دراسة القدرة التثبيطية للمستخلص المائي الخام لأوراق نبات لا لا عباس *Mirabilis jalapa* على نمو خلايا الخط السرطاني RD والخط السرطاني AMN-3 .

هيثم لطيف عبد الهادي صكر الكبيسي
كلية التربية للعلوم الصرفة- قسم علوم الحياة
Sahaar_2000@yahoo.com

الكلمات المفتاحية: لا لا عباس ، *Mirabilis jalapa* ، الخط السرطاني RD ، والخط السرطاني AMN-3، القدرة التثبيطية.

تاريخ الاستلام:٢٠٠٩/١٢/٨ تاريخ القبول:٢٠١٠/٣/١٦

المستخلص:

اجريت الدراسة للكشف عن القدرة التثبيطية للمستخلص المائي لاوراق نبات لا لا عباس *Mirabilis jalapa* على خلايا الخط السرطاني RD و الخط السرطاني AMN-3 ، وذلك بتحضير مستخلص مائي خام لاوراق نبات لا لا عباس وبواقع اربعة تراكيز هي (١٢٥، ٢٥٠، ٥٠٠، ١٠٠٠) مايكروغرام / مليلتر ، وتعريض خلايا الخطوط السرطانية اعلاه لهذه التراكيز وعلى ثلاث فترات من التعريض هي (٢٤، ٤٨، ٧٢) ساعة.

اوجدت الدراسة وجود تأثير تثبيطي وبصورة معنوية ($P<0.001$) للمستخلص في قتل خلايا كلا الخطين السرطانيين قيد الدراسة ولجميع التراكيز مقارنة مع مجموعة السيطرة ، حيث لوحظ ان التأثير التثبيطي قد بدأ من التراكيز الواطئة وازدادت شدة التثبيط بزيادة التركيز ، كما لوحظ ان اعداد الخلايا السرطانية المقتولة تزداد معنوياً مع زيادة كل من تركيز المستخلص والفترة الزمنية للتعريض مقارنة مع مجموعة السيطرة ، الا ان افضل فترة تعريض كانت (٧٢) ساعة ولكلا الخطين السرطانيين ، كما وجد هناك علاقة خطية عكسية بين التركيز واعداد الخلايا النامية خلال فترتي التعريض (٢٤ ، ٤٨) ساعة ، أي ان زيادة التركيز تعمل على انخفاض اعداد الخلايا ، في حين اصبحت هذه العلاقة غير خطية عند فترة التعريض (٧٢) ساعة .

STUDY THE INHIBITION ACTIVITY OF THE CRUDE HYDRO EXTRACT OF *MIRABILIS JALAPA* ON CELL LINE RD AND AMN-3

Haythem L. Al-Kubaisy
University of Anbar – College of Education for Pure Science

Key words: Lala Abas, *Mirabilis jalapa,* Rd & AMN-3 Cancer lines, Inhibition Activity.

Received:8/12/2009 **Accepted:16/3/2010**

Abstract

This study was conducted to figure on the inhibitory ability of the Aqueous "Four O'clock plant"(F.O.P), ***Mirabilis jalapa*** leaf extract on the RD and AMN-3 cancer lines.

A crude aqueous F. O. P. leaf extract has been prepaired with four concentrations, 125, 250, 500 and 1000 Mg/ml to be exposed on the RD and AMN-3 cancer lines with exposure periods 24 , 48 and 72 hrs. This study has revealed the existence of an inhibitory effect of the extract ($P<0.001$) on killing the cells of both cancer lines for all concentrations as compared to control.

The inhibitory effect has increased as concentration has increased. The killed cancer cells have increased significantly as concentration and time of exposure have increased as compared to control. The optimum exposure time was after 72 hrs in both cancer lines. There was an inversal linear relation ship between concentration and cell growth after the exposure periods 24 and 48 hrs; whereas, a non-linear relation ship was found between concentrans and cell growth after 72 hrs.

تم التوصل في السنوات القليلة الماضية أن هناك أسبابا للاعتقاد بأن مفتاح الأدوية في السنوات القادمة سيكون من خلال الطبيعة فهناك الآلاف من النباتات والأعشاب المشخصة لاستخدامها في أغراض طبية لاحتوائها على مختلف المواد الكيميائية ذات الفعالية البيولوجية التي تعرف بمركبات الايض الثانوي Secondary Metabolites ، توجد هذه المركبات في النباتات والأعشاب نتيجة الفعاليات الايضية للخلية .

لمركبات الايض الثانوي دوراً مهماً بوصفها مواداً فعالة طبياً وفسلجياً ويمكن استخدامها في العلاج من قبل الإنسان ضد مختلف أنواع الأمراض لا سيما بعد التأكد من أنها أمينة الاستخدام.. (Surh, 2003) .

