تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان *Ocimum basilicum* على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية خارج الجسم الحي

Effect crude aquatic extract of leaves *Ocimum basilicum* on caner and normal cell lines *in vitro*

اسراء صكر سلمان
كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد
Israa Sekar Salmman
Women for Science Collage/ Baghdad University

المستخلص

استخلصت اوراق نبات الريحان *Ocimum basilicum* بالماء المقطر لتحضير المستخلص المائي الخام واستخدمت خمسة تراكيز من المستخلص المائي وهي (62.5 ,125 ,250 ,500 ,1000) مايكروغرام/ مليليتر . تم درسه تاثيره في الخطوط الخلوية السرطانية Hep-2 لسرطان الحنجرة البشري و Hela لسرطان عنق الرحم و AMN-3 لسرطان الغدة اللبنية ولمدة تعريض 24 و 48 ساعة . كما درس تاثير المستخلص المائي في الخط الخلوي الطبيعي لجنين الفار MEF ولمدة تعريض 48 ساعة في تجارب خارج الجسم الحي . بينت النتائج ان المستخلص المائي لاوراق الريحان له تاثير تثبيطي (P<0.05) متباين في الخطوط الخلوية السرطانية (Hep-2، Hela، AMN-3) . كان التركيز العالي 1000 مايكروغرام / مليليتر اكثر تثبيطا على الخط الخلوي السرطانيHep-2 مقارنة بالتركيز الواطئة لمدتي التعريض 24 و48 ساعة . اما الخط السرطاني Hela لوحظ حالة تسمى بالتضادية في تاثير الجرعات Hormetic effect التي تتميز بوجود تعاكس في عمل الجرعات الواطئة بالمقارنة مع الجرعات العالية لمدتي 24 و48 ساعة اي ان التراكيز الواطئة تثبط نمو الخلايا بينما التراكيز العالية يحدث فيها نمو، وكانت التراكيز الواطئة في الخط الخلوي السرطاني AMN-3 اكثر تثبيطا من التراكيز العالية . لم تظهر التراكيز المستخدمة للمستخلص المائي لاوراق الريحان تاثير معنوي واضح في الخط الخلوي الطبيعي لجنين الفار, بينما اظهر التركيز الواطئ 62.5 مايكروغرام / مليليتر اعلى نسبة تثبيط للخلايا فقد بلغت 16%.

Abstract

Leaves of *Ocimum basilicum* were extracted with distilled water to prepare aquatic crude extract, five concentration from this extract (1000, 500, 250, 125, 62.5)µg/ml were used to study the effect of extract on cancer cell lines(Larynex carcinoma hep-2, cervix carcinoma Hela and mammary gland adenocarcinoma AMN-3) and the time exposure 24 and 48 hours as well as the effect of aquous extract on normal cell line for embryonic mice fibroblast(MEF) was studied in vitro at 48hrs. exposure. The result showed that aqueous crude extract of *Ocimum basilicum* leaves has different effects on cancer cell lines with significante p<0.05 the high concentration 1000 µg/ml has more inhibitory effect on cancer cell line Hep-2 compared with low concentration at 24and 48 hrs.while the Hela cancer cell line has hormetic effect which recognized by contrast in low concentration inhibitory effect as compared with high concentration at 24 and 48 hr.that low ones inhibit cell proliferation while in high ones cell proliferation continue, but AMN-3 cancer cell line more affected by low concentrations from high concentrations. Normal cell line show no significant effect for all concentrations used of aquatic crude extract of *Ocimum basilicum* leaf except 62.5 µg/ml with high cell inhibition 16%.

الكلمات المفتاحية: الريحان ، الخطوط السرطانية ، الخط الطبيعي

المقدمة

نبات الريحان من النباتات Ocimum basilicum الحولية التي تزرع في الحدائق كنبات زينة او يزرع كمحصول ، يعود الى العائلة الشفوية Lamiaceae او Labitacea ينمو النبات بارتفاع(40-60) سم والاوراق معنقة بيضاوية طولها 2-5 سم ، حافتها كاملة والازهار بيضاء او محمرة قليلا [1] . ينتشر النبات في مناطق مختلفة من قارة اسيا لكن اكثر انتشارا في الهند وسوريا والاردن والعراق وفلسطين ولبنان وايران كما يوجد في الولايات المتحدة واسبانيا وفرنسا وتركيا [2] . نبات الريحان احد النباتات العطرية وله عدة انواع ولكل نوع عدة تسميات محلية فمثلا نبات *Ocimum basilicum* يسمى بالريحان الحلو sweet basil و *Ocimum sanctum* بالريحان المشوك او المقدس والنوع الاخر *Ocimum americanum* يسمى بالريحان الحامض، جميع هذه الانواع والانواع الاخرى تكاد تتشابه في التركيب وفي التاثير الدوائي [3] . يحوي نبات الريحان على العديد من المركبات الكيميائية الفعالة اهمها الزيوت الاساسية essential oil بنسبة(0.2-1) % من اهمها linaleol وcineole و كذلك حامض urosolic acid ، لذلك لها فعاليات مضادة للفايروسات ومضاد للاكسدة والاورام والالتهابات [4] .

