

تشکر و قدرانی

همتم بدرقه راه کن ای طایر قدس
که دراز است ره مقصد و من نوسفرم

شکر و سپاس خدای بی‌همتا، که توانستم این مرحله تحصیل را به لطف و کرم او به پایان برسانم. لازم است بعد از سپری شدن این مرحله از تحصیل، از همه کسانی که مرا در این راه یاری کرده‌اند، سپاسگزاری نمایم.

از پدر و مادر بزرگوام که در همه مراحل زندگی همواره پشتوانه‌ای محکم، یاریگری استوار و غمخواری صبور بوده‌اند، نهایت تشکر را دارم. از خواهران و برادر عزیزم که همیشه خالصانه محبتشان را نثارم کردند و همراه، دوست و همدمی همیشگی بوده‌اند، سپاسگزارم.

از استاد راهنمای این پایان نامه جناب آقای دکتر خدایار همتی که در تمامی مراحل این تحقیق، بعنوان استادی توانا و قابل اینجانب را راهنمایی کرده‌اند، نهایت تقدیر و تشکر را دارم. از اساتید مشاور جناب آقای دکتر دورودیان که در همه مراحل این تحقیق مرا صبورانه راهنمایی کرده، خالصانه سپاسگزارم. از جناب آقای دکتر هوشنگ قاسمی که از هیچ امکاناتی در این تحقیق دریغ نکرده، کمال تشکر را دارم. از جناب آقای دکتر عظیم قاسم نژاد که مشوقی ارزنده در این تحقیق بودند، سپاسگزارم.

از کارکنان محترم شرکت دارویی تماد، آقایان مهندس صرافان، مددی، دارک، دینی، ملکیان، مجلسی، نعمتی، فرخ‌زاده و دکتر شرفی و خانم‌ها مهندس اشکان، دلخوش، حق وردی و دکتر اسفندیاری و از مدیریت سابق بخش کنترل کیفی خانم مهندس شیرازی و دیگر همکاران محترم که در تمامی مراحل این تحقیق همراهم بوده‌اند و از هیچ کمکی دریغ نکرده‌اند، نهایت تشکر را دارم.

از دوستان عزیزم خانم مهندس مرضیه طلوعی، فرناز تهذیبی حق، شبنم طراحی و جناب آقای دکتر حسین خادمیان که در سخت‌ترین شرایط این دوره از تحصیل حمایت کردند، بی‌نهایت سپاسگزارم.

همچنین مراتب سپاس خود را از دوستان عزیزم در دانشگاه منابع طبیعی و کشاورزی گرگان، خانم‌ها تکتم احمدی، اعظم آصفی، مهدیه سلطانی نژاد، مریم کوشکی، سهیلا جواهری، سمیرا حسینی، ناهید رحیمی، زینب محکمی و آقایان علی رضا فارسی، زبیر صدیقی، یوسف قاسمی و آقای مهندس آتشین کمال تشکر را دارم.

این مرحله از تحقیق را در حالی به پایان رساندم که علاوه بر افزودن بار علمی، درس انسانیت را نیز آموختم. از همکاران محترم در شرکت دارویی تماد درس گذشت و جوانمردی و از اساتید دانشگاه گرگان، درس انسانیت و حقانیت.

چکیده

پروانش با نام علمی (*Catharanthus roseus L (G. Don)* از خانواده خرزهره (*Apocynaceae*) امروزه به عنوان یک گیاه دارویی-زینتی در جهان مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه با داشتن آلكالوئیدهای ارزشمند وین بلاستین و وین کریستین ارزش اقتصادی بالایی داراست. تنها راه تهیه این دارو ها استخراج از این گیاه است، ازاینرو هر گونه افزایشی در مقدار این آلكالوئیدها می تواند از جنبه اقتصادی ارزش زیادی داشته باشد. این تحقیق به منظور بررسی سطوح مختلف عناصر ازت، فسفر و پتاسیم بر روی عملکرد اندام هوایی (گل، سرشاخه، کل اندام هوایی) و میزان آلكالوئیدهای کل، وینبلاستین و وینکریستین می باشد. کلیه داده ها در قالب طرح آماری بلوک کامل تصادفی در سه تکرار تجزیه واریانس گردید. میانگین داده ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که صفات عملکرد وزن خشک گل، وزن تر گل و وزن تر سرشاخه در سطوح مختلف ازت، فسفر و پتاسیم اختلاف معنی داری نداشت. عملکرد وزن خشک سرشاخه در سطوح تیمار فسفر اختلاف معنی داری را نشان دادند. بیشترین و کمترین عملکرد وزن تر و خشک کل اندام هوایی در سطوح مختلف ازت به ترتیب در سطح ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و شاهد به دست آمد و در سطوح مختلف فسفر بیشترین عملکرد وزن تر و خشک کل اندام هوایی در سطح ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین میزان این صفت در تیمار شاهد مشاهده شد. در سطوح مختلف پتاسیم، عملکرد وزن خشک کل اندام هوایی اختلاف معنی داری را نشان نداد. بیشترین عملکرد وزن تر کل اندام هوایی در تیمار شاهد مشاهده گردید. بیشترین میزان ازت، فسفر و پتاسیم محلول در سطوح مختلف ازت، فسفر و پتاسیم به ترتیب در سطح ۱۵۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد. درصد آلكالوئید کل در سطوح مختلف ازت و پتاسیم اختلاف معنی داری را نشان نداد. در سطوح مختلف فسفر بیشترین درصد آلكالوئید کل در سطح ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (۲/۳۵٪) و کمترین در شاهد (۱/۱۷٪) مشاهده شد. بیشترین درصد آلكالوئید وین بلاستین در سطوح مختلف ازت در سطح ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و بیشترین درصد این آلكالوئید در سطوح مختلف فسفر و پتاسیم در شاهد بدست آمد. بیشترین درصد آلكالوئید وین کریستین در سطوح مختلف ازت، فسفر و پتاسیم در تیمار شاهد مشاهده شد. افزایش عناصر معدنی یاد شده در خاک مورد آزمایش باعث کاهش غلظت آلكالوئید وین کریستین در گیاه گردید. افزایش عناصر معدنی فسفر و پتاسیم باعث کاهش غلظت آلكالوئید وین بلاستین در گیاه شد.

