جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية العلوم

تأثير المستخلص الكحولي و القلويدي لنبات السبحبح *Melia azedarach* على انقسام الخلايا اللمفاوية و الخلايا السرطانية

رسالة

مقدمة إلى مجلس كلية العلوم – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

مريم حكمت عبداللطيف

باشراف

ا.م.د. ابراهيم هادي محمد

ا.م.د. عامر طالب توفيق

1438هـ

2017 م

اقرار المشرفيين على الرسالة وترشيح لجنة الدراسات العليا

نشهد بأن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ **(تأثير المستخلص الكحولي والقلويدي لنبات السبحبح *Melia azedarach* على انقسام الخلايا اللمفاوية و الخلايا السرطانية)** التي قدمتها طالبة الماجستير **(مريم حكمت عبداللطيف)** قد جرى تحت إشرافنا وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

التوقيع:

المشرف: د. ابراهيم هادي محمد

اللقب العلمي: استاذ مساعد

كلية العلوم / جامعة ديالى

التاريخ: / /2016

التوقيع:

المشرف: د. عامر طالب توفيق

اللقب العلمي: استاذ مساعد

المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/الجامعة المستنصرية

التاريخ: / /2016

تـوصية رئيس قسـم علـوم الحيـاة

بناءً على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع:

الاسم: د. منذر حمزة راضي

اللقب العلمي: أستاذ مساعد

رئيس لجنة الدراسات العليا– رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ : / / 2016

إقــرار المقوم اللغوي

أشهد بأن الرسالة الموسومة بـ**(تأثير المستخلص الكحولي والقلويدي لنبات السبحبح *Melia azedarach* على انقسام الخلايا اللمفاوية و الخلايا السرطانية)** . التي قدمتها طالبة الماجستير **(مريم حكمت عبد اللطيف)** قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وصحح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الامر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم:

التأريخ: / / 2017

إقـرار المقوم العلمي

أشهد بأن الرسالة الموسومة بـ**(تأثير المستخلص الكحولي والقلويدي لنبات السبحبح *Melia azedarach* على انقسام الخلايا اللمفاوية و الخلايا السرطانية)** التي قدمتها طالبة الماجستير **(مريم حكمت عبداللطيف)** قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم:

التأريخ: / / 2017

قــرار لجنة المنــاقشــة

نشهد بأننا أعضاء لجنة المناقشة قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بـ **(تأثير المستخلص الكحولي والقلويدي لنبات السبحبح *Melia azedarach* على انقسام الخلايا اللمفاوية و الخلايا السرطانية)** التي قدمتها طالبة الماجستير **(مريم حكمت عبداللطيف)** وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ / / 2017 وانها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

رئيس لجنة المناقشة
التوقيع
الاسم: د.
المرتبة العلمية:
التاريخ / / 2017

عضو لجنة المناقشة
التوقيع
الاسم: د.
المرتبة العلمية:
التاريخ / / 2017

عضو لجنة المناقشة
التوقيع
الاسم: د.
المرتبة العلمية:
التاريخ / / 2017

عضو لجنة المناقشة
التوقيع
الاسم: د.
المرتبة العلمية:
التاريخ / / 2017

عضو لجنة المناقشة
التوقيع
الاسم: د.
المرتبة العلمية:
التاريخ / / 2017

مصادقة عمادة كلية العلوم

اصادق على ما جاء في قرار اللجنة اعلاه
التوقيع :
الاسم : د.
المرتبة العلمية :
التاريخ : / / 2017

{ وَنُنَزِّلُ مِنَ الْقُرْآنِ مَا هُوَ شِفَاءٌ وَرَحْمَةٌ

لِلْمُؤْمِنِينَ وَلَا يَزِيدُ الظَّالِمِينَ إِلَّا خَسَارًا }

آيه (82)من سورة (الاسراء)

الإهداء

إلى حافظ سرِّ اللهِ و مِهْبَطِ وحيهِ

الرسول الكريم ﴿صلى الله عليه واله وسلم﴾ و أهل بيته الطيبين الطاهرين

إلى ملاكي في الحياة .. إلى معنى الحب والحنان والتفاني .. إلى بسمة الحياة وسر الوجود إلى من كان دعاؤها سرَ نجاحي ، حنانها بلسم جراحي ، إلى أغلى الاحباب أمي الحبيبة...

