

تأثير الفلافونيدات على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية خارج الجسم الحي

أسراء صكر سلمان*، ناهي يوسف ياسين**، ايسر عايد احمد**، مائدة حسين**، زهراء رافع طه*، هبة كريم شاكر**، ايمن علي حسن**

* كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد
** المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية / الجامعة المستنصرية

الخلاصة:

تهدف هذه الدراسة الى معرفة التأثير التثبيطي لحبوب نبات الكلغان *Silybum marianum* في اثنتين من الخطوط الخلوية السرطانية، هما خلايا سرطان الدماغ (AMGM) وخط سرطان عنق الرحم البشري (Hela)، وفي خط طبيعي واحد لجنين الفئران (MEF)، حيث استخدمت خمسة تراكيز من المستخلص الفلافونويدي وهي (62.5, 125, 250, 500, 1000) مايكروغرام / مليلتر وبواقع مدتين تعريض هي (48, 24) ساعة للخطوط السرطانية ومدة تعريض واحدة (48) ساعة للخط الخلوي الطبيعي. بينت النتائج ان للمستخلص الفلافونويدي تأثير تثبيطي في الخطوط الخلوية السرطانية (AMGM, Hela) وبفرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في التركيز العالي (1000) مايكروغرام / مليلتر، فقد كان معدل الكثافة الخلوية (امتصاصية الخلايا) للخط AMGM (0.052) اي بنسبة تثبيط (39%) ومقارنة مع السيطرة لمدة تعريض 24 ساعة في حين كان معدل الكثافة الخلوية عند مدة التعريض 48 ساعة (0.051) اي بنسبة تثبيط 94% مقارنة مع السيطرة. اما للخط الخلوي السرطاني Hela فقد كان معدل الكثافة الخلوية 0.059 و 0.06 اي بنسبة تثبيط 85.7% و 86% عند مدتي التعريض 24 و 48 ساعة على التوالي مقارنة بالسيطرة. لم يظهر تأثير معنوي واضح للتراكيز المستخدمة سابقاً في الخط الخلوي الطبيعي عدا التركيز العالي، حيث بلغت معدل كثافة خلايا للخط (0.23) MEF اي بنسبة تثبيط (34%). تشير نتائج هذه الدراسة الى الفعالية التثبيطية العالية للمستخلص الفلافونويدي لنبات الكلغان على معدل الكثافة الخلوية للخلايا السرطانية AMGM و Hela.

المقدمة:

وسرطان الرئة (8 H460 – NCL). ومن اهم المركبات الفلافونويدية الاخرى الموجودة في النباتات وهي Apigenin و quercetin و Kaempferol و Genistein. فقد تلعب دور مهم في تثبيط الخطوط السرطانية خارج الجسم الحي مثل سرطان الرئة PMC42 من خلال تثبيط وتوقف انقسام الخلايا (Antiproliferatio) (9). وكذلك تعمل هذه المركبات على تثبيط الخطوط الخلوية السرطانية البروستات LNCaP وسرطان الرئة MB-231 من خلال دخول الخلايا نحو الموت المبرمج (Apoptosis) (10). ومن المركبات المهمة والاخرى للفلافونيدات هي مركبات الـ Taxifolin الذي تعمل على تثبيط الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي لسرطان القولون الشرجي للأنسان (Caco – 2 cell line) (11).

Corresponding Address:

Maeda H. Mohammad

Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research/
AL-Mustansiriyah University

Email: maida_1979@yahoo.com

الفلافونيدات Flavonoids هي مجموعة المركبات الفعالة المعزولة من حبوب نبات الكلغان (*Silybum marianum* L.) (Gaertn) (1). تحوي الفلافونيدات على انواع كثيرة من اهمها الـ Flavolignan او ما يسمى بالسليمارين Silymarin الذي يعد من اهم مركبات الفلافونويدية من الناحية الطبيعية (2). وفي اختبار الـ HPLC الذي اجراه كل من (Hasanloo and Radjabian) ان السليمارين يحوي على 4 ايزوميرات مهمة وهي الـ Silybin بنسبة 50 – 60% والـ Isosilybin بنسبة 5% و Silychristin بنسبة 20% وأخيراً الـ Silydianin بنسبة 10%، وكذلك يحوي الفلافونويد على مركبات اخرى وهي الـ Taxifolin و الـ quercetin و Apigenin و (5) Kaempferol. تلعب الفلافونيدات دور كبير في المجال الطبي فقد استخدمت في علاج الاورام السرطانية وكذلك في علاج الكبد وازالة السموم (6 و 7). كذلك كمضاد للأكسدة Antioxidant وفي تثبيط الخطوط الخلوية السرطانية مثل الخط الخلوي السرطاني لسرطان الثدي ABCG-2

وتم متابعة الخطوط الخلوية يومياً للتأكد من خلوها من اي تلوث ، وان الخلايا بحالة جيدة وذلك بفحصها بواسطة مجهر مقلوب الطور Phase inverted contrast microscob . وكانت الخلايا جاهزة للاستعمال عندما تتكون عدة طبقات من الخلايا Over growth .

