

تأثير مستخلصات نبات السقومانيا *Convolvulus Scammonia* في الانقسام الميتوزي  
ابراهيم هادي وزينة طه عبد الحافظ

## تأثير مستخلصات نبات السقومانيا *Convolvulus Scammonia* في الانقسام الميتوزي وخط الخلايا السرطانية في الفئران

ابراهيم هادي , زينة طه عبد الحافظ

قسم علوم الحياة والاحياء الجمهرية- كلية العلوم -جامعة ديالى / قسم علوم الحياة – كلية التربية(ابن الهيثم )-جامعة بغداد

Receiving Date: 02-07-2010 - Accept Date: 20-10-2010

### المستخلص

هدفت الدراسة الحالية إلى إختبار تأثير المستخلصين المائي والقلويدي الخام لنبات السقومانيا في انقسام خلايا نقي العظم للفأر الأبيض في الفئران المغروسة بسرطان خلايا (Hepatic cell) H22 فورنت فعالية المستخلص المائي الخام للأوراق الجافة لنبات السقومانيا مع فعالية المستخلص القلويدي الخام للأوراق في تثبيط معامل الإنقسام الخلوي في نقي عظم الفأر عند الجرعة 10, 20, 40, 80, 160 ملغم/كغم وقررن كل منهما مع فعالية الكولجسين. حقق المستخلص القلويدي الخام نسب توقف الطور الإستوائي أعلى مما حققها المستخلص المائي في الجرعة المنخفضة,, وفي الجرعة العالية (160 ملغم/كغم) لقد حقق كل منهما نسبة تزيد عن 70% من فعالية الكولجسين. وتضمنت الدراسة ايضا دراسة التأثيرات السمية للمستخلصين الخام التي شملت الجرعة المميئة الوسطية (LD50) في الفئران وهي 102ملغم/كغم و 98 ملغم/كغم للمستخلصين المائي والقلويدي الخام على الترتيب .

تم تحديد الجرعة العلاجية من المستخلصين المائي والقلويدي للاوراق اعتماداً على قيمة الجرعة المميئة النصفية. وأثبتت التجارب العلاجية فعالية عالية لهذين المستخلصين في إختزال حجم الورم بشكل يعتمد على الجرعة المستخدمة منها ومدة التجريع . وكانت الجرعة العلاجية الأعلى لكل من المستخلصين المائي والقلويدي (1.2، 1 غم/كغم من وزن الفأرة على الترتيب) هي الأفضل تأثيراً من خلال إختزالها لحجم الورم في الفئران بنسبة 87.1% ، 87.9% على الترتيب.

### المقدمة

تظهر العديد من المستخلصات النباتية تأثيرا مضادا للسرطان نتيجة احتوائها على مركبات كيميائية عدة ذات سمية عالية تجاه الخلايا بتأثيرها في آليات الانقسام الخلوي أوفي مرحلة تسبق الانقسام مثل آليات تضاعف DNA أو انزيماته (1). ونظراً للدور المهم الذي تؤديه النيببات في انقسام الخلية فإن ذلك جعلها الهدف المناسب في تطور أدوية العلاج الكيميائي ضد الانقسام السريع للخلايا السرطانية (2).

يوجد في الطبيعة ما لا يقل عن 25000 نوع نباتي، شُخص منها أكثر من ألف نبات بإملاكه خواصاً فعّالة مضادة للسرطان، ومنها استخدام مادة Taxol المستخلصة من نبات الطقوس، أذ أستخدمت بشكل فعّال في معالجة أنواع مختلفة من السرطانات منها سرطان الثدي والمبيض، (3).

كذلك استخدام مادة الكولجسين (Colchicine) المستخلصة من نبات *Colchicum autumnale* وهي من المواد الشائعة الاستخدام في إيقاف الانقسام الخلوي، إذ ترتبط هذه المواد مع جزيئة التيوبولين (tubulin) وتمنع بلمرتها وتكوين النيببات الدقيقة ومن ثم منع تكوين خيوط المغزل وإيقاف الانقسام الخلوي في الطور الاستوائي (4).

