جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تقييم التأثيرات السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات الأسل *Juncus rigidus* على خطوط خلايا سرطانية بشرية خارج الجسم الحي

رسالة مقدَّمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة -علم الحيوان.

كتبت بواسطة:

علي محمد حسين الجبوري

بكالوريوس علوم الحياة / جامعة بغداد

2012-2011

بإشراف

أ.م.د. لقاء حسون صكبان

تموز **2022**م ذو الحجة **1443**هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ وَمِنْ آيَاتِهِ خَلْقُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافُ أَلْسِنَتِكُمْ
وَأَلْوَانِكُمْ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِلْعَالِمِينَ (22) وَمِنْ آيَاتِهِ مَنَامُكُمْ
بِاللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَابْتِغَاؤُكُمْ مِنْ فَضْلِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ
يَسْمَعُونَ (23) وَمِنْ آيَاتِهِ يُرِيكُمُ الْبَرْقَ خَوْفًا وَطَمَعًا وَيُنَزِّلُ مِنَ
السَّمَاءِ مَاءً فَيُحْيِي بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ
يَعْقِلُونَ (24) ﴾

صدقَ اللهُ العليُّ العظيم

سورة الروم (22-24)

إقرار المشرف على الرسالة

أشهد بأن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع :

المشرف : لقاء حسون صكبان

اللقب العلمي: أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ ٣ /٦/ 2022

توصية رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الى الاقرار المبين من قبل المشرف على الرسالة ، أحيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع :

الأسم : د. نصير ميرزا حمزة

اللقب العلمي : استاذ مساعد

رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ٣ / ٦/ 2022

إقرار المقوم اللغوي

أشهدُ إن هذه الرسالة الموسومة (**دراسة التاثيرات السمية لنبات الاسل *Juncus rigidus* في الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي**)تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع:

الاسم: محمد عبد الرسول جاسم

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

الكلية والجامعة: جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الانسانية

التاريخ: 29 / 7 / 2022

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة أدناه ، بإطلاعنا على الرسالة الموسومة (**دراسة التاثيرات السمية لنبات الاسل *Juncus rigidus* في الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي**) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا إنها جديرة بالقبول بتقدير ( ) لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : علي حسين محمد

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : كلية العلوم للبنات/ جامعة بابل

التاريخ : ٢٨/ ٧/ 2022

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : رند محمد عبد الحسين

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : كلية العلوم / جامعة الكوفة

التاريخ : ٢٨/ ٧/ 2022

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : زينب نزار جواد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ : ٢٨/ ٧/ 2022

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الاسم : لقاء حسون صكبان

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء – كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : ٢٨/ ٧/ 2022

مصادقة عمادة كلية التربية

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :

الاسم : حميدة عيدان الفتلاوي

المرتبة العلمية : استاذ

العنوان : جامعة كربلاء – كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 1 / 8 / 2022

الإهداء

إلى المصطفى المختار صاحب الشفاعة و المقام المحمود..
النبي الاكرم محمد صل الله عليه وآلة وسلم ...
إلى الانوار الساطعة والأقمار المنيرة . .. الأئمة الأطهار
عليهم الصلاة والسلام..
إلى من علمني الوقوف بثبات على هذه الارض ... أبي اعزه
الله...
إلى نبع المحبة و الايثار ... والدتي العزيزة ...
الى من افاضوا علي من فضل علمهم .... أساتذتي
المحترمين ...
إلى نبع الحب و الحنان.. زوجتي الغالية...
إلى من شاركوني المحبة و الاحترام.. أخوتي وأخواتي...
إلى كل من كان له اثر في اتمام هذا العمل...
أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا...

علي محمد

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين الذي أحصى كل شئ عددا و جعل لكل شئ أمدا و لا يشرك في حكمة أحدا ، الذي أفاض العلم من معدن الكرم و علم الأنسان بالقلم ، والصلاة والسلام على النبي الأمي الحبيب عالي المقام ذي المنزلة الرفيعة مدينة العلم أشرف الخلائق محمد بن عبد الله وعلى آل بيته الطيبين الطاهرين . لا يسعني ألا و أن اتوجه بجزيل الشكر و التقدير و اجل الاحترام و عظيم الامتنان الى استاذتي الفاضلة الأستاذ المساعد الدكتورة لقاء حسون صكبان لاقتراحها موضوع الرسالة و ما بذلت من جهد ، و ما أوصت به من توجيهات قيمة و ارشادات علميه طيلة مدة الدراسة كان لها بالغ الاثر في انجام هذا العمل . .

كما ويسرني أن أتقدم ببالغ الشكر والتقدير إلى رئاسة جامعة كربلاء و عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة لأتاحتها الفرصة لإكمال دراستي . وأتقدم بالشكر الخاص لرئيس قسم علوم الحياة الأستاذ المساعد الدكتور نصير ميرزا حمزة المحترم والاستاذ المساعد الدكتورة نيبال امطير والى جميع أساتذة القسم لجهودهم المبذولة في دعم طلبة الدراسات العليا والمساعدة التي قدموها التي ذللت كثيرا من مصاعب الدراسة راجياً من العلي القدير ان يوفقهم ويحفظهم لما فيه الخير و الصلاح . . .

كما أتقدم ببالغ الشكر والامتنان إلى زملائي وزميلاتي من طلبة الدراسات العليا وكل من كان له يد العون لإنجاز هذا البحث ، سائلا" المولى عز و جل التوفيق و السداد للجميع

علي محمد

الخلاصة

اجريت الدراسة في الفترة الممتدة بين شهر تشرين الاول 2021 وآذار 2022، حيث تضمنت دراسة التأثير السمي للمستخلصات الخام المائية والكحولية للمجموع الخضري لنبات الاسل *Juncus rigidus* على سرطان الرئة البشري Adenocarcenomic 549 (A549) وسرطان الثدي البشري Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) والخلوي الطبيعي للخلايا الليفية البشرية الطبيعية Normal Human Fibroblasts (NHF) وباستخدام ستة تراكيز (200,100,50,25,12.5,6.25) µg/mlولثلاث فترات من التعريض (72,48,24) ساعة.

تم احتساب التقدير الكمي للمركبات الفعالة للمستخلصات المائية والكحولية للنبات (الفينولات - التانينات- الفلافينويدات - القلويدات) وقدرت عند المستخلص المائي بـــ 8.82,5.91,13.42,16.29 mg/g على التوالي ، بينما أعطى المستخلص الكحولي 7.91,6.06,13,84,16.34 mg/g على التوالي . كما تم حساب الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص المائـــــي و الكـــــحولي بطريقـــــــة (DPPH) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl أذ بلغــت نســب تثبــيط الجــذور الحــرة للمستخلــــــص المــائي 26%,21.51%,18.93%,12.18%,10,56% وللمستخلـــــــــص الكحـــــــــولي24.31%,20.51 %,19.81%,16.43 % ,9.31% عند التراكيز 10,20,30,40,50 mg/ml وعلى التوالي .

أظهرت نتائج اختبار فعالية مستخلصات المائية والكحولية لنبات الأسل على خط سرطان الرئة البشــري (A549) ارتفــاع فــي معــدل النسـبة المئويــة لتثبـيط نمـو الخلايـا ولجميـع فتـرات التعـريض 72,48,24 ساعة وبفارق معنوي عند مستوى احتمال ($p \leq 0.05$) عند المقارنـة مـع مجموعـة السيطرة (الخلايا الغير معرضة للمستخلص)، حيث كانت نسب التثبيط للمستخلص المائي عند فترات التعريض 72,48,24 ســاعة 10.13%±33 , 28.85%±2.43 , 39.36%±1.29 عنــد التركيــز 6.25 µg/ml وعلى التوالي , وأخذ معدل النسبة المئوية للتثبيط بالارتفاع تدريجيا إذ وصلت نسبة التثبيط عند التركيز 200 µg/ml الـى37.51%±1.76 , 54.12%±2.47 , 68.96%±2.15 علـى التـوالي . وارتفعت النسبة المئوية للتثبيط عند معاملـة الخلايا للمستخلص الكحولي وبلـغ معدل النسبة المئويـة لتثبيط الخلايـا 15.29%±3.04, 30.54%±5,42.27%±1 عنـد ادنـى تركيـز 6.25 µg/ml ، وارتفعـت معـدلات التثبيط لتصل إلى 39.38%±4.13, 77.69%±5, 83.45%±2.9 على التوالي عند التركيز 200 µg/ml ولأوقات التعريض الثلاثة.

اما نتائج خط خلايا سرطان الثدي البشري (MCF-7) فلم تختلف عن خط خلايا سرطان الرئة بفعالية مستخلصات نبات الأسل لتثبيط نمو الخلايا السرطانية ، فقد كان معدل النسبة المئوية لتثبيط الخلايا

عند استخدام المستخلص المائي للتركيز 6.25 μg/ml ولأوقات التعريض الثلاث 24 , 48 , 72 ساعة ±0.57 6.27% ±2.11, 9.73% ±0.89 , 28.21% على التوالي و بلغ معدل التثبيط للمستخلص المائي عند التركيز 200 μg/ml 28.8%±1.4 , 45.97%±1.19 , 62.12%±1.38 على الترتيب أما عند استخدام المستخلص الكحولي أخذ التأثير التثبيط بارتفاع لخلايا الخط السرطاني (MCF-7) حيث تراوحت النسبة المئوية لمعدل التثبيط لأقل تركيز 6.25 μg/ml 8.45%±2.05 , 10±2%.34 32.85%±2.06, على التوالي . زاد معدل التثبيط باستخدام المستخلص المائي عند التركيز200 μg/ml ليسجل 31.82%±1.63, 54.5%±2.45 ,72.33±2.31 على التوالي.

ظهرت اثر المستخلصات المائية للمجموع الخضري لنبات الاسل بشكل أقل سمية على خط الخلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF مقارنةً مع الخط السرطاني (A549) وخط (MCF-7), أذ سجل المستخلص المائي نسبة مئوية للتثبيط 4.35%±1.13, 4.66%±0.44 , 4.11%±1.33 على التوالي لأوقات التعريض الثلاث 72,48,24 ساعة عند التركيز 6.25 μg/ml بينما عند استخدام التركيز 200 μg /ml سجلت نسب التثبيط 25.95%±1.91, 27.95%±2.7 , 29.91%±1.36 على التوالي . بينما ظهرت نتائج المستخلص الكحولي اكثر سمية بالمقارنة مع المستخلص المائي على خلايا الخط الطبيعي (NHF) أذ تراوحت نسبة التثبيط بالمستخلص الكحولي عند التركيز 6.25 μg/ml 5.18±0.68, 5.66%±0.37 , 5.49%±0.44 على التوالي . زاد معدل النسبة المئوية لتثبيط الخلايا الطبيعية للتركيز 200 μg/ml أذ سجل 28.22%±1.29, 31.98%±0.73 , 38.78%±3.29على التوالي . مما تقدم نستنتج ان المستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* تمتلك الكثير من المركبات النشطة والتي لها تأثير سمي خلوي واضح على نمو خلايا خط سرطان الرئة البشري A549 والخط الخلوي لسرطان الثدي البشري MCF-7 ولجميع فترات التعريض والتراكيز المستخدمة من مستخلصات النبات المائية والكحولية بينما ظهرت نسب التثبيط لخط خلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF واطئة مقارنةً مع تأثيره على الخطين السرطانيين.

قائمة المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
الخلاصة	**I**
قائمة المحتويات	**III**
قائمة الجداول	**VI**
قائمة الأشكال والصور	**IX**
قائمة الملاحق	**XI**
قائمة المختصرات	**XIII**
1-الفصل الأول: المقدمة Introduction	**2-1**
1-1 المقدمة	**1**
2-1 الهدف من الدراسة	**3**
2 -الفصل الثاني: استعراض المراجع Literatures Review	**23-4**
1-2 نبات الأسل *Juncus rigidus*	**4**
1-1-2 وصف نبات الأسل *Juncus rigidus* و توزيعه الجغرافيض	**4**
2-1-2 تصنيف نبات *Juncus rigidus*	**5**
3-1-2 المركبات الفعالة في نبات الاسل *Juncus rigidus*	**5**
4-1-2 الاهمية الطبية لنبات الاسل Juncus rigidus و العائلة الاسلية	**6**
5-1-2 فعالية نبات الاسل على بعض أنواع السرطانات	**7**
6-2-1 منتجات الايض الثانوية Secondary Metabolites	**7**
2-2 السرطان Cancer	**11**
2-2-2 تصنيف السرطان	**12**
3-2-2 تسمية السرطان	**12**

4-2-2 العوامل المسببة للسرطان factors That Causes of Cancer The	**13**
5-2-2 علاج السرطان Treatment of Cancer	**18**
6-2-2 وراثة السرطان Genetic of the cancer	**20**
3-2 الزراعة النسيجية Tissue Culture	**21**
4-2 الخطوط الخلوية السرطانية Tumor Cell Lines	**21**
3-الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل Materials and Methods	**41-24**
3-1المواد Materials	**24**
1-1-3 الأجهزة المستخدمةInstruments	**24**
2-1-3 الزجاجيات والأدوات المستخدمة Glassware and tools used	**25**
3-1-3 المواد الكيميائية Chemicals	**25**
2-3 طرائق العمل Methods	**27**
1-2-3 جمع النبات و تحضير المستخلصات النباتية	**23**
2-2-3 التقدير الكمي للمركبات الفعالة في المستخلصات الخام للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل Juncur Rigidus.	**30**
3-2-3 المحاليل الخاصة بالزراعة النسيجية	**37**
4-2-3 الخطوط الخلوية المستخدمة Cell Lines	**38**
5-2-3 دراسة تأثير السمية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموعة الخضرية (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* في نمو الخطوط الخلوية	**39**
3-3 التحليل الإحصائي Statistical Analysis	**41**
4- الفصل الرابع :النتائــج والمناقشة Results and Discussion	**76-42**
1-4 التقدير الكمي للمركبات الفعالة للمستخلصات المائية والكحولية في المجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الأسل *Juncus rigidus*	**42**
2-4 اختبار الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus*	**42**
3-4 التقدير الكمي لمركبات أنواع الاوكسجين Reaction Oxygen Species (ROS) للمستخلصات المائية والكحولية في المجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الأسل	**43**

Juncus rigidus	
4-4التأثيرات السمية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* في الخطوط السرطانية و الطبيعية	**45**
5-4 مقارنة بين التأثيرات السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والأوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (A549 وMCF7) والخط الطبيعي (NHF)	**68**
الاستنتاجات والتوصيات	**78-77**
الاستنتاجات	**77**
التوصيات	**78**
المصادر	**98-79**
الملاحق	**111-99**
الخلاصة باللغة الانكليزية	**I-II**

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
جدول (4-1)	نتائج التقدير الكمي للمركبات الفعالة للمستخلص المائي والكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الأسل *Juncus rigidus*	42
جدول (4-2)	نسب تثبيط الجذور الحرة في المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الأوراق) لنبات الأسل *Juncus rigidus*	43
جدول (4-3)	الجدول تأثير المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل Juncus rigidus على خط خلايا سرطان الرئه البشري (A549) لأوقات التعريض (72,48,24) ساعة.	46
جدول (4-4)	تأثير المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل على خط سرطان الرئة البشري (A549) لاوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة	47
جدول (4-A 5)	مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئة البشري (A549) لوقت التعريض (24) ساعه.	48
جدول (4-B 5)	مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئة البشري (A549) لوقت التعريض (48) ساعه.	49
جدول (4-C 5)	مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئة البشري (A549) لوقت التعريض (72) ساعه	49
جدول (4-6)	تأثير المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري-MCF (7) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة	54
جدول (4-7)	تأثير المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري-MCF (7) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة.	55
جدول (4-A 8)	الجدول مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري7 -MCF لوقت التعريض 24 ساعه	56

جدول (4-8 B)	مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF- 7 لوقت التعريض 48 ساعه.	57
جدول (4-C8)	الجدول مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري7 -MCF لوقت التعريض 72 ساعه.	57
جدول (4-9)	تأثير المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري(NHF) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة	62
جدول (4-10)	تأثير المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري(NHF) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة	63
جدول(4-11 A)	مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري NHF لوقت التعريض (24) ساعة.	64
جدول(4-11 B)	الجدول مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري NHF لوقت التعريض (48) ساعة .	65
جدول(4-11 C)	مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري NHF لوقت التعريض (72) ساعة .	65
جدول(4-12 A)	مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) و الخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 24 ساعة .	69
جدول(4-12 B)	مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص المائي للمجموع الخضري(السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) و الخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 48 ساعة	70

جدول(4-12 C)	مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 72 ساعة	70
جدول(4-13 A)	مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7، A549) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 24 ساعة .	73
جدول(4-13 B)	مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 48 ساعة .	73
جدول(4-13 **C**)	مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 72 ساعة .	74

قائمة الاشكال والصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	رقم الصفحة
شكل (1-2)	Aالنورة الزهرية ، B المظهر العام لنبات الاسل *Juncus rigidus*	**4**
شكل (1-3)	المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و أوراق) لنبات الاسل *Juncu rigidus*	**28**
شكل (2-3)	المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Jucus rigidus*	**28**
شكل (3-3)	يوضح مراحل عملية الاستخلاص	**29**
شكل (3-4)	المنحنى القياسي لحامض الغاليك	**30**
شكل (3-5)	المنحنى القياسي لمركب الكاتشين Catchin	**31**
شكل (3-6)	المنحنى القياسي الكيرسيتين	**32**
شكل (3-7 A)	المنحنى القياسي لحامض الاسكوربيك	**35**
شكل (3-7 B)	المنحنى القياسي لحامض الكاليك	**35**
شكل(4-1 A)	خلايا الخط السرطاني (A549) لسرطان الرئة البشري غير المعرضة للمستخلصات (السيطرة) نلاحظ كثره اعداد الخلايا و ظهور الخلايا بشكل المغزلي و تراصها لقلة المسافات البينية , بعد 72 ساعة.	**50**
شكل(4-1 B)	خلايا الخط السرطاني (A549) لسرطان الرئة البشري المعرضة للمستخلص المائي يمكن ملاحظة وجود مسافات بينية كبيرة وتغير شكلها المغزلي كدليل على تأثير المستخلص المائي على اعداد الخلايا , بعد 72 ساعة .	**50**
شكل (4-1 C)	خلايا الخط السرطاني (A549) لسرطان الرئة البشري المعرضة للمستخلص الكحولي نلاحظ ان المسافات البينية اصبحت كبيرة و قلة في اعداد الخلايا و تغير في شكلها المغزلي كدليل على تأثير المستخلص الكحولي على حيوية الخلايا, بعد 72 ساعة.	**51**
شكل(4-2 A)	خلايا خط (MCF-7) غير المعرضة للمستخلصات السيطرة (كثره اعداد الخلايا و ظهور الخلايا بشكل المغزلي و تراصها لقلة المسافات البينية) بعد 72 ساعة .	**58**

شكل(4-2 B)	خلايا خط (MCF-7) المعرضة للمستخلص المائي (وجود مسافات بينية مع نقصان في اعداد الخلايا و تغير شكلها المغزلي كدليل على تأثير المستخلص المائي على اعداد الخلايا و حيويتها) بعد 72 ساعة.	**58**
شكل(4-C2)	خلايا خط (MCF-7) المعرضة للمستخلص الكحولي (كبر المسافات البينية و قلة في اعداد الخلايا و تغير في الشكل المغزلي كدليل على تأثير المستخلص الكحولي على حيوية الخلايا) بعد 72 ساعة.	**59**
شكل(4-3 A)	خط خلايا NHF الطبيعية غير المعرضة للمستخلصات (السيطرة) نلاحظ كثره اعداد الخلايا و ظهور الخلايا بشكل المغزلي و تراصها لقلة المسافات البينية) .	**66**
شكل (4-3 B)	خط خلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF المعرضة للمستخلصات نلاحظ نقصان ضئيل في اعداد الخلايا و قلة المسافات البينية بين الخلايا مع المحافظة على شكلها المغزلي كدليل على ان المستخلصات آمنه على حيوية الخلايا و اعدادها بعد 72 ساعة.	**66**

قائمة الملاحق

رقم الملحق	عنوان الملحق	رقم الصفحة
ملحق (1)	تأثير المستخلص المائي على خط سرطان الرئة البشرية A549 لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة	99
ملحق (2)	تأثير المستخلص الكحولي على خط سرطان الرئة البشرية A549لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة	99
ملحق (3)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط سرطان A549 لوقت التعريض 24 ساعة	100
ملحق (4)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط سرطان A549 لوقت التعريض 48 ساعة	100
ملحق (5)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط سرطان A549لوقت التعريض 72 ساعة	101
ملحق (6)	تأثير المستخلص المائي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة	101
ملحق (7)	تأثير المستخلص المائي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة	102
ملحق (8)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لوقت التعريض 24 ساعة	102
ملحق (7)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لوقت التعريض 48 ساعة	103
ملحق (8)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لوقت التعريض 72 ساعة	103
ملحق (9)	تأثير المستخلص المائي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة	104
ملحق (10)	تأثير المستخلص الكحولي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة	104
ملحق (11)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لوقت التعريض 24 ساعة	105

ملحق (12)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لوقت التعريض 48 ساعة	105
ملحق (13)	مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على الخط الطبيعي NHF لوقت التعريض 72 ساعة	106
ملحق(14)	مقارنة بين تأثيرات المستخلص المائي على الخطوط الخلوية الثلاثةNHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 24 ساعة	106
ملحق (15)	مقارنة بين تأثيرات المستخلص المائي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 48 ساعة	107
ملحق (16)	مقارنة بين تأثيرات المستخلص المائي على الخطوط الخلوية الثلاثةNHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 72 ساعة	107
ملحق (17)	مقارنة بين تأثيرات المستخلص الكحولي على الخطوط الخلوية الثلاثةNHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 24 ساعة	108
ملحق (18)	مقارنة بين تأثيرات المستخلص الكحولي على الخطوط الخلوية الثلاثةNHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 48 ساعة	108
ملحق (19)	مقارنة بين تأثيرات المستخلص الكحولي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 72 ساعة	109
ملحق(20)	مقارنة بين تأثير المستخلص المائي على معدل مجموع التراكيز للخطوط الخلوية NHF , MCF-7 , A549 الثلاثة لاوقات التعريض الثلاثة (72,48,24) ساعة	110
ملحق (21)	مقارنة بين تأثير المستخلص الكحولي على معدل مجموع التراكيز للخطوط الخلوية NHF , MCF-7 , A549 الثلاثة لاوقات التعريض الثلاثة (72,48,24) ساعة	111

قائمة المختصرات

التسلسل	المختصر	المصطلح
1.	A549	Adenocarcenomic 549
2.	AMGM	Ahmed Majeed Glioplastoma Multiform
3.	AMJ-13	Ahmed Majeed-13
4.	BCG	Bromo Cresol Green
5.	CCK-8	Cell Counting kit-8
6.	DNA	Deoxyribonucleic acid
7.	DMSO	Dimethyl sulphoxide
8.	DPPH	2,2- diphenyl -1- picrylhydrazyl
9.	EDTA	Ethylene diamine tetra acetic aced
10.	HBV	Hepatitis B Viruses
11.	HCV	Hepatitis C Viruses
12.	HCC	Hepatocellular carcinoma
13.	HBL-100	Human Breast Line-100
14.	HPV-18	Human papilloma virus-18
15.	Hep-2	Humane Epidermoid Larynx carcinoma
16.	IR	Inhibition rate
17.	IU	International unit
18.	MMP-2	Matrix metalloproteinase-2
19.	MRC-5	Medical Research Council -5
20.	MSC	Melanoma skin cancer
21.	MDAMB 231	Metastaic Derived Adenocarcinoma Mammary Breast 231
22.	MTT	Methyl Thiazolyl Tetrazolium

23.	MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
24.	µg	Microgram
25.	Mg	Milligram
26.	ML	Milliliter
27.	NM	Nanometre
28.	NCI	National cancer Institute
29.	NMSC	Nonmelanoma skin cancer
30.	NHF	Normal Human Fibroblasts
31.	PBS	Phosphate buffer Saline
32.	ROS	Reactive Oxygen Species
33.	RPMI– 1640	Rosswell Park Memorial Insitute–1640
34.	SFM	Serum Free Media
35.	SPSS	Statistical package for social science
36.	UV	Ultraviolet
37.	W.H.O	World Health Organization

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction

1-1 المقدمة

يعد نبات الاسل الخشن *Juncus rigidus* احد افراد العائلة الأسلية Juncaceae التي تضم ما يقرب من (250-300) نوع حول العالم . من بين النباتات في العراق ، يحتوي هذا الجنس على ستة أجناس فرعية (Juncus و Genuini و Subulati و Pseudotenageia و Poiophylli و Septati) ، وهو منتشر على نطاق واسع ويضم 16 نوع (AL-Mounasi & Fatin,2009). نبات الاسل الخشن هو نبات اسطواني معمر لونه اخضر داكن يتجمع بشكل باقات يصل ارتفاعه الى 1.5 متر أوراقه اسطوانية و مستدقة مجوفة والموطن الطبيعي له هو المستنقعات والمياه الضحلة والتربة شبه المالحة و ضفاف الانهار ويمكن العثور علية في مجموعة متنوعة من المناخات الرطبة والمعتدلة ويمتاز بتحمله الملوحة المرتفعة جدا التي تصل لملوحة مياه البحر (AlAmery, & AlGaraawi ,2020; كريم واخرون ،2013). يستعمل الاسل بشكل عام في صناعة الحصير و صناعة الورق وكنبات زينة ، كذلك يستخدم في معالجة العديد من الامراض لما يحتويه من الألياف غير القابلة للهضم ومركبات نشطة بيولوجيا مثل الكومارين ، والفلافونويد Flavonoid، والستيرول Sterol، والتربينات Trpenoids، والأحماض الفينولية Phenolic Acids، والكاروتينات Carotenes، والفينانثرين Phenanthrenes وكذلك البذور غنية بالأحماض الدهنية FattyAcids والأحماض الأمينية AminoAcids (Singh *et al.*,2019; Hamza *et al.*,2020).

تمثل المستخلصات النباتية مصدرًا للعديد من المركبات المهمة و الفعالة و التي تعمل كمضادات لنمو الخلايا السرطانية حيث اوضح كل من (Ma *et al.*,2016;Stefkó *et al.*,2020 ;Kúsz *et al.*,2021) أن مركبات الفلافونويد Flavonoid و الفينانثرين Dihydrophenanthrenes والابيجينين Apigenin والفينولات Phenoles لها تأثيرات سامة لخلايا بعض الخطوط سرطانية بشرية ، بالاضافه الى تأثيراتها المضادة لنمو الجراثيم و الالتهابات Anti-inflamenation كما تعمل كمضادات للأكسدة . كذلك أشارت دراسات (Petrovska,2012 Keskin *et al.*,2018; Roy and Bharadvaja ,2017؛)التي أجريت على النباتات الطبية والمواد الفعالة المشتقة منها إلى زيادة الاهتمام بهذه النباتات في السنوات الأخيرة واوضحت اهمية استعمال هذه المنتجات النباتية بشكل عام من قبل المرضى الذين يعانون من امراض مزمنة السرطان وأمراض الكبد وجهاز الدوران والاضطرابات الروماتيزمية .

يعرف السرطان cancer بأنه مرض يصبح منه التكاثر والانقسام للخلايا غير الطبيعية داخلها او تغزو الخلايا المجاورة من الجسم وتنتشر إلى الأعضاء الأخرى من خلال الدورة الدموية واللمفاوية،

المقدمة Introduction

يصنف السرطان كسبب رئيسي للوفيات في جميع أنحاء العالم في القرن الحادي والعشرين وفقًا لمنظمة الصحة العالمية Word Health Organization (WHO) ، حيث يعد السرطان هو السبب الأول أو الثاني للوفاة قبل سن 70 عامًا في معظم البلدان في عام 2015 (Bray *et al*.,2018) ، اما عام 2020 كان هناك ما يقدر بـ 19.4 مليون حالة سرطان جديدة وحوالي 10,1 مليون حالة وفاة بالسرطان ومن المتوقع أن ترتفع الحالات الجديدة والوفيات المرتبطة بالسرطان إلى 21.2 و 28.5 مليون سنويًا على التوالي بحلول عام 2040 بزيادة قدرها 46%عن عام 2020 بشكل عام ، تتزايد معدلات الإصابة بالسرطان والوفيات المتسببة منه بسرعة في جميع أنحاء العالم. و أسباب هذه الزيادات معقدة ، إذ تتداخل عدة عوامل في أحداث السرطان بصورة مباشرة أو غير مباشر مثل الكحول والمواد المسرطنة كذلك العمر واضافه الى النظام الغذائي للفرد و العوامل الوراثية و الهرمونية بالإضافة الى الاشعاع والمواد الكيميائية كل ذلك قد يتأزر مع بعض أو منفرد في تكوين أنواع مختلفة من السرطان (Sung *et al*.,2021; Kimani,2022).

يعمل السرطان على تحويل الخلية الطبيعية إلى خلية غير طبيعية (اي حدوث خلل او طفرة في DNA) أو خلل التنسج Dysplasia مع التقدم إلى خلية غازية أو خبيثة ،اما على المستوى الخلوي يتطور السرطان من خلال ثلاث مراحل محددة: البدء والتعزيز والتقدم. تختلف الخلايا السرطانية عن الخلايا الطبيعية في عدة جوانب(Idikio,2011) . الخلايا السرطانية أقل تنظيمًا مقارنة بالخلايا الطبيعية.إذ ينتج التكاثر غير المنضبط للخلايا السرطانية عن تشوهات متراكمة تؤثر على عدد من آليات تنظيم الخلايا ، والتي تعكس السلوك الذي يميز الخلايا السرطانية عن نظيراتها الطبيعية (Fimognari *et al*.,2011). والعديد من التغيرات على مستوى الجينية والجزيئية، كما تتأثر مسارات الإشارات المتعددة في وقت واحد بتطور الورم ، مثل عدم انتظام عملية إصلاح الحمض النووي DNA، والدورة الخلوية ، والموت المبرمج للخلايا Apoptosis، وتوازن عمليتي الأكسدة والاختزال (Hanahan & Weinberg,2011; Chaudhary *et al*.,2015).

على الرغم من تحقيق النجاح الكبير في مجال الجراحة والعلاج الكيميائي و الإشعاعي لمرضى السرطان ، لا يزال الكثيرون يعبرون عن مخاوفهم بشأن طرق العلاج هذه بسبب قيودها الأكثر وضوحًا وآثارها الجانبية (Alzahrani *et al*.,2021)، لذلك اتجهت الانظار حول النباتات الطبية التي تمثل مصدرًا محتملا واسعًا للمركبات المضادة للسرطان من خلال تغير مفعول الأدوية التقليدية للعلاج الكيميائي وحد من سميتها (El-Mesery *et al*.,2009). مؤخرا أدى انخفاض فعالية الأدوية السامة لعلاج السرطان بسبب المقاومة القوية للخلايا السرطانية ومضادات الأورام Antitumor ، إذ أعطت

المقدمة Introduction

نتائج غير مرضية في مجال الطبي ومقاومة متقلبة للعوامل المضادة للأورام Antitumor Factors وزيادة موانع استخدامها مما جعل استخدام العقاقير الطبيعية موضع اهتمام أكبر بفحص النباتات لاستخدامها في الوقاية من السرطان وعلاجه. للنباتات تاريخ طويل من الاستخدام في علاج السرطان ولا تزال مصدرًا رئيسا للأدوية الجديدة (Greenwell & Rahman,2015;Omara *et al*.,2020).

2-1 أهداف الدراسة

1- اختبار التقدير الكمي للمركبات الفعالة (الفينولات -التانينات- الفلافينويدات - القلويدات) في المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل الخشن *Juncus rigidus* .

2- اختبار التقدير فعالية المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل الخشن *Juncus rigidus* كمضادات أكسدة ، بطريقة DPPH .

3- الكشف عن سمية المستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل الخشن *Juncus rigidus* على خط الخلايا الليفية البشرية الطبيعية Normal Human Fibroblast (NHF) خارج الجسم الحي واختبار معرفة فعالية.

4- فعالية المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على تثبيط نمو خلايا خط سرطان الرئة البشري (A549) و خلايا خط سرطان الثدي البشري (MCF-7) خارج الجسم الحي .

5- مقارنة التأثيرات السمية للمستخلصات المائية و الكحولية للنبات على الخطوط السرطانية (A549 و MCF-7) من جهة و الخط الطبيعي (NHF) من جهة اخرى .

الفصل الثاني

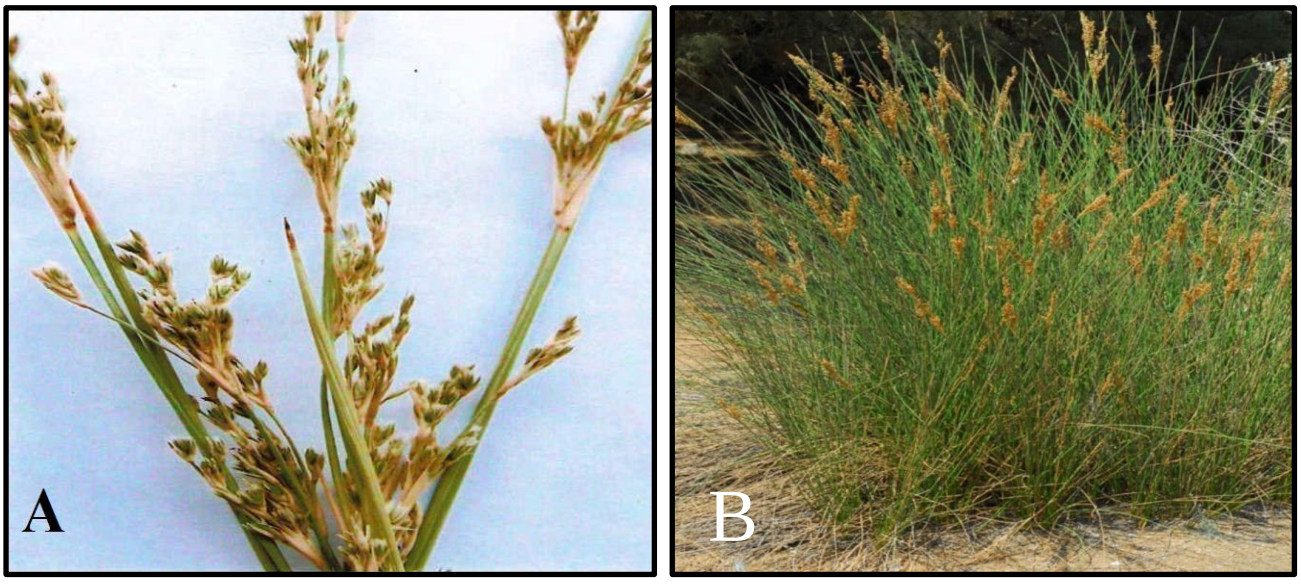
استعراض المراجع

Literatures Review

1-2 نبات الأسل *Juncus rigidus*

1-1-2 وصف نبات الأسل *Juncus rigidus* و توزيعه الجغرافي

يعد نبات الأسل (*Juncus rigidus*) احد افراد العائلة الأسلية (Juncaceae) وهو معروف ايضا باسم سماره واسل، والأسماء الشائعة في غرب إفريقيا السيمار العربي ، سومير (Mohmoud and Fatin,2009) ، يعتبر من النباتات العشبية المعمرة دائمة الخضرة متجمعة على شكل كتل واسع الانتشار وموجودة في أجزاء كثيرة من النصف الجنوبي للكرة الأرضية تنمو هذه الأنواع في الأهوار والمستنقعات ذات المياه الضحلة أو الاراضي الرطبة والمالحة في ظل ظروف مناخية مختلفة ، تتواجد عائلة الاسلية في العراق بجنس واحد وهوه *Juncus* التي تضم ما يقرب من 250-300 نوع وينتشر له 16 نوع عادةً مع جذور التي تنمو براعم ورقية (القصبات) نحيلة وغير متفرعة وعديمة العقد (Ramadan,2003;WatsonandDallwitz,1992; Mansour *et al*.,1986) ، الساق صلد يتراوح ارتفاعه بين (50–150) سم وله عدة أوراق أسطوانية مدببة النهاية، النورة الزهرية تكون من عدة أزهار منفصلة ومتباعدة ويعتبر الاسل من النباتات البرمائية كما موضح في الشكل (2-1) ، يستخدم النبات بشكل عام في البستنة الزراعية كنباتات زينة وكذلك يدخل في صناعة أدوات الكتابة والصنادل والسلال بالأضافة الى استخدامه كفتائل في شموع الاضاءة و الحبال(El-Shamy *et al*.,2015; Vyas *et al*.,2021).



شكل(2-1) (A&B) A النورة الزهرية ، B المظهر العام لنبات الاسل *Juncus rigidus* (Mohmoud and Fatin,2009)

2-1-2 تصنيف نبات *Juncus rigidus*

تم تصنيف جنس *Juncus* بواسطة Linnaeus, 1753 ، الذي أبلغ عن وجود 15 نوعًا وقسمها على مجموعتين وفقًا لنوع الساق و العقد و الازهار (Abdel khalik,2010).

الملكة : النبات	Kingdom: Planta
الشعبة: مغطاة البذور	Phylum: Magnoliophyta
الصنف : ذوات الفلقة الواحدة	Class: Magnoliopsida
الرتبة : القبئيات	Order: Poales
الجنس : الأسلية	Family: Juncaceae
جنس : الاسل	Genus:*Juncus*
النوع : الاسل الخشن	Species: *Juncus rigidus*

(Ralph, *et al*., 2000).

2-1-3 المركبات الفعالة في نبات الاسل *Juncus rigidus*

تختلف المكونات الكيميائية الرئيسة الموجودة في نبات *Juncus rigidus* باختلاف العضو النباتي والموقع الجغرافي والظروف البيئية وكذلك طريقة الاستخراج و التجفيف ولكنها بشكل عام تحتوي على بعض المركبات ذات مستقلبات ثانوية من فئات مختلفة ، وهي الكومارين Coumarin، والفلافونويد Flavonid، والتربينات Terpenes، والأحماض الفينولية Phenolic acids ، والكاروتينات Carotenoids، والفينانثرين Phenanthrines وبذور هذا النبات غنية بالأحماض الدهنية والأحماض الأمينية ، تستخدم في الطب التقليدي الآسيوي كمدر للبول وعلاج للإسهال (Fawzy *et al*.,2013) .

أن اهم المركبات المتواجدة في العائلة الاسلية Juncaceae والمهمة طبياً والتي لها دور في تثبيط بعض انواع السرطان هي مركبات الفلافونويد Flavonoid ، حيث أظهرت المستخلصات الخام لبعض أنواع *Juncus* نشاطاً بيولوجياً عالياً ضد فيروس التهاب الكبد من نوع (C)(Sahuc *et al*.,2019)، يعد مركب الفينانثرين Phenanthrene الذي له دور تثبيطي على بعض الخطوط السرطانية كخلايا خط سرطان الرئة البشري Adenocarcenomic 549 (A549) والخط الخلوي السرطاني Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7)،واظهرت بعض المركبات الاخرى في نبات *Juncus* نشاطا مضادا للأكسدة قوي مثل مركب Quercetin واللوتيولين Luteolin (Kúsz *et al*.,2021).

بينت الدراسة (Stefkó *et al*.,2020) الى امتلاك نبات الاسل مشتقات الفينانثرين مثل Dihydrophenanthrenes و التي تمتلك فعالية مضادة لنمو السرطان بالاضافه العمل كمضادات التهاب و التكاثر كذلك مزيل القلق والتشنج .

4-1-2 الاهمية الطبية لنبات الاسل *Juncus rigidus* و العائلة الاسلية

أن الأنواع التي تنتمي إلى جنس *Juncus* لها خصائص طبية إذ تستخدم في علاج العديد من الحالات المرضية مثل عدوى القناة البولية الحادة حيث تصنع بعض الأدوية منها كمضادات للالتهابات وخافض للحرارة وكذلك تستخدم كمضادات للأكسدة ومضاد فيروسي و فطري و بكتيري ، ويستخدم لمعالجة آلام الحلق واليرقان والتهاب المجاري البولية الحاد (Bús *et al*.,2018; Su *et al*.,2013). كما أن لب *J. effusus* استخدام كعامل خافض للحرارة ومهدئ بينما يوصى باستخدام جذور *J. maritimus* لأزالة حالة الارق لدى الانسان. النوع *J. rigidus* له تأثيرات مدر للبول ومفيد في علاج اضطرابات المعدة ، وتُستخدم أوراق نبات *J. acutus* في إسبانيا لعلاج ثالول(warts) وفي الصين ، يشيع استخدام J. effusus و لمعالجة الأمراض الجلدية، في الطب الشرقي التقليدي بذور *Juncus sp* تستخدم في علاج الإسهال وتستخدم الثمار في الحقن للتخفيف من أعراض البرد (El-Shamy *et al*.,2015).

تمتلك مستخلصات الكحولية لنبات الاسل و الزيوت المتطايرة تأثير وقائي لأمراض الكبد و حالة نقص شحميات الدم الناتجة من تناول الكحول كما تعمل كمضادات اكسدة Abdel-Razik *et al*.,2009).

تم دراسة الفعالية المضادة للرؤيسات الاولية لطفيلي المشوكة الحبيبية للمستخلص المائي والكحولي لبذور نبات الأسل *Juncus rigidus* إذ اظهرالنبات فعالية قتل الرؤيسات الاولية ، كما أظهر المستخلص الكحولي لنبات *J. acutus* نشاطًا كبيرًا مضادًا للأكزيما (Mohmoud and Fatin,2009).

5-1-2 فعالية نبات الاسل على بعض أنواع السرطانات

يمتاز نبات الأسل *Juncus* بوجود مجموعة واسعة من المركبات التي تظهر أنشطة بيولوجية مهمة مثل مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات ومضادات الأورام ، وبالتالي يمكن أن تكون مفيدة في الوقاية والعلاج من مجموعة متنوعة من الأمراض ، مثل السرطان والالتهابات المزمنة وتصلب الشرايين واضطرابات القلب والأوعية الدموية، فقد تبين أن المستخلص المعزول من نبات *Juncus inflexus* كان

لـه نشـطًا ضـد خـــط سـرطان عنـــق الــــرحم Hela الـمرتبط بـفايـــروس الحليـمـــي البشـــري Human papilloma virus-18 (HPV-18) (Kuo *et al*.,2019) .

كما بينت دراسة (Rodrigues *et al*.,2014) أن مستخلص الأثير للـ *J. acutus* له نشاطًا سامًا انتقائيًا قويًا فـي المختبـر ضـد خـط خلايـا سـرطان الحنجـرة البشـري (Hep-2) Humane Epidermoid Larynx-2 الذي يمتاز بمقاومته للأدوية و السموم.