کلمات کلیدی:

پروانش، عملکرد اندام هوایی، عملکرد سرشاخه، عملکرد گل، وین بلاستین، وین کریستین، NPK.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱-۱- مقدمه و کلیات	
۱-۱-۱- مقدمه.....	۹
۱-۱-۲- کلیات	
۱-۱-۲-۱- تعریف گیاهان دارویی	۱۳
۱-۱-۲-۱-۱- دلایل گرایش جهانی به گیاهان دارویی.....	۱۳
۱-۱-۲-۱-۲- تاریخچه پروانش	۱۴
۱-۱-۲-۱-۳- رده بندی پروانش	۱۴
۱-۱-۲-۱-۴- خصوصیات گیاهشناسی	۱۵
۱-۱-۲-۱-۵- خصوصیات اکولوژیک.....	۱۶
۱-۱-۲-۱-۶- تناوب کاشت	۱۷
۱-۱-۲-۱-۷- خاک و عناصر غذایی مورد نیاز.....	۱۷
۱-۲- بررسی منابع	
۱-۲-۱- تکثیر پروانش	۱۹
۱-۲-۱-۱- تاریخ و فواصل کاشت	
۱-۲-۱-۱-۱- آبیاری	۱۹
۱-۲-۱-۱-۲- مبارزه با علفهای هرز.....	۲۰
۱-۲-۱-۱-۳- برداشت پروانش	۲۰
۱-۲-۱-۲- مواد مؤثره.....	۲۰
۱-۲-۱-۲-۱- اثر نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر روی مواد مؤثره.....	۲۱
۱-۲-۱-۲-۲- خواص آکالوئیدها.....	۲۳
۱-۲-۱-۲-۳- توزیع آکالوئیدها.....	۲۴
۱-۲-۱-۲-۴- آکالوئیدهای پروانش	۲۵
۱-۲-۱-۲-۵- نقش آنزیمها در بیوسنتز آکالوئیدهای ایندول	۳۳
۱-۲-۱-۲-۶- اثر بیوشیمیایی آکالوئیدها	۳۴
۱-۲-۱-۲-۷- جایگاه سنتز و ذخیره آکالوئیدها.....	۳۵
۱-۲-۱-۲-۸- مکانیسم جذب و ذخیره آکالوئیدها.....	۳۶
۱-۲-۱-۲-۹- اصول جداسازی آکالوئیدها	۳۷

۳۷.....	۱-۳-۱-۲- روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC).....
۳۸.....	۲-۳-۱-۲- کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا (HPLC).....
	۱-۳-مواد و روشها
۴۲.....	۱-۱-۳- مکان و زمان آزمایش.....
۴۱.....	۲-۱-۳- شرایط اقلیمی.....
۴۲.....	۳-۱-۳- شرایط خاکی.....
۴۲.....	۴-۱-۳- گونه مورد مطالعه پروانش (Catharanthus roseus (L.)G. DON).....
۴۲.....	۲-۳- شرح کلی آزمایش.....
۴۳.....	۱-۲-۳- آزمایش اول.....
۴۳.....	۲-۲-۳- آزمایش دوم.....
۴۳.....	۳-۲-۳- آزمایش سوم.....
۴۴.....	۳-۳- اندازه گیری وزن تر گیاه.....
۴۴.....	۴-۳- اندازه گیری وزن خشک گیاه.....
۴۵.....	۵-۳- روش اندازه گیری ازت کل خاک.....
۴۸.....	۶-۳- روش اندازه گیری فسفر کل خاک.....
۵۰.....	۷-۳- اندازه گیری پتاسیم قابل جذب خاک.....
۵۲.....	۸-۳- استخراج و اندازه گیری آلکالوئیدها از گیاه پروانش (برگ های جوان).....
۵۴.....	۹-۳- استخراج آلکالوئیدهای وین بلاستین و وین کریستین.....
۵۵.....	۱۰-۳- جداسازی آلکالوئیدهای وین بلاستین و وین کریستین به روش HPLC.....
	۱-۴- نتایج و بحث
	۱-۱-۴- آزمایش اول سطوح مختلف ازت
۵۹.....	۱-۱-۴- عملکرد وزن تر در گل.....
۵۹.....	۲-۱-۴- وزن خشک گل.....
۵۹.....	۳-۱-۴- وزن تر سرشاخه ها.....
۶۰.....	۴-۱-۴- عملکرد وزن خشک سرشاخه.....
۶۰.....	۵-۱-۴- عملکرد وزن تر در کل اندام هوایی.....
۶۱.....	۶-۱-۴- عملکرد وزن خشک کل اندام هوایی.....
۶۳.....	۷-۱-۴- ازت کل خاک بعد از برداشت.....
۶۴.....	۸-۱-۴- میزان آلکالوئید کل.....
۶۵.....	۹-۱-۴- میزان آلکالوئید وین بلاستین.....

