



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية العلوم
قسم علوم الحياة



تقييم الفعالية المضادة للبكتريا والسمية الخلوية
والوراثية للمستخلص الكحولي الخام لطحلب
Cladophora glomerata (L.) Kütz. خارج
الجسم الحي

رسالة مقدمه الى

مجلس كلية العلوم - جامعة ديالى
كجزء من متطلبات نيل درجه الماجستير
في علوم الحياة
من قبل

ضحى محمد صادق

بكالوريوس علوم حياة - كلية العلوم - جامعة ديالى (2013)

بإشراف

أ. د إبراهيم هادي محمد

تموز / 2024 م

محرم / 1446 هـ



Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Diyala
College of Science
Department of Biology



Assessment of the Antimicrobial Cytotoxic and Genotoxic Activity of Alcoholic Crude Extract of *Cladophora glomerata* (L.) Kütz. *in vitro*

A Thesis

Submitted to the Council of the College of Science - University
of Diyala as a Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Biology

By

Dhuha Mohammed Sadiq

B.Sc.Biology - College of Science -University of Diyala (2013)

Supervised by

Professor Dr. Ibrahim Hadi Mohammed

July\ 2024 A.D.

Muharram\ 1446 A.H.

Chapter One

Introduction

1.1 Introduction

Cancer is one of the major health problems in the world and is considered one of the important causes of increased mortality among children and adults. It ranks second among diseases after heart and arterial diseases. The number of people with cancer has reached more than 20 million people with cancer in the world in 2022. Statistics indicate that liver cancer is the third leading cause of cancer deaths in the world, and that breast cancer is the most common type, followed by it Lung, colon, liver, prostate and stomach cancer, respectively (Chhikara and Parang, 2023). Although there are many treatments for cancer, such as surgical, radiation, and pharmaceutical treatment, such as chemotherapy, hormonal, and immunotherapy, they have not achieved the desired results and have side effects. Therefore, researchers turned to finding new methods by using natural sources such as plants and herbs that contain many chemical compounds that have high effectiveness in treatment (Zhang *et al.*, 2020).

Algae are a broad group of photosynthetic organisms that are commonly seen in aquatic environments, there is a wide range of metabolites produced by algae, which are therefore used in pharmaceutical treatments, especially those with anti-cancer effects. Recently, they have shown increasing interest in these molecules due to the diversity and uniqueness of their structures (Hanan *et al.*, 2020).

Cladophora are a group of macroscopic green algae that includes more than 183 species and live in either freshwater or brackish water (Michalak and Messyas, 2021). *Cladophora glomerata* is a filamentous, entangled algae widespread in freshwater and lake environments as well as in deep waters and shallow, nutrient-rich waters. *C. glomerata* possesses many compounds with biologically active properties and is considered one of

the most important medicinal algae, many studies have proven its effectiveness as an antibacterial, antifungal, and anti-inflammatory agent, it also has anti-diabetic, antioxidant, and anti-cancer properties, and flavonoids, alkaloids, phenols, tannins, fatty acids, sterols, and terpenoids are abundant in this alga (Al-Jaber *et al.*, 2021). Polysaccharides, polyphenols, terpenes, carotenoids and plant proteins are some of the vital components that possess anti-cancer therapeutic properties found in algae (Munir *et al.*, 2019). Al-Jaber *et al.* (2021) indicated that the methanolic extract of *C. glomerata*, which possesses alkaloids, is effective in inhibiting the growth of cancer cells in the MCF7 cell line. In another study, high amounts of antioxidants, including flavonoids and phenols, were found in the methanolic extract of *C. glomerata*, which has been shown to reduce oxidative stress and increase the vitality and mitochondrial potential of adipose-derived mesenchymal stem cells in horses (Sundaramoorthy *et al.*, 2022).