• اختبار سمية المستخلص الفلافونيدي لحبوب نبات الكلغان *Silybum*

malianum في هو الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية . حضرت خمسة تراكيز مخففه وفقاً (من المستخلص وكالاتي : 500, 1000 , 250, 125 , 62.5 , 20 mg/ml) واستخدمت انياً . جهاز عالق الخلايا عن طريق معاملة وعاء الزرع النسيجي حجم 25 سم بمحلول التريسين / تريسين المعقم (20 مل من محلول التريسين 10ml BPS: 100ml محلول الفريسين).

ثم مزج عالق الخلايا جيداً وتم نقل 0.2 الى صفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذو القعر المسطح بأستعمال ماصة اوتوماتيكية دقيقة ، تركت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م لمدة الى حيث التصاق الخلايا في الحفرة . تم التخلص من الوسط القديم في الحفرة ، واضيف 0.2ml من التراكيز المحضرة سابقاً من المستخلص وبواقع 3 مكررات لكل تركيز ، فضلاً عن مكررات السيطرة (وسط زرع فقط) .

حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م . بعد مرور مدة التعريض المحدد للحضن (24 ، 48) ساعة للخطين السرطانيه Hela و AMGM و 48 ساعة للخط الخلوي الطبيعي MEF اخرج الطباق من الحاضنة وأزيل الوسط الزرع اضيف له محلول صبغة البنفسج البلوري (1 D.W 200 : 50 ml formalin : 50 ml methanol) للحفر الخلوية على الخلايا جميعاً وبحجم 0.2 مايكروليتر وغسلت الخلايا بالماء المقطر لحين زوال الصبغة ، ثم تجفف الاطباق لتهيئتها للقراءة بواسطة جهاز الاليزا بطول موجي 492 نانوميتر .

يتم تحويل قيم التأثير السمي للمستخلص لنبات الكلغان في الخوط الخلوية الى النسب المئوية ووفق الشكل الاتي : النسبة المئوية لحيوية الخلايا = قراءة امتصاصية الخلايا المعاملة لكل تركيز / خلايا السيطرة * 1000

• التحليل الاحصائي : اجري تحليل البيانات بأستعمال جدول تحليل ANova table وطريقة one way classification وجري اختبار المتوسطات بأستعمال LSD h, lhdsln hojfhv T-test البرنامج الاحصائي SAS لتحليل البيانات (17).

وكذلك يعمل الـ Silbinin من اهم الازوميرات الموجود في مركبات السليمارين و يعمل على تثبيط الخطوط الخلوية السرطانية لسرطان البروستات PC-3 خارج الجسم الحي (12) .

المواد وطرائق العمل:

• جمع النباتات وتحضير المستخلص النباتي : جمعت حبوب نبات الكلغان من حدائق جامعت بغداد / الجادرية في شهر اذار و نيسان 2009 ، جفت الحبوب وطحنت بواسطة جهاز الطحن . جرى تحضير المستخلص الفلافونيدي بأستخدام طريقة (13) (بوزن 20 غم من المسحوق النباتي واضيف له 300 ملتر من البتروليوم ايثر ووضع في جهاز السكسوليت لمدة 14 ساعة بدرجة حرارة 60 درجة مئوية ، بعدها يتم فصل الزيت عن المستخلص المراد استخلاصه . وما تبقى من المستخلص يوضع في جهاز السيكلوليت ويضاف له 300 ملتر ميثانول ويترك لمدة 18 ساعة بدرجة حرارة 80 م للحصول على الفلافونويد بتخفيف المستخلص والتخلص من المذيب بدرجة 50 م .

تم اختبار TLC في مختبر النباتات الطبية / قسم علوم الحياة / كلية العلوم للنبات للمستخلص مع الفلافونويد القياسي Stander كما هو موضح في الصورة 1 .

اذيب 0.01 غم من المستخلص الجاف في 0.2 مل من المركب Dimethyl ether sulphoxid ويكمل الى 10 مل من الوسط الزراعي RPMI-1640 الخالي من المصل Sorum free media ، وخففا بأستخدام المحلول نفسه وعقم من خلال ترشيحه بورق الترشيح واطمان 1 ، ثم اعيد ترشيحه بورق ترشيح Nalgen filter ذات الثقوب السبعة 0.22um

• تأثيرالمستخلصالفلافونيدي *Flavonoids* لحبوب نبات الكلغان *silubum marianum* في هو الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية في المختبر .

