تأثير المستخلص المائي لنبات البروكلي على انزيمات الكبد في الحيوانات المختبرية المعاملة بمركب رابع كلوريد الكاربون

Effect of aqueous extract of Broccoli plant on liver enzymes in laboratory animals treated by carbon tetrachloride

اقبال فاضل علوان عصام فاضل الجميلى* عمار مولى حمود
وزارة العلوم و التكنولوجيا
*معهد الهندسة الوراثية و التقنية الاحيائية للدراسات العليا/ جامعة بغداد

Iqbal Fadhel Alwan Essam F. Al-Jumaelly * Amar M. Hamood
Ministry of Science and Technology
*Genetic Engineering and Biotechnology For postgraduate studies/ Baghdad University

الملخص

تم دراسة تاثير المستخلص المائي لنبات البروكلي تجاه إنزيمات الكبد (ALP,ALT,AST,GST) في الحيوانات المختبرية المستحثة بمركب رابع كلوريد الكاربون. اجريت الاختبارات على التداخل بين ثلاثة تراكيز لمستخلص المائي لنبات البروكلي 100،200،300ملغم/ كغم و 3.2 ملغم / كغم لمركب رابع كلوريد الكاربون من خلال التجريع عن طريق الفم لمدة 7أيام (قبل وبعد المستحث). أظهرت الدراسة بان التركيز 300 ملغم / كغم هو الافضل و تقترح الدراسة ان يستخدم تراكيز اعلى من هذا التركيز كون النبات يستخدم للاستهلاك البشري بصورة واسعة.

الكلمات المفتاحية: مستخلص مائي، بروكلي، انزيمات الكبد، رابع كلوريد الكاربون

Abstract

The effects of aqueous extracts of broccoli plant against liver enzymes (ALP, ALT,AST,GST) in the laboratory animals treated with carbon tetrachloride were studied. Conducted tests on the overlap between the three concentration 100, 200,300 mg / kgm of aqueous extract of broccoli and 3.2 mg / kgm of carbon tetrachloride with interaction included two types of treatment (pre-ccl4 and post-ccl4) through oral dosage and for a period of 7 days. The study shows that the concentration 300mg / kgm is the best concentration of aqueous extract there was used and study suggests that use the concentrations of this focus and fact that the plant is used for human consumption broadly.

Key words: aqueous extract, Broccoli plant, liver enzymes, carbon tetrachchloride

المقدمة

تعتبر النباتات الطبية مصدرا مهما للمواد الفعالة التي تدخل في تحضير العديد من الأدوية حيث ثبت علميا ان المادة الفعالة المصنعة معمليا لا تؤدي نفس التأثير الفسيولوجي الذي تؤديه المادة الفعالة المستخلصة من النباتات الطبية إضافة إلى التأثيرات الجانبية التي تتركها المادة الكيمياوية على الجسم و التي قد لا تظهر إلا بعد فترة قد تكون طويلة [1]. تعد الملوثات البيئية بالمواد الضارة بصحة الإنسان و من أهم مشاكل العصر نتيجة التقدم الصناعي وزيادة نشاط الإنسان في اكتشاف العديد من المركبات الكيميائية الذي تستخدم في إغراض متعددة منها صناعة المبيدات و العقاقير و الصناعات الكيمياوية منها مركب رباعي كلوريد الكاربون، وهو من المركبات العضوية واسعة الاستخدام و رائحته خفيفة و يمكن تحديدها ولو كانت عند مستويات قليلة. يسبب سمية واضحة للكبد من خلال تحطيم خلاياه او تضررها من خلال اليات عديدة منها تنخر و تشحم الكبد [2].

أن الزيادة في فعالية انزيمات الكبد يمكن أن تحدث نتيجة لزيادة عمليات التصنيع في الخلية او كاستجابة لعمليات النمو الحاصلة في الخلية. توجد ثلاث أنزيمات مختلفة، Asparatate aminotransferase (AST) (ALT) Alanine aminotransferase Alkaline phosphatase (ALP) وتستخدم لقياس او تحديد مدى الضرر الذي يحصل في الخلايا الكبدية وخصوصا الانزيمين (GPT)و(ALP) اذ يتركز كل من هذين الانزيمين في الخلايا الكبدية [3].

