التأثير السمي الخلوي للمستخلص الأثيلي الخام لأوراق نبات المعدنوس في خط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري AMN-3.

د.عباس عبد الله محمد*، د.شلال مراد حسين** و أفنان أسماعيل عبدالوهاب *

تاريخ التسلم:2011/4/12
تاريخ القبول:2011/7/21

الخلاصة

تم التحري عن التأثير السمي الخلوي للمستخلص الاثيلي الخام لأوراق نبات المعدنوس في خط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3)، أذ تم أخذ تراكيز مختلفة من المستخلص 0.95)
.،1.9،3.8،
7،15.5،31.25،62.5،125،250،500،1000،2000،4000،6000،8000،10000،12000، 14000،16000) مكغم/مل، فلوحظ عدم وجود تثبيط عند التراكيز (0.95 ,1.9,3.8,7.7,15.5,31.25,62.5 ،125) مكغم/مل اما التراكيز(1000,500,250) مكغم/مل فكانت نسبة تثبيط نمو خلايا الخطوط الثلاث عندها اقل من 50 % وعند التركيزين (4000,2000) مكغم/مل فكانت نسب التثبيط (63%,66%) على التوالي اما التراكيز (16000,14000,12000,10000,8000,6000) مكغم/مل فكانت نسبة تثبيط نمو الخلايا عندها عالية تجاوزت 70% لذلك تم اعتماد هذه التراكيز والأخذ بها واختبار فعاليتها في القتل لفترات تعرض مختلفة هي 72,48,24 ساعة . توصلت الدراسة إلى وجود تأثير سمي قاتل للمستخلص الكحولي للنبات عند التراكيز الست المعتمدة أذ تراوحت نسب التثبيط للخط الخلوي السرطاني بين 71.97% عند التركيز6000 مكغم/مل إلى 78.20% عند التركيز 16000 مكغم/مل ولفترة تعرض 24 ساعة وتراوحت نسبة القتل من 74.04%عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 80.96% عند التركيز 16000 مكغم/مل عند فترة تعرض48 ساعة وكانت نسبة القتل من 75.08% عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 82.69%.عند التركيز 16000 مكغم/مل عند فترة تعرض 72 ساعة .

تم الحصول على هذه النتائج التي يمكن الاستنتاج بان نبات المعدنوس يعد من أهم النباتات الطبية الواعدة ذات الدور الفعال في معالجة السرطان من خلال تأثيره التثبيطي والسمي القاتل للخلايا في الخلايا السرطانية .

The Cytotoxicity Effect of Ethanolic Crude Extract of Petroselium Crispum Leaves on Cancer Cell Line AMN-3

Abstract

This study aimed to investigate the effects of ethanolic crude extract of *Petroselium cripum* leaves on the proliferation of the cancer cell lines AMN-3.

The cytotoxicity of cancer cell line of concentrations of (0.95, 1.9,3.8,7.7,15.5,31.25,62.5,125,250,500,1000,2000, 4000, 6000, 8000, 10000, 12000, 14000 and 16000) µg/ml showed there was no inhibition observable in concentration (o.95, 1.9, 3.8, 7.7, 15.5, 31.25, 62.5 and125) µg/ml. While at concentration of 250,500 and 1000 mg/ml the inhibition percentage was less than 50%.But at concentration of 2000 and 4000µg/ml the inhibition percentage was(63%,66%) respectively , while after 48hrs the concentration of

*قسم العلوم التطبيقية، الجامعة التكنولوجية/بغداد
**المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية ، الجامعة المستنصرية/بغداد

https://doi.org/10.30684/etj.29.13.19
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

(6000,8000,10000,12000,14000 and16000)µg/ml the inhibition percentage was more than70% .This study was found that the alcoholic extract has toxic effect on cancer cell line . AMN-3 cell line the inhibition percentage was71.97% and78.20% at concentration of 6000µg/ml and 16000µg/ml after 24hrs; while after 48hrs the percentage was 74.04% and 80.96% respectively,but after 72hrs the percentage was 75.08% and82.69% respectively.From this result we can concluded that this plant have a promosing medicinal plant for effect on cancer,through out the toxic effects on cancer cell line.

Keywords: Effect extracted of Petroselium crispum on cancer cell line AMN-3.