• تهيئة الخطوط الخلوية : لقد تم الحصول على ثلاث خطوط خلوية وهي : الخط الخلوي السرطاني لسرطان الدماغ AMGM (التمريره 33) والخط الخلوي السرطاني لسرطان عنق الرحم Hella cell (التمريره 232) ، والخط الخلوي الطبيعي لجنين الفأر MEF (التمريره 2) من المركز العراقي لبحوث السرطان .

الوراثة الطبيعية / الجامعة المستنصرية . ثم عمل المزارع الثانوية لكل خط خلوي وتحت ظروف معقمة وحسب طريقة (14)



صورة (1) توضح اختبار TLC للمستخلص الفلافونيدي لحبوب الكلغان ومقارنته مع المركب القياسي

النتائج:

62.5 - وبينت النتائج أعلى التراكيز العالية كانت أكثر سميةً وتنشيطاً في التراكيز العالية لمدتي التعريض 24 و 48 ساعة وبفرق معنوي بمستوى احتمالية $P \leq 0.05$ بالمقارنة مع السيطرة.

ولم يظهر تباين في التأثير السمي فيما بين التراكيز المستخدمة ومدة التعريض وبدلالة معنوية بمستوى احتمالية $P \leq 0.05$ الجدول 1 وهذه الحالة تسمى بظاهرة Dose and Time dependant أي كلما زاد التركيز ومدة التعريض تزداد نسبة تثبيط الخلايا.

تأثير الفلافونويدي على الخطوط الخلوية السرطانية (AMGM, Hela) خلال مدتي التعريض 24 و 48 ساعة
ظهر التأثير السمي للمستخلص الفلافونويدي في الخط الخلوي السرطاني AMGM لجمع التراكيز المستخدمة من التركيز $1000 \mu\text{g}$

جدول (1) التأثير السمي لتراكيز مختلفة من المستخلص الفلافونويدي لحبوب نبات الكلغان في خط خلايا سرطان الدماغ AMGM لمدتي التعريض 24 و 48 ساعة

التركيز $\mu\text{g/ml}$	امتصاصية الخلايا للخط الخلوي السرطاني AMGM (المتوسطات $\pm$ الخطأ القياسي)	24 ساعة	48 ساعة
0	0.008 $\pm$ 0.086 ab A	0.01 $\pm$ 0.85 aA	
1000	0.002 $\pm$ 0.052 CA	0.003 $\pm$ 0.051 bA	
500	0.003 $\pm$ 0.062 abc A	0.002 $\pm$ 0.055 bA	
250	0.001 $\pm$ 0.081 bcA	0.002 $\pm$ 0.058 bB	
125	0.083 $\pm$ 0.002 bcA	0.060 $\pm$ 0.002 dB	
62.5	0.006 $\pm$ 0.79 aA	0.01 $\pm$ 0.065 dA	

الحروف الكبيرة المختلفة أفقياً □ تشير الى وجود اختلافات بين فترات بمستوى احتمال $P \leq 0.01$ اما الحروف الصغيره المختلفة تشير الى وجود اختلافات بين المعاملات والسيطره بمستوى احتمالية $P \leq 0.01$

اما بالنسبة الى الخط الخلوي السرطاني Hela ايضاً اعتمد التأثير السمي على زيادة مدة التعريض ، كلما زادت مدة التعريض زادت نسبة التثبيط كذلك بينت النتائج ان التراكيز الواطئة $62.5 \mu\text{g ml}$ كانت أكثر نسبة تثبيط للخلايا من التراكيز العالية المستخدمة $1000 \mu\text{g/ml}$ لمدتي التعريض 24, 48 ساعة وبفرق معنوي بمستوى احتمالية $P \leq 0.05$ بالمقارنة مع السيطرة (الجدول 2).

جدول (2) التأثير السمي لتراكيز مختلفة من المستخلص الفلافونويدي لحبوب نبات الكلغان في خط خلايا سرطان عنق الرحم Hala cell لمدتي التعريض 24 و 48 ساعة

التركيز $\mu\text{g/ml}$	امتصاصية الخلايا للخط الخلوي السرطاني Hela (المتوسطات $\pm$ الخطأ القياسي)	24 ساعة	48 ساعة
0	0.007 $\pm$ 0.479 aA	0.02 $\pm$ 0.41 aA	
1000	0.009 $\pm$ 0.15 bA	0.01 $\pm$ 0.23 bA	
500	0.03 $\pm$ 0.27 bA	0.02 $\pm$ 0.31 bA	
250	0.01 $\pm$ 0.24 aA	0.01 $\pm$ 0.32 bA	
125	0.169 $\pm$ 0.02 aA	0.139 $\pm$ 0.01 bB	
62.5	0.24 $\pm$ 0.059 aA	0.003 $\pm$ 0.06 Ab A	

الحروف الكبيرة المختلفة أفقياً □ تشير الى وجود اختلافات بين فترات بمستوى احتمال $P \leq 0.01$ اما الحروف الصغيره المختلفة تشير الى وجود اختلافات بين المعاملات والسيطره بمستوى احتمالية $P \leq 0.01$

لها 43% وبنسبة حيوية الخلايا 66% اما بقية التراكيز المستخدمة فقد كانت نسبة التنشيط واطنة جداً ، كما لم يظهر تباين في التراكيز السمي فيما بينت التراكيز المستخدمة والسيطرة عدا التراكيز العالي 1000µg/ml وبدلالة معنوية بمستوى احتمالية $P \leq 0.05$.