ومن جانب آخر لاحظ Singh [4] أن المواد المضادة للآكسدة تؤدي الى استحثاث الزيادة في نشاط انزيم (GST) – glutathione S- transfers اذ يعد هذا الانزيم من الانزيمات متعددة الوظائف من خلال ازالة المتأيضات السمية لبعض المسرطنات و المطفرات.

يحتوي نبات البروكلي على مواد مضادة للاكسدة التي تحمي الخلايا من التلف و السرطان و تحتوي على كميات وافرة من المعادن و الفيتامينات الاساسية هي مركبات مهمة في تخفيف خطر الاصابة بالسرطان و يساعد على تعزيز مناعة الجسم ويقي ضعف الجهاز المناعي المرتبط بتقدم العمر حيث يقوم بتنشيط جينات و انزيمات مضادة للاكسدة معينة من الخلايا المناعية و تقليل الجذور الحرة بالاضافة الى أهميتها في علاج أمراض السرطان ومسبباتها و منع بعض التهابات الكبد [5،6].

تهدف الدراسة الحالية معرفة فعالية وقوة مستخلص المائي لنبات البروكلي ضد عملية تلف خلايا الكبد بعد تجريع الحيوانات بمركب العضوي CCL4 وذلك من خلال قياس فعالية كل من انزيم AST,ALT,ALP,GST قبل المستحث وبعده خلال فترة زمنية هي 7أيام.

المواد و طرائق العمل

تحضير المستخلص

يتم تحضير المستخلص المائي لنبات البروكلي بواسطة جهاز السوكسليت باستخدام نسبة خلط (1غم: 7.5 مل) ثم يسخن الخليط لغرض الاستخلاص لمدة ساعتين بعدها يرشح و يركز بواسطة المبخر الدوار ثم يجفف المحلول بجهاز التجفيف بالتبريد للحصول على مسحوق للمستخلص [7].

وتم قياس المركبات الفعالة في المسحوق مع نماذج قياسية مجهزة من شركة Spulco . تم استخدام جهاز HPLC من نوع ShimadzaA6 ونوع العمود ODS C18 [8].

الطورالمتحرك : A مكون من ماء لا ايوني + حامض الفسفوريك (1000-1) حجم / حجم .

: B مكون من أسيتونايترايل + حامض الفسفوريك (1000-1) حجم / حجم .

برنامج مزج للمحلولين الطور المتحرك أثناء عملية الفصل خلال مروره في عمود الفصل يتكون من -(20min),15%-(min.) B=0 % (45min0), 100%- (25min),30% و معدل سرعة الطور المتحرك .1ml/1min وقدرت الامتصاصية على طول موجي, (UV.202nm) .

ادارة الحيوانات المختبرية

استخدام 32 فأر ذكر من نوع Swiss albino بعمر 5-8 أسبوع وبوزن تقريبي 20-25غم وضعت في أقفاص بلاستيكية، تم تغذيتها بالعلف المركز والماء. و قسمت الى اربع مجاميع كما يلي :

المجموعة الأولى

تتكون من (أربعة فئران) وأعطيت محلول PBS (محلول دارئ الفوسفات) باليوم الاول والماء لمدة (ستة ايام) وتم قتلها في اليوم السابع عن طريق فصل الفقرات العنقية وتعتبر السيطرة السالبة .

المجموعة الثانية

تتكون من أربعة فئران و أعطيت مادة CCL4 بتركيز 3.2 ملغم / كغم في اليوم الاول عن طريق الفم وبعدها اعطيت الماء (لمدة ستة ايام) و تم قتلها في اليوم السابع عن طريق فصل الفقرات العنقية وتعتبر مجموعة السيطرة الموجبة.

المجموعة الثالثة

تتكون هذه المجموعة من اثنا عشر فأرا قسمت إلى ثلاثة مجاميع اعطيت محلول CCL4 بتركيز 3.2 ملغم / كغم عن طريق الفم وبعده 6 ساعات أعطيت المستخلص المائي لنبات البروكلي بثلاثة تراكيز هي 100 ، 200 ، 300 ملغم /كغم مستمرة لمدة ستة أيام ويتم قتلها في بداية اليوم السابع عن طريق فصل الفقرات العنقية.

المجموعة الرابعة

تتكون هذه المجموعة من اثنا عشر فارا قسمت إلى ثلاثة مجاميع اعطيت المستخلص المائي لنبات البروكلي عن طريق الفم بثلاثة تراكيز هي 100، 200 ، 300 ملغم /كغم لمدة ستة ايام وبعدها أعطيت المظفر CCL4 بتركيز 3.2 ملغ /كغم بعد مرور 6ساعات من نهاية أعطاء الجرعة السادسة و يتم تشريحها في بداية اليوم السابع عن طريق فصل الفقرات العنقية .

