

مقایسه اندول - آلكالوئیدها در نواری بزرگ (*Vinca major* L.) ، نواری كوچك (*Vinca minor* L.) ، و نواری علفی (*Vinca herbacea* L.) ،

حسن ابراهیم زاده⁺، عذراعطایی عظیمی⁺ و محمد رضائوری دلویی*

⁺گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم ، دانشگاه تهران
^{*}گروه بیوشیمی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه :

در برگ نواری بزرگ ، یازده آلكالوئید اصلی مشاهده گردید كه هشت تای آن شناسایی شدند: آجمالین ، وین دولین ، كاتارانتین ، سرپانتین ، وین کامین ، وین کریستین ، آجمالیسین ، وین بلاستین . آلكالوئیدهای اصلی شناخته شده جمعا" ۴۱/۵ درصد و آلكالوئیدهای اصلی شناخته نشده جمعا" ۵۰/۶ درصد آلكالوئید كل را تشکیل می دادند. مقدار آلكالوئید كل ، ۲/۳ میلی گرم در هر گرم ماده تر بود. وین کامین كه در نواری گلی وجود نداشت در نواری بزرگ دیده شد (۸/۲ درصد) . بعلاوه وین دولین ، كاتارانتین و سرپانتین در گونه مورد مطالعه نسبت به نواری گلی ، مقدار كمتری داشت (به ترتیب ۳/۷ و ۱۸/۱ و ۶/۳ درصد).

در برگ نواری كوچك ، علاوه بر هشت آلكالوئید شناخته شده فوق الذكر ، نه آلكالوئید شناخته نشده مشاهده گردید. آلكالوئیدهای اصلی شناخته شده جمعا" ۳۷/۱ درصد و آلكالوئیدهای اصلی شناخته نشده جمعا" ۵۶/۴ درصد آلكالوئید كل را تشکیل می دادند. مقدار آلكالوئید كل ، ۰/۵ میلی گرم در هر گرم ماده تر بود. تمام آلكالوئیدها نسبت به آلكالوئیدهای مشابه خود در نواری بزرگ مقدار كمتری داشتند. وین كامین بالاترین درصد را شامل بود (۱۶/۱ درصد) و بعد از آن وین دولین (۶/۶ درصد) و سرپانتین (۷/۸ درصد) قرار داشتند.

در برگ نواری علفی ، علاوه بر هشت آلكالوئید شناخته شده فوق الذكر ، هشت آلكالوئید شناخته نشده مشاهده گردید. آلكالوئیدهای اصلی شناخته شده جمعا" ۵۲/۵ درصد و آلكالوئیدهای اصلی شناخته نشده جمعا" ۴۱/۵ درصد آلكالوئید كل را تشکیل می دادند. مقدار آلكالوئید كل ۴/۷ میلی گرم در هر گرم ماده تر برگ بود. این مقدار با آنچه كه در نواری گلی (۰/۷۵) ، نواری بزرگ (۲/۳) ، و نواری كوچك (۰/۵) مشاهده گردید ، بالاتر است . وین كامین درصد بالا (۳۹/۸) و سرپانتین درصد متوسطی (۸/۷) داشتند.

خلاصه اینکه، نواری علفی، منبع خوبی برای وین کامین و سرپانتین بویژه ماده اخیر که به سهولت به آجمالیسین تبدیل میشود بوده نواری گلی و نواری بزرگ منبع خوبی برای وین دولین و کاتارانتین که میتوانند برای تهیه وین بلاستین و وین کریستین مورد استفاده قرار گیرند می باشند.

مقدمه:

بلاستین، وین کریستین و مشتق نیمه مصنوعی آن وین دزین، عوامل ضدتوموری هستند و بطور رایج در چند درمان شیمیوترابی مورد استفاده قرار می گیرند (De Smet et al., 1985). در این گزارش، آکالوئیدهای برگ سه گونه نواری که یکی بومی ایران است از نظر نوع و مقدار بایکدیگر مقایسه شده و جزء تمایز آنها با آکالوئیدهای گونه نواری گلی که قبلاً مورد مطالعه قرار گرفتند (گزارش برای چاپ ارسال شده) مشخص گردید.

ماده گیاهی و روش کار:

نواری بزرگ (Vinca major) گیاهی زینتی است ولی در سطح محدود مورد استفاده قرار میگیرد. در باغ گیاه شناسی مرکز تحقیقات مراتع و جنگلها کشت می شود و ماده گیاهی لازم برای مطالعه از آنجا تهیه شده است. نواری کوچک (Vinca minor L.)، در نواحی مختلف اروپای مرکزی، آسیای صغیر و قفقاز می روید ولی بطور محدودی به صورت زینتی کشت می گردد. محل تامین کننده این گیاه نیز باغ گیاه شناسی بوده است. نواری علفی (Vinca herbacea L.) از ۱۳ کیلومتری سیاه بیشه به سمت کندوان جمع آوری شده است.