- ۶۷.....۱-۱-۱-۱۰- میزان آلکالوئید وین کریستین
- ۲-۱-۲- آزمایش دوم سطوح مختلف فسفر
- ۷۱.....۱-۲-۱-۱- عملکرد وزن تر در گل
- ۷۱.....۲-۲-۱-۱- عملکرد وزن خشک گل
- ۷۱.....۳-۲-۱-۱- عملکرد وزن تر سرشاخه ها
- ۷۲.....۴-۲-۱-۱- عملکرد وزن خشک سرشاخه
- ۷۳.....۵-۲-۱-۱- عملکرد وزن تر کل اندام هوایی
- ۷۴.....۶-۲-۱-۱- عملکرد وزن خشک کل اندام هوایی
- ۷۶.....۷-۲-۱-۱- فسفر کل خاک بعد از برداشت
- ۷۷.....۸-۲-۱-۱- میزان آلکالوئید کل
- ۷۸.....۹-۲-۱-۱- میزان آلکالوئید وین بلاستین
- ۸۰.....۱۰-۲-۱-۱- میزان آلکالوئید وین کریستین
- ۳-۱-۳- آزمایش سوم سطوح مختلف پتاسیم
- ۸۱.....۱-۳-۱-۱- عملکرد وزن تر در گل
- ۸۲.....۲-۳-۱-۱- عملکرد وزن خشک گل
- ۸۲.....۳-۳-۱-۱- عملکرد وزن تر سرشاخه ها
- ۸۳.....۴-۳-۱-۱- عملکرد وزن خشک سرشاخه
- ۸۳.....۵-۳-۱-۱- عملکرد وزن تر کل اندام هوایی
- ۸۴.....۶-۳-۱-۱- عملکرد وزن خشک کل اندام هوایی
- ۸۵.....۷-۳-۱-۱- پتاسیم کل خاک بعد از برداشت
- ۸۶.....۸-۳-۱-۱- میزان آلکالوئید کل
- ۸۶.....۹-۳-۱-۱- میزان آلکالوئید وین بلاستین
- ۸۸.....۱۰-۳-۱-۱- میزان آلکالوئید وین کریستین
- ۹۰.....۲-۲- نتیجه گیری کلی
- ۹۱.....۳-۳- پیشنهادات

فهرست جدول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲- مقدار آلکالوئید در اندامهای مختلف پروانش.....	۲۸
جدول ۲-۲- برخی از مهمترین آلکالوئیدهای گیاه پروانش.....	۲۹
جدول ۳-۲- آلکالوئیدهای جدا شده از پروانش با آزمایشات بیوستتزی.....	۳۱
جدول ۴-۲- آنزیمهای بیوستتزی ایندول آلکالوئیدهای پروانش.....	۳۴
جدول ۵-۲- روشهای متداول کروماتوگرافی.....	۴۰
جدول ۱-۳- وزن ملکولی آلکالوئیدهای متداول پروانش.....	۵۵
جدول ۱-۴- تجزیه واریانس سطوح مختلف کودهای ازت.....	۶۰
جدول ۲-۴- تجزیه واریانس سطوح مختلف کودهای فسفر.....	۷۲
جدول ۳-۴- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف کودهای پتاسیم.....	۸۲