يطلق على نبات السقومانيا *Convolvulus Scammonia* (الاسم الشائع: Syrian bindweed). يُطلق على هذا النبات عدة أسماء في اللغة العربية منها: حنبلاب، تحتوي عائلة *Convolvulaceae* على 55 جنساً يضم الجنس *Convolvulus* 250 نوع ويوجد في العراق ستة أنواع منها (5).

ينتشر نبات السقومانيا بواسطة البذور البيضاء الشكل ذات اللون البني الغامق الموجودة داخل كبسولة غير مغطاة، يبلغ عدد البذور 2-4 بذور يمكن أن يساعد الحيوانات والامطار على انتشارها الى مسافات بعيدة، وتتراوح طول بذور نبات السقومانيا من 3-4 ملم. أن نبات السقومانيا عشبة دائمة الخضرة متسلقة، ذات أوراق مفردة حرايبية الشكل، السيقان اسطوانية ملساء سريعة النمو قد يصل طولها الى أكثر من ثلاثة أمتار، الأزهار قمعية الشكل بيضاء تحتوي هذه العائلة على الفلويديات والصابونيات والراتنجات والفلافونات (5).

أتجهت أنظار الباحثين في السنوات الأخيرة الى أهمية استخدام بعض الأعشاب الطبية في محاولة لعلاج مرض السرطان منها مادة *Sanguinarine* إذ وجد انه يثبط عدة أنواع من الخطوط الخلوية السرطانية البشرية المقاومة للعقاقير المتعددة من خلال منع بلمرة النيببات الدقيقة وتثبيطه لتكاثر الخلايا وحثها على الموت المبرمج (6). ومن الدراسات العراقية الحديثة التي اهتمت بهذا الجانب ونجحت في استخدام المستخلصات النباتية في تثبيط نمو خطوط الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي وداخله وشملت دراسة نبات الميرير *Sonchus oleraceus* (7)، ونبات المديد *Convolvulus arvensis* (8) إذ توصلت هذه الدراسات إلى ان لهذه المستخلصات تأثيرات سمية في مختلف أنواع خطوط الخلايا السرطانية، ومازالت البحوث جارية ومنها الدراسة الحالية لاختبار فعالية المستخلصات النباتية سعياً ومحاولة لإيجاد مواد فعالة ضد مرض السرطان.

### طرائق العمل

- 1- تحضير المستخلصات النباتية وأتبع طريقة Harborn (9) في تحضير المستخلص المائي الخام. واستخدمت طريقة استخلاص القلويدات من الاوراق الجافة اعتمادا على ما ذكره Canell (10)
- 2- احتساب الجرعة القاتلة لنصف العدد LD50 اعتمدت طريقة الصعود والنزول (11) لتحديد الجرعة المميتة الوسطية.
- 3- تم اختبار نشاط المستخلص المائي الخام للأوراق الجافة لنبات السقومانيا في إيقاف انقسام خلايا نقي العظم في الفئران البيض اتبعت لهذا الغرض طريقة (12) واتبعت الخطوات والجرع نفسها المستخدمة في اختبار نشاط المستخلص المائي الخام للأوراق بالنسبة للمستخلص القلويدي.
- 4- تهيئة الحيوانات المختبرية الحاملة للورم. تم تجهيز فأرة مصابة بسرطان الخلايا الكبدي (Hepatic cell (H22 من جامعة خواكون (الصين) اذ استخلص الورم ووزع على (24) فأرة سليمة في منطقة الساق بحسب (13) ، تنتهي التجربة بموت آخر فأرة من مجموعة السيطرة السالبة، أعطيت الجرعات بحسب (14) .
- تم خلال مدة التجربة قياس حجم الورم مرتين في الاسبوع باستعمال آلة القياس وأخذ قياسا (الطول والعرض) ، واستخرج الحجم بالاعتماد على طريقة (15)