في حين اوضحت دراسة (Liu *et al*.,2011) ان مركب Dehydroeffusol وهو 2،7-ديهيدروكسيل-1-ميثيل-5- فينيل- فينانثرين ا لمستخلص من *Juncus effusus* فعـال فـي العمل ضـد الخلايـا الوعائيـة لسرطان المعدة مع سمية منخفضة للغاية على الخلايا الطبيعية حيث يعمل علـى قمع بشكل كبير ألتصـاق الخلايا السرطانية المعديـة والهجرة والغزو. كشفت دراسـة الميكانيكيـة الجزيئيـة أن Dehydroeffusol منـع بشـكل ملحـوظ التعبيـر عـن الجـين الـرئيس للأوعيـة VE-cadherin وقلـل مـن تعـرض البـروتين الملتصـق علـى سـطح الخليـة عـن طريـق تثبـيط نشــاط محفـز الجينــات. بالإضــافة إلــى ذلــك ، قلــل Dehydroeffusol بشكل كبير من التعبير عن الجينـات الرئيسـة المكونـة للأوعيـة الدمويـة Matrix metalloproteinase-2 (MMP2) في خلايا سرطان المعدة ، وتقلص نشاط الأنزيم البروتيني الخاص بها.

وفـي دراسـة اخـرى (Ma *et al*.,2016) تنـاولـت مسـتخلص *Juncus effusus* إذ تـم عـزل مـركبين مـن الفينانثرينويدات إلى جانب 15 مركبًا مشتق من الفينانثرين من النوع *J. effuses* ،أظهرت هذه المركبات أنشطة سامة على العديد من خلايا خطـوط سـرطانية بشـرية ، وتـأثيرات واضـحة مضـادة للالتهابـات عـن طريق تثبيط إنتاج اوكسيد النيتروجين NO في خلايا البلاعم الكبيرة (نوع من خلايا الدم البيضـاء تسـاهم في مناعة الجسم من خلال ابتلاع الأجسام الغريبة عن الجسم و تحطمها).

6-1-2 منتجات الايض الثانوية Secondary Metabolites

منتجات الايض الثانوية هي مركبات كيميائية مختلفة في تعقيدها حسب نـوع المـادة يتم تخليقهـا فـي مراحل مختلفـة مـن نمـو الكـائن الحـي (النباتـات، الفطريـات والبكتيريـا). فالمسـتقلبات الثانويـة النباتيـة هـي مركبات عضوية يتم انتاجهـا فـي مجموعـة تصـنيفية معينـة مـن النباتـات لا تشـارك بشـكل مباشـر فـي نمـو النبات وتكاثره، ولكن لها وظائف مختلفة في النبات منها دفاعية ، ضد الحشرات او الحيوانـات العاشـبة أو مـواد تنظيميـة لتنظـيم البيئـة الداخليـة للنيـات والنمـو وقـد تمثـل خـزين للعناصـر الاساسـية فـي النبـات مثـل الكاربون أو النتروجين (Solárová *et al*.,2020) . يبقى السرطان وعلاجه مشكلة وتحدي صحي كبير

أمام الأنسان ، هنالك العديد من المسارات والمستقلبات الاساسية المسؤولة عن التمثيل الغذائي للخلايا السرطانية وهي تمثل سمات مميزة للتمثيل الغذائي داخل الخلايا السرطانية ، تساعد هذه المسارات في نمو وبقاء الخلايا الورميه لذلك يتم استهدافها. في الوقت الحاضر يتم استهداف المسارات والاشارات المتشابكة في الورم السرطاني باستخدام عقاقير و مركبات جديدة متمثلة باكتشاف وتطوير منتجات طبيعية أمنة ومتعددة الاهداف ، من هذه المواد التي تستهدف في الوقت الحالي المستقلبات الثانوية الطبيعية حيث اظهرت تأثيرات واعدة مضادة للسرطان من خلال استهداف المسارات الايضية الغير المنظمة بعملية التمثيل الغذائي للسرطان والاجهاد التأكسدي، كذلك الطفرات والالتهابات (Fakhri *et al*.,2020).

مركبات الايض الثانوية يتم تصنيفها حسب تركيبها الكيميائي الى مجاميع مختلفة هي:-

2-1-6-1 القلويدات Alkaloids

هي مجموعة من المركبات العضوية الاساسية التي تنتج بشكل طبيعي تحتوي على ذرة النتروجين واحدة على الاقل ، والقلويدات مركبات واسعة الانتشار حوالي (12000) نوع (Mander and Liu,2010) . تتواجد القلويدات في النباتات ومنها النباتات ذوات الفلقتين (Dicotyledons) لها اهمية كبيرة في الصناعات الصيدلانية حيث تملك تأثيرات كبيرة على صحة الانسان تعمل كأدوية مخدرة مثلا المورفين Morphine. حيث تكون لها تأثيرات فسيولوجية قوية حتى بتراكيز واطئة (Bribi,2018)، بالاضافة الى كون القلويدات تمثل مركبات واعدة في علاج السرطان حيث تستهدف انقسام الخلايا السرطانية عن طريق تثبيط الدورة الخلوية في مراحلها المختلفة (Ahmad *et al*.,2020).

2-1-6-2 المركبات الفينولية Phenolic Compounds

هي احد اصناف المركبات العضوية ، التركيب الكيميائي لها مكون من مجموعة هيدريكسيل مرتبطة مع هيدروكاربون أوروماتي، وأسم الفينولات مأخوذ من ابسط مركب لها يسمى الفينول C_6H_5OH (Khoddami *et al*.,2013). ومن الامثلة على المركبات الفينولية المتواجدة في النباتات وخاصة الجذور وعصارة الاوراق هي حامض البنزويك Benzoic acid وله مشتقات عديدة على سبيل المثال احماض السالسليك Salicylic acids وهيدروكسي بنزويك hydroxy Benzoic للمركبات الفينولية أهمية كبيرة فهي تعمل كمضادات للأكسدة Antioxidant ، كما لها دور في الاستجابات المناعية

لمسببات الامراض من فيروسات وبكتيريا، الى جانب اكتساب خصائص غذائية مثل المرارة والرائحة ولها فائدة عالية ضد اكسدة الدهون (Marchiosi *et al*.,2020).

2-1-6-3 المواد الدباغية Tannins

هي مركبات عضوية ذات خواص فينولية تتواجد في العديد من النباتات، تعمل على ترسيب البروتينات ، تستعمل في صناعة دبغ الجلود كذلك صناعة الاحبار ولها استعمالات طبية كمواد قابضة أو مانعة للنزف الدموي فهي تسرع عملية التخثر (Pizzi, 2021).تعمل هذا المركبات على حماية النبات من الافات والميكروبات والجفاف، كما ان للتنينات استعمالات عديدة وخاصة تلك القابلة للذوبان في الماء حيث تعمل كمضادات للميكروبات وبعض انواع الفيروسات، كما لها العديد من الخواص المهمة والمفيدة في مجال صناعة المضادات الحيوية Antibiotic (Shirmohammadli *et al*.,2018).

2-1-6-4 الفلافونيدات Flavonoids

هي مركبات عضوية قابلة للذوبان في الماء تصنع في النبات كمنتجات أيض ثانوي ، تنتمي الى عائلة الفينولات المتعددة، لها أهمية كبيرة في النبات حيث تساعد في الحماية من الطفيليات والاشعة الفوق البنفسجية (UV) .للفلافونيدات فعالية ضد الجذور الحرة Free radical فهي تعمل كمضادة اكسدة Antioxidantes ومانعة للنزيف أثناء الجروح ومفيدة للوقاية من ضغط الدم ومنها فلافونيدات قوية التي لها فعالية مضادة للأكسدة تستعمل للوقاية من امراض القلب و الجهاز البولي كما لها تأثيرات وقائية من مرض السرطان بسبب النشاط المضادة للأكسدة Antioxidante(Speisky *et al*.,2022) .

2-1-6-5 الجذور الحرة Free radical

الجذور الحرة عبارة عن ذرات او جزيئات تحتوي الكترونات مفردة في اغلفتها الخارجية ، تكون نشطة تفاعلياً في الكثير من التفاعلات الكيميائية داخل جسم الكائن الحي او خارجة . تتكون الجذور الحرة نتيجة للعديد من أنواع التفاعلات ، سواء اكانت داخل جسم الكائن الحي او خارجة فهي تحتاج الى طاقة لكسر الروابط بين الذرات أو الجزيئات حيث تتكون هذه الجذور(Zulaikhah,2017).

تلعب الجذور الحرة دورا مهما داخل الجسم على سبيل المثال قتل البكتريا داخل الخلايا، على الرغم من أهمية الجذور الحرة الا انها تدخل في تفاعلات جانبية قد تدمر الخلية وتلحق أضرار في الاغشية الخلوية

من خلال أكسدة محتويات الغشاء كما قد يمتد التأثير الضار الى المادة الوراثية (DNA) مسببة حدوث تغيرات تركيبية فيها (Recknagel *et al*.,2020).

تشير الكثير من الدراسات منها دراسة (Shashni and Nagasaki,2021) الى أن انواع عديدة من السرطانات تنشأ بسبب حدوث تلف في الحامض النووي DNA نتيجة لتفاعل الجذور الحرة مع DNA مؤديه الى تحورات في البنية الوراثية للخلية ومن ثم تحولات غير مرغوب فيها التي تمثل نواة نشوء السرطان .حيث تم ربط انواع الاوكسجين التفاعلي Reactive Oxygen Species (ROS) بالسرطان و وجد انها مهمة لأبقاء السرطان من خلال العمل كمنشطات للجينات الورمية Ocogene (جينات تشفر صناعة البروتينات التي يعتقد انها مسببة للسرطان) كذلك تدخل الجذور الحرة في عملية اكسدة سريعة ينتج عنها مركبات ضارة تكون مسؤولة عن تحفيز الخلايا السرطانية في الجسم .كما ان الاجهاد التأكسدي (حالة عدم توازن في نظام العوامل المؤكسدة (Oxidants) و العوامل المضادة للأكسدة (antioxidants) باتجاه أنتاج المزيد من العوامل المؤكسدة) الذي يحدث في الخلايا نتيجة تراكم السموم فيها حيث تلعب الجذور الحرة دور مهم في حدوثه الذي يؤدي الى تلف الخلايا ونشوء السرطانات ، أذ ان مرض تصلب الشرايين المصاحب للتقدم العمر يحدث بسبب تفاعل الجذور الحرة مع بعض المواد في الدم ، كما أن الجذور الحرة الموجودة في دخان السكائر لها دور في حدوث زيادة احتمالية الاصابة بسرطان الرئة Lung cancer . (Rodríguez *et al*.,2018)

2-1-6-6 مضادات الاكسدة وفعاليتها ضد الجذور الحرة Antioxidant

مضادات الاكسدة هي مواد أو مركبات تحارب المواد المؤكسدة و عملية الاكسدة (وهي تفاعل كيميائي يمكن أن ينتج جذور حرة) تعمل مضادات الاكسدة على منع حدوث تفاعلات داخل الخلايا الحية التي قد تؤدي الى تلفها، كما تعمل على تأخير الشيخوخة ومنع ظهور علاماتها المبكرة مع تقوية الجهاز المناعي (De Pablos *et al*.,2019).اشارت دراسة (Rimpelová *et al*.,2021) الى أن سبب الكثير من الامراض يعود الى نشاط الجذور الحرة داخل الجسم بالإضافة الى البكتيريا المرضية أذ وجد أن لمضادات الأكسدة الطبيعية للنباتات مثل الفلافينويدات والمركبات الفينولية تأثير كبير للتخلص من الجذور الحرة الناتجة من الفعاليات البيولوجية التي تسبب الكثير من الامراض الخطيرة مثل السرطانات والامراض الالتهابية كالتهاب السحايا .

2-2 السرطان Cancer

يعرف السرطان بانه خلية شاذة غير طبيعية مفردة تبدأ بالانقسامات ولا تتوقف الامراض وتصيب مجموعة مختلف من الأعضاء في الجسم وتسبب بالأورام في مختلف المناطق كالدماغ ، العظام ، الدم والرئة . لتلك الأورام اختلافات كبيرة في طبيعة النشوء وطريقة الانتشار والنمو من عضو الى أخر . تمتاز الخلايا السرطانية بالنمو والتوغل السريع (نمو، انقسام خلوي غير محدود وغير مسيطر عليه). خلايا السرطان تملك قدرة على غزو الأنسجة المجاورة ،في بعض الأحيان الانتقال الى الأنسجة البعيدة عن منطقة الاصابة بعملية تدعى الانبثاث Metastasis (انتقال الخلايا السرطانية من عضو الى آخر و تحدث عند انتقالها عن طريق الدم أو الجهاز اللمفاوي و يشار للسرطان في العضو الجديد بالسرطان الثانوي). تنشأ كل أنواع السرطانات نتيجة تغير في تسلسلات الحامض النووي لجينوم الخلايا السرطانية (Stratton *et al*.,2009).

مرض السرطان يعد ثاني أكثر أسباب الوفاة شيوعاً في دول العالم حيث يؤدي بحياة ثمان ملايين فرد في كل سنة ،حسب التوقعات تزداد معدلات الاصابة بهذا المرض لأكثر من 50% في السنوات القادمة(Ferlay *et al*.,2021) حسب التقرير الصادر من دائرة البحوث لمجلس النواب العراقي في شباط 2019 وتبعاً للإحصائيات التي صدرت من مجلس السرطان العراقي هنالك زيادة في حالات الاصابة بالسرطان في البلد بين عامي (2017-1991) على تعداد الاصابات في العراق لعام 1991 (5720) وبمعدل 31% بينما عدد ونسبة الاصابة بالسرطان في العراق ارتفعت بشكل كبير الى (25,556) حالة وبمعدل (67.4%) لكل 100,000 نسمة في العراق ذلك في عام 2016 ، ووفقاً لتقديرات الوكالة الدولية لأبحاث السرطان في عام 2018 كان هنالك 18 مليون اصابة جديدة في السرطان بمختلف انواعه ، و9.6 مليون حالة وفاة ،منها النصيب الاكبر في سرطان الرئة والاكثر شيوعاً حوالي 18.4% بعد ذلك يأتي سرطان الثدي 11.6% والبروستات 7.2% (سلمان ،2019) .

2-2-1 نشوء السرطان

ينشأ السرطان بسبب تغيرات في العوامل الوراثية المتمثلة بالجينات. حيث تتحكم في الطريقة التي تعمل بها خلايانا مثل عملية النمو والانقسام ،التغيرات الوراثية التي تسبب مرض السرطان تحدث بسبب الاخطاء اثناء الانقسام الخلوي أو من الاضرار التي تلحق بالحامض النووي DNA الناجمة لمؤثرات الخارجية مثل المواد الكيميائية والتبغ والاشعة فوق البنفسجية من الشمس. تتم ازالة الاخطاء أو الاضرار التي تحدث في خلايا الجسم والحامض النووي قبل تحولها الى خلايا سرطانية ،ولكن قدرة الجسم على

القيام بالإصلاح تنخفض كلما تقدم الانسان في العمر، لذلك تزداد احتمالية الاصابة بالسرطان في وقت لاحق من الحياة (NCI,2021).

2-2-2 تصنيف السرطان

أن تصنيف وتحديد مرحلة السرطان تؤدي دورا مهما في طريقة العلاج كذلك وضع برنامج محدد لأتباعه مع المريض في العلاج ، بصورة عامة تصنف الأورام الى اورام حميدة (Benignant Tumor) وهي في الغالب لا تشكل خطورة على الفرد الاورام الخبيثة (Malignant Tumor) هذا النوع يشكل خطورة على حياة المريض قد يؤدي الى الوفاة (Colditz,2015).

2-2-2-1 الاورام الحميدة Benignant Tumor

هو نوع من الاورام التي تحدث في أي مكان بالجسم ولا يمكن عدها ضمن الأورام الخطرة أو السرطان وهي لا تشكل خطورة ، يمكن أن تستأصل بأجراء عملية جراحية لها ولا تعود للنمو من جديد(العقيل ،2013).لكن اذا كان الورم الحميد يضغط على منطقة أو أعضاء حساسة مثل الاعصاب أو الاوعية الدموية كذلك اذا وجد في الجمجمة ويشكل تأثير على الدماغ ذلك يستدعي الى علاج أو تداخل جراحي لأزالته والتخلص من اعراضه (Wan *et al*.,2016).

2-2-2-2 الاورام الخبيثة Malignant Tumor

يمتاز هذا النوع من الورم بكون الخلايا تنمو وتنقسم بطريقة شاذة وغير مسيطر عليها وهو اكثر خطورة من الورم الحميد قد يؤدي الى الموت .يمكن أجراء عملية استئصال ، لكن هنالك احتمالية كبيرة بالرجوع والظهور من جديد (العقيل ،2013) ، كذلك يمتاز هذا النوع بقابلية الانتشار والغزو للأنسجة القريبة والبعيدة مسبب تدميرها .قد تنفصل عن الورم الاولي منتقلة الى اماكن جديدة فتسبب نشوء اورام ثانوية جديدة ، غالبا ما تكون الاورام الخبيثة غير متجانسة تحتوي على اكثر من نوع من الخلايا التي تنشأ في بادئ الامر من خلية واحدة حدث فيها شذوذ في التركيب الوراثي (Wang *et al*.,2020).

2-2-3 تسمية السرطان

يتم اعطاء اسم مرض السرطان تبعا للمكان التي تتم فيه الاصابة ، بالجسم مثال سرطان القولون يحدث في القولون كذلك الحال الاورام في الجهاز العصبي حيث يبدأ الورم في أي جزء منة (العقيل ،2013) ، عندما تنتقل خلايا سرطانية مع الدم أو اللمف وتستقر في عضو اخر مختلف عن

العضو الذي تحدث فيه الاصابة لأول مرة وكونت ورم جديد ويسمى ذلك الورم الثانوي وهو في الواقع نفس خلايا السرطان الاصلي التي اشتقت منه مثال ذلك اذا انتشر ورم سرطان الكبد وانتقل الى الدماغ او الثدي فأن الخلايا السرطانية في الدماغ هي في الواقع خلايا سرطانية كبدية قد يسمى الاطباء الورم الجديد باسم الورم المنتقل (Louis *et al*.,2020).

4-2-2 العوامل المسببة للسرطان The factors That Causes of Cancer

تتداخل عدة عوامل في أحداث السرطان بصورة مباشرة أو غير مباشر مثل الكحول والمواد المسرطنة كذلك العمر وبالاضافة الى النظام الغذائي للفرد والهرمونات والجينات وهنالك عوامل أخرى مثل الاشعاع والمواد الكيميائية كل ذلك قد يتأزر مع بعض أو منفرد في تكوين أنواع مختلفة من السرطان (Nguyen *et al*.,2020).

1-4-2-2 العوامل الفيزيائية Physics Factors

1-1-4-2-2 الاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet Radiation

المصدر الرئيس لهذه الاشعة هي الشمس وأن التعرض لأشعة فوق البنفسجية بالإضافة الى الوقت من اليوم كذلك الفصول وغطاء السحاب تؤدي دورا كبيرا في درجة التعرض، هنالك عامل مهم هو طبقة الأوزون ومدى نضوبها في العقود الاخيرة مما ادى الى زيادة هذا النوع من الاشعة الخطرة ونفاذها الى سطح الارض تعد الاشعة فوق البنفسجية (UV) عامل مهم يشكل خطورة لما يقارب 65% من سرطان الجلد الميلانيني Melanoma skin cancer (MSC) وسرطان الجلد الغير الميلانيني (NMSC) كما تسهم الحروق المتسببة من الشمس في مضاعفة خطر الاصابة بسرطان الجلد ،كما ثبت أن التعرض لأشعة الشمس المباشرة تزيد من خطر الإصابة بسرطان الجلد الى ضعفين (Seraji *et al*.,2020).

2-1-4-2-2 الاشعة المؤينة Ionizing Radiation

تشمل الاشعة المؤينة عدة انواع منها الجسيمية وأخرى موجية مثل جسيمات ألفا وبيتا وكذلك أشعة كاما والاشعة السينية x-ray تنتج هذه الاشعاعات من تحلل أو اضمحلال المواد المشعة مثل نظائر عنصر اليورانيوم ، حيث يتعرض الناس لمصادر مختلفة للإشعاع وخاصة ذات جرعة منخفضة كالذين يعملون في السلك الطبي و يتعاملون في مجال المنشآت النووية والاجهزة التي تستعمل في الكشف

بالمطارات ، هنالك كثير من الأدلة والدراسات التي أكدت علاقة التعرض للإشعاع والاصابة بالسرطان مثل سرطان الدم (اللوكيميا) كذلك سرطان الغدة الدرقية (Berrington de Gonzalez *et al*.,2020).

2-4-2-2 العوامل الكيميائية Chemical Factores

1-2-4-2-2 التبغ Tobacco

أن للسكائر أو التدخين علاقة قوية في الاصابة بمرض سرطان الرئة وان حوالي (80 -92)% من هذا النوع من السرطانات مرتبط بتعاطي السكاير حول العالم اما بشكل مباشر أو غير مباشر. أن المواد التي تتواجد في دخان السكائر تشكل خطورة على الصحة العامة فهي السبب المباشر للإصابة لوجود الكثير من المواد المسرطنة التي تؤثر على تركيب الحمض النووي DNA (Corrales *et al*.,2020).

في دراسة أجريت في استراليا (Weber *et al*,.2021) وجد أن نسبة المدخنين حوالي 72% بين من هم في سن الاربعين و أن هنالك علاقة وثيقه بين حجم الاصابة بالسرطان والتدخين ، و كانت هنالك زيادة في نسب الاصابة بسرطان الرئة والحنجرة بالإضافة الى سرطان البنكرياس والقالون عند الاشخاص المدخنين بالمقارنة مع غير المدخن ، لوحظ أن مخاطر الاصابة بسرطان الرئة تقل عند الاقلاع عن التدخين لكن نسبة الخطورة تبقى أعلى عند هؤلاء الاشخاص بالمقارنة مع الغير المدخنين .

2-2-4-2-2 البنزين Benzene

مركب هيدروكاربوني عطري مكون من حلقة سداسية، التركيب الكيميائي مكون من كاربون وهيدروجين وهو من عائلة المركبات الهيدروكاربونية الاوروماتية (العطرية). ملوث للهواء ينتج من انبعاثات عوادم السيارات و كذلك يستخدم كمذيب وفي كثير من المنتجات التي يستعملها الانسان في حياته اليومية. يتم التعرض للبنزين في موقع الانتاج النفطي ومنشئات البتروكيمياويات وكثير من الصناعات مثل صناعة المطاط والطباعة والرسم. في عام 1979 صنف البنزين على أنه من المواد المسرطنة التي تسبب مرض السرطان كسرطان الدم و الحنجرة ، كما وهنالك ارتباط بين التعرض للبنزين وسرطان ابيضاض الدم عند الاطفال (Loomis *et al*.,2017) .

3-4-2-2 العوامل البيولوجية المسرطنة Biological Factors

1-3-4-2-2 العوامل الفيروسية Viral Facters

فيروس التهاب الكبد نوع C: Hepatitis C Virus (HCV) السبب الرئيسي لسرطان الكبد في العالم هو التهاب الكبد الفيروسي ، إذ يشكل نسبة كبيرة من الأورام الكبدية قد تصل الى أكثر من 75% (Arzumanyan *et al*.,2013). تسبب هذه الفيروسات التهاب شديد مع تليف وتشمع الكبد ، وان سرطان الكبد قد ينشأ بعد التشمع بنسبة 1.7% عند المرضى المصابين بالتشمع الكبدي الذي قد يحدث من الاصابة بالفيروس من النوع C (Jeong *et al*.,2012).

فيروس التهاب الكبد نوع B: Hepatitis B Virus يسبب مرض سرطان القنوات الصفراوية، يعد هذا المرض أكثر اسباب الوفاة في العالم ويأتي بالمرتبة الثانية بعد سرطان الرئة من حيث الشيوع (Maucort-Boulch *et al*.,2018).

فيروس الورم الحليمي البشري Human papillomavirus (HPV) ينتمي هذا الفيروس الى مجموعة من الفيروسات ذات أنواع مختلفة تصيب الانسان وتسبب سرطان عنق الرحم لدى النساء، يعد هذا النوع من الفيروسات السبب الرئيسي لسرطان المهبل والشرج بالإضافة لسرطان عنق الرحم (Toh *et al*.,2019) . ان زيادة في الاصابات بفيروس الورم الحليمي البشري (HPV-18) تشكل خطر متفاقم لحدوث سرطان عنق الرحم الغازي والمبكر بالإضافة الى أشتراك عدة عوامل التي تزيد من احتمالية تكوين مرض السرطان مثل التدخين والسلوكيات الجنسية الشاذة (Brusselaers *et al*.,2019).

2-3-4-2-2 العوامل البكتيرية Bacterial Factors

يحتوي الجهاز الهضمي في الانسان على أعداد كبيرة من البكتيريا المتعايشة وخاصة القالون تقوم بوظائف مختلفة منها مناعية أو هضمية وعمليه التمثيل الغذائي (Dahmus *et al*.,2018)، اشارت الدراسة(Baj *et al*.,2021) الى أن هنالك علاقة وثيقة بين البكتيريا الحلزونية في المعدة التي تستوطن الغشاء المخاطي وسرطان المعدة Gastric cancer ، بالإضافة الى ذلك يوجد في الامعاء بكتريا تسبب تلف الحامض DNA في الخلايا الظهارية المعوية ومسببه اورام ممهدة لظهور خلايا خبيثة و شاذة ، ومن انواعها الخطرة *Bacteroides Fragili* او *Campylobacter Jejuni* بالإضافة الى بكتريا القولون *Escherichia coli* التي تفرز مواد وسموم تؤثر على الحمض النووي (Xu *et al*.,2020).

هنالك أنواع من البكتريا الحلزونية التي تتواجد في القنوات الصفراوية تكون شديدة المقاومة للصفراء مما تسبب سرطان المرارة و القنوات الصفراوية، وأن الاصابة ببكتريا المكورات العنقودية *Proteus mirabilis* التي تقوم بأنتاج أفرازات مواد ضارة كنواتج أيضية مثلمثل نوع من البكتيريا N-Nitrosamines التي تسبب تسرطن المثانة (Sheweita and Alsamghan,2020).

2-2-4-3-3 العوامل الطفيلية Parasitic Factors

تؤدي العدوى بالطفيليات الى حدوث ادوار مهمة للأصابة ببعض انواع السرطان مثل سرطان المثانة عند العدوى بطفيلي البهارزيا *Schisosoma Haematobiym* كما وصف الدور المهم الذي تقوم به بعض انواع المثقبات والديدان الطفيلية التي تعمل كمحفزات لأحداث مرض السرطان أذ ترتبط الاصابة بالمثقبات الكبدية *Opisthorchis Viverrini* مع الاصابة بسرطان الكبد (Callejas *et al*.,2018). ومن معروف ان الطفيليات عند دخولها الى جسم المضيف تسبب تلفا والتهابات في النسيج المصاب نتيجة لذلك انها تفرز موادا ضارة والتي تلحق اضرارا بالحامض النووي DNA فتغير من تركيبة او تسلسله مسببة طفرات مساعدة في ذلك على نشوء بيئية ملائمة للأصابة بالأورام (Jones *et al*.,2016)

2-2-4-3-4 العوامل الفطرية Fungal Factors

تعد الفطريات من عوامل الخطورة لمرض السرطان أذ اشارت الدراسات منها دراسة (Elinav *et al*.,2019) الى وجود علاقة بين الاصابة ببعض انواع الفطريات مثل فطر *Aspergillus Flavus* الذي يفرز مواد ضاره مثل السم الفطري Aflatoxin الذي يعمل بمساعدة مرض التهاب الكبد الفيروسي للاصابة سرطان الكبد كما ان هناك علاقة بين الفطريات في الامعاء مثل الفطريات البيضية *Candida Albicans* والاصابة بسرطان القالون والمريء. وجد أن الاصابة بأحد اجناس الفطريات من فطر Malassezia وهي من الفطريات الانتهازية يسبب ورم الغدد القنوية البنكرياسية الخبيث في البشر(Krüger *et al*.,2019) .

2-2-4-3-5 الهرمونات Hormones

تعد الهرمونات عوامل خطورة مهمة للأصابة بالسرطان , فالتغيرات الفسيولوجية الهرمونية التي تصاحب البلوغ الجنسي للرجال والنساء كذلك عملية الطمث والحمل بالإضافة الى استخدام الادوية الهرمونية كحبوب منع الحمل , ان زيادة الخطر بإصابة سرطان الثدي مرتبطة بأخذ العلاج الهرموني

عند استئصال الرحم او انقطاع الدورة الشهرية , فالتعرض لمستويات عالية من هرمون الأستروجين والبروجسترون يزيد من مخاطر الاصابة بالسرطان (Fernández *et al*.,2018) .

اشارت دراسة (Henderson *et al*.,2000) الى وجود علاقة بين الاشخاص الذين يعانون من السمنة المفرطة وتكون لديهم مستويات عالية من الهرمونات و ارتفاع معدل الاصابة بالسرطان أذ وجد ان النساء اللاتي اصبن بالسرطان وخاصة سرطان الثدي والمبيض تكون لديهن مستويات عالية من هرمون البروجسترون , كما تلعب الهرمونات دور مهم في معدل تكاثر الخلايا و تطور السرطان .

2-2-4-5 الممارسات السلوكية وانماط الحياة

تم تحديد العديد من الاغذية و اتباع الحميات من تناول بعض الاغذية كأسباب للتسرطن و وجد ان تناول اللحوم الحمراء يزيد من الاصابة بمرض سرطان القولون خاصة اذا تم تناولها بدون خضر او فواكه ، كما ان وجود مركب الافلاتوكيسن في الطعام بكميات كبيرة يعد عامل خطورة لسرطان الكبد ، بالإضافة الى الخضروات المخللة لها علاقة مباشرة بالإصابة بأنواع من السرطان فالسلوكيات الغذائية المختلفة تعكس سبب الاصابة بنوع معين من السرطان في بلد معين على سبيل المثال تكثر الاصابة بسرطان المعدة في اليابان بسبب كثرة تناول الطعام المملح (Kang *et al*.,2014).

2-2-4-5-1 المشروبات الكحولية Alcoholic Beverage

تم تصنيف الكحول كمادة مسببة للتسرطن من قبل الوكالة الدولية لأبحاث السرطان , تمثل عوامل خطورة للسرطان الفم , والبلعوم والكبد بالإضافة لسرطان البنكرياس(Cogliano *et al*.,2011). اجريت دراسة في اوروبا سنة (2011) وجد ان واحد من 15 من انواع السرطان في الذكور سببها تناول الكحول (Schütze *et al*.,2011).

ثم ان خطر الاصابة بالسرطان المرتبط باستهلاك المشروبات الكحولية يكون أعلى في الاعضاء والانسجة المعرضة بصورة مباشرة للمادة الكحولية مثل الفم والمريء، كما يوجد تأثير للمشروبات الكحولية على خلايا الكبد المصاب بالتليف الكبدي وتؤدي الى ظهور اورام سرطان الخلايا الكبدية Hepatocellular carcinoma (HCC) ومضاعفة حجم الورم (Estrela *et al*.,2006).

2-2-4-2-5 السمنة Obesit

ترتبط السمنة بزيادة خطر الاصابة بالسرطان والوفيات الناتجة منه ، ففي الرجال تزداد نسبة الاصابة بسرطان المريء والقولون زيادة كبيره عند الاشخاص البدينين اما النساء اللاتي يعانين من فرط السمنة هن اكثر عرضة للأصابة بسرطان الثدي عند الوصول الى سن الياس (Giovannucci,2018).

2-2-5 علاج السرطان Treatment of Cancer

ان قرار علاج السرطان والطريقة المتبعة لذلك ومن اجل التوصل الى خطة العلاج لأي مريض مصاب بالأورم الخبيثة يتم تشكيل لجنة من مختلف التخصصات الطبية ودراسة حالة المريض الصحية ومن ثم اخذ قرار بنوعية العلاج ما اذا كان هدف العلاج هو من اجل الشفاء ام لتخفيف اعراض المرض (الابرص،2020) .

2-2-5-1 العلاج الجراحي Surgical Therapy

تعد طريقة العلاج بالجراحة والاستئصال من اقدم طرق العلاج لمرض السرطان خاصة اذا كان الهدف من الجراحة هو الوقاية من السرطان و اذا كان النسيج او العضو مصاب او معرض للإصابة بدرجة كبيرة فيتم ازالته بتداخل جراحي لمنع تطور المرض وانتشار على سبيل المثال يتم ازال الثدي قبل انتشار الخلايا الخبيثة الى اجزاء الجسم السليمة (Bosînceanu *et al*.,2014) .

في السنوات الاخيرة وبعد حدوث ثورة و تقدم كبير في التقنيات الجراحية ، والمراقبة اثناء الجراحة واستخدام جراحة طفيفة التوغل (هي عمليات جراحية تستخدم التقنيات التي تحد من حجم الشقوق او الجروح المطلوبة و من ثم تقلل من زمن التئام الجروح و مخاطر العدوى الميكروبية) من اجل تخفيف المخاطر اثناء او بعد الجراحة . على الرغم من المخاطر المنضوية تحت هذا الطريقة لكن تبقى العمليات الجراحية هي العلاج الرئيس للأورام الخبيثة و من مضاعفات العلاج الجراحي للمصاب بسرطان المعدة حدوث الالتهابات الخطيرة التي قد تؤدي الى الوفاة كذلك مضاعفات الاثني عشري (Ramos *et al*.,2018).

2-5-2-2 العلاج الكيميائي Chemo Therapy

تعد هذه الطريقة لعلاج السرطان هي المتبعة كخطة علاجية او نهج رئيس , الا ان اساس العلاج يتركز على استخدام غير محدد للسموم داخل خلايا لتثبيط الانقسام الخلوي او احداث تلف للحمض النووي للخلايا الورمية (Rajman *et al*.,2018) .

على الرغم من شيوع استخدام هذه الطريقة كعلاج للأورام السرطانية لكن هناك اثار جانبية كبيرة على القلب والكلى بالإضافة الى السمية الكبدية، كما تظهر اثار سلبية بسبب العلاج الكيميائي على كل اعضاء جسم المريض (Xiao *et al*.,2019).

3-5-2-2 العلاج الاشعاعي Radiotherapy

يعد العلاج بالإشعاع احد الطرق العلاجية المهمة المتبعة في بروتوكول علاج الاورام الخبيثة خاصة المناطق سهلة الوصول اليها ، بالرغم من الاستخدام الواسع لهذه الطريقة في الدول الغربية اكثر من 60% من انظمة علاج الاورام أظهرت أن هنالك مقاومة للإشعاع من قبل بعض أنواع السرطانات خاصة في الخلايا الجذعية (Chen and Kuo,2017).

للعلاج بالأشعة أضرار بالغة أثناء أو بعد فترة العلاج كما له اثار جانبية حادة على سبيل المثال حصول التهاب شديد في الكبد وأضرار في الاعضاء والانسجة ولربما يسبب تلفها، ولهذه الطريقة من العلاج أضرارطويلة الامد كتلف أو الحاق الضرر بالحمض النووي DNA حيث يسبب الاشعاع طفرات متوارثة في شريط DNA (Huang and Zhou,2020).

4-5-2-2 العلاج الجيني Gene Therapy

يفتح العلاج الجيني أفاق واسعة من العلاجات مبتكرة والتي من المرجح أن تصبح مهمة في تقليل الوفيات الناتجة من السرطان ، حيث أظهرت الدراسات على نواقل الجينات لإمكانية أدخال الجينات العلاجية الى الخلايا السرطانية او الانسجة المحيطة التي تسبب موت الخلايا السرطانية أو أبطاء نموها، يتمثل التحدي الرئيس لهذا النهج من العلاجات بكيفية ادخال الجين العلاجي وايصالة الى الخلايا المستهدفة ، حققت الأبحاث والتجارب على النواقل ثورة في طرق وتقنيات الادخال باستخدام الفيروسات أو ناقلات بكتيرية بالإضافة الى التعديل المناعي مع التلاعب بالبيئة التركيبية على مستوى المجهري الدقيقة للورم ومنع وصول المواد الغذائية له لتقليل الاوعية الدموية للورم الخبيث أو زيادة مستضدات الورم من أجل

التعرف بشكل أفضل من قبل الجهاز المناعي للمضيف (Amer,2014).يواجه العلاج الجيني عوائق أخرى متمثلة بصعوبة التلاعب بالمادة الوراثية على المستوى الخلوي يضاف الى ذلك كيفية أدخال الجين المعين والتعبير عن نفسة Gene Expresses مع تحلل الاحماض النووية المنقولة واتلفها من قبل الانزيمات بسرعة وانخفاض امتصاصية الخلايا لها (Zhou *et al*.,2017).

2-2-5-5 العلاج المناعي Immunotherapy

تعتمد المعالجة المناعية للأورام السرطانية على تحفيز واستخدام الجهاز المناعي ضد السرطان يمكن أن يكون العلاج المناعي للسرطان بشكل عدة انواع من العلاجات مثل Antibadies اجسام مضادة ، لقاحات للفيروسات التي تسبب الورم ، تستخدم بعض العلاجات المناعية من أجل تطوير وتعزيز القدرات للخلايا المناعية ضد الاورام الخبيثة اشارة الى اللقاحات الجينية (Banchereau andPalucka,2013).

لقد اسهمت العلاجات المناعية اسهاما فعالا في علاج الكثير من انواع السرطانات لكونها تمنح صفات سمية ذات خصوصية عالية ضد نوع معين من الخلايا السرطانية تختلف باختلاف نوع العلاج المناعي بالإضافة الى كونها تعمل بشكل محدد (Kennedy and Salama,2020).

2-2-6 وراثة السرطان Genetic of the cancer

ان الاعتقاد بوصف الأورام هي أمراض وراثية ولها صلة بالعوامل الوراثية ليس حديث العهد ففي عام 1914 أقترح افتراض تم الاشارة فيه الى علاقة الكروموسوم بأحداث السرطان ، ففي عام 1974 أوضح العالم Wolf ان نشأة الورم من خلايا طبيعية في الأصل حيث يبدأ الورم في خلية مفردة ثم يأخذ بالتطور .أن الخلايا السرطانية وتحوراتها الشاذة لا تعود الى سلوك الخلايا نفسها أنما بسبب التحورات الضارة في المادة الوراثية DNA. تم اثبات أن عملية التسرطن في الخلايا الطبيعية نتيجة تغير في تركيب المادة الوراثية للخلايا لتتحول الى خلايا ورمية خبيثة ذات انقسام غير مسيطر عليه لذلك يعد السرطان من الامراض التي لها علاقة بالوراثة الى حد كبير (Bora *et al*., 2021).

وقد ثبت أن جميع الطفرات والتغيرات في المادة الوراثية الناتجة من العوامل الخارجية كالمواد المطفرة تسبب ضرر في أشرطة DNA للخلايا ، أن المعلومات عن علاقة الاورام بالطفرات جاءت من دراسة الكروموسومات الشاذة للأورام المختلفة مع تتبع عملية توريث السرطان في العوائل ، من ذلك كلة وجد أن هنالك استعداد وراثي للسرطان يتماشى مع حدوث خلل في عملية اصلاح الاحماض النووية DNA نتيجة لعدة اسباب وطفرات متراكمة (Rugge,2020).

كذلك تم اكتشاف جينات ذات علاقة بالتسرطن مثل الجينات الورمية Oncogenes (تنشأ جينات تدعى طلائع الجينات الورمية Proto-Oncogene تتحكم في دورة الخلية وتمايزها ان حدوث اي خلل في هذه الجينات يؤدي الى خلل بالتحكم في نمو وبالتالي تحولها الى خلية سرطانية) بالإضافة الى جينات كابحة للورم تسمى الجينات الكابحة الورمية Tumor suppressor (هي جينات تنظم عملية انقسام الخلايا وتكاثرها وعند حدوث خلل او طفرة تؤذي الى ظهور خلية غير طبيعية ممهدة الى حدوث سرطان) (Gorphe,2019).

3-2 الزراعة النسيجية Tissue Culture

هي تنمية انسجة أو خلايا خارج جسم الكائن الحي في مزارع خاصة تحت ظروف مسيطر عليها لضمان النمو والاستمرار بالتكاثر ، في الوقت الحاضر أصبحت الزراعة النسيجية تقنية مختبرية معتمدة للحفاظ على خطوط الخلايا الحية (مجموعة من الخلايا ذات أصل منحدر من خلية واحدة تملك التركيب الوراثي ذاته)(Kr *et al*.,2012).

تهدف زراعة انسجة الحيوانية الى تنمية خلايا حية خارج جسم الكائن الحي (الانسان) وأجراء أبحاث وتجارب مختلف لا يمكن أن تجري على الجسم ،كتجارب العقاقير الجديدة كذلك الدراسات الوراثية المختلفة ، كما تقدم فرصة لاختبارات السمية على الخلايا السرطانية و يتم حالياً زراعة الخلايا السرطانية البشرية بمزارع خاصة وأنشاء الخطوط الخلوية لأغراض البحث واختبار المستخلصات الجديدة ، لذلك تعتمد الخطوط السرطانية كمصدر لتشخيص أغلب أنواع السرطان . أن ظهور تقنية الخط الخلوي والمزرعة النسيجية سهلت الكثيرمن اجراء أبحاث السرطان لذلك عُدت منعطف مهم في تاريخ هذا المرض (Gorphe,2019).

أن أهم خطوة في زراعة الخلايا هي اختيار وسط النمو وهو مكون بشكل عام من مصدر للطاقة مع مركبات لازمة للنمو الطبيعي (أحماض أمينية وفيتامينات وأملاح) بالإضافة الى استخدام مصل الدم على سبيل المثال مصل الدم الجنيني البقري مع منظمات للنمو و الاس الهيدروجيني PH (Hemeda *et al*.,2014).

4-2 الخطوط الخلوية السرطانية Tumor Cell Lines

الخط الخلوي السرطاني هو عملية عزل الخلية السرطانية من الورم السرطاني في جسم المريض ثم نقلها الى أوعية خاصة لتنميتها في المختبر تحت ظروف خاصة للإبقاء عليها في حالة انقسام وتكاثر لفترة

طويلة قد تمتد الى عدة اعوام أذ تستخدم الخطوط الخلوية للأغراض البحثية وأجراء التجارب، حيث تتيح الخطوط الخلوية للأورام الخبيثة فرصة أجراء تجارب في ظروف مسيطر عليها وخاضعة للمراقبة تم تكوين اول الخطوط الخلوية السرطانية من الخلايا البشرية لامرأة مصابة بالسرطان قبل حوالي أكثر من خمسة عقود وأطلق عليه أسم خط خلايا هيلا Hela أشتق الاسم من أسم المريضة السيدة Henritta Lacks التي كانت مصابة بسرطان عنق الرحم (Geraghty *et al*.,2014).

من الواضح أن هذه الخطوط مهمة في البحث العلمي وخاصة أبحاث السرطان من تشخيص وأجراء التجارب على علاجات محتملة لا يمكن أجراؤها على الجسم الحي لما تنطوي علية من المخاطر على البشر، لذلك تعد ظهور هذه التقنية تحول محوري في ابحاث السرطان على الرغم من ما واجهته من مشاكل وتحديات أهمها التلوث وسوء التحديد والتشخيص حيث يتم التعرف على خط معين وتشخيصه بشكل خاطئ ، أو حدوث اختلاط وتلوث خط معين مع خط خلوي أخر (Gorphe,2019).

في عام 2010 عملت اللجنة الدولية المختصة بمصادقة الخطوط السرطانية على انشاء ونشر قاعدة بيانات للخطوط الخلوية السرطانية الخاطئة لمعالجة مشكلة التلوث والاخطاء (Al-Shammari *et al*.,2015). وفي الوقت الحاضر تستخدم الخطوط الخلوية السرطانية البشرية في اجراء الابحاث على مرض السرطان وتطوير طرق واستراتيجيات متجددة للوقاية من الخلايا السرطانية وتطورها داخل الجسم الحي (Gorphe,2019).