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱- نمای کلی از گیاه پروانش.....	۱۶
شکل ۱-۲- مراحل تبدیل تریپتوفان و ژرانیول به آلکالوئیدهای وین بلاستین و وین کریستین.....	۳۱
شکل ۲-۲- دو مسیر سنتز آلکالوئیدهای پروانش.....	۳۱
شکل ۳-۲- مسیر تریپنید ایندول آلکالوئید.....	۳۲
شکل ۴-۲- ساختمان شیمیایی وین بلاستین و وین کریست.....	۳۵
شکل ۱-۳- دستگاه اسپکتروفتومتر.....	۵۰
شکل ۲-۳- دستگاه فلیم فتومتر.....	۵۲
شکل ۳-۳- دستگاه HPLC.....	۵۵
شکل ۴-۳- کروماتوگرام استاندارد وین کریستین.....	۵۷
شکل ۵-۳- کروماتوگرام استاندارد وین بلاستین.....	۵۷
شکل ۱-۴- اثر سطوح مختلف ازت بر عملکرد وزن تر کل اندام هوایی.....	۶۲
شکل ۲-۴- اثر سطوح مختلف ازت بر عملکرد وزن خشک کل اندام هوایی.....	۶۴
شکل ۳-۴- اثر سطوح مختلف ازت بر ازت خاک.....	۶۵
شکل ۴-۴- اثر سطوح مختلف ازت بر میزان آلکالوئید وین بلاستین.....	۶۷
شکل ۵-۴- کروماتوگرام حاصل از تیمار ازت به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در عصاره برگ گیاه پروانش.....	۶۸
شکل ۶-۴- اثر سطوح مختلف ازت بر میزان آلکالوئید وین کریستین.....	۶۹
شکل ۷-۴- کروماتوگرام حاصل از تیمار ازت شاهد در عصاره برگ گیاه پروانش.....	۷۰
شکل ۸-۴- اثر سطوح مختلف فسفر بر عملکرد وزن خشک سرشاخه.....	۷۳
شکل ۹-۴- اثر سطوح مختلف فسفر بر عملکرد وزن تر کل اندام هوایی.....	۷۴
شکل ۱۰-۴- اثر سطوح مختلف فسفر بر عملکرد وزن خشک کل اندام هوایی.....	۷۵
شکل ۱۱-۴- اثر سطوح مختلف فسفر بر فسفر محلول خاک.....	۷۷
شکل ۱۲-۴- اثر سطوح مختلف فسفر بر میزان آلکالوئید کل.....	۷۸
شکل ۱۳-۴- اثر سطوح مختلف فسفر بر میزان آلکالوئید وین بلاستین.....	۷۹
شکل ۱۴-۴- کروماتوگرام حاصل از تیمار فسفر شاهد در عصاره برگ گیاه پروانش.....	۷۹
شکل ۱۵-۴- اثر سطوح مختلف فسفر بر میزان آلکالوئید وین کریستین.....	۸۰
شکل ۱۶-۴- اثر سطوح مختلف پتاسیم بر عملکرد وزن تر کل اندام هوایی.....	۸۴
شکل ۱۷-۴- اثر سطوح مختلف پتاسیم بر پتاسیم قابل جذب.....	۸۶

- شکل ۴-۱۸- اثر سطوح مختلف پتاسیم بر میزان آلکالوئید وین بلاستین..... ۸۷
- شکل ۴-۱۹- کروماتوگرام حاصل از تیمار پتاسیم شاهد در عصاره برگ گیاه پروانش..... ۸۸
- شکل ۴-۲۰- اثر سطوح مختلف پتاسیم بر میزان آلکالوئید وین کریستین..... ۸۹

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه و کلیات

۱-۱-۱- مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز به منظور درمان انسان‌ها مورد استفاده بوده‌اند. انسان در تمام دوران تاریخ، برای درمان خویش چاره‌ای جز توسل به گیاهان نداشته است. اگر چه در نیم قرن گذشته استفاده از داروهای شیمیایی به شدت رواج یافت، ولی آثار زیان بار آنها بر زندگی، سبب گرایش مجدد انسانها به گیاهان دارویی گردید. با این وجود استفاده از گیاهان دارویی همواره در طول تاریخ یکی از روشهای موثر درمان بوده است. تاریخ طب با کمک گیاهان دارویی در کشور ما مربوط به دوره پارینه سنگی است (صمد لویی، ۱۳۸۴؛ باقری زنور، ۱۳۸۲).

گیاهان دارویی یکی از منابع بسیار ارزشمند در گستره وسیع منابع طبیعی ایران به شمار می‌روند که در صورت شناخت علمی از نحوه کشت، توسعه و بهره‌برداری صحیح، می‌توانند نقش مهمی در سلامت جامعه، اشتغال‌زایی و صادرات غیر نفتی ایفا کنند (صمصام شریعت، ۱۳۷۰).

با در نظر گرفتن امکانات پیشرفته صنعتی و سرمایه فراوان مادی در کشورهای توسعه یافته، مواد موثره اکثر داروها در آزمایشگاه‌ها تولید شده و پس از طی مراحل مختلف، در قالب‌های گوناگون، با قیمت گزاف در اختیار مصرف‌کنندگان قرار می‌گیرند؛ از اینرو درصد قابل توجهی از بودجه سرانه کشور صرف خرید این قبیل محصولات خواهد شد (امیدبگی، ۱۳۸۴).

از آنجا که شرایط اقلیمی کشور ما بسیار متنوع است، جایگاه مناسبی برای رشد و پرورش انواع گیاهان محسوب می‌شود. به همین خاطر می‌توان انواع مختلف گیاهان دارویی را بصورت خودرو و تحت کشت، به مقدار فراوان تهیه نمود (قسامی، ۱۳۸۰).

یکی از عمده‌ترین گیاهان دارویی - زیتنی که امروزه به عنوان گیاه دارویی در جهان مورد توجه قرار گرفته گیاه پروانش (پریوش) است، که با نام‌های علمی: کاتارانتوس رزئوس^۱، وینکا روزا^۲ و لوکرا

^۱*Catharanthus roseus G. Don*

^۲*Vinca rosea L*

روزاً^۳ شناخته می شود. این گیاه که به تیره خرزهره^۴ تعلق دارد، نخستین بار توسط جرج دان نامگذاری شد (امیدبیگی، ۱۳۷۹؛ هورنوک، ۱۹۷۸). تقریباً تمامی گیاهان متعلق به این تیره حاوی انواع آلکالوئیدها و یا گلیکوزیدها هستند (امیدبیگی، ۱۳۸۴؛ بروننون، ۱۹۹۵).