التأثير السمي لتراكيز مختلفة من المستخلص الفلافونويدي في الخط الخلوي الطبيعي **MEF** لم يظهر اي تأثير سمي عالي للمستخلص في الخط الخلوي الطبيعي عدا التركيز العالي المستخدم 1000mg/ml ، فقد وصلت اعلى نسبة تنشيط

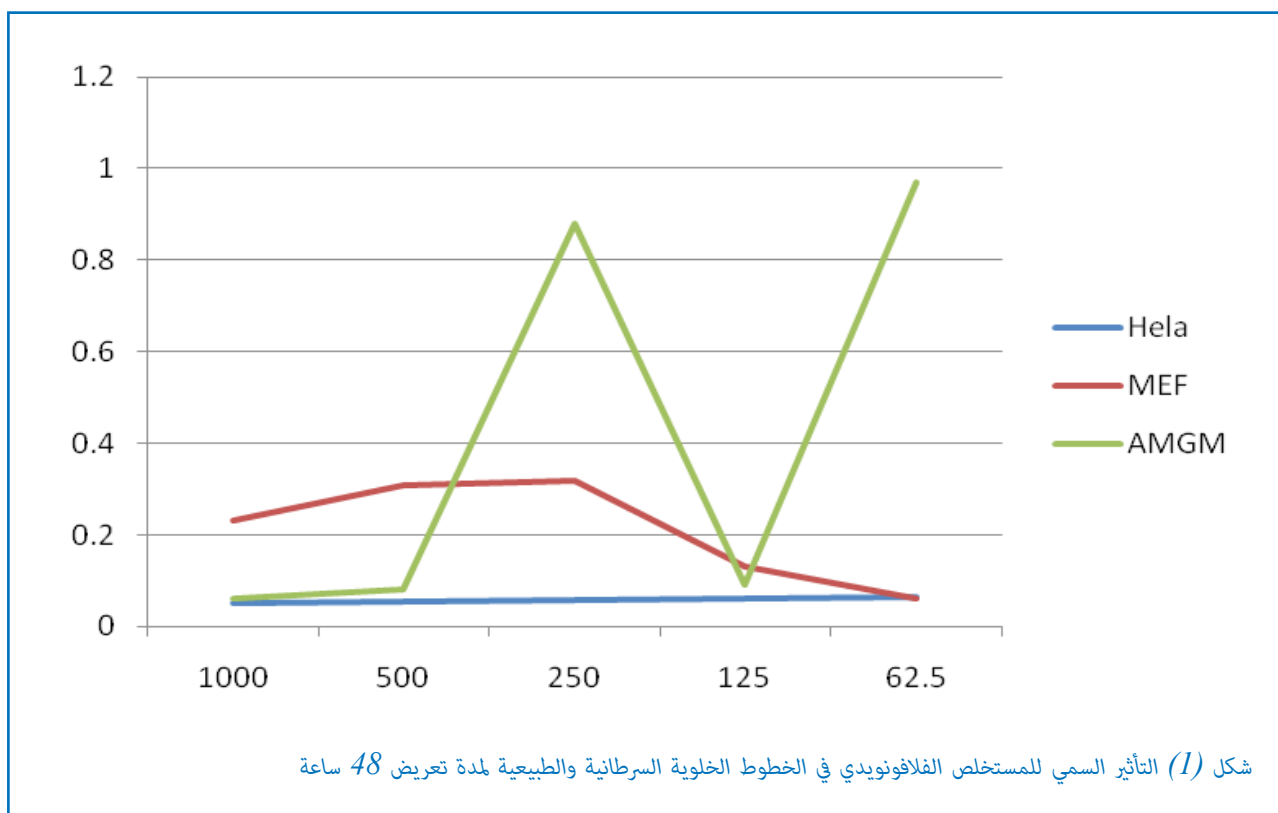
جدول (3) التأثير السمي لتراكيز مختلفة من المستخلص الفلافونويدي لحبوب نبات الكلغان في الخط الخلوي الطبيعي **MEF** لمدة التعريض 48 ساعة

امتصاصية الخلايا للخط الخلوي الطبيعي MEF (المتوسطات $\pm$ الخطأ الفياسي) التراكيز µg/ml					
62.5	125	250	500	1000	0
0.97±0.01 a	0.099±0.006 a	0.88±0.003 Ab	0.086±0.003 Ab	0.06±0.003 B	0.11±0.005 A

