دراسة التأثيرات السمية الخلوية للمستخلص المائي لبذور الحلبة ومعقد البلاديوم (II) الجديد على الخط الخلوي لسرطان امعاء الفئران في العراق

ايمان هاشم عبد الرزاق
قسم الكيمياء ، كلية العلوم للبنات ، جامعة بغداد-العراق.

الخلاصة

تم استخدام نبات الحلبة في الطب لعلاج التهاب المفاصل، تهيج الرئة ومرض السكر وغيرها. كما أن هنالك العديد من معقدات البلاديوم المصنعة والتي لها فعالية ضد خطوط خلوية سرطانية. تم في هذه الدراسة تقييم تأثير كل من المستخلص المائي لبذور نبات الحلبة ومعقد البلاديوم (II) الجديد ذي الصيغة [PdL2].2EtOH اذ ان L=2-hydroxy phenyl piperonalidine وقد تبين امتلاك كلآ منها تأثيراً مضاداً لنمو الخلايا السرطانية وتمت المقارنة مع العقار المضاد للسرطان السزبلاتين من خلال توظيف نظاماً للفحص خارج جسم الكائن الحي *in vitro* لاناث الفئران نوع Balb/c عن طريق تطبيق اختبار السمية الخلوية والمتضمن تثبيط النمو Growth Inhibitory في الخط الخلوي L20B لسرطان الامعاء. تمت معاملة الخلايا السرطانية باربعة تراكيز للسزبلاتين وهي 250,125,62.5,31.25 مايكروغرام/ مل وقد استخدمت التراكيز نفسها لمعقد البلاديوم [PdL2].2EtOH والمستخلص المائي لبذور الحلبة واستمر طور المعاملة على مدتي تعريض 48 و 72 ساعة اظهرت النتائج ان لمستخلص بذور الحلبة المائي ومعقد البلاديوم (II) الجديد تأثيراً مضاداً للخلايا السرطانية من خلال تزايد معدلات التثبيط للخلايا السرطانية عند تراكيز مختلفه والذي تقارب مع تأثير السزبلاتين حيث ازداد التثبيط بمقدار 52.32,44.60% و 42.97,37.93% لدى الخلايا السرطانية المعامله بتركيز 250 مايكروغرام/ مل بمعقد البلاديوم (II) والمستخلص على التوالي عند مدتي تعريض حيث لم تظهر فروق معنوية بالمقارنه مع السزبلاتين cis-platin.

المقدمة

يعد مرض السرطان من الامراض الخطير التي تصيب كافة الاعمار وينشأ بسبب وجود شذوذ في المادةالوراثية للخلايا المتحولة ويعزى هذا الشذوذ الى تأثيرات المواد المسرطنة مثل المواد الكيمياوية والاشعاعية والمسببات الجرثومية المرضية [1] .السزبلاتين احد العلاجات الكيمياوية ذي الاسم العلمي cis-dichlorodiamineplatinum(II)(cis-Pt) وأستخدم لعلاج العديد من الاورام خلال القرن الماضي ثم اتجهت الدراسات الحالية نحو تصنيع مركبات تتضمن عناصراخرى غير البلاتين لها فعالية مضاده للاورام ذات كفاءة اعلى وسمية اقل من السزبلاتين ومن بينها معقدات البلاديوم (II) والنيكل والروديوم التي احدثت فعالية ضد انواع منتخبة من البكتريا منها *Escherichiacoli* و *Staphylococcusaureus* والفطريات *Candidaalbicans* عند التراكيز العالية من المعقدات[2]. لقد تقدم العمل في مجال الكيمياء المضاده للسرطان بأستخدام معقدات تحوي في تركيبها على فلز انتقالي مثل البلاديوم وذلك خلال السنوات العشر الماضية حيث اثبت المعقد 1,2-napthoquinone-2-thiosemicarbazonePalladium(II) تأثيراً مضاداً على الخط الخلوي MCf-7 لسرطان الثدي للانسان [3]. اشارت دراسة اخرى الى دور معقدات البلاديوم (II) في تثبيط نمو خلايا سرطان الثدي دون احداث تأثير سمي على الخلايا الطبيعية [4]. وأن من بين الاساليب الجديده في علاج السرطان استخدام المصادر الطبيعية فقد درس باحثين فعل المستخلصات النباتية في العراق لتثبيط انقسام الخلايا السرطانية خارج جسم الكائن الحي وذلك باستخدام الخطوط السرطانية ومن هذه النباتات سم الفراخ *WithaniaSamniferalDun* ونبات الميرامية والدفلة [5-7]. تم في هذه الدراسة اختيار نبات الحلبة اذ يعتبر احدالنباتات الطبية حيث يزرع في مناطق استوائية وشبه

