تقييم تاثير بعض المستخلصات النباتية في خط خلايا سرطان غدة الثدي الفاري AMN3.

حنان عدنان النعيمي
قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) / جامعة بغداد
امنه نعمه الثويني
معهد الهندسة الوراثية و التقنيات الاحيائية للدراسات العليا

استلم البحث في:28 كانون الثاني 2013 ، قبل البحث في:5 أيار 2013

الخلاصة

درس التاثير السمي للمستخلصات النباتية لنباتات الباذنجان و الجزر و الكركم بتراكيز مختلفة 62.5 و 125و 250 و 500 مايكروغرام / مليلتر في خط الخلايا السرطاني لغدة الثدي الفاري . اذ حضرت المستخلصات بطريقة الاستخلاص المائي الحار و الكحولي ، و تم الكشف عن مكوناتها الكيميائية ووجد ان المستخلصات ذو رقم هيدروجيني حامضي . وعرضت المستخلصات بثلاث مدد زمنية (24 و48 و 72) ساعة و كانت السمية واضحة للمستخلصات النباتية اعتمادا على الوقت و الجرعة و كان لمستخلص الكركم الكحولي افضل فعالية سمية للخلايا السرطانية بتركيز 500 مايكروغرام \ مللتر و بنسبة 94.61 %، و يليه مستخلص الباذنجان المائي و الكحولي والكركم المائي و بنسب 93.20 %،و 92.63 % ،و 92.49 % على التوالي واخيرا مستخلص الجزر المائي و الكحولي و بنسبة 54.39 % ، و50.56 % على التوالي .

الكلمات المفتاحية : السرطان ، المستخلص ، الباذنجان ، الكركم ،الجزر.

المقدمة

بدأ الإنسان منذ القدم استعمال الصيدلة الطبيعية التي أعدها الله سبحانه وتعالى ضمن آلاف النعم الألهية التي أودعها في هذا المخزن العلاجي ، قال تعالى (وان تعدوا نعمت الله لا تحصوها) سورة إبراهيم الآية (34) [1] ، وقد ربط الإنسان الأول العلاقة بين النباتات البرية التي تغطي وجه الأرض و الأمراض التي يصاب بها فاستعمل هذه الأعشاب أو أجزاء منها في العلاج ، وظهرت في الآونة الأخيرة رغبة كبيرة في استعمال النباتات الطبية في علاج الكثير من المسببات المرضية وذلك لخلو معظمها من التأثيرات الجانبية وسهولة تداولها واحتوائها على الكثير من المواد الفعالة [2]، وأن احتواء النبات على عدد من المركبات الكيميائية جعلها ذا أهمية طبية في علاج العديد من الأمراض وذلك باستعمالها بصورة مباشرة بهيئة محاليل وعصائر ومساحيق وكمادات أو بصورة غير مباشرة باستعمال المركبات الفعالة الموجودة في النبات بشكل نقي في الأغراض الطبية والعلاجية ، كذلك هدفت الدراسات والبحوث الحديثة الى استعمال النباتات الطبية بديلا احتياطيا لمضادات الحيوية لاسيما تلك التي ابدت بعض السلالات الجرثومية مقاومة ضدها نتيجة للاستعمالات العشوائية وغيرمدروسة لهذه المضادات [3].

انتشرت بحوث النباتات الطبية انتشارا واسعا في العالم نتيجة لاعتماد الطرائق الصحيحة للاستفادة الكاملة من هذه النباتات في صناعة الادوية الحديثة، و عولجت العديد من الامراض بوساطة تناول الاعشاب البرية والنباتات الطبية ، مثل نبات الجزر الذي يستعمل لعلاج قرحة المعدة و التهابات الكلى و علاج مرض السكر و مقو للمناعة الطبيعية و مدر للبول و علاج امراض الكبد و الالتهابات المعوية ، ورايزومات الكركم تستعمل لعلاج التهابات المفاصل و تحمي الجسم من انسداد الشرايين و خفض نسبة الكولسترول في الدم ،ونبات الباذنجان الذي يساهم في قتل الجراثيم و طردها خارج الجسم لاحتوائه على الالياف الغذائية و يستعمل في علاج تصلب الشرايين و الوقاية منه فضلا عن ذلك ان هذه النباتات تحتوي على مواد مضادة للاكسدة التي لها قدرة علاجية للاورام السرطانية [5,4].لذا أرتاينا في هذا البحث معرفة تاثير هذه النباتات في نمو الخلايا السرطانية و الاستفادة منها في المجالات الطبية .