المقدمة

درس العلماء بصورة مستفيضة في اقطار مختلفة من العالم العديد من المستخلصات النباتية لتوضيح المكونات الكيميائية المؤثرة وراثيا، وتعد الدراسات المتعلقة بهذا الموضوع ذات طابع مهم في جوانب المعرفة العلمية والتطبيقية،أذ برزت في الآونة الاخيرة دراسات متخصصة بالنباتات الطبية بعد كشف النقاب عن مكانتها في الطب الحديث فأولت منظمة الصحة العالمية (WHO) أهمية كبيرة في توسيع استعمال الأدوية من المصادر النباتية بدلا من الادوية المصنعة كيميائيا[1] فكانت الدراسات التي قام بها العديد من الباحثين في المراكز البحثية والمتاحف المتخصصة،كشفت النقاب عن الأهمية الكبيرة لبعض المستخلصات النباتية واعطت للمهتمين فرصاً تم من خلالها التعرف على الكثير من التراكيب الكيميائية ذات الفعالية الطبية،فعلى سبيل المثال لا الحصر لوحظ للعديد من المستخلصات النباتية تأثير مضاد لبعض السرطانات لاحتوائها على مركبات تؤثر في آليات الانقسام الخلوي من خلال تأثيرها في تضاعف الحامض النووي الـ DNA اوأحد الانزيمات المهمة في التضاعف والتي تمنع تكوين الأنبيبات الدقيقة لخيوط مغزل انقسام الخلية كمادة الكولجيسين Colchicine المستخلصة من نبات *Colchicum cwtumnale* اذ تمنع بلمرة بروتين tubulin مما تؤدي الى توقف الكروموسومات في الطور الاستوائي وبالتالي تمنع أتمام عملية الأنقسام الخلوي [2]. كذلك الحال مع مادة Benzo phenanthridin وهي من القلويدات التي

تعمل على تثبيط الأنقسامات المتعددة لبعض انواع خلايا الخطوط السرطانية للانسان والمقاومة للعقاقيرالطبية ودفعها الى الموت المبرمج Apoptosis[3] .لذا عدت بعض المستخلصات النباتية الطبية كمضادات التسرطن Anti-carcinogens والسرطان Anti-cancer[4].

تزايدت اهمية النباتات الطبية عندما اتضح دورها في حماية المادة الوراثية من تأثير المطفرات البيئية وقابلية مكوناتها على تصحيح الآخطاء الوراثية التي تحدثها هذه الطفرات[5] . ونظرا الى ما تقدم اختير نبات المعدنوس *Petroselinum crispum* وهو نبات عشبي ثنائي الحول لهذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل

وزن 100 غم من مسحوق اورق النبات على دفعتين كل دفعة 50 غم ،ووضعت كل دفعة داخل كشتبان Thumble ووضعت في جهاز ساكسوليت Soxhlet حاوٍ ايضاً على 300 مل من الكحول الاثيلي (80%) مدة 4-5 ساعات لغرض الاستخلاص.بعد ذلك أخذ المستخلص الكحولي لاوراق النبات ووضع

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

داخل الحاضنة Incubater تحت درجة 37مْحتى أكتمال جفافها من الكحول.

الخط الخلوي السرطاني (AMN-3) Ahmed- Mohammed- Nahi-2003 تم استعمال هذا الخط عند التمريره رقم (177) وهو سرطان الغده اللبنية Mammary adenocarcinoma لاناث فئران نوع Balb/c المصابة بسرطان الغدة اللبنية التلقائي (*In vivo* spontaneous mammary adenocarcinoma) تم استحداث هذا الخط في وسط RPMI-1640 (BDH\England) مجهز بـــ 10% من مصل العجل البقري، وعند تكون الطبقة الاحادية الكاملة (Confluent monolayer) عوملت الخلايا بمحلول التربسين-فرسين لتقسيمها على مزرعة ثانوية اخرى.

تحضيرالوسط الزرعي للخط الخلوي السرطاني Preparation of medium of cancer cell line

تمت تهية الوسط الزرعي وفقاً [6] بخلط مكوناته مع بعضها البعض لتحضير1 لتر منه، ومن ثم عقمت بأستعمال مرشح ذي ثقوب 0.22 مايكرون، ثم وزع الوسط الزرعي في قناني زجاجية ذات غطاء محكم سعة 200 مل وحفظت في القنان بدرجة حرارة –20مْ الى حين الأستعمال.

تم الحصول على الخطوط السرطانية من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/ الجامعة المستنصرية.