پروانش گیاهی بوته ای و چند ساله است که در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری ارتفاع آن به ۱۲۰-۳۰ سانتی متر می رسد. البته در مناطق سردسیری به صورت یکساله کشت می شود. منشاء این گیاه مناطق حاره و گرمسیری مانند: جنوب هند، اندونزی و جزیره ماداگاسکار گزارش شده است. پروانش دارای ساقه ای استوانه ای، راست و چوبی شده است که به رنگ سبز و یا قرمز کم رنگ دیده می شود. برگ ها ساده، براق، چرمی، تخم مرغی شکل و متقابل هستند که از دم برگ کوتاهی نیز برخوردارند. طول ریشه اصلی پروانش ۴۰-۲۰ سانتیمتر بوده و گل ها در انتهای ساقه های اصلی و فرعی پدیدار می شوند. همچنین گل ها شامل ۵ گلبرگ به رنگهای سفید، صورتی، ارغوانی هستند (زرگری، ۱۳۷۹؛ قاسمی، ۱۳۸۴). به علت وجود آلکالوئیدهای ارزشمند در پیکر رویشی^۵ و ریشه پروانش^۶، در اکثر فرماکوپه ها به عنوان یک دارویی بسیار مهم گیاهی تلقی می شود (امیدبیگی، ۱۳۸۴؛ عبد الجلیل و همکاران، ۲۰۰۷). تاکنون بیش از یکصد آلکالوئید از این گیاه جداسازی شده که تعدادی از آنها دارای اثرات فرماکولوژیک بوده و به عنوان دارو مورد استفاده قرار می گیرد (سجادی، ۱۳۷۹).

آلکالوئیدها که از مولکولهای نیتروژن دار با ماهیت قلیایی تشکیل شده اند، از قویترین مواد مؤثرگیاهی بشمار می روند. با توجه به تنوع زیاد، از آنها در تهیه انواع دارو، علی الخصوص داروهای کنترل کننده سیستم اعصاب مرکزی استفاده می شود (دوازده امامی، ۱۳۸۲).

آلکالوئیدهای پروانش همگی به گروه تریپتوفان تعلق دارند. مهمترین ترکیبات ثانویه در گیاه پروانش، آلکالوئیدهای نوع ایندول هستند که با توجه به ساختمان مولکولی شان به دو دسته آلکالوئیدهای منومر و دیمر تقسیم می شوند. شایان ذکر است آلکالوئیدهای دیمر که از لحاظ دارویی حائز اهمیت بیشتری هستند، در صد بسیار پایینی از مجموعه آلکالوئیدهای گیاه را تشکیل می دهند (سجادی و همکاران، ۱۳۷۹؛ امیدبیگی، ۱۳۸۴).

³ *Lochnera rosea* REICHB

⁴ Apocynaceae

⁵ *Catharanthus roseae herba*

⁶ *Catharanthus roseae radix*

مهمترین آکالوئیدهای این گیاه که در برگ ها ساخته و ذخیره می شوند، آکالوئیدهای وینبلاستین^۷ و وینکریستین^۸ هستند که هر دوی آنها اثر آنتی نیوپلازی^۹ (ضد تومور) دارند. این مواد در شیمی درمانی برخی از سرطانها نیز بکار می روند. آکالوئید مهم دیگری که در ریشه وجود دارد روباسین^{۱۰} (اجمالایسین) نامیده می شود که اثر آنتی فیبریلیک^{۱۱} داشته و سبب افزایش فشارخون می گردد (سجادی و دیدیر، ۱۳۷۹؛ عبدل الجلیل و همکاران، ۲۰۰۷؛ کورتاین، ۱۹۸۳).

مصرف سالیانه برگ ها و ریشه این گیاه در آمریکا، حدود ۱۰۰ تن (وزن خشک) و ارزش هر گرم آکالوئید وین کریستین در سال ۱۹۷۵ حدود ۴۰۰۰ دلار گزارش شده است. همچنین نیاز جهانی به این آکالوئید ۴ کیلوگرم در سال و به آجمالایسین ۳۰۰ کیلوگرم در هر سال برآورد شده است (امیدبگی، ۱۳۷۳).

ارزش هر ۲ کیلوگرم آکالوئید وین کریستین و وین بلاستین که هر دو اثر ضدسرطان دارند و آکالوئید آجمالایسین که اثر آنتی فیبریک دارد، به ترتیب ۱ و ۳/۵ میلیون دلار در سال ۱۹۸۹ گزارش شده است (سریوالی و همکاران، ۲۰۰۳).

