

دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

عنوان پایان نامه

بررسی اثرات عصاره آبی و الکلی چند گونه از جنس *Isatis* بر

رشد سلولهای سرطانی در محیط کشت

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته بیوشیمی

مؤلف

لیلا نجفی

استاد راهنما

دکتر ساسان محسن زاده

اساتید مشاور

دکتر زهرامیر غفران

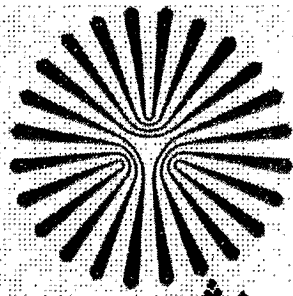
دکتر حبیب الله ناظم

آذر ماه ۸۶



۱۳۸۷ / ۲ / ۱۴

۷۰۸۶۰



دانشگاه سیام نور
پیت

تصویب نامه

پایان نامه تحت عنوان:

اثرات عصاره آبی و الکی چند گونه از جنس *Isatis* بر رشد سلولهای سرطانی در محیط کشت

نمره: ۱۹/۸ درجه: عالی

تاریخ دفاع: ۸۶/۱۰/۱۶

اعضای هیات داوران:

هیات داوران مرتبه علمی امضاء

نام و نام خانوادگی

استاد راهنما
استاد مشاور اول
استاد مشاور دوم
استاد داور داخلی
استاد داور خارجی
نماینده گروه

۱. آقای دکتر ساسان محسن زاده
۲. خانم دکتر زهرا امیر غفران
۳. آقای دکتر حبیب اله ناظم
۴. آقای دکتر غلامرضا بخشی خانیکی
۵. آقای دکتر بهزاد لامع راد
۶. آقای دکتر رضا حاجی حسینی

تقدیر و تشکر

جا دارد که در اینجا از زحمات بی دریغ و بی شائبه استاد گرانقدر جناب آقای دکتر ساسان محسن زاده استاد راهنمای خوم در دانشگاه شیراز که در طی کلیه مراحل کار این پایان نامه از آغازین مراحل کار تا اتمام آن، همانند پدری دلسوز و برادری مهربان، صبورانه تلاش کردند، تشکر و قدردانی کنم.

همچنین تشکر می کنم از سرکار خانم دکتر زهرا امیر غفران استاد ارجمندم در دانشگاه علوم پزشکی شیراز که همواره با راهنماییهای مداوم چراغ روشنگر این راه بودند.

از جناب آقای دکتر خسروی که در جمع آوری و تهیه گیاه زحمت فراوان کشیده اند و جناب آقای دکتر ناظم استاد مشاورم در دانشگاه پیام نور و جناب آقای دکتر لامع راد و دکتر بخشی خانیکی که داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند و همینطور از کلیه پرسنل دانشگاه شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز و مرکز تحقیقات شیمی دارویی گیاهان و کلیه عزیزانی که در تهیه و تدوین این تحقیق مرا یاری نموده اند سپاسگذاری می نمایم.

در پایان زحمات بی پایان پدر و مادر دلسوز و مهربانم، خواهر و برادران عزیزم که همواره و در کلیه مراحل تحصیل، یار و مددکار من بوده اند و همچنین همسر وفادارم که با حضورش مایه دلگرمی و پشتوانه من بود، را ارج می نمم و موفقیت و شادکامی همه این عزیزان را در کلیه مراحل زندگی از خداوند منان خواستارم.

تقدیم به دوستاره زندگی

پدر دلسوزم و مادر فداکارم...