استخراج آکالوئید: عصاره گیری با استفاده از ۲-۳ گرم پودر خشک برگ و مقداری اتانل در

آکالوئیدهای گونه های نواری از گروه اندولی بوده بصورت مونومری (مانند آجمالیسین، کاتارانتین، وین دولین، تابرسونین) و یادیمری (مانند وین بلاستین و وین کریستین) در اندامهای مختلف آنها وجود دارند. تحقیقات بر روی آکالوئیدهای نواری عمدتاً بر روی نواری گلی (Vinca rosea L. و وینا Catharanthus roseus G. Don) متمرکز شده بر روی آکالوئیدهای گونه های نواری بزرگ (V. major L.)، نواری کوچک (V. minor L.)

(Muckhopahy et al., 1991; Proksa et al., 1988, 1989) و نواری علفی (V. herbacea) که بومی ایران است، مطالعات کمتری صورت گرفته است. وین کامین یکی از آکالوئیدهای اصلی نواری کوچک گزارش شده (Gibbs, 1974)، در گونه نواری گلی، تشکیل تابرسونین از وین دولین وابسته به نور تشخیص داده شده است (Deluca et al., 1986; Balsevich et al., 1986) سرپانتین رامیتوان از طریق احیای BH_4^- به آجمالیسین تبدیل نمود (Zenk et al., 1977). بعلاوه وین دولین می تواند بوسیله واکنش پولونووسکی تغییر یافته برای سنتز وین بلاستین مورد استفاده قرار گیرد (Mangeney et al. 1979).

آجمالیسین، کاربرد وسیعی در درمان فشارخون داشته (Zenk et al., 1977)، وین

بارقت $\frac{1}{6}$ از عصاره حاصل از ۲ گرم ماده خشک برگ در ۳ میلی لیتر متانل، احتمال وجود هشت الکلویید آجمالین، وین دولین، کاتارانتین، سرپانتین، وین کامین، وین کریستین، آجمالین و وین بلاستین را نشان می‌دهد (جدول ۱). بعلاوه سه ماده الکلوییدی شناخته نشده (X_1, X_2, X_3) دو ماده بازمان بازداري کوتاه (X_1, X_2) و یکی بازمان بازداري بلند (X_3) مشاهده شده است. وین کامین که در نواری گلی وجود نداشته در نواری بزرگ دیده شده است. TLC عصاره الکلوییدی و مشاهده صفحات حاصل در UV254 و یاد در حضور معرفهای درازندورف و سربیک آمونیوم سولفات، تفاوت بین الکلوییدهای نواری گلی و نواری بزرگ را بیشتر آشکار می‌سازد (شکل ۲). الکلوییدهای شناخته نشده جمعاً ۵۰/۶ درصد و الکلوییدهای شناخته شده جمعاً ۴۱/۵ درصد الکلوییدکل را تشکیل می‌دهند. وین دولین، کاتارانتین و سرپانتین در گونه مورد مطالعه، در مقایسه با نواری گلی، نسبت بسیار پایین تری را تشکیل می‌دهند (به ترتیب ۳/۷، ۱۸/۱ و ۶/۳ درصد) مقدار الکلویید کل در برگ نواری بزرگ ۱۳/۴ میلی گرم در هر گرم ماده خشک و یا ۲/۳ میلی گرم در هر گرم ماده تراست. ۲- مطالعه الکلوییدها در برگ نواری کوچک: مطابق شکل ۳، تزریق ۲۵ میکرو لیتر بارقت $\frac{1}{6}$ از عصاره حاصل از ۲ گرم ماده خشک در ۲ میلی لیتر متانل، احتمال وجود هشت الکلویید آجمالین، وین دولین، کاتارانتین،

بن ماری ۶۰ درجه آغاز گردید. جداسازی الکلوییدها از عصاره با تبدیل آنها به ملح سولفات انجام گرفت. آزادسازی آنها به وسیله سود و جداسازی الکلوییدهای آزاد شده بوسیله کلر فرم صورت پذیرفت. این حلال، برای مصرف در TLC، HPLC و بوسیله ۲-۳ میلی لیتر متانل جانشین گردید. (Renaudin J.P., 1984; Morris et al., 1987; Dixon, 1987). استفاده از TLC

بعنوان فاز ثابت از سیلیکاژل G60-UV 254 و بعنوان فاز متحرک از مخلوط اتانل و اتیل استات ۱:۳ استفاده شد. ظهور باندها بوسیله لامپهای UV366, UV254 و همچنین با استفاده از معرفهای درازندورف و سربیک آمونیوم سولفات انجام گردید. (Morris et al., 1987; Baerheim-suendsen and Verpoorte, 1982).