کل حجم آکالوئیدهای قابل دسترس به طور متوسط حدود ۱-۰/۵ درصد وزن خشک گیاه است. از طرفی شرایط محیطی نامناسب مانند شوری و خشکی و شرایط محیطی مناسب مانند کوددهی، آبیاری و زمان برداشت و غیره می توانند تأثیر زیادی در تولید آکالوئیدها داشته باشند (لاتا، ۲۰۰۷). با توجه به ارزش بالای آکالوئیدهای وین بلاستین و وین کریستین و اینکه تنها راه تهیه این دارو، استخراج از گیاه پروانش بوده، هر گونه افزایشی در مقدار این آکالوئیدها می تواند از جنبه اقتصادی ارزش زیادی داشته باشد.

هدف از این تحقیق بررسی سطوح مختلف عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم روی عملکرد اندام هوایی و میزان آکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین می باشد.

⁷Vinblastine

⁸Vicristine

⁹Anti-neoplasmy

¹⁰Raubasine

¹¹Anti-fibrilic

۱-۱-۲- کلیات

۱-۱-۲-۱- تعریف گیاهان دارویی

گیاهان دارویی به گستره وسیعی از گیاهان اطلاق می شود که در درمان بیماری و یا در پیشگیری از بروز آن مورد استفاده قرار می گیرند (زرگری، ۱۳۷۹؛ دوازده امامی، ۱۳۸۲). حدود این گستره با فرهنگ ملی استفاده از گیاهان دارویی، قوانین و مقررات و پیشرفتهای علمی هر کشور تعیین می شود. در طب سنتی کشورها، معمولاً هر گیاهی را می توان دارویی محسوب کرد. در تعریف دیگری چنین آمده است: گیاه دارویی به گیاهی گفته می شود که دارای مواد مؤثر مشخصی است، در درمان بیماری بکار می رود و نام آن گیاه در یکی از فارماکوپه های معتبر بین المللی ذکر شده باشد (دوازده امامی، ۱۳۸۲).

۱-۱-۲-۱-۱- دلایل گرایش جهانی به گیاهان دارویی

اقتصادی بودن و مقرون به صرفه بودن گیاهان دارویی یکی از دلایل مهم گرایش جهانی به گیاهان دارویی است. بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی و مقرون به صرفه نبودن ساخت برخی از داروهای شیمیایی که تولید اینگونه داروها در مقایسه با استخراج گیاهان دارویی بسیار هزینه بر و غیر اقتصادی است و همچنین انحصاری بودن درمان برخی بیماریها با گیاهان دارویی و وجود تجارب بالینی ارزشمند در گیاهان دارویی از دیگر دلایل گرایش جهانی به این داروها است. معمولاً در تولید دارو مراحل طولانی و پیچیده ای وجود دارد که آخرین مرحله آزمایشات بالینی بر روی انسان است مرحله ای که معمولاً با محدودیتهای متعددی رو به رو است اما درباره گیاهان دارویی این مرحله در کشورهایی مانند ایران، چین و هند در افراد مختلف، غلظتهای مختلف دارو و مکانهای مختلف به دفعات مورد آزمون قرار گرفته و به عبارت دیگر در بسیاری از موارد این مرحله پایانی قبل از مرحله دیگر انجام شده است (زرگری، ۱۳۷۹).

۱-۲-۳- تاریخچه پروانش

استفاده از پروانش در اروپا، به ۵۰ سال قبل از میلاد مسیح باز می‌گردد. در آن زمان، عوام از این گیاه برای جلوگیری از خونریزیها، درمان زخمها و دندان درد استفاده می‌کردند. در هند عصاره برگ ها برای درمان زنبورگزیدگی و کاهش فشارخون، استفاده می‌شد (امیدبیگی، ۱۳۷۹). درهاوایی جوشانده گیاه برای توقف خونریزی و در چین به عنوان داروی قابض، مدثر و نیز در درمان سرفه به کار می‌رفت. در آمریکای مرکزی و شمالی، به عنوان داروی ضدسرماخوردگی و در جزایر کارائیب عصاره گل ها در درمان سوزش و عفونتهای چشم استفاده می‌شد. این گیاه به عنوان گیاه سحرآمیز مشهور است، اروپایی ها فکر می‌کردند که می‌توانند با آن روح‌های پلید را دفع کنند و فرانسویها به آن نام «بنفشه سحرآمیز» دادند (صمصام شریعت، ۱۳۶۶؛ زرگری، ۱۳۷۱). در ۱۹۵۰ پژوهشگران غربی متوجه شدند، یک نوع چای جاماییکایی که دارای آلکالوئید مفید مترلود^{۱۲} است در واقع برگ ها و گل های خشک شده پروانش است که برای درمان دیابت نوشیده می‌شود (حسینیان، ۱۳۸۱).

منشأ این گیاه مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مانند جنوب هند، اندونزی و ماداگاسکار می‌باشد، و در دشتها و تپه هایی که ۵۰۰ متر از سطح دریا ارتفاع دارند، می‌روید. این گیاه در کشورهای آمریکا، آلمان، مجارستان، ایتالیا، انگستان، هند، روسیه و فلسطین اشغالی در سطوح وسیع کشت می‌شود (برونتون، ۱۹۹۵).