### النتائج والمناقشة

أعطت طريقة تحضير المستخلص المائي الخام وزنا قدره 5 غم من 70 غم من الاوراق الطرية أي بنسبة استخلاص 7.14% ، وكان قوام المستخلص الناتج كثيفا مع لزوجة قليلة ولون بني داكن مائل الى السواد. وتم الحصول على المستخلص القلويدي خام جاف بوزن قدره 5 غم من 50 غم مسحوق النبات أي بنسبة استخلاص 10% ، وكان المستخلص الناتج ذا قوام كثيف مائل الى اللزوجة ذي لون بني مصفر.

يحتوي نبات السقومانيا على المركبات القلويدية التانينات والصابونينات والفلافونيات وهذا ما أكده (16). بينت النتائج إن المستخلص المائي لأوراق السقومانيا أدى إلى إيقاف انقسام الخلايا وبنسب مختلفة كما في الجدول (1) وأزدادت النسبة مع زيادة التركيز. وكان الفرق معنوياً بين نسب الخلايا المتوقفة في جميع الجرعات والسيطرة، لم يكن الفرق معنوياً بين الجرعتين 20، 40 وبين 40، 80 وبين 80، 160 ملغم/كغم. عند المعاملة بالجرعة 10 ملغم/كغم بلغت نسبة الخلايا المتوقفة 38.62% من السيطرة، ازدادت إلى 71.6 عند الجرعة 160 ملغم/كغم. ولإختبار فعالية المستخلص القلويدي في إيقاف انقسام الخلايا ومقارنة تأثيره مع الكولجسين أبتدأ بالجرعة التي تعطى بالكولجسين وهي 10 ملغم/كغم، إذ حُقن 21 فأراً عن طريق غشاء الخلب من المستخلص وبواقع ثلاثة مكررات لكل جرعة بينما حقنت ثلاثة فئران بـ 10 ملغم/كغم من الكولجسين وعدت سيطرة. قتلت الفئران بعد ساعتين من الحقن. بينت النتائج إن المستخلص القلويدي أدى إلى إيقاف انقسام خلايا نقي عظم كما في جدول (1) وزادت النسبة مع زيادة التركيز. وكان الفرق معنوياً بين نسب الخلايا المتوقفة في جميع الجرعات والسيطرة ما عدا الجرعة الأخيرة التي لم يكن الفرق معنوياً بينها وبين السيطرة، ولم يكن الفرق معنوياً بين الجرعتين 10، 20 وبين 20، 40 وبين 40، 80، 160 ملغم/كغم وكانت النسبة 54.29% من السيطرة عند الجرعة 20 ملغم/كغم وازدادت إلى 77.89% عند الجرعة 160 ملغم/كغم.

حقق المستخلص القلويدي نسبة توقف الخلايا في طور الاستوائي نسبة 72.96% من السيطرة عند الجرعة 80 ملغم/كغم بينما المستخلص المائي الخام حقق هذه النسبة عند مضاعفة الجرعة إلى 160 ملغم/كغم. ويعزى هذا الاختلاف إلى احتمال التأثير المضاد لبعض المواد الحاوي عليها المستخلص المائي لفعالية القلويدات , وأن وزن المستخلص الخام يمثل وزن القلويد ووزن مواد أخرى. فمثلاً *Antireha putminosa* تفقد 50% من قلويداتها بعد شهرين من الخزن، بينما بعض الفلافونات الكلايكوسيدية يمكن أن تتحلل (10).

بيّن (8) إن المستخلص الخام والقلويدي لنبات *Convolvulus arvensis* يمتلك نشاطاً مضاداً للسرطان في داخل وخارج الجسم وهو من نفس العائلة النباتية لنبات السقومانيا.