فهرست مندرجات

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
I	فهرست مطالب
V	فهرست جداول
V	فهرست نمودارها
VI	فهرست اشکال
VI	فهرست اختصارات
VII	چکیده فارسی

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
	فصل اول: مقدمه و هدف
۱	۱-۱- بیماری سرطان
۲	۱-۱-۱- روشهای درمان سرطان
۳	۱-۲- هدف و انگیزه
۴	۱-۳- تاریخچه استفاده از گیاهان دارویی
۵	۱-۳-۱- ایساتیس چیست؟
۵	۱-۳-۱-۱- برخی اثرات گزارش شده از ایساتیس
۷	۱-۳-۲- ایندی روبین ماده مؤثره گیاه ایساتیس
۸	۱-۳-۲-۱- مکانیسم عمل ایندی روبین
۱۰	۱-۳-۲-۲- برخی مشتقات ایندی روبین

۱۱	۱-۳-۲-۳- ساختار شیمیایی ایندی روبین
۱۲	۱-۳-۲-۴- اهداف حیاتی ایندی روبین
۱۳	۱-۳-۲-۵- اثرات سلولی ایندی روبین
۱۵	۱-۳-۳- روش جمع آوری و تهیه عصاره از گیاهان دارویی
۱۶	۱-۴- روشهای بررسی خواص ضد سرطان گیاهان دارویی
۱۷	۱-۵- انواع روشهای بررسی سمیت سلولی
۱۹	۱-۵-۱- واکنش احیای رنگ تترازولیوم
۲۱	۱-۶- انواع کشت بافت حیوانی
۲۱	۱-۶-۱- انواع کشت سلولی
۲۲	۱-۷- رده های سلولی مورد استفاده در این تحقیق
۲۲	۱-۷-۱- نیازمندیهای رشد و محیط کشت
۲۴	۱-۸- محیط کشت
۲۴	۱-۸-۱- سرم واجزای تشکیل دهنده
۲۵	۱-۸-۲- حفاظت و نگهداری از محیط کشت
۲۶	۱-۹- الگوی رشد
	فصل دوم: مواد، روشها و دستگاهها
۲۸	۲-۱- مواد، وسایل و دستگاههای مورد استفاده
۳۲	۲-۲- کاشت گیاه آزمایشگاهی
۳۲	۲-۲-۱- تهیه محلول غذایی هوگلند
۳۴	۲-۲-۲- تهیه عصاره از گیاه آزمایشگاهی
۳۵	۲-۳- جمع آوری گیاه از طبیعت و عصاره گیری
۳۶	۲-۳-۱- تهیه محلول استوک

۳۶	۲-۳-۲- طرز تهیه محلولهای مورد نیاز
۳۶	۲-۳-۳- تهیه محلول تریپان بلو
۳۷	۲-۳-۴- تهیه محلول رنگ MTT
۳۷	۲-۳-۵- تهیه ایزوپروپانول اسیدی
۳۷	۲-۳-۶- تهیه الکل ۷۰٪
۳۷	۲-۴-۴- آماده کردن سرم جنین گاو و غیر فعالسازی حرارتی آن
۳۸	۲-۴-۱- تهیه CM
۳۸	۲-۵-۵- فریز کردن رده های سلولی
۳۹	۲-۶-۶- کشت رده های سلولی
۴۰	۲-۶-۱- شمارش سلولی و تعیین درصد زیست پذیری سلولها
۴۱	۲-۶-۲- تعویض محیط کشت
۴۱	۲-۶-۳- واکشت
۴۲	۲-۷-۷- تهیه غلظتهای مختلف عصاره از استوک
۴۳	۲-۸-۸- تهیه سوسپانسیون سلولی با تعداد مناسب سلول جهت تست MTT
۴۴	۲-۹-۹- تست MTT
۴۵	۲-۹-۱- آزمونهای آماری
	فصل سوم: نتایج
۴۶	۳-۱-۱- نتایج حاصل از تعیین راندمان عصاره گیری
۴۶	۳-۲-۲- نتایج حاصل از محاسبه تعداد مناسب سلول برای تست MTT
۴۷	۳-۳-۳- نتایج تست MTT
۴۷	۳-۳-۱- میانگین جذب نوری عصاره های مختلف بر رده سلولی
۴۷	۳-۳-۲- نمودار اثرات سیتوتوکسیک هر عصاره بر رده های سلولی مختلف