۱-۲-۴- رده بندی پروانش

اسامی مترادف پروانش به انگلیسی: (هومبرت، ۱۹۷۶؛ بی نام، منبع شبکه ژرم‌پلاس)

Cape Periwinkle, Rose Periwinkle, Rosy Periwinkle, Old-maid

پروانش از رده دولپه ایها، زیر رده پیوسته گلبرگ ها، راسته ژنتیانالز، تیره خرزهره و جنس کاتارانتوس است (های‌ود، ۱۹۹۳).

¹² Matherlod

Class: Dicotyledones
Sub Class: Gamopetales
Order: Gentianales
Family: Apocynaceas
Genus: Catharanthus

۱-۱-۲-۵- خصوصیات گیاهشناسی

پروانش گیاهی است درختچه‌ای، چند ساله که البته در مناطق سرد به صورت یک ساله کشت می‌شود و از تیره خرزهره است (دوبلیس، ۱۹۸۹). گیاهان این تیره شامل حدود ۳۰۰ جنس و ۱۳۰۰ گونه‌اند که عمدتاً در نواحی گرمسیری می‌رویند. از میان گونه‌های مذکور، تنها معدودی گیاهان دارویی شناخته شده‌اند که پروانش یکی از آنهاست (امیدبگی، ۱۳۷۹).

پروانش دارای ساقه‌ای استوانه‌ای، مستقیم و چوبی شده در پایه است. ارتفاع این گیاه در شرایط اقلیمی مختلف، متفاوت می‌باشد. رنگ ساقه سبز یا قرمز کم رنگ می‌باشد. برگ‌ها ساده، براق، چرمی، تخم مرغی شکل و متقابل هستند و از دم‌برگ کوتاهی نیز برخوردار می‌باشند. طول ریشه اصلی پروانش ۲۰ تا ۴۰ سانتی متر است. گل‌ها در انتهای ساقه‌های اصلی و فرعی پدیدار می‌شوند و همچنین گل‌ها شامل ۵ گلبرگ به رنگهای سفید، صورتی، ارغوانی هستند. گل‌ها اواخر بهار (خرداد) تشکیل می‌شوند و تا قبل از فصل سرما روی گیاهان باقی می‌مانند. سه واریته: آلبا^{۱۳} با گل‌های سفید، رزیوس^{۱۴} با گل‌های صورتی و آسیلاتا^{۱۵} با گل‌های سفید و لکه‌های ارغوانی در مرکز، از بارزترین واریته‌های تجاری محسوب می‌شوند (مک گیوفین، ۲۰۰۰؛ قاسمی و کافی، ۱۳۸۴). میوه استوانه‌ای شکل است و دانه‌های سیاه رنگ در داخل آن قرار گرفته‌اند. میوه پس از رسیدن باشکافهای طولی باز شده و بذرها داخل آن بیرون می‌ریزد. طول بذر ۳ میلی‌متر و پهنای آن یک میلی‌متر است. وزن هزار دانه ۲ تا ۲/۴ گرم است. این گیاه دوره‌ی رویشی نسبتاً بلندی دارد. از بدو رویش بذر تا

¹³Var. alba

¹⁴Var. roseus

¹⁵Var. acillata

رسیدن و کامل شدن میوه، ۱۸۰ تا ۲۰۰ روز به طول می‌انجامد. رشد اولیه گیاه بسیار کند است (کیم و همکاران، ۱۹۷۱).



شکل ۱-۱- نمای کلی از گیاه پروانش

۱-۱-۲-۶- خصوصیات اکولوژیکی

منشأ پروانش، مناطق گرم و حاره گزارش شده است. از این رو، این گیاه در طول رویش به نور کافی، گرمای مناسب و زیاد نیاز دارد. درجه حرارت مطلوب برای رویش بذر، ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد است. رشد این گیاه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد متوقف و خود گیاه در صفر درجه سانتی‌گراد در اثر سرمازدگی خشک می‌شود. بارندگی سالانه مورد نیاز برای رویش پروانش بدون نیاز به آبیاری، ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌متر است. آبیاری منظم و به موقع، تأثیر عمده‌ای در افزایش آلکالوئیدهای پروانش دارد. خاک باید از نوع سبک (شنی) و حاوی مقدار مناسبی مواد و عناصر غذایی باشد. برای کشت در سطوح وسیع، خاکهای سبک شنی که از مواد هموسی غنی‌اند، توصیه می‌شود (امیدبیگی، ۱۳۸۴؛ سیمپسون و همکاران، ۱۹۸۶).

۱-۲-۷- تناوب کاشت

پروانش را با هر گیاهی می توان به تناوب کشت کرد، ولی بهتر است این عمل با گیاهان وجینی انجام گیرد. تناوب کشت با گیاهان خانواده بادمجان توصیه نمی شود، زیرا این گیاه به سهولت به بیماریهای ویروسی مبتلا می شود. چون پروانش به اکثر علف کشها حساس است، باید با گیاهانی به تناوب کشت شود که باعث گسترش علفهای هرز و شیوع بیماریهای ویروسی نیز نگردند (هورنوک، ۱۹۷۸).