أما مادة Taxol فتعمل على منع إزالة البلمرة وبالتالي إيقاف الانقسام الخلوي الخيطي في مرحلة الانتقال بين الطور الاستوائي والانفصالي الذي يصاحبه عدم انتظام اصطفاك الكروموسومات في خط استواء المغزل وتغيير في ترتيب خيوط المغزل وزيادة في كتلة النيببات الدقيقة عند استخدام التراكيز العالية من Taxol (4).

وجد (17) توقف دورة الخلية عند معاملة خلايا سرطان الثدي MCF-7 بقلويد ceratamine A,B من خلال منع إزالة بلمرة النيببات عند غياب البروتينات المقترنة بالنيببات *Microtubule-associated protein* فضلاً عن تغييرات في شبكة النيببات في طور التمهيدي وإحاطتها كلياً أو جزئياً بالنواة، وتعتمد شدة التأثير هذه على تركيز القلويد.

تم تحديد الجرعة المميّنة النصفية (LD50) للمستخلصين الخام لاوراق نبات السقومانيا ويلاحظ من الجدول (2) أن الجرعة المميّنة النصفية للمستخلص المائي للاوراق بلغت 102 غم/كغم من وزن الحيوان ، وهي أعلى من الجرعة المميّنة النصفية للمستخلص القلويدي التي بلغت 98 غم/كغم من وزن الحيوان

تبين من نتائج الدراسة السمية للمستخلص المائي ان الجرعة 102 ملغم/كغم كانت قاتلة للفئران بنسبة 100%، والجرعة 98 ملغم/كغم من وزن الجسم فكانت قاتلة للفئران بنسبة 50%، الاختلاف في قيمة LD50 قد يرجع الى اختلاف الحيوانات المعاملة فضلاً عن اختلاف ظروف التجربة. علماً ان هناك مواد اخرى ذات سمية عالية ومع ذلك تستخدم في علاج السرطان مثل مادة vincristine التي تستخدم في علاج سرطان الثدي وامراض هودكن وكانت LD50 لها 5.2 ملغم/كغم(4).

أظهر حقن الفئران المصابة بالورم بالمستخلص المائي الخام بالجرع 0.3 و 0.6 و 1.2mg/Kg فروقا معنوية في حجم الورم عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ ) بالمقارنة مع السيطرة كما في الشكل (1), وكانت أفضل جرعة التي سببت انخفاضاً في معدلات الحجم هي 1.2 mg/Kg فقد كان معدل اليوم الأخير 36 هو 960 ملغم بالمقارنة مع الجرعتين الأولى والثانية فقد كانت (1564.57 و 3559.20) ملغم على التوالي بالمقارنة مع السيطرة 5747.05 ملغم.

أظهر حقن الفئران الحاملة للورم بالمستخلص القلويدي الخام وبالجرع 0.2 و 0.5 و 1 وجود فروق معنوية باحتمالية ( $P \leq 0.01$ ) عند مقارنة معدلات حجم الورم للمجموعة المعاملة مع السيطرة ، بالرغم من الزيادة في الحجم مع تقدم الفترة الزمنية للمعاملة ولكنها زيادة قليلة بالمقارنة مع الزيادة الحاصلة في مجموعة السيطرة، ففي اليوم 36 بعد الغرس كانت معدلات الحجم (1167.2, 1332.64, 2076.33) ملغم 3، في حين كانت السيطرة (7747.04) ملغم التي أزداد معدل حجم الورم فيها بصورة كبيرة كما موضح في الشكل (2). وكانت الجرعة الأكثر تأثيراً في معدل حجم الورم للأيام الأخيرة



