

مطالعه اثر ضدمیتوزی ترکیب‌های آلکالوئیدی گونه بومی نواری علفی (*Vinca herbaceae* L.) در مقایسه با آلکالوئیدهای گونه وارداتی نواری گلی (*Catharanthus roseus* L.)

بابک دلنواز هاشملویان^{۱*}، عذرا عطائی عظیمی^۲، مهدی سلیمی^۲، علیرضا عمان^۳، ابوالفضل ناظمی^۳ و انوش اقدامی^۴

* نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

پست الکترونیک: delnavaz@iau-saveh.ac.ir

۲- دانشیار، گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

۳- کارشناس، گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

۴- استادیار، گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۵

چکیده

نواری گلی (*Catharanthus roseus* L.)، یکی از گیاهان دارویی مهم در دنیاست که بومی ماداگاسکار می‌باشد. آلکالوئیدهای این گیاه تقسیم میتوز را مهار می‌کنند. از جنس نواری (*Vinca*) تنها گونه نواری علفی (*Vinca herbaceae* L.) در مناطق شمال ایران می‌روید. در این پژوهش آلکالوئیدهای نواری گلی و نواری علفی جدا و اثر ضدمیتوزی آنها بر سلول‌های مریستم ریشه پیاز بررسی شد. آلکالوئیدهای دو گونه نواری با حلال‌های مختلف الکل، اتر و کلروفرم به روش جداسازی مرحله‌ای جدا و با استفاده از دستگاه تبخیر در خلأ خشک شدند. پیازهای یک اندازه بعد از سه روز قرار گرفتن در آب مقطر ریشه‌دار شدند. ریشه‌های این پیازها به مدت ۸ و ۲۴ ساعت در معرض مقادیر صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید هر گونه قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل مشاهدات با نرم‌افزار Minitab و آزمون Tukey انجام شد. مطالعه اثر آلکالوئیدهای نواری گلی و نواری علفی بر میتوز سلول‌های مریستم ریشه پیاز نشان داد که آلکالوئیدهای هر دو گونه اثر ضدمیتوزی داشته و باعث جلوگیری و کاهش تقسیم سلولی می‌شوند. آلکالوئیدهای هر دو گونه بر مراحل تقسیم میتوز سلول‌ها اثر داشته و کروموزوم‌ها را در پروفاز ایستا نگه داشته و باعث فشردگی کروموزوم‌ها می‌شوند. مقایسه آنالیز واریانس و میانگین داده‌ها، در برخی موارد برای هر دو گونه تفاوت معنی‌دار با شاهد (تیمار غلظت صفر آلکالوئید) داشت. آلکالوئیدهای هر دو گونه باعث فشردگی و جدایی کروموزوم‌ها، مشابه اثر کلشی‌سین شدند. آلکالوئیدهای نواری گلی و علفی را می‌توان مثل کلشی‌سین برای پژوهش‌های سیتولوژی گیاهی استفاده کرد ولی نواری گلی بهتر از نواری علفی بود.

واژه‌های کلیدی: آلکالوئید، گونه بومی، میتوز، تقسیم، کروموزوم، خواص ضدسرطانی.

مقدمه

گیاه سرشار از آلکالوئید، از تیره خرزه‌ره (*Apocynaceae*) هستند. گونه اول وارداتی و فقط به عنوان گیاه زینتی در مناطق مختلف ایران کشت می‌شود و به دلیل

نواری گلی (*Vinca roseae* L. syn. *Catharanthus roseus* L.) و نواری علفی (*Vinca herbaceae* L.) دو

مؤثرترین گیاه در درمان بسیاری از سرطان‌هاست (Taylor, 1968). اثر ضدسرطانی بیشتر داروها، از طریق جلوگیری از تشکیل ریزلوله‌ها و دوک‌های تقسیم و یا تغییر در غشای دو لایه و فرایندهای وابسته به آن انجام می‌گیرد (Karen *et al.*, 2009). مهمترین عاملی که مانع رشد تومورهای سرطانی می‌شود، داروهای بازدارنده تقسیم سلولی است (Bianca, 2012). آلکالوئیدهای نواری گلی شامل فرآورده‌های طبیعی ضد میتوزی هستند که در سطح وسیعی برای درمان سرطان استفاده می‌شوند (Donehower & Rowinsky, 1993). آلکالوئیدهای نواری با جلوگیری از پلیمریزاسیون میکروتوبول‌های سازنده دوک تقسیم، از تقسیم سلول‌ها جلوگیری می‌کنند (Kruczynski *et al.*, 1998؛ Keen & Taylor, 2009؛ Brito & Rieder, 2008). نوع و غلظت این آلکالوئیدها، میزان بازدارندگی آنها روی پلیمریزاسیون توبولین‌ها و دوک‌های تقسیم سلول‌های سرطانی مغز استخوان را مشخص می‌کند (Dhamodharan *et al.*, 1995). در هر زمانی سلول دارای مخلوطی از جمعیت ریزلوله‌هایی با ثبات مختلف است که از نظر حساسیت به آلکالوئیدهای نواری متفاوت هستند (Gascoigne & Taylor, 2008). ریزلوله‌ها رفتار پویا در چرخه سلولی دارند. ریزلوله‌ها با تشکیل دوک‌های میتوزی در جابجایی کروموزوم‌ها و تشکیل دو سلول دختری دخالت دارند (Karen *et al.*, 2009).

اگرچه پژوهش‌ها نشان داده که گونه نواری علفی دارای تعداد زیادی آلکالوئید است ولی اطلاعاتی از خاصیت ضدسرطانی و یا حتی دارویی این گیاه در دست نیست. آلکالوئیدهای ضدسرطان نواری گلی، با جلوگیری از تشکیل دوک تقسیم، مانع تقسیم سلول‌های سرطانی می‌شوند. در این پژوهش آلکالوئیدهای نواری گلی و علفی برای مشخص شدن خواص ضدتقسیمی و استفاده از آنها برای پژوهش‌های سیتولوژی گیاهی استخراج و بر سلول‌های در حال تقسیم گیاهی (مریستم ریشه پیاز) اثر داده شد.