۱-۲-۸- خاک و عناصر غذایی مورد نیاز

پروانش تقریباً در هر نوع خاکی به خوبی رشد می کند؛ ولی خاکهای شنی حاوی مقادیر فراوان ترکیبات هوموسی، از خاکهای دیگر بهترند. خاکهای اشباع از آب و خاکهای قلیایی، برای کاشت این گیاه توصیه نمی شوند. تحقیقات نشان می دهد استفاده از کود حیوانی، باعث افزایش عملکرد ریشه و پیکر رویشی پروانش می گردد (امیدبگی، ۱۳۸۴).

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- بررسی منابع

۲-۱-۱- تکثیر پروانش

بذر گیاه در اواخر زمستان تا اوایل بهار در دمای ۱۵ تا ۱۸ درجه سانتیگراد کشت می شود و در اردیبهشت بعد از رفع خطر یخبندان نشاء به زمین اصلی انتقال می یابد. از طریق قلمه نیز در اواخر زمستان یا اواسط بهار قابل تکثیر است (قاسمی و کافی، ۱۳۸۴). استرس شوری در دو وارینه رزیوس و آلبا در گیاه پروانش باعث کاهش جوانه زنی، قوه نامیه می شود (عبدالجلیل و همکاران، ۲۰۰۷).

۲-۱-۱-۲- تاریخ و فواصل کاشت

زمان مناسب برای کاشت مستقیم، اواسط زمستان (بهمن - اسفند) است. بهترین فاصله ردیفهای کاشت ۴۵ سانتی متر و فاصله دو بوته روی ردیف کاشت ۳۰ سانتی متر است و عمق بذر پروانش موقع کاشت باید یک سانتی متر باشد. بذر مورد نیاز برای هر هکتار زمین، ۲/۵ کیلوگرم است (هورنوک، ۱۹۷۸). در کشت غیر مستقیم، زمان مناسب برای کاشت بذر در خزانه زیر پلاستیک، زمستان (دی - بهمن) است. به ازای هر هکتار زمین، به ۲۰۰ متر مربع خزانه با پوشش پلاستیک نیاز خواهد بود. عمق مناسب بذر، ۱ تا ۱/۵ سانتی متر و فاصله دو بوته از هم در طول ردیف، ۲۰ تا ۲۵ سانتی متر است. در کشت غیر مستقیم، زمان مناسب برای کاشت بذر در خزانه هوای آزاد، اوایل بهار (اواخر اسفند) می باشد (امیدیگی، ۱۳۸۴).

۲-۱-۱-۲- آبیاری

از آنجا که موطن اصلی پروانش مناطق حاره است، در طول رویش به مقدار مناسبی آب، درجه حرارت مناسب و نور کافی نیازمند است. که شرایط محیطی مساعد از قبیل اقلیم، کوددهی، آبیاری و زمان برداشت در کیفیت و غلظت آکالوئیدها تأثیر زیادی دارد (لاتا، ۲۰۰۷). این گیاه باید از اوایل خرداد تا اواسط شهریور، ۶ تا ۸ مرتبه و هر بار ۳۰ تا ۴۰ میلی متر تحت آبیاری قرار گیرد. در مناطقی که مقدار بارندگی سالانه کافی باشد، نیازی به آبیاری نخواهد بود و گیاهان به صورت دیم کشت می

شوند (امیدبیگی، ۱۳۸۴). استرس خشکی در گیاه پروانش باعث افزایش اسیدآمین، گلایسین بتائین و ظرفیت پرولین و فعالیت کل آکالوئیدهای ایندول در برگ ها و ریشه‌ها و باعث کاهش پرولین اکسیداز می شود (عبدل الجلیل و همکاران ۲۰۰۷).

۲-۱-۱-۳- مبارزه با علفهای هرز

برای مبارزه شیمیایی با علفهای هرز، مدتی قبل از کشت از محلول ۲ و ۴ دی و گراماکسون به نسبت مساوی و به مقدار ۲/۵ کیلوگرم در هکتار استفاده می شود (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۱-۱-۴- برداشت پروانش

محصول را در سال اول رویش می توان برداشت نمود. بیشترین مواد مؤثره (آکالوئیدها)، در برگ ها و ساقه های جوان تولید و ذخیره می شود. از این رو، کلیه اندامهای هوایی گیاه برداشت می گردد. در مناطق معتدل، در اواخر شهریور - اوایل مهر، گیاهان از بیشترین مقدار آکالوئید برخوردارند، لذا زمان مناسب برای برداشت محصول، شهریور - مهر می باشد (لاتا، ۲۰۰۷). گزارشات نشان می دهد که بیشترین در صد آکالوئید وینلاستین در محیط کشت بافت و هم در محیط کشت طبیعی در بافتهای بالغ گیاه پروانش است (داتا و همکاران، ۱۹۹۷).

۲-۱-۲- مواد مؤثره

تقسیم بندی مواد مؤثره (دارویی) گیاهان که امروزه مورد تأیید است، به صورت چهار گروه اصلی آکالوئیدها^{۱۶}، گلیکوزیدها^{۱۷}، روغنهای فرار^{۱۸} و سایر مواد مؤثره است. منظور از سایر مواد مؤثره

¹⁶ Alkaloid.

¹⁷ Glycoside.

¹⁸ Volatile oil.