استفاده از HPLC:

بعنوان فاز ثابت از ستون C18 و بعنوان فاز متحرک از مخلوط بافردی آمونیوم هیدروژن فسفات و متانل ۲۱:۳۹ استفاده شد. شناسایی در طول موج ۲۵۴ نانومتر با استفاده از دستگاه ساخت Shimadzu مدل LC.6A انجام گرفت. (Renaudin J.P., 1984).

نتایج و بحث:

۱- مطالعه الکلوییدها در برگ نواری بزرگ: مطابق شکل ۱، تزریق ۲۵ میکرو لیتر

جدول ۱ - زمان بازداری بعضی از آلکالوئیدهای موجود در عصاره برگ نواری بزرگ در حضور و غیاب آلکالوئیدهای استاندارد (دقیقه)، مقدار این آلکالوئیدها بر حسب میلی گرم در هر گرم ماده تر و درصد آنها نسبت به مقدار آلکالوئید کل.

آلکالوئید	X_1	X_2	آجمالین	وین دولین	کاتارانتین	سریانتین	وین کامین	وین کریستین	آجمالیسین	وین تلین	X_3
زمان بازداری (- استاندارد)	۷/۴۳۳	۱۰/۵۵۸	۱۲/۴۰۸	۱۴/۵۷۵	۱۸/۳۰۸	۱/۶۳۳	۲۶/۲۰۸	۳۳/۷۵	۴۰/۱۹۲	۵۳/۵۳۳	۷۱/۱۲۳
زمان بازداری (+ استاندارد)	۷/۷۳۳	۱۰/۷۶۷	۱۲/۴۵۸	۱۵/۰۱۷	۱۸/۵۵	۱/۶۵۸	۲۶/۶۹۲	۲۴/۳۷۵	۴۰/۵	۵۳/۴۷۵	۷۳/۰۰۸
مقدار	۰/۴	۰/۲۲	۰/۱۶	۰/۰۸	۰/۴۱	۰/۱۴	۰/۱۸	۰/۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۱۵	۰/۵۱
درصد	۱۷/۷	۹/۹	۷/۲	۳/۷	۱۸/۱	۶/۳	۸/۲	۰/۸	۰/۲	۰/۷	۲۳

کوچک رابخوبی نشان می دهد (شکل ۴). مقدار آلکالوئید کل در نواری کوچک ۳/۱ میلی گرم در هر گرم ماده خشک و یا ۵/۰ میلی گرم در هر گرم ماده تر است.

۳- مطالعه آلکالوئیدها در برگ نواری علفی (نمونه بومی ایران): مطابق شکل ۵، تزریق ۲۵ میکرو لیتر بارقت $\frac{1}{12}$ از عصاره حاصل از ۲ گرم برگ خشک در ۳ میلی لیتر متانل، احتمال وجود هشت آلکالوئید آجمالین، وین دولین، کاتارانتین، سریانتین، وین کامین، وین کریستین، آجمالیسین و وین بلاستین را نشان می دهد (جدول ۳). بعلاوه ۸ آلکالوئید شناخته نشده شامل دوماه بازمان بازداری کوتاه (X_2, X_4)، یک ماده بازمان بازداری متوسط (X_3)، دوماه بازمان بازداری بلند (X_5, X_4) و سه ماده بازمان بازداری بسیار بلند (X_8, X_7, X_6) مشاهده شده است. وین کامین ۳۹/۸ درصد آلکالوئید کل را شامل

سریانتین، وین کامین، وین کریستین، آجمالیسین و وین کریستین را نشان می دهد (جدول ۲). بعلاوه نه آلکالوئید شناخته نشده شامل دوماه بازمان بازداری کوتاه (X_2, X_4)، سه ماده بازمان بازداری متوسط (X_5, X_4, X_3)، دوماه بازمان بازداری بلند (X_6, X_7) و دوماه بازمان بازداری بسیار بلند (X_8, X_6) نیز مشاهده شده است. دو آلکالوئید اخیر و وین کامین درصد بالایی داشته (به ترتیب ۱۷/۴، ۱۳/۴، ۱۶/۱)، وین دولین، کاتارانتین و سریانتین جمعاً ۱۹/۳ درصد آلکالوئید کل را شامل می شوند. آجمالیسین، وین کریستین و وین بلاستین درصد بسیار پایینی را تشکیل می دهند. TLC عصاره آلکالوئیدی و مشاهده صفحات حاصل در UV254 و یاد در حضور معرف سربیک آمونیوم سولفات تفاوت بین آلکالوئیدهای نواری گلی، نواری بزرگ و نواری

۰/۰۸ در نواری کوچک) ، منبع خوبی برای استفاده از این ترکیبات بویژه سرپانتین که به سهولت به آجمالین تبدیل می شود می باشند (Zenk et al., 1977).