خاصة هو 1 mg/Kg فقد كان الحجم في اليوم الأخير 1167.28 ملم3 في حين كان المعدل للجرعتين الثانية والثالثة (1332.64 و 2076.33) ملم3 على التوالي، مقارنة بالسيطرة التي أعطت معدل 7747.05 ملم3. تم استعمال مقياس لتقييم التغيير بحجم الورم في مجاميع الفئران المجرعة بالمستخلصين والمجموعة المجرعة DMSO (مجموعة السيطرة)، بينت النتائج التأثير التثبيطي الواضح لكلا المستخلصين في حجم الورم بشكل يعتمد على الجرعة المستخدمة ومدة التجريع. كما أشارت النتائج الى أن افضل جرعة للمستخلص المائي الخام المستخدم في علاج سرطان H22 الفأري هو 1.2 ملغم/كغم وذلك لأنه أظهر تثبيطاً لنمو الورم بنسبة بلغت 87.9% (ملغم/كغم) (شكل 1) أما بالنسبة للمستخلص القلويدي الخام فقد أظهرت نتائج الدراسة أن أفضل نسبة لتثبيط نمو الورم كانت في الجرعة 1 ملغم/كغم حيث بلغت (87.9) %، شكل (2) لقد بينت نتائج هذه الدراسة قابلية المستخلصات الخام للمديد في اعطاء فعل مضاد للورم بدلالة الاختزال الحاصل في حجم الورم في الفئران المغروسة بالورم فقد يكون السبب في هذا التأثير مباشرة من خلال امتلاك هذه المستخلصات بعض المركبات الفعالة القادرة على حث الية الموت الخلوي المبرمج في الخلايا الورمية (18) تقترح هذه الدراسة تأثيراً مباشراً لهذه المستخلصات في قدرتها على اختزال حجم الورم بسبب احتوائها على المركبات القادرة على اظهار فعل مضاد لتخليق الاوعية الدموية (19).

### المصادر

1. Toshio,N.;Akiko,K.;Yuasa,M.;and David,o.(2008) Mechanism of growth of inhibitory effect of blume.Biochem.772(5)1183-1189.
2. Schmidt,M. and Bastians, H. (2007). Mitotic drug target and development of novel anti-mitotic anticancer drugs. Drug Resistance Updates .10: 162-181.
3. Mukherjee ,A.; Sourar,B.; Nabainta,S.;and Anil,C.(2001)Advance in canser therapy with plant based natural product.curent medicinal chem..1467-1486.
4. Lopus, M.;and panda, D. (2006).The enzophenanthridine alkaloid sanguinarine perturbs microtubule assembly dynamic through tubulin binding .A possible mechanism for its antiproliferative activity. J. FEBS. 273 (10): 2139-50.
5. Chakravarty, H.L. (1976).Plant wealth of Iraq (A dictionary of economic plants), 1, Botany Directorate, Ministry of Agriculture and Agrarian reform, Baghdad, Iraq.
6. Usui, T.; Kondoh, M.; Cui, C-B. ; Mayumi ,T. and Osada, H. (1998). Tryprostatin A, a specific and novel inhibitor of microtubule assembly,Biochem. J., 333: 543-548.
7. زغير، زينب رزاق (2009). دراسة تأثير مستخلصات الخام لنبات المرير *Sonchus olevaceu*. رسالة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