كما يحوي نبات الريحان على المركبات الفينولية والاروماتية والقلويدات والصابونينات والتربينات والكلايكوسيدات [5] . تعمل المركبات الفينولية كمضاد للاكسدة والاورام والاحياء المجهرية[6] . ايضا يحوي النبات على الفيتامينات والبتا- كاروتين وعلى الكثير من العناصر اهمها الكالسيوم والحديد والبوتاسيوم [1] . كما يحوي على العديد من الزيوت الاساسية التي تسخدم في المجال الصيدلي والصناعي [7] .

ومن اهم استخدامات نبات الريحان الاخرى يستخدم في الاطعمة والاكل ويستخدم كتوابل [8] . وكذلك يعمل النبات بازالة وكنس الجذور الحرة scavenger free radicals [9] . فضلا عن ذلك تعمل المركبات الفعالة الموجودة في اوراق نبات الريحان كعلاج لداء السكري [10] .

المواد وطرائق العمل

تحضير المستخلص النباتي

حضر المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان باخذ 50 غم من الاوراق الطرية وغسلت بماء الحنفية ثم اضيف اليها 150مل من الماء المقطر بعد ذلك وضعت في خلاط كهربائي لمدة 20 دقيقة مع مراعاة اطفاء الخلاط الكهربائي كلما بدأت درجة حرارة المخلوط بالارتفاع ثم رشح المستخلص الناتج باستخدام الشاش الطبي وبعد ذلك وزع على انابيب اختبار 10 مل ثم نبذت هذه الانابيب 2500 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق للحصول على مستخلص رائق . جفف المستخلص الرائق في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ [11] . وبعد ان جف اخذ 0.1غم واذيب في 10مل من الوسط الزرعي RPMI-1640 الخالي من المصل لتحضير المستخلص الاصلي stock وعقم من خلال ترشيحه بورق ترشيح ذات الثقوب 0.22µm . بعدها حضر من هذا المحلول التراكيز(1000،500،250،125،62.5) التراكيز،مايكروغرام / مليليتر .

تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان *Ocimum basilicum* في نمو الخطوط الخلوية في المختبر

اختبار سمية المستخلص المائي الخام في نمو الخطوط الخلوية السرطانية والخط الخلوي الطبيعي

تم الحصول على الخطوط الخلوية السرطانية وهي الخط (Hep-2، Hela ،AMN-3) والخط الخلوي الطبيعي(MEF) من مختبر العلاج التجريبي للمركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/الجامعة المستنصرية . حضرت خمسة تراكيز مخففة وفقا لـ [12] من المستخلص وكالاتي: (62.5، 125 ، 250 ، 500 ، 1000) مايكروغرام / مليليتر . جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة وعاء الزرع النسيجي حجم 25سم بمحلول التربسين- فرسين المعقم (20 مل من محلول التربسين 1غم: 100 مل من PBS :10 مل من الفرسين) ، ثم اضيف 20 مل من الوسط الزرعي الجديد الخالي من المصل SFM (16.4 غم من RPMI-1640 media :15 مل من بكاربونات الصوديوم :0.5 مل Streptomycin : 0.25 مل من الـ Gentamycin و الـ Nystatin يكمل الحجم الى 1 لتر من الماء المقطر) ثم مزج عالق الخلايا جيدا وتم نقل 0.2 مايكروليترالى حفر معايرة الزرع النسيجي ذو القعر المسطح باستعمال ماصة اوتوماتيكية دقيقة ، تركت الاطباق لحين التصاق الخلايا في الحفر . بعدها تم التخلص من الوسط القديم في الحفر ، واضيف 0.2µl من التراكيز المحضرة سابقا من المستخلص وبواقع 3 مكررات لكل تركيز ، فضلا عن مكررات السيطرة(وسط زرعي فقط) .

حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م . بعد مرور مدة التعريض المحدد للحضن(24،48) ساعة للخطوط السرطانية الثلاث و48 ساعة للخط الخلوي الطبيعي . اخرج الطبق من الحاضنة وازيل الوسط الزرعي اضيف له محلول صبغة البنفسج البلوري(5 غم من الصبغة: 50 مل formalin: 200 مل methanol: 1 ليترD.W) للحفر الخلوية على الخلايا جميعا 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 الامتصاصية للتاثير السمي للمستخلص في الخطوط الخلوية الى نسب مئوية وفق الشكل الاتي:

النسبة المئوية لحيوية الخلايا = قراءة امتصاصية الخلايا المعاملة لكل تركيز/ امتصاصية خلايا السيطرة×100.

التحليل الاحصائي Statiatical analysis

استعمل البرنامج SAS (2004) في التحليل الاحصائي الـ ANOVA لدراسة تاثير التركيز في حيوية الخلايا للخطوط الخلوية المدروسة وعلى فترات مختلفة وقورنت المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (LSD) [13] .

النتائج

تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان في الخطوط الخلوية السرطانية (Hep-2 وHela و3 -AMN) خلال مدتي التعريض 24و 48 ساعة .

ظهر التأثير السمي للمستخلص في الخط الخلوي السرطاني لسرطان الحنجرة البشري (Hep-2) عند التراكيز من(62.5-1000) مايكروغرام/مليليتر . بينت النتائج ان التراكيز المستخدمة عند مدة التعريض 24 ساعة ، لم يظهر فروق معنوية عالية مابين التراكيز في حيوية الخلايا بينما كانت مدة التعريض 48 ساعة فرق معنوية بمستوى احتمالية P<0.05 مابيت التراكيز المستخدمة والسيطرة في حيوية الخلايا فقد لوحظ ان التراكيز العالية كانت فيها حيوية الخلايا عالية فقد بلغت حيوية الخلايا عند التركيز1000 ماكروغرام/ مل 42% بنسبة تثبيط 58% بينما عند التراكيز الواطئ µg/ml62.5 فقد بلغت حيوية الخلايا 90%اي بنسبة تثبيط واطئة 10% . كما في جدول (1) .

اما بالنسبة للخط الخلوي السرطاني Hela فقد كانت التراكيز الواطئة ذات تاثير سمي عالي واضح مقارنةً بالتراكيز العالية التي لم يحدث فيها اي تثبيط على العكس من ذلك اظهر فيها نمو في حيوية الخلايا عند مدتي التعريض (24، 48)ساعة كما اعتمد التاثير في زيادة مدة التعريض فعند 48 ساعة كانت حيوية الخلايا اقل من الـ 24 ساعة ، اي تزداد نسبة تثبيط الخلايا بزيادة مدة التعريض كما موضح في جدول (2) .

اما عند الخط الخلوي السرطاني لسرطان الغدة اللبنية AMN-3 ، فقد ظهر التاثير السمي عند مدتي التعريض (24،48) ساعة فقداختلف التاثير السمي لمدتي التعريض فعند 24 ساعة لوحظ حالة تضادية عمل الجرعات اي ان التراكيز الواطئة حدث فيها تثبيط بينما التراكيز العالية حدث فيها نمو لحيوية الخلايا اعلى من حيوية خلايا السيطرة . اما عند مدة التعريض 48 ساعة فقد اظهرت جميع التراكيز سمية في الخلايا لكن كانت التراكيز الواطئة اكثر سمية وتثبيط من التراكيز العالية مقارنة مع السيطرة وبمستوى احتمالية P<0.05 وكما موضح في جدول (3) .

جدول(1): تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان في النسبة المئوية لحيوية خلايا الخط السرطاني Hep-2 خلال مدة التعريض 24و 48 ساعة.

التركيز	المتوسطات ± الخطا القياسي لحيوية الخلايا	
مايكروغرام / مليليتر	24 ساعة	48 ساعة
السيطرة	A 0.00 ± 100	A 0.00± 100
1000	a,B 3.84± 87.33	b, B 6.65 ± 42.00
500	c, B,C 1.09± 81.17	d, B,C 2.60± 57.33
250	e, C 2.31± 80.00	f,C 3.05± 68.00
125	g,C 1.45± 79.33	g,C 3.51± 78.00
62.5	h,D 2.18± 70.66	h,D 4.48± 90.67

***الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية P<0.05 بين التراكيز المستخدمة والسيطرة لنفس مدة التعريض،بينما الاحرف الصغيرة وجود فروق معنوية بين مدتي التعريض لكل تركيز.**

جدول(2): تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان في النسبة المئوية لحيوية خلايا الخط السرطاني Hela خلال مدة التعريض 24و 48 ساعة.