۴۷	۳-۳-۳-مقایسه IC50 هر عصاره بر رده های سلولی مختلف فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری
۶۱	۴-۱- اثر عصاره های مختلف بر هر یک از رده های سلولی سرطانی
۶۱	۴-۱-۱- رده سلولی Jurkat
۶۱	۴-۱-۲- رده سلولی k562
۶۱	۴-۱-۳- رده سلولی Fen
۶۲	۴-۲- بررسی اثر سیتوتوکسیک هر عصاره بر رده های سرطانی مختلف
۶۲	۴-۲-۱- عصاره الکلی ساقه
۶۲	۴-۲-۲- عصاره الکلی ریشه
۶۳	۴-۲-۳- عصاره الکلی برگ و گل
۶۳	۴-۲-۴- عصاره آبی ساقه
۶۳	۴-۲-۵- عصاره آبی ریشه
۶۴	۴-۲-۶- عصاره آبی برگ و گل
۶۴	۴-۲-۷- عصاره آبی آزمایشگاهی
۶۶	۴-۲-۸- پیشنهادات فصل پنجم: منابع و مآخذ
۶۷	منابع فارسی
۶۸	منابع لاتین چکیده انگلیسی صفحه عنوان انگلیسی

فهرست جداول

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۴۶	جدول ۱-۳- نتایج حاصل از تعیین راندمان عصاره گیری
۴۷	جدول ۲-۳- نتایج حاصل از محاسبه تعداد مناسب سلول برای انجام تست MTT
۴۸	جدول ۳-۳- میانگین جذب نوری غلظت های مختلف هر عصاره بر رده سلولی Jurkat
۴۹	جدول ۴-۳- میانگین جذب نوری غلظت های مختلف هر عصاره بر رده سلولی k562
۵۰	جدول ۵-۳- میانگین جذب نوری غلظت های مختلف هر عصاره بر رده سلولی Fen
۵۹	جدول ۶-۳- IC50 هر یک از عصاره ها و کنترل مثبت و منفی روی رده های سلولی مختلف

فهرست نمودارها

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۵۱	نمودار ۱-۳- منحنی مهار رشد مربوط به عصاره الکلی ساقه Isatis
۵۲	نمودار ۲-۳- منحنی مهار رشد مربوط به عصاره الکلی ریشه Isatis
۵۳	نمودار ۳-۳- منحنی مهار رشد مربوط به عصاره الکلی برگ و گل Isatis
۵۴	نمودار ۴-۳- منحنی مهار رشد مربوط به عصاره آبی ساقه Isatis
۵۵	نمودار ۵-۳- منحنی مهار رشد مربوط به عصاره آبی ریشه Isatis
۵۶	نمودار ۶-۳- منحنی مهار رشد مربوط به عصاره آبی برگ و گل Isatis
۵۷	نمودار ۷-۳- منحنی مهار رشد مربوط به عصاره آبی آزمایشگاهی Isatis
۵۸	نمودار ۸-۳- منحنی مهار رشد مربوط به اثر عصاره های مختلف بر هر رده سلولی

فهرست اشکال

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۱۴	شکل ۱-۱- ساختار Indirubin و برخی مشتقات آن
۲۰	شکل ۱-۲- واکنش احیای رنگ تترازولیوم به فرمازان

فهرست اختصارات

CML	Chronic Myelogenous leukemia
ALL	Acute Lymphocytic Leukemia
CO ₂	Carbon dioxide
CM	Culture Media
°C	Degree of Centigrade
DMSO	Dimethyl Sulphoxide
ELIZA	Enzyme-Lineked Immunosorbant Assay
GSH	Reduced Glutathion
Inh%	Inhibition percent
LDH	Lactate Dehydrogenase
M	Molar
μg	Microgram
.mg	Miligram
ml	Mililiter
NCI	National Cancer Institute
PH	Potency of hydrogen
rpm	round per minute
IC	Inhibitory concentration