تحضير محلول الدم

قتلت الحيوانات عن طريق الازاحة العنقية و أخذ الدم من قلب الفأره ووضع في أنبوبة أختبار تحتوي على (EDTA) كمادة مانعه التخثر. مزج المحلول و نبذ بواسطة جهاز نبذ المركزي بسرعة 2000 دوره / دقيقة لمدة 10دقائق واستخدم الراشح في قياس الإنزيمات.

الاختبارات الإنزيمية Enzymatic Assays

تحديد مستوى و فعالية إنزيم (Alkaline phosphatase) (ALP)

ان العينه المستخدمة في هذا الاختبار هي المصل (Serum) و لتحديد فعالية انزيم (ALP) (Alkaline phosphatase) واتبعت [9] حيث تم استخدام اربعة انابيب اختبار لكل نموذج تمثل الاولى عينة النموذج Sample و الثانية ضابطة النموذج Sample blank و الثالثة تمثل العينة القياسية Standard واخيرا تمثل الرابعة العينه الضابطه Reagent blank وحضرت هذه النماذج تبعا لتعليمات العدة المستخدمة للأنزيم، مزجت جيدا ووضعت الانابيب في مكان مظلم لمدة 5 دقائق، بعدها تم قياس الكثافة الضوئية للمحاليل على طول موجي 510nm باستخدام جهاز المطياف الضوئي تحديد مستوى وفعالية انزيمي (AST, ALT).

تمت دراسة مستوى وفعالية هذين الإنزيمين في مصل دم الحيوانات المختبرية والذي من خلاله تم تحديد فعالية هذين الانزيمين [10] وكما يلي : استخدمت أنبوبتي اختبار لكل نموذج ، تمثل الاولى العينه الضابطه Reagent blank و الثانية عينة النموذج Sample وحضرت هذه النماذج تبعا لتعليمات العدة المستخدمة للإنزيم و يمكن معرفة فعالية هذين الانزيمين في المصل عن طريق تعليمات الخاصة بكل إنزيم من هذين الانزيمين وفق الطريقة المذكورة من قبل الشركة المجهزة .Rand ox, U.K.

تحضير محلول الدم (تحديد مستوى و فعالية أنزيم GST)

تقتل الحيوانات عن طريق الازاحة العنقية و يأخذ الدم من قلب الفأره و يوضع في أنبوبة أختبار يحتوي على (EDTA) كمادة مانعه التخثر . مزج المحلول و نبذ بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000rpm لمدة 10 دقيقة بواسطة محلول ملح الطعام 0.9% . يترك الراشح ويضاف 1مل من الماء المقطر ثم يمزج جيداً و يحفظ بدرجة -20م إلى حين استخدامه لقياس أنزيم GST .

تحديد مستوى و فعالية أنزيم GST

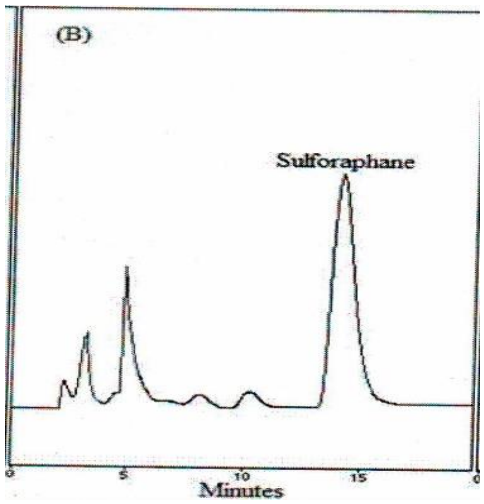
النموذج المستعمل هو نفس النموذج المحضر المستخدم لقياس فعالية أنزيم glutathione–S- transfers، وفق طريقة Francoise [11].

أخضعت نتائج مستويات الإنزيمات ALP, AST, ALT الكبد ومصل الدم GST إلى تحليل التباين باستخدام برنامج الإحصائي الجاهز SAS (2001) لمعرفة اقل فرق معنوي بين معدلات المجاميع تم استخدام تحليل Least Significant difference / LSD عند مستوى احتمالية (0.05) لمعرفة الفروق المعنوية بين مستويات المعاملات المختلفة.