- نواری گلی و نواری بزرگ ، نسبت به دو گونه دیگر، غنی تراز مجموعه وین دولین و کاتارانتین بوده (به ترتیب ۰/۴۶۴ و ۰/۴۹۰ در مقابل ۰/۰۵۷ و ۰/۰۹۲ در نواری کوچک و نواری غلفی) منبع خوبی برای این ترکیبات که می توانند برای تهیه وین بلاستین و وین کریستین مورد استفاده قرار می گیرند می باشند (Vickery, 1981).

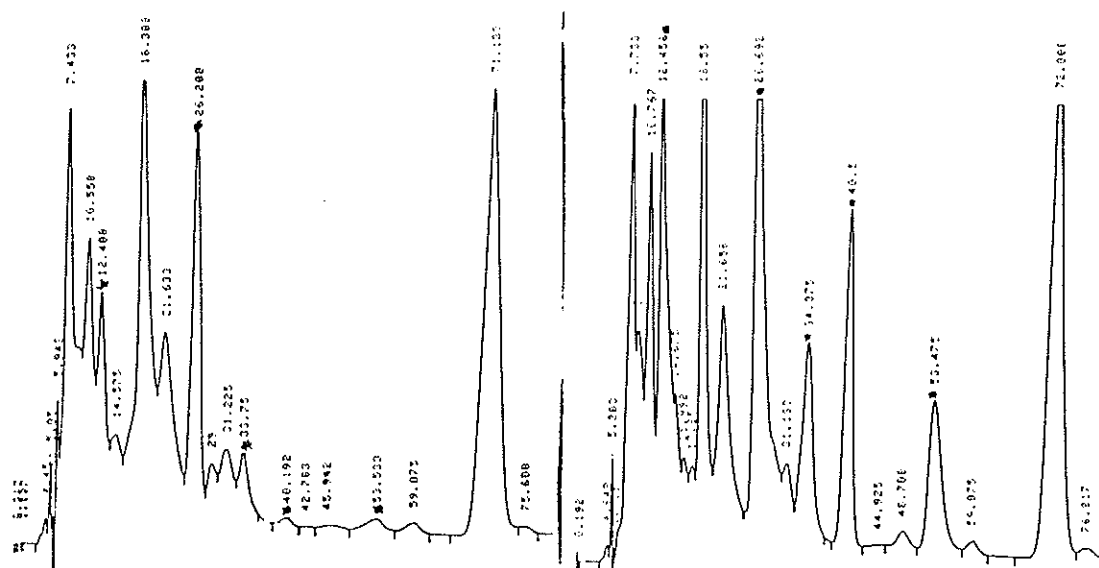
- نواری گلی بیشتر از نواری بزرگ ، نوار کوچک و نواری غلفی محتوی آجمالین بوده (به ترتیب ۰/۰۴۱ ، ۰/۰۰۵ ، ۰/۰۰۷ و ناچیز) ، این ماده در برگ جوان نواری گلی زیاد تر از برگ مسن و ریشه آن است (به ترتیب ۰/۴۱ و در مقابل ۰/۰۲ و ناچیز).

- نواری بزرگ ، نواری کوچک و نواری غلفی ، محتوی آکالوئیدهای اصلی شناخته نشده ای هستند که درصد کل آنها نسبت به آکالوئید کل و مقدار کل آنها بر حسب میلی گرم در هر گرم ماده تر به ترتیب عبارتند از: ۵۰/۴ و ۱/۱۳ برای

بوده دو آکالوئید X_7, X_8 ، مجموعاً ۲۵/۲ درصد آکالوئید کل را به خود اختصاص داده اند. وین دولین و کاتارانتین جمعاً ۲ درصد و سرپانتین ۸/۷ درصد آکالوئید کل را تشکیل می دهند. آجمالین ، وین کریستین و وین بلاستین درصد بسیار پایینی را شامل میشوند. مقدار آکالوئید کل در برگ وینکای غلفی ۲۸/۱ میلی گرم در هر گرم ماده خشک و یا ۴/۷ میلی گرم در هر گرم ماده تراست . TLC عصاره آکالوئیدی و مشاهده صفحات حاصل در UV254 و یاد در حضور معرفهای دراژندورف و سربیک آمونیوم سولفات تفاوت بین آکالوئیدهای نواری غلفی و سایر گونه های نواری را نشان می دهد (شکل ۶) . مطالعه مقدار و نوع آکالوئیدهای موجود در سه گونه نواری و مقایسه آن با گونه نواری گلی نشان داد که :

- مقدار آکالوئید کل در برگ ، بر حسب میلی گرم در هر گرم ماده تر ، در نواری غلفی ۴/۷ ، در نواری بزرگ ۲/۳ ، در نواری گلی ۰/۷۵ و در نواری کوچک ۰/۵ است .