التركيز مايكروغرام / مليليتر	المتوسطات ± الخطا القياسي لحيوية الخلايا 24 ساعة	48 ساعة
السيطرة	A 0.00 ± 100	A 0.00 ± 100
1000	a,A 0.57± 106.00	b, A 5.20 ± 104.67
500	c, A,B 1.04 ±98.50	d, A 2.40 ± 99.33
250	e, A,B 0.52± 96.93	f,B 1.52 ± 84.00
125	g,B 3.21 ±88.00	g,C 2.84 ± 62.67
62.5	h,C 7.66± 71.67	h,D 4.91 ± 49.33

***الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية P<0.05 بين التراكيز المستخدمة والسيطرة لنفس مدة التعريض، بينما الاحرف الصغيرة وجود فروق معنوية بين مدتي التعريض لكل تركيز.**

جدول(3): تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان في النسبة المئوية لحيوية خلايا الخط السرطاني AMN-3 خلال مدة التعريض 24و 48 ساعة.

التركيز مايكروغرام / مليليتر	المتوسطات ± الخطا القياسي لحيوية الخلايا 24 ساعة	48 ساعة
السيطرة	A,B,C 0.00 ± 100	A 0.00 ± 100
1000	a,A,B 0.57± 106.00	b, B,C 5.20 ± 104.67
500	c, A 1.04 ±98.50	d, A,B 2.40 ± 99.33
250	e, A,B,C 0.52± 96.93	f,B,C 1.52 ± 84.00
125	g,B,C 3.21 ±88.00	g,C 2.84 ± 62.67
62.5	h,C 7.66± 71.67	h,C 4.91 ± 49.33

***الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية P<0.05 بين التراكيز المستخدمة والسيطرة لنفس مدة التعريض ، بينما الاحرف الصغيرة وجود فروق معنوية بين مدتي التعريض لكل تركيز.**

وفي دراسة تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان في الخط الخلوي الطبيعي MEF ، لم يظهر تاثير سمي عالي للمستخلص في الخط الطبيعي عدا التركيز الواطئ62.5 ماكروغرام/ مل فقد وصلت اعلى نسبة لحيوية الخلايا 84% اي بنسبة تثبيط16% . كذلك لم يظهر تباين بين التراكيز المستخدمة والسيطرة وبدلالة معنوية بمستوى احتمالية$P<0.05$ كما موضح في جدول (4) .

جدول(4): تاثير المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان في النسبة المئوية لحيوية خلايا الخط الخلوي الطبيعي MEF خلال مدة التعريض 48 ساعة.

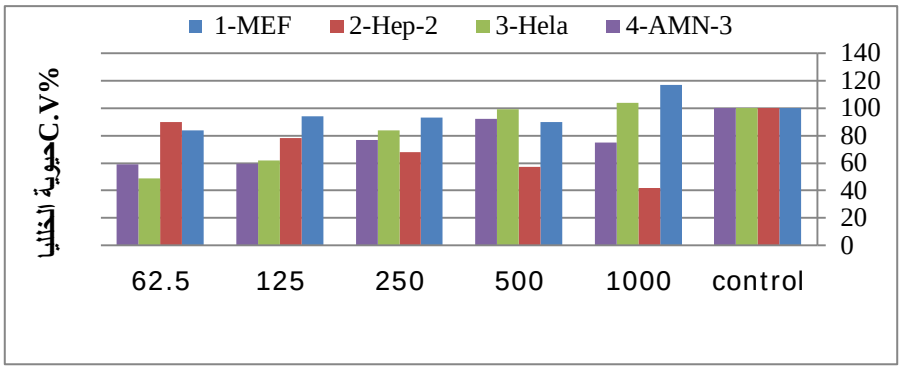
التركيز مايكروغرام / مليليتر	المتوسطات ± الخطا القياسي لحيوية الخلايا
السيطرة	A 0.00 ± 100
1000	A 13.38 ± 117.67
500	A 34.31 ±90.00
250	A 11.28 ± 93.33
125	A 1.09 ±94.17
62.5	A 13.22 ± 84.33

***الاحرف المختلفة تشير الى وجود اختلافات بين المعاملات والسيطرة و بمستوى احتمالية P<0.05 .**

المقارنة بين الخطوط الخلوية السرطانية والخط الخلوي الطبيعي لمدة التعريض 48 ساعة .

اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية $P<0.05$ للمستخلص في نمو الخطوط الخلوية السرطانية لسرطان الحنجرة وسرطان عنق الرحم وسرطان الغدة اللبنية والخط الخلوي الطبيعي لجنين الفأر خلال مدة التعريض 48 ساعة . عند المقارنة بين الخطوط الخلوية السرطانية الثلاث لوحظ هنالك فروق بين الخطوط الثلاث لجميع التراكيز عدا التركيزين الواطئين(62.5،125)مايكروغرام/مليليتر ومن خلال المقارنة هناك تباين في تاثير المستخلص في الخطوط السرطانية فعند الخط السرطاني Hep-2 كانت التراكيز العالية هي الاكثر تاثرا

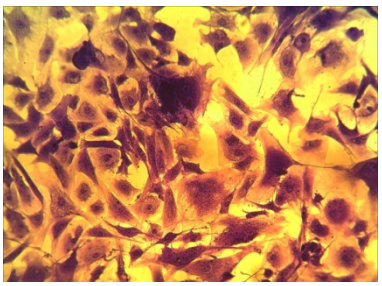
من التراكيز الواطئة بينما عند الخطين Hela ، AMN-3 كانت التراكيز الواطئة هي الاكثر سمية وتاثرا من التراكيز العالية . كما اجريت مقارنة بين الخطوط السرطانية الثلاث والخط الخلوي الطبيعي MEF ، فقد اظهرت النتائج عدم ظهور تاثير سمي لتراكيز المستخلص في الخط الطبيعي مقارنة مع الخطوط السرطانية فقد تاثرت جميع الخطوط السرطانية بالمستخلص المائي الخام لاوراق الريحان لكن تباين التاثير من خط الى اخركما موضح في شكل (1) .



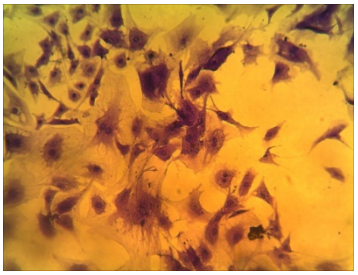
شكل (1): مقارنة بين الخطوط السرطانية والخط الخلوي الطبيعي لمدة التعرض 48 ساعة

الفحص الخلوي

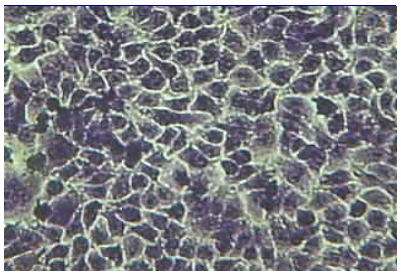
اظهرت خلايا السيطرة السرطانية والطبيعية غير المعرضة محافظة على شكلها الخلوي وظهور الطبقة الاحادية monolayer كما موضح في الاشكال (2،4،6،8) . وعند حضن الخلايا السرطانية مع المستخلص لمدة التعريض48 ساعة لوحظ ان الخلايا المعرضة تاثرت بالمستخلص من خلال قلة في عدد الخلايا وعدم وجود الطبقة الاحاديةmonolayer بوجود فراغات كبيرة بين الخلايا وتغير في الشكل المظهري بشكل تنخر necrosis للخلايا كما في الاشكال (3،5،7) . بينما عند حضن المستخلص مع الخط الخلوي الطبيعي لم يظهر اي تاثير واضح من خلال الشكل المظهري للخلايا كما في شكل (9) .



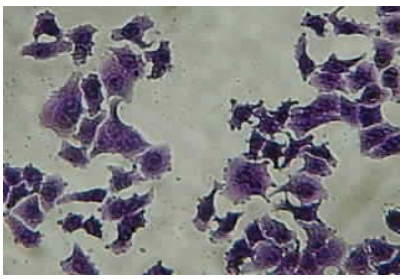
شكل(2) :الطبقة الاحادية لخط الخلايا الطبيعي MEF غير المعرضة للمستخلص (السيطرة) لمدة 48 ساعة(crystal violet,100X).



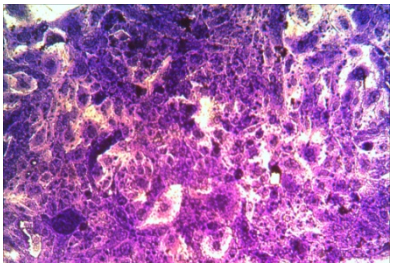
شكل(3) :الطبقة غير الاحادية لخط الخلايا الطبيعي MEF المعرضة للمستخلص لمدة 48 ساعة بتركيز 62.5 مايكروغرام/مل (crystal violet, 100x).



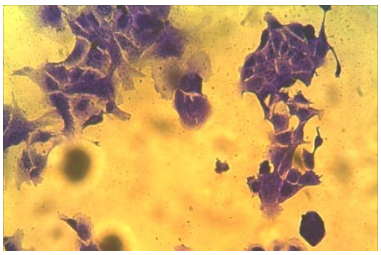
شكل(4): الطبقة الاحادية لخط الخلايا السرطاني Hep-2غير المعرضة للمستخلص (السيطرة) (crystal violet, 100x).