چکیده

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان با تاریخ زندگی انسان همزمان بوده است. انسان در تمام طول تاریخ چاره ای جز توسل به گیاهان دارویی نداشت و همواره استفاده از گیاهان دارویی یکی از روشهای مؤثر درمان بوده است. یکی از این گیاهان دارویی، گیاهی است از تیره براسیکاسه به نام ایساتیس که اکثراً در هند و چین می روید و یکی از اجزای مهم یک داروی چینی سنتی است که مخلوطی از ۱۱ داروی گیاهی است و بر حسب عادت و به طور سنتی برای درمان نوعی سرطان لوسمی به نام CML به کار می رود.

در این تحقیق، اثرات سیتوتوکسیک ریشه، ساقه و برگ یکی از گونه های این گیاه به نام *Isatis campylocarpa* بر روی سه رده از سلول های سرطانی مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا عصاره های متانولی و آبی ریشه، ساقه و برگ این گیاه تهیه شد و غلظت های مختلف عصاره ها بر رده های سلولی سرطان خون jurkat, k562 و سرطان بافت سخت Fen اثر داده شد و میزان اثرات سیتوتوکسیک آنها با استفاده از تست MTT مورد بررسی قرار گرفت. همچنین جهت بررسی دقیق تر، بذر گیاه مورد نظر در شرایط آزمایشگاهی و کنترل شده، رشد داده شد و سپس غلظت های مختلف آن تهیه و اثرات سمیت آنها بر رده های سرطانی بالا با تست MTT مورد بررسی قرار گرفت. سپس با محاسبه IC50، ضعیف یا قوی بودن این اثرات سمیت بررسی شد.

با توجه به نتایج این بررسی ها، عصاره آبی ریشه، با $IC_{50} = 10/2 \mu g/ml$ سمیت بسیار خوب و قابل ملاحظه ای بر رده سلولی Jurkat داشت. همچنین اثر عصاره الکلی ریشه بر سلول Fen با $IC_{50} = 39/8 \mu g/ml$ و اثر عصاره آبی برگ و گل بر بخصوص بر رده سلولی jurkat با $IC_{50} = 50/1 \mu g/ml$ قابل توجه بود. با توجه به نتایج به دست آمده در مورد عصاره های ریشه و برگ بر روی رده های سلولی خونی نیاز به تحقیقات جامع تر و کامل تر در مورد نحوه عمل و مکانیسم عمل مواد مؤثره موجود در ریشه و برگ گیاه ایساتیس و همچنین در صورت امکان استفاده از این گیاه در ساخت داروهایی در درمان بیماریهای لوسمی ضروری به نظر می رسد.

فصل اول

مقدمه وهدف:

۱-۱- بیماری سرطان:

سرطان یک بیماری قدیمی است که از زمان مصر باستان شناخته شده بود. طول عمر و نحوه رشد سلول های سرطانی در سرطان های مختلف، متفاوت است. کارسینو ژنز یا مرحله ای که طی آن سلول های سرطانی تولید می شوند، یک مکانیسم چند مرحله ای است که در نتیجه اختلال در مسیر های منظم رشد سلول ها به وجود می آید. این اختلال ابتدا در یک سلول واحد به وجود می آید که بعداً این سلول خاص تقسیم شده و چندین سلول سرطانی را تشکیل می دهد. این سلول ها تغییراتی را در سلول های همسایه القا می کنند و در نتیجه میلیون ها سلول سرطانی تشکیل می شود [۶].