حيث تم أجراء الخطوات الخاصة بالزرع النسيجي تحت ظروف معقمة كالأتي:

1. أضيف2 مل من محلول التربسين/ فرنسين الى قنينة الزرع النسيجي بحجم 25سم^3 الحاوية على الخلايا بعد تفريقها من الوسط الزرعي القديم ثم حركت القنينة برفق وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ مدة 15 دقيقة لتفكيك الخلايا الملتصقة وكذلك خلخلة التصاقها بجدار القنينة للحصول قدر الأمكان على خلايا أحادية مفردة.
2. أضيفت الى القنينة الحاوية على الخلايا المتفككة ما يقارب15 مل من وسط نمو جديد (RPMI-1640) وتم تحريك القنينة جيداً وبعدها أفرغت محتويات القنينة الحاوية على الوسط الزرعي الجديد مع الخلايا الى قنينة أخرى جديدة بحيث يكون مستوى الوسط الزرعي مع الخلايا متساو بين القنينتين أي كل قنينة وضع فيها نفس الحجم تقريباً من الوسط الزرعي مع الخلايا وتسمى هذه العملية بالمزرعة الثانوية (Subculture) .
3. حضنت القناني بدرجة حرارة 37مْ مدة خمسة أيام (الطبيعة الوغارتمية لنمو الخلايا) (فريق عمل المركز العراقي لأبحاث السرطان والوراثة الطبية)، بعد أن كتب عليها معلومات كاملة عن نوع الخلايا ونوع التمريرة الجديدة (New passage) وتم أجراء المزرعة الثانوية، وتمت متابعة القناني يوميا للتأكد من خلوها من أي تلوث وأن الخلايا بحالة جيدة وذلك بفحصها بواسطة المجهر المقلوب Inverted (Olympus\Japan)microscope وعندما يصبح النمو داخل القنينة جيداً فأن الخلايا تكون جاهزة للأستعمال.

أختبار سمية المستخلصات الخام لنبات المعدنوس على تكاثر الخط السرطاني

أذيب 0.1غم من المستخلص الايثانولي الخام للاوراق النباتية في 10 مل من المذيب [9 مل PBS+1 مل Dimethyl sulfoxid (DMSO)], ثم عقم المستخلصان بأستعمال مرشح ذي ثقوب 0.22 مايكرون وحضرت منه ستة تراكيز هي (16000, 14000, 12000, 10000, 8000, 6000) مكغم/مل، وتحت ظروف معقمة، أستعملت جميع التراكيز المحضرة

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

مباشرة بعد إكمال عملية التحضيروحسب الخطوات التالية.

أ- جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة الزرع النسيجي حجم 25 سم^3 بمحلول التربسين/فرسين بعد تفريغ الوسط الزرعي القديم وتحريك القنينة برفق، ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة37مْ مدة15 دقيقة، ثم أضيف له 20 مل وسط النمو، أستعمل وسط النمو (RPMI 1640) ثم تم مزج عالق الخلايا جيداً وتم نقل 0.2 مل بعد كل مزجة جديدة الى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذي القعر المسطح Microtiter plate for tissue culture بأستعمال ماصة أوتوماتيكية دقيقة.

ب- ترك الطبق في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة الى حين التصاق الخلايا في الحفرة، بعدها تم التخلص من الوسط الزرعي القديم في الحفرة وتم أضافة 0.2 مل من التراكيز المحضرة سابقا في كل حفرة وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز. تم عمل ثلاث مكررات للسيطرة (خلايا فقط) مضاف لها وسط زرعي خالٍ من المصل Free media.

ج- بعد مرور 24 ساعة أخرج الطبق من الحاضنة وأضيف إليه محلول صبغة البنفسج البلوري لجميع الحفر الحاوية على الخلايا بمقدار0.2 مل لكل حفرة وكررت الخطوة نفسها بعد فترة حضن 48 و72ساعة.

د- أعيد الطبق مرة ثانية الى الحاضنة ليحضن مدة نصف ساعة، وبعدها أخرج الطبق وأزيلت محتوياته وغسلت الخلايا بمحلول (PBS) الى حين زوال الصبغة الزائدة أذ أن الخلايا الحية تأخذ الصبغة أما الميتة فلا تأخذها.

ه- قرأت النتائج بأستعمال ELISA بطول موجي492 نانومتر.

و- تم حساب نسبة التثبيط لكل تركيز.

التحليل الأحصائي

حللت النتائج أحصائياً باتباع التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) ولمعرفة فيما أذا كانت الفروقات معنوية بين المعاملات، أستعمل أختبار دنكن متعدد الحدود (Duncun multiple test) من خلال البرنامج الأحصائي الجاهز SPSS[7].