داشتن آلکالوئیدهای ضدسرطان، شهرت جهانی دارد ولی گونه دوم بومی مناطق شمالی ایران است، در هیچ جا کشت نمی‌شود و از خواص دارویی احتمالی آن اطلاع چندانی در دست نیست. گیاه نواری گلی، گیاهی زینتی و دارویی از ماداگاسکار با بیش از ۱۳۰ نوع ترپنوئید اندول آلکالوئید (Terpenoid indole alkaloids) است که بیشتر آنها دارویی هستند. برخی از آلکالوئیدهای نواری گلی به‌ویژه دو آلکالوئید وینکریستین و وین‌بلاستین (Vincristine, Vinblastine) آن، اثر ضدتقسیم و ضدسرطانی بسیار قوی دارند (Cheruth & Mohammed, 2010؛ Cheruth *et al.*, 2009). همکاران (Ataei Azimi *et al.*, 2008) موفق به افزایش ۲۰ و ۶ برابری به ترتیب آلکالوئیدهای ضدسرطانی وین‌بلاستین و وینکریستین در ریشه‌های نوپدید نواری گلی در محیط درون شیشه شدند. اندول آلکالوئیدهای نواری گلی و نواری علفی در ایران جدا و مشخص شده که اندام‌های هوایی این دو گیاه سرشار از آلکالوئید هستند (Ebrahimzadeh *et al.*, 1996). کشت درون شیشه نواری علفی منجر به تشکیل رویان‌های بدنی از آن شده است (Delnavaz Hashemloian *et al.*, 2008). هربادین از بخش‌های هوایی نواری علفی (Aynilian *et al.*, 2003) و وینکولین از نواری علفی و نواری گلی جدا شده است (Aynilian *et al.*, 1974a,b). اندازه‌گیری آلکالوئید کل در برگ نواری علفی نشان داد که در هر گرم وزن تر این گیاه ۴/۷ میلی‌گرم آلکالوئید وجود دارد که خیلی بیشتر از برگ نواری گلی (۰/۷۵ گرم آلکالوئید در یک گرم وزن تر) است. کروماتوگرافی آلکالوئیدها نشان داد که این گیاه تعداد زیادی آلکالوئید دارد. به طوری که ۱۶ اندول آلکالوئید آن اصلی بوده و ۴۱٪ آلکالوئید کل را شامل می‌شوند (Ebrahimzadeh *et al.*, 1995؛ Farnsworth, 1973). بیش از سه هزار گونه گیاه در بخش‌های مختلف دنیا، برای جلوگیری از تقسیم میتوز سلول‌ها و درمان سرطان استفاده می‌شود (Hartwell, 1971) ولی نواری گلی با داشتن آلکالوئیدهای خاص،

مواد و روش‌ها

مواد و وسایل

برای انجام تحقیق از مواد شیمیایی، دستگاه‌ها و ماده گیاهی نواری گلی و علفی استفاده شد.

مواد شیمیایی

رنگ کارمن، استیک اسید گلاسیال، سود (NaOH)، هیدروکلریک اسید (HCl)، اتانول خالص، اتر و کلروفرم، از شرکت مرک (Merck) استفاده شد.

دستگاه‌ها

دستگاه‌های مورد استفاده در این پژوهش میکروسکوپ (ZEISS) با دوربین (EXWAVEHAD)، بن‌ماری، دستگاه تبخیر در خلأ بود.

ماده گیاهی

گیاه نواری علفی از شمال کشور (ارتفاعات سیاه‌بیشه طول و عرض جغرافیایی ۳۵°:۵۲' و ۱۵°:۳۶') جمع‌آوری و بعد از شستشو در سایه و دمای اتاق خشک و پودر شد. دانه‌های نواری گلی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه، در گلدان کشت شد. وقتی نواری گلی بعد از دو ماه در گلدان شروع به گل دادن کرد، از گلدان خارج و شستشو شد و در سایه و دمای اتاق خشک و پودر شد.

استخراج آلکالوئید (روش تغییر یافته Renaudin, 1984)

۵۰ گرم از پودر خشک اندام‌های هوایی نواری گلی و نواری علفی در ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ داخل ارلن مخلوط و به مدت ۱ ساعت در دمای ۶۰ درجه داخل بن‌ماری قرار داده شد. سپس مخلوط فوق صاف و تفاله دوباره با ۱۰۰ میلی‌لیتر دیگر اتانول مخلوط بعد از مدت ۱۰ دقیقه بن‌ماری ۶۰ درجه سانتی‌گراد صاف شد. این مرحله سه بار تکرار شد. عصاره‌های صاف شده مخلوط و با دستگاه تبخیر در خلأ، در دمای ۶۰ درجه خشک گردید.

عصاره خشک در ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط اتر-اسید سولفوریک ۵٪ (۵۰:۵۰) حل و با دکانتور بخش اسیدی و اتری از هم جدا شدند (سه بار تکرار). pH بخش اسیدی با سود یک نرمال، به بالاتر از ۱۰ رسانده شد و بعد با اضافه کردن کلروفرم به نسبت مساوی با بخش اسیدی، دو بخش با دکانتور از هم جدا شدند. بخش کلروفرمی که محتوی آلکالوئید بود با دستگاه تبخیر در خلأ، در دمای ۶۰ درجه، خشک و برای اثر دادن بر سلول‌های مریستم ریشه پیاز استفاده شد.

اثر دادن عصاره‌ها بر تقسیم سلولی سلول‌های مریستم ریشه پیاز

۲۴ عدد پیاز یک اندازه کوچک، سه روز در آب قرار گرفتند تا ریشه‌ها تشکیل شدند.

محلول‌هایی با مقادیر ۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید، آماده شد. هر یک از پیازهای ریشه‌دار، در معرض ۵۰ میلی‌لیتر از این محلول‌ها قرار داده شد. طول مدت تیمار پیازها با عصاره‌ها، برای هر مجموعه سه تکراری ۸ و ۲۴ ساعت بود (با غلظت‌های ۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید، زمان‌های ۴ و ۶ ساعت امتحان شد ولی چون اثر خیلی کم بود زمان تیمار افزایش داده شد). پس از آن، ریشه‌های پیاز جدا و به مدت ۲۴ ساعت در فیکساتور الکل: استیک اسید (نسبت ۳:۱) قرار داده و بعد به الکل ۷۰ درجه انتقال و در یخچال نگهداری شد.

رنگ‌آمیزی تقسیم میتوز (سلول‌ها و کروموزوم‌های) سلول‌های مریستم ریشه پیاز با استوکارمن ۲٪ (Gupta et al., 2006)

رنگ‌آمیزی سلول‌ها و کروموزوم‌ها

ابتدا هیدرولیز تیغه میانی و جدا کردن سلول‌های مریستمی با قرار دادن یک دقیقه‌ای یک سانتی‌متر انتهای ریشه‌ها در هیدروکلریک اسید نرمال و دمای ۶۰ درجه و شستشو با آب انجام شد. سپس مریستم نوک ریشه را روی

نوک ریشه پیاز اثر دارند و مراحل تقسیم را دستخوش تغییر می‌کنند.

مقایسه آنالیز واریانس اثر آلکالوئیدهای دو گونه نواری (جدول ۱) نشان داد که غلظت آلکالوئید و نوع گونه به تنهایی و اثر متقابل غلظت-گونه و غلظت-زمان روی درصد تقسیم سلول‌های مریستمی پیاز معنی‌دار است. آنالیز واریانس مراحل تقسیم نشان داد که اثر ساده و متقابل همه عوامل بجز اثر متقابل غلظت-زمان و غلظت-گونه-زمان، روی مرحله پروفاز ایستا، اثر معنی‌دار دارند. آلکالوئیدهای دو گونه روی مراحل دیگر تقسیم میتوز بجز تروفاز نیز اثر معنی‌دار داشتند و بیشترین اثر معنی‌دار مربوط به غلظت، گونه و مدت زمان تیمار با آلکالوئید بود (جدول ۱). نتایج آنالیز واریانس غلظت و نوع گونه بر سلول‌های غیرطبیعی و حبایچه‌دار (وزیکوله) معنی‌دار بود (جدول ۱).