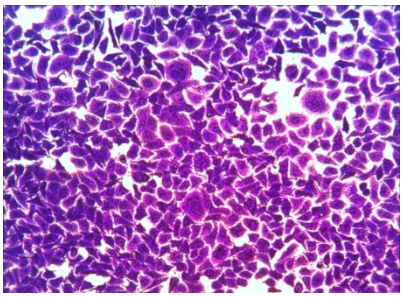
شكل (5): الطبقة غير الاحادية لخط الخلايا السرطاني Hep-2المعرضة للمستخلص لمدة 48 ساعة بتركيز1000 مايكروغرام/مل (crystal violet, 100x).



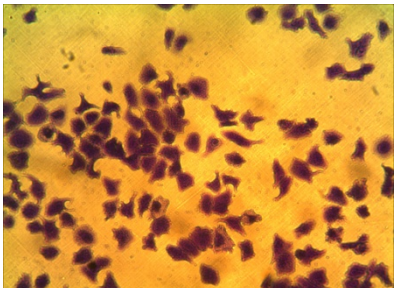
شكل(6): الطبقة الاحادية لخط الخلايا السرطاني-AMN 3 غير المعرضة للمستخلص (السيطرة) لمدة 48 ساعة. (crystal violet, 100x).



شكل(7): الطبقة غير الاحادية لخط الخلايا السرطاني AMN-3المعرضة للمستخلص لمدة 48 ساعة بتركيز62.5 مايكروغرام/مل (crystal violet, 100x).



شكل(8): الطبقة الاحادية لخط الخلايا السرطاني Helaغير المعرضة للمستخلص (السيطرة) لمدة 48 ساعة. (crystal violet, 100x).



شكل(9): الطبقة غير الاحادية لخط الخلايا السرطاني Helaالمعرضة للمستخلص لمدة 48 ساعة بتركيز 62.5 **مايكروغرام** (crystal violet, 100x)

المناقشة

اوضحت النتائج ظهور تاثيرات سمية للتراكيز المستخدمة من المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان فقد تباينت سمية الخلايا السرطانية من خط خلوي الى اخر يرجع ذلك الى اختلاف الخطوط في مستقبلاتها [14] . كما بينت النتائج ان مدة التعريض والتركيز عامل مهم في تحديد مدى تثبيط الخلايا ، فكلما زادت مدة التعريض وزاد التركيز تزداد نسبة تثبيط الخلايا وسميت هذه الظاهرة بالاعتماد على الجرعة والوقت Dose and Time dependent وهذا ما لوحظ في الخط الخلوي السرطاني Hep-2 عند التراكيز العالية حيث كانت نسبة التثبيط اكثر من التراكيز الواطئة وكذلك عند مدة التعريض 48 ساعة كانت نسب تثبيط الخلايا اعلى من مدة التعريض 24 ساعة . وهذا يوكد لما توصل اليه [15] في دراسته حول التاثير التثبيطي للسليمارين المعزول من حبوب الكلغان في الخط الخلوي السرطاني Mouse Epidermal Cell Line (JB6) فقد اعتمد التاثير التثبيطي على مدة التعريض والتركيز . اما عند الخط الخلوي السرطاني Hela عند مدتي التعريض 24 و48 ساعة وعند مدة التعريض 24 ساعة للخط الخلوي السرطاني AMN-3 فقد ظهر التاثير السمي للخلايا عند التراكيز الواطئة بينما ادت التراكيز العالية الى زيادة النسب المئوية لحيوية الخلايا وهذه الحالة تسمى بالتضادية في تاثير الجرعات Hormotic effect(Hormesis) وهي ظاهرة بايولوجية شائعة في علم السموم ، تتميز بوجود تعاكس بعمل الجرعات الواطئة بالمقارنة مع الجرعات العالية حيث يتم الاستفادة من هذه الظاهرة في تاثير الجرعات من الجرعات الواطئة لبعض المركبات السامة او الملوثات في علاج بعض الامراض المستعصية كالسرطان والزهايمر اذ ان للجرعات الواطئة من بعض المركبات القدرة على قتل الخلايا السرطانية دون التاثير في الخلايا الطبيعية [16] . اما عند حضن المستخلص مع الخط الخلوي السرطاني AMN-3 لمدة التعريض 48 ساعة فكانت التراكيز الواطئة هي الاكثر تثبيطا وسميا من التراكيز العالية وربما يرجع ذلك الى تحرر مركبات معينة مثل القلويدات والفلافونيدات وغيرها قد يكون لها تاثير تثبيطي عالي في حين تكون المركبات او المواد الفعالة مركزة جدا عند التراكيز العالية فتعطي تثبيط اقل وهذه الحالة تشابه لما توصل اليه [17] في دراسته حول تاثير المستخلص الزيتي لحبوب الكلغان في الخطوط الخلوية السرطانية وكذلك لما توصلوا اليه [18] في دراستهم للمستخلصات النباتية فقد اعتمد التاثير التثبيطي على التراكيز الواطئة اكثر من التراكيز العالية وهذا يعتمد على عدة عوامل منها تركيز المادة والوزن الجزيئي اذ انه كلما كان تركيز المادة قليل كلما سهل ذلك اختراقها للغشاء

الخارجي في جدار الخلية البكتيرية وبالتالي التاثير على البكتريا ولكن ليس للحد من التخفيف الذي يفقدها فاعليتها السمية.