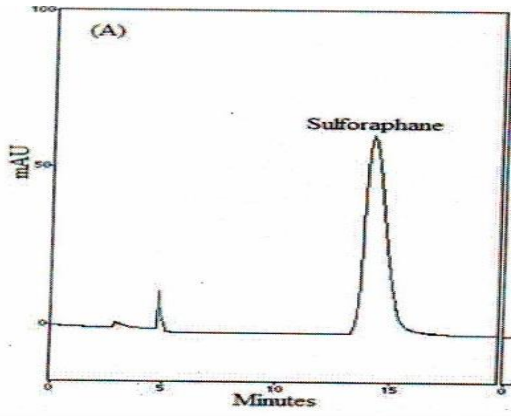
النتائج و المناقشة

فحوصات HPLC

يبين شكل (1) عملية فصل مستخلص نبات البروكلي اذ يوضح مركب سلفورافين و زمن الاحتجاز هو (15) دقيقة. وشكل (2) يبين مركب سلفورافين القياسي حيث يوضح زمن الاحتجاز هي (15) دقيقة بواسطة جهاز الكروماتوغرافي عالي الكفاءة HPLC[12] حيث تبين مطابقتهما الى زمن الاحتجاز.



شكل (1): يوضح الفصل لمركب السلفورافين من المستخلص المائي لنبات البروكلي بجهاز HPLC كروموترغرافي عالي الاداء



شكل (2) :يوضح الفصل للمحلول القياسي للمركب السلفورافين بجهاز HPLC كروموترغرافي عالي الاداء .

مستوى فعالية أنزيم ALP

انزيم ALP يتواجد في مناطق مختلفة في الجسم مثل الامعاء و نخاع العظم و الكبد و الكلية ولكن بتراكيز مختلفة و قليله مقارنة مع انزيمات الاخرى. تتغير فعالية الانزيم بتغير درجة الحرارة و قيمة دالة الحموضة (pH)، وكذلك تركيز المادة الاساس مع وجود المواد المنشطه أو المثبطة في وسط التفاعل [13] ونلاحظ في جدولي رقم (2,1) نتائج دراسة تاثير ثلاثة تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات البر وكلي على أنزيم ALP في دم الفئران المختبرية قبل و بعد الحقن لفترة سبعة أيام من التجريع لمعرفة تاثير مادة CCL_4 خلال مدة التجريع مقارنة مع نماذج السيطرة السالبة و السيطرة الموجبة فوجد هناك فروقات معنوية عالية.

من جدول (2,1) نلاحظ انخفاض في مستوى فعالية إنزيمALP في مجموعة المستخلص 100ملغم /كغم مقارنة مع المجموعة المعاملة بمادة CCl_4. إما عند مجموعة المستخلص 200ملغم /كغم فقد لوحظ انخفاضا أكثر من مجموعة 100ملغم / كغم وهذا دليل على فعالية المستخلص. ووجد في مجموعة المستخلص 300ملغم / كغم انخفاضا أكثر بالمقارنة مع المجموعة 100و 200 ملغم /كغم وهذا دلالة على تأثير زيادة تركيز المستخلص المائي على نشاط و فعالية إنزيم ALP [14]. مما يدل على انه هناك تأثيرا لمستخلص نبات البروكلي أكثر فعالية عند إعطاءه قبل مادة رابع كلوريد الكاربون (المستحث) وليس بعد (المستحث) لفترة سبعة أيام مما يدل على إن الخلايا كانت تحتوي على مادة مضادة للأكسدة و منشطة لإنزيم ALP بعد إعطاء المستحث. ان نبات البروكلي يحتوي على مركبات لها القابلية على عدم حدوث أي ضرر للبروتينات التي تثبط الإنزيمات التي تعمل معا لمنع حدوث الإضرار الناجمة من عملية أكسدة

محتويات الخلية مثل الأحماض النووية و البروتينات و الدهون ومنها الأنظمة التي تمنع حدوث أنواع هذه التفاعلات أو إزالتها قبل أن تسبب الضرر لمحتويات الخلية.