الاستوائية والذي يعود الى العائلة البقولية *Fabaceae* ويتبع الجنس *Trigonella* والاسم العلمي له *Foenum graecum* [8]. يحوي هذا النبات العديد من المركبات الكيمياوية ومنها الفلافونيدات وابرزها، Luteolin، Orientin، Quercetin apigenin وغيرها والصابونينات والكلا يكوسيدات واهمها diosgenin فضلاً عن وجود الزيوت الثابتة والمتطايرة والاحماض الامينية الحرة وغيرها [9] و[10]. تم استخدام نبات الحلبة في مجال الطب لعلاج خفض سكر الدم لدى مرضى السكري وفي معالجة التهاب المفاصل والتهاب الرئه وغيرها [11]. وبينت دراسة لاحقه امتلاك المستخلص خواص مضادة للاكسدة فضلا عن تاثيره الدفاعي ضد تسمم الفئران بالكحول [12]. ونظرا لاحتواء نبات الحلبة على العديد من المركبات الفعالة فقد هدفت هذه الدراسة تقيم كفاءة المستخلص المائي لبذور الحلبة ومعقد البلاديوم (II) الجديد ذي الصيغة [PdL2].2EtOH حيث L=2 hydroxy phenyl piperonalidene في نظام خارج الجسم *in vitro* على الخط الخلوي L20B لسرطان امعاء الفئران نوع Balb/c من خلال تطبيق اختبار السمية الخلوية بالمقارنة مع العقار المعروف cis-platin السزبلاتين.

المواد وطرائق العمل

1- تحضير عقار cis-platin ومعقد البلاديوم الجديد.

جهز العقار المضاد للسرطان السزبلاتين cis-platin من شركة Ebew 10ملغم / 20 مليلتر.وتم تجهيز معقد البلاديوم المحضر لاول مرة Pd](C14 H10NO3)2].2EtOH حسب طريقة يوسف [2]. وبتركيز 10 ملغم/20 مليلتر من المحلول المنظم (0.9 % NaCl، PH=7.4) وقد تم الاحتفاظ بالمحلول العالق للمعقد في قنينة داكنة وبدرجة (8-2)°م لحين الاستخدام.

2- تحضير المستخلص المائي لبذور الحلبة

تم تحضير المستخلص المائي لبذور الحلبة باتباع الطريقة التي استخدمها سلمان [1] وباستخدام جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhlet) تجري عملية الفصل بدرجه حرارية لا تزيد عن 100°م. يوضع 15 غم من النموذج النباتي (البذور) بداخل الانبوب المرشح (Thumble) الخاص بجهاز الاستخلاص المستمر الحاوي على 100 مل من الماء المقطر في دورق دائري، يسخن الجهاز بدرجة 100°م لحين تبخير جميع المذيب في المزيج بعدها يتم تحويل جهاز الاستخلاص الى جهاز تقطير حتى تصبح طبقة سميكة من المادة حفظت بشكل مسحوق في قنينة محمكة السد لحين استخدامها في الدراسة. تم اذابة 10 ملغم من مسحوق المستخلص المائي لبذور الحلبة في 20 مليلتر من المحلول المنظم (الخزين المركز).

3- الكشف التمهيدي عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي لبذور الحلبة.

حضرت محاليل الكواشف الاستدلالية لتحديد نوعية المركبات الثانوية الموجودة في المستخلص المائي لبذور الحلبة حسب طريقة سلمان [1]. والمتضمنة الكشف عن الفينولات Phenols والستيرويدات Steroids والراتنجات Resins. والكشف عن التربينات Terpenoids والقلويدات Alkaloids والتانينات Tannis والصابونينات Saponins حسب طريقة Ayoola وجماعته [13].