النتائج والمناقشة

التأثير السمي للمستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس في نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني

تم اختبار قدرة المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس على تثبيط نمو الخلايا السرطانية خارج جسم الكائن الحي وقد عوملت هذه الخلايا بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي بدءا من التركيز 0.095 مكغم/مل الى التركيز 16000 مكغم/مل وقد تم اعتماد التراكيز الست الاعلى من 8000 مكغم/مل الى 16000 مكغم/مل لنسبة القتل العالية التي امتازت بها واهملت التراكيز القليلة وذلك لقابليتها الواطئة على القتل حيث تميزت التراكيز (من 0.095 الى 62.5) مكغم/مل بانعدام قابليتها على التثبيط اما التراكيز (من 125الى 1000) مكغم/مل فكانت لها نسب تثبيطية واطئة اقل من50% اما التركيزين (4000,2000) مكغم/مل فكانت نسبة القتل 66.3%,63.1% على التوالي لذلك ارتئينا اخذ التراكيز الاعلى من ذلك والتي كانت تمتاز بنسب قتل من 70% فما فوق لفعاليتها في القضاء على نسبه اكبر من الخلايا السرطانية ولثلاث اوقات هي 72,48,24 ساعة واعتمد اختبار السمية الخلوية Cytotoxicity assay لتقويم تأثير تراكيز المستخلص في نمو الخلايا بدلالة النسبة المئوية لمعدل التثبيط IR%، والذي يستخرج من المعادلة الاتية :

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

$$\%IR = \frac{A-B}{A} \times 100$$

حيث A تعني Control ، B تعني Test.

الخط الخلوي السرطاني AMN-3

عند معاملة الخط الخلوي السرطاني AMN-3 عند التمريرة(177) بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس ولفترة تعرض72,48,24ساعه اشارت النتائج الى وجود تثبيط في تكاثر الخلايا عند التراكيز الست المأخوذة ويزداد هذا التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض.

يبين الجدول (1) ان لهذا المستخلص تأثير تثبيطي في نمو الخط الخلوي السرطاني AMN-3 وللتراكيز الست المأخوذة وبفروق معنوية كبيرة عن مجموعة السيطرة حيث بلغت اعلى نسبة لتثبيط نمو الخلايا عند التركيز16000مكغم/مل وكانت نسبة التثبيط عند هذا التركيز78.20% لفترة تعرض24ساعة وبلغت نسبة التثبيط 80.96% عند فترة التعرض48 ساعة ووصلت نسبة التثبيط الى 82.69% عند فترة التعرض 72ساعة، وكما هو ملاحظ في الجدول (1) فأن نسبة التثبيط تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض حيث بلغت اعلى نسبة للتثبيط عند التركيز16000مكغم/مل وفترة تعرض72ساعة وان الشكل (1) يوضح نسبة التثبيط الكبيرة لخلاياالخط السرطاني AMN-3 وقلة عددها عند هذا التركيز مقارنة وفترة التعرض بخلايا الخط غير المعاملة بالمستخلص.

ورغم الزيادة الحاصلة في نسب التثبيط بين التراكيز المعتمدة فأنها تعد غير معنوية احصائياً عند مستوى المعنوية ($P<0.05$) ولكن هذا لاينفي وجود هذه الزيادة في نسب التثبيط ولكنها بفروق قليلة غير معنوية. ان معامل الارتباط ذو قيمة عالية وهذا يعني وجود علاقة طردية قوية بين التراكيز ونسب التثبيط ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة وان اعلى قيمة لمعامل الارتباط كانت عند فترة تعرض 48 ساعة اذ وصلت الى 0.971+ ثم تلتها عند فترة تعرض 72 ساعة حيث بلغت 0.943+ ثم عند فترة تعرض 24 ساعة حيث كانت 0.853+. ان قيم معامل الارتباط تعطي الدليل القاطع على ان التراكيز الست المأخوذة للمستخلص النباتي ذات قيمة تثبيطية عالية لخلايا الخط الخلوي AMN-3 يتبين لنا القدرة التثبيطية العالية للمستخلص الكحولي لنبات المعدنوس وقابليته الكبيرة على تثبيط الخط السرطاني المأخوذة وبنسب تثبيط عالية خاصة عند التراكيز الست المأخوذة للمستخلص النباتي.