"""""اليـــكـ ابي الحبيـــب"""""

الى قدوتي الاولـــــى ، ونبراســـــي الذي ينير دربـــــي

الى من علمني أنْ أصمُد امام أمواجِ البحرِ الثائرة,,

الى من اعطاني ولم يزل يُعطيني بـــلا حدود,,

الى مَنْ رفعت راسي عالياً افتخارا بـــــه,,

إلى من افتقده في مواجهة الصعاب

ولم تمهلني الدنيا لأرتوي من حنانه

اليـكـ يامن افديكـ بروحي !

ابعث لكـ باقات حبي واحترامي ،عبارات نابعة من قلبـــــــــي ,, وان كان حبر قلمي لايستطيع التعبير عن مشاعري نحوك فمشاعري اكبر من أن اسطرها على الورق ,, ولكنـــــي لااملكـ الا ان ادعـــو " الله سبحانه " ان يجمعني بك في الفردوس الاعلى " !

إلى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس البريئة إلى رياحين حياتي أخي واختي

إلى الأرواح التي سكنت تحت تراب الوطن الحبيب الى ارواح الشهداء ...

مريم

الشكر و التقدير

الحمدُ لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيدنا محمد وعلى آله الطيبين الطاهرين وصحبه المنتجبين، الحمد لله على ما أنعم علينا وهدانا إلى طريق العلم والمعرفة ووفقنا إلى إتمام البحث فبجلاله قويت عزيمتي وبه كان توفيقي وعليه توكلي.

أتقدم بالشكر الجزيل والإمتنان الخالص والإحترام الكبير إلى أستاذي ومشرفي الفاضل أ.م .د. ابراهيم هادي محمد لتوجيهاته العلمية السديدة ومتابعته لي وحرصه الشديد على إتمام البحث على نحو علمي فشكراً لك أستاذي وشكراً لصبرك الجميل وجهدك الكبير معي فجزاك الله عني خير الجزاء وأعزك بعزه. كما اقدم شكري واعتزازي الى أ.م.د. عامر طالب توفيق على مساعدته لي في تسهيل مهمة بحثي .

وأتقدم بالعرفان والجميل إلى عمادة كلية العلوم واساتذة قسم علوم الحياة الذين أتاحوا لي فرصة الدراسة وإنجاز متطلبات البحث.

ويمتد شكري وتقديري إلى الدكتور ناهي يوسف ياسين مدير عام المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية ، الى جميع منتسبي المركز لمساعدتهم لي في انجاز البحث.

والشكر والوفاء الى الدكتور احمد فاضل نعمة في مركز بحوث التقنيات الاحيائية /جامعة النهرين ، الى الدكتور علي زيد فاضل في كلية التقنيات الاحيائية/جامعة النهرين ، الى الكتور خزعل ضبع وادي في جامعة ديالى /كلية العلوم/قسم علوم الحياة ، الى زميلي في الدراسة علي غازي حمدي لجهودهم المشكورة و مساعدتهم القيمة لي في اثناء البحث ، والى جميع الناس الطيبين الذين وقفوا معي طوال مدة الدراسة.

مريم

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى اختبار تأثير المستخلصات الكحولية والقلويدات الخام المستخلصة من نبات السبحبح *Melia azedarach* في خطين خلويين سرطانيين هما سرطان الكبد البشري HepG2 Liver cancer cells وسرطان المريء Oesophagus cancer cells والخط الطبيعي لكبد الانسان SK-GT2 WRL68 Liver normal cells . تم الكشف الكيميائي عن بعض المكونات الكيميائية لمستخلص ثمار نبات السبحبح ، فظهر أن النبات يحتوي على مجموعة من المركبات الكيميائية مثل القلويدات ، الفلافونات ، التانينات ، التربينات والستيرويدات.