همه مراحل تقسیم میتوز شامل پروفاز، متافاز، آنافاز و تروفاز در سلول‌های مریستم ریشه‌های سه روزه پیاز بدون تیمار با آلکالوئید مشاهده شد (شکل ۱).

لام جدا و با نوک سوزن له کرده و یک قطره استوکارمن ۲٪ (۲ گرم کارمن در ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط جوش ۴۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۵۵ میلی‌لیتر آب مقطر) روی آن ریخته، بلافاصله لامل روی آن قرار داده و لای دولایه کاغذ خشک‌کن اسکواش شد. لام آماده با میکروسکوپ با بزرگنمایی‌های ۴۰، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ برابر مطالعه شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش به صورت آزمون فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵٪ و با استفاده از نرم‌افزار آماری Mini-tab14 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی (Tukey) انجام شد.

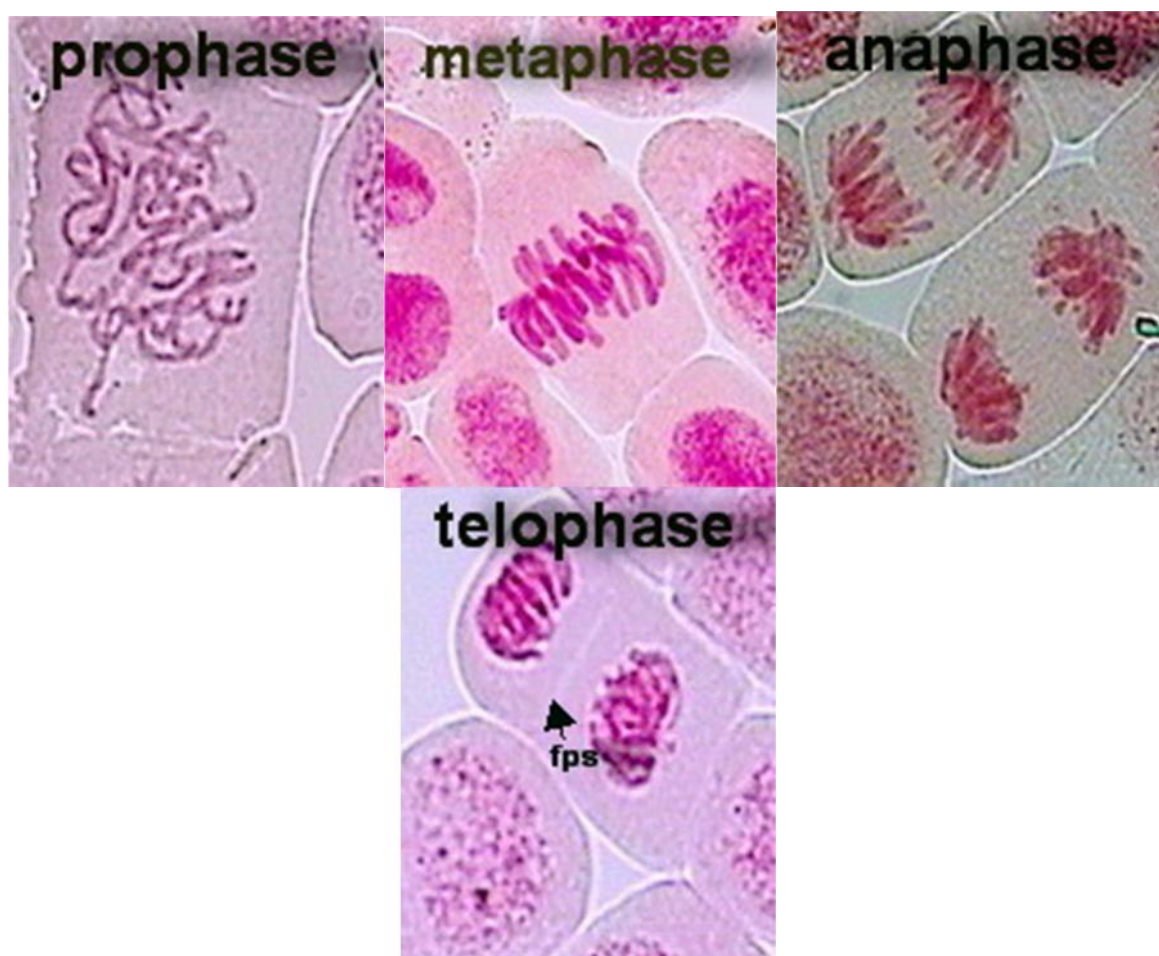
نتایج

نتایج نشان داد که عصاره آلکالوئیدی هر دو گونه نواری گلی و نواری علفی روی تقسیم میتوز سلول‌های مریستم

جدول ۱- مقایسه آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف آلکالوئیدهای دو گونه نواری گلی و علفی در دو زمان ۸ و ۲۴ ساعت بر درصد و مراحل تقسیم (پروفاز، پروفاز ایستا، متافاز، آنافاز و تروفاز)، سلول‌های غیرطبیعی و وزیکوله مریستم نوک ریشه پیاز

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		تقسیم	پروفاز	پروفاز ایستا	متافاز	آنافاز	تروفاز
غلظت	۳	* ۳۰۶/۵۸	* ۴۵۶۰/۳	* ۹۶۷۱/۲	* ۱۶۰/۶۹	* ۱۶۷۴/۶	* ۴۸/۳۰
گونه	۲	* ۴۷/۵۹	* ۶۰۲/۰	* ۲۸۱۷/۹	* ۵۵/۸۹	* ۴۰۹/۷	* ۴/۵۴
زمان	۱	۰/۴۱	* ۷۰۷/۹	* ۴۱۰۱/۹	* ۵۲۵/۹۶	* ۱۷۶۳/۵	* ۱۶۸/۳۶
غلظت×گونه	۶	* ۲۶/۵۷	* ۱۷۰/۳	* ۱۹۲۳/۶	* ۱۴۵/۹۸	* ۲۰۶/۱	* ۳۸/۷۹
غلظت×زمان	۳	* ۳۸/۱۵	* ۶۴۵/۴	* ۶۱۵/۲	* ۹۱/۰۷	* ۱۵۳/۱	* ۵۴/۶۱
گونه×زمان	۲	* ۲۳/۴۰	* ۴۱/۴	* ۹۷۵/۳	* ۲۰۸/۱۱	* ۱۶۶/۴	* ۱۱۱/۱۲
غلظت×گونه×زمان	۶	* ۱۴/۷۵	* ۲۰۸/۳	* ۵۶۳/۴	* ۴۱/۱۷	* ۱۰۵/۲	* ۲۶/۱۹
خطا	۴۸	* ۱۱/۳۸	* ۱۳۶/۸	* ۳۰۳/۳	* ۸۴/۰۷	* ۱۴۱/۱	* ۷۹/۰۱

*: معنی‌دار



شکل ۱- مراحل اصلی تقسیم میتوز سلول مریستم ریشه پیاز در شاهد بعد از ۲۴ ساعت

fps: صفحه تقسیم سیتوپلاسم (فراگمیلاست) با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر

شد. در تیمار ۸ ساعته، اثر آلكالوئیدهای نواری گلی در ممانعت از تقسیم سلولی، قوی‌تر از آلكالوئیدهای نواری علفی بود.