لكون السرطان من المشاكل الصحية الرئيسية التي تواجه العالم والتي تفتك بحياة الآلاف من الأرواح ، ومن اجل خواص وأهمية مركبات الايض الثانوي الموجودة في النباتات والأعشاب الطبية وضعت البرامج والاستراتجيات لأجراء عمليات مسح أولي Primary Screening لفعالية المركبات الموجودة في النباتات والأعشاب الطبية ضد الخلايا السرطانية عن طريق تحضير مستخلصات خام لتلك النباتات والأعشاب ، وعند ملاحظة تأثير تثبيطي أو سمي لتلك المستخلصات ضد الخلايا السرطانية تتم عندها دراسة المركبات بشكل مفصل ودقيق .

يعد نبات لا لا عباس من النباتات الطبية التي تزرع في كثير من البلدان العربية كالعراق ومصر وليبيا والسعودية من اجل الزينة ، وموطنهُ الأصلي أمريكيا الاستوائية (Chakravarty, 2003)، الاسم العلمي للنبات ***Mirabilis jalapa*** وهو يعود للعائلة الجهنمية Nyctaginaceae ، ويسمى باللغة الانكليزية Four O'clock plant (نبات الساعة الرابعة)، وهو نبات تحت شجيري صغير لهُ جذور درنية ، ينمو لارتفاع (٦٠) سم ، أفرعهُ الحديثة غضة عشبية ، الأوراق متقابلة بسيطة بيضيه أو رمحيه الشكل ، قمتها مستدقة وحافتها كاملة، والنبات دائم الخضرة ويحمل مجموعة من الأزهار الأنبوبية العجلية حمراء أو صفراء اللون.

صورة -١: نبات لا لا عباس *Mirabilis jalapa*

الجزء الطبي من النبات هو الأوراق والجذور واهم المركبات الفعالة في النبات هي القلويدات Trigonellne والجلاب Jalap ، والأخير متوفر في جذور النبات وهي مادة طبية مسهلة ، يُعد عصير الأوراق مدر للبول ويمنع الهرش ، ويعالج السيلان ، ومسحوق البذور يستعمل في أدوات التجميل . يقال قديماً أن للنبات تأثيراً ضد السرطان، كما أن تناول كميات كبيرة من البذور أو الدرنات لهَ آثار سامة جداً وقد يؤدي إلى الموت ...(سعد واخرون ، ١٩٨٨) و(Al-Rawi & Chakravarty, 1988).

ونظراً لوفرة النباتات والأعشاب الطبية في القطر سيما تلك التي تمتلك فعالية سمية للخلايا السرطانية تم اختيار هذه الدراسة التي تهدف إلى:

١) تحضير مستخلص نباتي مائي خام من أوراق نبات لا لا عباس ***Mirabilis jalapa*** .
٢) دراسة تأثير ذلك المستخلص في تثبيط نمو الخلايا السرطانية للخطين السرطانية RD و AMN-3.

طريقة العمل:

١) جمع وتحضير النبات Plant collection and preparation

لكون نبات لا لا عباس .*Mirabilis jalapa* Linn صورة رقم (١) من نباتات الزينة التي تزرع في المنازل فقد جمع من حدائق بعض المنازل وذلك مع بداية فصل الربيع بين شهري نيسان وايار ، صنف النبات من قبل الدكتور محمد عثمان موسى (كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة الانبار)، عزلت الأوراق عن النبات وتم غسلها جيداً وتجفيفها بدرجة حرارة الغرفة وبعيداً عن أشعة الشمس مع التقليب المستمر لمنع تعفنها بعدها طحنت الأوراق بواسطة مطحنة كهربائية ، ثم حفظ المسحوق لحين استعماله.

٢) حضر المستخلص المائي الخام لاوراق نبات لا لا عباس: باستخدام جهاز السوكسليت المجهز بالماء كمذيب مستخدم لاستخلاص اوراق النبات حيث تم الحصول على مستخلص خام بوزن ٥.٥ غرام .

٣) الخطوط الخلوية: Cell lines

أ) الخط الخلوي السرطاني AMN-3 : Ahmed – Mohammed – Nahi – 2003

استعمل هذا الخط عند التمريرة رقم (٤٦) ، وهو سرطان الغدد اللبنية (Mammary adenocarcinoma) لإناث فئران نوع Balb \ c المصابة بسرطان الغدد اللبنية التلقائي "In vivo" Spontaneous mammary adenocarcinoma ، تم استحداث هذا الخط من قبل ...(Abdul Majeed, 2000) في المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية ، نُمي هذا الخط على الوسط (RPMI–1640) مجهز بـ ١٠ % مصل العجل ألبقري، وعند تكوين الطبقة الأحادية الكاملة (Confluent Monolayer) عوملت الخلايا بمحلول التربسين / فرسين لتقسيمها إلى مزرعة ثانوية أخرى . Subculture

ب) الخط السرطاني RD:

Rhabdomyosarcoma

تم استلام هذا الخط عند التمريرة رقم (٢٣٨) ، والعينة مأخوذة من سرطان في منطقة الحوض لفتاة في السابعة من عمرها ... (Johanston &Siegalm 1990) و (Mcallister *et al.* , 1969) . تم تطبيعهُ لنمو في وسط RPMI – 1640 المجهز بـ ١٠ % من مصل العجل البقري في المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية بدلاً من الوسط الاصلي MEM والمجهز بـ ١٠ % مصل عجل البقر ايضاً ، وعند تكوين الطبقة الأحادية الكاملة تم معاملة الخلايا بمحلول التربسين / فرسين لتهيئة المزرعة الثانوية.