الحروف المختلفة تشير الى وجود اختلافات بين المعاملات والسيطره بمستوى احتمالية $P \leq 0.01$

فروق معنوية عالية عند التراكيز الواطنة 62.5 – 125 µg/ml فقد كانت نسبة التنشيط تتراوح بين 66-93% . اما الخط الخلوي الطبيعي، فلم يظهر تأثير سمي واضح على التراكيز المستخدمة عدا التركيز العالي فقط 1000 mg/ml فقد وصلت فيه نسبة التنشيط 34% بينما التراكيز الاخرى فقد كانت نسبة التنشيط واطنة مقارنة مع الخطوط الخلوية السرطانية الاخرى بمستوى احتمالية $P \leq 0.05$ ، الشكل (1) من خلال المقارنة ما بين الخطوط الخلوية الثلاثة ، ان اكثر الخطوط سمياً وتنشيطاً هو الخط الخلوي السرطاني **Hela** يليه الخط الخلوي السرطاني **AMGM** وأقلهم تنشيطاً وتأثيراً هو الخط الخلوي الطبيعي **MEF** .

المقارنة بين الخطوط الخلوية السرطانية (**Hela** , **AMGM**) والخط الخلوي الطبيعي (**MEF**) لمدة التعريض 48 ساعة اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية $P \leq 0.05$ للمستخلص في نمو الخطوط الخلوية السرطانية **AMGM** و **Hela** والخط الخلوي الطبيعي **MEF** خلال مدة التعريض 48 ساعة. عند المقارنة بين الخطوط الخلوية الثلاثة (**Hela** , **MEF** , **AMGM**) اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين الخطوط الخلوية في حين شدة التأثير السمي ، فكان التأثير واضح على الخط الخلوي السرطاني **AMGM** عند التراكيز المستخدمة جميعاً وخاصة التراكيز العالية اما الخط الخلوي السرطاني **Hela** فقد اظهرت النتائج وجود



عند حضن المستخلص لمدة 48 ساعة لوحظ تفجي الساييتوبلازم وحدوث تنخر في الخلايا Necrosis وقلة في عدد الخلايا بظهور فراغات واسعة بين طبقة الخلايا الاحادية لكلا الخطين السرطانيين (الصورة 3 و 5).

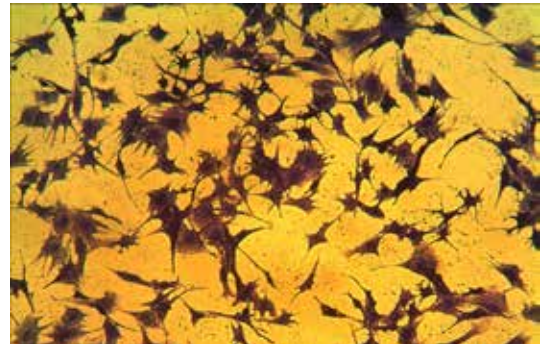
بينما عند حضن الخلايا الطبيعية MEF بالمستخلص لوحظ تأثر الخلايا بشكل بسيط بظهور قلة في عدد الخلايا (الصورة 7).

: Cytological examination

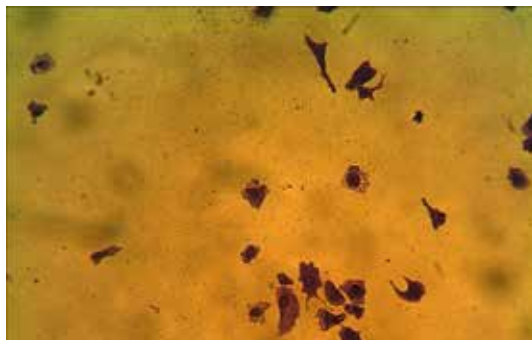
أظهرت خلايا السيطرة السرطانية والطبيعية غير المعرضة محافظة على شكلها الخلوي المتغاير Cellular pleomorphsim يسود الشكل الطلاني متعدد الاضلاع فيها epithelial polygonal cell للخط الخلوي السرطاني Hela و الشكل النجمي للخط الخلوي السرطاني AMGM والشكل المغزلي الشبيه بمولد الالياف Fibroblast للخط الخلوي الطبيعي MEF (الصورة 2 و 4 و 6).