مستوى فعالية أنزيمي ALT, AST

من جدول (2,1) نلاحظ انخفاض في مستوى فعالية أنزيمALT في مجموعة المستخلص المائي 100ملغم /كغم مقارنة مع المجموعة المعاملة بمادة CCL_4 تركيزها 3.2ملغم / كغم. أما عند مجموعة المستخلص 200ملغم /كغم لوحظ انخفاض أكثر من مجموعة (100ملغم / كغم) وهذا دليل على فعالية المستخلص . ووجد في مجموعة المستخلص 300ملغم / كغم انخفاض أكثر بالمقارنة مع المجموعة 100و 200 ملغم /كغم وهذا دلالة على تأثير زيادة تركيز المستخلص على فعالية الإنزيم ALT.

من جدول (1) نلاحظ انخفاض في مستوى فعالية إنزيمAST في مجموعة المستخلص 100ملغم /كغم مقارنة مع المجموعة المعاملة بمادة ccl_4 تركيزها 3.2 ملغم/ كغم . أما عند مجموعة المستخلص 200ملغم /كغم لوحظ انخفاض أكثر من مجموعة 100 ملغم / كغم وهذا دليل على فعالية المستخلص . ووجد في مجموعة المستخلص 300ملغم / كغم انخفاض أكثر بالمقارنة مع المجموعة 100و200 ملغم /كغم وهذا دلالة على تأثير زيادة تركيز المستخلص على فعالية الإنزيم AST.

ان أنزيم ALT يتواجد بنسب عالية في الكبد أكثر من بقية الانزيمات و يعتبر كمقياس لمعرفة مدى تضرر الخلايا الكبد يه. اما أنزيم AST يتضح بان نسبته تتذبذب بين الارتفاع و الانخفاض علما بان هناك بعض الامراض المؤدية الى رفع او خفض نسبة أنزيمات الكبد عن القيمة الطبيعية لها و دور هذه مستخلص المائي لنبات البروكلي في خفض نسبة الانزيمات عند ارتفاعها أو رفع نسبتها عند انخفاضها و ذلك للاحتوائها على مركب سلفورافين و كميات وافرة من المعادن و الفيتامينات الأساسية [15].

يلاحظ في جدول (2,1) بان فعالية الإنزيمات AST, ALT قد تزداد عند اعطاء مركب CCl_4 مقارنة مع المجموعة السيطرة السالبة ولكنها تقل عند استخدام تراكيز مختلفة من المستخلص لمدة سبعة ايام مقارنة مع المجموعة السالبة خلال فترة التجريع حيث توضح بان استخدام المستخلص قبل اعطاء مركب رابع كلوريد الكاربون هو أفضل من اعطاءه بعد اعطاء المركبCCL_4 لان الجسم يكون يحتوي على مواد مضادة للاكسدة و كذلك بانها تساعد على زيادة مناعة الجسم . [16]

جدول (1): يوضح تأثير مستخلص المائي لنبات البروكلي في انزيمات وظائف الكبد للحيوانات المجرعة مدة سبعة ايام قبل اعطاءه مركبCCL_4

المعاملة	الفعالية النوعية لأنزيم ALP وحدة / ملغم بروتين	الفعالية النوعية لأنزيم ALT وحدة / ملغم بروتين	الفعالية النوعية لأنزيم AST وحدة / ملغم بروتين
السيطرة السالبة (ماء مقطر)	44.2± 0.13 e	84.8± 0.3 e	57.15± 0.4e
السيطرة الموجبة ccl4 بجرعة 3.2 ملغم / كغم	69.2±0.3 a	106.6±1.1a	79.8±2.1a
المستخلص بجرعة(100ملغم / كغم)	65.8±2.1b	98.3±1.13b	71.8±0.8b
المستخلص بجرعة(200ملغ / كغم)	56.9±0.8 c	90.4±0.8c	68.2±0.4c
المستخلص بجرعة(300 ملغم /كغم)	45.13±1.0d	86.3±0.25d	60.1±0.32d

التحليل الإحصائي ($P \leq 0.05$) .