٤) تهيئة الوسط الرزاعي:

Preparation of medium

تم خلط مكونات الوسط الزراعي PRMI وفقاً لـ (Freshney 2000) وذلك لتحضير لتر منهُ.

٥) اختبار سمة المستخلص المائي الخام لنبات لالا عباس على نموخلايا الخط السرطاني RD و الخط السرطاني AMN-3 :

Cytotoxic assay of mirabilis jalapa crud extract on cancer cell line

تم الحصول على المستخلص المائي الخام لاوراق نبات لا لا عباس ، حيث عقم المستخلص باستعمال مرشح ذو ثقوب بقطر ٠.٤ ثم بقطر ٠.٢٢ مايكرون وحضر من المستخلص اربع تراكيز وهي(١٢٥، ٢٥٠، ٥٠٠، ١٠٠٠) مايكرو غرام/ مليلتر وتحت ظروف معقمة ، استخدمت جميع التراكيز المحضرة مباشرة بعد اكمال عملية التحضير حسب الخطوات التالية:

A) جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة قنينة الزرع النسيجي حجم ٢٥ سم^{٢} بمحلول التريسين / فرسين بعد تفريغ الوسط الزرعي القديم وتحريك القنينة برفق ثم حضنت بالحاضنة ٣٧مْ لمدة ١٥ دقيقة ثم اضيف اليه ٢٠ مليلتر من الوسط الزرعي الخالي من المصل Serum free media (SFM) ثم يرج عالق الخلايا جيداً وثم نقل ٠.٢ مليلتر منهُ بعد كل مزجة جيدة الى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذي القعر المسطح microliter plate for tissue culture باستعمال ماصة اتوماتيكية دقيقة.

B) ترك الطبق قي الحاضنة بدرجة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ ساعة الى حين التصاق الخلايا في الحفرة وبعدها تم التخلص من الوسط الزرعي القديم في الحفر وتم اضافة ٠.٢ مليلتر من التراكيز المحضرة سابقاً من المستخلص المائي ، اضافة الى انه تم عمل سيطرة (خلايا فقط) وحضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٧ مْ في حاضنة مزودة بـ ٥ % من غاز CO2 .بعد مرور مدةالتفريق (Exposure time) المحددة للحضن ، اخرج الطبق من الحاضنة واضيف اليه محلول صبغة البنفسج البلوري لجميع الحفر الحاوية على الخلايا بمقدار ٠.٢ مايكرون لكل حفرة .

C) اعيد الطبق مرة ثانية الى الحاضنة ليحضن لمدة ساعتين بعدها اخرج الطبق وازيلت محتوياته وغسلت الخلايا بمحلول (PBS) لحين زوال الصبغة الزائدة، اذ ان الخلايا الحية تأخذ الصبغة اما الميتة فلا تاخذها.

D) قرات النتائج باستخام جهاز الالايزا بطول موجي ٤٩٢ نانوميتر.

E) طبقت الخطوات السابقة على كل من الخطوط السرطانية RD و AMN-3 باستعمال المستخلص المائي الخام لأوراق نبات لا لا عباس وبثلاث مدد من التعريض هي على التوالي (٤٢ و ٤٨ و ٧٢) ساعة.

الإحصـــاء

ارضخت نتائج الدراسة الى التحليل الاحصائي لغرض معرفة الفروق المعنوية بين معدلات تراكيز المستخلصات الخام وتأثيرها في خلايا الخط السرطاني (RD و AMN-3) ومقارنتها بمجموعة السيطرة . وعدت الفروق مهمة احصائياً وعالية المعنوية على مستوى احتمال ($P<0.001$) لاحتمال الخطأ ، واجري اختبار التصميم العشوائي الكامل The completely Randomized Design ، واختبار الفروق المعنوية الاصغر Last significant Difference (LSD) باستعمال ببرنامج SPSS ١٠.٠ الاحصائي من شركة Microsoft .