سرطان یک بیماری خاص نیست بلکه مجموعه ای از بیماریهای مختلف را تشکیل می دهد که با هم مرتبط هستند. عوامل مختلفی باعث ایجاد سرطان می شوند که شامل مواد شیمیایی، رژیم غذایی، سبک زندگی مدرن، عوامل ارثی و ژنتیکی، استعمال دخانیات، عوامل طبیعی مثل اشعه خورشید و یا تغییرات هورمونی و موتاسیون سلولی می باشند. هر ساله سرطان عامل ۲۲٪ از مرگ و میر هاست که بعد از بیماری های قلبی که ۳۷٪ مرگ ها را شامل می شود، دومین علت مرگ است [۶].

نئوپلاسم ها بر اساس بافت شناسی میکروسکوپی، نمای ظاهری و خصوصیات بالینی به خوش خیم یا بد خیم تقسیم می شوند. ساختمان نئوپلاسم های بد خیم، با بافتی که از آن منشاء گرفته اند متفاوت بوده، رشد آنها به وسیله کپسول واقعی محدود نشده و اشکال میتوز غیر طبیعی در آنها نسبتاً زیاد است، رشد آنها بندرت متوقف شده ولی سرعت آنها ممکن است نامنظم باشد. بسیاری تومور های بدخیم بر خلاف تومورهای خوش خیم تمایل به متاستاز دارند و ممکن است در اثر حمله و دست اندازی به سایر ساختمان ها و ایجاد اختلال در عملکرد آنها، منجر به مرگ شوند.

نئوپلاسم‌ها بر اساس بافتی که از آن منشاء می‌گیرند نیز تقسیم می‌شوند: نئوپلاسم‌های ناشی از بافت مزانشیم (عضله، استخوان، غضروف، تاندون، چربی، عروق، لنفوئیدها یا بافت همبند) سارکوم^۱ نامیده می‌شوند. تومورهای بدخیم با منشاء اپی‌تلیال، کارسینوم^۲ نام داشته و موارد مذکور بر طبق ظاهر بافت شناسی به آدنوکارسینوم (غده‌ای)^۳، اسکواموس^۴ و ترانزیشنال^۵ یا غیر متمایز طبقه‌بندی می‌شوند. تومور ممکن است از یک نوع سلول تشکیل شده باشد و یا دارای چندین نوع سلول نئوپلاستیک باشد [۱].

در سلول‌های سرطانی مقدار، ساختمان و عملکرد مولکول‌های خاصی مانند فاکتور رشد و گیرنده‌های آن یا ژنهای سرکوب‌کننده تومور، غیر طبیعی می‌شود. اگرچه موتاسیونها به طور تک‌گیر و در اغلب موارد با علت نامشخصی رخ می‌دهند ولی موتاسیون می‌تواند در نتیجه مواجه شدن با کارسینوژن‌های محیطی مانند مواد شیمیایی، اجسام خارجی، تابش اشعه و ویروس‌ها به وجود آید [۱].

۱-۱-۱- روشهای درمان سرطان:

درمان ایده‌آل سرطان، برداشتن تمام سلول‌های سرطانی بدون هر گونه اثر بر روی سلول‌های سالم می‌باشد که اینچنین درمانی در حال حاضر وجود نداشته و دسترسی به آن نامحتمل به نظر می‌رسد. اگر سرطان در مراحل اولیه تشخیص داده شود، مریض می‌تواند درمان شود. روشهای درمان شامل شیمی‌درمانی، جراحی و رادیوتراپی می‌باشد. داروهای شیمی‌درمانی، تعداد زیادی از سلول‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند و مکانیسم عمل آنها به صورت مهار تکثیر سلولی است. این روش برای سلول‌های با سرعت تکثیر بالا، مؤثر است و بازده کاری بستگی به غلظت و زمان

¹ Sarcoma.

² Carcinoma.

³ Adenocarcinoma.

⁴ Squamous.

⁵ Transitional.

تماس دارو با سلولهای سرطانی دارد. برای کم کردن عوارض جانبی این گونه دارو ها باید چند دارو با سمیت های گوناگون را همزمان استفاده کرد .