2-4-1 خط خلايا سرطان الثدي البشري (MCF7)

سرطان الثدي هو اكثر السرطانات اصابة في النساء وفي جميع الفئات العمرية حيث يمثل حوالي اكثر من 30% من الأورام الخبيث التي تصيب النساء العراقيات حسب احصائية مجلس السرطان العراقي عام 2016 وهو يمثل المرتبة الاولى من حيث الاصابة بالسرطان بين العراقيين (Iraqi cancer Board,2016).

MCF7 هو مختصر لاسم المؤسسة الامريكية Michigan Cancer Foundation-7 و هو سلالة من خلايا سرطان الثدي لامرأة بيضاء أمريكية تم اخذها من المريضة عام 1970 عن عمر 69 وقد توفيت بعد ذلك (Lee *et al*.,2015).

يستخدم هذا الخط الخلوي في ابحاث السرطان وهو خط خلوي نموذجي مناسب لأبحاث سرطان الثدي في جميع أنحاء العالم ، بما في ذلك الدراسات حول الادوية والعلاجات التجريبية المضادة للسرطان(Shirazi *et al*.,2011).

2-4-2 خط خلايا سرطان الرئة البشري Human Lung Cancer A549

خط خلايا سرطان الرئة Adenocarcenomic 549 (A549) هو عبارة عن خلايا مشتقة من الخلايا الظهارية القاعدية السنخية الغدية استخدم هذا الخط الخلوي لأول مرة في عام 1972م من خلال ازالة واستنبات انسجة الرئة السرطانية من الورم المستأصل لذكر قوازي يبلغ من العمر 58عام .يستخدم هذا الخط الخلوي للعديد من الاغراض منها لأغراض البحث العلمي أو اختبارات دوائية لتطوير علاجات للسرطان يمتاز هذا الخط بأن خلاياه قادرة على تصنيع الحامض الأميني اللسيثين كما تحتوي على مستويات عالية من الاحماض الدهنية الغير المشبعة (Franklin,2016).

3-4-2 خط الخلايا الليفية البشرية الطبيعية Normal Human Fibroblast (NHF)

خط خلايا انسجة ليفية طبيعية مشتقة من جلد الانسان، تستخدم لأغراض الاختبارات الدوائية وتجارب البحث العلمي، طورت من اجل الحصول على خلايا بشرية طبيعية ودراستها لمعرفة مدى التأثيرات السمية للمستخلصات النباتية و الأدوية والعقاقير الجديدة (Abdelhameed,2022).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3- المواد وطرائق العمل

3-1 المواد Materials

3-1-1 الأجهزة المستخدمة Instruments

ت	اسم الجهاز	الشركة المجهزة	المنشأ
1	جهاز نبذ مركزي Centrifuge	Universal 16A	Germany
2	حمام مائي Water bath	Julabo	Germany
3	جهاز الاليزا ELISA Multi-Well plate Reader	Organon Teknik	Netherland
4	حاضنة مبردة Cooled incubator	GallenKamp	England
5	فرن Oven	GallenKamp	U. K
6	كابينة معقمة Laminar air flow cabinet	Gelaire	Austria
7	صفيحة ساخنة مع محرك مغناطيسي Hot plate with magnetic stirrer	GallenKamp	England
9	مجهر ضوئي Light microscope	Olympus	Japan
10	حاضنة CO2 CO_2 incubator	Cypress Diagnostics	Belgium
11	مجفف زجاجي Desiccator	Quick fit	U. K
12	ميزان حساس Sensitive balance	Precise	Switzerland
13	قارئ الصفيحة الميكروية Microtiter Plate Reader	Gennex Lab	USA
14	غطاء الجريان الصفيحي Laminar flow hood	K & K Scientific Supplier	Korea
15	الماصة المجهرية Micropipette (0.5-10 µl)	Cypress Diagnostics	Belgium
16	جهاز المطياف Spectrophotometer	Biotich Engineerng	England

3-1-2 الزجاجيات والأدوات المستخدمة Glassware and tools used

ت	اسم الأداة	الشركة المجهزة	المنشأ
1	أنابيب تجميد خاصة معقمة Cryotubes	Nunc	Denmark
2	قناني بلاستيكية للزرع النسيجي حجم 25سم^2 Plastic bottles for tissue culture, 25cm^2	Falcon	USA
3	انابيب اختبار Test tube	Falcon	USA
4	أطباق زراعة الخلايا ذات 96 حفرة مسطحة القعر Cell culture plates	Santa Cruz Biotechnology	USA
5	مرشحات ذات ثقوب بقطر 0.22 و 0.45 مايكرومتر Nalgene filter	Scientific	USA
6	اطياف بتري Petri dishes	Sterilin	England

3-1-3 المواد الكيميائية Chemicals

ت	المادة	الشركة المجهزة	المنشأ
1	حامض الهيدروكلوريك HCl	BDH	England
2	التربسين Trypsin/EDTA	Capricorn	Germany
3	بيكاربونات الصوديوم NaHCO3	BDH	England
4	كحول الايثانول Absolute ethanol	BDH	England
5	حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4	Sigma	USA
6	المصل الدم البقري الجنيني Fetal Bovine Serum	Sigma	USA
7	المضاد الحيوي Streptomycin	مصنع أدوية سامراء	Iraq
8	المضاد الحيوي Benzyl penicillin	Crystalline penicillin Antibiotic	Ajanta Pharma Limitad (India)
9	الوسط الزرعي RPMI-1640 Rosswell Park Memorial Institute- 1640	Capricorn	Germany

10	صبغة MTT stain Methyl Thiazolyl Tetrazolium	Bio-World	USA
11	مركب ثنائي ميثيل السلفوكسيد Dimethyl sulphoxide (DMSO)	Santacruz Biotechnology	USA
12	الكلوروفورم $CHCl_3$	BDH	England
13	صبغة الزايلينول البرتقالية Xylenol orange stain	Fluka	England
14	كلوريد الصوديوم النقي NaCl	Sigma	USA
15	كلوريد الالمنيوم $AlCl_3$	Sigma	USA
16	خلات البوتاسيو CH_3COOK	BDH	England
17	حامض الكاليك $C_7H_6O_5$	BDH	England
18	بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2	BDH	England
19	ثلاثي هيدروكلوريد الديانيسيدين	BDH	England
20	كبريتات الامونيوم الحديدوزية $(NH_4)_2Fe(SO_4)2H_2O$	BDH	England
21	كليسيرين Glycerin $C_3H_8O_3$	BDH	England
22	كاشف فولين سيوكالتيو Folin-Ciocaltin reagent	T.C.L	Japan
23	ورق الترشيح Whatman no 1	Ahlstrom	Germany
24	دارئ الفوسفات الملحي PBS Phosphate Buffered Saline	BDH	England
25	كاشف الفولين Folin-ciocalteai	BDH	England
26	حامض الغاليك Gallic acid	BDH	England

2-3 طرائق العمل Methods

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

اجريت الدراسة في مختبرات الشركة العراقية للتقنيات الاحيائية يستثنى من ذلك الجزء الخاص بتحضير المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* حيث اجريت في مختبر الدراسات العليا لقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء .

1-2-3 جمع النبات و تحضير المستخلصات النباتية:

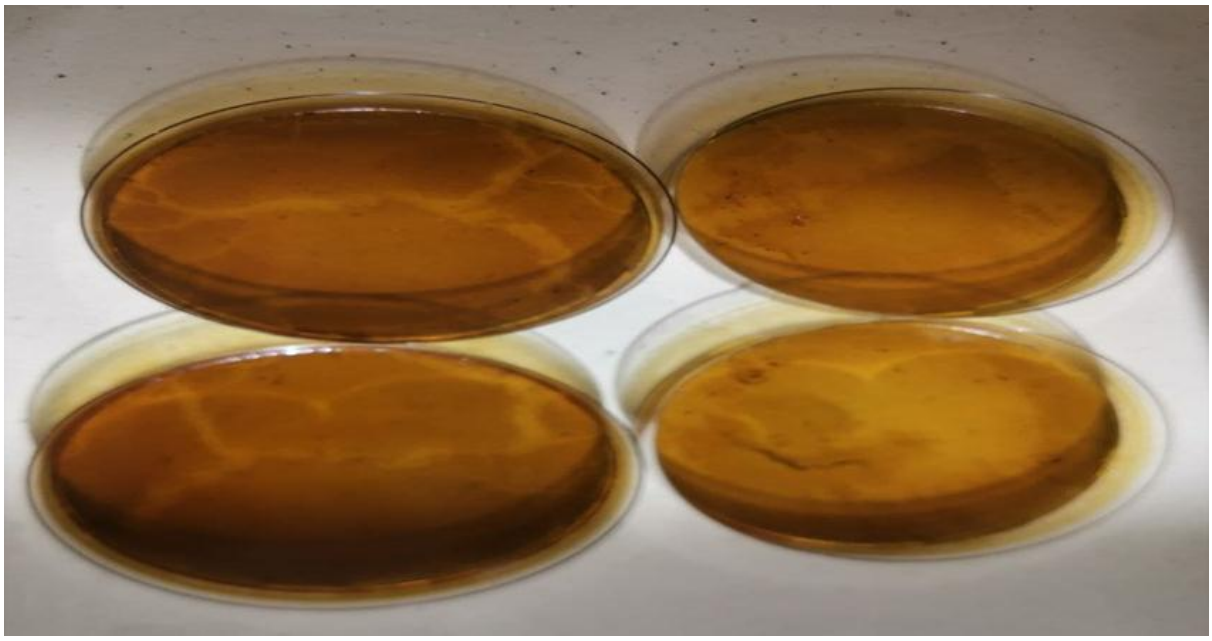
1-1-2-3 جمع وتصنيف النبات Plant collection and classification

تم جمع جميع النباتات من ضفاف النهر مشروع المسيب الكبير في قضاء كوثى (جبلة) في محافظة بابل في شهر تشرين الاول 2021 ، وتم تصنيف النباتات من قبل الاستاذ المساعد الدكتور نيبال امطير طراد في كلية التربية للعوم الصرفة / جامعة كربلاء . تم اخذ المجموع الخضري (السيقان والاوراق) وغسلت جيدا بالماء لإزالة الاتربة العالقة وتركت في الظل لحين الجفاف التام ، وبعد ذلك تم طحنة باستخدام مطحنة كهربائية ثم حفظ المسحوق في اواني بلاستيكية بمكان بعيد عن الضوء والرطوبة و الحرارة لحين الاستعمال.

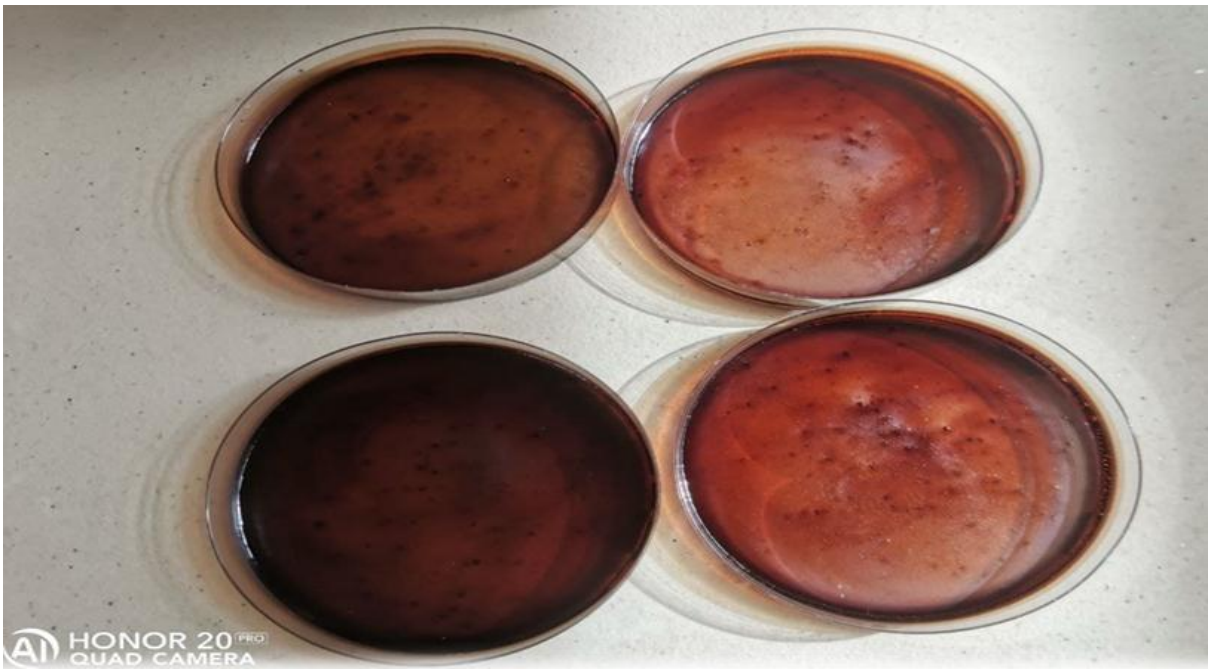
2-1-2-3 تحضير المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري(السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus*

حُضر المستخلص المائي لنبات الاسل *Juncus Rigidus* تبعا لطريقة(1975) Meclure *et al*., ؛(1976) chadha, بأخذ 50 غم من المسحوق النباتي و يضاف له من الماء المقطر و بنسبة 10:1 و بعدها وضع الخليط على جهاز المحرك الدوار Magnatic stirrer لمدة 72 ساعة ليتم خلطة جيدا وعلى درجة حرارة الغرفة بعد ذلك رشح الخليط باستخدام قطعة شاش نظيفة و من ثم بورق الترشيح whatman no 1 . صُب المستخلص في اطباق بتري توضع داخل الفرن الفرن oven في درجة الحرارة 38م لكي لا تتلف المكونات الفعالة ، بعد الجفاف يوضع المسحوق (لونة بني فاتح) في اواني نضيفه لحين الاستعمال و التي لا يتجاوز فترة الثلاثة اشهر من تاريخ التحضير ، عند الاستعمال اذيب 1غم من المستخلص في 10 مل من محلول دارئ الفوسفات الملحي Phosphate buffer (PBS) Saline (محلول يحافظ على PH وتقلباته) و بعدها عقم باستخدام ورق الترشيح what man 1 ثم باستخدام ورق Nalgene filter ذو ثقوب 0.45 و 0.22 مايكرو ميتر، حيث اعتبر هذا المحلول هو الاصل الذي تحضر منة باقي التراكيز . اما بالنسبة للمستخلص الكحولي استعمل بتركيز 70% كحول

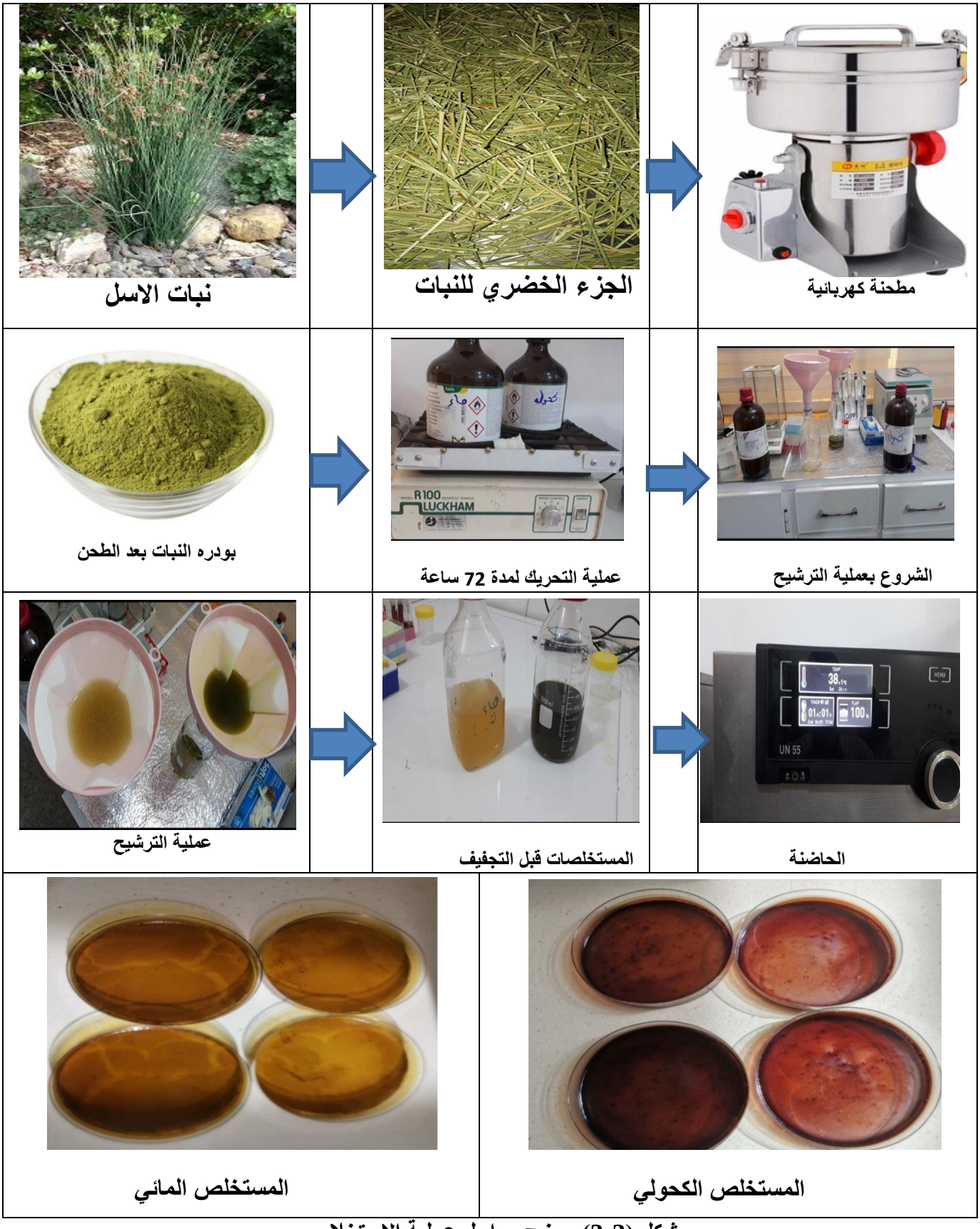
الاثيلي بدلا من الماء المقطر ، و تم الحصول على المستخلص باللون البني الداكن مائل للسواد ذات قوم لزج .



شكل (3-1) المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و أوراق) لنبات الاسل *Juncu rigidus*



شكل (3-2) المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Jucus rigidus*



شكل (3-3) يوضح مراحل عملية الاستخلاص

2-2-3 التقدير الكمي للمركبات الفعالة في المستخلصات الخام للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncur Rigidus* .

1-2-2-3 تقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز المطياف spectrophotometer

تقدر الفينولات بطريقة Pasko *et al*.,(2019) باستخدام كاشف فولين Folin-ciocalteai حيث ان هذا الكاشف مكون من حامض Phosphotungstic acid الذي يتأكسد بواسطة الفينولات الى Tungsten Oxides (W8O23) ذات اللون الازرق كلما كانت كمية الفينولات كبيرة كان اللون الازرق كثيف . قدرت الفينولات كميا باستخدام جهاز المطياف spectrophotometer و باستخدام حامض الغاليك كمركب فينولي قياسي و بطول موجي 760 nm وكما في الخطوات الاتية :

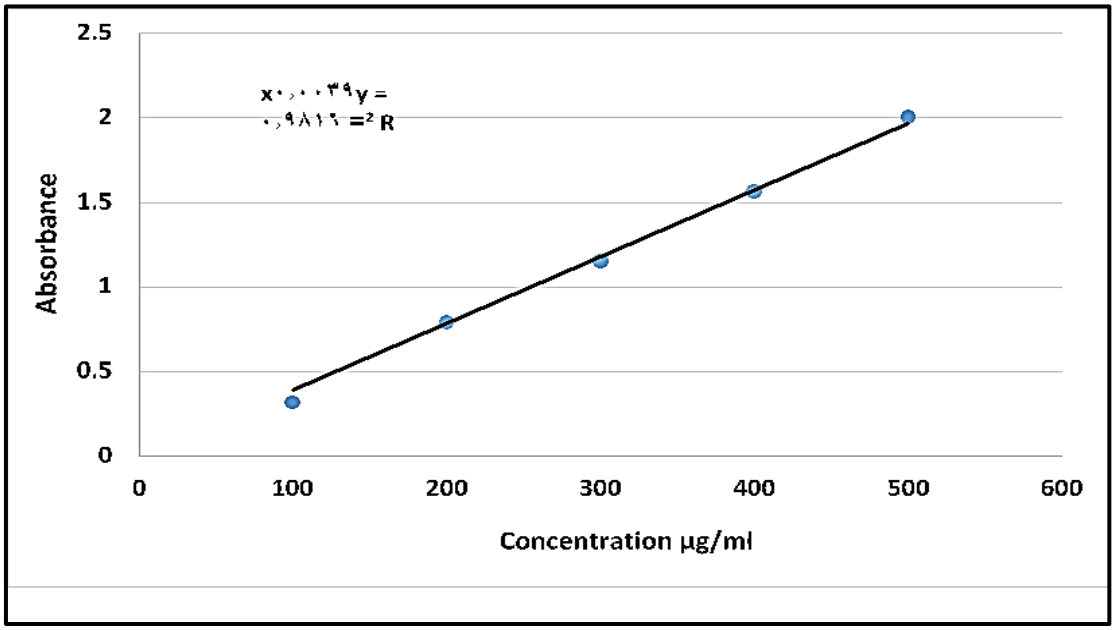
1- يتم تحضير حامض الغاليك و بتركيز (0.3) ملغم/مل .

2- نأخذ حجم 1 مل من عينة المستخلص النباتي و نضيف لها 1 مل من محلول كاشف فولين و يترك 5 دقائق في الظلام

3- نضيف 1 مل من محلول كاربونات الصوديوم (Na2C03) 7.5% و يمزج المحلول جيدا و يترك في الظلام لكون الكاشف يتأسد في الضوء لمدة 90 دقيقة في درجة حرارة الغرفة .

4- تتم قراءة النتيجة بواسطه جهاز المطياف spectrophotometer .

5- باستعمال منحنى المعايرة شكل (3-4) لحامض الغاليك يتم التعبير عن المحتوى الكلي للعينة بواسطة ما يكافئها من مليغرامات من حامض الغاليك .



شكل (3-4) المنحنى القياسي لحامض الغاليك

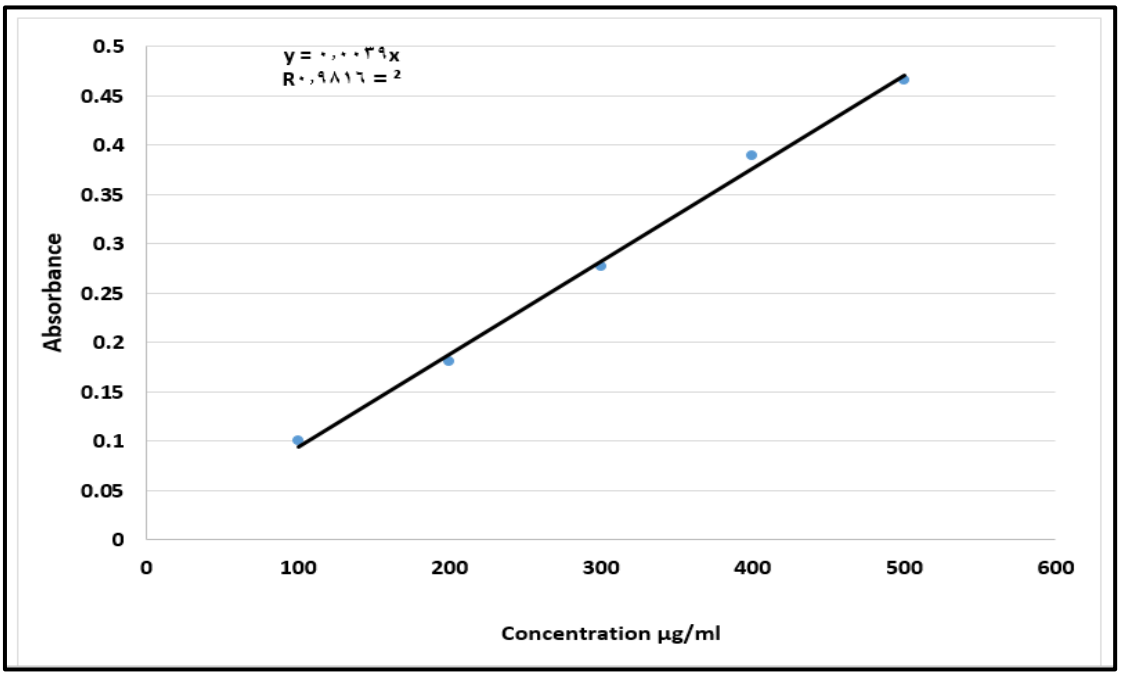
2-2-2-3 التقدير الكمي للتانينات الكلية باستخدام جهاز spectrophotometer

قدرت كمية مادة التنينات الكلية في المستخلصات النباتية حسب طريقة Broadhurst *et al.*,(1978) باستخدام المركب القياسي الكاتشين Catchin (مركب تانيني من العائلة الفينولية) ، وكاشف الفانيلين و حامض الهيدروكلوريك (HCL) بأستعمال جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer عند الطول الموجي 500nm و منحنى الكاتشين Catchin القياسي شكل (3-5) وكالاتي :

1- تم أخذ 400µg من المستخلص النباتي و يضاف له 3 مل من محلول الفانيلين 4 % و يمزج جيدا .

2- يضاف الى الخليط 105 ml من حامض الهيدروكلوريك (HCL) المركز ثم تترك لمدة 15 دقيقة في الحاضنة .

3- بعد مرور 15 دقيقة تستخرج العينات من الحاضنة و تقرا الامتصاصية عند الطول الموجي 500 nm وباستخدام جهاز المطياف حيث يتم التعبير عن المحتوى الكلي للتانينات بواسطة ما يكافئها من ملغرام مادة الكاتشين .



شكل (3-5) المنحنى القياسي لمركب الكاتشين Catchin

3-2-2-3- تقـــدير الكمـــي لمركبـــات الفلافينويـــد بواســـطة جهـــاز المطيـــاف spectrophotometer

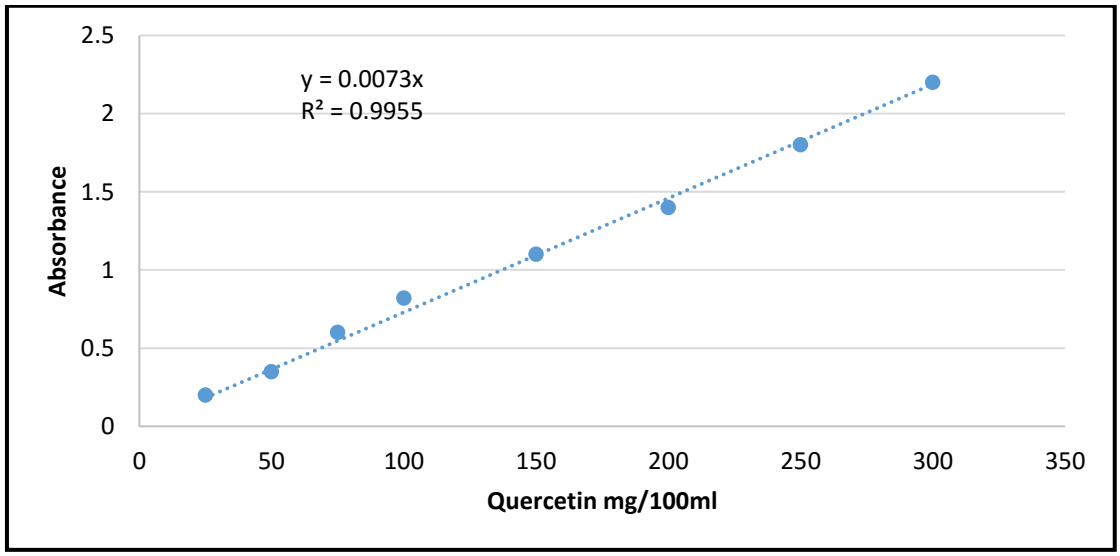
تم تقدير محتوى الفلافينويد حسب طريقة (Marinova *et al.*,2005; Sen *et al.*,2013) باستخدام الكيرسيتين (هو مركب من عائلة الفلافينويدات) لإنشاء منحنى المعايرة لتقدير الكمي للفلافونويدات في المستخلصات النباتية . حيث يتم تكوين معقد بين كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) والهيدروكسيل (OH) في تركيب حلقة الفلافينويد ، ذات لون اصفر أذ يمتص عند طول موجي 415nm ، تقدر الفلافينويدات كميا بواسطة جهاز spectrophotometer وحسب الخطوات الاتية :

1- تحضير مادة الكيرسيتين Quercetin بتركيز 0.1 مل/ ملغرام

2- - نأخذ حجم 1 مل من عينة المستخلص النباتي و نضيف لها 1 مل من كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) بتركيز 0.2 % ثم تترك لفترة نصف ساعة في الظلام في درجة حرارة 27 م° لكي لا يتأكسد ولكون مدة التفاعلات حساسة للضوء نلاحظ ظهور اللون الاصفر.

3- تقرأ النتيجة بواسطة جهاز المطياف عند الطول الموجي 415 nm .

4- - باستخدام منحنى المعايرة شكل (3-6) لمركب Quercetin يتم التعبير عن المحتوى الكلي للعينة بواسطة ما يكافئها من ملغرام من الكيرسيتين .



شكل (3-6) المنحنى القياسي الكيرسيتين

4-2-2-3 التقـديـر الكمـي مركبـات أنـواع الاوكسجيـن التـفـاعليـة (ROS) الكلـي Total Reactive Oxygen Species

يعتمد مبدأ العمل للأختبار على كميه العوامل المؤكسدة الموجودة في العينة المراد فحصها التي تعمل على أكسدة أيونات الحديدوز في معقد اورونو ديانسيدين ثنائي هيدروكلوريد Ortho-dianisidine dihydrochloride الى أيونات حديديك،ويضاف الغليسيرين كعامل مساعد الى وسط التفاعل تحضير محاليل الاختبار(Erel,2005):

اولا : تحضير الكاشف الاول

تم تحضير الكاشف عن طريق اذابة 3.17 غم من Ortho-dianisidine dihydrochloride و1.96 غم من كبريتات الألمنيوم الحديدوزية $AlFeSO_4$ في 100مل من محلول حامض الكبريتيك H_2SO_4 بتركيز 25 مولاري و يمزج المحلول جيداً.(يستعمل الكاشف لفترة لا تزيد عن 6 اشهر تقريبا في درجة حرارة 4 م°).

ثانيا: الكاشف الثاني

تم تحضير الكاشف بأذابه 8.18 غم من ملح كلوريد الصوديوم النقي (NaCl) و 144 ملغم من صبغة الزيلينول البرتقالية Xylenol Orange (كاشف عضوي يستخدم لمعايرة المركبات) في 900 مل من حامض الكبريتيك H_2SO_4 بتركيز25 مولاري ، و اضافة 100 مل الغليسيرين كعامل مساعد الى المحلول (يعمل هذا الكاشف لمدة لا تزيد عن 6 اشهر من تاريخ تحضيره في درجة حرارة 4م°) .

ثالثا : تحضير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2

يحضر محلول بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (100ميكرو مول / لتر) من اذابة مسحوق بيروكسيد الهيدروجين في الماء المقطر.

طريقة العمل:

يوضع في أنبوب المعايرة 50 مل من H_2O_2 ، في حين يضاف الى انبوب الاختبار الثاني العينة النباتية و الانبوب الثالث يوضع فيه الماء المقطر ، ثم يضاف 2 ml من الكاشف الأول للأنابيب الثلاث بعدها تخلط جيداً ، و يضاف الكاشف الثاني بحجم 2 ml ثم يمزج محتوى كل أنبوب بهدوء ويترك ثلاث

دقائق في درجة حرارة الغرفة حيث يلاحظ تلون انبوب العينة باللون البرتقالي بسبب تكون ايون الحديديك في الوسط الحامضي ،أن كثافة اللون يمكن قياسها بواسطة جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer عند الطول الموجي 560 nm وحسب المعادلة :

تمت الحسابات وفقاً للمعادلة الأتية :-

$$\text{ROS} = \frac{\text{امتصاصية الانبوب الذي يحوي العينة}}{\text{امتصاصية الانبوب الذي يحوي } \mathbf{H_2O}} \times \text{تركيز الانبوب القياسي}$$

5-2-2-3 قياس الفعالية المضادة لأكسدة المستخلصات الخام لنبات الاسل *Juncus rigidus* :

تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والأوراق) لنبات الاسل بواسطة اختبار DPPH وباستعمال جذر الحر الثابت stable free radical وباستخدام منحنى المعايرة شكل (A,B 7-3) لحامض الكاليك Gallic acid و الاسكوربيك Ascorbic acid يتم التعبير عن النسبة المئوية لتثبيط الجذر الحر DPPH في العينات . حسب طريقة (Marinva and batchvaro, 2011) .

1- اذابة 10 ملغرام من بودرة الماده الجافة للنبات في 10 مل من كحول الايثانول 70%.

2- يحضر محلول DPPH بتركيز 0.002% .

3- وضع العينات النباتية في أنابيب اختبار منفصلة بحجم 2مل ثم تقسيم 10 مل الى خمس مكررات المحضرة في الخطوة الاولى.

4- أضافة 2 مل من محلول DPPH في كل أنبوب اختبار مع رج الانابيب بهدء و توضع في الظلام لمدة 30 دقيقة لكون مادة DPPH حساسة للضوء وتتأكسد عند التعرض للإضاءة.

5- قياس وتسجيل الكثافة الضوئية باستخدام جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer عند طول الموجي (517)nm .

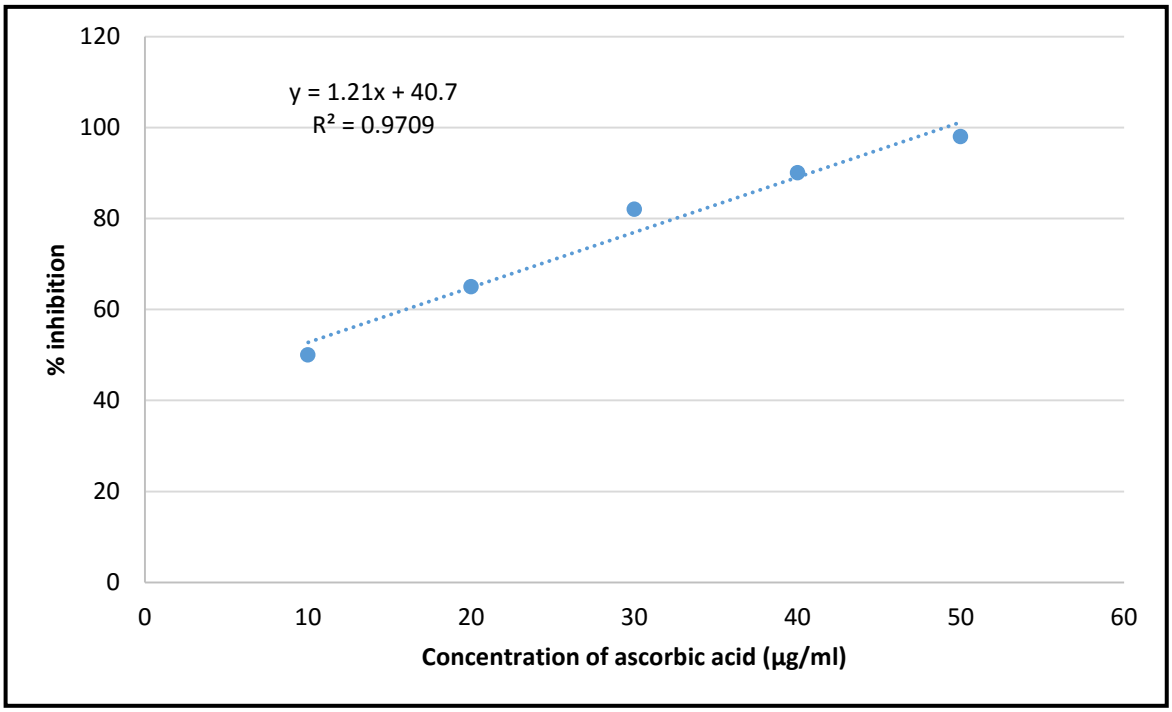
6- حساب نسبة التثبيط (تثبيط الجذور الحرة) DPPH . واستخدام كحول الايثانول مع محلول DPPH كوحدة سيطرة و حسب المعادلة التالية :

$$\%\text{DPPH نسبة الفعالية التثبيطية للمركب} = (\text{A} - \text{B}/\text{A}) \times 100$$

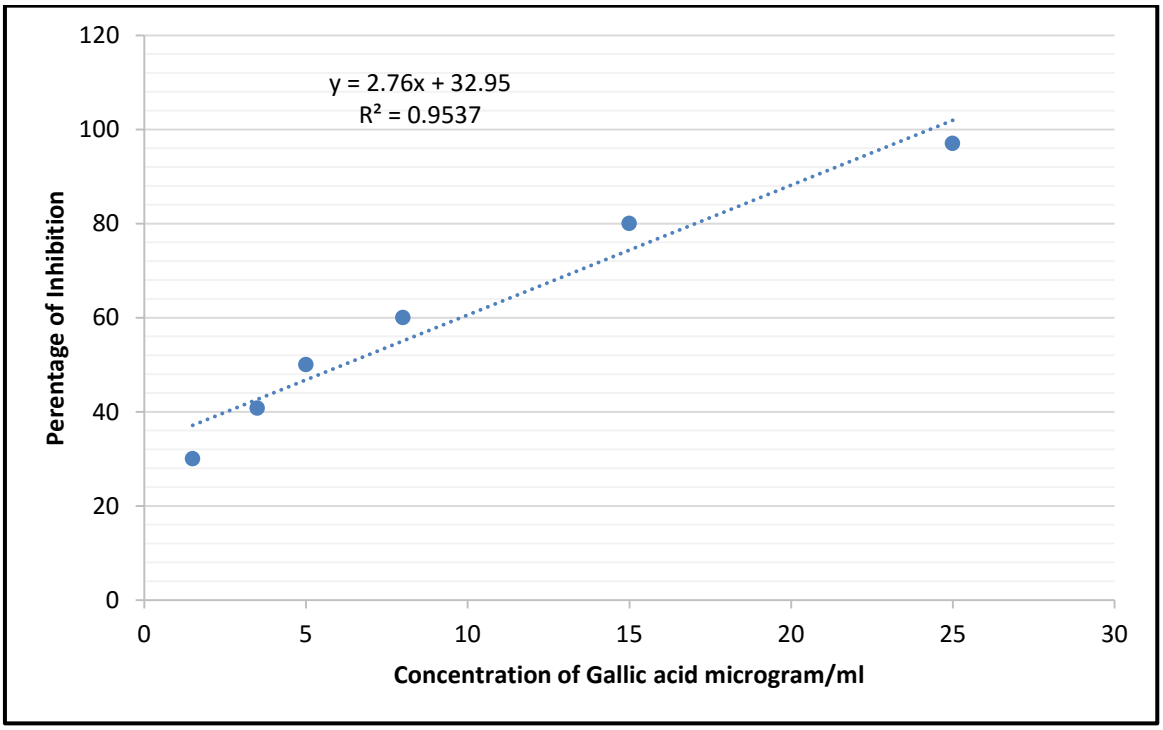
A تمثل الكثافة الضوئية للسيطرة

B تمثل الكثافة الضوئية للعينات

ملاحظة / تم اتباع نفس الخطوات السابقة على المستخلص المائي حيث تم استبدال الكحول بالماء المقطر لأذابه DPPH ،.



شكل (3-7 A) المنحنى القياسي لحامض الاسكوربيك



شكل (3-7 B) المنحنى القياسي لحامض الكاليك

6-2-2-3 تقدير محتوى القلويدات الكلي Estimation of Total Alkaloid

تم التأكد وجود القلويدات من خلال اذابة جزء من المستخلص النباتي في حامض الهيدروكلوريك HCL ثم تم أضافة قطرتين من قطرة التنين Dragon drops حيث يشير تكون راسب بلوري الى وجود القلويدات وحسب طريقة Ajanal *et al.*,(2012) .

تحضير الكواشف :-

1- تحضير كاشف بروموكريسول الأخضر (BCG) Bromo Cresol Green يتم تحضيره بتسخين 69.8 ملغم من البروموكريسول الأخضر مع 3ml من هيدروكسيد الصوديوم NAOH و 5ml من الماء المقطر لحين الذوبان تماماً ثم يخفف المحلول باضافة 100ml من الماء المقطر.

2- تحضير محلول الدارئ الفوسفاتي (PBS) ذات PH=4.7 بواسطة تعديل حموضة 2 مولاري من فوسفات الصوديوم، Na_2HPO_4 الى 4.7 بإضافة حامض الستريك C6H8O7 ذات تركيز 0.2 مولاري .

3- تحضير محلول الأتروبين القياسي 1ملغرام من الأتروبين النقي في 10 مل من الماء المقطر .

طريقة العمل :

1- اذيب مقدار من المستخلص في2ml من حامض الهيدروكلوريك (HCL) ثم يرشُح المحلول.

2- ينقل 1ml من المحلول الناتج الى قمع دقيق لكي يتم غسله وترشيحه جيداً باستخدام الكلوروفورم و يعدل PH المحلول الى المتعادل باستخدام هيدروكسيد الصوديوم (NAOH) .

3- يضاف 5ml من BCG و5ml من PBS الى المحلول ثم يرج جيدا و يخفف المحلول بإضافة 10ml من الكلوروفورم .

4- يتم قياس امتصاصية المركب في الكلوروفورم عند طول موجي 470nm بجهاز Spectrophotometer .

3-2-3 المحاليل الخاصة بالزراعة النسيجية:

حضرت محاليل الزرع النسيجية و فق طريقة (2000),.Freshney وكالاتي:-

3-2-3-1 بيكاربونات الصوديوم ($NaHCO_3$) Sodium bicarbonate

منظم للـPH عند تحضير الوسط الزراعي . حضُر المحلول من خلال اضافة 100 ml من الماء المقطر الى 4.4 غم من بيكاربونات الصوديوم ، و عقم المحلول بالمؤصدة تحت درجة حرارة 121م° ولمدة 15 دقيقة وحفظ في حرارة 4م°.

3-2-3-2 المضادات الحيوية Antibiotic

تستخدم في التعقيم الكيميائي عند تحضير الوسط الزراعي ومنع نمو البكتريا . تم تحضيرها بإذابة محتويات العلبة Benzyl Penicillin ذات سعة 1000000 IU في 5 مل من الماء المقطر، تم اخذ منها 0.5 مل واضيفت الى 1 لتر من الوسط الزرعي و حفظ في درجة الحرارة 20- م°.

3-2-3-3 مصل الدم البقري الجنيني Fetal Bovine Serum

يستخدم عند تخضير الوسط الزراعي لتوفير منظمات نمو ومواد ضرورية لنمو الخلايا. تم استخدام مصل الدم البقري الجنيني المجهز من الشركة Sigma بعد تثبيطه بدرجة حرارة (58 م°) لمدة نصف ساعة واضيف الى الوسط الزرعي المحضر .