النتائج والمناقشة

١) الخط السرطاني RD:

عند تحول الخلية الطبيعية الى خلية سرطانية تتغير اغلب الفعاليات الايضة التي كانت تقوم بها الخلية الطبيعية ومن بين العمليات التي تتولد نتيجة تحول الخلايا الطبيعية الى سرطانية هي تكون الجذور الحرة (Free radicals) وبشكل كبير والتي تولدها الخلايا الطبيعية ، وان ولدتها تكون بشكل بسيط واليات الإصلاح الموجودة في الخلية قادرة على إزالتها ، لذلك فان المستخلصات النباتية الخام قد تعمل على إزالة انتقائية Selective Scavenging للجذور الحرة المتولدة في الخلايا السرطانية، وبالتالي تؤثر على الخلايا السرطانية (Chen *et al*.,2001). ظهر من نتائج هذه الدراسة بان زيادة تركيز المستخلص المائي الخام لأوراق نبات (لا لا عباس) كان لها تأثير تثبيطي في نمو خلايا الخط السرطاني (RD) وبشكل معنوي ($P<0.001$)، وكذلك الحال بالنسبة لزيادة الفترة الزمنية للتعريض ، فقد أشارت النتائج الى أن أعداد الخلايا المقتولة تزداد معنوياً مع زيادة كل من تركيز المستخلص وفترة التعريض ، فيظهر من الجدول (1)، والشكل (1) أن هذا التأثير التثبيطي قد بدء من التركيز (125) مايكرو غرام / مليلتر في فترة التعريض الأولى (24 ساعة) الذي كان فيه معدل الكثافة الخلوية (0.607) مقارنة مع مجموعة السيطرة الذي كان معدل الكثافة الخلوية لها (0.681)، وقد ازداد هذا التأثير التثبيطي مع زيادة التركيز ولنفس فترة التعريض ، حيث بلغ معدل الكثافة الخلوية (0.501، 0.288، 0.192) للتراكيز (250 و500 و1000) مايكروغرام / مليلتر على التوالي، تنطبق هذه الحالة مع زيادة الفترة الزمنية للتعريض (48 ساعة) شكل (٢)، حيث بلغ معدل الكثافة الخلوية (0.413، 0.364، 0.209، 0.145) للتراكيز (125 و250 و500 و1000) مايكرو غرام/ مليلتر على التوالي، ويعد التركيز مع عامل الوقت عوامل مؤثرة أساسية في شدة التأثير التثبيطي للمستخلص الخام لنبات لا لا عباس في الخطوط الخلوية السرطانية وتسمى هذه الظاهرة بـ Dose & time dependant phenomenon ، وهذه النتيجة جاءت متطابقة مع ما أشار إليهِ الباحث ...(Hung *et al*., 2004) الذي درس التأثير التثبيطي للمستخلص المائي الخام لعشب *Phylanthus urinaria* على الخط السرطاني لسرطان الدم HL.60 .

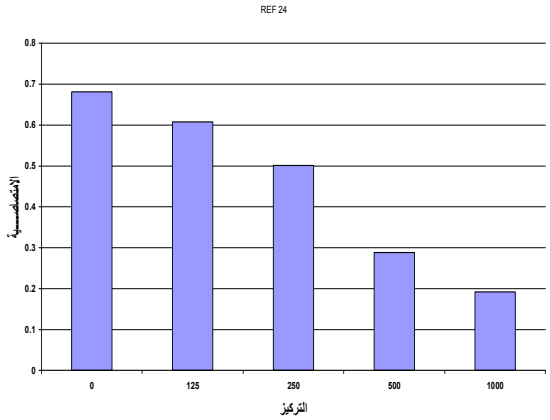
أن من أهم الأسباب التي قد يؤثر فيها المستخلص المائي الخام للنبات المدروس على الخلايا السرطانية هو نفاذية الخلايا السرطانية (Permeability)، إذ قد يكون هنالك خلل واضح في نفاذية جدران الخلايا السرطانية وهو من الأمور التي تتغير نتيجة تحول الخلايا الطبيعية الى خلايا سرطانية مما يسهل دخول المركبات إلى داخل الخلية وبشكل عشوائي وغير منتظم ، مما يؤثر سلباً على الخلايا السرطانية، بالمقابل يكون هناك نظام مسيطر عليهِ لدخول وخروج المواد من والى داخل الخلية الطبيعية ... (Gratton *et al*., 2003) ، (Belijanski, 2000).

يلاحظ من النتائج ايضاً أن التأثير التثبيطي للتراكيز الواطئة في معدل نمو الخلايا السرطانية يظهر جلياً عند فترة التعريض الثالثة (72 ساعة) ، التي بلغ فيها معدل الكثافة الخلوية (0.244) عند التركيز (١٢٥) مايكروغرام/ مليلتر، انخفض بعدها هذا المعدل ليبلغ (0.103) عند التركيز (1000) مايكروغرام/مليلتر،مقارنة مع مجموعة السيطرة (0.681) شكل (٣).

