Archive of SID

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۳، شماره ۲، صفحه ۲۰۷-۱۹۶ (۱۳۹۶)
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2017.106262.1767

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[1*]، عذرا عطائی عظیمی[2]، مهدی سلیمی[3]، علیرضا عمان[3]، ابوالفضل ناظمی[3] و انوش اقدامی[4]

۱*- 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 دریافت: خرداد ۱۳۹۵ تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: مهر 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

نواری گلی (*Vinca roseae* L. syn. *Catharanthus roseus* L.) و نـواری علفـی (*Vinca herbaceae* L.) دو گیـــاه سرشـــار از آلکالوئیـــد، از تیـــره خرزهـــره (Apocynaceae) هستند. گونه اول وارداتی و فقط به‌عنوان گیاه زینتی در مناطق مختلف ایران کشت می‌شود و به دلیل

www.SID.ir

Archive of SID

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، Vinbelastine) آن، اثر ضدتقسیم و ضدسرطانی بسیار قوی دارند (Cheruth & Mohammed, 2010؛ Cheruth *et al.*, 2009). Ataei Azimi و همکاران (۲۰۰۸) موفق به افزایش ۲۰ و ۶ برابری به‌ترتیب 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؛ Ebrahimzadeh *et al.*, 1995). کشت درون شیشه نواری علفی منجر به تشکیل رویان‌های بدنی از آن شده‌است (Delnavaz Hashemloian *et al.*, 2008). آلکالوئید هربادین از بخش‌های هوایی نواری علفی (Aynilian *et al.*, 2003) و وینکولین از نواری علفی و نواری گلی جدا شده‌است (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، 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 ضدمیتوزی 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 اطلاعی 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.

www.SID.ir

Archive of SID

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 به‌مدت ۱ ساعت در دمای۶۰ 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 به‌مدت ۲۴ ساعت در فیکساتور الکل: استیک اسید (نسبت۳: 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

www.SID.ir

Archive of SID

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 به‌صورت 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 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 تلوفاز 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 حبابچه‌دار (وزیکوله) معنی‌دار بود (جدول ۱).