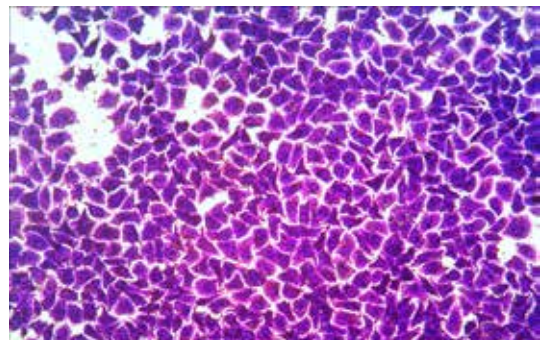
صورة (3) تمثل الطبقة غير الاحادية لخط خلايا سرطان الدماغ تتميز بتنخر الخلايا وفقدان التصاق الخلايا وقلة في عددها لمدة 48 ساعة (Crystal violet 100x)



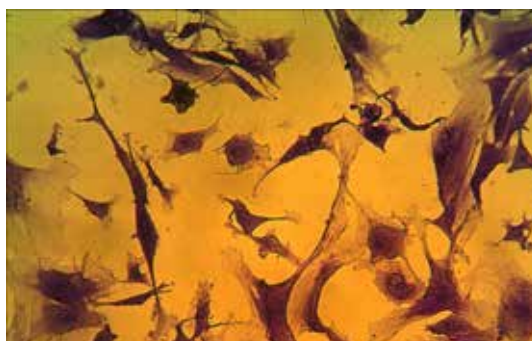
صورة (2) الطبقة الاحادية الكاملة لخط خلايا سرطان الدماغ غير المعرضة للمستخلص (السيطرة) (Crystal violet 100x)



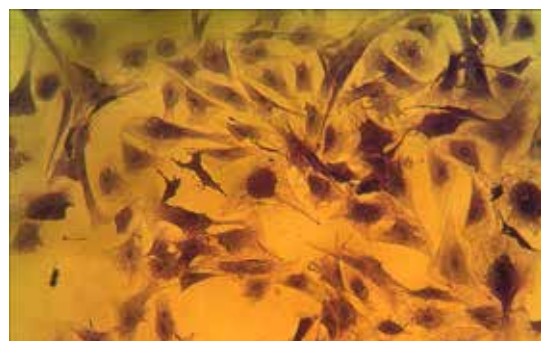
صورة (5) تمثل الطبقة غير الاحادية لخط خلايا Hela تتميز بتفجي الساييتوبلازم وفقدان (قلة كبيرة في عدد الخلايا لمدة 48 ساعة) (Crystal violet 100x)



صورة (4) الطبقة الاحادية الكاملة لخط خلايا Hela غير المعرضة للمستخلص (السيطرة) (Crystal violet 100x)



صورة (7) تمثل الطبقة غير الاحادية لخط خلايا MEF فقط في قلة بسيطة في عدد الخلايا لمدة 48 ساعة (Crystal violet 100x)



صورة (6) الطبقة الاحادية الكاملة لخط خلايا MEF غير المعرضة للمستخلص (السيطرة) (Crystal violet 100x)

المناقشة :

كذلك وجدت فعالية مضادة للسرطان ومضاد للاكسدة لمركب السيلمارين Silymarin المعزولة وحبوب الكلغان وايزوميرات (Silibinin , Silyshristn, Silydiam , isosilybin الخطوط السرطانية لسرطان البروستات LNCap و سرطان الثدي MCF و سرطان الرئة A5u9 و سرطان الدم Leukemia KS62 وسرطان الكبد (21 hepatoma HuH7 cells).

كما وجدت فعالية مضادة للسرطان من خلال حث الخلايا نحو الموت المبرمج وتوقف دورة الخلية بمرحلة G1 وتثبيط نمو للخطين الخلوي السرطانيين لسرطان البروستات LNCaP و 22RV1 cells ايزوميرات المركب الفلافونويدي Silymarin وهي Isosilybin B & A وذلك عند استخدام التراكيز $10-9\mu\text{m}$ ولمدة تعريض 48,24 ساعة ، حيث اعتمد التأثير السمي على الجرعة والوقت في التثبيط اي بزيادة مدة التعريض وشدة التركيز تزداد نسبة تثبي الخلايا المعاملة (22). كما يعمل مركب ال Silibinin على حث خلايا سرطان الكبد Hepatocellular و سرطان الثدي Bcrp , Abcg2 نحو الموت المبرمج وتثبيط الاوعية الدموية الجديدة Angiogenesis التي تغذي الاورام السرطانية وذلك عند استخدام التراكيز 10-180 مايكرومولاري (23 Micromolar).

كما تعمل بعض انواع الفلافونويدات الاخرى مثل quercetin LNCap cells على حث خلايا سرطان البروستات LNCap cells نحو الموت المبرمج وتثبيط نحو الخلايا وذلك عند استخدام المسخلص بتركيز مختلفة واكثرها تثبيطاً التركيز 10 (SOmM).

كما ان فعالية مركب ال quercetin الذي يعمل كمضاد للسرطان للخطين الخلويين السرطانيين (Mcf-7) Two- human breast adenocarcinome cell lines ZR-72-1 وذلك عند استخدام بتركيز $50\mu\text{m}$ ولمدة تعريض 2 و 4 و 6 و 8 ساعة (24). وكذلك في دراسة السمية الخلوية لمركب Taxifolin احد مركبات الفلافونويد في الخط الخلوي السرطاني لسرطان القولون Caco-2 لمدة 48 ساعة ويتراكيز تتراوح بين 200-1000um اذ يعمل هذا المركب في تثبي نمو وتكاثر الخط الخلوي السرطاني (11).