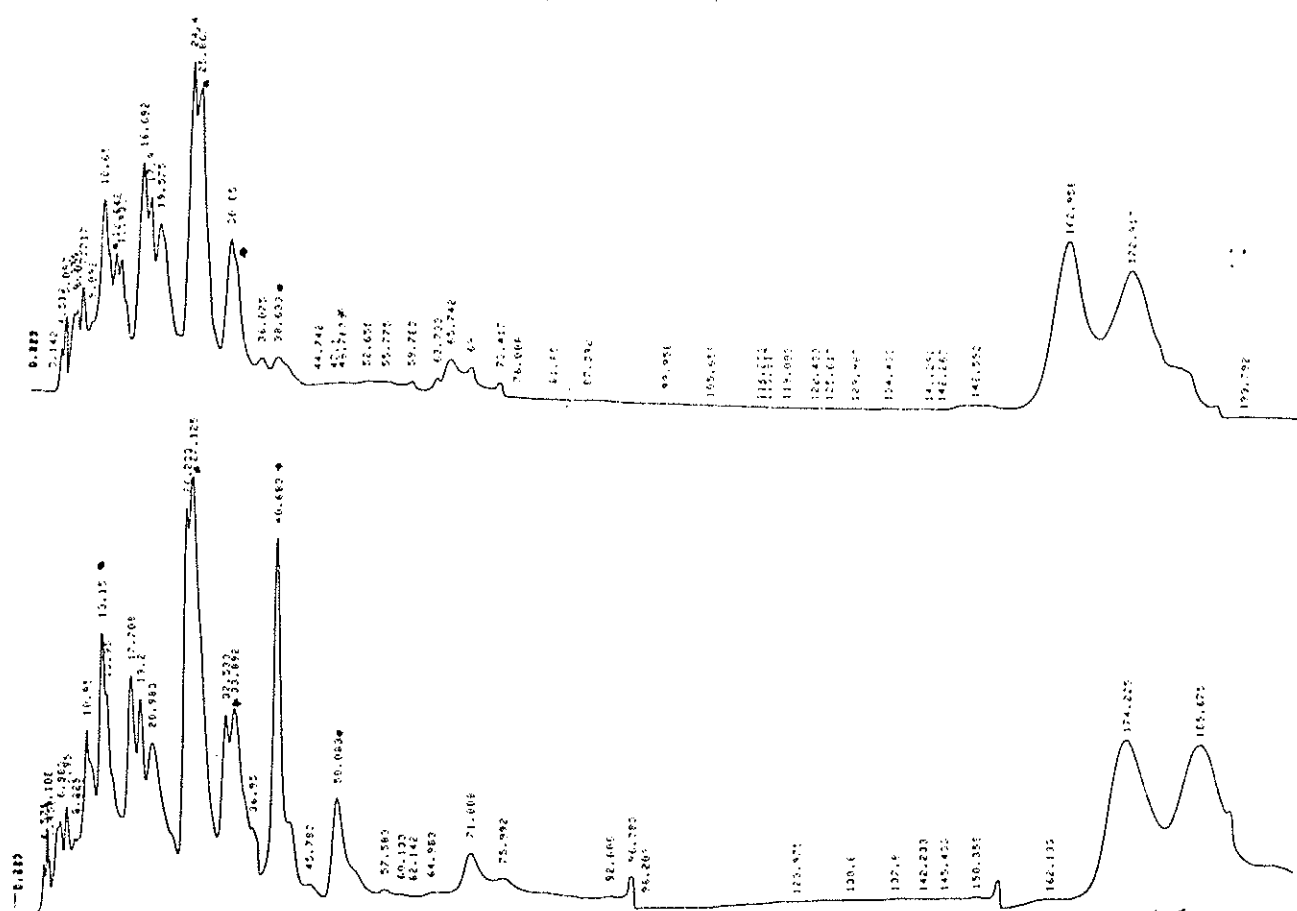
- نواری غلفی ، نسبت به گونه های دیگر غنی تراز سرپانتین و وین کامین بوده (به ترتیب ۰/۴۰۸ و ۱/۸۷ در مقابل ۰/۱۴ و ۰/۱۸ در نواری بزرگ ، ۰/۴۳ و ناچیز در نواری گلی ، و ۰/۰۴۴ و



شکل ۱- منحنی حاصل از تزریق عصاره آکالوئیدی برگ نواری بزرگ در HPLC
در حضور (راست) و یا غیاب (چپ) پنج استاندارد: آجمالین، وین کامین،
وین کریستین، آجمالیسین و وین بلاستین.