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

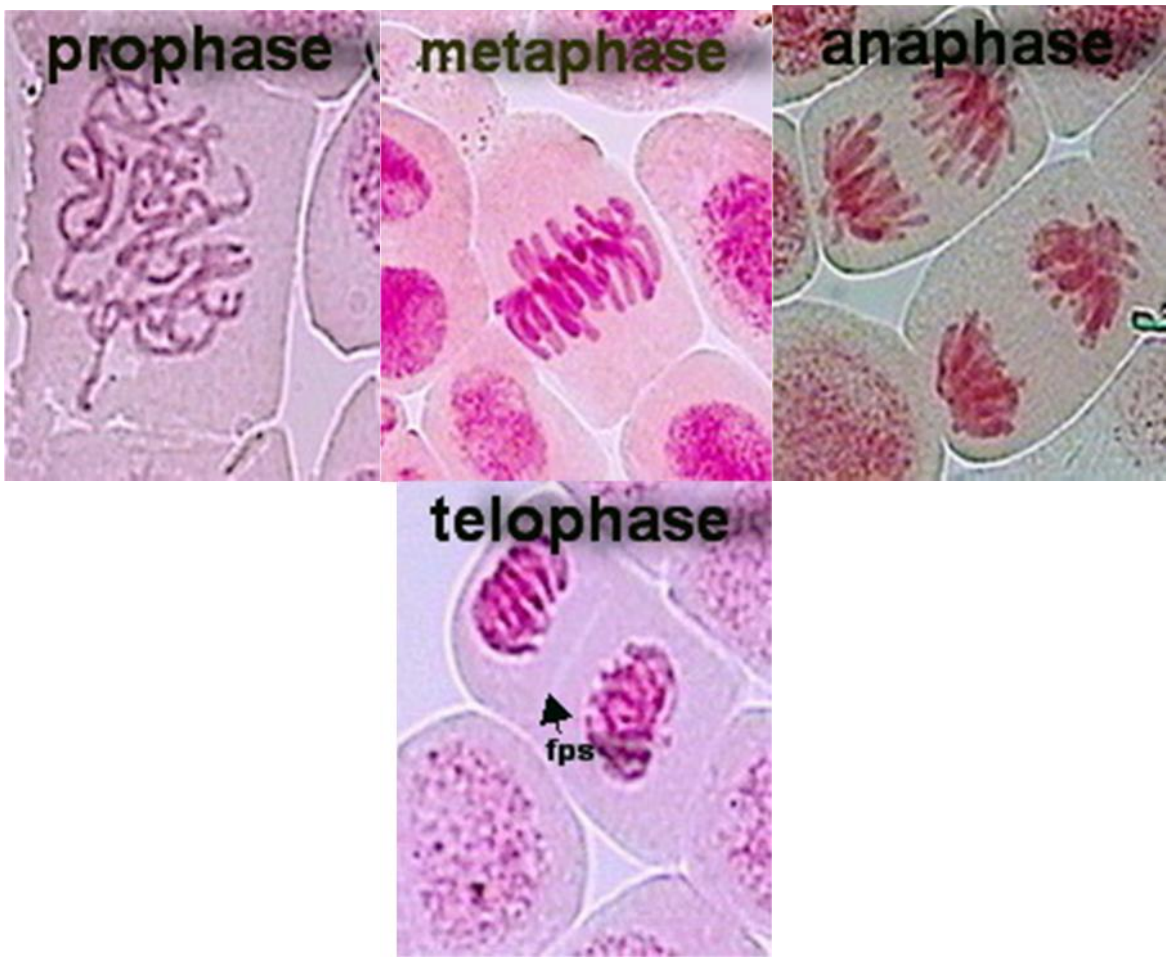
جدول ۱– مقایسه آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف آلکالوئیدهای دو گونه نواری گلی و علفی در دو زمان ۸ و ۲۴ ساعت بر درصد و مراحل تقسیم (پروفاز، پروفاز ایستا، متافاز، آنافاز و تلوفاز)، سلول‌های غیرطبیعی و وزیکوله مریستم نوک ریشه پیاز

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		تقسیم	پروفاز	پروفاز ایستا	متافاز	آنافاز	تلوفاز	غیرطبیعی	وزیکوله
غلظت	۳	۳۰۶/۵۸ ❋	۴۵۶۰/۳ ❋	۹۶۷۱/۲ ❋	۱۶۰/۶۹	۱۶۷۴/۶ ❋	۴۸/۳۰	۳/۲۰۴ ❋	۴۱۸۱/۶ ❋
گونه	۲	۴۷/۵۹ ❋	۶۰۲/۰ ❋	۲۸۱۷/۹ ❋	۵۵/۸۹	۴۰۹/۷	۴/۵۴	۲/۶۴۸ ❋	۱۲۰۱/۴
زمان	۱	۰/۴۱	۷۰۷/۹ ❋	۴۱۰۱/۹ ❋	۵۲۵/۹۶ ❋	۱۷۶۳/۵ ❋	۱۶۸/۳۶	۲/۷۰۲	۶۳/۲
غلظت×گونه	۶	۲۶/۵۷ ❋	۱۷۰/۳	۱۹۲۳/۶ ❋	۱۴۵/۹۸	۲۰۶/۱	۳۸/۷۹	۰/۹۵۲	۴۲۸/۷
غلظت×زمان	۳	۳۸/۱۵ ❋	۶۴۵/۴ ❋	۶۱۵/۲	۹۱/۰۷	۱۵۳/۱	۵۴/۶۱	۱/۱۴۳	۱۲۸۷/۲ ❋
گونه×زمان	۲	۲۳/۴۰	۴۱/۴	۹۷۵/۳ ❋	۲۰۸/۱۱	۱۶۶/۴	۱۱۱/۱۲	۳/۳۱۹ ❋	۷۵۴/۴
غلظت×گونه×زمان	۶	۱۴/۷۵	۲۰۸/۳	۵۶۳/۴	۴۱/۱۷	۱۰۵/۲	۲۶/۱۹	۱/۱۱۱	۱۳۷۵/۰ ❋
خطا	۴۸	۱۱/۳۸	۱۳۶/۸	۳۰۳/۳	۸۴/۰۷	۱۴۱/۱	۷۹/۰۱	۰/۶۶۹	۳۷۶/۲

❋: معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID



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

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

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

مقایسه میانگین‌های اثرهای مقادیر مختلف آلکالوئیدهای 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).