4- الخط الخلوي السرطاني

استخدم في هذه الدراسة الخط الخلوي السرطاني L20B وهو عبارة عن خلايا سرطان لامعاء اناث الفئران نوع Balb/c. تم تجهيزنا بهذا الخط تحضير جميع المحاليل حسب الطريقة المتبعة في مركز بحوث التقنيات الاحيائية/ جامعة النهرين. وقد تم ادامة الخط الخلوي السرطاني وذلك بتنميته في الوسط الزرعي MEM والمجهز بـ 10% من مصل جنين البقر Fetal Calf Serum وذلك بملاحظة هذه الخلايا وعند تكوينها لطبقة احادية كاملة تزرع ثانوياً Subculture ويكون ذلك من خلال التخلص من وسط النمو القديم، ومن ثم تغسل الخلايا بدارئ الفوسفات PBS المعقم (بدرجة حرارة 121°م لمدة 15 دقيقة ثم يضاف محلول التربسين– فرسين بمقدار (2-3) مليلتر مع تحريك قنينة الزرع برفق لمدة (3-5) دقائق. يتم بعدها التخلص من محلول التربسين– فرسين ثم تحضن الخلايا في درجة حرارة 37°م لحين انفصال الخلايا من ارضية القنينة ومن بعضها، ثم يضاف لها وسط نمو جديد ويعاد توزيعها في قناني الزرع الخاصة وتحضن بدرجة 37°م.

- تهيئة الوسط الزرعي والخط الخلوي

تم تهيئة الوسط الزرعي وذلك لتنمية الخط الخلوي السرطاني L20B كما وقد اجريت الخطوات الخاصة بالزرع النسيجي تحت ظروف معقمة وفقاً لطريقة سلمان[1].

5- اختبار السمية على الخط الخلوي السرطاني L20B

عقمت المحاليل الثلاث (المستخلص المائي لبذور الحلبة ومعقد البلاديوم (II) الجديد PdL2 والسزبلاتين) وذلك باستعمال مرشح ذي ثقوب بقطر 0.22µm وحضر لكل محلول اربعة تراكيز وهي (250,125,62.5,31.25) مايكروغرام/مليلتر وتحت ظروف معقمة. وقد استخدمت التراكيز المحضرة جميعها مباشرة بعد اكمال عملية التحضير. جهز عالق الخلايا عن طريقة معاملة محتوى قنينة الزرع النسيجي حجم 25 مليلتر بمحلول التربسين- فرسين ثم اضيف له 20 مل من الوسط الزرعي الحاوي على المصل بنسبة 10%. تم مزج عالق الخلايا جيداً و نقل 0.2 مليلتر بعد كل مزج جيد الى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذي القعر المسطح باستعمال ماصة اوتوماتيكية.تم ترك الطبق في حاضنة بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة لحين التصاق الخلايا في الحفر مكونة الطبقة الاحادية وبعدها يتم التخلص من الوسط الزرعي القديم الموجود في الحفر ومن ثم يتم اضافة 0.2 مل من التراكيز المحضرة سابقاً لكل من المستخلص المائي لبذور الحلبة ومعقد البلاديوم الجديد والسزبلاتين وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز. فضلاً عن تحضير ثلاثة مكررات كسيطرة سالبة (خلايا الخط السرطاني ومحلول منظم) وحضنت الاطباق بدرجة37°م. بعد مرور مدة التعريض المحدده للحضن (48و72) ساعة يخرج الطبق من الحاضنة وازيل الوسط الزرعي ثم اضيف له محلول صبغة البنفسج البلوري للحفر الحاوية على الخلايا جميعها وبحجم 0.2 مايكروليتر لكل حفرة. يعاد الطبق مرة ثانية الى الحاضنة لمدة 20 دقيقة، بعدها يخرج الطبق ويجري التخلص من المحلول بغسل الخلايا بالماء المقطر لحين زوال الصبغة الزائدة التي تكون الخلايا الحية قد اصطبغت بها.اما الميتة فلم تصطبغ بها. بعد ذلك تجفف الاطباق لتهيئتها للقراءة وذلك باستخدام جهاز الاليزا Elisa بطول موجي 492 نانومتر.