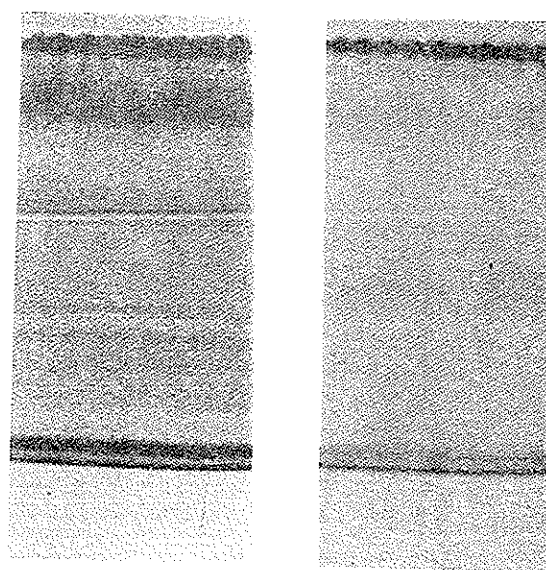


شکل ۲- باندهای حاصل از TLC عصاره آکالوئیدی برگ نواری بزرگ در UV254
(سمت چپ)، بامعرف در اژندورف (وسط) و بامعرف سربیک آمونیوم
سولفات (سمت راست).



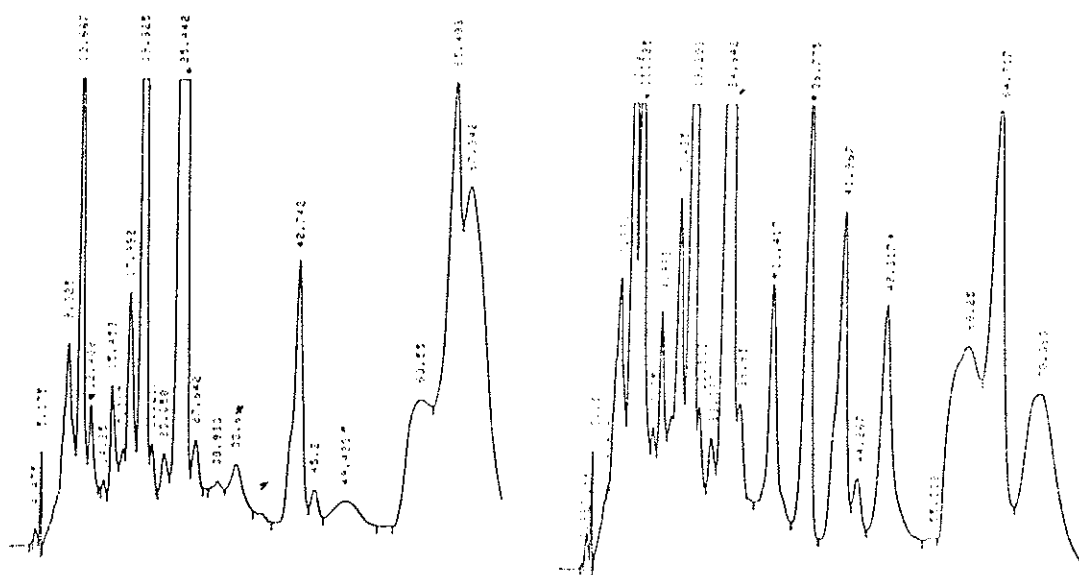
شکل ۳- منحنی حاصل از تزریق عصاره آکالوئیدی برگ نواری کوچک در HPLC

در حضور (پایین) ویایغاب (بالا) پنج استاندارد: آجمالین ،
وین کامین ، وین کریستین ، آجمالیسین و وین بلاستین .