طرائق العمل Methodology

جمع العينات النباتية

استعملت ثمرة نبات الباذنجان (*Solanum melongen*) والجزر(*Daucus carota*) ورايزومات الكركم (*Curcuma longa*)التي تم شراؤها من الاسواق المحلية في بغداد ، فحصت النباتات قيد الدراسة من الاستاذ الدكتور علي الموسوي مسؤول المعشب في قسم علوم الحياة-كلية العلوم/جامعة بغداد وقطعت النباتات كلا على انفراد بوساطة خلاط كهربائي وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

تحضير المستخلصات النباتية : استخلصت النباتات بطريقتين الاستخلاص المائي الحار حسب طريقة[6] ، والاستخلاص الكحولي الحار باستعمال كحول الايثانول بتركيز 75% لاستخلاص النباتات باستخدام جهاز السوكسليت (Soxhlet apparatus) حسب طريقة [7].

*** تحضير الكشوفات الكيميائية للمستخلصات الخام :- تم الكشف تبعاً لما جاء عن [2] و كما يأتي:-**

1-الكشف عن الكلايكوسيدات (Glycosides):-

- مزج جزأين متساويين من كاشف فهلنك و المستخلص المائي لمسحوق النبات ثم ترك في حمام مائي مغلي مدة 10 دقائق واستدل على إيجابية الفحص من خلال وجود الكلايكوسيدات بظهور راسب احمر.
- للتثبيت من هذه النتيجة أضيف 1 مللتر من المستخلص المائي إلى 5 مللتر من كاشف بندكت ، اذ يشير ظهور الراسب الاحمر الى وجود الكلايكوسيدات .

2- الكشف عن التانينات (Tannins):- غليت 10 غرامات من المسحوق النباتي في 50 مللتر ماء مقطر رشح المحلول باستخدام ورقة الترشيح(Ederol No.2) وترك الراشح ليبرد، ثم أضيف 1% خلات الرصاص للاستدلال على وجود التانينات بظهور راسب هلامي القوام .

3- **الكشف عن الفينولات (Phenols):-** غليت 10 غرامات من المسحوق النباتي في 50 مللتر ماء مقطر رشح المحلول باستخدام ورقة الترشيح(Ederol No.2) وترك الراشح ليبرد، ثم أضيف 1%كلوريد الحديديك اذ يدل ظهور اللون الأخضر المزرق على وجود الفينولات.

4- الكشف عن الصابونينات (Saponins):-

تم الكشف بطريقتين :

A- رج المحلول المائي لمسحوق النباتات بشدة في أنبوبة اختبار واستدل على وجود الصابونينات بظهور رغوة كثيفة تبقى مدة طويلة.

B- اضيف 5مللتر من المستخلص المائي لمسحوق النباتات إلى (1 - 3) مللتر من محلول كلوريد الزئبقيك ، اذ يشير ظهور الراسب الابيض إلى إيجابية الفحص.

5- الكشف عن الراتنجات (Resins):-

اضيف 50 مللتر من الكحول الاثيلي بتركيز 95 % إلى 5 غرام من المسحوق النباتي وبعد ان ترك في حمام مائي يغلي مدة دقيقتين رشح بورقة (Ederol No.2) ثم اضيف للراشح 10 مللتر ماء مقطر مستحمض بحامض الهيدروكلوريك و يستدل على وجود المواد الراتنجية بظهور عكارة.

6- الكشف عن القلويدات (Alkaloids):-

غلي 10 غرام من المسحوق النباتي مع 50 مللتر ماء مقطر مستحمض ب 4 % من حامض الهيدروكلوريك ثم رشح المحلول بورقة ترشيح (Ederol No.2) بعد تبريده واختبر 0.5 مللتر من الراشح في زجاجة ساعة (Watch glass) مع كل من الكواشف الاتية كلا على انفراد :

كاشف واكنر: ظهور راسب بني يشير إلى وجود القلويدات .

كاشف ماير: ظهور راسب ابيض يشير إلى وجود القلويدات.