تضمن الاختبار الاول تأثير المستخلصين الكحولي و القلويدي على انقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان، اذ وجد أنَ المستخلص الكحولي الخام والقلويدي الخام لثمار السبحبح أدىَ الى ايقاف انقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان في الطور الاستوائي، بنسب مختلفة إذ ازدادت النسبة مع زيادة التركيز، و تراوحت نسبة الخلايا المتوقفة في الطور الاستوائي للمستخلص الكحولي بين (0.30%-2.90%) للتراكيز من (12.5-400) مكغم/مل ، اما بالنسبة للمستخلص القلويدي كانت نسبة الخلايا المتوقفة في الطور الاستوائي بين (0.56%-3.83%) للتراكيز من (12.5-400) مكغم/مل. و الاختبارالثاني تضمن تأثير المستخلصين الكحولي و القلويدي على نمو خلايا الخطوط الخلوية السرطانية HepG2 ، SK-GT2 و الخط الطبيعي WRL68 باستخدام اختبار 3-(4,5-dimethythiazol- 2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide MTT . اذ وجد ان لكلا المستخلصين سّمية خلوية على الانواع المختلفة من الخلايا السرطانية تعتمد درجة تأثيرهما على تركيزه و نوعي المستخلص و الخلايا . فمن ناحية

تأثير التركيز فقد وجد أنّ الفعالية المضادة للاورام تزداد مع ازدياد تركيز المستخلص . ومن ناحية اخرى نوع خلايا الخط السرطاني فقد وجد ان نسب تثبيط نموها بتأثير كل من المستخلصين تختلف باختلافهما، حيث كانت اقل نسبة تثبيط للمستخلص الكحولي هي 9.8% بتركيز 12.5 مكغم/مل واعلى نسبة هي 59.2% بتركيز 400 مكغم/مل لخلايا الخط السرطاني HepG2، اما خلايا الخط السرطاني SK-GT2 فكانت اقل نسبة تثبيط للمستخلص الكحولي هي 4.3% بتركيز 12.5 مكغم/مل واعلى نسبة هي 36.3% وبتركيز 400 مكغم/مل ، بالنسبة للخط الطبيعي WRL68 اقل نسبة تثبيط 3.07% بتركيز 12.5مكغم/مل ، اعلى نسبة تثبيط 28.11% بتركيز 400 مكغم/مل ، اما للمستخلص القلويدي كانت اقل نسبة تثبيط هي 30.4% بتركيز 12.5 مكغم/مل ، اعلى نسبة هي 65% وبتركيز 400 مكغم/مل لخلايا الخط السرطاني HepG2، اما خلايا الخط السرطاني SK-GT2 فكانت اقل نسبة تثبيط للمستخلص القلويدي هي 3.7% بتركيز 12.5 مكغم/مل ، اعلى نسبة هي 30.8% وبتركيز 400. مكغم/مل ، وللخط الطبيعي WRL68 اقل نسبة تثبيط 0.86% بتركيز 12.5 مكغم/مل و اعلى نسبة تثبيط 14.8% بتركيز 400 مكغم/مل. ومن خلال نتائج الاختبار السابق تم اختيار المستخلص القلويدي للدراسة في اختبار اخر على خلايا الخط السرطاني HepG2. فقد تم استخدام اختبار High Content Screening (HCS) لدراسة سّمية المستخلص القلويدي على خلايا الخط السرطاني HepG2 من خلال قياس التغيرات التي تحدث في بعض المؤشرات الخلوية والتي تشتمل على: نفاذية الخلية Cell permeability وعدد الخلايا Cell count والمحتوى النووي للخلايا Nuclear intensity ، نفاذية غشاء المايتوكوندريا Mitochondrial membrane potential MMP ، مستوى تحرر سايتوكروم سي Cytochrome C من الخلايا، ومن نتائج هذا الاختبار فقد لوحظ ان

للمستخلص القلويدي تأثيراً واضحاً على نفاذية الخلايا السرطانية بسبب الاضرار التي تحدث في الغشاء الخلوي للخلايا والمؤدية الى زيادة نفاذية الاغشية الخلوية ، و على المسارات الايضية للمايتوكوندريا داخل الخلية من خلال مراقبة التغيرات التي تحدث في نفاذية اغشية الماتوكوندريا وقياس مستوى تحرر السايتوكروم C، و كذلك على الكثافة النووية للخلايا السرطانية عند التركيز العالي400 مكغم/مل ، بينما لوحظ التأثير اقل على الخلايا عند التراكيز الأخرى 200,100 مكغم/مل.

