جلوگیری از پیشرفت این بیماری و افزایش عمرشان دارند، دو داروی گیاهی مؤثر در جلوگیری از بعضی ازسرطانها به نام های وین بلاستین[3] و وین کریستین[4] در ایران تهیه نمی شوند و هر دو محصول وارداتی می باشند. این دو دارو از گیاه زینتی – دارویی پروانش استخراج می شوند که می توان این گیاه راجهت تزئین فضاهای سبز شهرها به کمک شهرداری کاشت و پس از اتمام عمر مفید آنها، از گیاه رشد یافته، داروهای وین بلاستین و وین کریستین را استخراج نمود (قسامی، ۱۳۸۰).

[1]-Indole Alkaloids
[2] -Eric Yarnell
[3]-Vinblastin
[4]-Vincristin

متأسفانه علی رغم زمینه های رشد مناسب این گیاه در کشور ما تاکنون در جهت استحصال و استفاده مفید از این گیاه کاری صورت نگرفته است.

شایسته است با نگاهی علمی تر به این گیاه و خواص آن، زمینه ی جدیدی را برای استخراج مواد ضد سرطانی و مفید این گیاه در کشورمان باز کنیم.

۱-۱- معرفی گیاه پروانش (کاتارانتوس روزئوس)[1]

پریوش (پروانش) یا گل تلگرافی گیاهی است از تیره ی خرزهره[2] (آپوسیناسه)، از جنس کاتارانتوس و گونه ی آن کاتارانتوس روزئوس می باشد (شکل ۱-۱). در سیستم نامگذاری، وینکا مینور[3] نام قدیمی این گیاه بوده و اکنون کاتارانتوس روزئوس نامیده می شود. گونه ی بومی آمریکایی آن وینکا روزه آ[4] و گونه ی بومی ایرانی آن وینکا لیبا روتیکازاک[5] نام دارد (قسامی، ۱۳۸۰).

گیاه پروانش را به صورت جدول ۱-۱ رده بندی می کنند:

جدول ۱-۱- رده بندی گیاه پروانش

شاخه	*Plantae*
راسته	*Gentianales*
تیره	*Apocynaceae*
جنس	*Catharanthus*
گونه	*C. roseus*

منبع: www.en-wikipedia.org

این گیاه دارای عدد کروموزومی $n = 8$ و $2n = 16$ می باشد و گیاهی دو لپه و نهاندانه است (ویلانوا[6]، ۲۰۰۵؛ راو[7] و همکاران، ۱۹۸۱؛ واندر[8] و همکاران، ۱۹۹۶).

---

[1] -*Catharanthus roseus L.*
[2] -*Apocynaceas*
[3] -*Vinca minor*
[4] -*Vinca rosea*
[5] -*Vinca Libarotica Zucc*
[6] - Villanueva J.A.
[7] - Rao R. S.
[8] - van der Maesen L. J. G.

گیاهان تیره ی آپوسیناسه اکثراً دارای خواص داروئی و درمانی می باشند، ولی شاخص ترین گیاه این تیره، همین گیاه وینکا روزه آ یا کاتارانتوس روزئوس نام دارد. این گیاه به دلیل خواص شگفت انگیز دارویی خود از حدود یکصد سال پیش در طب سنتی کاربرد داشته است و پژوهشهای فراوانی (اعم از بنیادی و کاربردی) را به خود اختصاص داده است. هر چند این گیاه با سایر گیاهان گونه ی وینکا از نظر آلکالوئید و طبیعتاً خواص دارویی مشابهت هایی دارد، لیکن چون برابر مطالعات کموتاکسونومیکی، این گونه به سرده ی کاتارانتوس (*Catharanthus*) بیشتر از سرده ی وینکا (*Vinca*) شباهت دارد، به همین دلیل کاتارانتوس روزئوس نامی مناسبتر برای اینگونه کاربرد یافته است (صبری، ۱۳۷۳؛ رحیمی نژاد و سجادی، ۱۳۶۹).

اسامی مترادف عبارتند از:

به انگلیسی: Perwikle,Runningmyrtle

به آلمانی: Kleines Immergrun,Sinngrum

به ایتالیایی: Priminore,Perevinca

به فرانسه: Petite Pervenche,Violet des marts,Voinchere

به عربی: قصاب مصری،ونکه صغیره

به فارسی: پریوش، پروانش، گل تلگرافی

و دارای یک سری اسامی محلی نیز می باشد که به قرار زیر است (قسامی، ۱۳۸۰) :

Sadabahar, Sadaphul, Nayan tara, Rattanjot, Billaganneru, Gul Feringhi, Ainskati, Sudukadu, mallikai.