حامض البكريك: ظهور راسب اصفر يشير الى وجود القلويدات.

كاشف دراكندروف: ظهور راسب برتقالي يشير الى وجود القلويدات.

7- الكشف عن الكومارينات (Coumarins):-

اذيبت كمية قليلة من المستخلص النباتي في الكحول في أنبوبة اختبار ،غطيت فوهة الأنبوبة بورقة ترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) المخفف ووضعت في حمام مائي مغلي بضع دقائق ، ثم عرضت الورقة للاشعة فوق البنفسجية باستخدام جهاز (U.V) بطول موجي 336 نانومتر ، اذ ان ظهور لون اصفر – مخضر براق دلالة على وجود الكومارين.

8- الكشف عن الفلافونات (Flavones) :-

حضر المحلول(A) بإذابة 10 غرام من المسحوق النباتي في 5 مللتر من الكحول الاثيلي بتركيز 95 % ثم رشح المحلول بورقة ترشيح (Ederol No.2) .

حضر المحلول (B) بإضافة 10 مللتر من الكحول الاثيلي بتركيز 50%وعند مزج كميات متساوية من كلا المحلولين يدل ظهور اللون الأصفر على وجود الفلافونات.

تهيأة خط الخلايا السرطانية

تسلم خط خلايا سرطان غدة الثدي الفأري AMN3 عند التمريره 156 من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية /الجامعة المستنصرية تحت ظروف معقمة و اجريت خطوات الزرع النسيجي الآتية :تم تفريغ وعاء الزرع النسجي الحاوي على الخلايا السرطانية من الوسط الزرعي القديم ، و اضيفت كمية قليلة من محلول التربسين – فرسين (2-3) مللتر وبعد تقليب الوعاء ترمى محتوياته لأجل التخلص تماما ً من الوسط الزرعي القديم .

بعدها تمت إضافة (3-5) مللتر من محلول التربسين – فرسين إلى الوعاء ثم أغلق الوعاء جيدا ووضع في الحاضنة بدرجة 37 م ° مدة 2-5 دقائق لأجل إعطاء فرصة لعمل التربسين – فرسين على تحليل الخلايا إلى خلايا منفردة ، وبعد إخراج الوعاء من الحاضنة تعمل ضربات خفيفة على الوعاء وذلك لأجل تسهيل تفكيك الخلايا إلى خلايا منفردة .

وبعد ذلك أضيف الوسط الزرعي الحاوي على نسبة 10 % من مصل العجل البقري إلى الوعاء وبمقدار 20 مللتر مع إحداث حركة دورانية بسيطة لأجل إزالة اكبر كمية من الخلايا الموجودة في الوعاء ،بعدها سكبت محتويات الوعاء إلى بيكر معقم ، و جهزت أطباق الزرع النسجي الخاصة المعقمة Microtiter plate والحاوية على 96 حفرة كل حفرة تستوعب 300 مايكروليتر ، قبل البدء بعملية الزرع اجريت عملية مجانسة توزيع الخلايا في الوسط الزرعي عن طريق سحب ودفع للوسط الزرعي الحاوي على الخلايا السرطانية في البيكر بوساطة الماصة الدقيقة Micropipette ولاكثرمن مرة وأعيدت هذه العملية عند زراعة كل حفرة من الحفر في طبق الزرع النسجي الخاص ثم بدأت عملية الزرع وذلك بسحب كمية 200 مايكرولتر من محتويات البيكر ووضعها في حفرة من حفر طبق الزرع النسجي وبعد الانتهاء من عملية الزرع غطيت الحفر في الطبق الزرعي بوساطة ورق لاصق معقم وبصورة محكمة لضمان عدم حدوث التلوث ثم وضعت أطباق الزرع النسجي في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م ° مدة 12-18 ساعة حتى التصقت الخلايا في قاع الحفر [8] .

معاملة الخلايا السرطانية بالمستخلصات المائية والكحولية

بعد أن حضرت الخلايا السرطانية المزروعة في أطباق الزرع النسجي الخاصة ذات 96 حفرة لأجل المعاملة تم تحضير تخافيف المستخلص وتم الاستعانة بالتراكيز التي تمت دراستها من [3] و حضرت اربعة تخافيف(62.5 و 125 و 250 و500) مايكروغرام/مليلتر و حضرت التراكيز عن طريق تخفيف خلاصة المستخلص بالوسط الزرعي الخالي من مصل العجل ألبقري .