درصد سلول‌ها در مرحله پروفاز که همراه از بین رفتن غشای هسته و فشردگی کروموزوم‌ها و اتصال آنها به دوک است، با افزایش آلكالوئید و زمان برای هر دو گونه کاهش معنی‌دار داشت و در غلظت ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر به صفر رسید.

اصطلاح پروفاز ایستا، مرحله‌ای بین پروفاز و متافاز است که بر اثر تیمار آلكالوئید مشاهده می‌شود. در این مرحله بعد از فشردگی کروموزوم‌ها در مرحله پروفاز، کروموزوم‌ها به دلیل تشکیل نشدن دوک‌های تقسیم تحت

تیمار ریشه‌های پیاز به مدت ۸ و ۲۴ ساعت با مقادیر متفاوت آلكالوئیدهای نواری گلی و نواری علفی نشان داد که آلكالوئیدهای هر دو گیاه باعث تغییراتی در مراحل تقسیم و شکل سلول می‌شوند.

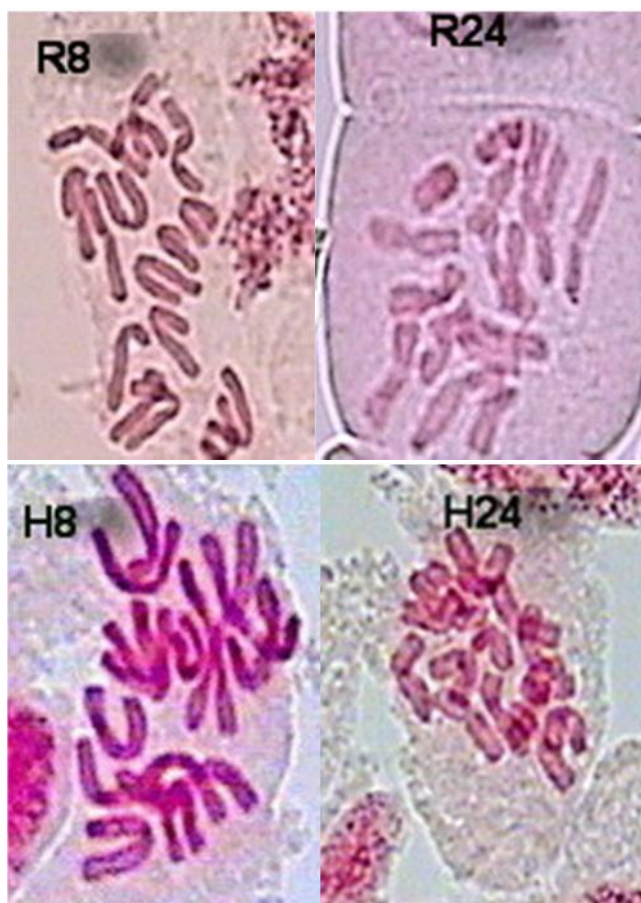
مقایسه میانگین‌های اثرهای مقادیر مختلف آلكالوئیدهای نواری گلی و نواری علفی نشان‌دهنده اثر معنی‌دار غلظت، مدت تیمار و نوع گیاه بر برخی از مراحل تقسیم میتوز سلول‌های مریستم نوک ریشه پیاز بود (جدول ۲).

آلكالوئیدهای هر دو گیاه، درصد تقسیم سلول را به طور معنی‌داری کاهش دادند. به طوری که کمترین درصد تقسیم در غلظت ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نواری علفی در تیمار ۲۴ ساعت و نواری گلی در تیمار ۸ و ۲۴ ساعت مشاهده

۲۴ ساعت هیچ سلولی در پروفاز ایستا مشاهده نشد و فشردگی کروموزوم‌ها در حد پروفاز و متافاز عادی بود. درصد سلول‌های پروفاز ایستا به‌طور معنی‌داری از صفر در شاهد به ۸۹/۹۷٪ در نواری گلی و ۷۰/۲۴٪ در نواری علفی در تیمار ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر ۲۴ ساعته رسید. البته اثر آلكالوئیدهای نواری گلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از نواری علفی بود.

اثر آلكالوئید، وارد مرحله متافاز نمی‌شوند. کروموزوم‌ها به دلیل باقی ماندن در این مرحله به‌شدت فشرده و قابل شمارش می‌شوند.

با افزایش زمان و غلظت آلكالوئیدهای هر دو گیاه، سلول‌های زیادی در مرحله پروفاز ایستا مانده و کروموزوم‌های فشرده و قابل شمارش در آنها مشاهده شد (شکل ۲). در حالیکه در غلظت صفر (شاهد)، بعد از ۸ و



شکل ۲- پروفاز ایستا با کروموزوم‌های فشرده و قابل شمارش (با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر)

R8 و R24: پروفاز ایستا با ۸ و ۲۴ ساعت تیمار با ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر عصاره آلكالوئیدی نواری گلی

H8 و H24: پروفاز ایستا با ۸ و ۲۴ ساعت تیمار با ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر عصاره آلكالوئیدی نواری علفی

اثر آلكالوئیدهای هر دو گیاه در همه غلظت‌ها و مدت زمان تیمار بر تلفاز بی‌معنی بود. یعنی این آلكالوئیدها، بر مرحله تلفاز اثری نداشتند.

مراحل متافاز و آنافاز نیز با افزایش غلظت و زمان تیمار به‌شدت کاهش یافته و به صفر درصد در تیمار ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر ۲۴ ساعته رسید. اثر آلكالوئیدهای نواری علفی به‌طور معنی‌داری بیشتر از نواری گلی بود.

وزیکوله (شکل ۳) با تغییر نوع گیاه، غلظت و زمان دستخوش تغییر شدند اما روند این تغییرات منظم نبود.