آلکالوئیدهای هر دو گیاه، درصد تقسیم سلول را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند. به‌طوری 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 شد. در تیمار ۸ ساعته، اثر آلکالوئیدهای نواری گلی در ممانعت از تقسیم سلولی، قوی‌تر از آلکالوئیدهای 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 آلکالوئید و زمان برای هر دو گونه کاهش معنی‌دار داشت و در غلظت ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر به صفر رسید.

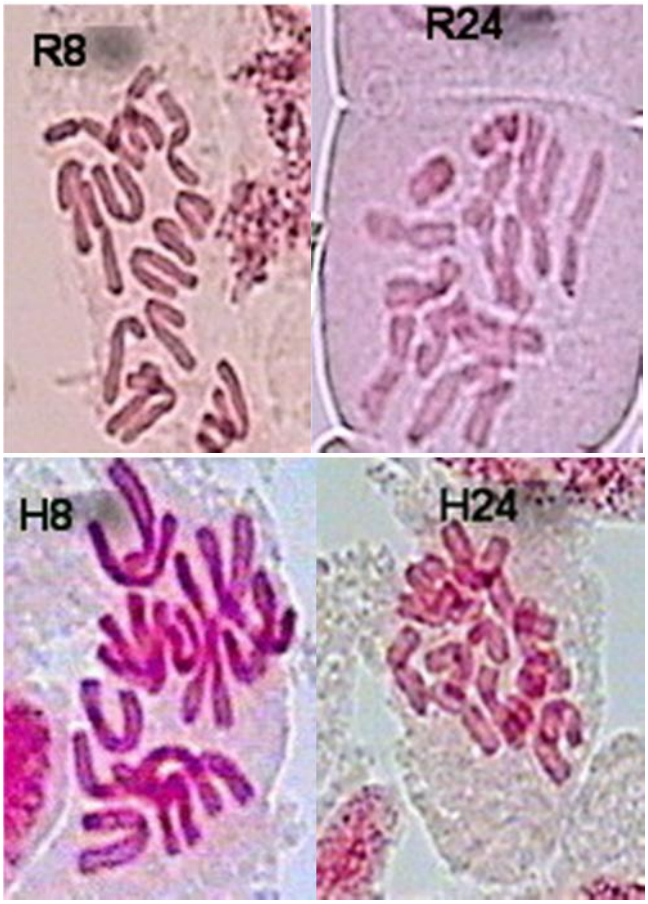
اصطلاح پروفاز ایستا، مرحله‌ای بین پروفاز و متافاز است که بر اثر تیمار آلکالوئید مشاهده می‌شود. در این مرحله بعد از فشردگی کروموزوم‌ها در مرحله پروفاز، کروموزوم‌ها به دلیل تشکیل نشدن دوک‌های تقسیم تحت

www.SID.ir

Archive of SID

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

با افزایش زمان و غلظت آلکالوئیدهای 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 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 آلکالوئیدهای نواری گلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از نواری علفی بود.



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 آلکالوئیدی نواری گلی

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

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 ساعت رسید. اثر آلکالوئیدهای نواری علفی به‌طور معنی‌داری بیشتر از نواری گلی بود.