بعد أن حضرت التخافيف استخرج الطبق الزرعي الحاوي على الخلايا السرطانية المزروعة في الحفر وفحصت حيوية الخلايا وعددها باستخدام المجهر الضوئي المقلوب للتأكد إن هذه الخلايا جاهزة للمعاملة وفي ظروف معقمة رفع اللاصق من سطح الطبق الزرعي وبعدها أهمل الوسط الزرعي القديم ثم أضيف في كل حفرة 0.1 مللتر من كل من التراكيز المحضرة(62.5 و125 و250 و500مايكروغرام/مللتر) وبمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز .

وتمت إعادة الخطوات السابقة لتحضير التخافيف ولكل تركيز على المذيب فقط والحاوي على 30 % (PEG-400) المخففة بالوسط الزرعي الخالي من مصل العجل البقري وبمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز،إذ يكون لكل تركيز(سيطرة موجبة) خاصة له ، مع زراعة حفر أخرى محتوية فقط على الوسط الزرعي الخالي من مصل العجل البقري التي تعد (السيطرة) وبعد الانتهاء من معاملة الطبق الزرعي بالمادة العلاجية والمذيب

غلف السطح الخارجي للطبق الزرعي بورق لاصق معقم ثم ادخل إلى الحاضنة بدرجة 37 م وحضرت ثلاثة أطباق لأجل فحص عمل العلاج على مدد حضن تراوحت (24و 48 و72) ساعة ، وبعد انتهاء مدة الحضن المقررة لكل طبق زرعي ،اخرجت الأطباق من الحاضنة ثم نبذ الوسط الزرعي الموجود في الحفر وأضيف لكل حفرة 100 مايكرولتر من صبغة Crystal violet stain ثم ارجع الطبق الزرعي إلى الحاضنة مدة 15 دقيقة (ستأخذ الخلايا الحية الصبغة بينما الخلايا الميتة لا تأخذ الصبغة) ثم اخرج الطبق الزرعي من الحاضنة وبعدها غسلت الحفر بوساطة الماء المقطر، بعدها تركت الأطباق الزرعية لتجف لمدة 15 دقيقة ، قرأت النتيجة باستخدام جهاز الـ ELISA Reader وعلى طول موجي 492 nm لأجل معرفة التأثير التثبيطي للعلاج في الخلايا السرطانية وحسب طريقة [10,9]وقد تم تحويل قيم التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية و الكحولية في الخط الخلوي السرطاني AMN3 إلى نسبة مئوية تمثل حيوية الخلايا (Cell viability) وحسب المعادلة آلاتية حيوية الخلايا = (قراءة المعاملة لكل تركيز/ قراءة السيطرة) X 100 [11].

النتائج والمناقشة

بلغت نسبة وزن المستخلص المائي لنبات الباذنجان والجزر والكركم الى اوزانها الجافة 8.5% ، 3.8% ، 25.6% على التوالي . بينما كانت نسب اوزان المستخلصات الكحولية 7.1% ،7.4% ، 13.3% على التوالي . وقد لوحظ احتواء النباتات على مركبات فعالة مثل الفينولات ،و الراتنجات ،والتانينات ،و الفلافونات ،و القلويدات ،و الكلايكوسيدات ، و الصابونينات كما موضح في الجدول (1).

أختبار تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتات الباذنجان والجزر والكركم في نمو خط خلايا سرطان الغدة اللبني الفأري AMN3 وخط الخلايا الطبيعية

تم في هذه التجربة اختبار التأثير السمي Cytotoxic effect للمستخلص المائي والكحولي لنبات الباذنجان والجزر والكركم على نمو خط خلايا سرطان غدة الثدي الفأري AMN3 اذ يستخدم اختبار التأثير السمي في الأنظمة الدراسية لعلاج السرطان لأجل معرفة نتائج واضحة بشأن تشخيص المركبات الفعالة الكامنة في المستخلص فضلاً عن تشخيص الالية ومعرفتها و من خلالها يمكن معرفة الفعالية السمية لتلك المركبات التي ربما تحدث التغيير في تكاملية الغشاء الخلوي أو تحوير مسار الفعالية الايضية للخلية التي تؤدي إلى موت الخلية موتاً مباشراً وتقاس النتيجة النهائية للفعل الدوائي وهو شفاء الخلية أو موتها فضلاً عن أنها تكشف عن الفعالية المضاده للسرطان وتشخيص الخلية المستهدفة [12]