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	الصفحة
	الاية القرآنية	I
	الاهداء	II
	الشكر والتقدير	III
	الخلاصة	IV
	قائمة المحتويات	VII
	قائمة الاشكال	XIV
	قائمة الجداول	XVI
	قائمة المختصرات	XVIII
	الفصل الاول : المقدمة	1
	الفصل الثاني : استعراض المراجع	3
1.2	الاورام السرطانية	3
2.2	انواع الاورام	3
1.2.2	الاورام الحميدة	3
2.2.2	الاورام الخبيثة	4

3.2	عملية التسرطن	5
1.3.2	مرحلة البدء	6
2.3.2	مرحلة التحفيز	6
3.3.2	مرحلة التقدم	7
4.2	الموت المبرمج للخلايا	7
5.2	علاج السرطان	9
1.5.2	العلاج الجراحي	10
2.5.2	العلاج الاشعاعي	10
3.5.2	العلاج الكيميائي	10
4.5.2	العلاج الاحيائي	11
1.4.5.2	العلاج المناعي	11
2.4.5.2	العلاج الجيني	11
6.2	المواد المضادة للنبيبات الدقيقة	12
7.2	الفعل الوقائي للنباتات الطبية من السرطان	14
8.2	الدور الواعد للنباتات الطبية في علاج السرطان	16
9.2	نبات السبحبح	17

1.9.2	تصنيف النبات	17
2.9.2	التسمية	18
3.9.2	الانتشار	18
4.9.2	الوصف	18
5.9.2	المركبات الفعالة في نبات السبحبح	19
6.9.2	الاهمية الطبية لنبات السبحبح	19
	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل	21
1.3	المواد	21
1.1.3	الاجهزة و الادوات	21
2.1.3	المواد الكيميائية و البيولوجية	23
3.1.3	العدة التشخيصية الجاهزة kit	23
2.3	جمع عينات النبات	23
3.3	تحضير المستخلصات	24
1.3.3	تحضير المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح	24
2.3.3	تحضير المستخلص القلويدي الخام لثمار نبات السبحبح	24
4.3	المحاليل والكواشف	25

1.4.3	الكشف الكيميائي التمهيدي لبعض المكونات الكيميائية في ثمار نبات السبحبح	25
5.3	المحاليل الخاصة باختبار السمية الخلوية على الخلايا اللمفاوية	26
1.5.3	الوسط الزرعي الكامل	26
2.5.3	مصل العجل الجنيني	27
3.5.3	الملزن النباتي	27
4.5.3	الكولجسين	27
5.5.3	محلول واطئ التوتر	27
6.5.3	المحلول المثبت	27
7.5.3	محلول دارئ سورنسن	27
8.5.3	ملون كمزا	28
9.5.3	جمع عينات الدم	28
10.5.3	تحضير الشرائح الزجاجية	28
6.3	دراسة تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصين الكحولي و القلويدي الخام في معامل الانقسام الخلوي في الخلايا	28

	اللمفاوية لدم الانسان	
7.3	محاليل وكواشف الزراعة الخلوية	30
1.7.3	بيكربونات الصوديوم	30
2.7.3	الوسط الزرعي	31
3.7.3	المحلول الملحي الفسيولوجي	31
4.7.3	محلول التربسين–فيرسين	31
8.3	خطوط الخلايا السرطانية المستخدمة	32
1.8.3	الخط الخلوي لسرطان الكبد في الانسان HepG2	32
2.8.3	الخط الخلوي لسرطان المرئ SK–GT2	32
3.8.3	الخط الخلوي الطبيعي لكبد الانسان WRL68	32
4.8.3	تنمية خلايا الخطوط الخلوية السرطانية HepG2 و SK–GT2 و الخط الطبيعي WRL68	32
9.3	اختبار MTT لفحص حيوية الخلايا	34
1.9.3	طريقة العمل	34
10.3	اختبار High Content Screening (HCS) لتقييم السمية الخلوية	34