ان النتائج التي توصلنا اليها في هذه الدراسة دعمت بما توصل اليه العديد من الباحثين حول ما تمتلكه المستخلصات النباتية من فعالية مضادة للخلايا السرطانية وان هذه الفعالية تعتمد بشكل اساس على التركيز المستعمل وفترة التعرض كما تعتمد على نوع المستخلص والمركبات الفعالة فيه ومدى حساسية الخلايا السرطانية لكل ذلك.وان النتائج التي تحصلنا عليها والتي اثبتت تأثير المستخلص الكحولي لنبات المعدنوس وقدرته على التثبيط العالي لنمو الخلايا السرطانية AMN-3 والتي امتازت بزيادة نسبة التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض حتى وان كانت بين التراكيز والفترات وهذا ما اشار له العديد من الباحثون في دراساتهم ومن هذه الدراسات ما قام به[8] على عشب السعد *Cyperus rotundusl* والذي اختبر قابليتة على تثبيط الخطوط الخلوية السرطانية AMN-3,RD,Hep-2 اذ استخدم ثلاث انواع من المستخلصات للنبات هي الهكساني والمائي والايثانولي وبثمان تراكيز مختلفة ولثلاث فترات تعرض72,48,24 ساعة وبشكل عام كانت النتائج تمتاز بزيادة نسبة التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض مع وجود اختلافات في نسب التعرض بأختلاف التراكيز والمستخلصات المستخدمة كذلك هذا ما لاحظناه في دراسة[9] اذ قامت الباحثة

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

بأستخدام ثلاث انواع من المستخلصات النباتيه لنبات الكلغان *Silybum marianuml* وكانت المستخلصات (المائي الخام، الايثانولي الخام، الزيتي الخام) واستخدمت تراكيز مختلفة للمستخلص ودرست تأثيرها في الخطوط السرطانيه RD,AMN-3,Hep-2 والخط الطبيعي REF ولاحظت الباحثة ان نسبة التثبيط للخلايا السرطانية للخطوط الخلوية الثلاث RD,AMN-3,Hep-2 تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض اما بالنسبة للخط الخلوي الطبيعي REF فأن النتائج لم تعطي نسب قتل معنوية مع مجموعة السيطرة والفروق قليلة وغير مهمة احصائيا. وقد وجدت[10] في دراستها على قشور نبات الرمان ان هناك نسب تثبيط لنمو الخلايا السرطانية للخطين الخلويين السرطانيين Hep-2,AMN-3 وان هذه النسب تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض حتى بلغت اعلى نسبة لتثبيط خلايا الخطين عند اعلى تركيز وهو700مكغم/مل ولفترة تعرض 72ساعة وكانت النسبة (59.27%) للخط AMN-3 و(56.64%) للخط Hep-2 بينما في الخط الخلوي الطبيعي REF كانت نسب التثبيط عند التركيز 700مكغم/مل وبفترة تعرض 72ساعة هي(23%) والتي تعد قليلة بالنسبة لتثبيط الخلايا . كما لاحظت[11] امتلاك مستخلصات نبات الصفصاف فعالية تثبيط لسرطان الحنجرة البشري Hep-2 والـــ AMN-3 ودراسة [10] عن تأثير اوراق المديد على الخطين الخلويين الـــ Hep-2 والـــ AMN-3 والخط الخلوي الطبيعي REF ودراسة[12] في دراسة تأثير المستخلصات النباتية لنبات التمر الزهدي لنمو سرطان Hep-2 والـــAMN-3.وقد تعزى قدرة النباتات المختلفة على تثبيط مختلف الخطوط السرطانية الى وجود المركبات الكيميائية الزيتية الموجودة في تلك النباتات.حيث ان النباتات والاعشاب الطبية تمتلك العديد من المركبات ذات الفعاليات المختلفة ومن هذه الفعاليات هي الفعالية السمية المثبطة للخلايا السرطانية داخل جسم الكائن الحي او خارجه وان لهذه المركبات عدة اليات من شأنها ان تؤدي الى تثبيط قدرة الخلية السرطانية والحد من نموها وانتشارها وقتلها[13].

ان نبات المعدنوس احد تلك النباتات الطبيعية التي تمتلك العديد من هذه المركبات الفعالة والمؤثرة في القتل وتثبيط الخلايا السرطانية ومن هذه المركبات القلويدات اذ ان لهذه المركبات اهمية في تثبيط نمو الخلايا السرطانية وهذا ما نلاحظة في القلويد Isostry chnopentamino الموجود في الشجرة الافريقية *Strychnos usambar ensis* اذ انه يحدث عملية الموت المبرمج للخطوط الخلوية لسرطان القولون Hct-116 [14] .كما ان لقلويد Homohar ringtonine المعزول من جذور نبات *Cephalotauns herringtona* له دور في تثبيط الخلايا السرطانية من خلال تثبيط صنع البروتين والـــ DNA [15] .كما ان نبات المعدنوس يحتوي على الفينولات المتعددة Polyphenols والتي تحتوي على مركبات الفلافونات Flavonoids التي تعمل بوصفها مركبات ضد عملية الاكسدة Antioxidant في تأثيرها على الخلايا السرطانية[16] وهذا ما اشار اليه[8] حيث نصت على ان المركبات الفينولية المتعددة ومن ضمنها الفلافونويد الموجود في عشب السعد لها دور كبير بأعتبارها عوامل مضادة للاكسدة في فعاليتها التثبيطية للخطوط السرطانية (RD,AMN-3,Hep-2) معتمدا في ذلك على التراكيز ونوع المستخلص، كما ان لهذه المركبات القدرة على احداث التأثير السمي على سرطان البروستات Vascular Endothelial Growth factor(VEGF) والذي يكون مسؤول عن تكوين الاوعية الدموية الجديدة(Angiogensis) مما يعطي هذه المركبات دور اساسي في تثبيط وقتل