8. الربيعي, ابراهيم هادي محمد(2009). تأثير المستخلص المائي والقلويدي الخام للمديد *Convolvulus arvensis* L. في تثبيط الخلايا السرطانية داخل وخارج الجسم، رسالة دكتوراه، كلية العلوم للنبات، جامعة بغداد.
9. Harborne, J.B. (1984). *Phytochemical Methods*. (2nd ed.), Chapman & Hall, London, P.5.
10. Cannell, R.J.P.(1998). *Natural product isolation*, Humana Press, New Jersey, U.K.
11. Dixon, W.J. (1980). Efficient Analysis of Experimental Observations. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 20: 441-62.
12. Allen, J.; Shuler, C. and Latt, S.A. (1977). A simplified Technique for In vivo analysis of SCE using 5-Brdu tablets. *Cyto. Cell. Genet.*, 18: 231-234.
13. Freshney, R.I. (2001). Application of cell culture to toxicology. *Cell Biology and Toxicology*, 17: 213-230.
14. Jone, S. and Janardhanan, K.K. (2000). Antioxidant and Antitumor activity of *Ganoderma lucidum* (Curtifr.) P. Karstreishi (Apyllophoromycetidae) from south India. *Int. J. Med. Mushr.*, 2: 195-200.
15. Ge, N.L.; Ye, S.; Zheng, N.; Sun, R.; Lin, Y. and Tang, Z. (2003). Prevention of hepatocellular carcinoma in mice by IL-2 137-1 genes co-transfected liver cancer cell vaccines. *World J. Gastroenterol*, 9 : 2182-5.
16. Todd, F.G.; Stermitz, F.F.; Schultheis, P.; Knight, A.P. and Dargatz, T. (1995). Tropane alkaloids and toxicity of *Convolvulus arvensis*; *phytochem.*, 39: 301-3.
17. Karajala, G.; Chan , Q.;Manzo, E; Anderson, R.J. and Roberge, M.[2005]. Ceratamines, structurally simple microtubule-stabilizing antimitotic agents with unusual cellular effects, *Canc. Res.*, 65:30-40-3043.
18. Meng, X.L.; Riordan, N.H.; Casciari, J.J.; Zhu, Y.; Zhong, J.;
19. Gonzalez, M.J.; Miranda-Massari, J.R. and Riordan, H.D. (2002).
20. Effect of a high molecular Mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor
21. growth and angiogenesis, *PRHS. J.*; 21: 323-328.
22. 19-Okamura, H.; Kashiwamura, S.; Tsutsui, H.; Yoshimoto, T.;and Nakanishi, K. (1998). Regulation of interferon- $\gamma$  production by IL-12 and IL-18. *Curr. Opin. Immunol.*, 10: 259-64.

تأثير مستخلصات نبات السقومانيا *Convolvulus Scammonia* في الانقسام الميتوزي

ابراهيم هادي وزينة طه عبد الحافظ

الجدول (1): نسبة خلايا نقي عظم الفئران في طور الإستوائي عند حقنها بالمستخلص المائي الخام للأوراق الطازجة والمستخلص القلويدي الخام للأوراق الجافة والنسبة المئوية من السيطرة (المعاملة بالكولجسين).

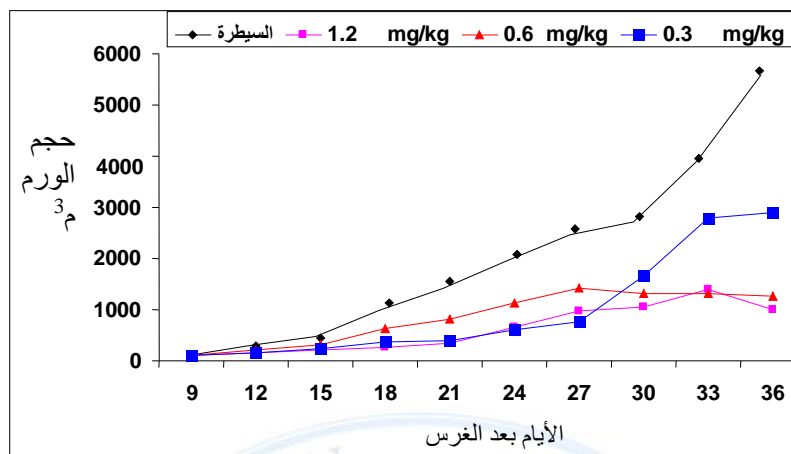
المستخلص القلويدي لخام للأوراق الجافة		المستخلص المائي الخام للأوراق الطازجة		الجرع mg/kg
النسبة المئوية من السيطرة	نسبة الخلايا في الطور الإستوائي	النسبة المئوية من السيطرة	نسبة الخلايا في الطور الإستوائي	
	0.27±4.66 a		0.16±3.78 a	السيطرة*
42.27	0.12±1.97 f	38.62	0.11±1.46 e	10*
54.29	0.051±2.53 ef	45.23	0.20±1.71 de	20*
67.59	0.049±3.15 ef	58.46	0.50±2.21 cd	40*
72.96	0.10±3.40 cd	67.19	0.13±2.54 cd	80*
77.89	0.44±3.63 bcd	71.69	0.14±2.71 bc	160

- الحروف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروق معنوية عند مستوى ( $P>0.05$ ) بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود.
- وجود العلامة (\*) على الجرعة يعني الاختلاف بين معدل دليل الانقسام كلا المستخلصين معنويًا عند مستوى ( $P<0.05$ )
- $\pm$  الخطأ القياسي.