1.10.3	تحضير المحاليل المستخدمة	36
2.10.3	طريقة العمل	37
11.3	التحليل الاحصائي	38
	الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	39
1.4	تحضير المستخلصات الخام لثمار نبات السبحبح	39
2.4	الكشف الكيميائي التمهيدي لبعض مركبات الايض الثانوي في مستخلصات نبات السبحبح	39
3.4	دراسة تأثير المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح و المركب القلويدي بوصفهما مواد محفزة او مضادة لانقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان	41
1.3.4	تأثير المستخلصات النباتية بوصفها مواد محفزة لانقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان	41
2.3.4	تأثير المستخلصات النباتية بوصفها مواد مضادة لانقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان	41
4.4	التأثير السمي للمستخلص الكحولي الخام و المستخلص القلويدي الخام للثمار الجافة لنبات السبحبح في نمو خطين من الخطوط السرطانية و خط طبيعي	47
1.4.4	تأثير المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح على خلايا الخطوط الخلوية السرطانية و الطبيعية	48

2.4.4	تأثير المستخلص القلويدي الخام لثمار نبات السبحبح على خلايا الخطوط الخلوية السرطانية و الطبيعية	52
5.4	تأثير المستخلص القلويدي لثمار نبات السبحبح على الخط السرطاني HepG2 باستخدام فحص High Content Screening (HCS)	61
	الاستنتاجات	68
	التوصيات	69
	المصادر العربية	70
	المصادر الاجنبية	72

□

قائمة الاشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1.2	عملية التسرطن بمراحلها الثلاثة	7
2.2	عملية الموت الخلوي المبرمج	9
3.2	نبات السبحبح	18
1.4	طور استوائي متوقف للخلايا اللمفاوية لدم الانسان عند استخدام التركيز 400 مكغم/مل للمستخلص الكحولي الخام (400X)	44
2.4	طور استوائي متوقف للخلايا اللمفاوية لدم الانسان عند استخدام التركيز 400 مكغم/مل للمستخلص القلويدي الخام (400X)	44
3.4	تأثير المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح على الخط الخلوي السرطاني HepG2 لفترة 24 ساعة و بدرجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	51
4.4	تأثير المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح على الخط الخلوي السرطاني SK-GT2 لفترة 24 ساعة و بدرجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	51
5.4	تأثير المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح على الخط الطبيعي WRL68 لفترة 24 ساعة و بدرجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	52
6.4	تأثير المستخلص القلويدي الخام لثمار نبات السبحبح على الخط الخلوي السرطاني HepG2 لفترة 24 ساعة و بدرجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	55
7.4	تأثير المستخلص القلويدي الخام لثمار نبات السبحبح على الخط الخلوي السرطاني SK-GT2 لفترة 24 ساعة و بدرجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	56

8.4	تأثير المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح على الخط الطبيعي WRL68 لفترة 24 ساعة و بدرجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	56
9.4	مقارنة بين خلايا HepG2 عند تركيز 400 مكغم/مل بعد 24 ساعة للمستخلص الكحولي و القلويدي لنبات السبحبح (400x)	57
10.4	مقارنة بين خلايا SK–GT2 عند تركيز 400 مكغم/مل بعد 24 ساعة للمستخلص الكحولي و القلويدي لنبات السبحبح (400x)	57
11.4	تأثير التراكيز المختلفة للمستخلص القلويدي على المحتوى النووي و نفاذية الاغشية الخلوية و نفاذية غشاء المايتوكوندريا و مستوى تحرر السايتوكروم سي لخلايا الخط السرطاني HepG2 بعد الحضن لمدة تعريض 24 ساعة و بدرجة حرارة 37مْ	64

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1.3	الأجهزة والأدوات.	21
2.3	المواد الكيميائية والبيولوجية	23
3.3	العدة التشخيصية الجاهزة	23
4.3	الوسط الزرعي.	31
5.3	مكونات العدة التشخيصية لاختبار HCS	35
6.3	تحضير المحاليل المستخدمة لاختبار HCS	36
1.4	الكشوفات الكيميائية لبعض المركبات الكيميائية في مستخلص ثمار نبات السبحبح	40
2.4	تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي والقلويدي الخام لثمار نبات السبحبح في دليل انقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان بدلالة الطور الاستوائي المتوقف	43
3.4	نسب التثبيط في الخط الخلوي السرطاني HepG2 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح لمدة تعريض 24 ساعة و درجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	49
4.4	نسب التثبيط في الخط الخلوي السرطاني SK-GT2 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح لمدة تعريض 24 ساعة و درجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	50
5.4	نسب التثبيط في الخط الطبيعي WRL68 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لثمار نبات السبحبح لمدة تعريض 24 ساعة و درجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	50