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الخلايا السرطانية، كما بين[17] ان لمركبات الفلافونات تأثيرا تثبيطيا على نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) وكذلك الخط الخلوي السرطاني(S-Sarcomy-L 80(L80 وذلك عن طريق ايقاف عملية تضاعف الـــدنا DNA عند مرحلة S-phase خلال دورة حياة الخلية ومن الجدير بالذكر ان اهمية هذه المركبات في عملة تثبيط الخلايا السرطانية جاءت من قدرة هذه المركبات في التأثير على الاليه السرطانية من خلال تثبيط فعالية الجين Bcl-2 [18] ونتيجة للخلل الحاصل في هذا الجين تدخل الخلية السرطانية مرحلة الموت المبرمج Apoptosis كما هو الحال في العديد من الخطوط الخلوية السرطانية لسرطان الدم البشري Human Leukemic cell Lines [19] ولكفاءة فعالية هذه المركبات فهناك العديد من الخطوط الخلوية السرطانية التي لها القدرة على تثبيطها مثل سرطان الثدي (Bc1) وسرطان القولون البشري (colo320) وسرطان الرحم البشري (CASKI) وسرطان البروستات البشري [20و21] .

كما ان للمركبات الفينولية المتعددة وخاصة تلك المضادة لعملية الاكسدة القدرة على تثبيط نمو الخلايا السرطانية والحد من انتشارها وذلك لامتلاكها القابلية في كسح Scavenger الجذور الحرة المتولده عند تحول الخلايا من الطبيعية الى خلايا سرطانية [21]. وان التربينات الموجودة في اوراق نبات المعدنوس والتي تمثل احد مركباته لها دور مؤثر والقدرة على تثبيط نمو خلايا سرطان المعدة من خلال قدرتها على خفض تصنيع الـ DNA وحث الخلايا على الموت المبرمج للخط الخلوي السرطاني Leukemia cell HL-601،وان لهذه المركبات اهمية بالغة في تثبيط والحد من انتشار خلايا الخط الخلوي السرطاني Human Myelogenous Leukemia وذلك من خلال ايقاف الدوره الخلوية عند طور G1 [22] .

وقد لوحظ ان التأنينات Tanins الموجودة في اوراق النبات لها التأثير الواضح على الخلايا السرطانيه للخط الخلوي السرطاني (HL-60) وذلك من خلال تجزئة شريط الـــ DNA وحث الخلايا لنمو الموت المبرمج [23]. وتحتوي اوراق نبات المعدنوس ايضا على الصابونيات التي لها دور فعال في تثبيط الخلايا السرطانيه وذلك من خلال ميكانيكيات متعددة وهذا ما لوحظ في نبات *Acacia victoria* حيث ان لها دور تثبيطي انتقائي في نمو الخطوط الخلويه السرطانيه بواسطة توقف دورة الخليه في سرطان الثدي عند الانسان وكذلك تحدث الموت المبرمج للخلية في الخط الخلوي لسرطان الدم [24] وهذا ما لوحظ ايضا في العشبه الصينيه *Panax gensing* حيث انها استخدمت لعلاج السرطان بسبب قدرتها على تثبيط السرطان في الحيوانات المختبرية [25].

يحتوي نبات المعدنوس ايضا على فيتامين - C - الذي يمتاز بأمتلاكة قدرة تثبيطية عالية للخلايا السرطانية من خلال فعاليتة المضادة للاكسدة Anti-oxidation اذ انه يكون ساماً للخلايا السرطانية من خلال عملية ازالة الجذور الحرة المتولدة بتكون الخلايا السرطانية[26] .من هذا كله يتوضح لنا اهمية نبات المعدنوس كنبات طبي فعال لقابليتة التثبيطية في تثبيط نمو الخلايا السرطانية اضافة الى اهميتة في معالجة امراض مختلفة اخرى.