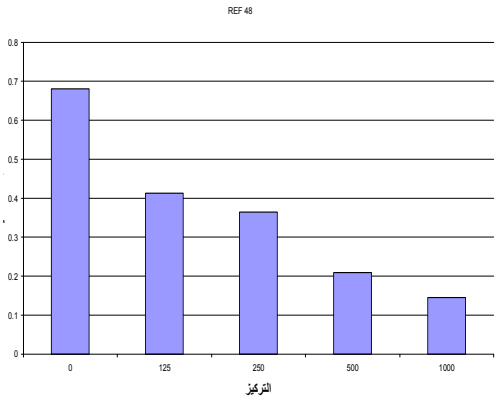
يلاحظ من الأشكال (3 و4) ان هناك علاقة خطية عكسية بين زيادة التركيز وأعداد الخلايا النامية خلال فترتي التعريض (24 ، 48) ساعة ، أي ان زيادة التركيز تعمل على انخفاض أعداد الخلايا ، في حين أصبحت هذه العلاقة غير خطية عند التركيز (72 ساعة) شكل (٥)، أي أن ليس بالضرورة أن أعداد الخلايا تنخفض مع زيادة التركيز، شكل رقم (٦)، وقد يرجع السبب إلى ظهور ظاهرة (Hermetic effect) وهي ظاهرة بايولوجية شائعة في علم السموم تتميز بوجود تعاكس لعمل الجرعات الواطئة موازنة مع الجرعات العالية ، وقد استخدمت هذه الظاهرة لأجل الاستفادة من الجرع الواطئة لبعض المركبات السامة في علاج بعض الأمراض المستعصية كالسرطان أو الزهايمر أو مرض بازكتسون ، إذ أن للجرعات الواطئة لبعض أنواع المركبات السامة القدرة على قتل الخلايا السرطانية دون التأثير على الخلايا الطبيعية (Chen *et al*.,2001).

جدول -١: معدل الكثافة الخلوية لخلايا الخط السرطاني RD

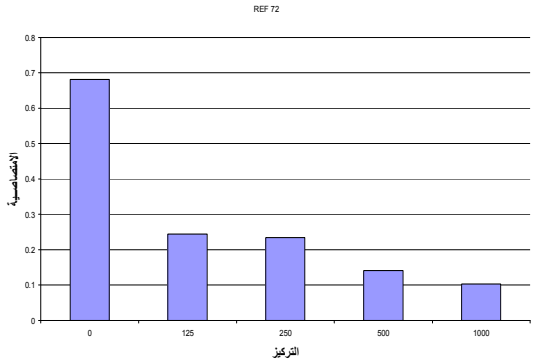
التركيز PPM	الوقت (الساعة)			معدل الكثافة الخلوية لكل تركيز
	24	48	72	
0	0.681	0.681	0.681	**0.6812**
125	0.607	0.413	0.244	**0.4213**
250	0.501	0.364	0.234	**0.3663**
500	0.288	0.209	0.141	**0.2126**
1000	0.192	0.145	0.103	**0.1469**
معدل الكثافة الخلوية لكل ٢٤ ساعة	٠.٤٥٣٧	٠.٣٦٢٦	٠.٢٨٠٧	



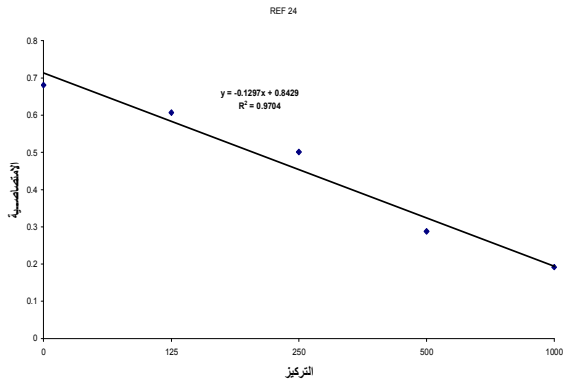
شكل -١: الكثافة الخلوية لخلايا الخط السرطاني RD حسب التركيز خلال فترة التعريض ٢٤ ساعة



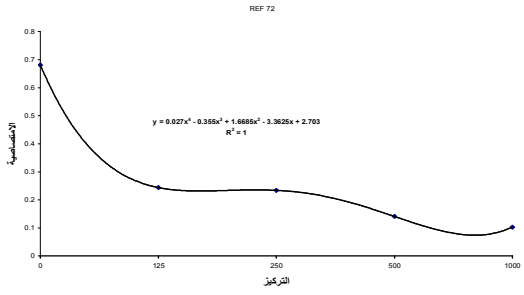
شكل -٢: الكثافة الخلوية لخلايا الخط السرطاني RD حسب التركيز خلال فترة التعريض ٤٨ ساعة

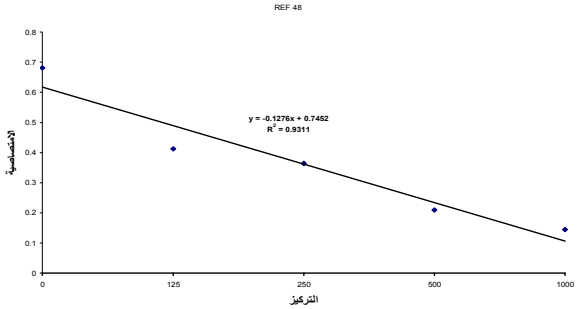


شكل -٣: الكثافة الخلوية لخلايا الخط السرطاني RD حسب التركيز خلال فترة التعريض ٧٢ ساعة