بينت نتائج الدراسة ان هناك تاثيرا واضحا لاستخدام المستخلصات النباتية في خطوط الخلايا السرطانية من خلال موت هذه الخلايا المعاملة مقارنة بخلايا السيطرة البالغة 0.706 ، اذ سجل المستخلص الكحولي للكركم افضل فعالية مضادة للخلايا السرطانية ، و يليه مستخلص الباذنجان المائي و الكحولي، ثم المستخلص المائي للكركم ، و اخيرا المستخلص المائي و الكحولي للجزر على التوالي و بتركيز 500 ملغم \ مليلتر كما موضح في الجدول (2) .

اختلفت النسبة المئوية للخلايا الميتة لكل مستخلص اعتمادا على التركيز فقد وصلت النسبة المئوية للخلايا الميتة لمستخلص الكركم المائي اعلى نسبة 92.49 % عند التركيز 500 مقارنة بخلايا السيطرة 100% بينما كان المستخلص الكحولي للنبات نفسه اكثر تاثيرا، اذ وصلت النسبة المئوية للخلايا الميتة الى 94.61 %عند التركيز نفسه وكانت اقل نسبة من الخلايا الميتة لهذا النبات عند التركيز 62.5 للمستخلصين المائي والكحولي. اما بالنسبة الى مستخلص الباذنجان المائي والكحولي فقد كان التاثير متقارب و النسبة المئوية للخلايا الميتة وصلت الى 93.20 % و92.63 % على االتوالي عند التركيز 500 وقل تاثير المستخلص مع انخفاض التركيز، وقد بينت النتائج ان المستخلص المائي للباذنجان في التركيز 500 و 250 كان عاليا،اذ وصلت النسبة المئوية للخلايا الميتة الى 93.20% و 89.99% على التوالي ،اما مستخلص الجزر المائي فكان ذا تاثير واطئ ، اذ كانت اعلى نسبة فيه للخلايا الميتة 54.39% عند التركيز 500 واقل بكثير عند التركيز 250 ، اذ وصلت النسبة المئوية للخلايا الميتة الى 11.18% كذلك بالنسبة الى المستخلص الكحولي كانت النسب مختلفة كما في الجدول (3) و الشكل (1).

ان نتائج تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الكركم والباذنجان والجزرفي خط خلايا سرطان غدة الثدي الفأري AMN3 ونسبة قتل الخلايا فيه مقارنة بخلايا السيطرة يؤكد فعالية ماتحويه من مركبات مثل الفلافونات والكلايكوسيدات والقلويدات وغيرها من المركبات التي تحث الخلايا السرطانية على الموت المبرمج لان هذه المركبات الكيميائية الطبيعية تقوم بمنع المواد المطفرة أوالمسرطنة من الحاق الضرر بالمادة الوراثية من خلال حدوث تفاعلات أيضية متداخلة مع مسار تلك المواد داخل الجسم وبذلك تعمل مثبطا مباشرا ، أو بتأثيرها في أحد العوامل والبروتينات المسيطرة على تنظيم دورة الخلية ، فضلا عن تأثيرها في تنشيط أنظمة الأصلاح في الخلية الحية [13].

يحتوي الجزر على نسبة مرتفعة من فيتامين A وبعض الصبغات النباتية مثل الكاروتينات Carotene ،اذ يحتوي على نوعين البيتا كاروتين ، و الفا كاروتين التي تعمل مضادات للتاكسد و حماية الخلايا من التاثير الضار الذي تحدثه الجذور