المصادر

[1]Islam,M.W.R;Radhakrishnan, X.M.;Liu,H.B. and AL-Naji,M.A. (1994). Safety evaluation of *Zizyphus spinachristi* L.and *Teucrium stocksianum* biss.,used in traditional medicine in the

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Arabian Gulf. Planata med.71:280-283.

[2]Usui,T.;Kondoh, M.; Cui, C-B., Mayami, T. and Osada,H. (1998). Tryprostatin A, aspecific and novel inhibiton of microtubule assembly. Biochem.J.,333:543-548.

[3]ج 33 3Lopus,M.and Panda, D.(2006).The enzophena thridine alkaloid sanguinarine perturbs micro-tubule assembly dynamic through tubulin binding. A possible mechanism for its antiproliferative activity .J.FEBSIO:2139-50.

[4]Gurib-Fakim, A.(2005).Medicinal plants. Tradition of yesterday and drugs tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 65-71

[5]Manosroi, J.; Dhumtanoma, P.and Manosoi, A.(2005).Anti-prolif.erative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines.cancer letters:1-7.

[6]Freshney,R.I.(2000).Culture of animal cell:Amanual for basic technique (4th ed).Wileyliss, Ajohn wiley and Sons, Inc. Publication, New York

[7]العقيلي، صالح رشيد والشايب، محمد سامر(1998). استخدام البرنامج الاحصائي SPSS. مطبوعات الجامعه، دار الشرق للطباعه، صفحه358.

[8]الحلي، زيد عبد المنعم علي(2009).دراسة التأثير السمي والمضاد للأكسدة والمضاد لتكوين الاوعية الدموية الجديدة والحث على عملية الموت المبرمج للمستخلصات الخام والمنقاة جزئياً لعشب السعد.*Cyperus rotundus* L في مختلف الخطوط الخلوية السرطانية. اطروحة دكتوراه،معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الأحيائية-جامعة بغداد.

[9]سلمان، اسراء صكبان(2008) .تأثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغان على *Silybum marianum L.* الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية، رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات-جامعة بغداد.

[10]السعدي، اسيل ياسين كاظم(2008). تأثير المستخلص المائي الخام لقشور الرمان على خطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج والفئران، رسالة ماجستير، كلية العلوم-الجامعه المستنصرية.

[11]الموسوي، ازهار جعفر(2006). دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات الصفصاف *Salix acmophylla* في نمو الخلايا الخلويه السرطانيه والخلايا اللمفاويه الطبيعيه للانسان خارج الجسم. رسالة ماجستير، كلية التربيه-جامعة كربلاء.

[12]الجريصي، ياسر حسن زيدان.(2007) دراسة تأثير المستخلصات الخام لثمار ونوى الزهدي *Phoenix dactylifera* Cultivar Zahdi في تثبيط نمو بعض خطوط الخلايا السرطانيه في الزجاج وفي علاج سرطان الغدة اللبنيه المغروس في الفئران البيض.أطروحة دكتوراة. كلية العلوم-جامعة بغداد.

[13]Mori, T.; Ohnishi, M.; Komigama, M.; Tsutsui, A. ;Yabnshita, H. and Okada,H.(2002).Growth inhibitory effect of *Paradicsom paprika* in cancer cell lines. Oncology Reports, 9:807-810.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Ramos- Mandujano, G. and Zambrano- Ramires, I.R. (2001). Cytotoxic activity of Justica-Spicigera is inhibited by Bcl2 proto-oncoyenes and induces apoptosis in a cell cycle dependent fashion, phytothes.Res.,15:691-697.

[19]Pellechia, M.I. and Reed, J.C.(2004).Inhibition of anti-apoptosis BC1-2 family proteins by cancer chemoprevention and chemotherapy Curr.Pharm.DES.,10:1387-1398.

[20]Lopez-Lazaro, M.(2002). Flavonids as anticancer agents: structure –activity relation shaip study. Curr. Med. Chem., :691-714.

[21]Forkmann,G. and Martens, S.(2001). Metabolic engineering and applications of flavonoids, Curr.Opinion Biotech.,12:155-160.

[22]Sadeghi,H and Yazdanparst,R.(2003).Antitumor Activity and cell cycle arrest of a new Diterpene Ester from *Daphne mucronata*.C.M.A.J.168:1147-1149.

[23]Sakagami, H.(1995). Effect of tannins on cancer cell lines.Anticancer Res. 15:2121-2128.