جدول رقم (2): يوضح تأثير مستخلص المائي لنبات البر وكلي في إنزيمات وظائف الكبد للحيوانات المجرعة مدة سبعة أيام بعد إعطاءه مركب CCL_4

المعاملة	الفعالية النوعية لأنزيم ALP وحدة / ملغم بروتين	الفعالية النوعية لأنزيم ALT وحدة / ملغم بروتين	الفعالية النوعية لأنزيم AST وحدة / ملغم بروتين
السيطرة السالبة (ماء مقطر)	44.2± 0.13 e	84.8± 0.3 e	57.15± 0.4e
السيطرة الموجبة CCL4 بجرعة 3.2 ملغم / كغم	69.2±0.3 a	106.6±1.1a	79.8±2.1a
المستخلص بجرعة(100ملغم / كغم)	66.8±1.2b	99.2±1.8b	74.1±1.8b
المستخلص بجرعة(200ملغ / كغم)	58.8±0.71c	91.8±0.8c	69.1±0.8c
المستخلص بجرعة(300 ملغم /كغم)	50.8±1.6d	88.8±1.12d	61.9±1.6d

التحليل الاحصائي ($P \leq 0.05$)

مستوى فعالية أنزيم GST في كريات الدم الحمراء

من جدول (4,3) نلاحظ انخفاض في مستوى فعالية إنزيمGST في مجموعة المستخلص المائي 100ملغم /كغم مقارنة مع المجموعة المعاملة بمادة CCL_4 تركيزها 3.2 ملغم / كغم. إما عند مجموعة المستخلص 200ملغم /كغم لوحظ انخفاض أكثر من مجموعة 100ملغم/ كغم وهذا دليل على فعالية المستخلص. ووجد في مجموعة المستخلص 300ملغم / كغم انخفاض أكثر بالمقارنة مع المجموعة 100و 200 ملغم /كغم وهذا دلالة على تأثير زيادة تركيز المستخلص على فعالية الإنزيم GST.

يلاحظ من جدول (4,3) بان فعالية الإنزيم GST قد تزداد عند إعطاء مركب ccl_4 مقارنة مع المجموعة السيطرة السالبة ولكنها تقل عند استخدام تراكيز مختلفة من المستخلص لمدة سبعة أيام مقارنة مع المجموعة السالبة خلال فترة التجريع حيث توضح بان استخدام المستخلص قبل إعطاء مركب رابع كلوريد الكاربون هو أفضل من إعطاءه بعد مركب رابع كلوريد الكاربون لان الجسم يكون يحتوي على مواد مضادة للأكسدة و كذلك بأنها تساعد على زيادة مناعة الجسم [17] .

يتضح من النتائج اعلاه بان المستخلص المائي لنبات البروكلي له القابلية على تعزيز قوة المادة المزيلة للاكسدة حيث تقلل من الجذور الحرة و تتحدد معها وبالتالي تثبيط تكوين الأجسام الغريبة الجذور الحرة والتي تأثر على تكون المادة الاساس لعمل أنزيم GST أو

تحول عدم حدوث سرطان بواسطة تحفيز مختلف فعالية الاشكال المتساوية من أنزيم كليتوثايونين –S– الانتقالي في حميع حالات سرطان الكبد [18] .

هناك العديد من البحوث والتقارير التي تشير إلى أنواع مختلفة من أمراض السرطان منها سرطان المريء و العصارات المعوية أي سرطان المعدة و تأثيرها على فعالية أنزيم GST و لذا يجب لحفاظ على توازن معدل وجود أنزيم GST و كذلك لمحافظة على محتويات أو مكونات أنزيم GST.

جدول (3): يوضح تأثير مستخلص المائي لنبات البروكلي على فعالية أنزيم GST بعد التجريع لمدة سبعة أيام قبل إعطاءه مركب CCL_4 .

معاملة	السيطرة السالبة (ماء مقطر)	السيطرة الموجبة ccl_4 بجرعة 3.2 ملغم / كغم	المستخلص بجرعة (100ملغم / كغم)	المستخلص بجرعة (200ملغ / كغم)	المستخلص بجرعة (300ملغم /كغم)
الفعاليةلنوعية لأنزيمGST وحدة ملغم/ بروتين	0.97± 0.05^{e}	2.1±0.03a	1.8±0.09b	1.52±0.01c	1.2±0.05d
التحليل الإحصائي ($P \leq 0.05$)					

جدول (4): يوضح تأثير مستخلص المائي لنبات البر وكلي على فعالية أنزيم GSTبعد التجريع لمدة سبعة أيام بعد المعاملة بمركب CCL4 .