3-2-3-4 الفرسين Versene

يستخدم لتفكيك طبقة الخلايا في قنينة الزرع النسيجي وجعلها خلايا مفردة .حضر محلول الفرسين بإضافة 1غم من مسحوق (EDTA) Ethylene diamine tetra acetic acid إلى 100 مل من الماء المقطر ثم أذيب جيداً ،وعقم بدرجة حرارة121م° باستعمال المؤصدة لمدة 10 دقائق وحفظ في درجة حرارة 4 م°.

3-2-3-5 الوسط الزرعي Rosswell Park Memorial Insitute 1640 (RPMI 1640)

يستخدم كوسط زرعي واستنبات الخلايا لتحضير 1 لترمن الوسط الزراعي يتم استعمال خليط من المواد:

1) 10.4 غم من الوسط الزرعي (1640) RPMI (الحاوي على Hepes Buffer مع L-glutamine
2) 14 مل من4.4 % من NaHCO3.
3) 0.5 مل من المضاد الحيوي Penicillin و 0.5 مل من المضاد ستربتومايسين Streptomycin.
4) 100 مل من مصل الدم البقري الجنيني Fetal Bovine Serum .

حيث تم تحضير الوسط الزرعي (RPMI 1640) من أذابه 10.4g من الوسط الزراعي في 800ml من الماء المقطر منزوع الايونات Deionized Water بعد ذلك أضيف بيكاربونات الصوديوم NaHCO3 والمضاد الحيوي التي حُضرت مسبقاً.

تم تعديل الأس الهيدروجيني الى7.2 PH ثم أضيف مصل الدم البقري الجنيني ، رشح الوسط الزراعي و بعدها أكمل الحجم الى 1 L بإضافة الماء المقطر ، وعُقم باستعمال مرشحات ذات ثقوب 0.22, 0.45 مايكرون بعد ذلك تم وضعه في قناني نظيفة ومعقمة وحفظ في الحاضنة في درجة حرارة 37م° للتأكد من خلوه من التلوث ثم حفظ في درجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال (Yaseen,1990). اما الوسط الزرعي الخالي من المصل Serum Free Media (SFM) تم تحضيره بنفس الطريقة السابقة ولكن بدون أضافة المصل .

6-3-2-3 محلول التربسين– فرسين Trypsin - Versene solution

يستخدم لتفكيك الخلايا في قنينة الزرع النسجي . تم تحضيره بخلط كلاً من المحاليل Trypsin solution، Versin solution، Phosphate buffer Saline (PBS) حيث يمزج قبل الاستعمال ويحفظ بدرجة 4 م°.

7-3-2-3 تحضير صبغة Methyl Thiazolyl Tetrazolium stain (MTT)

تستخدم في صبغ الخلايا والكشف عم حيويتها . تم تحضير صبغة MTT بأتباع طريقة Betancur-Galvis *et al.*,(1999) ، باذابه 0.05 غم من مسحوق الصبغة في 1 مل من محلول دارئ الفوسفات PBS في دورق زجاجي بعد ذلك تم وضعُها على صفيحة مغناطيسية هزازة ، ثم رشحُ المزيج بمرشح 0.22 µm لإزالة البلورات ذات الون الأزرق المتشكلة عنها علما يتم تحضير الصبغة بشكل اني عند الاستعمال في الظلام لمنع تاكسدها بفعل الضوء .

4-2-3 الخطوط الخلوية المستخدمة Cell Lines

تم تزويدنا بالخطوط الخلوية الثلاثة من قبل الشركة العراقية للتقنيات الاحيائية وهي خط خلايا سرطان الثدي البشري Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) وخط خلايا سرطان الرئة البشري Adenocarcenomic 549 (A549) ، والخط الخلوي الطبيعي Normal Human Fibroblasts (NHF) خط خلايا الليف البشري ، وأجريت اختبارات السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خلايا الخطوط الخلوية الثلاثة. سمي خط خلايا سرطان الثدي البشري باسم Michigan Cancer Foundation-7 أشتق هذا الخط من خلية سرطان الثدي لامرأة بيضاء تبلغ من العمر 69 عام 1973

من قبل هيربيرت سولي وزملائه (Soule *et al.*,1973) وأستعمال عند التمريرة (35) بعد ذلك نمُي الخط في الوسط الزراعي (RPMI 1640) والذي تم تجهيزه مسبقاً وتم اضافة مصل الدم البقري الجنيني بنسبة حجمية 10% و (100 وحدة/مل) من البنسلين وكذلك تم اضافة 100 ميكروغرام/مل من الستربتومايسين . حيث تم تمرير الخلايا باستعمال Ethylene Diamine Tetra Acetic (EDTA) مرتين في الاسبوع بعد ذلك حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م° وتركت لحين تكون طبقة أحادية من الخلايا Confluent Monolayer بعد ذلك تعامل الخلايا بمحلول التربسين لكي نعدها للمزرعة الثانوية. كذلك تمت بنفس الخطوات السابقة على خط خلايا سرطان الرئة البشري Human lung cancer cell line (A549) وتم اشتقاق هذا الخط من خلايا غدية سنخية قاعدية ظهارية رئوية البشرية السرطانية انها تشكل خطً خلوي تم تطويره لأول مرة في عام 1972 من قبل Giard و اخرون من خلال إزالة وزراعة أنسجة الرئة السرطانية من الورم المستأصل لذكر قوقازي يبلغ من العمر 58 عامًا. أستخدم هذا الخط عند التمريرة 58 . تم استخدام خط الخلايا الطبيعيNHF عند التمريرة 18 حيث تم اشتقاقه من الخلايا الظهارية Epithelial cells من نسيج الجلد في الانسان . تمت زراعة بنفس الخطوات الطريقة السابقة .

5-2-3 دراسة تأثير السمية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموعة الخضرية (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* في نمو الخطوط الخلوية

1-5-2-3 تهيئة الخطوط الخلوية والوسط الزرعي Preparation of cell lines and medium

تم توزيع الوسط الزرعي الذي حضر كما في الفقرة 3-2-3-5 ثم وضع داخل قناني زجاجية ذات غطاء محكم سعة 200 مل ،حفظت القناني تحت درجة حرارة 20 - °م حتى وقت استعمالها، هيئت الخطوط الخلوية الثلاث وهي خط خلايا سرطان الثدي البشري (MCF-7) وخط خلايا سرطان الرئة (A549) وخط الطبيعي NHF، وتم إجراء خطوات الزرع النسيجي في ظروف معقمة (Freshney,1994) وفقاً للخطوات الاتية.

- تم أضافة مقدار2 مل من محلول التربسين- فرسين (كعامل كلابي) والذي سبق تحضيره كما في الفقرة (3-2-3-6) إلى قنينة الزرع النسيجي بحجم 50 سم المحتوي على الخلايا بعد أن تم ازالة الوسط الزرعي منها وغسلها بواسطة محلول فسيولوجي (PBS) المحضر في الفقرة 3-2-3-1، بعد ذلك حركت القنينة بهدوء وحضنت تحت درجة حرارة 37م° في حاضنة ولمدة خمسة دقائق للمساعدة في تفكيك الخلايا والحصول عليها مفردة.

- بعد الحصول على الخلايا المفككة تم اضافة 15 مل من الوسط الزراعي RPMI-1640 الذي حُضر في الفقرة 3-2-3-5، ثم حُركت القنينة بصورة جيدة ووزعت المحتويات بين قنينتين بالتساوي بحيث أن كمية الخلايا مع الوسط الزرعي تكون ذاتها ، تسمى هذه العملية بالزرع الثانوي Subculturing Process هي عملية اعادة زرع الخلايا بعد تمريرها والحصول على خلايا مفردة وتزرع مره ثانية في قنينة زرع نسجي جديدة.
- وضعت القناني في الحاضنة بدرجة حرارة 37م° تبعاً لطبيعة النمو والتمايز في كل خط ، بعد كُتابة كل المعلومات المتضمنة نوع الخلايا وتاريخ أجراء الزراعة مع رقم التمريرة الجديدة (New passage) حيث تتم مراقبة ومتابعة القناني يومياً للتأكد من عدم تلوثها، فكانت الخلايا تنمو بحالة جيدة ، عن طريق فحصها بمجهر الطور المقلوب Inverted-phase Microscope لكونه يستخدم في دراسة الخلايا الحيه من الاسفل في اطياف الاستزراع دون نقلها الى سلايدات اي يكبر الخلايا في قعر قنينة الزرع النسجي، وبعد تكون الطبقة الاحادية بشكل كامل عند ذلك تكون الخلايا جاهزة للاستخدام .

2-5-2-3 اختبار السُمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات الاسل *Juncur Rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية

حضرت المستخلصات المائية والكحولية تبعا لطريقة (Abdul-Majeed, 2000) حيث تم إذابة 0.1 غم من المستخلص (المائي والكحولي) في 10 مل من الوسط الخالي من المصل، ثم عقم باستعمال مرشح ذات ثقوب بقطر 0.45 و 0.22 نانومتر ،حضرت ستة تراكيز (تخافيف نصفية) باستعمال الوسط الخالي من المصل وهي 200,100,50,25,12.5,6.25 µg/ ml. جُهز عالق الخلايا بإضافة محلول التربسين - فرسين بحجم 50 سم^3 الى الخلايا المزروعة (تكون بشكل طبقة في قنينة الزرع النسيجي) ثم تم أضافة 20 مل من الوسط الزرعي الذي يحتوي على المصل بنسبة 10% أليها ، ثم يخلط عالق الخلايا جيداً لكي يمتزج بعد أن تصبح الخلايا مفردة ويؤخذ منه 0.2 مل وتنقل الى حفر طبق المعايرة الزرع النسيجي ذات القعر المسطح Microtiter plates with 96-fat bottom well باستعمال ماصة أوتوماتيكية دقيقة Micropipette .

بعد ذلك وضعت الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 37 م° لكي تتم عملية التصاق الخلايا داخل الحفرة well ومن ثم التخلص من الوسط الزرعي الموجود في الحفر بغسله بمحلول دارئ الفوسفات الملحي PBS ثم اضيف 0.2 مل من كل تركيز من تراكيز المحضرة مسبقاً لكل من المستخلص المائي والكحولي وبثلاث مكررات من كل تركيز. بالأضافة الى ثمانية مكررات للسيطرة Control وحضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 37م°. بعد أن مضي فترة التعريض Exposure time

المحددة للحضن ،تم اخرج الاطباق من الحاضنة ثم ازالة الوسط الزرعي وغسلها بمحلول (PBS) ، بعد ذلك اضيف 0.1 مل من صبغة Methyl Thiazolyl Tetrazolium (MTT) المحضرة في فقرة 3-3-2-8 لكل حفرة وتركت لمدة ثلاث ساعات لكي يتم تفاعل الصبغة مع انزيمات توجد داخل الميتوكوندريا، ثم غسلت الحفر بمحلول PBS لإزالة الصبغة الزائدة ،حيث أن الخلايا الملتصقة في قعر الحفرة تصطبغ باللون الاصفر، بعدها اضافة 0.1 مل من Dimethyl sulphoxide DMSO وحضنت في الحضانة بدرجة حرارة 37م° لمدة 15 دقيقة. بعد جفاف الأطباق تم القُراءة النتائج باستعمال جهاز الاليزا Eliza plate Reader وعند الطول الموجي 492nm. أعيدت نفس الخطوات السابقة على الخطوط الخلوية MCF7،A549،NHF وباستعمال المستخلصين المائية والكحولية ولثلاث فترات تعريض 24 و48 و72 ساعة (Al-Shammari *et al*.,2019 ; Abdullah *et al*.,2020) .

تم احتساب النسبة المئوية للسمية (معدل تثبيط نمو) باستعمال المعادلة :

Inhibition rate (IR) = A- B/A*100

حيث أن A تشير الى الكثافة الضوئية لمعاملة السيطرة ، وB تشير الى الكثافة الضوئية للعينات

3-3 التحليل الإحصائي Statistical Analysis

استخدم البرنامج الاحصائي(SPSS) Statistical package for social science الاصدار 27 لغرض قراءة النتائج احصائيا ولغرض المقارنة بين المعاملات المختلفة فقد تم استخدام اختبار تحليل التباين الثنائي two way ANOVA مع حساب قيمة اقل فرق معنوي LSD. وقد حددت الاختلافات المعنوية عند مستوى احتمال 5%(الراوي وخلف الله،2000).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4- النتائج و المناقشة

4-1 التقدير الكمي للمركبات الفعالة للمستخلصات المائية والكحولية في المجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الأسل *Juncus rigidus*

بينت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية للمستخلص المائي بلغ 16.29mg/g ولمستخلص الكحول 16.34mg/g، في حين بلغ التقدير الكمي للتانينات في المستخلص المائي 8.82mg/g وللمستخلص الكحولي 7.91mg/g ،كما سجلت نتائج التقدير الكمي للمركبات القلويدية للمستخلص المائي 5.91mg/g وللكحولي بلغت 6.06mg/g.في حين سجلت نتائج التقدير الكمي للفلافينويدات وللمستخلص المائي 13.42 mg/g بينما بلغت للمستخلص الكحولي 13.84 mg/g وكما موضح في جدول (4-1).

جدول (4-1) نتائج التقدير الكمي للمركبات الفعالة للمستخلص المائي والكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الأسل *Juncus rigidus*

ت	المواد الفعالة / المستخلصات	الفينولات	التانينات	القلويدات	الفلافينويدات
1	المستخلص المائيmg/g	16.29	8.82	5.91	13.42
2	المستخلص الكحوليmg/g	16.34	7.91	6.06	13.84

اوضحت نتائج الدراسة ان مستخلصات المائي والكحولي لنبات الاسل يحتوي على العديد من المركبات الفعالة المتمثلة بالفينولات والتانينات والقلويدات والفلافينويدات تتوافق هذه النتائج مع دراسة Awaad,(2006) الذي اشار الى ان المستخلص الكحول لنبات الاسل تحتوي على الفلافونويد والتربينات والاحماض الامينية ومستقلبات ثانوية نادرة للغاية ، كما اشارت دراسة كل من Moustafa *et al.*,(2002) و Fawzy *et al.*,(2013) على احتواء نبات الاسل العديد من المركبات الفعالة منها الفينولات والتانينات والقلويدات والفلافينويدات وغيرها من المركبات الاخرى وان هذه المركبات لها نشاط مضاد للميكروبات ويتم تطبيقها كآليات دفاع للنبات مقابل الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض.

4-2 اختبار الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus*

تم اختبار فعالية المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* المضادة للأكسدة بطريقة 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) باستخدام سته تراكيز 50,40,30,20,10,0 mg/g وكما موضحة في الجدول (4-2).

جدول(4-2) نسب تثبيط الجذور الحرة في المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الأوراق) لنبات الأسل *Juncus rigidus*

ت	تراكيز المستخلص (mg/ml)	0	10	20	30	40	50
		نسبة التثبيط DPPH%					
1	المستخلص المائي	0	10.56	12.18	18.93	21.51	26
2	المستخلص الكحولي	0	9.31	16.43	19.81	20.51	24.31

كما موضح في الجدول اعلاه ان المستخلصات المائي والكحولية لها نسب مختلفة في تثبيط للجذور الحرة حيث نجد المستخلص المائي اعلى من المستخلص الكحولي في تركيز (10-40-50) بالمقابل نجد المستخلص الكحولي اعلى من المائي في تركيز (20-30) ، اذا اشارت دراسة Adouni et al.,(2018) ان المستخلصات الكحولي اعلى من المائي في تثبيط الجذور الحرة وعلى الرغم من ذلك فأن نسب التثبيط للجذور الحرة في المستخلصات النباتية تعتمد الى حد كبير على تكوين المستخلصات وظروف نظام الاختبار حيث ان قدرات المضادة الأكسدة تتأثر بالعديد من العوامل وهذا ما فسر لنا اختلاف المستخلص المائي عن الكحولي (Wong *et al*.,2006).

3-4 التقدير الكمي لمركبات أنواع الاوكسجين Reactive Oxygen Species (ROS) للمستخلصات المائية والكحولية في المجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الأسل *Juncus rigidus*

بينت نتائج التقدير الكمي لمركبات انواع الاوكسجين التفاعلية أذ بلغت للمستخلص المائي 231 nmol في حين سجلت نتائج التقدير الكمي للمستخلصات الكحولية 332 nmol .

أن الاستعمال المفرط للأدوية الكيميائية بمختلف أنواعها و ظهور أمراض تبدي مقاومة للعقاقير المستخدمة و ما يصاحب ذلك من زيادة في الجرعات العلاجية و ما يصاحبها من آثار ضارة على الجسم أدى ذلك الى زياده الاهتمام بالمركبات الطبيعية المتواجدة في النباتات التي تدعم الصحة و الجهاز المناعي للبشر ، من بين المركبات المهمة التي يعول عليها في الوقت الحاضر مضادات الاكسدة Antioxdentes في النباتات الطبية و منها نبات الاسل الخشن *Juncus rigidus* ، جاءت الكثير من الدراسات على النماذج المختبرية و الحيوية تسلط االضوء على الدور الكبير الذي تأخذه هذه المركبات في محاربة الجذور الحرة Free radical التي تتكون في الجسم نتيجة للفعاليات الايضية المختلفة . ومن بين مضادات الأكسدة في النباتات فيتامين C و مركب الليوتين Lutein و Flavan-3-ols الذي ينتمي لعائلة الفلافينويد Flavonoids التي تتواجد في الفواكه و الخضروات و لأهمية هذا الدور الخاص و

النتائج والمناقشة Results and Discussion

للتأثير على العديد من العمليات الكيموحيوية مثل الوقاية من الامراض كارتفاع ضغط الدم و السكري و السرطان ، كما تعمل المنتجات الكيميائية الطبيعية على التخلص من الجزيئات و الذرات النشطة التي تلحق الضرر بأغشية الخلايا و DNA أي تقوم بدور وقائي من الاصابة بالسرطان(Stefkó *et al.*,2020).

نبات الاسل من النباتات الطبية التي تمتلك خصائص علاجية و وقائية للكثير من الامراض بسبب المركبات النشطة التي يحتويها . أذ أظهرت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفعالة للمستخلصات المائية و الكحولية للمجمع الخضري (السيقان و الاوراق) في نبات الاسل *Juncus rigidus* أنه يحتوي على كميات جيدة من المركبات (الفلافينويدات ، التانينات ، القلويدات ، الفينولات) كما موضح في جدول (1-4) ذات قدرة كبيرة على كسح مركبات الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) و محاربة السرطان .حيث تعمل هذه المركبات على منع حدوث اجهاد تأكسدي Stress Oxydant إذ تؤدي زيادة الجذور الحرة المتراكمة الى ضرر بالغ في الجسم منها الامراض واختلال العديد من المهام الفسلجية مثل تحور DNA والجينات كذلك تغير في نفاذية الاغشية الخلوية، بالإضافة الى ذلك ان تراكم هذه الجزيئات النشطة في الانسجة يؤدي الى حدوث أضرار بالغة في الخلايا وعلى مستوى المادة الوراثية مما يمهد الطريق لظهور خلايا خبيثة ، لذا تعمل مضادات الاكسدة الطبيعية كبدائل وقائية لعلاج مرض السرطان (Stefkó *et al.*,2022)

أشارت الدراسة (Bús *et al.*,2018) الى ان جنس الاسل *Juncus* يمتاز بامتلاكه مركبات ذات أنشطة بيولوجية مختلفة لها تأثيرات وقائية مثل مركب الابجنين Apigenin والليوتين Lutein التي تعمل على الوقاية من الامراض مثل امراض جهاز الدوران و اعتلال شبكية العين و الشيخوخة ، كما يشتهر جنس الاسل Juncu بمركب الفينانثرين Phenanthrenes له نشاط سمي على كثير من الخطوط السرطانية مثل خط سرطان الثدي البشري MCF-7 و خط سرطان الرئة البشري A549 من خلال التأثير السمي و العمل على تثبيط نمو و تكاثر الخلايا الخبيثة .كما أن لنبات الاسل أنشطة أخرى يحتوي على بعض المركبات ذات فعالية مضادة للميكروبات والفطريات مثل Alpha-Terpineol acetate الذي يعود الى العائلة الكيميائية التربينات Terpines والتي تعمل على منع حدوث الالتهابات بسبب الاصابات البكتيريا ، كما تحتوي مستخلصات نبات الاسل على الاحماض الفينولية Phenolic acid و الفلافينويدات Flavonoids التي تعد من المركبات المهمة في محاربة الجذور الحرة Free radical (AlAmery & AlGaraawi,2020).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

أشارت دراسة حديثة (Liu,2022) الى أفضلية مضادات الاكسدة الطبيعية على المصنعة كون التركيب البنائي الثلاثي الابعاد لمضادات الأكسدة الطبيعية المستخلصة من النباتnatural antioxidants له دور في عملية الارتباط مع العوامل المؤكسدة اكثر من التركيب على مستوى ثنائي الابعاد لمضادات الأكسدة الاصطناعية synthetic antioxidants كما قد يكون هناك تأثير ضار لمضادات الأكسدة المصنعة على الجسم ، ومن هنا يبرز دور أهمية المنتجات الطبيعية وخاصة مركبات الأيض الثانوي في النباتات .

4-4 التاثيرات السمية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* في الخطوط السرطانية و الطبيعية

ضمت دراسة التأثير السمي الخلوي لمستخلصات نبات الاسل ثلاثة أنواع من الخطوط الخلوية أثنين من الخطوط السرطانية وهي A549 وMCF7 والخط الطبيعي NHF ولثلاثة أوقات من التعريض 72,48,24 ساعة ، وباستعمال ستة تراكيز وهي 200,100,50,25,12.5,6.25 µg/ml .

4-4-1 التأثير السمي الخلوي للمستخلصات المائية و الكحولية لنبات الاسل *Juncus rigidu s* على خط سرطان الرئة البشري A549

4-4-1-1 التأثير السمي الخلوي للمستخلصات المائية للمجموع الخضري (السيقان و الأوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئة البشري A549

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي التي تم الحصول عليها والموضحة في جدول (4-3) أن تأثير المستخلص المائي بدأ بعد 24 ساعة من التعريض و بفروق معنوية عند مستوى احتمال ($p \leq 0.05$) بالمقارنة مع السيطرة أذ سجل معدل النسبة المئوية لتثبيط الخلايا السرطانية لأقل التراكيز 6.25 µg/ml 10% ± 0.33 وأزداد التأثير السمي في الخلايا عند اعلى التراكيز 200 µg/ml اذ بلغ 37.5%±1.7 عند مستوى احتمال وفتره التعريض نفسها .أما عند انقضاء فترة 48 ساعة من التعرض للمستخلص نلاحظ أن معدل النسبة المئوية للتثبيط أرتفع و لجميع التراكيز تقريبا أذ سجل عند التركيز 6.25 µg/ml ، 28.35%±2.4 في حين أن نسبة التثبيط ولأعلى تركيز 200 µg/ml بلغت 54.12%±2 ، في حين بعد 72 ساعة من بلغت النسبة المئوية لمعدل التثبيط اعلى مستوياتها و بالمقارنة مع التراكيز ذاتها ، أ ذ سجلت نسبة تثبيط الخلايا السرطانية 39.36%±1.3 عند التركيز 6.25 µg/ml مقابل 68.96%±2.1 عند التركيز 200µg/ml.

الجدول (4-3) تأثير المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئه البشري (A549) لأوقات التعريض (72,48,24) ساعة.

Time / Con	24	48	72
6.25	10.13±0.33Aa	28.85±2.43Ab	39.36±1.29Ac
12.5	16.99±0.28Ba	35.91±0.78Bb	42.89±2.47Ac
25	20.47±0.59Ca	39.87±1.74Cb	51.24±1.20Bc
50	28.73±1.9Da	44.16±0.88Db	58.34±2.89Cc
100	31.24±2.24Ea	49.33±2.37Eb	61.63±3.16Cc
200	37.51±1.76Fa	54.12±2.47Fb	68.96±2.15Dc
$LSD_{0.05}$	**3.18**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياري SD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

4-1-4-2 التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و أوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidu* على خلايا خط سرطان الرئة البشري A549

بينت النتائج التي تم الحصول عليها أن التأثير السمي للمستخلص الكحولي على خط خلايا سرطان الرئة البشري و كما في الجدول (4-4) قد بدا بعد مرور 24 ساعة من التعريض أذ بلغ معدل النسبة المئوية للتثبيط 3±15% للتركيز 6.25µg/ml وعند مستوى احتمال ($p\leq0.05$) أما عند أعلى التراكيز 200µg/ml بلغت أعلى مستوياتها 4±39.3% مقارنة مع باقي التراكيز ولنفس مده التعريض 24 ساعة ، وبعد مرور 48 ساعة من المعالجة بالمستخلص نلاحظ تسجيل زيادة في معدلات التثبيط لنمو الخلايا السرطانية أذ أعطت النتائج نسبة تثبيط بلغت 5±30.5% ولأقل التراكيز 6.25µg/ml، وفي التراكيز العالية 200,100µg/ml ، زادت معدلات التثبيط زيادة كبيرة بالمقارنة مع باقي التراكيز ولمدة التعريض ذاتها ، اذ سجلت نسبة قتل الخلايا لخط سرطان الرئة البشري بلغت 5±77.69%عند التركيز 200 µg/ml للمدة ذاتها . أن معدل النسبة المئوية للتثبيط واصل الارتفاع بعد مضي 72 ساعة من التعريض بلغ 1.2±42.2% عند اقل التراكيز المستخدمة 6.25µg/ml في حين سجل معدل تثبيط

الخلايا 83.4%±3عند التركيز 200µg/ml وهي اعلى نسبة تثبيط سجلت لخلايا خط سرطان الرئة البشري .

الجدول (4-4) تأثير المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط سرطان الرئة البشري (A549) لاوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة

Time / Con	24	48	72
6.25	15.29±3.04Aa	30.54±5.01Ab	42.27±1.19Ac
12.5	21.08±2.79Ba	40.59±2.68Bb	63.49±3.31Bc
25	25.16±1.11Ca	46.46±0.70Cb	72.69±2.2Cc
50	30.56±3.12Da	57.77±0.69Db	78.04±2.92Dc
100	36.87±1.92Ea	65.84±1.75Eb	80.12±0.17Dec
200	39.38±4.13Ea	77.69±5Fb	83.45±2.9Ec
$LSD_{0.05}$	**4.69**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياري SD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

3-1-4-4 مقارنة التأثيرات السمية للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والأوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط سرطان الرئة البشرِيA549

عند أجراء مقارنة بين تأثير السمي للمستخلص المائي و المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل نجد أن المستخلص الكحولي له الافضلية في التأثير على المستخلص المائي على خلايا خط سرطان الرئة البشري A549 ولجميع التراكيز و لاوقات التعريض الثلاث 72,48,24 ساعة. عند ملاحظة الجداول (4-5 A,B,C) نجد أن هناك فروق معنوية بين المعاملات للمستخلصين المائي والكحولي عند مستوى الاحتمال ($p \leq 0.05$) و لجميع التراكيز عند فتره التعريض 24 ساعة .أما بعد مرور48 ساعة من التعرض للمستخلصات لم يتغير شيء ألا أن نسب التثبيط زادت بشكل ملحوظ مع زيادة التركيز المستخدم ولكلا المستخلصين مع ظهور فروق معنوية كبيرة لمعدل التثبيط بين المعاملة بالمستخلص المائي و المستخلص الكحولي بدا من التركيز 50 µg/ml ، هناك

النتائج والمناقشة Results and Discussion

افضلية واضحة للمستخلص الكحولي في نسب قتل الخلايا السرطانية أذ بلغ معدل تثبيط الخلايا السرطانية 30.54%±5.1 للمستخلص الكحولي عند التركيز 6.25 µg/ml في حين سجل معدل النسبة المئوية لتثبيط الخلايا 28.85%±2.43 للمستخلص المائي و لنفس التركيز و فتره التعريض. في حين ان وقت التعريض 72 ساعة سجل أعلى فرق معنوي بين المعاملة بالمستخلص المائي و المستخلص الكحولي عند التركيز 200 µg/ml ، نجد ان هناك افضلية للمستخلص الكحولي على المستخلص المائي و بفارق كبير بلغ 23.5% .

الجدول (A 5-4) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئة البشري (A549) لوقت التعريض (24) ساعه.

Type of extract / Conc.	Water extract	Ethanolic extract
6.25	10.13±0.33Aa	15.29±3.04Ab
12.5	16.99±0.28Ba	21.08±2.79Bb
25	20.47±0.59Ca	25.16±1.11Cb
50	28.73±1.9Da	30.56±3.12Da
100	31.24±2.24Da	36.87±1.92Eb
200	37.51±1.76Ea	39.38±4.13Ea
$LSD_{0.05}$	**3.80**	

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياري SD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

الجدول (4-B 5) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئة البشري (A549) لوقت التعريض (48) ساعه.

Type of extract / Conc.	Water extract	Ethanolic extract
6.25	28.85±2.43Aa	30.54±5.01Aa
12.5	35.91±0.78Ba	40.59±2.68Bb
25	39.87±1.74Ba	46.46±0.70Cb
50	44.16±0.88Ca	57.77±0.69Db
100	49.33±2.37Da	65.84±1.75Eb
200	54.12±2.47Ea	77.69±5Fb
$LSD_{0.05}$	4.44	

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياري SD لثلاث مكررات.

* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$

* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$

* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)

* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

الجدول (4-C 5) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الرئة البشري (A549) لوقت التعريض (72) ساعه

Type of extract / Conc.	Water extract	Ethanolic extract
6.25	39.36±1.29Aa	42.27±1.19Aa
12.5	42.89±2.47Aa	63.49±3.31Bb
25	51.24±1.20Ba	72.69±2.2Cb
50	58.34±2.89Ca	78.04±2.92Db
100	61.63±3.16Ca	80.12±0.17Deb
200	68.96±2.15Da	83.45±2.9Eb
$LSD_{0.05}$	3.96	

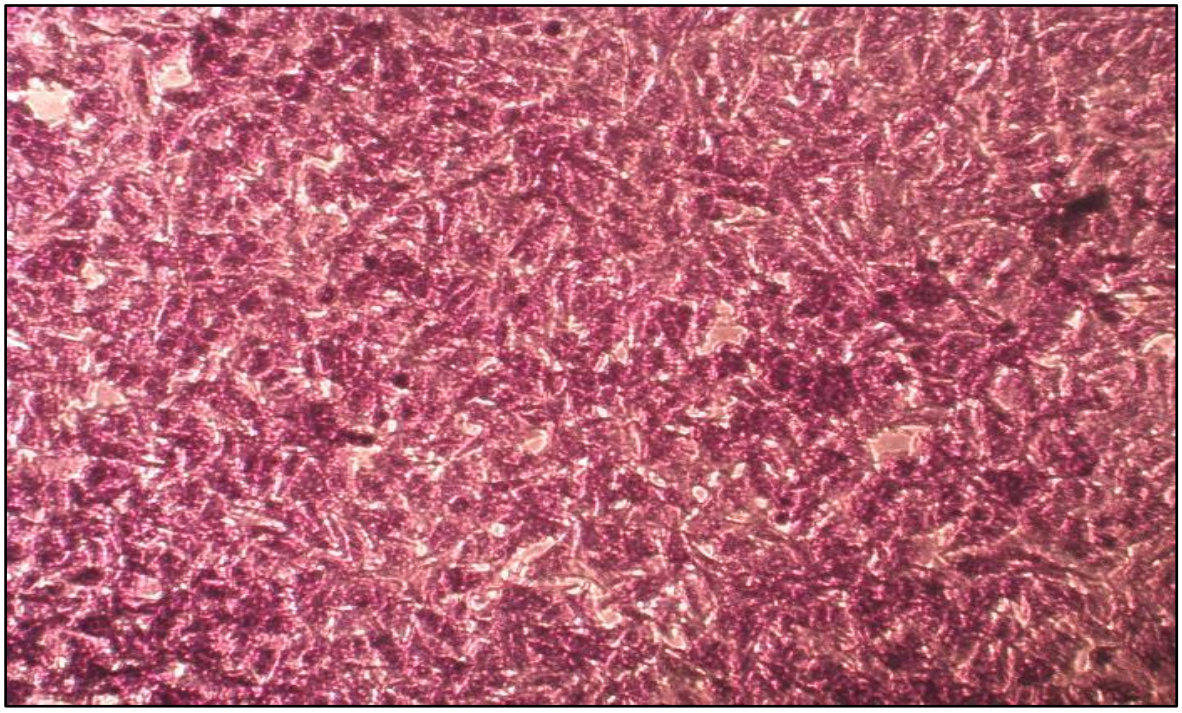
تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.

* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$

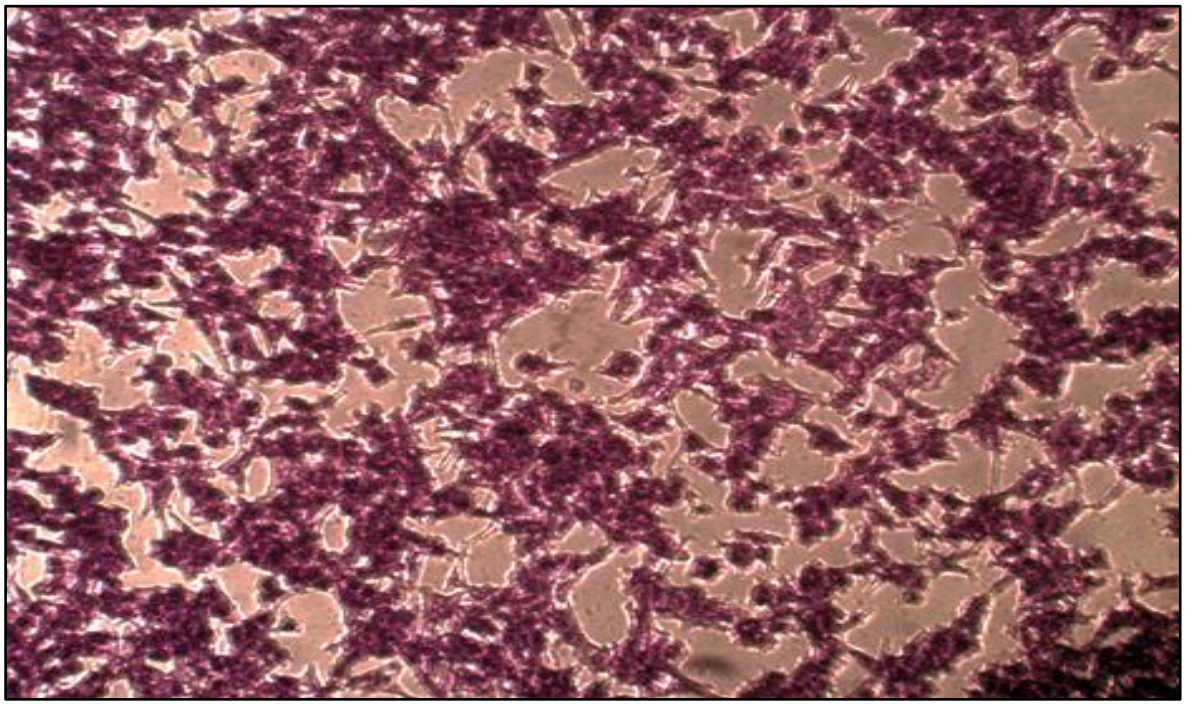
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$

* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)

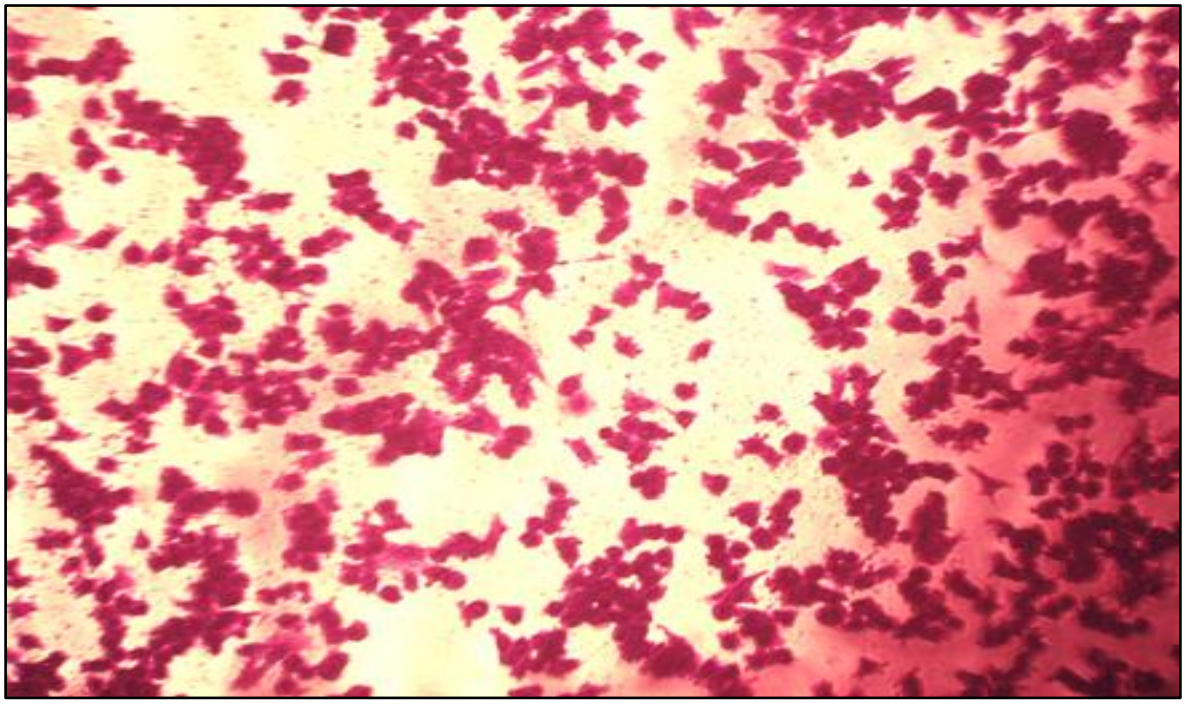
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)



شكل(4-1 A) خلايا الخط السرطاني (A549) لسرطان الرئة البشري غير المعرضة للمستخلصات (السيطرة) نلاحظ كثره اعداد الخلايا و ظهور الخلايا بشكل المغزلي و تراصها لقلة المسافات البينية ، بعد 72 ساعة.



شكل(4-1 B) خلايا الخط السرطاني (A549) لسرطان الرئة البشري المعرضة للمستخلص المائي يمكن ملاحظة وجود مسافات بينية كبيرة وتغير شكلها المغزلي كدليل على تأثير المستخلص المائي على اعداد الخلايا ، بعد 72 ساعة .



شكل (4-1 C) خلايا الخط السرطاني (A549) لسرطان الرئة البشري المعرضة للمستخلص الكحولي نلاحظ ان المسافات البينية اصبحت كبيرة و قلة في اعداد الخلايا و تغير في شكلها المغزلي كدليل على تأثير المستخلص الكحولي على حيوية الخلايا، بعد 72 ساعة.

نظرا لما تسببه الأدوية الحالية المستخدمة في علاج مرضى السرطان من آثار جانبية وسمية مرتفعة و قلة انتقائية كالعلاج الكيميائي و الاشعاعي و العمليات الجراحية بأنواعها مع ظهور مشكلة مقاومة السرطان للعلاج (قدرة الخلايا السرطانية على الاستمرار بالنمو بالرغم من العلاجات المضادة للورم) بسبب اكتساب خصائص وراثية وتركيبية وتغيرات في نفاذية الخلايا فأصبحت اقل للجزيئات العلاجية وتحسين الية الضرر المتكون في DNA للخلايا السرطانية أو حدوث خلل في الموت الخلوي المبرمج من جهة و التي تعطي الخلايا السرطانية مقاومتها والاستخدام المفرط للأدوية من جهة ثانية ، شاع في السنوات الاخيرة استخدام المستخلصات النباتية كهدف لكثير من الباحثين بغية التوصل الى مركبات جديدة ذات آثار جانبية و سمية منخفضة مع زيادة الدور الوقائي و العلاجي لها ، و من بين تلك النباتات المستخدمة نبات الاسل الذي يمتلك كثير من المركبات ذات الانشطة البيولوجية المضادة للسرطان ومضادات الاكسدة ، و هذا ما تم التوصل أليه من نتائج التقدير الكمي للمركبات الفعالة للمستخلصات المائية والكحولية بأن النبات يحتوي على كميه جيدة من منتجات الايض الثانوي كالفلافينويدات والاحماض الفينولية والتربينات والتي أثبتت فعاليتها في محاربة الجذور الحرة من خلال العمل كمضادات أكسدة طبيعية ، كما يشتهر جنس الاسل *Juncus* بمركب الفينانثرين Phenanthrenes الذي يمتاز

بنشاطه المضاد والسمية العالية للعديد من الخطوط السرطانية و منها خط خلايا سرطان الرئة البشري A549 (Bús *et al*.,2018) .

جاءت هذه الدراسة مطابقة لما توصل اليه Wei *et al*.,(2020) إذ اشارا الى فعالية المستخلصات المائية والكحولية لنبات الاسل في تثبيط نمو و أنتشار خلايا سرطان الرئة ، حيث أدت المستخلصات الى أحداث تلف في المادة الوراثية DNA للخلايا الخبيثة ومنع التعبير الجينات المسؤولة عن تكوين الاوعية الدموية المغذية للنسيج السرطاني ومن ثم عدم السماح بنمو وانتشار الخلايا السرطانية ، كما أشارت الدراسة ذاتها الى قدره المستخلصات على منع التمثيل الغذائي للكلوكوز Glucose داخل ميتوكوندريا Mitochondria الخلايا السرطانية لكون الخلايا السرطانية تعتمد على الكلوكوز في التغذية مما يتسبب في موت الخلايا بسبب نقص التغذية لها .

تمتاز العائلة الاسلية Juncaceae بان نباتاتها تمتلك الكثير من المركبات الفعالة ذات القدرة العلاجية كمضادات الالتهاب و مضادة للتسرطن و بالاضافة الى القدرة العالية على محاربة مركبات الاوكسجين التفاعلية ROS المتكونة من مختلف الانشطة داخل الجسم لكونها تتفاعل مع التركيب الكيميائي للحمض النووي مؤدية الى تلفها و تمهد الطريق الى تحول الخلايا الطبيعية الى خلايا شاذة و من ثم حدوث الاورام الخبيثة ، و بذلك تعمل هذه المركبات كعوامل وقائية من مرض السرطان من خلال أيقاف الدورة الخلوية للخلايا السرطانية ومنع التكاثر غير المسيطر علية (Kim *et al*.,2014).

هناك العديد من الدراسات منها Lee *et al*.,(2016) التي تناولت الدور المهم للنباتات الطبية في البحث عن بدائل علاجية لتحل محل المستخدمة في الوقت الحاضر و من بين تلك النباتات المهمة اشارة الى نبات الأسل الذي يحتوي العديد من المركبات من بينها مركبات مضادة للسرطان و Hydrophenanthrene و Apigenin التي اظهرت انشطه مضادة للعديد من الامراض الجهاز العصبي و تشنج العضلات ومضاد الاسهال ، كما تمتاز هذي المركبات بالسمية العالية على خلايا سرطان الثدي ، حيث قامت بمنع أنتشار الخلايا السرطانية من خلال أيقاف النمو و حثها في دخول عملية موت الخلايا بشكل طليعي مسيطر علية بذلك منع الخلايا الخبيثة من الانتشار الى الانسجة السليمة .