1.2 Aims of Study

- 1- Isolation, purification and cultivation of *C. glomerata* and then extraction of the crude alkaloid from the dried biomass of the algae.
- 2- Detecting the effect of the crude alkaloid extract of the *C. glomerata* plant on some bacterial species.
- 3- Detecting the effect of the crude alkaloid extract of *C. glomerata* on human blood lymphocytes in the metaphase and comparing it with colchicine.
- 4- Investigating the cytotoxicity of the crude alkaloid extract of the algae *C. glomerata in vitro* on two types of cancer cell lines: HepG2, HeLa, and the normal line MEF.

5- Study the effect of the crude alkaloid extract on the gene expression of genes associated with the phenomenon of resistance of cancer cells to cellular stress conditions, which are the genes that encode heat shock proteins and genes associated with the process of inducing apoptosis, as well as detecting the morphological changes of cells treated with the crude alkaloid extract using fluorescent dyes.

الملخص

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتنقية وتشخيص طحلب *Cladophora glomerata* الذي تم جمعه من ساقية حسن الحمود قرب كلية الهندسة – جامعة ديالى، وتم تحضير مزرعة نقية من الطحلب ومن ثم زراعتها وزراعتها في الوسط الزراعي □hu-□□ تحت ظروف قياسية (2-25+ درجة مئوية، شدة ضوء 3000 لوكس، وفترة ضوئية داكنة 16:8)، وبعد ذلك تم استخلاص القلويدات الخام والمركبات النشطة من الكتلة الحيوية الجافة للطحالب.

هدفت الدراسة الحالية الى اختبار تأثير المستخلص القلويدي الخام لطحلب *C. glomerata* كمضاد للمايكروبات و على تكاثر الخلايا اللمفاوية لدم الانسان وعلى ثلاثة خطوط خلوية سرطانية و كذلك تأثيره على التعبير الجيني لبعض الجينات الخلوية ، تم الكشف الكيميائي عن بعض المكونات الكيميائية لمستخلص طحلب *C. glomerata* ، فظهر ان الطحلب يحتوي على مجموعة من المركبات الفعالة مثل القلويدات و التانينات و الفينولات والفلافونات و التربينات والكلايكوسيدات.

تم الكشف عن الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص القلوي الخام باستخدام طريقة الانتشار بالحفر، وأظهرت النتائج أن أعلى منطقة تثبيط عند 250 ميكروغرام/مل لوحظت في *S. aureas* و *P. mirabilis* والتي بلغت (19) ملم، تليها *P. aeruginosa* و *K. pneumonia* و *E. coli* □ بقطر تثبيط (13 و 14 و 16) ملم على التوالي. ولوحظت أعلى منطقة تثبيط عند تركيز 125 ميكروغرام/مل في *S. aureas* والتي بلغت (16) ملم، تليها *P. mirabilis* و *E. coli* عند قطر التثبيط (14 و 11) على التوالي، بينما في *K. pneumonia* و *P. aeruginosa* لم يلاحظ أي تأثير لمستخلص القلويدي الخام عند 125 ميكروغرام/مل.

وتضمن الاختبار الثاني تأثير المستخلص القلويدي الخام لطحلب *C. glomerata* على انقسام خلايا الدم الليمفاوية البشرية، حيث تم تعريض الخلايا لسلسلة من التراكيز المحضرة من المستخلص القلويدي لمدة 24 ساعة. بينت أن المستخلص القلويدي الخام يثبط انقسام الخلايا الليمفاوية في دم الإنسان في الطور الاستوائي بنسب مختلفة، إذ تزداد نسبة التثبيط مع زيادة التركيز وتراوح نسبة الخلايا المثبطة في الطور الاستوائي بين 0.12 – 3.80% للتراكيز من 15.1 – 1000 ميكروغرام/مل.

اشتملت الخطوط الخلوية السرطانية المستخدمة في هذه الدراسة الخط الخلوي السرطاني □ep□□ وخط الخلوي السرطاني □e□a و الخط الخلوي الطبيعي لجنين الفار □□□□. تمت