اثر آلکالوئیدهای هر دو گیاه در همه غلظت‌ها و مدت زمان تیمار بر تلوفاز بی‌معنی بود. یعنی این آلکالوئیدها، بر مرحله تلوفاز اثری نداشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

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

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

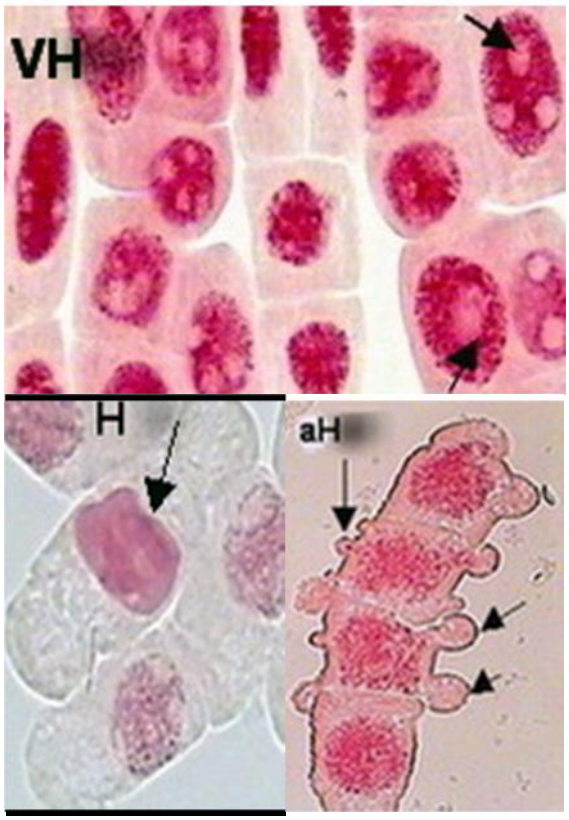
زمان	مراحل تقسیم	غلظت (mg/ml) (٪)							
		نواری گلی				نواری علفی			
		۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶
۸ ساعت	تقسیم	۱۳/۸۳c	۱۷/۴۷c	۸/b۲۷	۵/۷۳a	۱۳/۸۳c	۱۶/۰۳c	۱۱/۸۳c	۹/۱۳b
	پروفاز	۴۲/۹۰e	۲۶/۹۳cd	۳۰/۳d	۹/۹۳b	۴۲/۹۰	۲۰/۰۷c	۳۸/۳۰e	۳۲/۸d
	پروفاز ایستا	۰f	۱۵/۵۰e	۳۴/۹۷c	۵۸/۵۰b	۰f	۱۳/۹۰e	۳۱/۵۰c	۲۰/۹۰d
	متافاز	۸/۷۳dc	۱۰/۲۷d	۵/c۸۷	۱/۲۳b	۸/۷۳dc	۲۲/۰۷e	۹/۸۴d	۱۰/۵۷d
	آنافاز	۳۰/۳	۳۴/۶۳e	۲۶/۲۳cd	۱۹/۶۷cb	۳۰/۳d	۳۶/۴۰e	۱۶/۵۱b	۲۲/۵۰c
	تلوفاز	۱۰/۷۰a	۵/۴۰a	۲/۵۳a	۸/۲۷a	۱۰/۷۰a	۱۲/۴۰a	۱/۳۹a	۱۱/۵a
	غیرطبیعی	۰f	۰f	۰/۰۷e	۰f	۰f	۰f	۰/۱۲۳d	۰/۰۷e
	وزیکوله	۴۲/۳۸b	۲۹/۵۳b	۲۶/۷۳b	۷۷/۱a	۲۳/۱۷b	۱۷/۵۰b	۱۱/۲۹b	۲۷/۷۰b
۲۴ ساعت	تقسیم	۱۷/۳۷c	۱۲/۴۳c	۹/۲۳b	۶/۹۳a	۱۷/۳۷c	۱۲/۸۶c	۶/۱۴a	۷/۱۳a
	پروفاز	۵۱/۰۳f	۱۸/۸۳cb	۱۹/۶۳c	۰a	۵۱/۰۳f	۳۳/۴۱d	۱۲/۵b	۰a
	پروفاز ایستا	۰f	۲۳/۶۰d	۱۵/۶۳e	۸۹/۹۷a	۰f	۱۹/۸۹d	۶۴/۷۰b	۷۰/۲۴a
	متافاز	۶/۸۷cd	۱۱/۵۰d	۱۰/۴۰d	۰a	۶/۸۷cd	۱۹/۱۰e	۲/۰۸b	۰a
	آنافاز	۲۴/۲۳c	۳۵/۵۰e	۳۵/۲۱e	۰a	۲۴/۲۳c	۲۷/۲۵dc	۰a	۰a
	تلوفاز	۵/۸۰a	۴/۸۴a	۹/۹۳a	۹/۹۷a	۵/۸۰a	۲/۱۷a	۴/۱۵a	۱۴/۱a
	غیرطبیعی	۰f	۰f	۰f	۰f	۰f	۰/۷۲c	۰/۹۷b	۳/۴۹a
	وزیکوله	۳۶/۹۳b	۲۸/۱۰b	۴۵/۲۳b	۳۹/۲۳b	۳۷/۹۵b	۱۱/۵۱b	۲۶/۵b	۷۸/۶۳a