تمت دراسة مضادات الاكسدة الطبيعية وعلى نطاق واسع من قبل كثير من الباحثين لأهميتها البالغة في حماية الجسم من الاجهاد التأكسدي Oxidative stress (هو عدم التوازن بين المؤكسدات و مضادات الأكسدة) ، كما أظهرت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفعالة في المستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* أنها تحتوي على

كمية من المركبات ذات النشاط المضاد للأكسدة و كذلك نتائج اختبار DPPH للمستخلصات، حيث أظهرت هذه المركبات على محاربة العوامل المؤكسدة التي يؤدي تراكمها في الخلايا الى حدوث تلف في أغشيتها و الاصابة ببعض الامراض مثل ألتهاب المفاصل و تصلب الشرايين كما تلحق ا الجزيئات النشطة التي تحمل الشحنات السالبة أذى بالغا في تركيب المادة الوراثية من خلال الارتباط و تخريب بنية الاحماض النووية للخلايا الطبيعية مما يؤسس الى أنتاج خلايا شاذه التي تمثل نواه لتكوين الأورام الخبيثة (Kúsz *et al*.,2021) .

أشارت دراسة حديثة (Kashyap *et al*.,2022) الى المعوقات التي تصاحب العلاج الكيميائي كتكرار الاصابة بالسرطان بعد المعالجة و بالاضافه الى التكاليف العالية للعلاج و الكشف المتأخر عن السرطان، و من ثم هناك حاجة ملحة لايجاد علاجات مبتكرة و فعالة يمكنها أن تستهدف الخلايا السرطانية بأقل ضرر تسببه للخلايا الطبيعية ، حيث تشكل المواد الكيميائية النباتية في مستخلصات بعض النباتات كنبات (العبعب المنوم) *Withania somnifera* مضادات للسرطان و محفز للمناعة حيث أظهرت القدرة على منع او أبطاء تطور السرطان في أعضاء مختلفة من الجسم كسرطان الكبد و سرطان عنق الرحم و الجلد والرئة ، حيث عملت المستخلصات النباتية له عبر مسارات مختلفة موفرة بذلك فعالية عالية ضد مقاومة الخلايا السرطانية . من ما تقدم نستنتج ان نبات الاسل *Juncus* يعد من النباتات الطبية الواعدة التي تملك مستخلصاتها المائية والكحولية قدرة على قتل الخلايا السرطانية من خلال التأثير السمي الخلوي الذي لوحظ على خط خلايا سرطان الرئة A549 من خلال النتائج التي تم الحصول عليها والتي تظهر واضحة في شكل (A 1-4) من قلة المسافات بين الخلايا و أعدادها الكبيرة و على العكس عند ملاحظة الشكلين (C,B 1-4) عند التعرض للمستخلص المائي والكحولي حيث نجد ان المسافات البينية كبيرة مع نقصان أعداد الخلايا وتغير شكلها ،هذا يدل على تأثير المستخلص المائي و الكحولي للنبات على حيوية الخلايا السرطانية .

4-4-2 تأثير السمية الخلوية للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7

4-2-4-1 تأثير السمية الخلوية للمستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7

من خلال ملاحظة النتائج في جدول (4-6) أن تأثير المستخلص المائي بدأ بالظهور على خلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7 بعد مرور 24 ساعة من التعريض، أذ بلغ معدل النسبة المئوية للتثبيط

6.27%±0.57 ولأوطئ التراكيز المستخدمة 6.25 µg/ml عند مستوى احتمال ($p\leq0.05$) في حين ازدادت نسبة القتل في الخلايا السرطانية تدريجيا حتى بلغت 28.81%±1.4 عند التراكيز 200µg/ml، في حين بعد مرور 48 ساعة من المعاملة بالمستخلص المائي ازدادت نسبة التثبيط بصوره طردية تدريجيا ولجميع التراكيز ، أذ عند اقل التراكيز 6.28 µg/ml سجلت 9.73%±2.1 بينما عند التركيز 200 µg/ml بلغ معدل نسبة تثبيط نمو الخلايا السرطانية 45.97%±1.2.

أما بعد مضي 72 ساعة من التعريض أخذت معدلات التثبيط بالارتفاع حتى بلغت اعلى نسبه تثبيط لخلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7 للمستخلص المائي أذ سجلت 62.12%±1.3 عند التركيز 200 µg/ml مقابل 28.2%±0.9 عند التراكيز 6.25 µg/ml.

الجدول (6-4) تأثير المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري(MCF-7) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة

Time / Con	24	48	72
6.25	6.27±0.57Aa	9.73±2.11Aa	28.21±0.89Ab
12.5	12.4±2.45Ba	19.53±1.83Bb	43.23±3.05Bc
25	13.39±0.64Ba	27.27±0.87Cb	48.39±2.23Cc
50	15.28±2.14Ba	30.68±2.39Cb	50.49±2.05Cc
100	22.99±3.57Ca	34.3±2.83Db	54.13±2.51Dc
200	28.8±1.46Da	45.97±1.19Eb	62.12±1.38Ec
$LSD_{0.05}$	**3.57**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.

* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

4-2-4-2 التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الأوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7

بينت نتائج التحليل الاحصائي التي تم الحصول عليها والموضحة في جدول (4-7) أن المستخلص الكحولي كان له تأثير سمي على خلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7 بدأ بعد مرور 24 ساعة من التعريض اذ بلغ ادنى معدل تثبيط نمو خلايا MCF-7 8.45%±2.1 عند اقل تركيز 6.25 µg/ml في حين سجل التركيز 200 µg/ml نسبة تثبيط 31.82% ±1.6 ، وبعد 48 ساعة من تعريض الخلايا MCF-7 للمستخلص الكحولي ارتفعت نسبة التثبيط لتصل الى 54.5%±2.45 عند التركيز 200µg/ml . أما بعد 72 من المعاملة بالمستخلص الكحولي زادت النسب المئوية للتثبيط بشكل ملحوظ بالمقارنة مع فترات التعريض 48,24 ساعة ولجميع التراكيز الستة المستخدمة ، أذ بلغ معدل التثبيط 32.85%±2.1 لأوطأ تركيز 6.25µg/ml في حين وصلت أعلى نسبة مئوية لتثبيط خلايا خط MCF-7 بلغت 72.33%2.3 عند التركيز 200 µg/ml .

شكل (4-7) تأثير المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري(MCF-7) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة.

Time / Con	24	48	72
6.25	8.45±2.05Aa	10±2.34Aa	32.85±2.06Ab
12.5	15.57±1.94Ba	28.85±2.98Bb	51.17±2.28Bc
25	17.7±1.61BCa	34.06±3Cb	57.71±1.40Cc
50	19.67±3.3Ca	36.03±2.69Cb	60.40±0.38Cc
100	26.94±1.8Da	40.01±0.83Db	64.34±1.33Dc
200	31.82±1.63Ea	54.5±2.45Eb	72.33±2.31Ec
$LSD_{0.05}$	**3.44**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.

* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$

* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$

* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)

* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

3-2-4-4 مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7

عند أجراء مقارنة بين تأثيري المستخلصين المائي و الكحولي وجد أن تأثير السمي للمستخلص الكحولي على خط خلايا سرطان الثدي MCF-7 أقوى من تأثير المستخلص المائي و لجميع التراكيز ولاوقات التعريض الثلاث 72,48,24 ساعة. نلاحظ في الجداول (C,B,A 8-4) وجود فروق معنوية بين المعاملة بالمستخلص المائي و الكحولي عند مستوى احتمال ($p\leq0.05$) ،حيث ظهرت ان الفروق المعنوية عند أدنى التراكيز 6.25µg/ml ولوقت التعريض 24 ساعة أذ سجل المستخلص المائي نسبة تثبيط 6.27%±0.6 والكحولي بلغت نسبة القتل 8.45%±2.1 في حين ان النسبة المئوية لأعلى التراكيز 200µg/ml سجلت ارتفاعا طرديا ولم يختلف الامر لبقية التراكيز 200,100,50,25,12.5µg/ml .

أما بعد مرور 48 ساعة من المعاملة بالمستخلصات بدأت الفروق المعنوية بالظهور عند التركيز 12.5µg/ml صعودا الى أعلى التراكيز حيث سجل المستخلص المائي نسبة قتل للخلايا 45.97%±1.2 والكحولي 54.5%±2.4 عند التركيز 200 µg/m بفارق 10% عن المستخلص الكحولي ،كذلك الحال عند فتره التعريض 72 ساعة نلاحظ ان هناك الفروق المعنوية بين المعاملات للمستخلصين المائي والكحولي ولكن هناك أفضلية بالتثبيط للمستخلص الكحولي حيث تفوق على المستخلص المائي بفرق معنوي قدره 10% بدأ من التركيز 50 µg/m وصولا الى أعلى التراكيز µg/m

الجدول (A 8-4) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF- 7 لوقت التعريض 24 ساعه

Type of extract / Conc.	Water extract	Ethanolic extract
6.25	6.27±0.57Aa	8.45±2.05Ab
12.5	12.4±2.45Ba	15.57±1.94Bb
25	13.39±0.64Ba	17.7±1.61Cb
50	15.28±2.14Ca	19.67±3.3Db
100	22.99±3.57Da	26.94±1.8Eb
200	28.8±1.46Ea	31.82±1.63Fb
LSD	1.45	

الجدول (4-8 B) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF- 7 لوقت التعريض 48 ساعه.

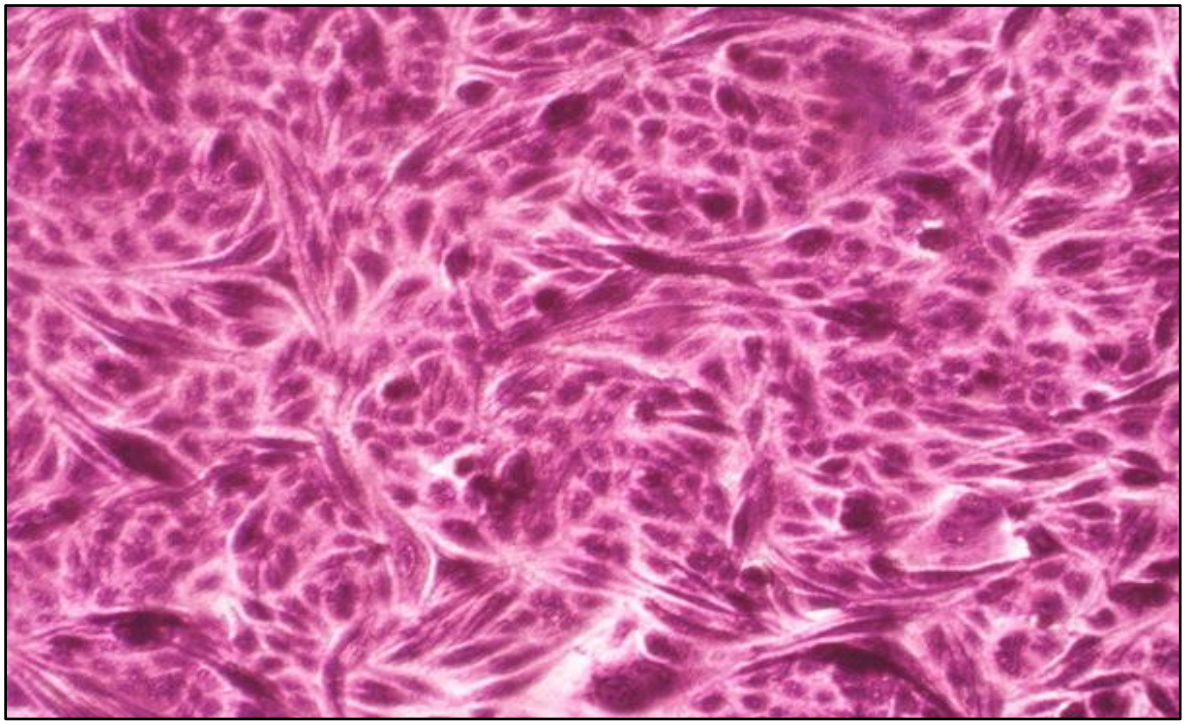
Type of extract / Conc.	Water extract	Ethanolic extract
6.25	9.73±2.11Aa	10±2.34Aa
12.5	19.53±1.83Ba	28.85±2.98Bb
25	27.27±0.87Ca	34.06±3Cb
50	30.68±2.39Da	36.03±2.69Cb
100	34.3±2.83Ea	40.01±0.83Db
200	45.97±1.19Fa	54.5±2.45Eb
$LSD_{0.05}$	**3.80**	

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

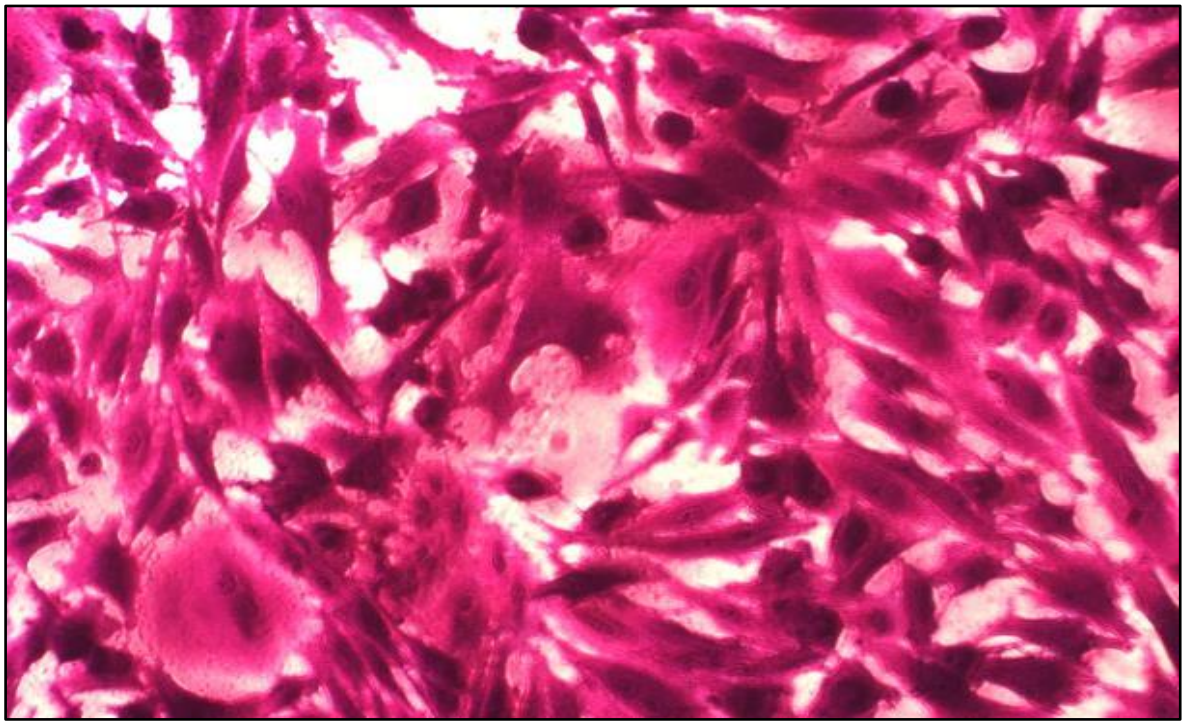
الجدول (4-8 C) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا سرطان الثدي البشري7 -MCF لوقت التعريض 72 ساعه.

Type of extract / Conc.	Water extract	Ethanolic extract
6.25	28.21±0.89Aa	32.85±2.06Ab
12.5	43.23±3.05Ba	51.17±2.28Bb
25	48.39±2.23Ca	57.71±1.40Cb
50	50.49±2.05Ca	60.40±0.38Cb
100	54.13±2.51Da	64.34±1.33Db
200	62.12±1.38Ea	72.33±2.31Eb
$LSD_{0.05}$	**3.31**	

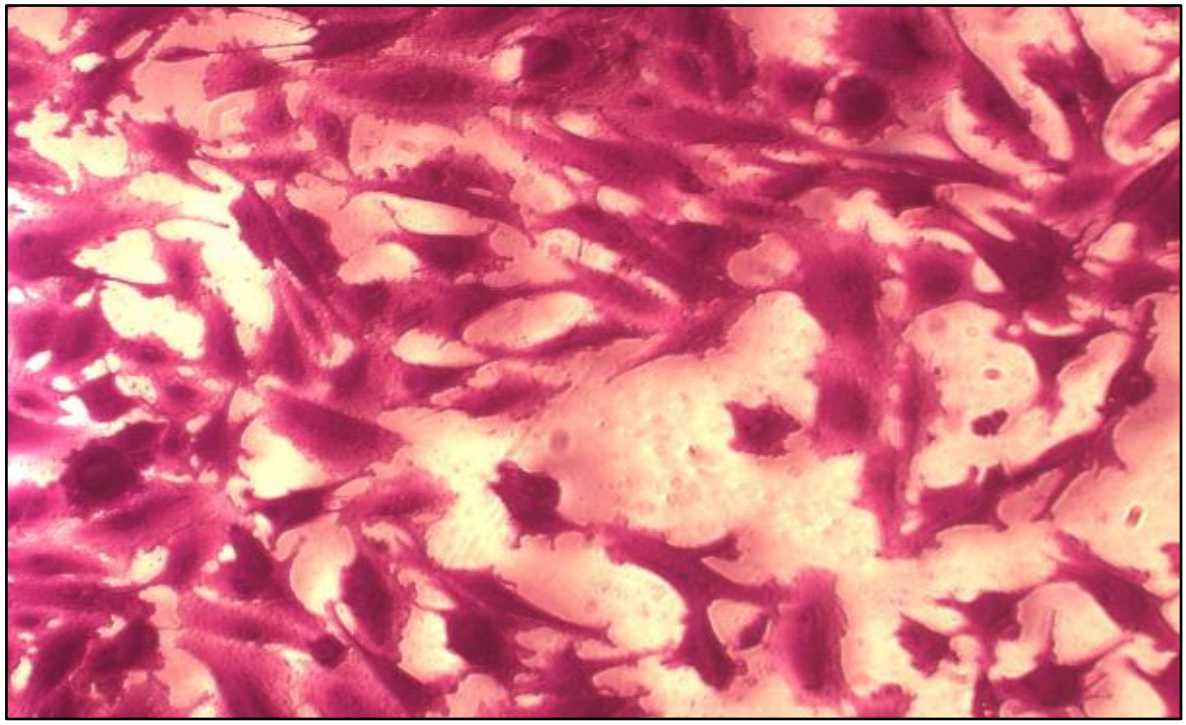
تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)



شكل(4-2 A) خلايا خط (MCF-7) غير المعرضة للمستخلصات السيطرة (كثره اعداد الخلايا و ظهور الخلايا بشكل المغزلي و تراصها لقلة المسافات البينية) بعد 72 ساعة .



شكل(4-2 B) خلايا خط (MCF-7) المعرضة للمستخلص المائي (وجود مسافات بينية مع نقصان في اعداد الخلايا و تغير شكلها المغزلي كدليل على تأثير المستخلص المائي على اعداد الخلايا و حيويتها) بعد 72 ساعة.



شكل(4-2 C) خلايا خط (MCF-7) المعرضة للمستخلص الكحولي (كبر المسافات البينية و قلة في اعداد الخلايا و تغير في الشكل المغزلي كدليل على تأثير المستخلص الكحولي على حيوية الخلايا) بعد 72 ساعة.

تمت دراسة المركبات الطبيعية في نبات الاسل بهدف الكشف عن مواد و عقاقير جديدة مضادة للسرطان ذات فعالية عالية وآثار جانبية قليلة ، من بين الدراسات التي تناولت هذا الجانب دراسة (Xi *et al.*,2020) أن نبات الاسل يحتوي على مركبات تمتاز بفعالية مهمة كالمركب G-quadruplex الذي له القدرة على استهداف بعض نواتج التعبير الجيني للجينات الورمية Oncogenes (هي جينات متحوره تسهم في نشوء و تطور السرطان)، أن لهذا المركب القدرة على الارتباط بأخاديد في تسلسلات شريط DNA للجين الورمي لسرطان الدم البشري Leukemia ومنعة من التعبير عن نفسة وبتالي منع تكون السرطان ، كما أشارت الدراسة ذاتها الى ان هذه المركبات ليس لها تأثير على خلايا الدم السليمة .

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان المستخلصات المائية و الكحولية لنبات الاسل *Juncus rigidus* لها تأثير سام على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 يعتمد على كحولي او مائي والتراكيز الستة المستخدمة بالإضافة الى فترة التعريض ، هذا ما اشارت له الدراسة Liu,(2022) كونها بينت قدرة مستخلصات النباتات على قتل الخلايا السرطانية لخط MCF-7 يعتمد على مدى حساسية الخلايا للمستخلصات النباتية والتركيز المستخدم ، أذ أدت الى توقف نمو وانتشار الخلايا ومنع انقسامها في التراكيز الواطئة لم نلاحظ اي نمو في التركيز الواطئة، أما في التراكيز العالية فقد أظهرت نسب قتل مرتفعة بسبب احداث تلف في الحمض النووي DNA للخلايا الخبيثة ومنع النمو ودفعها الى الدخول في

النتائج والمناقشة Results and Discussion

الموت الخلوي المبرمج و من ثم موت الخلايا . كما اشارت الدراسة نفسها الى أن النبات يحتوي العديد من مركبات الايض الثانوي كالقلويدات Alkaloids والاحماض الفينولية Phenolic Acids التي تعمل كمضادات أكسدة طبيعية للتخلص من الجذور الحرة Free radical التي تسبب حالة من الاجهاد التأكسدي (حاله عدم التوازن بين العوامل المؤكسدة و مضادات الاكسدة) الذي يلحق الضرر بالمادة الوراثية و الاغشية الخلوي ومن ثم يؤدي الى الكثير من الاختلالات الفسلجية داخل الجسم كأمراض ألتهاب المفاصل وضغط الدم و اضطرابات عصبية و الشيخوخة المبكرة ، حيث تعمل هذه المركبات على تخليص الجسم من ضرر الذرات النشطة و من ثم تعمل كمواد حمايه بصورة غير مباشرة من تكون الخلايا الشاذة . و جاءت النتائج التي تم الحصول عليها من اختبار الفعالية المضادة للأكسدة DPPH تؤكد بأن نبات الاسل يحتوي على مركبات بكميات جيدة تعمل بالتآزر ضد الجذور Free radical الحرة المتكونة من مختلف العمليات الحيوية في الجسم .

بينت بعض الدراسات الحديثة ومنها (Wada *et al*.,2022) دور المستخلص المائي لنبات الاسل *Juncus* في الوقاية من الالتهابات ، حيث أن للمستخلص تأثير وقائي للأنسجة الظهارية المبطنة للفم من خلال العمل على تثبيط التفاعل الالتهابي الناتج من العدوى البكتيرية كما اشار المصدر ذاته الى دور المستخلص في الوقاية من الالتهابات المتسببة من بعض المواد الكيميائية التي تتعرض لها بطانه الفم.

جاءت النتائج التي تم الحصول عليها متفقة مع (Zhang *et al*.,2022) حول قدره المستخلصات المائية والكحولية لنبات الاسل على تثبيط خلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7 حيث بينت ان للمستخلصات تأثير قاتل على الخلايا السرطانية من خلال منع النمو و الانقسام الخلوي و أيقاف الانتشار وحث الخلايا للدخول في عمليه الموت الخلوي المبرمج .

تشتهر أنواع العائلة الاسلية Juncaceae بوجود العديد من المواد الكيميائية التي تستخدم كمشتقات طبيعية لمركب الفينانثرين Phenanthrens مثل 10-Dihydrophenanthren و Juncatrin و Sylvaticin و غيرها من المركبات التي أظهرت نشاط مضاد للتكاثر الخلوي لخط سرطان عنق الرحم هيلا Hela و سمية قليلة على الخط الخلوي الطبيعي MRC-5 (خط خلوي مكون من خلايا الارومات الليفية ، طورت من أنسجة الرئة لجنين بشري مجهض) حيث أدت هذه المركبات الى توقف النمو وتثبيط انقسام الخلايا السرطانية من خلال العمل بصورة تآزريه و بالمقابل لا يوجد هناك تأثير كبير على الخلايا الطبيعية (Stefkó *et al*.,2022).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

نود الاشارة هنا الى بعض النباتات الطبية التي تمتاز بالقدرة على أنتاج مركبات لها فعالية مضادة للسرطان و منها نبات المعدنوس أذ أثبت (محمد وآخرون ،2011) فعالية المستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات المعدنوس *Petroselium crispum* على خلايا خط سرطان الغدد اللبنية للفئران ، حيث أدى المستخلص الكحولي الى تثبيط نمو و أنتشار الخلايا السرطانية بسبب امتلاكه العديد من المركبات النشطة مثل البوليفينولات Polyphenoles و الفلافونات التي تعمل كمضادات أكسدة طبيعية مضادة للسرطان .

بينما أثبتت دراسة أخرى (الهلالي،2021) ان المستخلصات المائية و الكحولية لنبات البردقوش *Origanum majorana* لها فعالية سميه على خلايا خط سرطان الثدي البشري من خلال تثبيط نمو وانتشار الخلايا السرطانية لما يحتويه من مركبات فعالة مثل الفينولات والكلايكوسيدات التي تعمل كمضادات أكسدة طبيعية للتخلص من الجزيئات الضارة المتكونة في الخلايا والتي في بقائها تسبب أضرار كبيرة للخلايا و تلف DNA .

4-4-3 تأثير السمية الخلوية للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF

4-4-3-1 التأثير السمي الخلوي للمستخلصات المائية للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF

بينت نتائج التحليل الاحصائي التي تم الحصول عليها ان تأثير المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل على خلايا الخط الطبيعي (NHF) سجل انخفاض في نسب التثبيط ولجميع التراكيز و فترات التعريض الثلاث 72,48,24 ساعة بالمقارنة مع الخطين السرطانيين A549,MCF-7 .

أذ بلغ معدل النسبة المئوية لتثبيط الخلايا بعد مرور 24 ساعة من التعريض 4.35%±1.13 عند أقل التراكيز 6.25 µg/ml ولم يتجاوز معدل التثبيط 25.9%±1.9 عند اعلى التراكيز 200 µg/ml لنفس الفترة 24 ساعة . وعند وقت التعريض 72 ساعة وصلت النسبة المئوية لتثبيط الخلايا عند التركيز 6.25 µg/ml الى 4.11%±1.3 وللتركيز 200 µg/ml ، 29.91%±1.36 كما في الجدول (4-9) .

الجدول (4-9) تأثير المستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري(NHF) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة

Time / Con	24	48	72
6.25	4.35±1.13Aa	4.66±0.44Aa	4.11±1.33Aa
12.5	5.98±0.69Aa	6.65±2.04Aa	7.29±0.49Ba
25	11.57±1.93Ba	12.07±2.65Ba	11.53±1.77Ca
50	15.08±1.65Ca	17.22±1.77Cab	18.81±1.24Db
100	17.94±1.86Ca	20.55±1.45Dab	21.48±3.34Db
200	25.95±1.91Da	27.95±2.7Eab	29.91±1.36Eb
$LSD_{0.05}$	**3.002**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

4-3-4-2 التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF

نتائج التأثير السمي للمستخلص الكحولي على خلايا خط NHF لا تختلف كثيرا عن تأثير المستخلص المائي وعند المقارنة مع نتائج الخطوط السرطانية المستعملة في الدراسة A549,MCF-7 ،نجد عند فترة التعريض 72 ساعة بلغ معدل النسبة المئوية للتثبيط 5.49%±0.44 ولأقل تركيز مستخدم 6.25µg/ml في حين ان اعلى نسبة مئوية تم الحصول عليها للمستخلص الكحولي لتثبيط الخلايا الطبيعية كانت عند التركيز 200 µg/ml أذ بلغت 38.78%±3.29 .

بعد مرور 48 ساعة من التعريض نلاحظ ان نسبة القتل لخط الخلايا NHF قد انخفضت أذ سجلت عند اعلى التراكيز 200 µg/ml نسبة 31.98%±0.78 في حين ان في التركيز 6.25 µg/ml بلغت نسبة التثبيط 5.66%±0.3 . أما عند اقل وقت للتعريض 24 ساعة أذ سجل معدل تثبيط الخلايا الطبيعية ولأعلى تركيز 200 µg/ml نسبة 28.22%±1.29 وأن معدل النسبة المئوية لتثبيط خلايا خط NHF

بلغ 5.18%±0.68 وهي أقل نسبة تثبيط تم الحصول عليها عند المعاملة بالمستخلص الكحولي و لأوطأ التراكيز 6.25 µg/ml لاحظ الجدول (4-10) .

الجدول (4-10) تأثير المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري(NHF) لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة

Time / Con	24	48	72
6.25	5.18±0.68Aa	5.66±0.37Aa	5.49±0.44Aa
12.5	6.05±0.16Aa	6.69±0.55Aa	10.85±2.16Bb
25	10.71±1.49Ba	12.67±0.45Bab	14.55±1.9Cb
50	16.86±2.16Ca	19.71±0.33Cb	21.15±1.86Db
100	21.49±2.90Da	23.94±1.38Da	29.83±1.40Eb
200	28.22±1.29Ea	31.98±0.73Eb	38.78±3.29Fc
$LSD_{0.05}$	**2.63**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

3-3-4-4 مقارنة التأثيرات السمية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والأوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط الخلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF

عند المقارنة بين نتائج التأثير السمي الخلوي للمستخلصين المائي والكحولي على خط خلايا NHF وجد ان تأثير المستخلص الكحولي لا يختلف كثيرا عما علية في المستخلص المائي ولجميع التراكيز تقريبا ولكن يوجد فروق بسيطة في معدلات التثبيط وللفترات التعريض الثلاث 72,48,24 ساعة.

نلاحظ في الجداول (4-11 C,B,A) ان في فترة التعريض 24 ساعة لم يكن هناك اي فروق معنوية بين المعاملة بالمستخلص الكحولي و المستخلص المائي عند التراكيز الواطئة أما عند أعلى التراكيز 200 µg/ml بدأت ظهور فروقات معنوية ضئيلة بلغت 2.3% عند مستوى احتمال ($p \leq 0.05$) ، كذلك هو الحال عند فتره المعاملة 48 ساعة أذ نلاحظ ظهور فروق معنوية عند التراكيز العالية (200,100) µg/ml أذ ان النسبة المئوية لمعدل التثبيط للمستخلص الكحولي بلغت 31.98%±0.77

عند التركيز 200 µg/ml في حين سجل معدل التثبيط 27.95%±2.7 للمستخلص المائي لنفس الفترة و التركيز بفارق 4 % عن المستخلص المائي .

وبعد مرور 72 ساعة من التعريض نجد ان الفروق المعنوية بين المعاملة بالمستخلص المائي والمستخلص الكحولي قد بدأت بالظهور من التركيز 25 µg/ml صعودا الى اعلى التراكيز ، أذ ان النسبة المئوية لمعدل التثبيط خط الخلايا الطبيعية عند المعاملة بالمستخلص الكحولي ولأعلى التراكيز 200 µg/ml بلغت 38.78%±3.2 بينما ان المستخلص المائي سجل نسبة مقدارها 29.91%±1.36 للوقت و التركيز ذاته .

شكل (4-A 11) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري NHF لوقت التعريض (24) ساعة.

Type of extract / Conc.	watery extract	Ethanolic extract
6.25	4.35±1.13Aa	5.18±0.68Aa
12.5	5.98±0.69Aa	6.05±0.16Aa
25	11.57±1.93Ba	10.71±1.49Ba
50	15.08±1.65Ca	16.86±2.16Ca
100	17.94±1.86Ca	21.49±2.90Db
200	25.95±1.91Da	28.22±1.29Eb
$LSD_{0.05}$	2.79	

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

الجدول (4-B 11) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية و الكحوليـة للمجمـوع الخضـري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري NHF لوقت التعريض (48) ساعة .

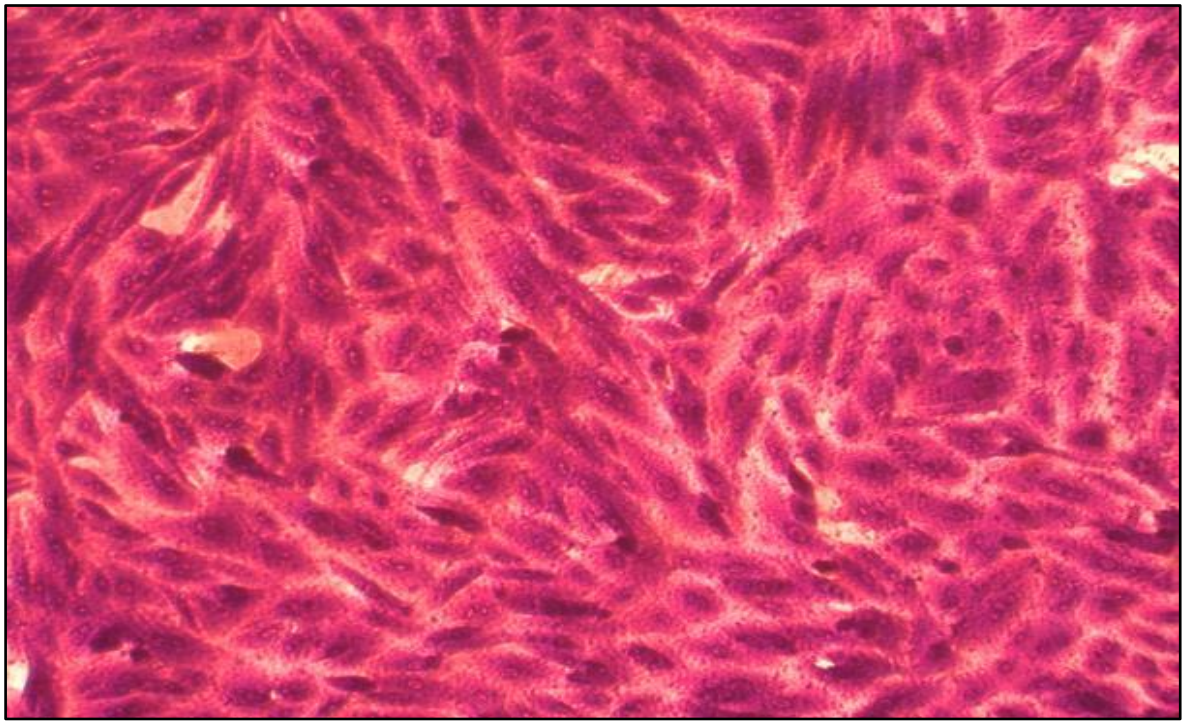
Type of extract / Conc.	Water extract	Ethanolic extract
6.25	4.66±0.44Aa	5.66±0.37Aa
12.5	6.65±2.04Aa	6.69±0.55Aa
25	12.07±2.65Ba	12.67±0.45Ba
50	17.22±1.77Ca	19.71±0.33Ca
100	20.55±1.45Da	23.94±1.38Db
200	27.95±2.7Ea	31.98±0.73Eb
$LSD_{0.05}$	2.54	

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

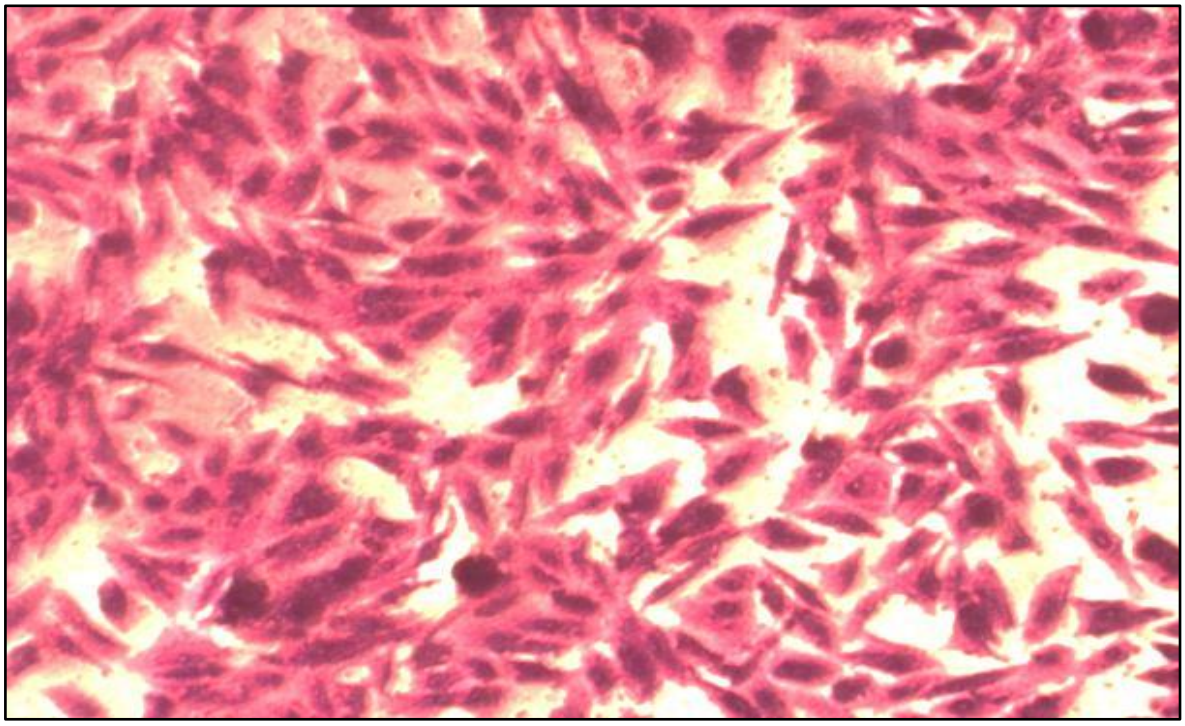
شكل (4-C 11) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائيـة والكحوليـة للمجمـوع الخضـري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على خط خلايا الليفية البشري NHF لوقت التعريض (72) ساعة .

Type of extract / Conc.	water extract	Ethanolic extract
6.25	4.11±1.33Aa	5.49±0.44Aa
12.5	7.29±0.49Ba	10.85±2.16Bb
25	11.53±1.77Ca	14.55±1.9Cb
50	18.81±1.24Da	21.15±1.86Db
100	21.48±3.34Ea	29.83±1.40Eb
200	29.91±1.36Fa	38.78±3.29Fb
$LSD_{0.05}$	1.32	

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)



شكل(4-3 A) خط خلايا NHF الطبيعية غير المعرضة للمستخلصات (السيطرة) نلاحظ كثره اعداد الخلايا و ظهور الخلايا بشكل المغزلي و تراصها لقلة المسافات البينية) .



شكل (4-3 B) خط خلايا الليفية البشرية الطبيعية NHF المعرضة للمستخلصات نلاحظ نقصان ضئيل في اعداد الخلايا و قلة المسافات البينية بين الخلايا مع المحافظة على شكلها المغزلي كدليل على ان المستخلصات آمنه على حيوية الخلايا و اعدادها بعد 72 ساعة.

النتائج والمناقشة Results and Discussion

بالرغم من شيوع العلاج الكيميائي والاشعاعي كطرق أساسية لعلاج السرطان مع وجود بعض النجاحات التي تحققت ، ألا أن هناك كثيرا من العقبات أمام هكذا نوع من العلاجات متمثلة بالتوافر البايولوجي (هو نسبة الدواء الذي يمتص و يصل فعليا دون تغيير الى الدورة الدموية) والجرعة العالية وما يرافق ذلك من آثار جانبية تظهر على المرضى بالإضافة الى الاستجابة العلاجية الضعيفة والاستهداف غير المحدد ، لذا توجهت أنظار الباحثين نحو أيجاد البدائل و التي تمتاز بكفاءة عالية تستهدف الخلايا السرطانية دون السليمة مع تأثير سميا والاعراض الجانبية أقل ، ومن هنا يأتي دور النباتات الطبية وما تحتويه من مركبات طبيعية التي تمتاز بسميه منخفضة على الخلايا الطبيعية ومن بينها نبات الاسل *Juncus* (Khurana *et al*.,2018).

اشارة دراسة (Bus *et al*.,(2020 الى كون المستخلصات المائية و الكحولية لنبات الاسل آمنة على خط الخلايا الليفية الرئوية البشرية الطبيعية (MRC-5)، هذا يتفق مع ما تم الحصول علية من نتائج حول ان المستخلصات المائية و الكحولية لنبات الاسل على خلايا الخط الطبيعي (NHF)، وأثبت أن المستخلصات المائية و الكحولية لأنواع جنس *Juncus* ليس لها تأثير سمي خلوي على خط الخلايا الليفية لجلد الانسان الطبيعي حتى عند التراكيز العالية (Kuo *et al*.,2019) .

من خلال النتائج التي تم التوصل أليها عند اختبار المستخلصات المائية و الكحولية لنبات الاسل و خاصة عند استخدام المستخلص المائي أذ بلغ معدل النسبة المئوية لتثبيط خلايا الخط الخلوي الطبيعي (NHF) 29.91% عند اعلى تركيز µg/ml 200 و وقت التعريض 72 ساعة ، بينما سجلت نسبة القتل 68.96% و 62% في الخطين السرطانيين A549 وMCF-7 على التوالي في حين حصلنا على اقل معدل تثبيط للخلايا عند التركيز µg/ml 6.25 و لفتره التعريض 24 ساعة أذ سجلت النسبة المئوية للتثبيط في الخط الطبيعي 4.35% في حين ان معدل التثبيط في الخلايا السرطانية لخط سرطان الرئة A549 و خط سرطان الثدي MCF-7 بلغ 10% و 6.27% على التوالي . من ذلك نلاحظ وجود فروق معنوية خاصة عند التراكيز العالية لجميع اوقات التعريض الثلاث ، لاحظ الأشكال (4-11 C,B,A).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

4-5 مقارنة بين التأثيرات السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية للمجموع الخضري (السيقان والأوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (A549 وMCF7) والخط الطبيعي (NHF)

4-5-1 مقارنة التأثير السمي الخلوي للمستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان و الأوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط السرطانية (A549 و MCF7) والخط الطبيعي (NHF)

أوضحت نتائج التحليل الاحصائي أن التأثير السمي للمستخلص المائي بدا بالظهور بعد مرور 24 ساعة من وقت التعريض و بنسب مختلفة معتمدا على التركيز ونوع المستخلص كما في الجداول (4-12 C,B,A) ، أذ سجلت النسبة المئوية لمعدل تثبيط خلايا للخط الطبيعي NHF 4.35%±1.13 في حين سجل معدل التثبيط للخط السرطاني A549 10.13%±0.33 والخط MCF-7 6.27%±0.57 على التوالي عند أوطأ التراكيز المستخدمة 6.25 µg/ml . في حين أن النسبة المئوية للتثبيط عند التركيز 50µ/ml بلغت 15.08%±1.65 للخط NHF و 28.73%±1.9 ، 15.28±2.14للخطين A549 وMCF-7 على التوالي .