شكل -٤: يوضح العلاقة الخطية بين التركيز والوقت لخلايا الخط السرطاني RD خلال فترة التعريض ٢٤ ساعة





شكل -٦: يوضح طبيعة العلاقة بين التركيز والوقت لخلايا الخط السرطاني RD خلال فترة التعريض ٧٢ ساعة

٢) الخط السرطاني AMN – 3 :

تمت معاملة الخط السرطاني AMN-3 عند التمريرة (٤٦) بتراكيز مختلفة للمستخلص المائي الخام لأوراق نبات لا لا عباس وضمن مدد التعريض الثلاث ، فكانت النتائج الإحصائية مشابهة الى ما وجد من تعريض المستخلص على الخط السرطاني RD، حيث وجد تأثير تثبيطي ملحوظ وبشكل معنوي (P<0.001) للتراكيز المستخلص في نمو خلايا الخط السرطاني وابتداءاً ايضاً من التراكيز الواطئة مستمراً باتجاه التراكيز العالية ، كذلك الحال بالنسبة لمدة التعريض حيث وجد ان لمدة التعريض تاثيراً معنوياً فكلما زاد ت مدة التعريض زاد معدل الخلايا السرطانية المقتولة، فمن الجدول (2) والشكل (7) يلاحظ أن التأثير كان واضحاً منذ فترة التعريض الأولى (24 ساعة) وعند التركيز الاوطأ (125) مايكروغرام / مليلتر حيث بلغ معدل الكثافة الخلوية (0.7488) مقارنةً مع مجموعة السيطرة التي بلغ معدل الكثافة الخلوية فيها (0.7866)، كذلك يلاحظ زيادة في شدة القتل عند التراكيز الأعلى (250 و 500 و 1000) مايكرو غرام / مليلتر حيث بلغت الكثافة الخلوية فيها (0.6862، 0.3832، 0.3248) على التوالي، ألا أن أفضل تركيز ضمن مدة التعريض (24 ساعة) كان (500) مايكروغرام / مليلتر . أما مدة التعريض الثانية (48 ساعة) شكل (٨) ، فيلاحظ فيها زيادة في أعداد الخلايا المقتولة وكذلك بزيادة التركيز حيث بلغ معدل الكثافة الخلوية فيها (0.6680، 0.4514، 0.3128، 0.2286) للتراكيز(125 و250 و500 و1000) مايكرو غرام / مليلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة الذي بلغ معدل الكثافة الخلوية لها (0.7866)، عند زيادة مدة التعريض الى (72 ساعة) شكل (٩)، يلاحظ هنالك زيادة ملحوظة في أعداد الخلايا السرطانية المقتولة وبشكل كبير مقارنة مع مجموعة السيطرة ويلاحظ أن التأثير التثبيطي بدء وبشكل واضح منذ التراكيز الواطئة حيث بلغ معدل الكثافة الخلوية (0.4928) عند التركيز (125) مايكروغرام / مليلتر، في حين يلاحظ الانخفاض الكبير في أعداد الخلايا عند التركيز (1000) مايكروغرام/ مليلتر حيث بلغ معدل الكثافة الخلوية فيهِ (0.1754) مقارنة مع مجموعة السيطرة (0.7866)، من ملاحظة الشكل (١١) نجد هنالك علاقة خطية عكسية ومعنوية بين زيادة التركيز واعداد الخلايا السرطانية النامية خلال فترة التعريض (٤٨) ساعة ، أي كلما زاد التركيز زادت الخلايا السرطانية المقتولة، الا ان هذه العلاقة اصبحت عكسية الا انها غير خطية خلال فترة التعريض (٢٤ و ٧٢) ساعة الاشكال (١٠ و١٢).

أن من أهم الآليات التي تحتاجها الخلية السرطانية والورم السرطاني لكي ينشط ويبدأ بالغزو هي عملية تكوين الأوعية الدموية الجديدة (Angiogenesis) وتحتاج هذه العملية بعض الأنزيمات وعوامل نمو، تلعب مركبات الايض الثانوي والموجودة في معظم النباتات ومن بينها النبات قيد الدراسة (ومن أهم هذه المركبات القلويدات) دوراً مهماً في التأثير على كل من الأنزيمات وعوامل النمو لكي تمنع عملية تكوين الأوعية الدموية الجديدة(Anti–angiogenesis) (Brakenhielm *et at.*,2001).

تطابقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج العديد من الباحثين في دراسات محلية حول امتلاك المستخلصات النباتية مركبات الايض الثانوي ذات الفعالية المضادة للخلايا السرطانية التي اعتمد تأثيرها على التركيز ومدة التعريض، فقد توصل العتابي (2001) الى أن مستخلص نبات سم الفراخ يمتلك تاثيراً مثبطاً لنو سرطان الخلية البلازمية SU 99 – وقد أرجع سبب ذلك الى تأثير مركبات الوذافرين المثبطة في انقسام الخلايا في طورها الاستوائي، كما أكد كل من اليعقوبي (2004) وقدوري (4004) في دراستين منفصلتين امتلاك مستخلص نبات الهيل والحرمل (على الترتيب) فعالية مثبطة لنمو سرطان الحنجرة البشري (Hep – 2) وخلايا سرطان العضلات البشري (RD).

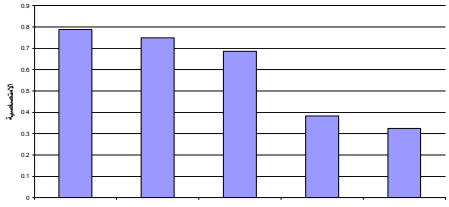
قد يعزى سبب نتائج الدراسة الحالية الى ان الخلية

السرطانية تُنتج عند حدوث خطأ في مرحلة معينة من دورة الخلية ، وتمتاز الخلايا السرطانية عموماً بخاصية رئيسية وأساسية هي مقاومة الموت المبرمج (PCD) (Programmed Cell Death) أو (Apoptosis) (Kamsteeg et at., 2003)، وقد تؤثر مركبات الايض الثانوي ومنها القلويدات الموجودة في المستخلص قيد الدراسة على الخلايا السرطانية من خلال ادخال تلك الخلايا في مرحلة الموت المبرمج ، اذ تمتلك هذه المركبات القابلية على إيقاف أحدى مراحل دورة حياة الخلية اظافة الى التأثير سلباً على العديد من الجينات والأنزيمات في تلك الدورة (Sjostrom & Bergh , 2001).

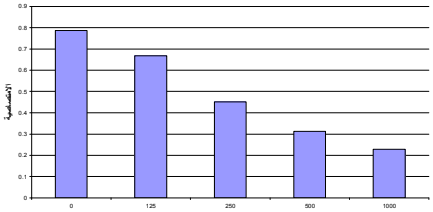
جدول -٢: معدل الكثافة الخلوية لخلايا الخط السرطاني AMN-3

التركيز PPM	الوقت (الساعة)			معدل الكثافة الخلوية لكل تركيز
	24	48	72	
0	0.7866	0.7866	0.7866	**0.7866**
125	0.7488	0.6680	0.4928	**0.6365**
250	0.6862	0.4514	0.3466	**0.4947**
500	0.3832	0.3128	0.2542	**0.3167**
1000	0.3248	0.2286	0.1754	**0.2429**
معدل الكثافة الخلوية لكل ٢٤ ساعة	٠.٥٨٥٩	٠.٤٨٩٥	٠.٤١١١	

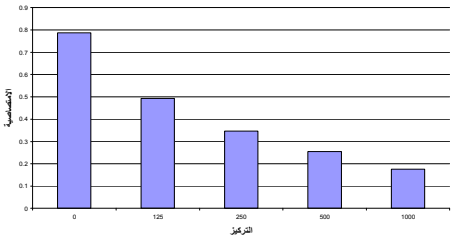
L.S.D. $_{p<0.001}$ C = 0.053, T = 0.041, C*T = 0.092



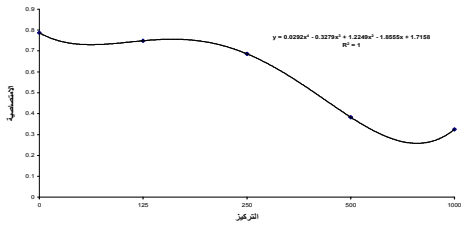
شكل -٧: الكثافة الخلاوية لخلايا الخط السرطاني AMN-3 حسب التركيز خلال فترة التعريض ٢٤ ساعة



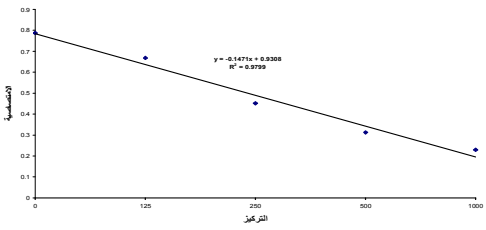
شكل -٨: الكثافة الخلاوية لخلايا الخط السرطاني AMN-3 حسب التركيز خلال فترة التعريض ٤٨ ساعة



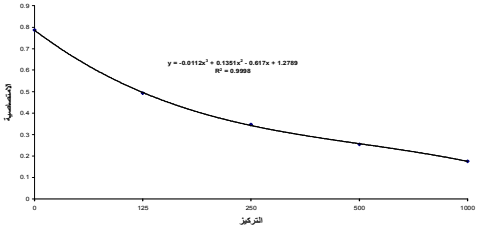
شكل -٩: الكثافة الخلاوية لخلايا الخط السرطاني AMN-3 حسب التركيز خلال فترة التعريض ٧٢ ساعة