اوضحت النتائج ظهور تأثيرات سمية عالية ولجميع التراكيز المستخدمة ولكلا فترتي الحضان (24,48) ساعة. للخطين Hela , AMGM , عند استخدام التراكيز العالية بالنسبة للخط الخلوي السرطاني لسرطان الدماغ فقد اعتمد التأثير التثبيطي على عامل الوقت والجرعة اي كلما زاد التركيز والوقت زادت نسبو تثبيط الخلايا هذه الظاهرة سميت بظاهرة الاعتماد على الجرعة والوقت Dose and Time dependant phenomenon فقد وجد ان مركب السيلمارين احد المركبات الفلافونويدية له تأثير واضح في الخط الخلوي السرطاني Lymphoma 4-939 فقد اعتمد التأثير على عامل الوقت والتركيز (18). بينما عند الخط الخلوي السرطاني Hela فقد اعتمد التأثير السمي على عامل الوقت فقط اي بزيادة مدة التعريض يزداد التأثير السمي كما لوحظ عند هذا الخط ان التراكيز الواطنة اكثر سميتا من التراكيز العالية قد يعود السبب الى تحرر مركبات معينة عند تخفيف التراكيز قد يكون لها تأثير تثبيطي عالي (19).

كما فسر (19) ان المستخلص الزيتي لحبوب الكلغان في الخطوط الخلوية السرطانية لسرطان الحجرة hep-2 والغدة اللبنية AMN-3 وسرطان العظمى البشري RD ان الجرعات الواطنة كانت لها تأثير سمي واضح اضافة الى ذلك عامل الوقت الذي كان له تأثير واضح حيث يلاحظ عند زيارة وقت تعريض الخلايا للمستخلص تزداد نسبة التثبيط كما وجد (20) في دراستهم للتأثير التثبيطي لمركب ال Silymarin المعزولة من حبوب نبات الكلغان في الخط الخلوي السرطاني (Preneoplastic epidermal cell line) JB694 اعتمد التأثير السمي على مدة التعريض Time exposure وربما تعزى الفعالية السامة للمستخلص الفلافونويدي لنبات الكلغان في الخطين المستخدمين في التجربة الى احتواء النبات على عدد مركبات فلافونويدي ومنها Silymarin و الـ Silibinin و quercetin و Kaempferol و Apvgeni و genesitin وغيرها من المركبات الفلافونويدي التي اثبتت عدة ابحاث فعاليتها المضادة للأورام وللألتهايات والاكسدة (5).

المصادر:

- Wanger, H. ; Seligman, O. ; Horhammer, L. and Munster, R. 1968. the chemistry of silymarin (silybin) , the active principle of the fruit of silybum marianum (L.) Gaertn . (Carduns marianus) (L.) Arzneimittelforsch. 18 , 688-696.
- Wanger, H. ; Diesel, P. and Seitz, M. 1974. chemistry and Analysis of silymarin from silym marianum (L.) Gaertn. Arzneimittelforsch. 24 , 466-471.
- Hasanloo, T. and Kharari - Nejab, A.R. 2005. Analysis of flavonolignans in dried fruits of silybum marianum (L.) Gaertn from Iran . Journal of biological sciences , 8 (12) : 1778-1782.
- Radjabian, T. Rezaadeh, SH . and Huseini, F. 2008. Analysis of silymarin components in the seed extracts of some milk thistle ecotypes from Iran by HPLC. Iranian Journal of science and technology , 32 (2) : 141-146.
- Tumova, J. ; Rimakova, J. and Dusek, J. 2006 . Silybum marianum in vitro - Flavonolignan production . plant soil environ , 52(10) : 454-458 .
- Birt, D. F. ; Hendrich, S. and Wang, W. 2001 . Dietary agents in cancer prevention : Flavonoid and isoflavonoids . J. pharmacology and therapeutics , 90 . 157 - 177.
- Hadaruga, D. I. and Hadaruga, N. G. 2009 . Antioxidant activity of hepatoprotective Silymarin and Silybum marianum L. Extract. Chem. Bull . 54 (68) , 2 : 104 - 107.
- Zhang, S. ; Yang, X. and Morris, M. E. 2004. Flavonoids are inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2) - Mediated transport . Mol pharmacol . 65(5) : 1208 - 1216.
- Ackland, ML. ; Vande, W.S. and Jones, R. 2005 . Synergistic antiproliferative of the flavonols quercetin and kaempferol cultured human cancer cell lines . PMID . 19 (1) : 69 - 76.
- Brusselman, K. ; Vorlix, R. ; Verhoeven, G. and Swinnen, J. V. 2005 . Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity . Journal of Biological chemistry , 250 (7) . pp 5636 - 5645.
- Wang, X. ; Meng, M. Gao ; L. ; Liu, T. and Zeng, Q.X. 2009. permeation of estibin and Taxifolin in CaCo-2 cell and their effects on the P-gP Journal of pharmaceuticals 378(1):8.
- Moktari, MJ. ; Motamed, N. and Shokrozar, MA. 2008. Evaluation of Silibinin on the viability, Migration of Adhesion of the human prostate adeno carcinoma (Pc-3) cell line , cell Biol . Int . 32 (8) : 888-892.
- Omidbaigi, R. and Nobakht, A. 2001. Nitrogen fertilizer affecting growth, seed yield and active substances of milk Thistle (Silybum marianum) Journal of biological sciences 4 (11) : 1345 - 1349 . edited by Varma . 1980.