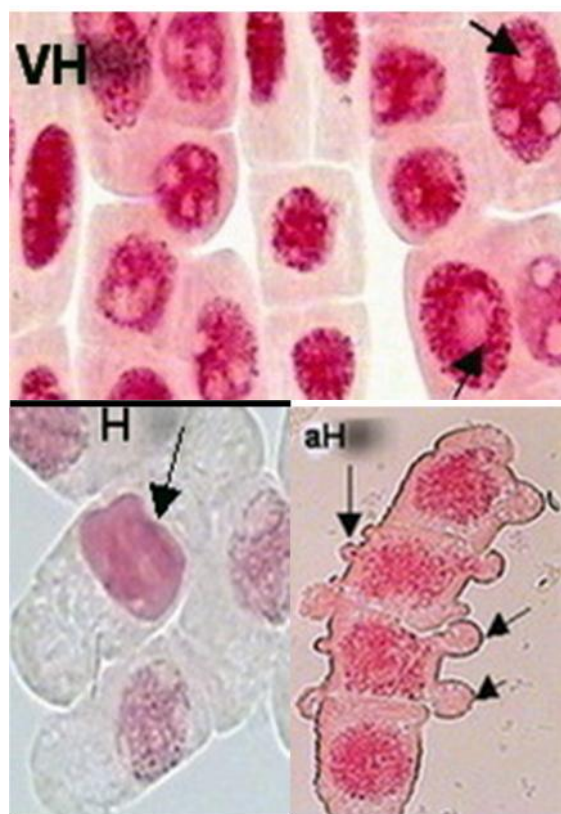
سه نوع سلول عادی، وزیکوله و غیرطبیعی در بین سلول‌های مریستم نوک ریشه پیاز دیده شدند. میزان سلول‌های غیرطبیعی (زایده سلولی و هسته فشرده) و

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر غلظت‌های مختلف آلکالوئیدهای دو گیاه نواری گلی و علفی در دو زمان ۸ و ۲۴ ساعت بر درصد و مراحل تقسیم (پروفاز، پروفاز ایستا، متافاز، آنافاز و تلوفاز)، سلول‌های غیرطبیعی و وزیکوله مریستم نوک ریشه پیاز

غلظت (mg/ml) (%)								مراحل تقسیم	زمان
نواری علفی				نواری گلی					
۰/۶	۰/۴	۰/۲	۰	۰/۶	۰/۴	۰/۲	۰		
۹/۱۳b	۱۱/۸۳c	۱۶/۰۳c	۱۳/۸۳c	۵/۷۳a	۸/۲۷	۱۷/۴۷c	۱۳/۸۳c	تقسیم	۸ ساعت
۳۲/۸d	۳۸/۳۰e	۲۰/۰۷c	۴۲/۹۰	۹/۹۳b	۳۰/۳d	۲۶/۹۳cd	۴۲/۹۰e	پروفاز	
۲۰/۹۰d	۳۱/۵۰c	۱۳/۹۰e	۰f	۵۸/۵۰b	۳۴/۹۷c	۱۵/۵۰e	۰f	پروفاز ایستا	
۱۰/۵۷d	۹/۸۴d	۲۲/۰۷e	۸/۷۳dc	۱/۲۳b	۵/۸۷	۱۰/۲۷d	۸/۷۳dc	متافاز	
۲۲/۵۰c	۱۶/۵۱b	۳۶/۴۰e	۳۰/۳d	۱۹/۶۷cb	۲۶/۲۳cd	۳۴/۶۳e	۳۰/۳	آنافاز	
۱۱/۵a	۱/۳۹a	۱۲/۴۰a	۱۰/۷۰a	۸/۲۷a	۲/۵۳a	۵/۴۰a	۱۰/۷۰a	تلوفاز	
۰/۰۷e	۰/۱۲۳d	۰f	۰f	۰f	۰/۰۷e	۰f	۰f	غیرطبیعی	
۲۷/۷۰b	۱۱/۲۹b	۱۷/۵۰b	۲۳/۱۷b	۷۷/۱a	۲۶/۷۳b	۲۹/۵۳b	۴۲/۳۸b	وزیکوله	
۷/۱۳a	۶/۱۴a	۱۲/۸۶c	۱۷/۳۷c	۶/۹۳a	۹/۲۳b	۱۲/۴۳c	۱۷/۳۷c	تقسیم	۲۴ ساعت
۰a	۱۲/۵b	۳۳/۴۱d	۵۱/۰۳f	۰a	۱۹/۶۳c	۱۸/۸۳cb	۵۱/۰۳f	پروفاز	
۷۰/۲۴a	۶۴/۷۰b	۱۹/۸۹d	۰f	۸۹/۹۷a	۱۵/۶۳e	۲۳/۶۰d	۰f	پروفاز ایستا	
۰a	۲/۰۸b	۱۹/۱۰e	۶/۸۷cd	۰a	۱۰/۴۰d	۱۱/۵۰d	۶/۸۷cd	متافاز	
۰a	۰a	۲۷/۲۵dc	۲۴/۲۳c	۰a	۳۵/۲۱e	۳۵/۵۰e	۲۴/۲۳c	آنافاز	
۱۴/۱a	۴/۱۵a	۲/۱۷a	۵/۸۰a	۹/۹۷a	۹/۹۳a	۴/۸۴a	۵/۸۰a	تلوفاز	
۳/۴۹a	۰/۹۷b	۰/۷۲c	۰f	۰f	۰f	۰f	۰f	غیرطبیعی	
۷۸/۶۳a	۲۶/۵b	۱۱/۵۱b	۳۷/۹۵b	۳۹/۲۳b	۴۵/۲۳b	۲۸/۱۰b	۳۶/۹۳b	وزیکوله	

سلول‌های غیرطبیعی شامل سلول‌هایی با زائده‌های بیرونی و یا هسته‌های غیرعادی بودند که در بین سلول‌های تیمار شده با آلکالوئیدهای نواری علفی بیشتر مشاهده شدند که با افزایش غلظت، زمان درصد آنها هم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و از صفر در شاهد به ۳/۴۹٪ در تیمار ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر ۲۴ ساعت رسید.

سلول‌های وزیکوله، شامل سلول‌هایی بودند که در هسته آنها مناطق بی‌رنگ شبیه حباب (وزیکول) دیده شد (شکل ۳). تعداد این سلول‌ها در بین سلول‌های شاهد هم بالا بود و فقط تعداد آنها در غلظت ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید نواری گلی ۸ ساعت و نواری علفی ۲۴ ساعت به‌طور معنی‌داری افزایش داشت. در بقیه تیمارها اگرچه تغییراتی مشاهده شد ولی تفاوت با شاهد معنی‌دار نبود.