6.4	نسب التثبيط في الخط الخلوي السرطاني HepG2 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص القلويدي الخام لثمار نبات السبحبح لمدة تعريض 24 ساعة و درجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	54
7.4	نسب التثبيط في الخط الخلوي السرطاني SK-GT2 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص القلويدي الخام لثمار نبات السبحبح لمدة تعريض 24 ساعة و درجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	54
8.4	نسب التثبيط في الخط الطبيعي WRL68 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص القلويدي الخام لثمار نبات السبحبح لمدة تعريض 24 ساعة و درجة حرارة 37مْ باستخدام اختبار MTT	55
9.4	قيم المعالم الخلوية المستخدمة للكشف عن فعالية المستخلص القلويدي على خلايا الخط الخلوي HepG2 باستخدام جهاز HCS و لفترة 24 ساعة بدرجة حرارة 37مْ	63

قائمة المختصرات

A375	Skin cancer cells
A549	Lung cancer cells
AMN-3	Ahmed-Mohammad-Nahi-2003
Apaf-1	Apoptotic peptidase activating factor 1
ATM	Ataxia telagiectasia mutated
ATR	Ataxia telagiectasia related
Bax	BCL2-associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BCG	Bacillus Calmette-Guerin
BH3	Bcl-2 homology domain 3
caspase	cysteine-dependent aspartate-specific proteases
DMSO	Di methyl sulfoxide
DNA	Deoxyribose nucleic acid
ECM	Extra-cellular matrix
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FCS	Fetal Calf Serum
HCT-116	Human colon carcinoma

HCS	High Screening Content
Hela	Henrietta Lacks Cervix Carcinoma
Hep−2	Human Larynx epidermoid carcinoma
HepG2	Liver cancer cells
HL−60	Human leukemic cell line
IR	Inhibition rate
MCF−7	Human caucasian breast adenocarcinoma
MEM	Minimum Essential Media
MI	Mitotic Index
MMP	Mitochondrial membrane potential
M phase	Mitosis phase of the Cell Cycle
MTT	3−(4,5−dimethythiazol− 2−yl)−2,5−diphenyl tetrazolium bromide
PBS	Phosphate buffer saline
Pc3	Prostate cancer cell
PCD	Programmed Cell Death
PHA	phytohaemagglutinin

PTP	Permeability Transition Pore
RPMI	Rosswell Park Memorial Institute
SAS	Statistical analysis system
SFM	serum free media
SKGT2	Oesophagus cancer cells
SKOV-3	Human caucasian ovary adenocarcinoma
T47D	Human breast tumour
TCC	tubulin colchicines complex
TNF	Tumor Necrosis Factor
TNF-α	Tumor Necrosis Factor-α
TNFR-1	Tumor Necrosis Factor Receptor-1
T/V solution	Trypsin / Versene Solution
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WRL68	Liver normal cells

المقدمة Introduction

إنّ السرطان من المشاكل الصحية الرئيسة والكبرى في العالم، فهو من المسببات المهمة في زيادة حالات الوفيات بين الأطفال والبالغين، ينتشر على نحو كبير بين سكان العالم ، ويحتل المرتبة الثانية للأمراض بعد امراض القلب والشرايين. على الرغم من وجود العديد من العلاجات له كالعلاج الكيميائي والجراحي والفيزيائي لكنها لم تحقق النتائج المطلوبة ولها اضرار جانبية، لذلك اتجه الباحثون الى ايجاد طرق علاجية جديدة وبديلة من خلال استعمال المصادر الطبيعية كالنباتات والاعشاب الطبيعية الحاوية على كثير من المركبات الكيميائية ذات الفاعلية العالية في علاجه (Demark *et al.*,2015). ان استخدام المنتجات الطبيعية لاسيما النباتية منها لم يكن بالشيء الجديد على الانسان فقد استعملها منذ القدم اذ كان الاستطباب بالأعشاب من الامور المعروفة جيدا لدى العرب والاغريق والصينين في العالم القديم، وعند الهنود الحمر في العالم الحديث (Azaizeh *et al.*,2006).