14. Freshney, R. I. 2000 . Culture of animal cells : A manual for basic technique (4th ed) . Wiley – lasso A John wiley and sons , Inc . publication , New york , PP. 566.
15. Abdul – Majeed , M. R. 2000. Induction and characterization of SU – gy Plasmacytoma cell lines and its effect on mice immune response , Ph. D. Tn – Nahrain . University .
16. Betancur , G.L. A. ; Saez , J. ; Granados , H. ; Salazar , A . and Ossa , J. E. 1999 . Antitumor and antiviral activity of colombiam medicinal plant extract . Men . Inst . Oswaldo erez , 94 :531 – 535.
17. SAS , Statistical Analysis system , Users Guide . Statistical version 7th ed SAS . Inst . Inc . Carj . N. C. USA , 2004 .
18. Katiyar, S. K. Anshu, M. R. and Manjeshwar, S. B. 2005 Silymarin induces apoptosis primarily through a P53- dependent pathway involving Bcl-2/, cytochrome C release caspase activation. Mol cancer. 4:207-216.
19. Silybum marianum ، اسراء صكر . 2008. تأثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغان على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية . رسالة ماجستير ، كلية
- العراق . العلوم للبنات ، جامعة بغداد ، العراق .
20. Katiyar, S. k. 2005 . Silymarin and skin cancer prevention anti – inflammatory , antioxidant and immunodautory effect > Inc . J . Oncol , 26 : 169 – 176.
21. Rammasamy , K. and Agarwal , R. 2008 . Multitargeted tlerapy of cancer by silymarin . cancer letters 269 . 352-362.
22. Deep , G. ; Oberlies , N. H. ; Kroll , D. J. and Agarwal , R. 2007 . Isosilybin B and isosilybin A inhibit growth , induce G1 arrest and cause apoptosis in human prostate cancer LNCaP and 22Rv1 cells. Carcinogenesis 28.7. 1533-1542.
23. Lah , J. J. ; Cui , W. and Hu , K- Q . 2007 . Effect and mechanisms of silibinin on human hepatoma cell lines . J. Gastrentat , 28 , 13 (40) : 5299 – 5305 .
24. Soria , E. A. ; Eynard , A. R. ; Quiroga , P. L. and Bongivanni G. A. 2007 . Differential effects of qurrcetin and Silymarin on arsenite – induced cytotoxicity in two human breast adenocarcinoma cell lines . life sciences . inc . 81 . 1397 – 1402 .

The Effect of Flavonoids on Cancer and Normal Cell Lines *invitro*

Isra'a S. Salmman*, Nahi Y. Yaseen**, Aesar A. Ahmed**, Maeda H. Mohammad**, Zahraa R. Taha*, Hiba K. Shaker**, Ayman A. Hassan**

*College of Science for woman / Baghdad University

**Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research/ AL-Mustansiriya University

Abstract :

This study was aimed to know the inhibitory effect of the flavonoid extract of Silybum marianum seeds on two of the cancer cell lines , human brain carcinoma(AMGM), human cervix uteri epitheloid carcinoma (Hela) and one normal cell line , Mouse embryonic fibroblast cell line (MEF). The concentration was (1000,500,250,125,62.5) µg/ml respectively with two exposure time (24 & 48) hours for the cancer cell lines and one exposure time (48) hr. for the normal one .

The results showed that flavonoids extract has obvious inhibitory effect on (human brain carcinoma & Hela) with (P<0.05) significantly in high concentration (1000) µg/ml the cellular density (obsorption) of human brain carcinoma was (0.052) with inhibitory ratio (39%) compared with control , At 48 hours exposure the density was (0.051) with inhibitory ratio (94%) compared with control , whereas the density in Hela was (0.059, 0.06) with inhibitory ratio 85.7% and 86% respectively at 24 and 48 hr. exposure .

While the normal cell line showed no signification effect (P<0.05) for all brevous concentration except the high one (1000) µg/ml , whereas the density of MEF was (0.23), with inhibitory effect (34%) .

The result of this study has indicated ahighest inhibitory activity of the cancer cell lines for both AMGM & Hela .