ان تثبيط الخلايا السرطانية من قبل المستخلص المائي الخام لاوراق الريحان ربما يرجع الى وجود الصبغات في اوراق الريحان ومثال على هذه الصبغات الـ Anthocyanins حيث ان هذه الصبغات تعمل على تثبيط الخطوط السرطانية مثل الخط السرطاني لسرطان القولون Colon adenocarcinomam (CaCo-2) فآلية هذه الصبغات تعمل على توقف دورة حياة الخلية وحث الخلايا نحو الموت المبرمج apoptosis [19] . وفي دراسة المستخلص الخام للنوع الثاني من نبات الريحان *Ocimum sanctum* في تاثير مستخلص هذا النبات على الفئران المصابة بالاورام السرطانية الصلبة فقد وجد عند استخدام التراكيز 50 ملغرام/ مل فما فوق تثبيط نمو الاورام السرطانية من خلال تكسر السايتوبلازم وتكثف الانوية وكذلك تجزئة شريطي الـ DNA [20] . وفي دراسة اخرى وجد ان نبات الريحان يعمل على توقف نمو وحث الخلايا نحو الموت المبرمج للخط الخلوي السرطاني لسرطان الرئة A549 lung [21] .

ان نبات الريحان يحوي على الزيوت الاساسية Essential oils فقد تعمل هذه المركبات في تثبيط الخلايا السرطانية مثل الخط الخلوي السرطاني لسرطان الفم Human mouth epidermal carcinoma(KB) وسرطان الدم Murine leukemia (P388) cell line الية التثبيط من خلال توقف نمو وتكاثر الخلية السرطانية وذلك باستخدام التركيز 0.0363mg/ml [22] . كما يعزى التبيط الى احتواء نبات الريحان على نسبة من المركبات الفلافونويدية والفينولية والحوامض مثل cinnamic, sinapic, caffeic, rosmainic acid هذه المركبات تعمل كمضاد للاكسدة وذلك بكنس الجذور الحرة وكذلك تعمل على موت الخلايا السرطانية بالية التنخر Necrosis [23] كما هو الحال في تاثير الريحان على الخطوط السرطانية المستخدمة في الدراسة . كما يحوي نبات الريحان *Ocimum basilicum* على مركب Ursolic acid فقد وجد [24] ان لهذا المركب فاعلية ضد السرطان مثل الخط الخلوي السرطاني لسرطان الثدي(MCF-7) Breast cancer cell line اذ يعمل على توقف نمو الخلايا السرطانية من خلال توقف وتثبيط F-actun والـ Microtubules للكروموسومات. نستنتج من هذا ان المستخلص المائي الخام له سمية على الخطوط الخلوية السرطانية فقد تباين التأثير حسب نوع الخط الخلوي السرطاني في حين لم يكن للمستخلص اي تاثير على الخط الخلوي الطبيعي .

References

1. Mondal, S.; Mirdha, B. R. and Mahapatra, S. C. 2009. The science behind sacredness of Tulist (*Ocimum sanctum Linn.*). Indian Journal of physiol pharmacol. 53:291-306.
2. Fandohan, P; Gnonlonfin, B.; Laleye, A; Gbenou, JD.; Darboux, R. and Moudachiton, M. 2008. Toxicity and gastric tolerance of essential oils from cymbopogon citratus. *Ocimum gratissimum* and *Ocimum basilicum* in wistar rats. Food Chem. Toxicol. 46: 2493-2497.
3. Phillip, MP. And Damodaran, NP. 1985. Chemo-types of *Ocimum sanctum Linn*. Indian perfumer. 29:49-56.
4. Silva, M. G. V.; Vierir, I. G. P.; Mendes, F. N. P.; Albuquerque, I. L.; Santos, R. N. D.; ilva, F. O. and Morais, S. M. 2008. Variation of ursolic acid content in eight *Ocimum* species from northeastern Brazil. Molecules. 13:2482-2487.
5. Flores, R. G.; Rodrigue, L. V.; Licea, R. Q.; Guerra, P. T.; Guerra, R. T.and Padilla, C. R. 2008. *In vitro* rat lymphocyte proliferation induced by *Ocimum basilicum, Persea Americana, Plantago virginica* and *Rosa* spp. Extracts.J. Med. Plant, Res. 2: 005-90.
6. Hussain, A. I.; Anwar, F.; Sherazia, S. T. H. and Przybylski, R. 2008. Chemical composion, antioxidant and antimicrobial activites of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food chem. 108: 986-995.