معاملة	السيطرة السالبة (ماء مقطر)	السيطرة الموجبة ccl_4 بجرعة 3.2 ملغم / كغم	المستخلص بجرعة 100ملغم / كغم	المستخلص بجرعة 200ملغ / كغم	المستخلص بجرعة 300ملغم /كغم
الفعالية النوعية لأنزيم GST وحدة ملغم/ بروتين	0.97 ±0.05^{e}	2.1±0.03^{a}	1.91±0.9^{b}	1.7± 0.03^{c}	1.4±0.8d
التحليل الإحصائي ($P \leq 0.05$)					

الاستنتاج

يتضح من نتائج الدراسة إن التراكيز العالية لمستخلص المائي لنبات البروكلي له فوائد ذات قيمة عالية و كذلك يجب استخدامه قبل مادة رابع كلوريد الكاربون لأنه يحتوي على مركب سلفورافين و كذلك العناصر الأساسية للسيطرة على فعالية كل من أنزيم ALP وكذلك إنزيمي GOT, GPT وألإنزيم GST في مصل دم الحيوان قبل و بعد أعطاء مادة رابع كلوريد الكاربون.

المصادر

1. Mahro, B. and Timm, M. (2007). Potential of biowaste from the food industry as a biomass resource. Engineering in Life Science. 7(5): 457-468.
2. Morimitsu, Y., Nakagawa, Y., Hayashi, K. Fujji, H. Kumagai, T. Nakamura, Y. et al. (2002). Asulforaphane analogue that potently activates the Nrf2 – dependent detoxifivation pathway. The Journal of Biological Chemistry. 277 (5): 3456- 3463.
3. Boyd, J.W. (1988). J. Comp. path. 98: 381-400.
4. Singh, S.V. Creadon, G., Das, M., Mukhtar, H. and Awasthi, Y.C. (1987). Glutathione– S-transferases of mouse lung selective binding of benzo (a)pyrenemetaboliter by the subunit which are preferentially by t- butylated hydroxyanisole, Biochem. J. 243, 351- 348.
5. Nakagawa, K., Umada, T., Higuchi, O., Tsuzuki, T., Suzuki, T. and Miyazawa, T. (2006). Evaporative light – scattering analysis of sulforaphane in broccoli sample: quality of broccoli products regarding sulforaphane contents. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 54(25): 7383-7391.
6. Rungapamestry, V., Duncan, AJ., Fuller, Z., and Ratcliffe, B. (2077a). Effect of cooking brassica vegetable on the subsequent hydrolysis and metabolic fate of glucosinolates. Proceedings of the Nutrition Society. 66(1): 69-81.
7. Vallejo, F. and Garcia –Viguera, C. (2003). Health – promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 51(10):3029-3034.
8. Yumik, N., Sumiko, T. And Yasuhide, T. (2008). Curcumin protects the rat liver from CCl4 – caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. Journal of Health Science. 49 (1) : 45-54.
9. Kind, P.R.N. and KINg, E.J. (1954). Essential of medical microbiology, botanical Muscum, anethnobotanical study . J.Cln. Path. 7: 322-326.
10. Reitaman, S. and Franker, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetatic and glutamic pyruvic transaminases American. J. Clin. Path.18: 6b.

11. Francoise, C., Pierre, M. Jacqueline, R. and Henri, J. (1989). plant extracts to accelerate healing and reduce hnflammation cosmetics and toiletries. Chemical Clinical, Acta. 209-217.

12. Liang, H., Yuan, QP., Dong, HR. and Liu,YM. (2006). Determination of sulforaphane in broccoli and cabbage by high – performance liquid chromatography. Journal of Food Composition and Analysis. 19 (5): 473-476.

13. Khan, B.A., Abraham, A. and Leclanma, S. (2003). Hematological and histological studies after curry leaf (Murray a Koenig I) and mustered (Brasses jounce) feeding in rats, Indian, J. Med. Res. 102: 184-186.

14. Bones, Am.,and Rossiter, JT. (2006).The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. Phytochemistrry. 67(11): 1053-1067.

15. Paula, D.C.F. and Andreas, K. (2005). Combined used of serum enzyme levels as tumor marker in cervical carcinoma patients Tumor Biol. 15, 9, 1773-78.

16. Berg Meyer, H.U. (1983). Methods of enzymatic analysis, 111-V,3rd Edit, Verlag Chemises, Weinhein. Cited by Boyd, JW.(1988).

17. Khan, B.A., Abraham, A. and Leclanma, S. (2003). Hematological andhistological studies after curry leaf (Murray a Koenig I) and mustered (Brasses jounce) feeding in rats , Indian, J. Med. Res. 102: 184-186.

18. John, Shi., Jianmei, Yu . and at el. (2005). Food Agriculture and environment vol. 1(2): 42-47.