زمانی که تومور محدود به یک منطقه باشد ، عمل جراحی تومور اولیه صورت می گیرد که همراه با جراحی ، از دارو و اشعه نیز برای کشتن سلولهای پاقیمانده سرطانی استفاده می شود .

در شیوه رادیو تراپی از اشعه هایی مانند اشعه X استفاده می شود که این اشعه به DNA آسیب زیادی وارد می کند و باعث از بین رفتن و مرگ سلول می شود [۷].

با وجود اینکه شیمی درمانی گسترده ترین روش درمان جراحی می باشد ولی عمدتاً بیماران تحت شیمی درمانی ، عوارض جانبی ناخوشایندی را تجربه می کنند، بنابراین نیاز به طراحی داروهای جدید و کم عارضه همچنان حس می شود .

۱-۲-هدف وانگیزه:

در این تحقیق ، جهت تعیین اثرات سیتوتوکسیک گیاه ایساتیس ،برکشت سلولهای سرطانی، عصاره آبی و الکلی اجزای مختلف گیاه شامل ریشه ، ساقه و برگ و گل تهیه شد .از آنجا که تاکنون در ایران اثرات عصاره های این گیاه بر روی سلول های سرطانی بررسی نشده بود ، این گیاه انتخاب شد . جهت بررسی اثرات سیتوتوکسیک گیاه از روش های برون تنی استفاده شد .بنابر این رده های مختلف سلول های سرطانی شامل رده های سلولی خونی شامل لوسمی حاد سلول (Jurkat)، لوسمی میلوئیدی مزمن (k562) و رده سرطانی بافت سخت شامل سرطان مثانه (Fen) مورد استفاده قرار گرفت تا اثرات عصاره ایساتیس بر روی سرطان های مختلف بررسی شود . دلیل استفاده از این رده های سلولی سرطانی این بود که اولاً اینکه از هر دو نوع رده سلولی سرطان خون و سرطان بافت سخت استفاده شود و دوماً اینکه داروی دوکسوروبیسین که در این تحقیق به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد ،امروزه در درمان سرطانهای این رده کاربرد دارد و همچنین در هنگام آزمایشات ما، این رده های سلولی بهترین شرایط را از نظر رشد و تکثیر دارا بودند.

۱-۳- تاریخچه استفاده از گیاهان دارویی :

قدیمی ترین اطلاعات استفاده از گیاهان به عنوان دارو از سومریان و مصریان مربوط به حدود ۱۵۵۰ سال تا ۳۰۰۰ سال پیش از میلاد بوده است [۳]. تاریخ طب در کشور ما مربوط به دوره آریایی می باشد و اوستا (۶۵۰۰ ق.م) اولین کتابی است که از گیاهان دارویی سخن گفته است [۲]. هم اکنون نیز ۷۵ درصد جمعیت جهان به طب سنتی اتکا دارند. در کشور های صنعتی که سنتز شیمیایی در صنایع دارویی اشرافیت دارد، ۲۵ درصد از بازار دارویی را داروهای تشکیل می دهند که منشاء گیاهی دارند و ۲۵ درصد دیگر از تغییرات ساختمان ترکیبات طبیعی به دست آمده اند [۳].