شکل ۳- سلول‌های وزیکوله و غیرطبیعی تیمار شده با آلکالوئید (با بزرگنمایی ۴۰۰ برابر)

VH: تشکیل وزیکول در هسته سلول‌های مریستم ریشه پیاز، تیمار شده با ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید نواری علفی
 H: هسته فشرده و غیرعادی سلول‌های مریستم ریشه پیاز، تیمار شده با ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید نواری علفی
 aH: تشکیل زائده روی سلول‌های مریستم ریشه پیاز، تیمار شده با ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید نواری علفی

پژوهشگران دیگر برای نواری گلی روی سلول‌های انسانی و جانوری است ولی برای نواری علفی گزارشی در دسترس نیست. ریزلوله‌ها رفتار پویا در چرخه سلولی دارند. ریزلوله‌ها با تشکیل دوک میتوزی در جابجایی کروموزوم‌ها و تشکیل دو سلول دختری دخالت دارند. آلکالوئیدهای نواری با جلوگیری از پلیمریزاسیون میکروتوبول‌های سازنده دوک تقسیم، از تقسیم سلول‌ها جلوگیری می‌کنند (Kruczynski *et al.*, 1998; Brito & Rieder, 2008). سرطان بیماری است که در آن سلول‌ها توانایی تقسیم بدون کنترل پیدا می‌کنند. آلکالوئیدهای نواری گلی شامل فراورده‌های طبیعی وین‌کریستین و وین‌بلاستین داروهای ضد میتوزی هستند که در سطح وسیعی برای درمان سرطان، با جلوگیری از تقسیم سلول‌ها، استفاده می‌شوند (Donehower & Rowinsky, 1993). سرطان در

برای هر دو گونه، در غلظت ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئید با تیمار ۲۴ ساعت، آنیوپلوئیدی و پلی‌پلوئیدی مشاهده شد. در این تیمار در حدود ۵۰٪ سلول‌های پروفاز ایستا، به جای ۱۶ کروموزوم (۳۱٪ سلول‌های پروفاز ایستا)، ۱۷ و ۱۸ کروموزوم و حدود ۱۳٪ پلی‌پلوئیدی با دو برابر شدن دست کروموزوم، ۳۲ کروموزوم داشتند. کمتر از ۵٪/۰ سلول‌های پروفاز ایستا، ۲۵، ۲۶ و ۴۸ کروموزوم داشتند.

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره‌های آلکالوئیدی نواری گلی و نواری علفی نسبت به شاهد، تقسیم سلولی را به‌طور معنی‌داری در سلول‌های مریستم ریشه پیاز با توانایی تقسیم بالا، کاهش می‌دهند. این نتایج در راستای نتایج

نمی‌تواند وارد متافاز و مراحل بعدی تقسیم شود. به همین دلیل کروموزوم‌ها در این مرحله به شدت فشردگی پیدا می‌کنند (Keen & Taylor, 2009). آلکالوئیدهای ضدسرطان نواری گلی در غلظت بالا، علاوه بر کاهش شدید گردهم‌آیی و ساخته شدن ریزلوله‌ها، کارایی اتصال توبولین‌ها و برهم‌کنش‌های یونی غیراختصاصی آنها را کاهش و ماشین میتوزی را از کار می‌اندازند (Gascoigne & Taylor, 2008). آلکالوئیدهایی مانند وین‌بلاستین با متصل شدن به پایانه‌های ریزلوله‌ها و جلوگیری از تشکیل دوک‌ها، مانع جابجایی کروموزوم‌ها به استوای سلول و رفتن سلول‌ها از پروفاز ایستا به متافاز و آنافاز می‌شوند (Jordan et al., 1991).

البته اثر آلکالوئیدهای هر دو گیاه در همه غلظت‌ها و مدت زمان تیمار بر تلفاز بی‌معنی بود. یعنی این آلکالوئیدها، بر مرحله تلفاز اثری نداشتند. مرحله تلفاز یعنی سلول از همه مراحل قبلی تقسیم بدون مانع گذشته و به مرحله‌ای رسیده که در آن دوک‌ها تجزیه می‌شوند. از آنجایی که احتمالاً اثر آلکالوئیدهای این دو گیاه از هم‌پاشی یا ممانعت از تشکیل دوک تقسیم می‌باشد، بر تلفاز بی‌اثر بوده است. اثر آلکالوئیدهای ضدسرطان نواری گلی سبب از هم‌پاشی ریزلوله‌ها، با چندین مکانیسم مختلف می‌شوند (Karen et al., 2009).

سلول‌های غیرطبیعی شامل سلول‌هایی با زائده‌های بیرونی و یا هسته‌های غیرعادی بود که در بین سلول‌های تیمار شده با آلکالوئیدهای نواری علفی بیشتر مشاهده شد که با افزایش غلظت و زمان درصد آنها هم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و از صفر در شاهد به ۳/۴۹٪ در تیمار ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر ۲۴ ساعت رسید. وجود این نوع سلول‌ها می‌تواند نشان‌دهنده جهش‌زا بودن (موتازن) و یا القاء‌کننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوسیس) این مواد باشد. در سلول‌هایی که دچار مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شوند، پدیده‌هایی مثل تورم اندامک‌ها، فشردگی کروموزوم و پیدا شدن حبابچه در هسته مشاهده می‌شود (Wyllie et al., 1984). آلکالوئیدهای نواری گلی با جلوگیری از وارد شدن سلول میتوزی از مرحله پروفاز به مرحله متافاز باعث مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شوند (Almagro et al., 2013; Ehrhardt et al., 2015).

واقع تقسیم بی‌کنترل سلول‌ها است ولی داروهای ضدسرطان به ریزلوله‌ها متصل و مانع انجام تقسیم سلول می‌شوند (Karen et al., 2009). آلکالوئیدهای نواری گلی، به‌ویژه دو آلکالوئید وین‌کریستین و وین‌بلاستین آن، اثر ضدتقسیمی و ضدسرطانی بسیار قوی دارند (Cheruth & Mohammed, 2010). مهم‌ترین داروهای ضدسرطان با جلوگیری از تقسیم میتوز، مانع تقسیم سلول‌های سرطانی و انتشار و رشد سرطان می‌شوند (Karen et al., 2009).