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.

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.

www.SID.ir

Archive of SID



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

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

www.SID.ir

Archive of SID

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؛ Cheruth *et al.*, 2009). 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 کاریوتایپ استفاده کرد و نواری گلی بهتر از نواری علفی است. کلشی‌سین آلکالوئیدی است که برای مطالعات سیتولوژی، کروموزوم‌ها و تهیه کاریوتایپ 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 کاریوتایپ 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 تیماز 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 نمی‌تواند وارد متافاز و مراحل بعدی تقسیم شود. به همین دلیل کروموزوم‌ها در این مرحله به‌شدت فشردگی پیدا می‌کنند (Keen & Taylor, 2009). آلکالوئیدهای ضدسرطان نواری گلی در غلظت بالا، علاوه‌بر 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 تلوفاز بی‌معنی بود. یعنی این آلکالوئیدها، بر مرحله تلوفاز اثری نداشتند. مرحله تلوفاز یعنی سلول از همه مراحل قبلی تقسیم بدون مانع گذشته و به‌مرحله‌ای رسیده که در آن دوک‌ها تجزیه می‌شوند. از آنجایی که احتمالاً اثر آلکالوئیدهای این دو گیاه ازهم‌پاشی یا ممانعت از تشکیل دوک تقسیم می‌باشد، بر تلوفاز بی‌اثر بوده است. اثر آلکالوئیدهای ضدسرطان نواری گلی سبب ازهم‌پاشی 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 (موتاژن) 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.*, 2015؛ Ehrhardt *et al.* 2013).

www.SID.ir

Archive of SID

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 ضدمیتوزی 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 ضدتقسیم میتوز، ضد سرطان هستند (DallAcqua, 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 گزارش می‌شوند، زیرا تاکنون از اثر ضدمیتوزی و سرطانی 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- هیدروکسی کینولین و ترکیب‌های مشابه از خارج از کشور برای مطالعات سیتولوژی، پلی‌پلوییدی، 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-cancericIndolealkaloids from periwinkle (*Catharanthus roseus* L.*)* tissue culture. African Journal of Biotechnology, 7(16): 2834-2839.
- Aynilian, G.H., Farnswor, N.R. and Trojakek, 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 angiostatins 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 presenceof microtubule poisons differs significantly between human

www.SID.ir

Archive of SID

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 antimitotic drugs. Cancer Cell, 14: 111-122.
- Gupta, K.C., Bhamarah, H.S. and Sandhu, G.S., 2006. Reaserch 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-κB/IκB 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 Pharmacol, 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., Simth, A.L. and Dunpol, D., 1984. Choromatin 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. Fatioxichemical components of *Catharanthus roseus* after treatment with different plant growth regulators. Australian Jornal of Agricultural Engineering, 1(2): 45-53.
- Cheruth, A.J., Guixue, W., Parvaiz, A. and Ikram, H., 2009. Changes in the photosynthic characteristics of *Catharanthus roseus* L. as a result of exogenous growth regulators. Plant Omics Journal, 2(4): 169-174.
- DallAcqua, S., 2014. Natural products as antimitotic agents. Current Topic Medcinal 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 comparision of inodle 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,

www.SID.ir

Archive of SID

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 Azimi[2], M. Salimi[2], A.R. Oman[2], A. Nazemi[2] and A. Eghdami[2]

1*-Corresponding Author, Department of Plant Biology, Faculty of Science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
E-mial: 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 Madagascaric 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.

www.SID.ir