أما عند التركيز 200 µg/ml نلاحظ أن هناك فروقا معنويه كبيره بين نسب القتل لخلايا الخط الطبيعي و الخطين السرطانيين ، أذ أن معدل تثبيط الخلايا الطبيعية NHF بلغ 25.95%±1.91 في حين ان خط سرطان الرئة البشري A549 بلغ 37.51%±1.76 أما خط سرطان الثدي البشري MCF-7 فقد سجلت نسبة التثبيط 28.8%±1.4 لنفس التركيز ومدة التعريض 24 ساعة ، في حين بعد 48 ساعة من وقت التعريض سجل الخط الطبيعي NHF عند اعلى التراكيز 200 µg/ml نسبه تثبيط عند المعاملة بالمستخلص المائي بلغت 27.95%±2.7 و خط سرطان الرئة A549 كان الاكثر حساسية أتجاه المستخلص المائي أذ بلغت نسبه التثبيط 54.12%±2.47 لمده التعريض 48 ساعة ، أما خط سرطان الثدي البشري MCF7 فقد سجل معدل النسبة المئوية لقتل الخلايا 45.97%±1.19 لنفس التركيز و وقت التعريض 48 ساعة بينما عند اوطأ التراكيز 6.25 µg/ml كانت النسبة المئوية لمعدل تثبيط الخلايا للخط الطبيعيNHF قد بلغت 4.66%±0.44 وخط سرطان الرئة البشري A549 سجل نسبه تثبيط 28.85%±2.3 وهي أعلى نسبه تثبيط تم الحصول عليها لأوطأ التراكيز 6.25 µg/ml وقت التعريض 48 ساعه في حين أن الخط السرطاني MCF7 بلغ معدل التثبيط 9.73%±2.11 . كما سجلت معدلات التثبيط فروق معنوية بين المعاملات للخطوط الثلاث

MCF-7,A549,NHF عند التركيز 100µ/ml وفتره التعريض 48 ساعة حيث بلغت نسب القتل 20.55%±1.45، 49.33%±2.37، 34.3%±2.83 على التوالي .

أما بعد مرور فتره التعريض 72 ساعة نلاحظ ان التأثير السمي للمستخلص المائي على الخطوط السرطانية أزداد وخاصة عند التراكيز العالية أذ نلاحظ ان خط سرطان الرئة A549 سجل أعلى نسبه تثبيط تم الحصول عليها للمستخلص المائي بلغت 68.96%±2.15 ولأعلى التراكيز 200 µg/ml في حين أن خط سرطان الثدي البشري MCF7 سجل نسبه تثبيط 62.12%±1.36 بينما معدل النسبة المئوية لتثبيط الخلايا الطبيعية بلغ 29.91%±1.36.

من النتائج السابقة نجد أن للمستخلص المائي تأثيرا سميا كبيرا وخاصة عند التراكيز العالية على الخطوط السرطانية A549 وMCF7 بالمقارنة مع الخط الطبيعي NHF ، في حين أن التأثير على الخلايا الطبيعية لم يكن كبير هذا يدل أن المستخلص المائي امن على الخلايا السليمة .

الجدول (A 12-4) مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) و الخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 24 ساعة .

Cell line / Con	NHF	MCF-7	A549
6.25	4.35±1.13Aa	6.27±0.57Aa	10.13±0.33Ab
12.5	5.98±0.69Aa	12.4±2.45Bb	16.99±0.28Bc
25	11.57±1.93Ba	13.39±0.64Ba	20.47±0.59Cb
50	15.08±1.65Ca	15.28±2.14Ca	28.73±1.9Db
100	17.94±1.86Ca	22.99±3.57Db	31.24±2.24Dc
200	25.95±1.91Da	28.8±1.46Ea	37.51±1.76Eb
$LSD_{0.05}$	**3.75**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

الجدول (4-12 B) مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص المائي للمجموع الخضري(السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) و الخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 48 ساعة

Cell line / Con	NHF	MCF-7	A549
6.25	4.66±0.44Aa	9.73±2.11Ab	28.85±2.43Ac
12.5	6.65±2.04Aa	19.53±1.83Bb	35.91±0.78Bc
25	12.07±2.65Ba	27.27±0.87Cb	39.87±1.74Bc
50	17.22±1.77Ca	30.68±2.39Db	44.16±0.88Cc
100	20.55±1.45Da	34.3±2.83Eb	49.33±2.37Dc
200	27.95±2.7Ea	45.97±1.19Fb	54.12±2.47Ec
$LSD_{0.05}$	3.67		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.

* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$

* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$

* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)

* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

الجدول (4-12 C) مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص المائي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 72 ساعة

Cell line / Con	NHF	MCF-7	A549
6.25	4.11±1.33Aa	28.21±0.89Ab	39.36±1.29Ac
12.5	7.29±0.49Ba	43.23±3.05Bb	42.89±2.47Ab
25	11.53±1.77Ca	48.39±2.23Cb	51.24±1.20Bb
50	18.81±1.24Da	50.49±2.05Cb	58.34±2.89Cc
100	21.48±3.34Ea	54.13±2.51Db	61.63±3.16Cc
200	29.91±1.36Fa	62.12±1.38Eb	68.96±2.15Dc
$LSD_{0.05}$	3.63		

2-5-4 مقارنـة التـأثير السمـي الخلـوي للمستخلـص الكحـولي للمجمـوع الخضـري (السيقان و أوراق) لـنبات الاسـل *Juncus rigidus* على الخطـوط السـرطانية (A549 وMCF7) والخط الطبيعي (NHF)

من خلال نتائج التحليل الاحصائي نلاحظ ان تأثير المستخلص الكحولي على الخطوط الثلاث NHF و A549 و MCF-7 قد بدأ بعد مرور 24 ساعة من التعريض ولكن بنسب تختلف عما كانت في المستخلص المائي ، نجد ان النسبة المئوية لمعدل التثبيط تزداد طرديا مع زيادة التركيز وبنسب أعلى من ما حصلنا علية من نتائج بعد المعاملة بالمستخلص المائي و لجميع التراكيز و اوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة . لاحظ الجداول (4-13 C,B,A) .

فعند وقت التعريض 24 ساعة نجد أن النسبة المئوية لمعدل التثبيط للخط الطبيعي NHF ولأعلى التراكيز µg/ml 200 سجلت 28.22%±1.29 والخط السرطاني A549 بلغت 39.38%±4.13 في حين أن خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 بلغت نسبه القتل في خلاياه 31.81%±1.6 ، كما وصلت معدلات التثبيط عند التركيز 50µ/ml للخط الطبيعي (NHF) 16.86%±2.16 والخطين السرطانيين MCF-7,A549 بلغت 30.56%±3.12 و 19.67%±3.3 على التوالي في حين سجلت النسب أدنى مستوى عند المعاملة بالمستخلص الكحولي وعند التركيز 6.25µg/ml للخط الخلوي الطبيعي NHF أذ بلغ معدل النسبة المئوية 5.18%±0.68 والخط السرطاني A549 سجل 15.29%±3.04 أما خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 فأعطى نسبية تثبيط بلغت 8.45%±2.05 .

سجلت نسب التثبيط زيادة ملحوظة و لجميع التراكيز بعد مرور 48 ساعة من وقت التعريض وبفروق معنويه كبيرة بالمقارنة مع وقت التعريض 24 ساعة ، ففي أدنى تركيز استعمل6.25 µg/ml كانت النسبة المئوية لتثبيط الخلايا الطبيعية قد بلغت 5.66%±0.37 ولخط سرطان الرئة البشري A549 وصلت نسبة القتل في الخلايا الى 30.54%±5 أما خط سرطان الثدي البشري MCF-7 فقد بلغ معدل التثبيط فيه 10%±2.34، في حين بلغ معدل النسبة المئوية للتثبيط في خط الخلايا الطبيعية NHF 23.94%±1.38 عند التركيز100µ/ml و للخطين السرطانيين A549، MCF-7 بلغت نسبة القتل 65.84%±1.75 ، 40.01%±0.83 على التوالي للتركيز ذاته وعند المقارنة بين معدلات التثبيط لأعلى التراكيز 200µg/ml نلاحظ وجود فروق كبيره بين معدلات التثبيط للخطوط لثلاث المستخدمة في التجربة ولوقت التعريض ذاته ، أذ بلغ معدل التثبيط 31.98%±0.73 للخط الطبيعي وخط

سرطان الثـــدي البشـــري سجـل نسـبة تثبيـط 54.5%±2.45 أما خط سرطان الرئة فقد سجل اعلى نسبة تثبيط مقارنـة مع الخطين الاخرين NHF و MCF-7 لنفس التركيز و مده التعريض 48 ساعة حيث بلغ معدل التثبيط 77.69%±5 .

أما فترة المعاملة 72 ساعة كانت الاعلى تأثيرا و لجميع الخطوط حيث أظهرت النتائج الاحصائية التي تم الحصول عليها أن التركيز 6.25 µg/ml سجل معدل تثبيط للخط الطبيعي بلغ 5.49%±0.44 في حين أن معدل النسبة المئوية لقتل خلايا السرطان الرئة البشري بلغ 42.27%±1.17 و خـــط سرطـــان الثدي البشـــري سجـــل نسبـــة تثبيط للنمو بلغت 32.85%±2.1 . كان التركيز µg/ml 200 الاكثر سمية على الخلايا ولجمع الخطوط المستعملة في الدراسة NHF,A549,MCF-7 حيث سجل أعلى نسبة تثبيط في الخلايا الطبيعية و التي بلغت 38.78%±3.29 في حين ان الخط الخلوي السرطاني A549 سجل اعلى نسبة مئوية لمعدل التثبيط تم الحصول عليها ولجميع التراكيز و أوقات التعريض الثلاث حيث بلغت 83.45%±3.29 أما خط سرطان الثدي بلغت النسبة 72.33±2.31 للتركيز و وقت التعريض نفسه 72 ساعة .

من النتائج أعلاه نجد أن للمستخلص الكحولي تأثير سمي خلوي على الخلايا السرطانية و بنسب تثبيط مرتفعة تزداد بزيادة التراكيز ، سجلت أعلى مستوياتها عند التركيز µg/ml 200 وفتره التعريض 72 ساعة ، كما يمكن ملاحظة تأثير المستخلص الكحولي لم يكن كبير على الخلايا الطبيعية من خلال النتائج التي تم التوصل أليها وهذا يدل على انه أمن على الخلايا السليمة ، كما وجد أن هناك علاقة طردية بين التركيز المستخدم و نسب التثبيط (تزداد السمية الخلوية بزيادة التراكيز) و لجميع أوقات التعريض ، كذلك وجد أن نسب التي تم الحصول عليها من المعاملة بالمستخلص المائي اقل من نسب التثبيط عند استعمال المستخلص الكحولي ولنفس مدة التعريض ، هذا يعني أن هناك أفضلية في التأثير بالنسبة للمستخلص الكحولي .

الجدول(4-13 A) مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7، A549) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 24 ساعة .

Cell line / Con	NHF	MCF-7	A549
6.25	**5.18±0.68Aa**	**8.45±2.05Ab**	**15.29±3.04Ac**
12.5	**6.05±0.16Aa**	**15.57±1.94Bb**	**21.08±2.79Bc**
25	**10.71±1.49Ba**	**17.7±1.61Cb**	**25.16±1.11Cc**
50	**16.86±2.16Ca**	**19.67±3.3Da**	**30.56±3.12Db**
100	**21.49±2.90Da**	**26.94±1.8Eb**	**36.87±1.92Ec**
200	**28.22±1.29Ea**	**31.82±1.63Fb**	**39.38±4.13Ec**
$LSD_{0.05}$	**2.89**		

الجدول (4-13 B) مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (MCF-7،A549) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 48 ساعة .

Cell Line / Con	NHF	MCF-7	A549
6.25	5.66±0.37Aa	10±2.34Ab	30.54±5.01Ac
12.5	6.69±0.55Aa	28.85±2.98Bb	40.59±2.68Bc
25	12.67±0.45Ba	34.06±3Cb	46.46±0.70Cc
50	19.71±0.33Ca	36.03±2.69Cb	57.77±0.69Dc
100	23.94±1.38Da	40.01±0.83Db	65.84±1.75Ec
200	31.98±0.73Ea	54.5±2.45Eb	77.69±5Fc
$LSD_{0.05}$	**3.57**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.

* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$

* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$

* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)

* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

الجدول (4-13 C) مقارنة بين التأثير السمي الخلوي للمستخلص الكحولي للمجموع الخضري (السيقان والاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* على الخطوط الخلوية السرطانية (A549،MCF-7) والخط الخلوي الطبيعي (NHF) لوقت التعريض 72 ساعة .

Cell Line / Con	NHF	MCF-7	A549
6.25	5.49±0.44Aa	32.85±2.06Ab	42.27±1.19Ac
12.5	10.85±2.16Ba	51.17±2.28Bb	63.49±3.31Bc
25	14.55±1.9Ca	57.71±1.40Cb	72.69±2.2Cc
50	21.15±1.86Da	60.40±0.38Cb	78.04±2.92Dc
100	29.83±1.40Ea	64.34±1.33Db	80.12±0.17Dec
200	38.78±3.29Fa	72.33±2.31Eb	83.45±2.9Ec
$LSD_{0.05}$	3.28		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياريSD لثلاث مكررات.
* تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$
* تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$
* تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)
* تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)

عند ملاحظة نتائج التحليل الاحصائي و المقارنة بين الخطين السرطانيين (A549,MCF-7) والخط الطبيعي (NHF) وجد ان خط خلايا سرطان الرئة البشري (A549) كان أكثر حساسية اتجاه المستخلصات المائية و الكحولية (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* و لجميع التراكيز المستخدمة و لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة سبب ذلك يعود الى الطبيعة الفسلجية ومتطلبات نمو الخلايا و مدى احتياجها الى الهرمونات و الانزيمات اللازمة للنمو والتمايز .

كما وجد ان المستخلص الكحولي للمجموع الخضري ذات تأثير سمي اكبر على الخلايا من المستخلص المائي ، و قد يعزى ذلك الى الطبيعة الذوبانية للمركبات الفعالة في المذيبات المختلفة (الماء و الكحول) حيث ان المركبات الفعالة تكون اكثر ذوبان في الكحول منه في الماء وهذا ما يفسر كون نسبة تثبيط الخلايا عند استخدام المستخلص الكحولي تكون أعلى من نسب التثبيط التي تم الحصول عليها عند المعاملة بالمستخلص المائي ، كذلك يمكن أن يفسر زيادة نسب التثبيط مع زيادة التركيز أذ كلما زاد

التركيز زادت كمية المركبات الفعالة ذات التأثير على الخلايا السرطانية ، ذلك من شانه أن يفسر النتائج التي تم الحصول عليها .

في السنوات الاخيرة تم الاعتراف بشكل متزايد بالعلاجات التقليدية للنباتات الطبية في الموروث الشعبي ، لما تملكه من مكونات طبيعية مهمة و لتأثيرها الوقائي و العلاجي لكثير من الامراض. أشارت كثير من الدراسات منها دراسة (Li *et al*.,2022) أن العائلة الاسلية Juncacea التي ينتمي أليها نبات الأسل *Juncus* تشتهر بكثير من مستقلبات الايض الثانوي منها مركب الفينانثرينPhenanthrine الذي يمتاز بتركيب فريد يؤهله للقيام بالكثير من الانشطة الدوائية علاوة على دورة المهم كمضاد للأكسدة و مضاد للالتهابات المتسببة من الميكروبات ، بالاضافة الى كون مشتقات الفينانثرين الطبيعية تمتاز بنشاط سمي للعديد من الخطوط الخلوية السرطانية منها خط سرطان الرئة البشري A549 والخط الخلوي MCF-7 .

أوضحت العديد من الدراسات منها (Liu,2022) العلاقة بين تراكم الجذور الحرةFree radical و نشوء العديد من الامراض المميتة كأمراض ضغط الدم و المفاصل ، حيث بينت دور مضادات الاكسدة الطبيعية Natural antioxidantes من النباتات في تقليل او الوقاية من الامراض من خلال ارتباطها مع الذرات و الجزيئات المشحونة الضارة و التخلص منها ، كما بينت الدراسة أن مضادات الاكسدة المصنعة synthetic antioxidants ذات تأثير ضار على الجسم بخلاف مضادات الاكسدة الطبيعية التي تكون آمنة كالفلافينويدات Flavinoides و الفينولات phenols و الانثراكينون Anthraquinone (هو مركب كيميائي طبيعي يوجد في بعض النباتات ، ذكرت بعض المصادر كونه مضاد للأكسدة و مضاد للسرطان).

كما نود الاشارة هنا الى ان المركبات الفعالة في المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* لها العديد من الأستطبابات فضلا عن كونها تعمل على منع تكوين الخلايا الخبيثة و مضادات للأكسدة ، حيث لها دور في معالجة الامراض العصبية و هذا ما أشار أليه (Ahmed *et al*.,(2022 أن الاضطرابات العصبية كمرض الباركنسون Parkinson أو الشلل الرعاشي (هو مرض عصبي يحدث بسبب قلة التوصيل العصبي بين النهايات العصبية في الفجوات للخلايا العصبية) حيث أظهرت المستخلصات المائية والكحولية القدرة على مكافحة المرض و التقليل من أعراضه على المريض من خلال فعالية النبات المضادة للجذور الحرة و التخلص من الاجهاد التأكسدي الذي يعد العامل المهم في نشوء وتفاقم المرض .

النتائج والمناقشة Results and Discussion

أشارت دراسة Kúsz *et al.*,(2021) الى أن الانواع النباتية التي تعود الى العائلة الاسلية تحتوي مستخلصاتها المائية و الكحولية مركبات واعدة في مجال صناعة و تطوير علاجات السرطان حيث أظهرت أنشطة سامة مضادة للخلايا الخبيثة للعديد من الخطوط السرطانية منها خلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7 من خلال أيقاف نمو الخلايا و منعها من الحصول على امدادات الغذاء ودفعها الى الدخول في آلية قتل الخلية نفسها دون افراز مواد ضارة بالخلايا المجاورة و من ثم تقود الى موت الخلايا السرطانية .

كما نذكر ان هناك الكثير من النباتات التي تمتاز بالقدرة على محاربة السرطانات من بينها التي تمت الاشارة ألية في دراسة (Saqban *et al.*,2016)حيث أثبات الفعالية السمية للمستخلصات المائية والكحولية لبذور و أزهار و أوراق نبات عين البزون على خط خلايا سرطان الدماغ البشري (AMGM) حيث يعود ذلك الى امتلاك النبات العديد من المركبات الفعالة التي تعمل بالتآزر لتثبيط الخلايا السرطانية من بينها مركبات الفينول Phenol و الفلافينويدات Flavinoids .

بينما في دراسة (Amir Mezher *et al.*,2020) تم اثبات ان هناك تأثير سمي خلوي للمستخلصات المائية و الكحولية لنبات حب العزيز *Cyperus esculentus* على خلايا الخط السرطاني MCF-7 حيث تم الحصول على نتائج جيدة أثبتت ان المستخلصات المائية و الكحولية لها تأثيرات سمية خلوية ضد خلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7 من خلال العمل على تثبيط نمو و انتشار الخلايا السرطانية و عزي ذلك الى امتلاك النبات الكثير منها المواد ذات الانشطة البيولوجية النشاط المضاد للأكسدة من بينها Tannins و Phenolic Acid .

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and recommendations

الاستنتاجات

على ضوء النتائج التي تم التوصل أليها يمكن ان نستنتج ما يأتي :

1- تمتلك المستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (الأوراق و السيقان) لنبات الاسل *Juncus rigidus* مواد مضادة للأكسدة و مواد فعالة لها تأثير سمي واضح على خلايا خط سرطان الرئة البشري A549 و خلايا خط سرطان الثدي البشري MCF-7 ، فيما انخفضت سمية النبات أتجاه خلايا الخط الطبيعي NHF في المختبر .

2- كان المستخلص الكحولي للمجموع الخضري (الأوراق و السيقان) لنبات الاسل *Juncus rigidus* ذا فعالية تثبيطيه أعلى من المستخلص المائي أتجاه الخلايا السرطانية للخطين A549 و MCF-7 .

3- خلايا الخط الخلوي السرطاني A549 أكثر تأثرا وحساسية أتجاه المستخلصات المائية والكحولية بالمقارنة مع الخط السرطاني MCF-7 و الخط الطبيعي NHF .

4- يعد تركيز (200) ميكروغرام / مل في كلا المستخلصين المائي والكحولي الاكثر قوة في قتل وتثبيط الخلايا السرطانية و بالمقارنة مع باقي التراكيز المستخدمة (100,50,25,12.5,6.25) و لأوقات التعريض الثلاثة (72,48,24) ساعة.

5- وجود علاقة طردية بين نسب معدل تثبيط نمو الخلايا السرطانية و حجم التركيز المستخدم ، أذ يزداد معدل تثبيط نمو الخلايا السرطانية مع زيادة مقدار التركيز و لأوقات التعريض الثلاث (72,48,24) ساعة .

الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and recommendations

التوصيات

1- عـــزل وتنقية أهـــم المركبات الفعالة الاخرى المتواجدة في نبـــــات الاسل *Juncus rigidus* الفلافينويدات والفينولات و بيان تأثيرها على معدل تثبيط الخلايا السرطانية البشرية والحيوانية.

2- أجراء دراسة لتحديد التأثيرات السمية والنسجية والجزيئية للمستخلصات المائية و الكحولية للمجموع الخضري (السيقان و الاوراق) لنبات الاسل *Juncus rigidus* داخل الجسم الحي .

3- أجراء المزيد من الدراسات على نباتات اخرى محلية في البيئة العراقية لاختبار الفعالية السمية للمستخلصات المائية والكحولية للنبات على خطوط سرطانية وطبيعية أخرى .

4- أجراء دراسة مقارنة التأثير السمي الخلوي للمستخلصات المائية و الكحولية للنبات مع العلاجات الكيميائية المستخدمة في علاج السرطان .

المصـــــــادر

References

المصادر References

المصادر العربية

الابرص، محمد قاسم . (2020). الدليل الشامل حول السرطان. دار بيت الحكمة .

التميمي، علي عبدالله.(2011).مبادئ الكيمياء الحياتية ،ط1، دار دجلة للنشر والتوزيع ، عمان - الاردن .

الجنابي، عباس عبد الله محمد، وشلال مراد حسين، وأفنان إسماعيل عبد الوهاب. (2011). التأثير السمي الخلوي للمستخلص الأثيلي الخام لأوراق نبات المعدنوس في خط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري AMN-3، مجلة الهندسة والتكنولوجيا، المجلد 29، العدد 13 ، ص543-553.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله ،عبد العزيز محمد. (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. كلية الزراعة و الغابات . جامعة الموصل .

سلمان، أصيل.(2019).تقرير صادر من دائرة البحوث مجلس النواب العراقي. نسبة الاصابة في السرطان.

سهام خضر. (2008). معجم الأعشاب والنباتات الطبية. مجموعة النيل العربية.

العقيل، محمد بن عبد الرحمن .(2013).كل ما تريد ان تعرفه عن السرطان. الطبعة الأولى. المجلد الأول، الجمعية الخيرية السعودية لمكافحة السرطان. الرياض. المملكة العربية السعودية، ص5-6.

كريم، فوزي محمد ،والدخيل ،عبدالله جمعة ، و روا،كامسوار ناندوري .(2013).النباتات المتحملة للملوحة في دولة الامارات العربية المتحدة ، المركز الدولي للزراعة الملحية ،دبي- الامارات ، ص.ص119.

الهلالي، علي شهيد عبد حمزة .(2021).تأثير المستخلصات الخام لنبات البرقوش في نمو بعض خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية خارج الجسم ، رسالة ماجستير ، جامعة كربلاء-كلية التربية للعلوم الصرفة .

References المصادر

المصادر الاجنبية

A549 Cell Line: Human alveolar adenocarcinoma cell line -General Information". Retrieved 3 January 2012.

Abdel khalik, K. N. (2010). Seed coat morphology and its systematic significance in Juncus L. (Juncaceae) in Egypt. Journal of Systematics and Evolution, 48(3), 215–223 .

Abdelhameed, B. (2022). Effect of Different Denture Base Materials on Normal Human Fibroblast Cell Line: An In Vitro Comparative Study. Egyptian Dental Journal, 68(1), 733-741.

Abdel-Razik, A. F., Elshamy, A. S. I., Nassar, M. I., El-Kousy, S. M., & Hamdy, H. (2009). Chemical constituents and hepatoprotective activity of Juncus subulatus. Revista Latinoamericana de Química, 37(1), 70-84.

Abdullah, Sulaiman A., Ahmed Majeed Al-Shammari, and Safaa A. Lateef. "Attenuated measles vaccine strain have potent oncolytic activity against Iraqi patient derived breast cancer cell line." Saudi journal of biological sciences 27.3 (2020): 865-872.

Abdul-Majeed, M. (2000). Induction and characterization of SU99 plasmacytoma cell line and its effects on mice immune response. Ph. D. Thesis, College of Science, AL-Nahrain University, Iraq.

Adouni, K., Mekhelfi, T., Daouadji, M. Z. D., & Achour, L. (2018). Decoction, infusion and ethanolic extract of Juncus acutus Rhizome: Phytochemical content and antioxidant properties. Int. J. Pharm. Rev. Res, 48, 148-152.

Ahmad, I., Fakhri, S., Khan, H., Jeandet, P., Aschner, M., & Yu, Z. L. (2020). Targeting cell cycle by β-carboline alkaloids in vitro: Novel therapeutic prospects for the treatment of cancer. Chemico-biological interactions, 330, 109229.

References المصادر

Ahmed, A. F., Wen, Z. H., Bakheit, A. H., Basudan, O. A., Ghabbour, H. A., Al-Ahmari, A., & Feng, C. W. (2022). A Major Diplotaxis harra-Derived Bioflavonoid Glycoside as a Protective Agent against Chemically Induced Neurotoxicity and Parkinson's Models; In Silico Target Prediction; and Biphasic HPTLC-Based Quantification. Plants, 11(5), 648.

Ajanal M, Gundkalle MB, Nayak SU. Estimation of total alkaloid in Chitrakadivati by UV-Spectrophotometer. Ancient science of life. 2012 Apr;31(4):198.

AlAmery, S. F., & AlGaraawi, N. L. (2020). Phytochemical profile and antifungal activity of stems and leaves methanol extract from the Juncus maritimus Linn. Juncaceae family against some dermatophytes fungi. In AIP Conference Proceedings, AIP Publishing LLC .Vol. 2290, No. 1, p. 020034.

Al-Asadi, J. N., & Ibrahim, S. J. (2018). Childhood cancer in Basrah, Iraq during 2012-2016: incidence and mortality. Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP, 19(8), 2337.

AL-Mounasi, M. S., & Fatin, A. M.(2009) PROTOSCOLICIDAL ACTIVITY OF AQUEOUS AND ALCOHOLIC EXTRACTS OF JUNCUS RIGIDUS (JUNCECEAE) IN VITRO .Bas.J.Vet.Res.Vol.8,No.1.

Alzahrani, S. M., Al Doghaither, H. A., & Al‐Ghafari, A. B. (2021). General insight into cancer: An overview of colorectal cancer. Molecular and Clinical Oncology, 15(6), 1-8.

Amer, M. H. (2014). Gene therapy for cancer: present status and future perspective. Molecular and cellular therapies, 2(1), 1-19.

Amir Mezher, Z. A., & Saqban, L. H. (2020). The Cytotoxicity Effect for the Crude Extract of (Cyperus Esculentus) Tubers on Human Breast Cancer Cell Line (MCF-7) in Vitro. Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology, 14(4).

References المصادر

and ecology of Juncus acutus and Juncus rigidus in Egypt. Egypt. J.

Arzumanyan, A., Reis, H. M., & Feitelson, M. A. (2013). Pathogenic mechanisms in HBV-and HCV-associated hepatocellular carcinoma. Nature Reviews Cancer, 13(2), 123-135.

Awaad, A. S. (2006). Phenolic glycosides of Juncus acutus and its anti-eczematic activity. Chemistry of natural compounds, 42(2), 152-155.

Baj, J., Forma, A., Sitarz, M., Portincasa, P., Garruti, G., Krasowska, D., & Maciejewski, R. (2021). Helicobacter pylori virulence factors—mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment. Cells, 10(1), 27.

Behery, F. A. A., Naeem, Z. E. M., Maatooq, G. T., Amer, M. M. A., Wen, Z. H., Sheu, J. H., & Ahmed, A. F. (2007). Phenanthrenoids from Juncus acutus L., new natural lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase inhibitors. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 55(8), 1264-1266.

Berrington de Gonzalez, A., Daniels, R. D., Cardis, E., Cullings, H. M., Gilbert, E., Hauptmann, M., ... & Schubauer-Berigan, M. K. (2020). Epidemiological studies of low-dose ionizing radiation and cancer: rationale and framework for the monograph and overview of eligible studies. JNCI Monographs, 2020(56), 97-113.

Betancur-Galvis, L., Saez, J., Granados, H., Salazar, A., & Ossa, J. (1999). Antitumor and antiviral activity of Colombian medicinal plant extracts. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 94(4), 531-535.

Bosînceanu, M., Sandu, C., Ionescu, L. R., Roata, C., & Miron, L. (2014). Clinical-epidemiological study on the incidence of postoperative complications after pulmonary resection for lung cancer. The Medical-Surgical Journal, 118(4), 1040-1046.

Bot. 29/30(1–3), 161–166.

References المصادر

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians, 68(6), 394-424.

Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of alkaloids: A review. Asian Journal of Botany, 1(1), 1-6.

Broadhurst RB, Jones WT.(1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. Journal of the Science of Food and Agriculture. Sep;29(9):788-94.

Brusselaers, N., Shrestha, S., Van De Wijgert, J., & Verstraelen, H. (2019). Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. American journal of obstetrics and gynecology, 221(1), 9-18.

Bús, C., Tóth, B., Stefkó, D., Hohmann, J., & Vasas, A. (2018). Family Juncaceae: Promising source of biologically active natural phenanthrenes. Phytochemistry Reviews, 17(4), 833-851.

Callejas, B. E., Martinez-Saucedo, D., & Terrazas, L. I. (2018). Parasites as negative regulators of cancer. Bioscience reports, 38(5.(

Chadha, Y. R. (1976). The wealth of India. A dictionary of Indian Raw Materials and Industrial products, 11, 112-122.

Chaudhary, S., Devkar, R. A., Bhere, D., Setty, M. M., & Pai, K. S. R. (2015). Selective cytotoxicity and pro-apoptotic activity of stem bark of Wrightia tinctoria (Roxb.) R. Br. in cancerous cells. Pharmacognosy magazine, 11(Suppl 3), S481 .

Chen, H. H., & Kuo, M. T. (2017). Improving radiotherapy in cancer treatment: Promises and challenges. Oncotarget, 8(37), 62742.

Cogliano, V. J., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., El Ghissassi, F., ... & Wild, C. P. (2011). Preventable exposures associated

References المصادر

with human cancers. Journal of the National Cancer Institute, 103(24), 1827-1839.

Colditz, G. A. (Ed.). (2015). The SAGE encyclopedia of cancer and society. SAGE Publications.

Corrales, L., Rosell, R., Cardona, A. F., Martin, C., Zatarain-Barrón, Z. L., & Arrieta, O. (2020). Lung cancer in never smokers: The role of different risk factors other than tobacco smoking. Critical reviews in oncology/hematology, 148, 102895.

Dahmus, J. D., Kotler, D. L., Kastenberg, D. M., & Kistler, C. A. (2018). The gut microbiome and colorectal cancer: a review of bacterial pathogenesis. Journal of gastrointestinal oncology, 9(4), 769.

De Pablos, R. M., Espinosa-Oliva, A. M., Hornedo-Ortega, R, Cano, M., & Arguelles, S. (2019). Hydroxytyrosol protects from aging process via AMPK and autophagy; a review of its effects on cancer, metabolic syndrome, osteoporosis, immune-mediated and neurodegenerative diseases. Pharmacological research, 143, 58-72.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica. Journal of food and drug analysis, 22(3), 296-302.

Elinav, E., Garrett, W. S., Trinchieri, G. & Wargo, J.Nature Rev. (2019). Cancer 7, 371–376.

El-Mesery, M. E., Al-Gayyar, M. M., Salem, H. A., Darweish, M. M., & El-Mowafy, A. M. (2009). Chemopreventive and renal protective effects for docosahexaenoic acid (DHA): implications of CRP and lipid peroxides. Cell Division, 4(1), 1-17.

References المصادر

El-Shamy, A. I., Abdel-Razek, A. F., & Nassar, M. I. (2015). Phytochemical review of Juncus L. genus (Fam. Juncaceae). Arabian Journal of Chemistry, 8(5), 614-623.

Erel O.(2005).A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clinical biochemistry.;38(12):1103-11.

Estrela, J. M., Ortega, A., & Obrador, E. (2006). Glutathione in cancer biology and therapy. Critical reviews in clinical laboratory sciences, 43(2), 143-181.

Fakhri, S., Moradi, S. Z., Farzaei, M. H., & Bishayee, A. (2020). Modulation of dysregulated cancer metabolism by plant secondary metabolites: A mechanistic review. In Seminars in cancer biology. Academic Press.

Fawzy , M. A. , Hifney , A. F. , Issa , A. A. , and Gareib , G. (2013) Phytochemical Constituents and Allelopathic effects of Some Midicinal Plants Extract on the soil Algal Diversity . J. of Agricultral Science and Technology A. 3 , PP. 1000 – 1009.

Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview. International Journal of Cancer.

Fernández, M. F., Reina-Pérez, I., Astorga, J. M., Rodríguez-Carrillo, A., Plaza-Díaz, J., & Fontana, L. (2018). Breast cancer and its relationship with the microbiota. International journal of environmental research and public health, 15(8), 1747.

Fimognari, C., Lenzi, M., Ferruzzi, L., Turrini, E., Scartezzini, P., Poli, F., ... & Hrelia, P. (2011). Mitochondrial pathway mediates the antileukemic effects of Hemidesmus indicus, a promising botanical drug. PloS one, 6(6), e21544.

References المصادر

Franklin, Maryland (2016). "A549 – A Model For Non-Small Cell Lung Cancer". Mi Bioresearch. Archived from the original on 25 June 2018. Retrieved 25 June 2018.

Freshney, R.I.(1994). Culture of animal cells . A manual of basic technique . New York.

Geraghty, R. J., Capes-Davis, A., Davis, J. M., Downward, J., Freshney, R. I., Knezevic, I., ... & Vias, M. (2014). Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. British journal of cancer, 111(6), 1021-1046.

Giovannucci, E. (2018). An integrative approach for deciphering the causal associations of physical activity and cancer risk: the role of adiposity. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 110(9), 935-941.

Gorphe, P. (2019). A comprehensive review of Hep-2 cell line in translational research for laryngeal cancer. American journal of cancer research, 9(4), 644.

Greenwell, M., & Rahman, P. K. S. M. (2015). Medicinal plants: their use in anticancer treatment. International journal of pharmaceutical sciences and research, 6(10), 4103.

Hamza, S. M., Al-Saadi, S. A. M., & Al-Abbawy, D. A. H. (2020). A STUDY OF PHYSICAL AND ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF THE HEAVY METAL ACCUMULATION OF JUNCUS RIGIDUS DESFONTAINES, 1798 (FAMILY, JUNCACEAE) IN BASRAH PROVINCE, SOUTHEREN OF IRAQ. Bulletin of the Iraq Natural History Museum, 16(1), 63-81.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. cell, 144(5), 646-674.

Hemeda, H., Giebel, B., & Wagner, W. (2014). Evaluation of human platelet lysate versus fetal bovine serum for culture of mesenchymal stromal cells. Cytotherapy, 16(2), 170-180.

References المصادر

Henderson, B. E., Bernstein, L., & Ross, R. K. (2000). Chapter 13: Hormones and the Etiology of Cancer. Bast RC, Kufe DW, Pollock RE, et al. Holland-Frei Cancer Medicine (5th ed.). Hamilton, Ontario: BC Decker.

Huang, R. X., & Zhou, P. K. (2020). DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer. Signal transduction and targeted therapy, 5(1), 1-27.

Idikio, H. A. (2011). Human cancer classification: a systems biology-based model integrating morphology, cancer stem cells, proteomics, and genomics. Journal of Cancer, 2, 107.

Iraqi cancer Board (2016). Baghdad, Iraq: Iraqi Cancer registry, Iraqi Ministry of Health.

Jabir, M. S., Nayef, U. M., Abdulkadhim, W. K., Taqi, Z. J., Sulaiman, G. M., Sahib, U. I., ... & Su, C. C. (2021). Fe 3 O 4 nanoparticles capped with PEG induce apoptosis in breast cancer AMJ13 cells via mitochondrial damage and reduction of NF-κB translocation. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 31(3), 1241-1259.

Jeong, S. W., Jang, J. Y., & Chung, R. T. (2012). Hepatitis C virus and hepatocarcinogenesis. Clinical and molecular hepatology, 18(4), 347.

Jones, K., Ariel, E., Burgess, G., & Read, M. (2016). A review of fibropapillomatosis in green turtles (Chelonia mydas). The Veterinary Journal, 212, 48-57.

Kang, Dong-Woo; Chung, Jae Youn; Lee, Mi Kyung; Lee, Junga; Park, Ji-Hye; Kim, Dong-Il; Jones, Lee W.; Ahn, Joong Bae; Kim, Nam Kyu (2014.(

Kashyap, V. K., Peasah-Darkwah, G., Dhasmana, A., Jaggi, M., Yallapu, M. M., & Chauhan, S. C. (2022). Withania somnifera: Progress towards a Pharmaceutical Agent for Immunomodulation and Cancer Therapeutics. Pharmaceutics, 14(3), 611.

References المصادر

Kennedy, L. B., & Salama, A. K. (2020). A review of cancer immunotherapy toxicity. CA: a cancer journal for clinicians, 70(2), 86-104.

Keskin C, Özen HC, Toker Z, Kizil G, Kizil G. (2018). Determination of in vitro antioxidant and antimicrobial properties of shoot and root extracts of Astragalus diphtherites FENZL var. diphtherites and Astragalus gymnalopecias RECH. FIL. obtained by different solvents. Kahramanmaras Sutcu Imam University Journal of Natural Sciences. 21(2), 157-166

Khashan, K. S., Sulaiman, G. M., Hussain, S. A., Marzoog, T. R., and Jabir, M. S. (2020). Synthesis, Characterization and Evaluation of Anti-bacterial, Anti-parasitic and Anti-cancer Activities of Aluminum-Doped Zinc Oxide Nanoparticles. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 1-17.

Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules, 18(2), 2328-2375.

Khurana, R. K., Jain, A., Jain, A., Sharma, T., Singh, B., & Kesharwani, P. (2018). Administration of antioxidants in cancer: debate of the decade. Drug discovery today, 23(4), 763-770.

Kim, Y. J., Park, C. I., Park, J. S., & Ahn, E. M. (2014). Antioxidant and cytotoxic activity of compounds from the stem of Juncus effusus. Journal of Applied Biological Chemistry, 57(1), 47-51.

Kimani, P. M. (2022). In vitro anti-proliferative activity of selected plant extracts against cervical and prostate cancer cell lines (Doctoral dissertation, JKUAT-COHES.(

Kr, T., Amir, A., Riaz, A., & Zaidi, S. (2012). Cell culture:-A overall view. Journal of PEARLDENT, 3(3), 31-36.

References المصادر

Krüger, W., Vielreicher, S., Kapitan, M., Jacobsen, I. D., & Niemiec, M. J. (2019). Fungal-bacterial interactions in health and disease. Pathogens, 8(2), 70.

Kuo, C. Y., Schelz, Z., Tóth, B., Vasas, A., Ocsovszki, I., Chang, F. R., ... & Wang, H. C. (2019). Investigation of natural phenanthrenes and the antiproliferative potential of juncusol in cervical cancer cell lines. Phytomedicine, 58, 152770.

Kúsz, N., Stefkó, D., Barta, A., Kincses, A., Szemerédi, N., Spengler, G., ... & Vasas, A. (2021). Juncaceae Species as Promising Sources of Phenanthrenes: Antiproliferative Compounds from Juncus maritimus Lam. Molecules, 26(4), 999.

Kúsz, N., Stefkó, D., Barta, A., Kincses, A., Szemerédi, N., Spengler, G., ... & Vasas, A. (2021). Juncaceae Species as Promising Sources of Phenanthrenes: Antiproliferative Compounds from Juncus maritimus Lam. Molecules, 26(4), 999.

Lee, A. V., Oesterreich, S., & Davidson, N. E. (2015). MCF-7 cells—changing the course of breast cancer research and care for 45 years. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 107(7).

Lee, Y. M., Lee, G., Oh, T. I., Kim, B. M., Shim, D. W., Lee, K. H., ... & Lim, J. H. (2016). Inhibition of glutamine utilization sensitizes lung cancer cells to apigenin-induced apoptosis resulting from metabolic and oxidative stress. International journal of oncology, 48(1), 399-408.

Li, J., Feng, W., Dai, R., & Li, B. (2022). Recent Progress on the Identification of Phenanthrene Derivatives in Traditional Chinese Medicine and Their Biological Activities. Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine, 100078.

Line, C. (2012). Human alveolar adenocarcinoma cell line-General Information. Retrieved January, 3.

References المصادر

Liu, W., Meng, M., Zhang, B., Du, L., Pan, Y., Yang, P., Gu, Z., Zhou, Q., & Cao, Z. (2015). Dehydroeffusol effectively inhibits human gastric cancer cell-mediated vasculogenic mimicry with low toxicity. Toxicology and applied pharmacology, 287(2), 98–110 .

Liu, Z. Q. (2022). Why Natural Antioxidants Are Readily Recognized by Biological Systems? 3D Architecture Plays a Role!. Food Chemistry, 132143.

Loomis, D., Guyton, K. Z., Grosse, Y., El Ghissassi, F., Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., ... & Straif, K. (2017). Carcinogenicity of benzene. The Lancet Oncology, 18(12), 1574-1575.

Louis, D. N., Wesseling, P., Aldape, K., Brat, D. J., Capper, D., Cree, I. A., ... & Ellison, D. W. (2020). cIMPACT-NOW update 6: new entity and diagnostic principle recommendations of the cIMPACT-Utrecht meeting on future CNS tumor classification and grading.

Ma, W., Zhang, Y., Ding, Y. Y., Liu, F., & Li, N. (2016). Cytotoxic and anti-inflammatory activities of phenanthrenes from the medullae of Juncus effusus L. Archives of pharmacal research, 39(2), 154-160.

Mander, L., & Liu, H. W. (2010). Comprehensive natural products II: chemistry and biology (Vol. 1). Elsevier.

Mansour, R.M.A., Zahran, M.A., Salah, N.A.M., (1986). Flavonoids

Marchiosi, R., dos Santos, W. D., Constantin, R. P., de Lima, R. B., Soares, A. R., Finger-Teixeira, A., Abrahão, J. (2020. (Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. Phytochemistry Reviews, 19, 865-906.

Marinova D, Ribarova F, Atanassova M.(2005).Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the university of chemical technology and metallurgy. Jul;40(3):255-60.

References المصادر

Marinova G, Batchvarov V. (2011).Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. Bulgarian Journal of Agricultural Science. Feb 1;17(1):11-24.

Maucort-Boulch, D., de Martel, C., Franceschi, S., & Plummer, M. (2018). Fraction and incidence of liver cancer attributable to hepatitis B and C viruses worldwide. International journal of cancer, 142(12), 2471-2477.

McClure, J. W. (1975). Physiology and functions of flavonoids. In The flavonoids. Springer, Boston, MA. 970-1055>

McDougall, J. (2002). Plant foods have a complete amino acid composition. Circulation, 105(25), e197-e197.