الحرة و من ثم يمنع احتمال حدوث السرطان والريتينويد Retinoids واللايكوبين Lycopen والزانثوفيل Xanthophylls ، ولها دور مهم في الحماية من الطفرات ، والوقاية من الأورام السرطانية ، كما أن لها القابلية على تحفيز الاستجابة المناعية لقدرتها على تحرير السايتوكروم C، وعلى زيادة تكوين الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells [15,14] .
اثبتت دراسة [16] أن لمادة curcumin المعزولة من رايزوم نبات الكركم *Curcuma longa* تاثيراً مثبطاً لمادة phIp المسرطنة في تجارب داخل جسم الكائن الحي ، كما وجد [17] ان نبات الكركم يمكن ان يحارب سرطان الثدي و ذلك لانه يستطيع ان يرتبط بمستقبلات هرمون البروجسترون ليمنع عمل هذه الهرمونات التي تساعد في اتمام العملية السرطانية . و احتواء نبات الباذنجان على الفلافونيدات و حامض الكلوروجينك و هو مركب فينولي الذي له فعالية مضادة للاكسدة و من ثم الوقاية من السرطان و هو صنف بسيط من مركبات فينلبروبيانويد التي تعمل على اصلاح الخلل بالمادة الوراثية للحامض النووي مما يمنع تكوين الخلايا السرطانية ،اذ يحتوي اللب نسبة 84.1 % ،والقشرة تحتوي على 15.9% منه [18]، كما وجد [17] ان نبات الباذنجان يحتوي على مادة كليكوكولايد التي تعالج سرطان الجلد .
وبصورة عامة لوحظ عند تحول الخلية الطبيعية الى خلية سرطانية حدوث تغيرات في اغلب الفعاليات الايضية التي كانت تقوم بها الخلية الطبيعية ومن بين العمليات التي تتولد نتيجة لتحول الخلايا الطبيعية الى سرطانية هي تكون الجذور الحرة (Free radicals) وبشكل كبير والتي لا تولدها الخلايا الطبيعية وان ولدتها تكون بشكل بسيط وان آليات الاصلاح الموجوده في الخلية قادرة على ازالتها ، لذلك فان المستخلصات الخام قد تعمل على ازالة الجذور الحرة المتولدة في الخلايا السرطانية بانتقائية ، ومن ثم تؤثر في الخلايا السرطانية [19] . باستثناء العلاجات الجينيه و المناعية فان معظم علاجات الاورام السرطانيه التقليدية لم تكن علاجات شافيه تماما للمرض لذلك فان استعمال النباتات الطبية في علاج الاورام هي من العلاجات ذي الدور الواعد الذي ما يزال في طور البحث.

المصادر

1- القران الكريم . سورة ابراهيم اية 34 الجزء الثالث عشر ص 260.
2-النعيمي،حنان عدنان شاكر(2005) .تقويم فعالية بعض المستخلصات النباتيه على نمو البكتيريا المرضيه الموجبة الصبغه المعزوله من حالات التهاب البلعوم و اللوزتين.رساله ماجستيرمقدمة الى معهد الهندسه الوراثيه والتقنيات الاحيائيه للدراسات العليا /جامعة بغداد.
3- العتابي / شلال مراد حسين (2001) تاثير المستخلص الكحولي الخام الاوراق نبات سم الفراخ *withania somniferia.Dun* في نمو الخلايا السرطانية في الزجاج وفي بعض المعايير الفسلجية في الفئران اطروحة دكتوراه ، كلية الطب البيطري / جامعة بغداد.
4-Michiaki,M.(1989) Article in NCL cancer weekly leads ateam of biochemists at japans kyoto prefectural university of medicine.
5- الثروة النباتية في العراق (1976) مديرية النبات ،وزارة الزراعة و الاصلاح الزراعي .
6-Swanston,F.S.K;Day,C.;Baileg,C.J. and Flatt,P.R.(1990).traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and Streptozotocin diabetic mice, Diabetologia 33:462-464.