[24]Hanausek, M.; Ganesh, P.; Walas Zek,; Arntzen, C. J.; Staga, T. J. and Gatterman, J. U.(2001). Avicins, a family triterpenoid saponins from

[14]Frederich, M.; Bentires-Alj, M.; Tits, M.; Angenot, L.; Greiners, R.; Gielen, J.; Bours, V. and Merville, M. P.(2003). Isostrychnopentamine an indolomonoter Penice alkaloid from *human Strychnos usambarensis* ,induces cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells, Journal of prarmacology and experimental therapeutics fast forward, 304(3):1103-1110.

[15]Alexandrova, R.; Varadinova, T.; Velcheva, M.; Genova, P. and Sainova, I.(2000). Cytotoxic effect of isoqyinoline alkaloids on tumor cell lines, Experimental pathology and parasitology, 4:8-14.

[16]Lopez-Lazaro, M.; Galvor, M.; Martin-Lorder, C. and Ayuso, M. J.(2001). Cytotoxicity of flavonoids on Cancer cell Line. Structure-activity relation-ship.Med.chem., 1:82-114.

[17]Elangovar,V.; Ramamrthy, N.;Balasubrama bian,S.;Sekar,N.and Govidsany (1994). Studies on the antiproliferative effect of some naturally occurring bioflavonoidal compounds against human carcinoma of larynt.Cancer Res. 46(6)1505-1508.

[18]Caceres- Cortes, J. R.; Cantu- Graza, F. A.; Mendoza- Mata, M. T.; Charez- Gonzales, M. A.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Acacia victoriae (Bentham), suppress H-ras mutations and aneuploidy in a murine skin carcinogenesis model, pro. Nat. Acdd. Sc. USA, 98:11557-11562.

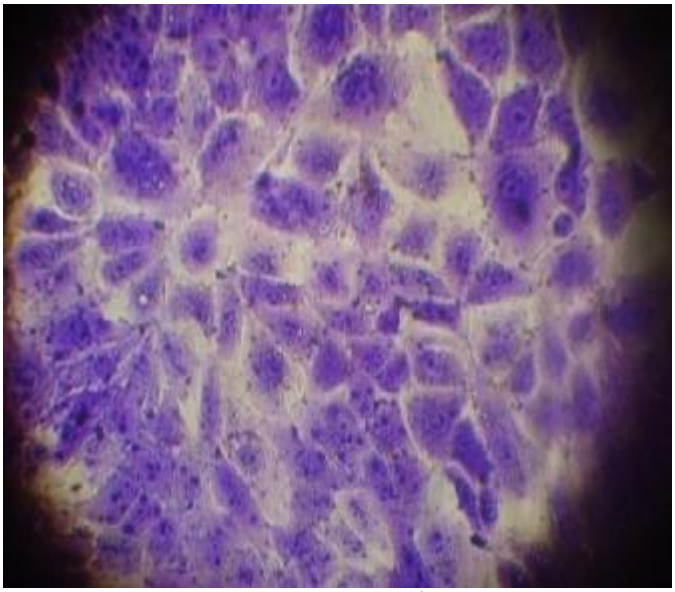
[25]Cogo, E. and Kevinlai, N. D.(2003). Should ginseng be considered for cancer prevention Z. compl. And Alter. Med. 80:153-155.

[26]Jacob, R.A. (1995). The integrated antioxidant system. Mut. Res., 15:755-766.

جدول(1):يبين تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 للخط الخلوي السرطاني AMN-3.

التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	ساعة24	ساعة48	ساعة72
6000	9.53 ± 71.97	6.33 ± 74.04	8.99 ± 75.08
8000	4.81 ± 72.66	4.51 ± 76.12	4.83 ± 77.50
10000	6.53 ± 74.74	3.34 ± 77.16	6.51 ± 78.20
12000	7.02 ± 75.77	7.10 ± 78.20	9.43 ± 80.62
14000	10.81 ± 77.50	4.26 ± 79.99	7.66 ± 81.16
16000	9.43 ± 78.20	5.54 ± 80.96	4.53 ± 82.69

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



(أ):الخط الخلوي السرطاني AMN-3 الذي يمثل السيطرة وهو يوضح خلايا الخط الكثيفة والتي تكون بشكل طبقة واحدة (×100).

(ب):الخط الخلوي السرطاني AMN-3 المعامل بالمستخص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس عند التركيز 16000مكغم/مل وعند فترة تعرض 72 ساعة ، يبين الفراغات بين الخلايا وقلة عددها (×100).

شكل(1): يوضح المقارنة بين خلايا الخط الخلوي السرطاني AMN-3 غير المعاملة بالمستخلص والخلايا المعاملة بالمستخلص عند التركيز 16000 مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعة (×100، Crystal violat)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com