Mohmoud S.A. AL-Mounasi & Fatin A-J- Mustafa.(2009). Protoscolicidal activity of aqueous and alcoholic extracts of Juncus rigidus (Junceceae) in vitro. Basrah Technical institutes, Bas.J.Vet.Res.Vol.8,No.1.

Moustafa, S., El-Alfy, T., Hasan, N., & El-Se'oud, A. (2002). Inhibitory effect of flavonoids isolated from some Juncus species (flowers & callus) on blood platelets aggregation. Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut, 25(1), 43-52.

National Cancer Institute (NCI).2021. What Is Cancer, Univ. of Pittsburgh Cancer Institute, reviewed :https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding /what-is-cancer.

Omara, T., Kiprop, A. K., Ramkat, R. C., Cherutoi, J., Kagoya, S., Moraa Nyangena, D., ... & Chepkemoi Koske, M. (2020). Medicinal plants used in traditional management of cancer in Uganda: a review of ethnobotanical surveys, phytochemistry, and anticancer studies. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020.

Palucka, K., & Banchereau, J. (2013). Dendritic-cell-based therapeutic cancer vaccines. Immunity, 39(1), 38-48.

References المصادر

Paśko P, Tyszka-Czochara M, Trojan S, Bobis-Wozowicz S, Zagrodzki P, Namieśnik J, Haruenkit R, Poovarodom S, Pinsirodom P, Gorinstein S. (2019).Glycolytic genes expression, proapoptotic potential in relation to the total content of bioactive compounds in durian fruits. Food Research International. Nov 1;125:108563.

Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacognosy reviews, 6(11 ،(pp. 1-5.

Pizzi, A. (2021). Tannins medical/pharmacological and related applications: A critical review. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 22, 100481.

Platella, C., Capasso, D., Riccardi, C., Musumeci, D., DellaGreca, M., & Montesarchio, D. (2021). Natural compounds from Juncus plants interacting with telomeric and oncogene G-quadruplex structures as potential anticancer agents. Organic & Biomolecular Chemistry, 19(45), 9953-9965.

Rajman, L., Chwalek, K., & Sinclair, D. A. (2018). Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: the in vivo evidence. Cell metabolism, 27(3), 529-547.

Ralph E. Brooks; Steven E. Clemants (2000). "Juncus". Magnoliophyta: Alismatidae, Arecidae, Commelinidae (in part), and Zingiberidae. Flora of North America. 22. Oxford University Press. ISBN 0-19-513729-9.

Ramadan, Adel, A (2003). Heavy metal pollution and Biomonitoring plants in lake Manzala , Egypt , Pakistan J. Bio. Scie., 6(13): 1108-1117.

Ramos, M. F. K. P., Pereira, M. A., Yagi, O. K., Dias, A. R., Charruf, A. Z., Oliveira, R. J. D., ... & Cecconello, I. (2018). Surgical treatment of gastric cancer: a 10-year experience in a high-volume university hospital. Clinics, 73.

Recknagel, R. O., Glende, E. A., & Britton, R. S. (2020). Free radical damage and lipid peroxidation. In Hepatotoxicology (pp. 401-436). CRC press.

References المصادر

Rimpelová, S., Zimmermann, T., Drašar, P. B., Dolenský, B., Bejček, J., Kmoníčková, E., ... & Jurášek, M. (2021). Steroid glycosides hyrcanoside and deglucohyrcanoside: On isolation, structural identification, and anticancer activity. Foods, 10(1), 136.

Rodrigues, M. J., Gangadhar, K. N., Vizetto-Duarte, C., Wubshet, S. G., Nyberg, N. T., Barreira, L., ... & Custódio, L. (2014). Maritime halophyte species from southern Portugal as sources of bioactive molecules. Marine Drugs, 12(4), 2228-2244.

Rodríguez-Rodríguez, P., Ramiro-Cortijo, D., Reyes-Hernández, C. G., Lopez de Pablo, A. L., González, M. C., & Arribas, S. M. (2018). Implication of oxidative stress in fetal programming of cardiovascular disease. Frontiers in physiology, 9, 602.

Roy, A., & Bharadvaja, N. (2017). Medicinal plants in the management of cancer: a review. Int J Complement Alt Med, 9(2), 00291.

Rugge, M. (2020). Gastric cancer risk: between genetics and lifestyle. The Lancet Oncology, 21(10), 1258-1260.

Sahuc, M. E., Sahli, R., Rivière, C., Pène, V., Lavie, M., Vandeputte, A., ... & Séron, K. (2019). Dehydrojuncusol, a natural phenanthrene compound extracted from Juncus maritimus, is a new inhibitor of hepatitis C virus RNA replication. Journal of virology, 93(10), e02009-18.

Saqban, L. H., Obaid, H. H., Ahmed, D. A., Passat, D. N., Al-Darraji, M. N., & Karim, R. M. (2016). Cytotoxic Effect of Vincarosea Aqueous Crude Extraction Human Brain Carcinoma Cell Line (AMGM) In Vitro. Engineering and Technology Journal, 34(3 Part (B) Scientific.

Schütze, M., Boeing, H., Pischon, T., Rehm, J., Kehoe, T., Gmel, G., ... & Bergmann, M. M. (2011). Alcohol attributable burden of incidence of cancer in eight European countries based on results from prospective cohort study. Bmj, 342.

References المصادر

Sen S, De B, Devanna N, Chakraborty R. Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of Meyna spinosa Roxb., an Indian medicinal plant. Chinese journal of natural medicines. 2013 Mar 1;11(2):149-57.

Seraji, M., Khazaei, Z., Momenabadi, V., Beiranvand, R., Naghibzadeh-Tahami, A., Nejadsadeghi, E., ... & Goodarzi, E. (2020). UV-Related Melanoma Cancer and Its Association with the Human Development Index (HDI): GLOBOCAN Sources and Methods. Iranian Red Crescent Medical Journal, 22(7), 12.

Shashni, B., & Nagasaki, Y. (2021). Newly Developed Self-Assembling Antioxidants as Potential Therapeutics for the Cancers. Journal of Personalized Medicine, 11(2), 92.

Shirmohammadli, Y., Efhamisisi, D., & Pizzi, A. (2018). Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. Industrial Crops and Products, 126, 316-332.

Singh, A., Ranawat, B., & Meena, R. (2019). Extraction and characterization of cellulose from halophytes: next generation source of cellulose fibre. SN Applied Sciences, 1(11), 1-10.

Solárová, Z., Liskova, A., Samec, M., Kubatka, P., Büsselberg ,D., & Solár, P. (2020). Anticancer potential of lichens' secondary metabolites. Biomolecules, 10(1), 87.

Soule HD, Vazguez J, Long A, Albert S, Brennan M.(1973).A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. J Natl Cancer Inst. Nov;51(5):1409-16.

Speisky, H., Shahidi, F., Costa de Camargo, A., & Fuentes, J. (2022). Revisiting the Oxidation of Flavonoids: Loss, Conservation or Enhancement of Their Antioxidant Properties. Antioxidants, 11(1), 133.

References المصادر

Stefkó, D., Kúsz, N., Barta, A., Kele, Z., Bakacsy, L., Szepesi, Á., ... & Vasas, A. (2020). Gerardiins A–L and structurally related phenanthrenes from the halophyte plant *Juncus gerardii* and their cytotoxicity against triple-negative breast cancer cells. Journal of natural products, 83(10), 3058-3068.

Stefkó, D., Kúsz, N., Szemerédi, N., Barta, A., Spengler, G., Berkecz, R., ... & Vasas, A. (2022). Unique Phenanthrenes from Juncus ensifolius and Their Antiproliferative and Synergistic Effects with the Conventional Anticancer Agent Doxorubicin against Human Cancer Cell Lines. Pharmaceutics, 14(3), 608.

Stefkó, D., Kúsz, N., Szemerédi, N., Barta, A., Spengler, G., Berkecz, R., ... & Vasas, A. (2022). Unique Phenanthrenes from Juncus ensifolius and Their Antiproliferative and Synergistic Effects with the Conventional Anticancer Agent Doxorubicin against Human Cancer Cell Lines. Pharmaceutics, 14(3), 608.

Stratton, M. R., Campbell, P. J., & Futreal, P. A. (2009). The cancer genome. Nature, 458(7239), 719-724.

Su, X. H., Yuan, Z. P., Li, C. Y., Zhong, Y. J., Du, H. J., Wen, Y. Y., ... & Liang, B. (2013). Phenanthrenes from Juncus effusus. Planta medica, 79(15), 1447-1452.

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians, 71(3), 209-249.

Toh, Z. Q., Kosasih, J., Russell, F. M., Garland, S. M., Mulholland, E. K., & Licciardi, P. V. (2019). Recombinant human papillomavirus nonavalent vaccine in the prevention of cancers caused by human papillomavirus. Infection and drug resistance, 12, 1951.

References المصادر

Townsend, C.C. and Guest,E. 1985. Flora of Iraq. V.8.Monocotyledons. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad, 440 pp.

Vyas, K. D., Ranawat, B., & Singh, A. (2021). Development of high frequency cost-effective micropropagation protocol for Juncus rigidus using liquid culture medium and extraction of cellulose from their in vitro shoots-An important rush. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 35, 102099.

Wada, A., Murakami, K., Ishikawa, Y., Amoh, T., Hirao, K., Hosokawa, Y., ... & Yumoto, H. (2022). Anti-Inflammatory and Protective Effects of Juncus effusus L. Water Extract on Oral Keratinocytes. BioMed Research International, 2022.

Wan, Z., Yin, T., Chen, H., & Li, D. (2016). Surgical treatment of a retroperitoneal benign tumor surrounding important blood vessels by fractionated resection: A case report and review of the literature. Oncology letters, 11(5), 3259-3264.

Wang, H., Zhang, J., Bao, S., Liu, J., Hou, F., Huang, Y., ... & Liu, J. (2020). Preoperative MRI-based radiomic machine-learning nomogram may accurately distinguish between benign and malignant soft-tissue lesions: a two-center study. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 52(3), 873-882.

Watson , L. & Dallwitz , M. J. (1992) the Families of Flowering Plants , Cyperaceae Juss http://deltaintkey.com

Weber, M. F., Sarich, P. E., Vaneckova, P., Wade, S., Egger, S., Ngo, P., ... & Canfell, K. (2021). Cancer incidence and cancer death in relation to tobacco smoking in a population-based Australian cohort study. International Journal of Cancer.

Wei, H., Zhang, F., Wang, J., Zhao, M., Hou, T., & Li, L. (2020). Dehydroeffusol inhibits hypoxia-induced epithelial–mesenchymal transition in non-small cell lung cancer cells through the inactivation of Wnt/β-catenin pathway. Bioscience reports, 40(5), BSR20194284.

References المصادر

Wong, S. P., Leong, L. P., & Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food chemistry, 99(4), 775-783.

Xi, H., Juhas, M., & Zhang, Y. (2020). G-quadruplex based biosensor: A potential tool for SARS-CoV-2 detection. Biosensors and Bioelectronics, 167, 112494.

Xiao, Q., Zhu, W., Feng, W., Lee, S. S., Leung, A. W., Shen, J., ... & Xu, C. (2019). A review of resveratrol as a potent chemoprotective and synergistic agent in cancer chemotherapy. Frontiers in pharmacology, 9, 1534.

Xu, S., Yin, W., Zhang, Y., Lv, Q., Yang, Y., & He, J. (2020). Foes or friends? bacteria enriched in the tumor microenvironment of colorectal cancer. Cancers, 12(2), 372.

Yaseen, N. Y. (1990). Cytogenetic study on human colorectal cancer cells. University of Sheffield, Department of Experimental and Clinical Microbiology.

Zhang, X., Wolff, M. S., Shen, J., Parada, H., Santella, R. M., Neugut, A. I., ... & Teitelbaum, S. L. (2022). Phthalates and Phenols, Leukocyte Telomere Length, and Breast Cancer Risk and Mortality in the Long Island Breast Cancer Study Project. Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 31(1), 117-123.

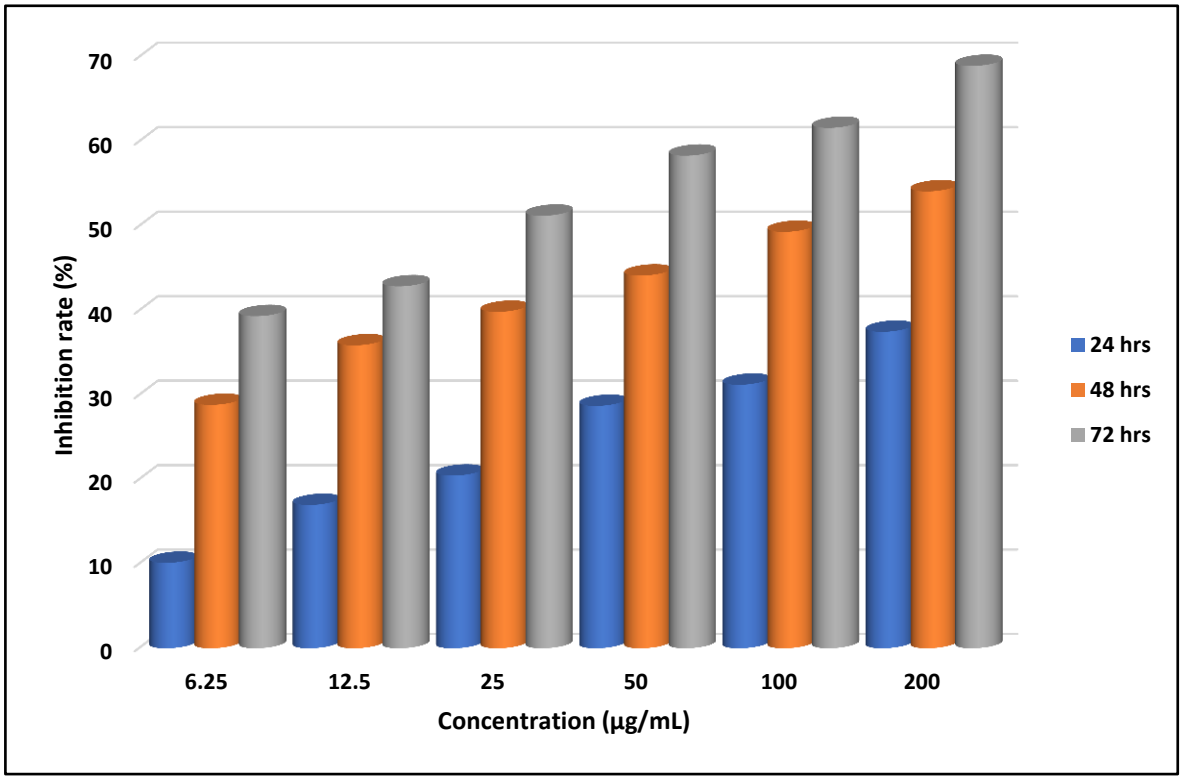
Zhou, Z., Liu, X., Zhu, D., Wang, Y., Zhang, Z., Zhou, X., ... & Shen, Y. (2017). Nonviral cancer gene therapy: Delivery cascade and vector nanoproperty integration. Advanced drug delivery reviews, 115, 115-154.

Zulaikhah, S. T. (2017). The role of antioxidant to prevent free radicals in the body. Sains Medika, 8(1), 39-45.

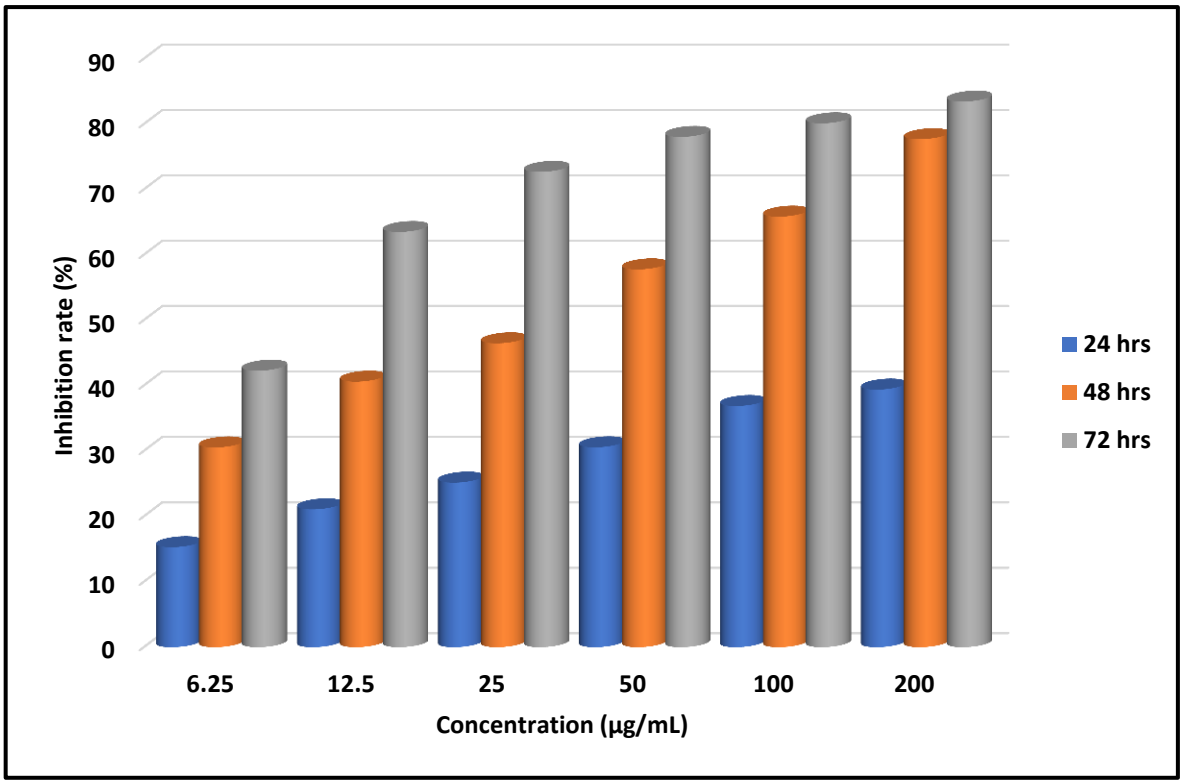
الملاحق

Appendix

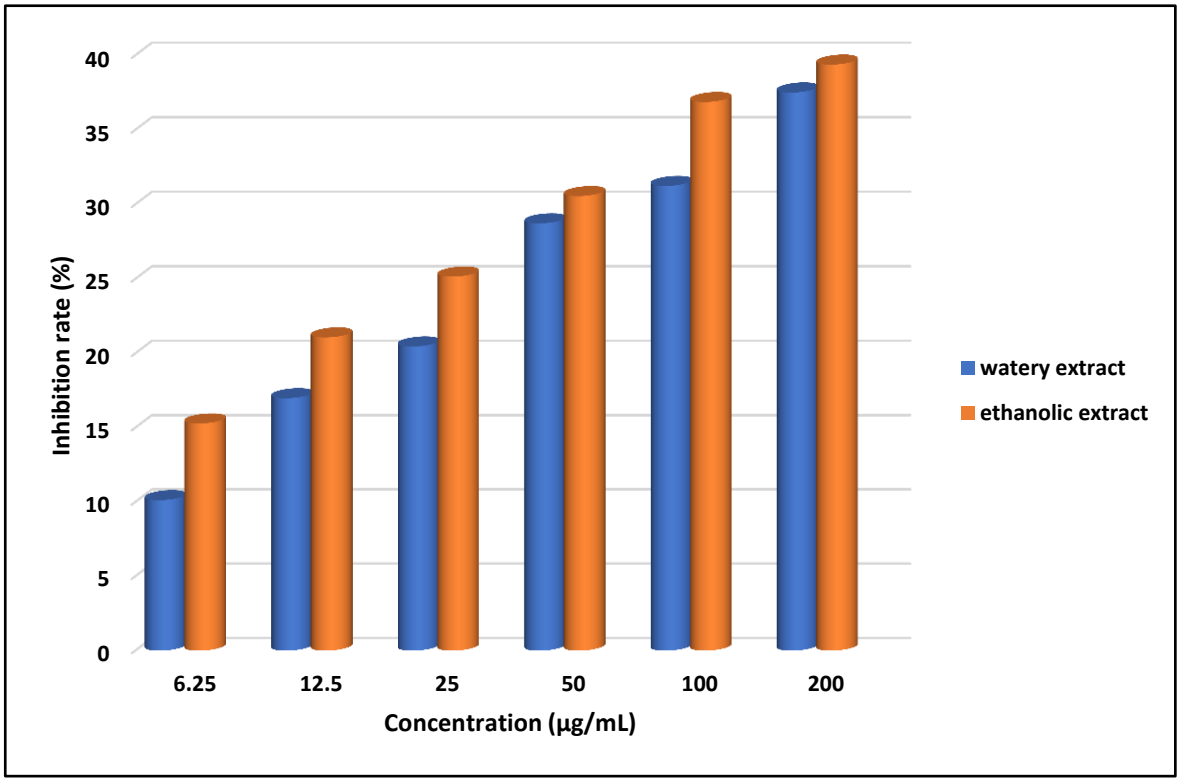
ملحق (1) تـــأثير المستخلص المائي على خـــط سرطان الرئـــة البشرية A549 لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة



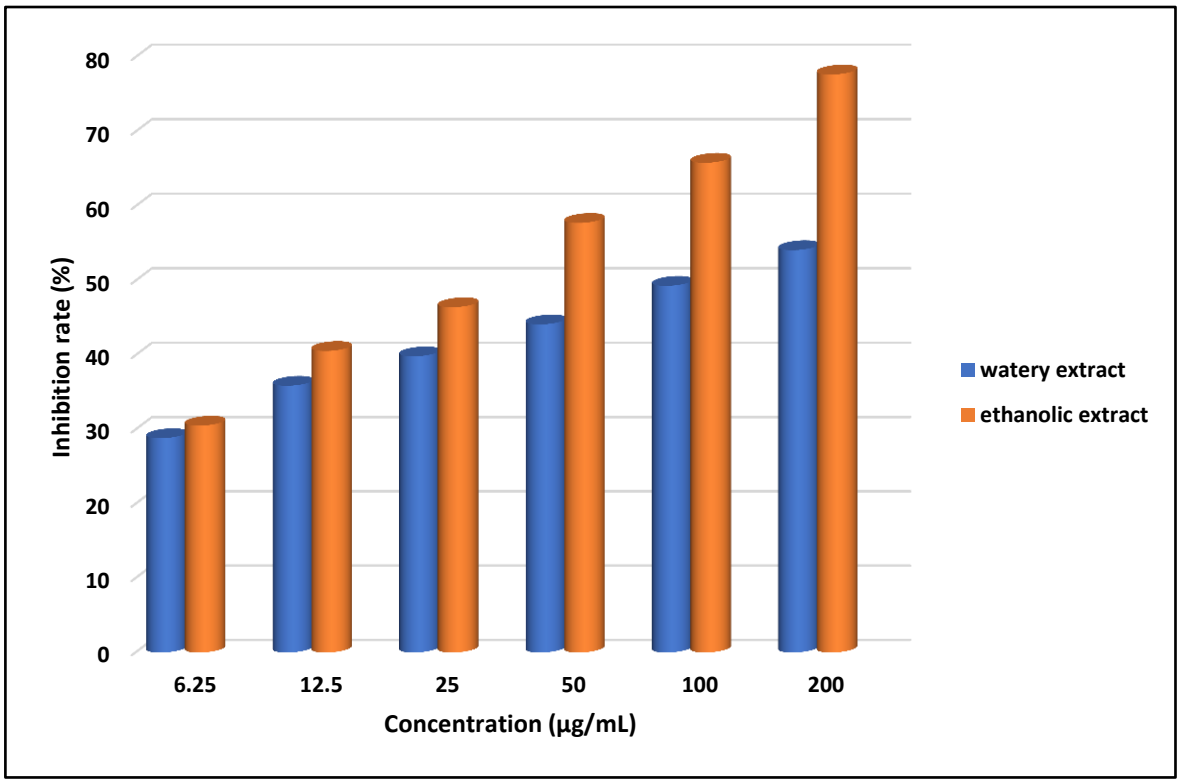
ملحق (2) تـــأثير المستخلص الكحولـــي على خط سرطان الرئـــة البشرية A549لأوقـــات التعريض 72,48,24 ساعة



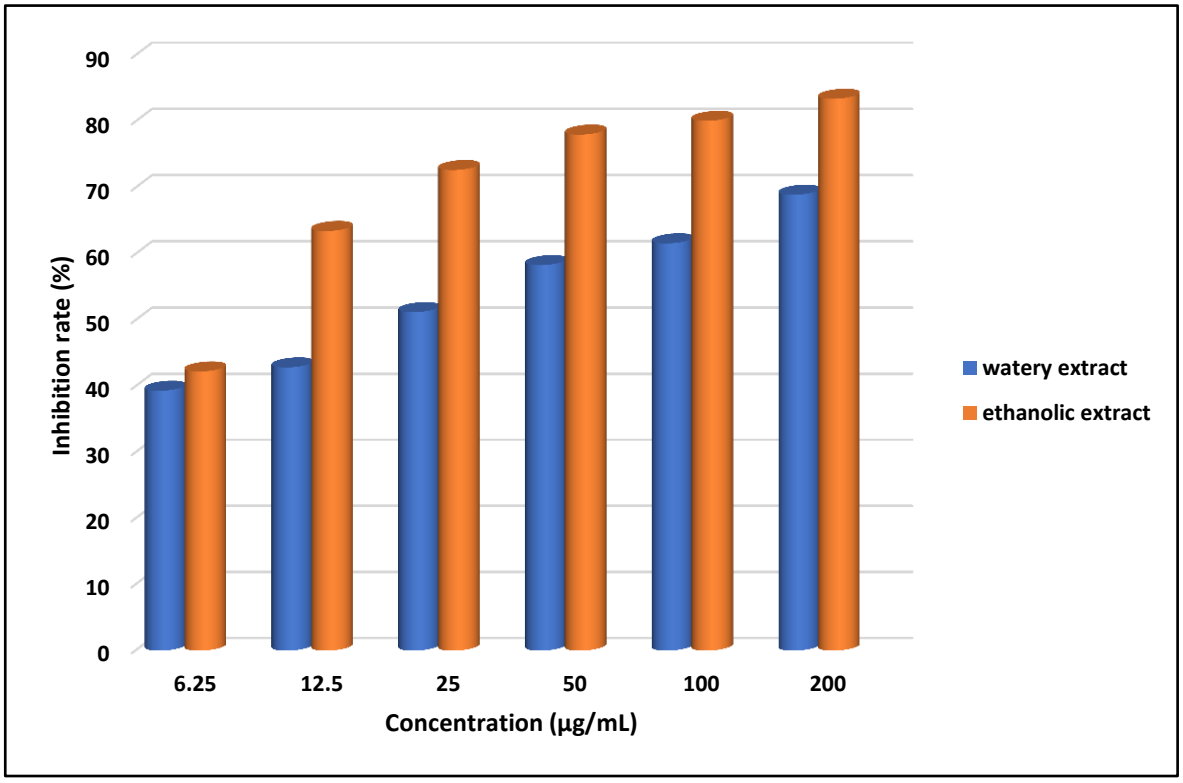
ملحق (3) مقارنـة تـأثير المستخلص المـائي والكحولي علـى خـط سرطان A549 لوقت التعريض 24 ساعة



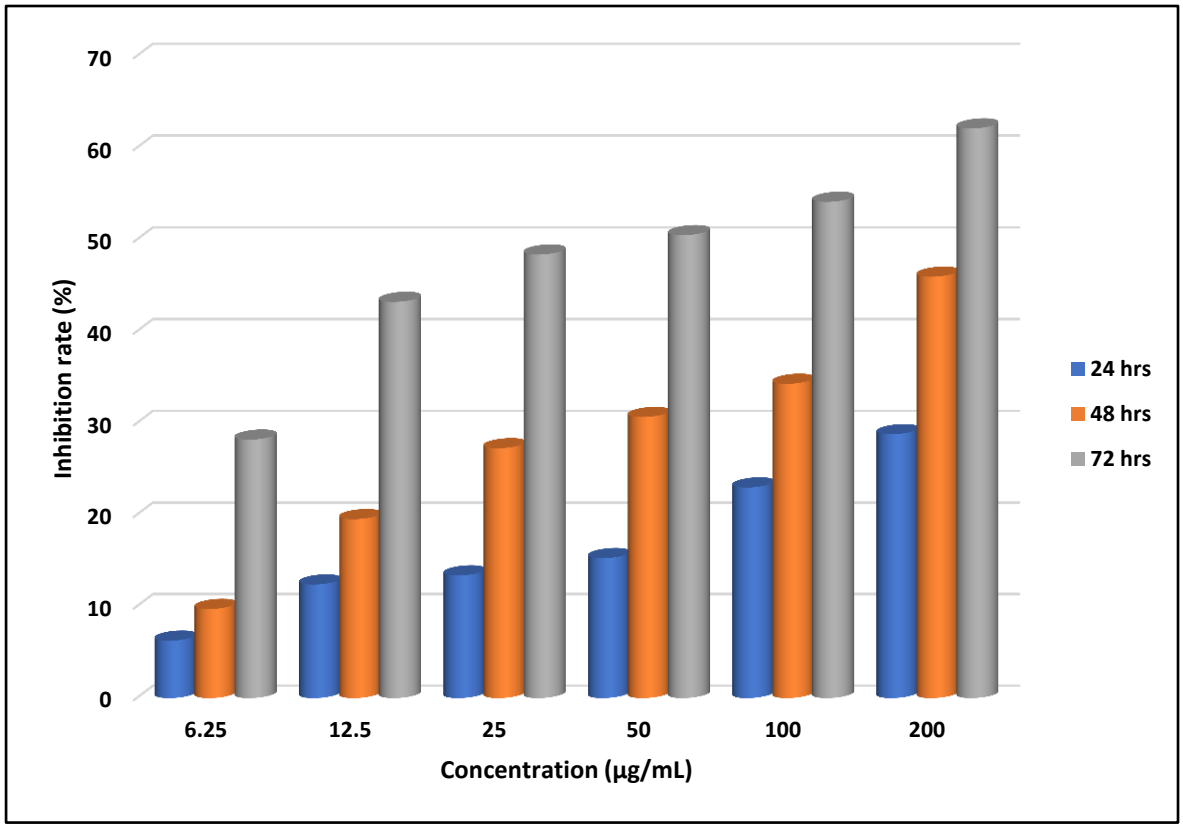
ملحق (4) مقارنـة تـأثير المستخلص المـائي والكحولي علـى خـط سرطان A549 لوقت التعريض 48 ساعة



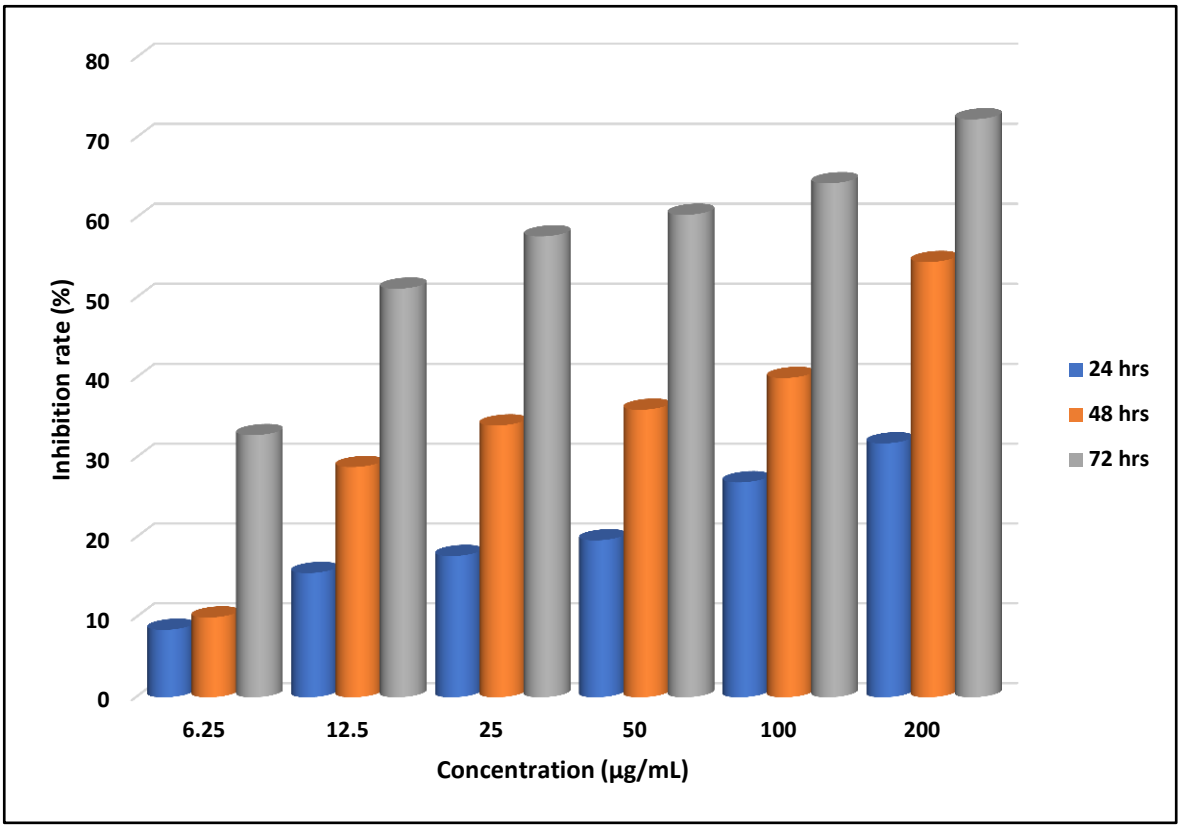
ملحق (5) مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط سرطان A549 لوقت التعريض 72 ساعة



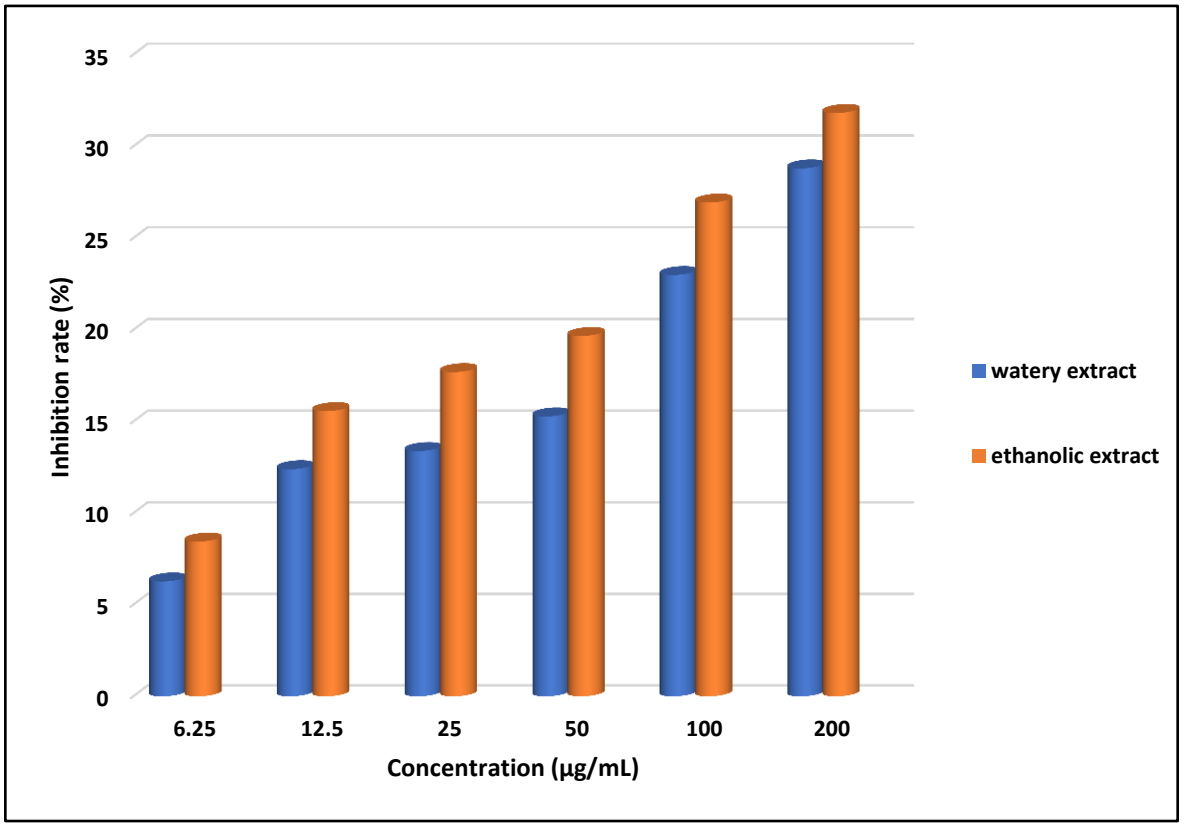
ملحق (6) تأثير المستخلص المائي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة



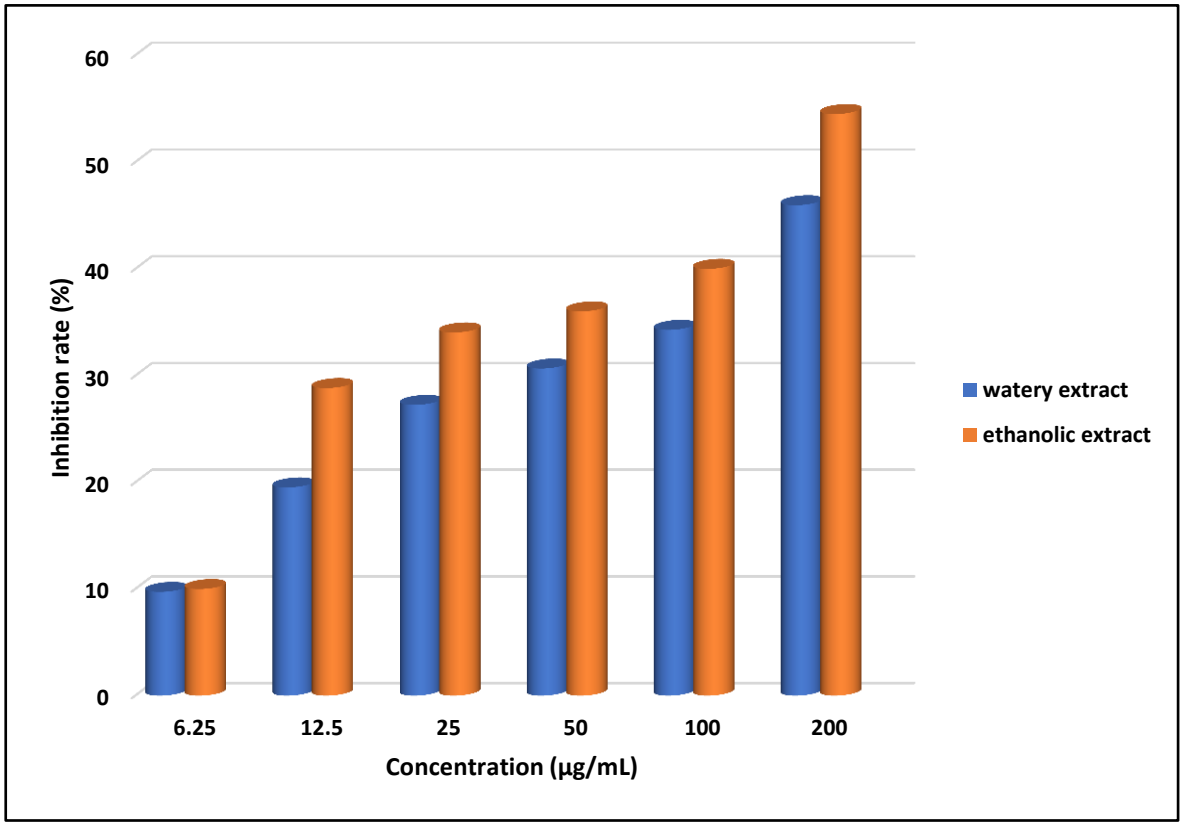
ملحق (7) تأثير المستخلص المائي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة



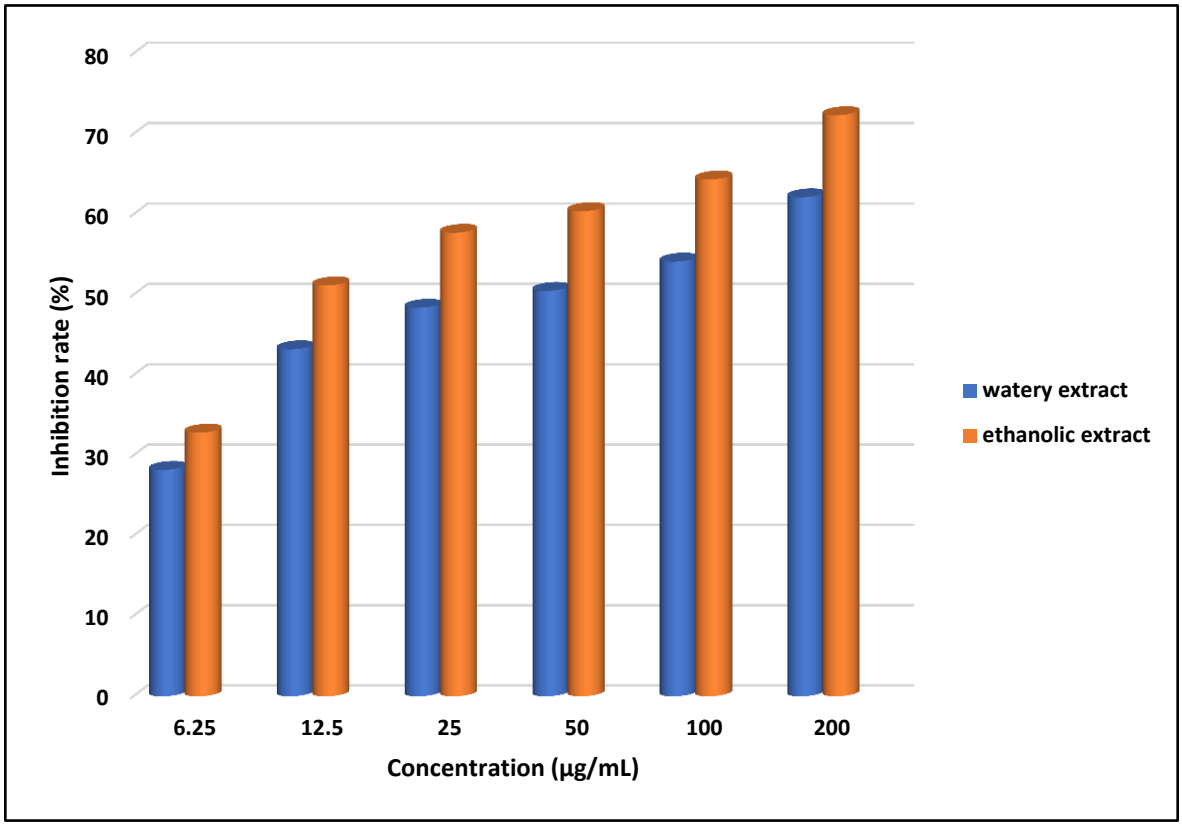
ملحق (8) مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لوقت التعريض 24 ساعة