7- Harborn J.B., Mabray ,T.j . and Mabray ,H. (1975) Physiology and function of flavonoids. Academic Press ,New York, pp.970
8-Freshney ,R.I (2000). Culture of animal cells : A manual for basic technique (4th ed). *Wiley liss*, A John Wiley and Sons,Inc. Publication, New York pp.566.
9- Mahony, D.E; Gilliatt, E.; Dawson, S.; Stockdale, E.and Lee, S.H.S. 1989. Cell assay for rapid detection of *Clostridium perfringins* enterotoxin. Appl. Environ. Microbiol., 55: 2141-2143.
10-Abdul-Majeed, M.R.(2000). Induction and characterization of SU.99 plasmacytoma cell line and its effect on mice immune response. PhD thesis, Al Nahrain University.
11 - الحلي ، زيد عبد المنعم علي . 2004 . تأثير المستخلصات الخام لعشب السعد *Cyperus rotundus* L. في تثبيط نموالخطوط الخلوية السرطانية. رسالة ماجستير ، التقنيات الأحيائية، كلية العلوم / جامعة بغداد
12- Freshney, R.L.(2001). Application of cell culture to toxicology. Cell Biol. Toxicol., 17: 213 -230.
13- Tsuda, H.; Ohshima, Y.; Nomoto, H.; Fujita, K.; Matsuda, E.; Iigo, M.; Takasuka, N.and Moore, M.A. 2004. Cancer prevention by natural compounds. Drug Metab. Pharmacokinet., 19: 245-263.

14-Su, Y.T;Chang, H.L.; Shyue, S.K.and Hsu, S.L.(2005). Emodin induces apoptosis in human lung adenocarcinoma cells through a reactive oxygen species-dependent mitochondrial signaling pathway. Biochem. Pharmacol., 70: 229-241.
15- Heukamp, I.; Kilian, M.; Gregor, J.I.; Neumann, A.; Jacobi, C.A. ; Guski, H.; Schimke, I.; Walz, M.K.and Wenger, F.A.(2005). Effects of the antioxidative vitamins A, C and E on liver metastasis and intrametastatic lipid peroxidation in BOP-induced pancreatic cancer in Syrian hamsters. Pancreatology, 5: 403-9.
16- Collett, G. P.; Craig, N.;Robson, J. C. Mathers, and Frederick, C. C.(2001). Curcumin modifies Apc apoptosis resistance and inhibits 2-amino 1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) induced tumour formation in Apc mice . Carcinogenesis, 5: 821-825.
17- الترعي ،زينب كمال (1998). الاغذية التي تحارب السرطان علاج وو قاية . جامعة ام القرى \ القاهرة.
18-Koji,K.;Takashi,N.;Naofumi,M;Yoshihiro,I.;Toshiy,S and Hido,I.;(2005). Antioxadative activity in egg plant Mizu – Nasu Fruit and its enhancement injury ,Horticult. Res . Japan ,4(2):229-232.
19- 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 notoginseng extract.Am J. Chin. Med., 16:234-242.

الجدول (1): اهم المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصين المائي والكحولي للجزر والباذنجان والكركم

المواد الكيميائية	مستخلص الجزر المائي	مستخلص الجزر الكحولي	مستخلص الكركم المائي	مستخلص الكركم الكحولي	مستخلص الباذنجان المائي	مستخلص الباذنجان الكحولي
الفينولات	+	+	-	-	+	+
الراتنجات	+	+	±	+	+	+
التانينات	+	+	±	+	+	+
الفلافونات	+	+	+	+	+	+
القلويدات	+	+	+	+	±	+
الكلاكوسيدات	+	+	+	+	+	+
الصابونيات	-	-	+	+	+	+

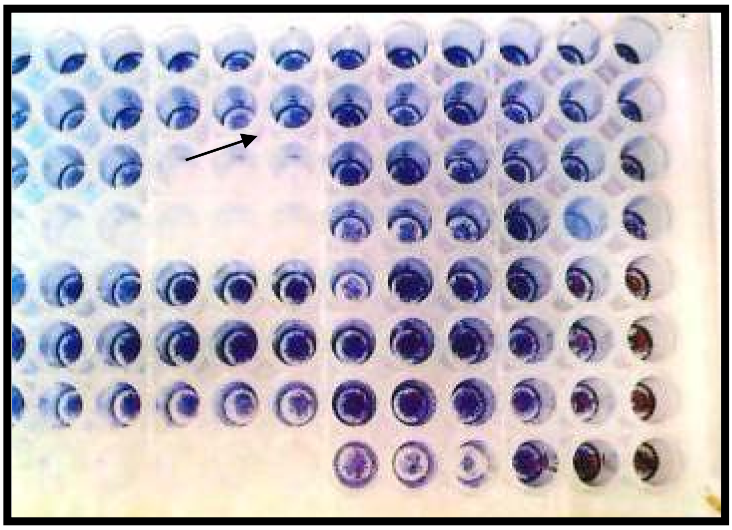
+ كمية عالية من المادة الكيميائية في المستخلص
± كمية قليلة من المادة الكيميائية في المستخلص
- عدم وجود المادة الكيميائية في المستخلص

الجدول (2) : التاثير السمي للمستخلصات الخام في نمو الخطوط الخلوية السرطانية مقاسة بجهاز الاليزا و بطول موجي 492 نانومتر.