7. Unerie, S. C.; Anaso, H. U. and Anyasora, J. C. 1998. Inescticidal potentials of *Ocimum basilicum* leaf-extract. Biores-Technol. 64:237-239.
8. Grayer, R. J.; Kite, G. C.; Veitch, N. C.; Eckert, R. R.; Marin, P. D. : Senanayake, P. and Paton, A.J. 2002. Leaf flavonoid glycosides as chemosystematic characters in *Ocimum*. Biochem. Syst. Ecol. 30:327-342.
9. Javanmardi, J. and Stushoff, C. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum accessions*. Food chem. 83:547-550.
10. Viyoch, J.; Pisutthanan, N.; Faikrena, A.; Nupangta, K.; Wangtorpol, K. and Ngokkeu, J. 2006. Evaluation of *in vitro* antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against propioni bacterium acnes. Int.J. cosmet Sci. 28:125-133.
11. – يعقوب ، سمارة نزار .2007 . دراسة التاثيرات الوراثية لبعض النباتات العراقية في نماذج حيوانية ونباتية ، رسالة ماجستير / كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد .
12. Abdul-Majeed, M. R. 2000. Induction and characterization of SU-99 plasamacytoma cell line and its effect on mice immune response, PhD. Thesis Nahrain University.
13. SAS.2004. SAS/ STAT Users Guide for personal computers. Release 7.0.SAS Institute Inc., Cary, NC., USA. (SAS= Statistical Analysis System).
14. Moteki, H.; Hibasmai, H.; Yamada; Katsuzak, H.; Imai, K. and Komija, T. 2002. Specific of apoptosis 1,8-cineole in two human leukemia cell line but not in human stomach cancer cell lines. Oncology. Reports. 9:757-760.
15. Katiyar, S.K. 2005. Silymarin and skin cancer preventation anti-inflammator, antioxidant and immunodatory effect, *Int.* J.Oncol. 26:169-176.
16. Calabrese, E.J. and Baldwin, L.A. 2003. Hormesis: The dose- response revolution. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 143:175-197.
17. سلمان ، اسراء صكر .2008 . تاثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغان *Silybum marianum* على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية . رسالة ماجستير / كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد.
18. Arshad, N.; Neubauer, C.; Hasnain, S. and Hess, M. 2008. Peganum harmala can minimize Escherichia coli infection in poultry, but long-term feeding may induce side effects.Poultry Science. 87:240-249.
19. Lazze, M. C.; Savio, M.; Pizzala, R.; Cazzalin, O.; Perucca, P.; Scovassi, A. I.; Stivala, L. A. and Bianchi, L.2004. Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human cell line. *Carcinogenesis*. 25(8):1427-1433.
20. Karthikeyan, K; Gunasekaran, P.; Ramamurthy, N. and Gorindasamy, S. 1999. Anticancer activity of *Ocimum sanctum*. Pharmacentical biology. 37(4):285-290.
21. Magesh, V.; Lee, JC.; Ahn, KS.; Lee, HJ.; Lee, EO.; Shin, BS.; Jung, HJ.; Kim, JS.; Kim, DK.; Choi, SH.; Ahn, KS. And Kim, SH. 2009. *Ocimum sanctum* induces apoptosis in A549 lung cancer cells and suppresses the *in vivo* growth of leiws lung carcinoma cells. Phytother. Res. 23:1385-1391.
22. Mansori, J.; Dhumtarom, P. and Mansori, A. 2006. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal on KB and P388 cell lines .cancer letters. 235:114-120.

23. Grayer, R.J.; Bryan, S. E.; Veitch, N. C.; Goldstone, F. J.; Paton, A. and Wollenweber, E. 1996. External flavone in sweet basil (Ocimum basilicum L.) leaves J. Agric. Food chem. 43:1331-1335.

24. Kehkashan, A. Q.; Ahsana, D.; Bina, S. S.; Nurul, K.; Huma, A.; Shakil, A.; Shaista, E.; Shzia, H. and Sabira, B. 2010. Anticancer activity of *Ocimum basilicum* and the effect of ursolic acid on the cytoskeleton of MCF-7 human breast cancer cells. Letters in Drug Design and discovery. 7:726-736.