با افزایش زمان تیمار و غلظت آلکالوئیدهای هر دو گیاه، سلول‌های زیادی در مرحله پروفاز ایستا مانده و کروموزوم‌های فشرده و قابل شمارش در آنها مشاهده شد. باقی ماندن کروموزوم‌ها در این مرحله نشان‌دهنده اثر بازدارنده آلکالوئیدهای هر دو گیاه بر تشکیل دوک‌های تقسیم است. این ویژگی نشان می‌دهد که از عصاره آلکالوئیدی هر دو گیاه می‌توان برای مطالعات کروموزومی و تهیه کاربوتایپ استفاده کرد و نواری گلی بهتر از نواری علفی است. کلشی‌سین آلکالوئیدی است که برای مطالعات سیتولوژی، کروموزوم‌ها و تهیه کاربوتایپ در گیاهان و جانوران استفاده می‌شود. این ماده با جلوگیری از تشکیل دوک‌های میتوزی کروموزوم‌ها را در مرحله پروفاز ایستا نگه می‌دارد (Robbins & Gonatas, 1964). فشردگی کروموزوم‌های سلول‌های مریستم ریشه پیاز در این پژوهش بسیار مشابه با کروموزوم‌های تیمار شده با کلشی‌سین و ۸- هیدروکسی کینولین بود (Paknia & Karimzadeh, 2011; Ramesh, 2015). تیمار ۵ ساعت سلول‌های مریستمی ریشه پیاز با ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کلشی‌سین، کروموزوم‌ها را در پروفاز ایستا نگه داشته، باعث فشردگی، قابل شمارش و تهیه کاربوتایپ پیاز شد (Ramesh, 2015). در این پژوهش حداکثر غلظت آلکالوئیدها ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با زمان‌های ۸ و ۲۴ ساعت تیمار بود. اثر غلظت ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلکالوئیدهای هر دو گونه در تیمار زمانی ۸ ساعت، مشابه اثر ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کلشی‌سین بود. کلشی‌سین با جلوگیری از تشکیل ریزلوله‌ها و تقسیم میتوز، باعث فشردگی کروموزوم‌ها در پایان پروفاز شد. با جلوگیری از تشکیل دوک‌های تقسیم، سلول

نواری علفی گزارشی ارائه نشده است. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آلکالوئیدی این گیاه تقریباً مشابه نواری گلی اثر بازدارنده بر تقسیم میتوز دارد. این نتیجه می‌تواند نشان‌دهنده اثر ضدسرطانی احتمالی ترکیب‌های این گیاه باشد، که برای اولین بار در این پژوهش گزارش می‌شود.

با توجه به اینکه نواری گلی در کشور به‌عنوان یک گیاهی زینتی تقریباً در فضای سبز کل شهرهای کشور کشت می‌شود و برای استفاده در دسترس و ارزان است، بنابراین می‌توان به جای خرید مواد بازدارنده تقسیم مثل کلشی‌سین و ۸-هیدروکسی‌کینولین و ترکیب‌های مشابه از خارج از کشور برای مطالعات سیتولوژی، پلی‌پلوئیدی، کروموزوم و کاریوتایپ در پژوهش‌های علمی و حتی آزمایشگاه‌های پزشکی، از عصاره آلکالوئیدی این گیاه استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

- Almagro, L., Fernández F. and Pedreño, M.A., 2015. Indole Alkaloids from *Catharanthus roseus*: bioproduction and their effect on human health. *Molecules*, 20: 2973-3000.
- Ataei Azimi, A., Delnavaz Hashemloian, B., Ebrahimzadeh, H. and Majd, A., 2008. High *in vitro* production of ant-canceric Indolealkaloids from periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) tissue culture. *African Journal of Biotechnology*, 7(16): 2834-2839.
- Aynilian, G.H., Farnsworth, N.R. and Trojacek, J., 1974a. Alkaloids of *Vinca* species. 3. Isolation and characterization of indole alkaloids from *V. libanotica*. *Journal of Natural Product*, 37(2): 299-308.
- Aynilian, G.H., Weiss, G.A. and Cordell, D.J., 1974b. *Catharanthus* alkaloids: isolation and structure elucidation of vincoline. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63(4): 536-538.
- Aynilian, G.H., Bell, C.L. and Farnsworth, N.R., 2003. Alkaloids of *Vinca* species: structure elucidation of herbadine, an alkaloid isolated from *Vinca libanotica*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64(2): 341-346.
- Bianca, N.D., 2012. Modeling the effects of angiostatin and mitotic inhibitors on vascularized tumor growth. *California State Science Fair*, 508: 1-2.
- Brito, D.A. and Rieder, C.L., 2008. The ability to survive mitosis in the presence of microtubule poisons differs significantly between human

ترکیب‌های ضدسرطان نواری گلی باعث جلوگیری از تقسیم سلولی و مرگ سلول‌های سرطانی به روش مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شوند (Huang *et al.*, 2004). برخی از مواد ضدسرطان با جلوگیری از تشکیل اسکلت سلولی، باعث حباب‌دار شدن (وزیکوله) هسته، قطعه قطعه شدن آن و مرگ سلولی می‌شوند (De Nicola *et al.*, 2006).

گزارش‌های زیادی از فعالیت آنتی‌میتوزی عصاره‌های آلکالوئیدی نواری گلی موجود است ولی از اثر ضد میتوزی عصاره‌های آلکالوئیدی نواری علفی، گزارشی در دست نیست، در حالی که نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره‌های آلکالوئیدی، نواری علفی نیز مثل آلکالوئیدهای نواری گلی بازدارنده میتوز سلول‌های مریستمی پیاز هستند. از زمان‌های دیرین، تولیدات گیاهان طبیعی منبع اصلی داروهای انسان هستند. البته بیش از سه هزار گونه گیاه در بخش‌های مختلف دنیا، برای درمان سرطان استفاده می‌شود (Hartwell, 1971). مهمترین عاملی که مانع رشد تومورهای سرطانی می‌شود، داروهای بازدارنده تقسیم سلول‌های سرطانی است (Bianca, 2012). بیشتر ترکیب‌های طبیعی ضد تقسیم میتوز، ضد سرطان هستند (Dall'Acqua, 2014).

عدد کروموزومی در پیاز ۱۶ ($2n=16$) است (Paknia & Karimzadeh, 2011؛ Ramesh, 2015). عدد کروموزومی پیاز در این پژوهش نیز ۱۶ بود ولی افزایش غلظت آلکالوئید و زمان، باعث ایجاد پلی‌پلوئیدی (افزایش دست‌های کروموزومی) به‌ویژه تتراپلوئیدی و آنیوپلوئیدی (تغییر یک یا دو کروموزوم) و به‌ویژه افزایش یک و دو کروموزوم شد.

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آلکالوئیدی خام دو گیاه نواری گلی و نواری علفی روی تقسیم میتوز اثر داشته و مانع فرایند میتوز می‌شوند. آلکالوئیدهای این دو گیاه با جلوگیری از تشکیل دوک‌های تقسیم، مانع انجام مراحل تقسیم میتوز می‌شوند. این اثر باعث باقیماندن کروموزوم‌ها در پروفاز ایستا، فشردگی و جدایی و قابل استفاده بودن برای تهیه کاریوتایپ کروموزومی و تغییر تعداد کروموزومی می‌شود. این نتایج برای اولین بار روی گونه علفی گزارشی می‌شوند، زیرا تاکنون از اثر ضد میتوزی و سرطانی