از جمله منابع غنی حاوی الگو هایی برای سرطان ، گیاهان هستند. در طی حدود ۲۵ سال ۱۱۴۰۰ نمونه از ۴۰۰۰۰ نمونه گیاهی بررسی شده اند و طبق اطلاعات موجود ۵۰۰-۲۵۰ هزار گونه گیاهی در جهان پراکنده هستند و هنوز گونه های فراوانی از گیاهان وجود دارند که فعالیت ضد سرطانی آنها مورد بررسی قرار نگرفته است [۸]. تعداد ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان بیش از ۴ برابر میکروبهها حدس زده می شود. از تعداد ۳۵۰۰ ترکیب شیمیایی جدید که در سال ۱۹۸۵ شناخته شده ، تعداد ۲۶۱۹ عدد از آنها از گیاهان به دست آمد [۳]. امروزه از ترکیبات ارزشمند گیاهی در صنایع دارویی ، آرایشی و بهداشتی استفاده وسیع بعمل می آید. از جمله داروهای مهم می توان دیگوکسین ، کینین ، کنیدین ، تاکسول ، وین کریستین و اریتمیزین را نام برد. ۶۰ درصد از داروهای ضد تومور و ضد عفونت موجود در بازار و یا تحت تحقیقات بالینی از منشاء طبیعی هستند. تعداد زیادی از آنها را نتوانسته اند از طریق شیمیایی سنتز کنند و آنها را از گیاهان یا از طریق کشت سلولی به دست می آورند. ترکیبات طبیعی را می توان به عنوان ترکیبات راهنما برای طراحی منطقی داروهای جدید ، توسعه الگو برداری از سنتز آنها و کشف اثرات درمانی مورد استفاده قرار داد [۳].

یکی از این گیاهان که تصور می رود خواص دارویی بالایی داشته باشد ، گیاهی از تیره شب

بو به نام ایساتیس^۱ است که در زیر به شرح ویژگی های آن می پردازیم.

۱-۳-۱- ایساتیس چیست؟

ایساتیس گیاهی است از تیره شب بو^۲. این تیره از حدود ۳۴۰ جنس و ۳۴۰۰ گونه و با پراکنش در کلیه قاره های جهان با مرکزیت ناحیه های معتدل نیمکره شمالی می باشد. ایساتیس به همراه ۲۰ جنس دیگر طایفه لیپیده^۳ را تشکیل می دهد. به طور کلی در جهان حدود ۶۰ گونه ایساتیس وجود دارد که اغلب در ناحیه ایرانی - تورانی می روند و فقط تعداد معدودی در ناحیه های فیتو جغرافیایی اروپا- سیبری و مدیترانه پراکنش دارند. گونه های جنس ایساتیس از چنان تنوعی برخوردارند که تمایز آنها از یکدیگر بسیار مشکل می باشد. میوه مهمترین خصوصیت شاخص گونه های این جنس به شمار می آید، اما آن هم از تنوع بسیار زیادی برخوردار است ، بدین لحاظ تشخیص قطعی مرز بین گونه ها بسیار دشوار است [۴].

۱-۳-۱-۱- برخی اثرات گزارش شده از ایساتیس :

گیاه ایساتیس به عنوان یک گیاه دارویی ، در داروهای چینی سنتی مورد استفاده بوده است ، علاوه بر این ایساتیس یک تاریخچه طولانی برای استفاده به عنوان رنگ رنگرزی دارد [۹]. برگهای ایساتیس محتوی یک آلکالوئید به نام تریپتانتترین^۴ می باشد [۱۰] که به طور قوی مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) می باشد و این ترکیب همچنین به میزان زیادی مسئول عمل ضد التهابی ایساتیس می باشد. برگها همچنین محتوی چندین مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید^۵

1 Isatis.

2 Brassicaceae.

3 Lepidieae.

4 Tryptanthrin.

5 Hydroxyl cinnamic acid.

که شامل فرولیک اسید^۱ و سیناپیک اسید^۲ می باشد [۱۱] تصور می شود این عوامل در فعالیت ضد التهابی و ضد آلرژی برگ نقش مهم داشته باشند [۱۲].

ایندی روبین^۳ ترکیب یافت شده در ریشه ایساتیس، برای فعالیت ضد سرطانی اش مورد مطالعه است و تصور می شود، همانند سازی DNA را در سلولهای نئوپلاستیک، بدون اثر مشخص مهار کنندگی بر روی مغز استخوان، مهار می کند [۱۳].