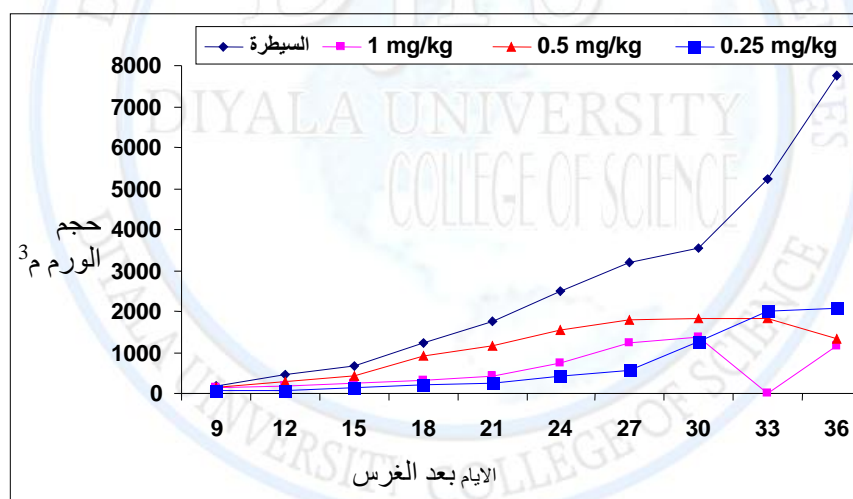
جدول (2) تحديد الجرعة المميئة النصفية LD50 للمستخلص المائي والقلويدي الخام لنبات السقومانيا في الفئران المختبرية

الجرعة المميئة (LD50) النصفية	آخر جرعة إستعملت (xf)	قيمة K الجدولية	موت الحيوان أو بقاؤه حياً بعد 24 ساعة	مقدار الزيادة أو النقصان في الجرعة (d)	نوع المستخلص
102 ملغم/كغم	75 غم/كغم	0.741	xoxo	25 غم/كغم	المستخلص المائي
98 ملغم/كغم	75 غم/كغم	0.181	xoxx	25 غم/كغم	المستخلص القلويدي

تأثير مستخلصات نبات السقومانيا *Convolvulus Scammonia* في الانقسام الميتوزي  
ابراهيم هادي وزينة طه عبد الحافظ



شكل (1): متابعة حجم الورم في الفئران الحاملة لورم سرطانة الكبد الفأري المعاملة بجرع مختلفة من المستخلص المائي الخام طيلة فترة التجربة.



شكل (2): متابعة حجم الورم في الفئران الحاملة لورم سرطانة الكبد الفأري المعاملة بجرع مختلفة من المستخلص القلويدي الخام طيلة فترة التجربة.



تأثير مستخلصات نبات السقومانيا *Convolvulus Scammonia* في الانقسام الميتوزي

ابراهيم هادي وزينة طه عبد الحافظ



C

B

A

الصورة (1) تمثل A فأرة حاملة لسرطان H22 لمجموعة السيطرة (غير المعالجة) مقارنة بالغير المعامل . B الصفة التشريحية لفأرة حاملة لسرطان H22 الفأري للمجموعة المعالجة من المستخلص المائي يشير السهم الى حجم الورم التي تظهر تثبيطا لنموه مقارنة بالسيطرة ، C فأرة معالجة من المستخلص القلويدي تشير الأسهم الى تثبيطا في حجم الورم مقارنة بالسيطرة