شكل -١٠: يوضح طبيعة العلاقة بين التركيز والوقت لخلايا الخط السرطاني AMN-3 خلال فترة التعريض ٢٤ ساعة



شكل -١١: يوضح طبيعة العلاقة بين التركيز والوقت لخلايا الخط السرطاني AMN-3 خلال فترة التعريض ٤٨ ساعة



شكل -١٢: يوضح طبيعة العلاقة بين التركيز والوقت لخلايا الخط السرطاني AMN-3 خلال فترة التعريض ٢٧ ساعة

المصادر العربية:

١-العتابي، شلال مراد. ٢٠٠١. تأثير المستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات سم الفراخ *Withanin somnifera Dun* في نمو الخلايا السرطانية في الزجاج وفي بعض المعايير الفسلجية في الفئران . اطروحة دكتوراه ، الطب البيطري – جامعة بغداد .

٢-اليعقوبي ، كفاح جبار شاكر . ٢٠٠٤ . دراسة تأثير الكحول الاثيلي والهكساني لثمار نبات الهيل *Elettaria cardamom* في خطوط الخلايا السرطانية والخلايا اللمفاوية للدم المحيطي للإنسان خارج الجسم . رسالة ماجستير ، كلية العلوم – جامعة الكوفة .

٣-قدوري ، جيهان فاضل اشرف . ٢٠٠٤ . تأثير بعض المستخلصات النباتية المحلية على الطبيعة والسرطانية (خارج الجسم) . رسالة ماجستير، كلية العلوم – جامعة النهرين .

٤-سعد ، شكري إبراهيم ؛ القاضي ، عبد الله ؛ صالح ، عبد الكريم محمد ؛ خلف ، عبد العزيز محمد . ١٩٨٨. النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي . جامعة الدول العربية/ المنظمة العربية للتنمية الزراعية .

المصادر الانكليزية:

1-Abdul Majeed, M. R. 2000. Induction and Characterization of Su. 99 Plasmacytoma Cell line and its effect on mice immune response. Ph D thesis, Nahrain University.

2-AL-Rawi, A.; Chakravarty, H.L. 1988. Medicinal Plant of Iraq. Ministry of Agriculture and Irrigation. State Board for Agricultural and water Resources research\ National Herbarium of Iraq. Edi.2.

3-Belijanski, M. 2000. The anticancer agent PB-100 selectivity active malignant cell inhibits multiplication of sixteen maligment cell lines, even multidrug. Genet. Mol. Biol., 23: 224-235.

4-Brakenhielm, R.; Cao, Y. Coa. (2001). Suppression of angiogenesis, Tumor growth and wound healing by resweratol, A natural Compound in red wine and grapes, Fed, Am. Soc. Exp. Biol. 8: 1798- 1800.

5-Chakravarty, H. L. 1976. Plant wealth of Iraq (A Dictionary of Economic Plant). Ministry of Agriculture and Agrarian Reform – Iraq .

6-Chen, F. D.; Wu, M.; Wang, H. E.; Hwang, J. J.; Hong, C. Y.; Huang, Y. T.; Yen, S. H. and Ou, Y. H. 2001. Sensitization of tumor but not normal tissue, to the cytotoxic effect of Ionizing radiation using *Panax notoginseeng* extract. Am. J. Chin. Med., 16: 234-242.

7-Freshney , R.I. 1994. Culture of animal cells. A manual of basic technique (4thed). Wileyliss, A John Wiley & sons. Inc. publication New York.

8-Gratton, J. P.; Lin, M. I.; Yu, J.; Weiss, E. D,; Jiang, Z. L.; Fairchild, T. A. Iwakiri, Y.; Groszmann, R.; Clafley, Y. C. and Sessa, W. C. 2003. Selective inhibition of tumor microvascular permeability by cavtratin blocks tumor progression in mice. Cancer Cell, 4: 1-39.

9-Hung, S. T.; Yang, R. C.; Chen, M. Y. and Pang, J. H. 2004. Phyllanthus urinaria induces the Fas receptor\ lig and expression and ceramide mediated apoptosis in HL-60 Cell: Life Sei., 75: 339-451.

10-Johnston, S. L. G. and Siegel, C. S. 1990. Presumptive identification of entiroviruses with RD, Hep-2 and RMK Cell lines. Clin. Microbiol., 28: 1049-1050.

11-Kamsteeg, M.; Rutherford, T.; Sapl,; Hanczaruk, B.; Shahabi, S.; Filck, M.; Brown, D.; and Mor, G. 2003. Phonoxodiol An isoflovone analog induces apoptosis in chemo resistant Ovarian cancer cell. Oncogene , 22: 11-2620.

12-Sjosteom, J. and Bergh, J. 2001. How apoptosis is regulated and what goes wrong in cancer, B. M. J. , 322: 1538-1539.

13-Surh, y. j. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals Nat. rev. cancer 3: 768-780 .