استفاده پزشکی از ایساتیس به یک قرن بعد از میلاد بر می گردد و هم برگها و هم ریشه از نظر دارویی مورد استفاده قرار می گیرند [۹]. برگهای ایساتیس در داروهای سنتی، اساساً برای درمان عفونت ها به کار می روند به ویژه آنسفالیت، عفونتهای تنفسی حاد و گاستریت [۱۴]. مورد دیگر برای تجویز برگ ایساتیس، شرایط التهابی می باشد [۱۰]. دارویی که از عصاره برگ به دست می آید در طب سنتی *Da Qing Ye* نامیده می شود [۹].

عصاره های ریشه ایساتیس نیز برای درمان عفونت استفاده می شود ولی عمل ضد میکروبی ریشه بسیار وسیع تر از برگها می باشد. مطالعات انسانی و برون تنی^۴ در چین نشان داده است که عصاره ریشه ایساتیس، ضد میکروب، ضد ویروس و ضد انگل می باشد [۱۴]. دارویی که از عصاره ریشه به دست می آید، *Ban Lang Gen* نامیده می شود [۹].

عصاره های ریشه برای درمان بیماران دارای تومورهای جامد و لوسمی استفاده می شوند. یک تحقیق در چین مشخص کرده که استفاده از ۱۵۰-۲۰۰ میلی گرم از ایندی روبین خالص شده در هر روز، منجر به بهبودی ۶۰ درصد بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی می شود [۱۳].

شبهه بسیاری از گیاهان تیره شب بو، ایساتیس محتوی تعدادی از ترکیبات ایندول می باشد [۱۱]. تصور می شود که مشتقات ایندول به میزانی اثرات ضد سرطانی داشته باشند که این ممکن است استفاده سنتی از ایساتیس را در درمان سرطان لوسمی توجیه کنند [۱۵].

¹ Ferulic acid.
² Cinapic acid.
³ Indirubin.
⁴ In vitro.

تعدادی از ترکیبات مهم ریشه شامل اندوکسیل-بتا-گلوکوزید^۱ و بتا سیتوسترول^۲ و ایساتین^۳ می باشند [۱۴].

ریشه ایساتیس ، دارای یک فرمول گیاهی *PC-SPES* می باشد که در آزمایشات اولیه یک اثر درمانبخش بر علیه سرطان پروستات داشت. *PC-SPES* محتوی داروهای سنتزی دی اتیل ستیل بسترول^۴ ، ایندومتازین^۵ و وارفارین^۶ می باشد [۲۰]. مطالعات حیوانی با استفاده از ایندی روبین خالص در دوز های تا ۱۰۰۰ mg/kg ، اثرات پاتولوژیکی فاحش نشان نداد [۱۳]. اثرات جانبی ایندی روبین در انسان ها شامل درد های انتهایی ، اسهال ، تهوع ، استفراغ ، ترومبوز^۷ و به صورت بسیار نادر ، مهار مغز استخوان می باشد [۱۳]. دوز مصرفی بزرگسالان ، از ریشه ایساتیس شامل روزانه ۲-۱ گرم از ریشه خشک شده ایساتیس، در دفعات مختلف می باشد [۱۳].

۱-۳-۲- ایندی روبین ماده مؤثره گیاه ایساتیس:

در طب سنتی چین بر حسب عادت ، بیماری لوسمی میلوئیدی مزمن^۸ با یک دستور دارویی به نام *Danggui langhui wan* که مخلوطی از ۱۱ داروی گیاهی است ، درمان می شود [۱۶]. در سال ۱۹۶۶ ، انستیتوی هماتولوژی آکادمی علوم پزشکی چین بر روی شناسایی فاکتور فعال این کمپلکس مخلوط کار کرد [۱۰]. بررسی ها بر روی ترکیب *Qing Dai* که یک پودر آبی رنگ تیره است و از برگهای:

1. Indoxyl-beta-glocoside.
2. Beta-sitosterol.
3. Isatin.
4. Diethylstilbestrol.
5. Indomethacin.
6. Warfarin.
7. Thrombocytopenia.
8. Chronic Myeloid Leukemia.