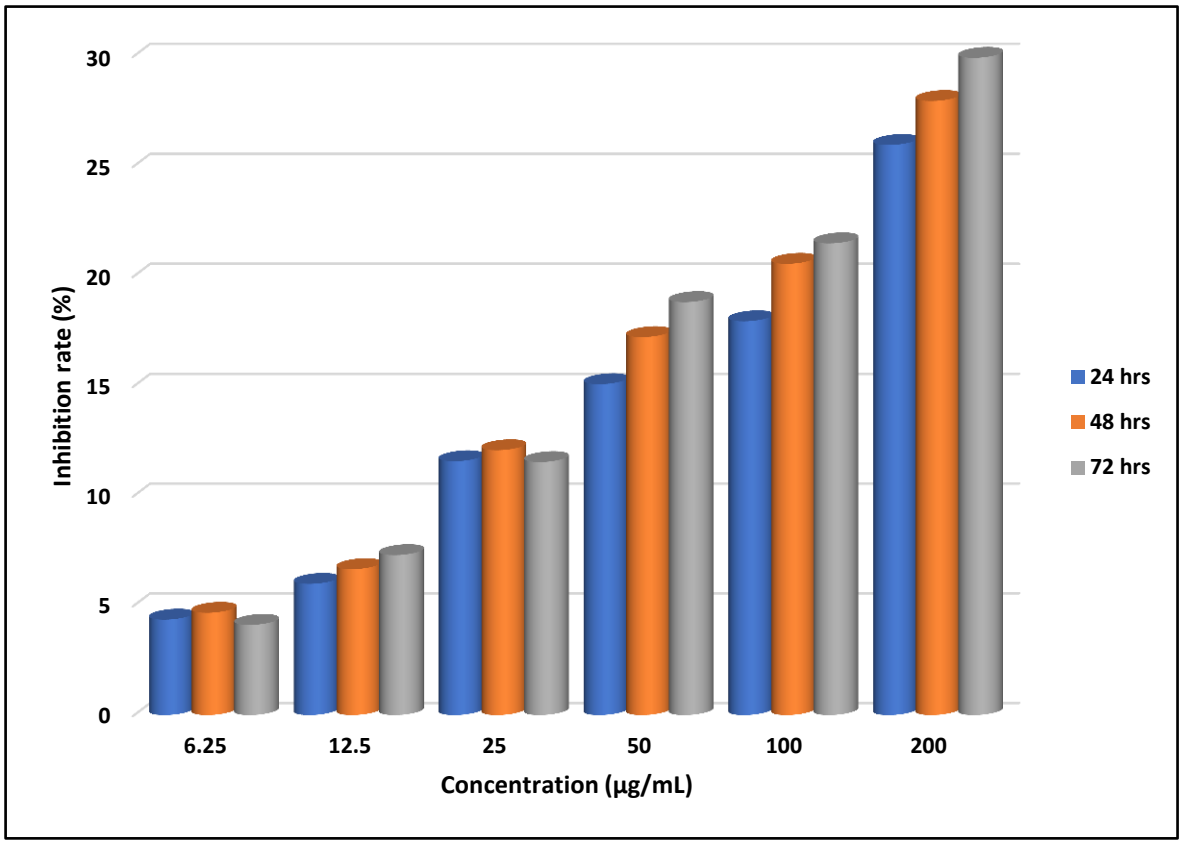
ملحق (7) مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لوقت التعريض 48 ساعة



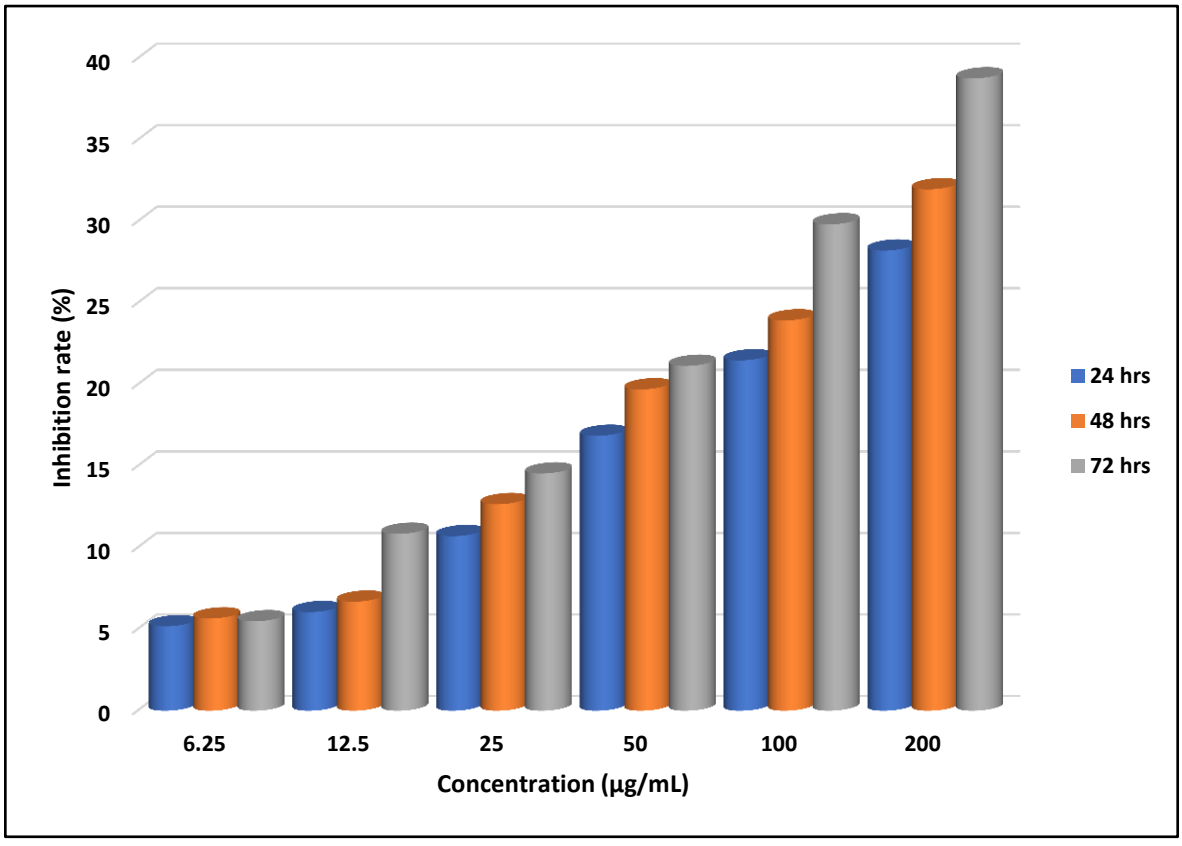
ملحق (8) مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 لوقت التعريض 72 ساعة



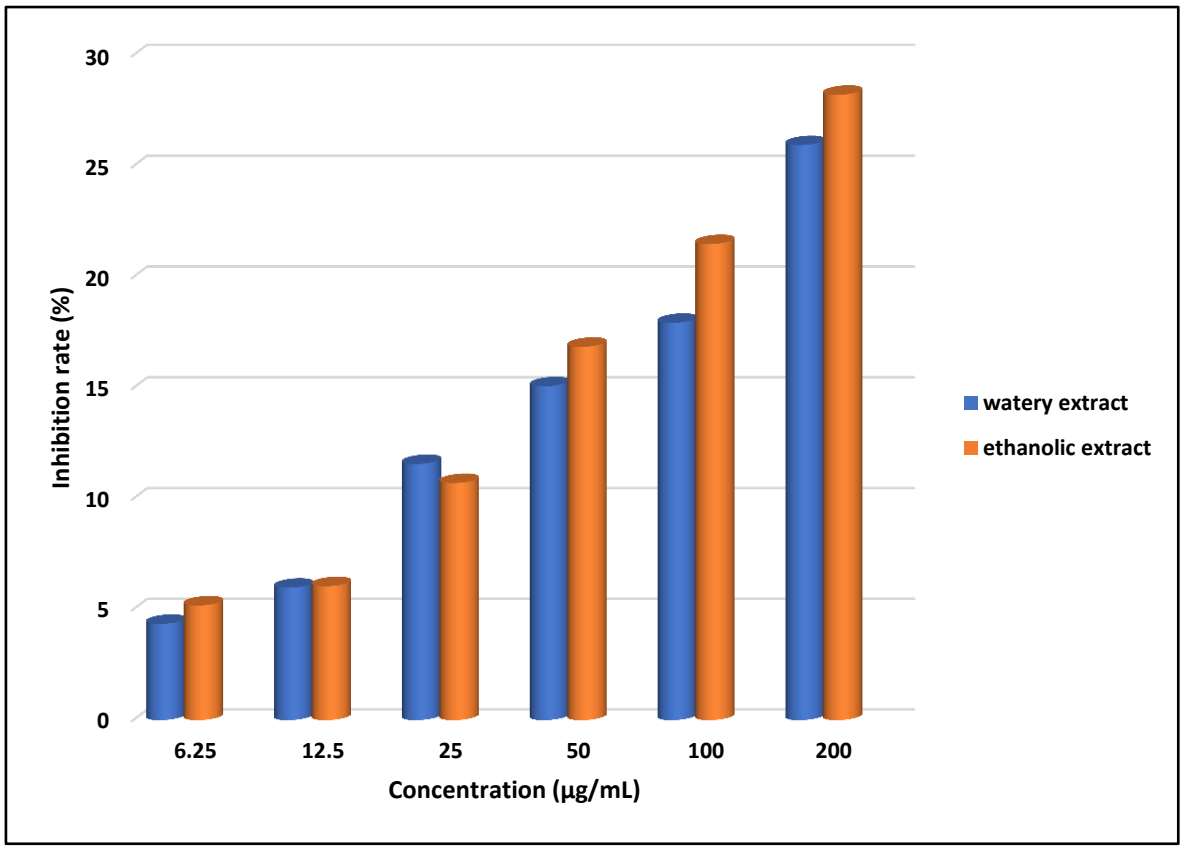
ملحق (9) تأثير المستخلص المائي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة



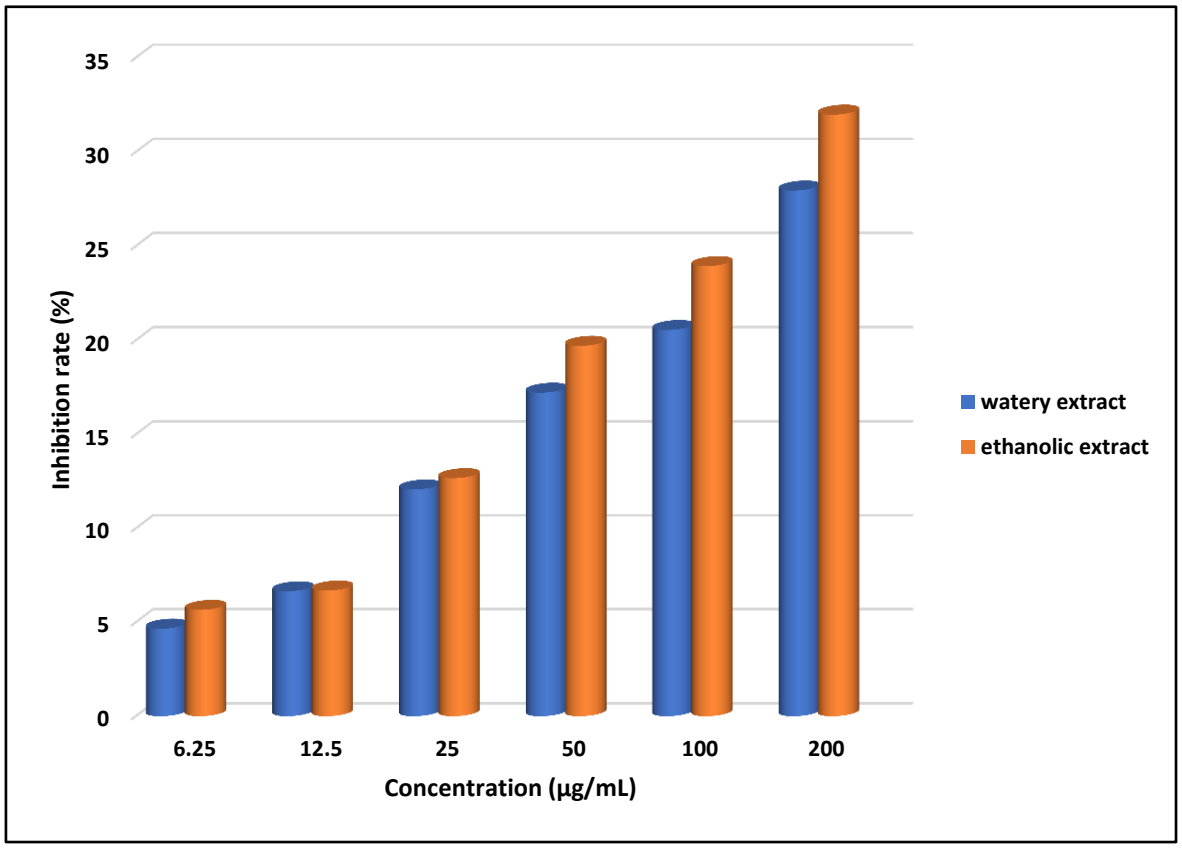
ملحق (10) تأثير المستخلص الكحولي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لأوقات التعريض 72,48,24 ساعة



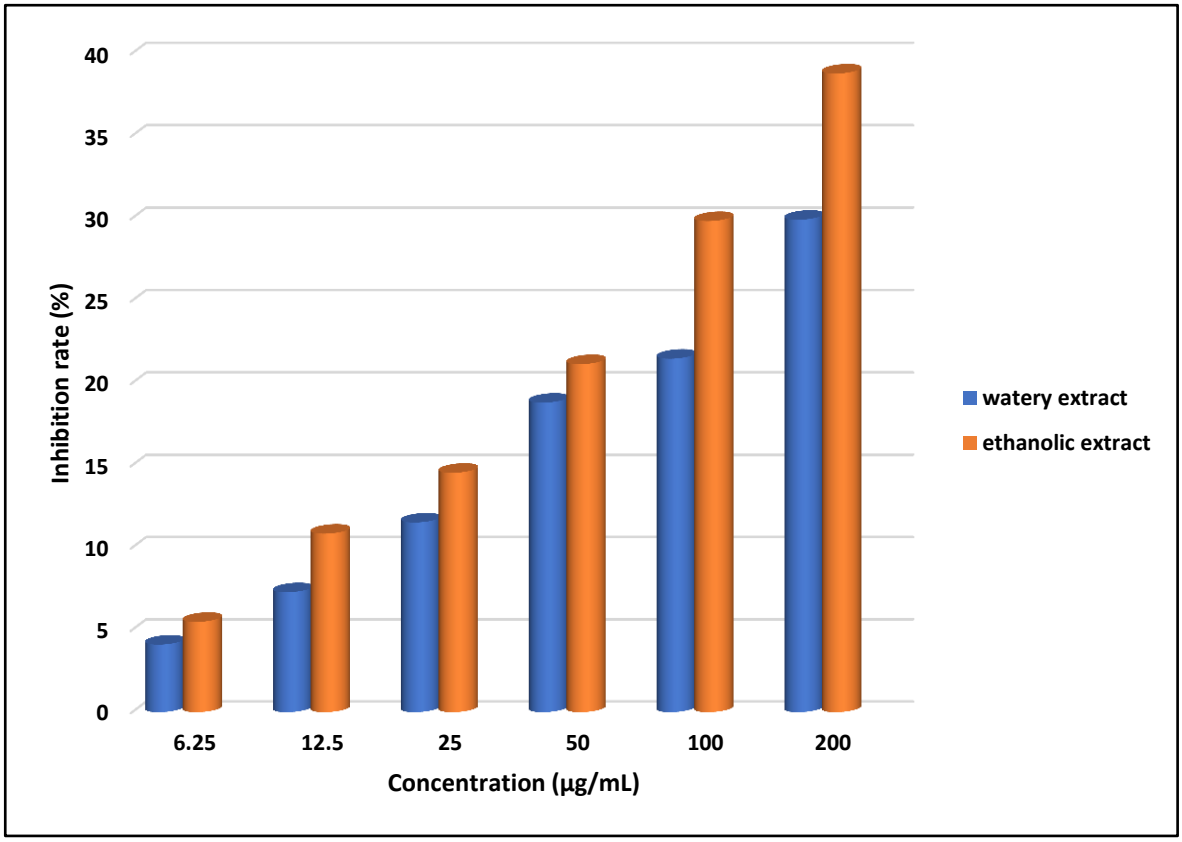
ملحق (11) مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لوقت التعريض 24 ساعة



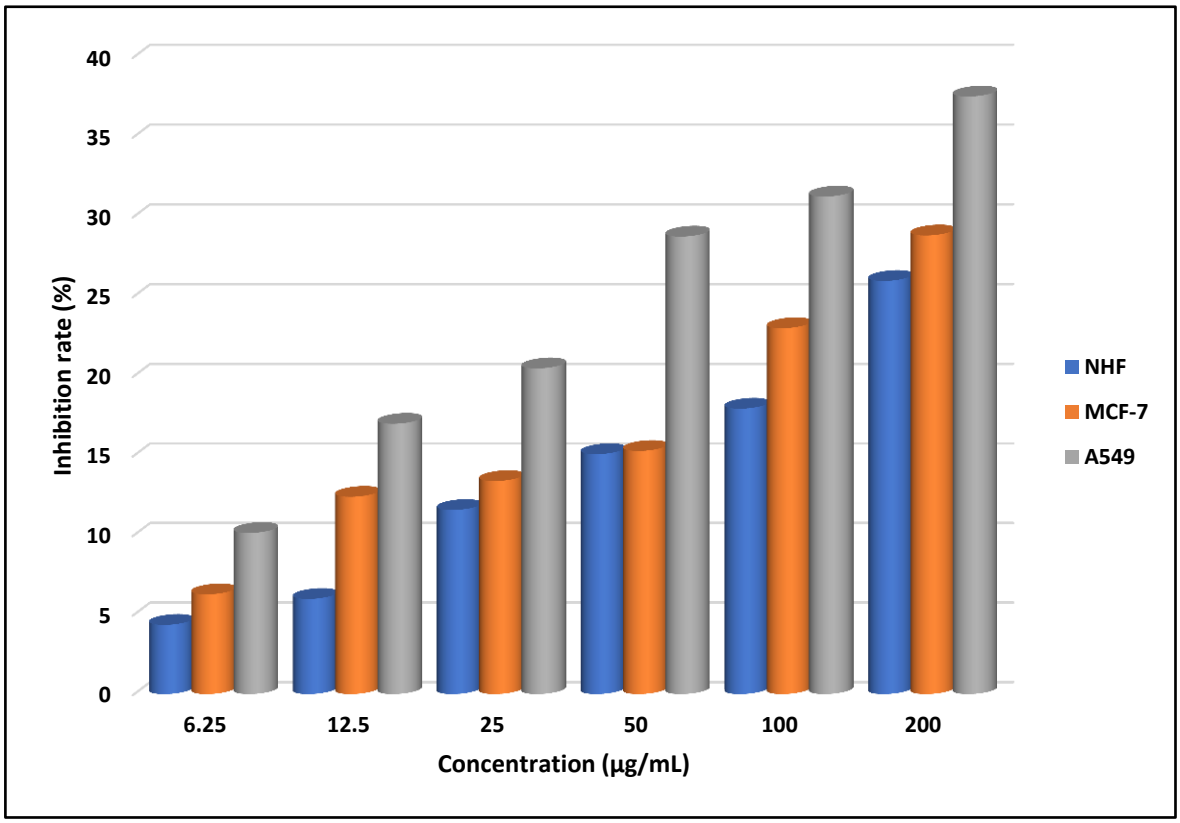
ملحق (12) مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على خط خلايا الليفية البشرية NHF لوقت التعريض 48 ساعة



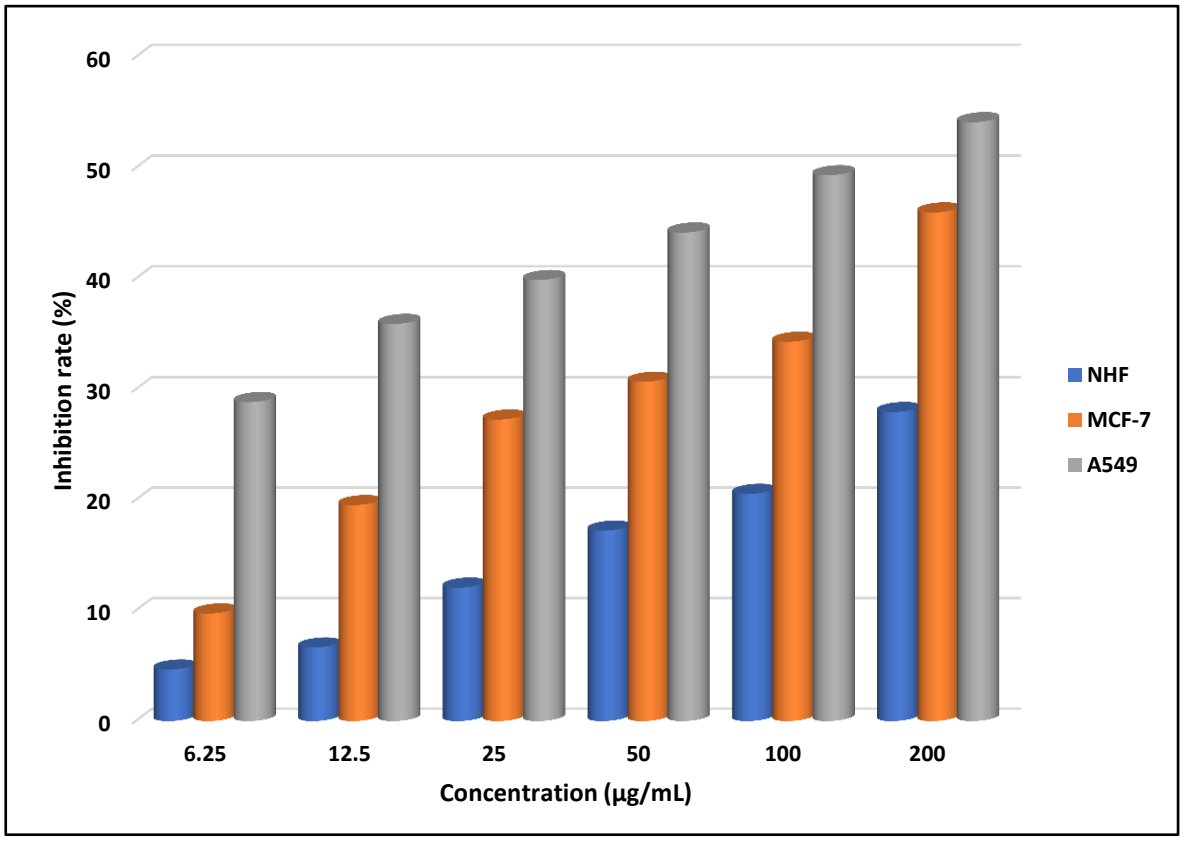
ملحق (13) مقارنة تأثير المستخلص المائي والكحولي على الخط الطبيعي NHF لوقت التعريض 72 ساعة



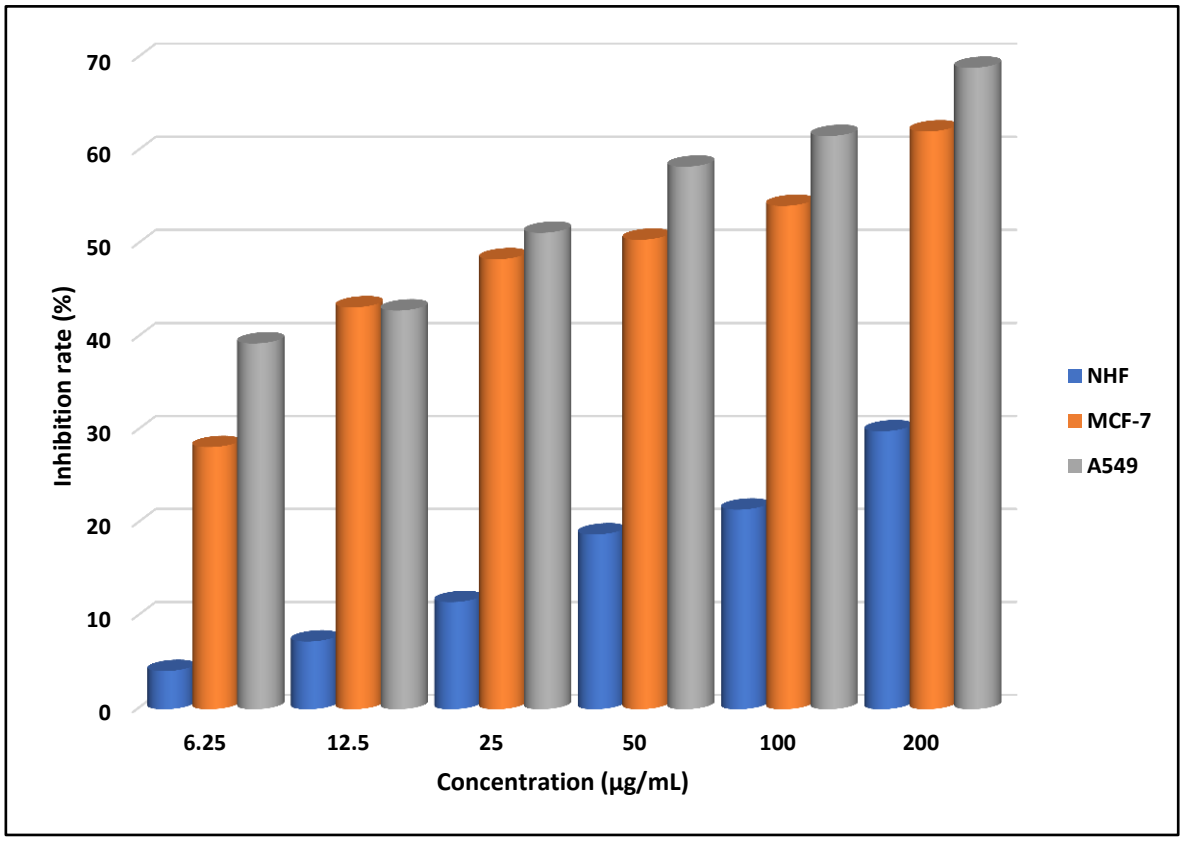
ملحق(14) مقارنة بين تأثيرات المستخلص المائي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 24 ساعة



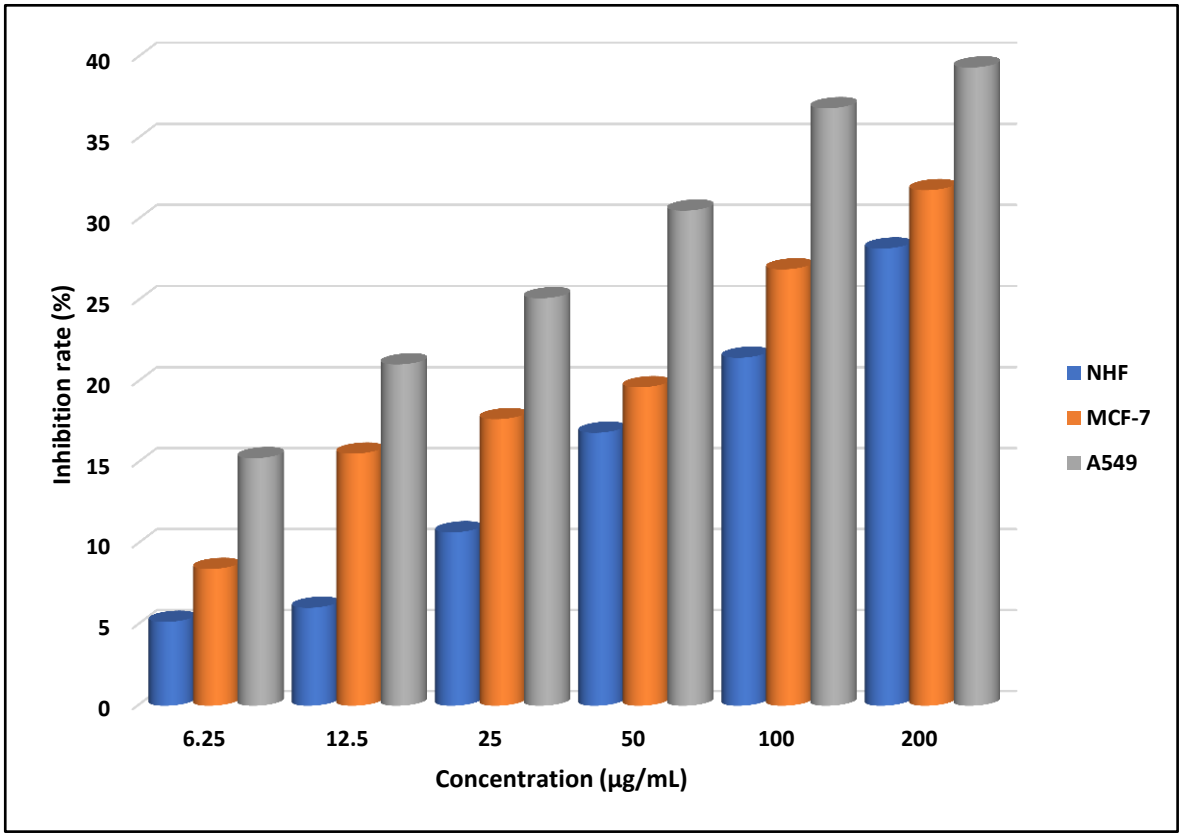
ملحق (15) مقارنة بين تأثيرات المستخلص المائي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 48 ساعة



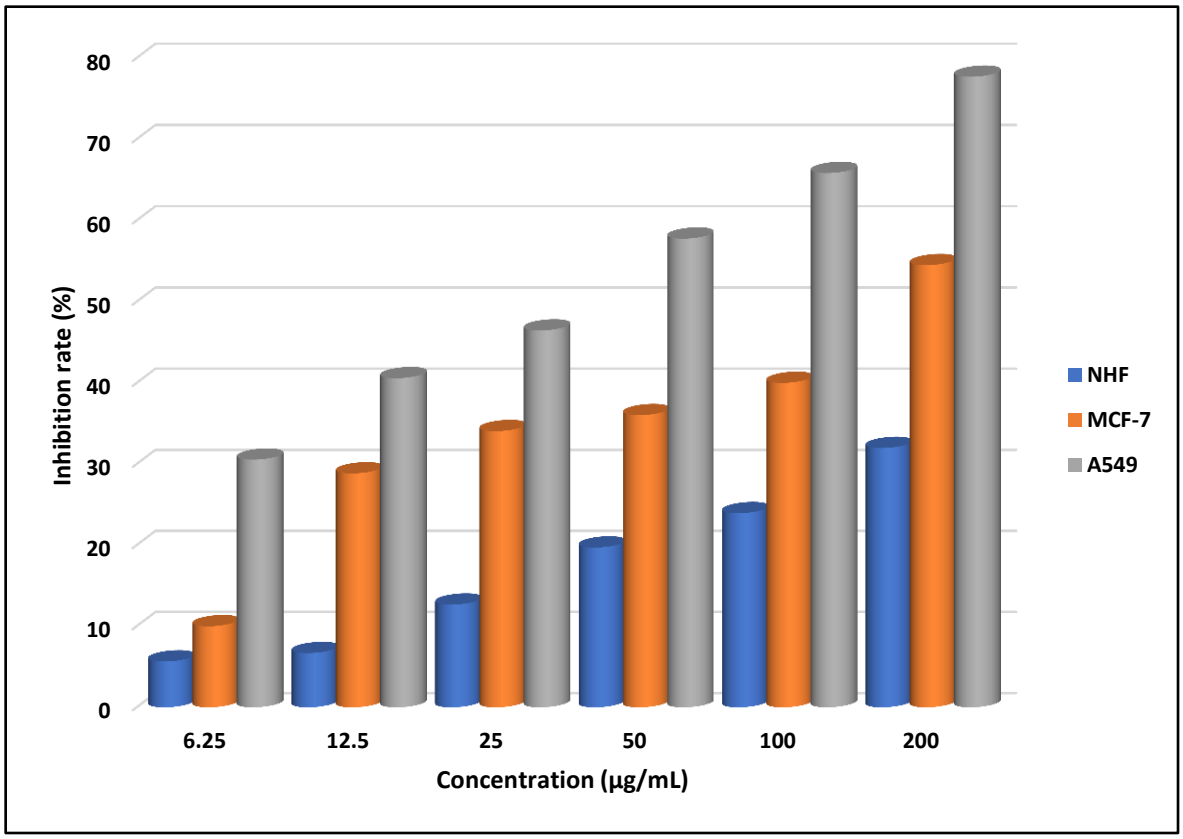
ملحق (16) مقارنة بين تأثيرات المستخلص المائي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 72 ساعة



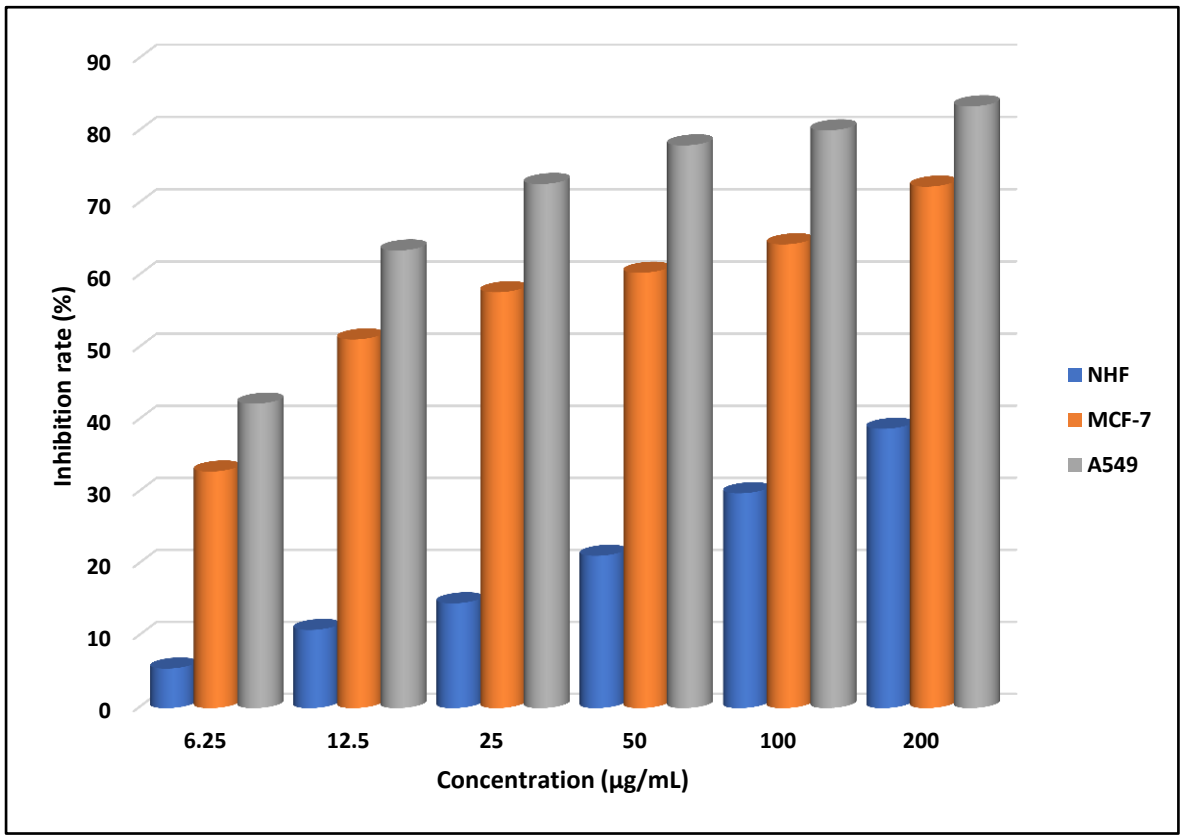
ملحق (17) مقارنة بين تأثيرات المستخلص الكحولي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 24 ساعة



ملحق (18) مقارنة بين تأثيرات المستخلص الكحولي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 48 ساعة



ملحق (19) مقارنة بين تأثيرات المستخلص الكحولي على الخطوط الخلوية الثلاثة NHF, MCF-7, A549 لوقت التعريض 72 ساعة



ملحق(20) مقارنة بين تأثير المستخلص المائي على معدل مجموع التراكيز للخطوط الخلوية , A549 NHF , MCF-7 الثلاثة لاوقات التعريض الثلاثة (72,48,24) ساعة

Time of exposure / cancer line	24hrs	48hrs	72hrs
NHF	**13.48±7.64Aa**	**14.85±8.45Aa**	**15.52±9.2Aa**
MCF-7	**16.52±7.78Aa**	**27.91±11.81Ba**	**47.76±10.91Bb**
A549	**24.17±9.57Aa**	**42.04±8.75Cb**	**53.74±10.85Bc**
$LSD_{0.05}$	**11.65**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياري SD لثلاث مكررات.

*** تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$**

*** تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$**

*** تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)**

*** تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)**

ملحق (21) مقارنة بين تأثير المستخلص الكحولي على معدل مجموع التراكيز للخطوط الخلوية A549 , MCF-7 , NHF الثلاثة لاوقات التعريض الثلاثة (72,48,24) ساعة

Time of exposure / cancer line	24hrs	48hrs	72hrs
NHF	**14.75±8.67Aa**	**16.78±9.72Aa**	**20.11±11.81Aa**
MCF-7	**20.02±8.02Aa**	**33.94±13.95Ba**	**56.46±12.8Bb**
A549	**28.06±9.05Aa**	**53.2±16.43Ca**	**70.01±14.48Cb**
$LSD_{0.05}$	**14.65**		

تمثل القيم متوسط ± الانحراف المعياري SD لثلاث مكررات.

*** تشير الأحرف المماثلة إلى عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$**

*** تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية $P < 0.05$**

*** تشير الأحرف الكبيرة إلى المقارنة بين تركيزين مختلفين لنفس المستخلص (لكل العمود)**

*** تشير الأحرف الصغيرة إلى المقارنة بين المستخلصين لنفس التركيز (لكل صف)**

Abstract

The study was conducted during the period between October 2021 and March 2022, where the study included the toxicological effect of aqueous and alcoholic crude extracts of the shoot of *Juncus rigidus* on three cell lines, including two cancerous lines, including human lung cancer cell line A549 and human breast cancer line MCF- 7 And the third line is a normal cell line for normal human NHF fibroblasts, using six concentrations (200,100,50,25,12.5,6.25) µg/ml and for three periods of exposure (72,48,24) hours.

The quantitative estimation of the active compounds of the aqueous and alcoholic extracts of the plant (phenols - flavonoids - alkaloids - tannins) was calculated and estimated at (8.82,5.91,13.42,16.29) mg/g respectively, while the alcoholic extract gave (7.91,6.06,13, 84,16.34) mg/g, respectively. The antioxidant activity of the aqueous and alcoholic extract was also calculated using the DPPH method, as the percentages of free radical inhibition of the aqueous extract (26%,21.51%,18.93%,12.18%,10.56) and the alcoholic extract were 24.31%,20.51%,19.81%,16.43 %, 9.31%)) at concentrations (10,20,30,40,50) mg/ml and respectively.

The results of the test for the efficacy of extracts of the rush extract on the human lung cancer line A549) showed an increase in the percentage of cell growth inhibition for all exposure periods (72,48,24) hours, with a significant difference at the probability level ($P \leq 0.05$) when compared with the control group. cells not exposed to the extract), where the inhibition rates of the aqueous extract at the exposure periods were (72,48.24) hours (10.13% ± 33), (28.85% ± 2.43), (39.36% ± 1.29) at the concentration (6.25) µg/ ml and respectively, and the percentage of inhibition gradually increased, as the percentage of inhibition at the concentration reached (200) ml/µg to 37.51% ±1.76)), (54.12% ±2.47), (68.96% ±2.15), respectively. The percentage of inhibition increased when the cells were treated with alcoholic extract, and the average percentage of cell inhibition was (15.29% ± 3.04), (30.54% ± 5), (42.27% ± 1) at the lowest concentration (6.25) µg/ml, and the inhibition rates increased to reach (39.38% ± 4.13) , (77.69% ± 5), (83.45% ± 2.9) respectively at the concentration (200) ml/ µg and for the three exposure times.

As for the results of the human breast cancer cell line (MCF-7), it did not differ from that of the lung cancer cell line in the effectiveness of the extracts of the myrtle plant to inhibit the growth of cancer cells. (72,48.24) hours (6.27% ± 0.57), (9.73% ± 2.11), (28.21% ± 0.89), respectively, and the inhibition rate of the aqueous extract at the concentration was (200) ml/µg (28.8% ± 1.4) , (45.97% ± 1.19) and (62.12% ± 1.38), respectively. When using the alcoholic extract, the inhibitory effect was taken with an increase in the cells of the cancer line (MCF-7), where the percentage of the inhibition rate ranged to the lowest concentration (6.25) µg/ml (8.45%) ±2.05), (10±2%.34), (32.85% ±2.06), respectively. The inhibition rate was increased by using the aqueous extract at a concentration of (200) ml/µg to score (31.82% ± 1.63), (54.5% ± 2.45), 72.33 ± 2.31E) respectively.

The aqueous and alcoholic extracts of the vegetative system of the tuberculosis showed less toxicity on the normal human fibroblast line (NHF) compared with the cancerous line (A549) and line (MCF-7), where the aqueous extract recorded a percentage of inhibition (4.35% ± 1.13), ((4.66% ± 0.44) , (4.11% ± 1.33), respectively, for the three exposure times (72,48.24 hours at the concentration (6.25) µg/ml, while when using the concentration (200) ml/ µg) the inhibition rates were recorded (25.95% ± 1.91) , (27.95% ± 2.7) and (29.91% ± 1.36) respectively .The alcoholic extract was more toxic and more effective than aqueous on the cells of the normal line (NHF), as the percentage of inhibition by the alcoholic extract ranged at the concentration (6.25) µg/ml (5.18) ±0.68) , (5.66% ±0.37), (5.49% ±0.44) respectively The percentage rate of inhibition of normal cells increased to the concentration (200) ml/ µg, and it was recorded (28.22% ±1.29), (31.98% ± 0.73), (38.78%±3.29) respectively From the above, we conclude that the aqueous and alcoholic extracts of the shoots (stems and leaves) of *Juncus rigidus* possess many active compounds that have a clear cytotoxic effect on cell growth. The human lung cancer line A549 and the human breast cancer cell line MCF-7 for all exposure periods and concentrations used from the aqueous and alcoholic plant extracts, while the inhibition rates for the normal human fibroblast cell line NHF were low compared to its effect on the two cancer lines**.**

University of Karbala

College of Education for Pure Sciences

Department of Biology

Evaluation of Cytotoxic Effects of Aqueous and Alcoholic Extracts of *Juncus rigidus* Plant on Human Cancer Cell Lines in Vitro

A Thesis Submitted to the Council of College of Education for Pure Science / University of Karbala in partial fulfillment of the requirements for the degree of master in Biology-Zoology

Written By

Ali Mohmmed Hussain Aljebory

Bachelor's degree in biology /University of Baghdad

2011-2012

Supervised By

Dr. Liqaa H.Saqban

2022.A.D. **1443 A.H.**