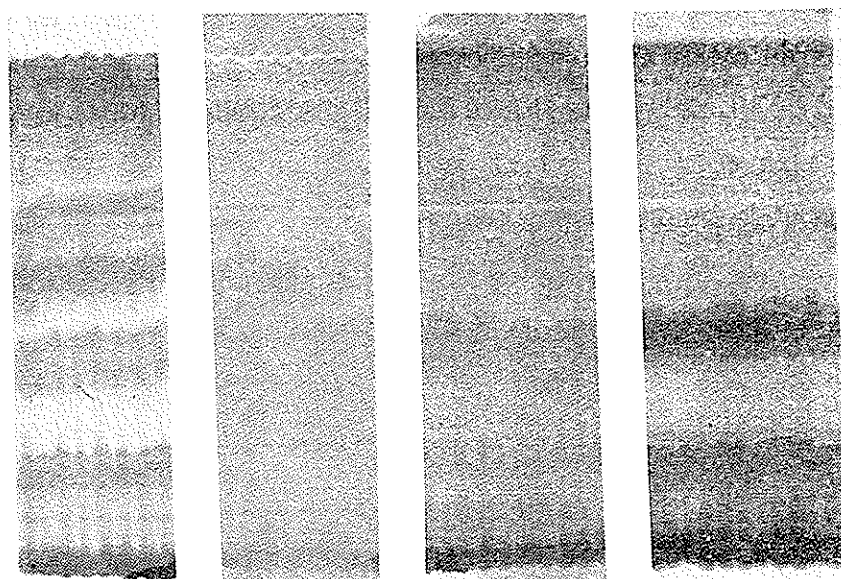


شکل ۴- باندهای حاصل از عصاره آکالوئیدی برگ نواری کوچک در UV254

(سمت چپ) وبامعرف سربیک آمونیوم سولفات (سمت راست) .



شکل ۵- منحنی حاصل از تزریق عصاره آکالوئیدی برگ نواری علفی در HPLC
در حضور (راست) و یا غیاب (چپ) پنج استاندارد: آجمالین، وین کامین،
وین کریستین، آجمالین و وین بلاستین.



شکل ۶- باندهای حاصل از TLC عصاره آکالوئیدی برگ نواری علفی در UV254
(چپ)، UV366، (وسط)، بامعرف درازندورف (وسط)، و بامعرف سربیک آمونیوم
سولفات (راست).

- مقدار کل آکالوئید در دانه راست نواری گلی ۵/۰ گرم در هر گرم ماده تر (Balsevich et al., 1986) گزارش شده مقدار آکالوئیدهای دیمیری نظیر وین کریستین و وین بلاستین ، ۳/۰۰۰ میلی گرم در هر گرم ماده تر، و مقدار آکالوئیدهای مونومیری نظیر آجمالیسین (راوباسین) و سرپانتین ، ۳/۰-۱ میلی گرم در هر گرم ماده تر گزارش شده است (Wijesekera, 1991). در تجربیات ما، مقدار آجمالیسین و سرپانتین کمتر از حد مذکور بوده (حداکثر ۱۴۱/۰ در برگ جوان نواری گلی برای آجمالیسین و حداکثر ۱۹۲/۰ در برگ جوان نواری گلی برای سرپانتین)، مقدار وین کریستین و وین بلاستین بیش از حد مذکور می باشد (۵/۰۰۵، ۷/۰۰۰ و ۸/۰۰۰ برای وین کریستین به ترتیب در برگ جوان ، برگ مسن و ریشه و ۲۶/۰، ۳۰/۰ و ۲۲/۰ برای وین بلاستین به ترتیب در برگ جوان ، برگ مسن و ریشه).

سه آکالوئید X_1, X_2, X_3 در نواری بزرگ، ۱/۴۹ و ۲۴/۰ برای چهار آکالوئید X_4, X_5, X_8, X_9 در نواری کوچک ، و ۴۱ و ۹۷۹/۱ برای شش آکالوئید $X_1, X_2, X_4, X_6, X_7, X_9$ در نواری علفی. در نواری گلی ، آکالوئیدهای شناخته نشده درصد بالایی ندارند.

- در نواری گلی ، مجموعه وین دولین ، کاتارانتین ، سرپانتین و آجمالیسین (آکالوئیدهای مونومیری)، برخلاف انتظار (Wijesekera, 1991) ، در ریشه (۲۷/۱) بیشتر از برگ مسن (۹۳۶/۰) و برگ جوان (۷۱۵/۰) بوده مجموعه وین بلاستین و وین کریستین (آکالوئیدهای دیمیری) در ریشه (۲۲۸/۰) بیشتر از برگ جوان (۳۱/۰) و برگ مسن (۱/۰) است. از آنجاییکه سنتز وین دولین در برگ انجام میگیرد (Brisson et al., 1992) و وجود آن برای سنتز آکالوئیدهای دیمیری لازم است میتوان نتیجه گیری کرد که آکالوئیدهای گروه اخیر پس از سنتز در اندامهای هوایی به ریشه انتقال می یابند.