تلعب المركبات المشتقة من النباتات دوراً مهماً في تطوير العديد من المواد المضادة للسرطان، ومنها المواد المستخدمة حاليا هي Taxol و Vinblastine وTopotecan وغيرها (Rajandeep *et al.*,2011) . ولقد اثبتت النباتات الطبية والمواد المشتقة منها فعاليتها في علاج السرطان، و تشكل خطورة اقل بأثارها الجانبية وامانها في العلاجات الدوائية للسرطان. وان الدراسات في وقتنا الحاضر لإيجاد علاج للسرطان تتجه نحو النباتات والمنتجات الطبيعية المشتقة منها وقد تم تحديد العديد منها كعوامل فعالة ضد السرطان (Om *et al.*,2013). هناك مالا يقل عن 250000 نوع من النباتات الطبية منها اكثر من 1000نبات يمتلك خواص مضادة للسرطان (Aggarwal and Shishodia, 2006). وكما ان أكثر من 50% من العقاقير المستخدمة في الوقت الحاضر هي من المنتجات الطبيعية التي لها قدرة السيطرة على الخلايا السرطانية من خلال تأثيرها على آليات الانقسام الخلوي او على مرحلة ما قبل الانقسام كتضاعف الدنا (Mohd *et al.*,2010).

تعد النباتات مصدراً مهما للمركبات الفعالة بايلوجياً و ان نسبة منها قد تم فحصها وتأصيلها لتكون مصدراً مهماً من المواد المضادة للسرطان (Dhanamani *et al.*,2011). وفي العراق تم الكشف عن عدد من المستخلصات النباتية التي تمتلك فعالية مضادة للسرطان

التي تعتمد بشكل اساس على تراكيز المستخلص ومدة التعريض ونوع الخلايا. فقد اشار (عبد الرضا، 2012) الى أنّ مستخلصات قشور الليمون تمتلك تأثيرا مثبطا لنمو الخطوط الخلوية السرطانية وقد يعود هذا التأثير الى احتوائها على الفلافونويدات والتربينات التي هي من المركبات الفعالة المضادة للأكسدة. كما وجد (سلمان و اخرون، 2014) بأن المستخلص المائي لنبات البربين *Portulaca oleracea* يمتلك فعالية تثبيطية لنمو خلايا الخط الخلوي السرطاني Hep-2 . ولقد اعطت تلك النتائج حافزا للبحث عن نباتات محلية اخرى التي ربما تكون ذات كفاءة عالية في التأثير على الخلايا السرطانية وتثبيط انقسامها، و تعتمد عليه المراكز العالمية للسرطان حول النباتات المحلية في بلدانهم. تعد عملية تثبيط نمو الخطوط الخلوية السرطانية خارج جسم الكائن الحي الخطوة الاولى في استخدام هذه النباتات في علاج السرطان. تأتي هذه الدراسة ضمن اطار الدراسات المذكورة اعلاه وذلك من خلال قدرة ثمار نبات السبحبح على تثبيط نمو الخلايا السرطانية.

اهداف الدراسة

1. استخلاص القلويدات من ثمار نبات السبحبح *Melia azedarach*.
2. استخدام المستخلصات الكحولية و القلويدية في ايقاف نمو الخلايا اللمفاوية لدم الانسان في الطور الاستوائي ومقارنتها بالكولجسين.
3. التحري عن السمية الخلوية للمستخلصين الكحولي و القلويدي لثمار نبات السبحبح خارج الجسم الحي *in vitro* على نوعين من الخطوط الخلوية وهي خط خلايا سرطان الكبد HepG-2 وخلايا سرطان المريء SK-GT2 و الخط الطبيعي WRL68 باستخدام اختبار MTT .
4. الكشف عن تأثير المستخلص القلويدي على خلايا الخط الخلوي السرطاني HepG-2 باستخدام اختبار High Content Screening (HCS) و دراسة المؤشرات الخلوية التي يتم بها التثبيط .