- N.R., (Eds.). The *Vinca* Alkaloids. Marcel Dekker, New York, 357p.
- Gascoigne, K.E. and Taylor, S.S., 2008. Cancer cells display profound intra- and interline variation following prolonged exposure to antimetabolic drugs. *Cancer Cell*, 14: 111-122.
 - Gupta, K.C., Bhamarath, H.S. and Sandhu, G.S., 2006. Research Techniques in Biological Science. Dominant Publishers, 221p.
 - Hartwell, J.L., 1971. Plants Used Against Cancer. Lloydia Publisher, 654p.
 - Huang, Y., Fang, Y., Wu, J., M Dziadyk, J., Zhu, X. and Sui, M., 2004. Regulation of *Vinca* alkaloid-induced apoptosis by NF- κ B pathway in human tumor cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 3(3): 271-277.
 - Jordan, M.A., Thrower, D. and Wilson, L., 1991. Mechanism of inhibition of cell proliferation by *Vinca* alkaloids. *Cancer Research*, 51(8): 2212-2222.
 - Karen, E., Gascoigne, S. and Taylor, S.S., 2009. How do anti-mitotic drugs kill cancer cells? *Journal of Cell Science*, 122(15): 2579-2585.
 - Keen, N. and Taylor, S., 2009. Mitotic drivers-inhibitors of the Aurora B Kinase. *Cancer and Metastasis Review*, 28: 185-195.
 - Kruczynski, A., Barret, J.M., Etievant, C., Colpaert, F. and Hill, B.T., 1998. Antimitotic and tubulin interacting properties of vinflunine, a novel fluorinated *Vinca* alkaloid. *Biochemical Pharmacology*, 55: 635-648.
 - Paknia, R. and Karimzadeh, G., 2011. Karyotypic study and chromosome evolution in some Iranian local onion populations. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 1(1): 49-62.
 - Ramesh, A., 2015. Karyotypic analysis in three species of *Allium* and their some varieties. *International Research Journal of Biological Sciences*, 4(9): 1-9.
 - Robbins, E. and Gonatas, N., 1964. Histochemical and ultrastructural studies on HeLa cell cultures exposed to spindle inhibitors with special reference to the interphase cell. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 12: 704-709.
 - Renaudin, J.P., 1984. Reversed phase high performance liquid chromatographic. *Journal of Chromatography*, 291: 165-174.
 - Taylor, G., 1968. Introduction to symposium on vincristine. *Cancer Chemotherapy Report*, 52: 453-459.
 - Wyllie, A.H., Morris, R.G., Smith, A.L. and Dunlop, D., 1984. Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *Journal of Pathology*, 142: 66-77.
 - nontransformed (RPE-1) and cancer (U2OS, HeLa) cells. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 10(1002): 203-216.
 - Cheruth, A.J. and Mohammed, A.S., 2010. Fatioxicchemical components of *Catharanthus roseus* after treatment with different plant growth regulators. *Australian Journal of Agricultural Engineering*, 1(2): 45-53.
 - Cheruth, A.J., Guixue, W., Parvaiz, A. and Ikram, H., 2009. Changes in the photosynthetic characteristics of *Catharanthus roseus* L. as a result of exogenous growth regulators. *Plant Omics Journal*, 2(4): 169-174.
 - Dall'Acqua, S., 2014. Natural products as antimetabolic agents. *Current Topics Medicinal Chemistry*, 14: 275-286.
 - Delnavaz Hashemloian, B., Ataei Azimi, A., Majd, A. and Ebrahimzadeh, H., 2008. Abnormal plantlets regeneration through direct somatic embryogenesis on immature seeds of *Vinca herbacea*. *African Journal of Biotechnology*, 7(11): 1679-1683.
 - Dhamodharan, R.I., Jordan, M.A., Thrower, D., Wilson, L. and Wadsworth, P., 1995. Vinblastine suppresses dynamics of individual microtubules in living cells. *Molecular Biology of the Cell*, 6: 1215-1229.
 - Donehower, R.C. and Rowinsky, E.K., 1993. Anticancer drugs derived from plants: 409-417. In: De Vita, V.T., Hellman, S. and Rosenberg, S.A., (Eds.). *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. JB Lippincott, Philadelphia, 2928p.
 - De Nicola, M., Cerella, C., D'Alessio, M., Coppola, S., Magrini, A., Bergamaschi, A. and Ghibelli, L., 2006. The cleavage mode of apoptotic nuclear vesiculation is related to plasma membrane blebbing and depends on actin reorganization. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1090: 69-78.
 - Ebrahimzadeh, H., Ataei Azimi, A. and Noori-Daloi, M.R., 1996. The distribution of indole alkaloids in different organs of *Catharanthus roseus* G. Don. (*Vinca rosea* L). *Daru*, 6(1,2): 1-17.
 - Ebrahimzadeh, H., Ataei Azimi, A. and Noori-Daloi, M.R., 1995. The comparison of indole alkaloids of *Vinca major* L., *V. minor* L. and *V. herbacea*. *Daru*, 5(1,2): 1-17.
 - Ehrhardt, H., Pannert, L., Pfeiffer, S., Wachter, F., Amtmann, E. and Jeremias, I., 2013. Enhanced anti-tumour effects of *Vinca* alkaloids given separately from cytostatic therapies. *British Journal of Pharmacology*, 168(7): 3567-3575.
 - Farnsworth, N.R., 1973. The phytochemistry of *Vinca* species: 95-147. In: Taylor, W.I. and Farnsworth,

Antimitotic effects of alkaloid compounds from native species of *Vinca herbaceae* L. compared with alkaloids of *Catharanthus roseus* L.

B. Delnavaz Hashemloian^{1*}, A. Ataei Azimi², M. Salimi², A.R. Oman², A. Nazemi² and A. Eghdami²

1*-Corresponding Author, Department of Plant Biology, Faculty of Science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
E-mail: delnavaz@iau-saveh.ac.ir

2- Department of Plant Biology, Faculty of Science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Received: May 2016

Revised: October 2016

Accepted: October 2016

Abstract

Catharanthus roseus L. is one of the most important medicinal plants in the world. The alkaloids of this plant inhibit mitosis. Herbal periwinkle (*Vinca herbacea* L.) is the unique species of this genus, growing in north of Iran. In this study, anti-mitosis effects of Herbal periwinkle was studied related to Madagascar for its effects on onion root meristem cells. The alkaloids of these plants were extracted by some different solvents including alcohol, ether, and chloroform and dried by vacuum rotary evaporator. Onions of the same size after three days were rooted in distilled water. The roots of the onions were treated at doses of zero, 0.2, 0.4, and 0.6 mg/ml alkaloids for 8 and 24 hours. The data analysis was performed with Minitab software and Tukey test. The results showed that alkaloids of both species presented antimitotic effect. Alkaloids of both species reduced and/or inhibited cell division and mitosis phases. Generally, alkaloids caused a drastic reduction of cell division and chromosome station at the end of prophase and chromosome condensation. Comparison of analysis of variance and the means in some cases showed significant difference for both species with the control (alkaloid at a concentration of zero). The alkaloid contents of the two species significantly affected chromosome condensation and separation like colchicine. The alkaloids of both species were usable for plant cytology studies similar to colchicine but the Madagascar periwinkle resulted better than native herbal periwinkle.

Keywords: Alkaloids, native species, mitosis, division, chromosome, anticancer.