	التركيز مايكروغرام \مليلتر	معدل الخلايا الحية	سيطرة	معدل الخلايا الميتة
المستخلص1				
كركم مائي	62.5	0.420	0.706	0.286
	125	0.415	0.706	0.291
	250	0.401	0.706	0.305
	500	0.053	0.706	0.653
المستخلص 2				
كركم كحولي	62.5	0.473	0.706	0.233
	125	0.471	0.706	0.235
	250	0.470	0.706	0.236
	500	0.038	0.706	0.668
المستخلص3				
باذنجان مائي	62.5	0.442	0.706	0.264
	125	0.409	0.706	0.297
	250	0.071	0.706	0.635
	500	0.048	0.706	0.658
المستخلص4				
باذنجان كحولي	62.5	0.693	0.706	0.013
	125	0.642	0.706	0.064
	250	0.414	0.706	0.292
	500	0.052	0.706	0.654
المستخلص 5				
جزر مائي	62.5	0.647	0.706	0.059
	125	0.639	0.706	0.067
	250	0.627	0.706	0.079
	500	0.322	0.706	0.384
المستخلص6				
جزر كحولي	62.5	0.695	0.706	0.011
	125	0.622	0.706	0.084
	250	0.604	0.706	0.102
	500	0.349	0.706	0.357

الجدول (3): النسبه المئوية للخلايا السرطانية الميتة .

نوع المستخلص	التركيز 62.5 مايكروغرام/مليلتر	التركيز 125 مايكروغرام\مليلتر	التركيز250 مايكروغرام/مليلتر	التركيز 500 مايكروغرام/مليلتر
مستخلص الكركم المائي	%40.5	%41.21	%43.20	%92.49
مستخلص الكركم الكحولي	%33.00	%33.2	%33.4	%94.61
مستخلص الباذنجان المائي	%37.39	%42.06	%89.99	%93.20
مستخلص الباذنجان الكحولي	%1.84	%9.06	%41.35	%92.63
مستخلص الجزر المائي	%8.35	%9.49	%11.18	%54.39
مستخلص الجزر الكحولي	%1.55	%11.89	%14.44	%50.56



الشكل (1) خلايا سرطانية حية و ميتة في طبق الزرع النسيجي معاملة بمستخلص الباذنجان المائي و الكحولي.
الخلايا الحية تاخذ الصبغة بينما الخلايا الميته لا تاخذ الصبغة ،اذ السهم يشير الى فعالية مستخلص الباذنجان المائي بتركيز 500 مايكروغرام\ مليلتر .

Evaluation of the Effect of Some Plant Extracts *on Mice Mammary Adenocarcinoma* (AMN3).

Hanan. A. Al-Naemi
Dept. of Biology ,College of Education for Pure Science (Ibn Al-haitham)
University of Baghdad
Amina. N. Al- Thawani
Genetic Engineering and Biotechnology Institute for Post Graduated Studies
Baghdad University

Received on:28 January 2013 , Accepted on:5 May 2013

Abstract

The cytotoxic effect of different concentrations of Crude extracts of *Solanum melongena* , *Curcuma longa and Daucus carota* on mice mammary adenocarcinoma cell line was studied . The concentrations used were 62.5 125 , 250, 500 *Microgram/militer* for 24,48 and 72 hour . These exracts were prepared by using alcoholic and hot water methods . The preliminary chemical tests revealed acidic pH of all extracts. The results showed a clear toxic effect of all extracts in a time and dose –dependent manner . The *Curcuma longa* had the highest effect on adenocarcinoma 94.61% , followed by *Solanum melonga(* 93.20%) and the lowest effect was by *Daucus carota* extract 54.39%.

Key word: Cancer, Extract, *Solanm melongena* , *Curcuma longa* , *Daucus carota* ,