References

1. Baerhim-suendsen,A.; Verporte,R.1983. Chromatography of Alkaloids, part A., TLC, published by Elsevier, Amsterdam.
2. Balsevich,J.; Detuca, V.; Kurz, W.G.W. 1986. Heterocycles, 24,2415-2421.
3. Brisson, L.;Charest, P.M.;Deluca, V.;Ibrahim,K.1992 .Phytochemistry ,Vol.31 , No 2,PP.465-470.
4. Deluca, V.; Balsevich, J.;Tyler, R.T.; Eilert, U.; Panchuk, B.D.;Kurz, W.G.W. 1986. J. Plant physiol. Vol. 125,PP.147-156.
5. De Semt, M.; Van Belle, S.J.P;Storme, G.A.; Massart, D.L.1985.J. Chromatogr.,345,309-321.
6. Dixon, R.A. 1987.Plant Cell Culture, practical approach, IRL press, Oxford, Washington DC., 127-167.
7. Gibbs R.D.1974. Chempotaxonomy of Flowering Plants. Vol.1,P.186. Mc Gill, Queens University prss. Montreal and London.
8. Mangeney, P; Andriamialisia, R.Z.; Langlosis, N.; Langlosis, Y.; Portier, P. 1979.101 (B),2243, French patent 78,34599.
9. Morris, P.;Scragg,A.H.; Smart, N.J.;Stafford, A.A.1987. Secondary Product Formation by Cell Suspension Cultures. In:Plant cell culture, practical approach, Edited by Dixon, R.A.
- 10.Mukhopadhyay, G.;Mukherjee, B.; Parta, A.; Chatterjee, A.; Ghosh, R.;Roychowdhury, P.;Kawazura, H.1991.Phytochemistry,Vol.30, No.7, PP.2447-2449.
- 11.Proksa, B.; Uhrin, D.; Grossmann,E.;Voticky, Z.1987.Planta Medica, Vol. 53,No.1,120.
- 12.Proksa, B.;Uhrin, D.;Grossmann, E.;Vloticky, Z.;Fuska, J.1988. Planta Medica, Vol,54,No.3,214-218.
13. Proksa, B.;Uhrin, D.; Grossmann, E.;Voticky, Z.1989.Planta Medica, Vol. 55,No. 2,188-190.
14. Renaudin, J.P.1984. Journal of Chromatography, 291-165-174.
15. Vickery, M.L. 1981.Secondany Plant Metabolism, Mac Millan press Ltd., 255-289.

16. Wijesekera, R.O.B. 1991. Some Current Trends in Medicinal plant Research, The Medecinal Plant Industry, PP. 52-53, CRC press, Boca Raton, Ann Arbor; Boston, London.
17. Zenk, M.H.; El-Shagi, H.; Aren, H.; Stockigt, J; Weiler, E.W; Deus, B. 1977. in: Plant Tissue Culture and Its Bio-Technological Application (Barz W., Reinhard E., Zenk M.H. eds). P. 27-43, Springer Berlin, Heidelberg.

Title : Comparison of Indole-alkaloids in Vinca major L, V. minor L. and Vinca herbacea L.

Author : Hassan Ebrahimzadeh⁺, Azra Ataei⁺, Mohammad - Reza Noori-Daloii^{*}

Address: ⁺Department of Biology, Faculty of Sciences, Tehran University

^{*}Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences

Abstract

Eleven main alkaloids was observed in the leaf of Vinca major, of these, eight is determined: Ajmaline, Vindoline, Catharantine, Serpentine, Vincamine, Vincristine, Ajmalicine and Vinblastine. The known main alkaloids formed totally 41.5% and the unknown main alkaloids about 50.6% of the total alkaloid. The amount of the total alkaloid was 2.3 mg per gr of the fresh weight. Vincamine which was not present in V. rosea, was seen in V. major (8.2%).

Furthermore, Vindoline, Catharantine and Serpentine had a lesser amount in V.major, in comparison with V.rosea, respectively 3.7%, 18.1% and 6.3%.

The mentioned eight known alkaloids and nine unknown alkaloids was observed in the leaf of V.minor. The known main alkaloids formed totally 37.1% and the unknown main alkaloids about 56.4% of the total alkaloids. The amount of the total alkaloid was 0.5 mg per gr of the fresh weight. All of alkaloids had a lesser amount in V.major, in comparison with alkaloids of similar to itself. Vincamine had the most percent (16.1%) and Vindoline (6.6%) and Serpentine (7.8%) were set after it.

It was observed, in addition to mentioned eight known alkaloids, eight unknown alkaloids in the leaf of V. herbacea. The known main alkaloids formed totally 52.5% and the unknown main alkaloids about 41.5% of the total alkaloid.

The amount of the total alkaloid was 4.7 mg per gr of the fresh weight of the leaf. This amount is more than the amount which was observed in V.rosea (0.75), V.major (2.3), and V.minor (0.5). Vincamine had a high percent (39.8) and Serpentine a low percent (8.7).

In short, V. herbacea is a good source for Vincamine and Serpentine, specially the last compound which easily is changed into Ajmalicine. V. rosea and V.major are a good source for Vindoline and Catharantine that can be used for providing Vinblastine and Vincristine.