- قياس معدل نسبة التثبيط % Determination of Inhibitor Rate

يتم تحويل قيم التأثير التثبيطي في الخط الخلوي السرطاني الى نسب مئوية وفقاً للمعادلة التالية [14].

$$\text{النسبة المئوية لتثبيط الخلايا} = \frac{\text{قراءة امتصاصية خلايا السيطرة ــ قراءة امتصاصية الخلايا المعاملة لكل تركيز}}{\text{قراءة امتصاصية خلايا السيطرة السالبة}} \times 100$$

- التحليل الاحصائي

خضعت نتائج الدراسة الى التحليل الاحصائي لغرض معرفة الفروق المعنوية بين معدلات تراكيز المستخلص الخام المائي لبذور الحلبة ومعقد البلاديوم (II) مقارنة بالعقار السزبلاتين عند مستوى احتمالية 5% لاحتمال الخطأ باستخدام برنامج SPSS الاحصائي وتحليل ANOVA [15].

النتائج والمناقشة

-الكشف الكيميائي التمهيدي

-يبين الجدول **(1) نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي لبعض المركبات الفعالة لمستخلص الخام المائي للحلبة.**

المركب الفعال	الكاشف المستخدم	دليل الكشف	النتيجة
التانينات Tannins	- خلات الرصاص - كلوريد الحديديك	راسب هلامي محلول اخضر مزرق	+ +
الكلايكوسيدات Glycosids	كاشف بندكت	راسب احمر	+
الفلافونيدات Flavonoids	كحول اثيلي+ هيدروكسيد البوتاسيوم	محلول اصفر	+
الفينولات Phenols	كلوريد الحديديك	راسب اخضر مزرق	+
الراتنجات Resins	كحول اثيلي 95% غليان ← 4 %HCl	عكورة	+
الصابونيات Saponins	رج المستخلص	رغوة كثيفة	+
التربيينات Trepenoids	كلوروفورم حامض الخليك اللامائي+ حامض الكبريتيك ←	محلول بني	+
الستيرويدات Steroids	نفس كاشف التربيينات يترك لمدة يوم حتى يظهر اللون	محلول ازرق داكن	–
القلويدات Alkaloids	كاشف ماير	راسب ابيض	+

علامة (+) تدل على ايجابية الكشف.
علامة (–) تدل على سلبية الكشف.

-التأثير السمي على نمو الخلايا السرطانية

-مدة التعريض 48 ساعة

تم دراسة التأثير التثبيطي (نسبة التثبيط) الحاصل للخلايا السرطانية بعد معاملتها بتراكيز مختلفة من معقد البلاديوم (II) الجديد والمستخلص المائي لبذور الحلبة بالمقارنة مع عقار السزبلاتين خلال مدة تعريض 48 ساعة. وقد اظهرت النتائج الاحصائية كما موضح في الجدول (2) والشكل (1) عدم وجود فروق معنوية لكل من معقد البلاديوم (II) والمستخلص المائي لبذور الحلبة عند التراكيز الاربعة (250,125,62.5,31.25µg/ml) بالمقارنة مع السزبلاتين بينما حصلت فروق معنوية بمستوى احتماليه ($p<0.05$) عند معاملة الخلايا السرطانية بكل من معقد البلاديوم (II) والمستخلص المائي لبذور الحلبة بين التراكيز الواطئة 26.5µg/ml، و31.25µg/ml مقارنة بالتراكيزالاخرى.

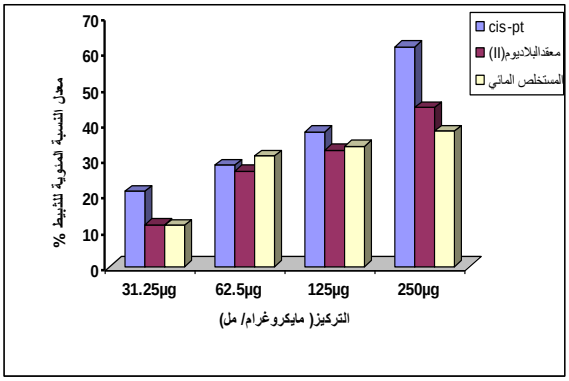
جدول (2)

معدلات نسب التثبيط للخلايا السرطانية لاناث الفئران في الخط الخلوي L20B بعد مدة تعريض 48 ساعة.

المعاملة التركيز µg/ml	النسب المئوية للتثبيط % (المعدل ± الانحراف القياسي) cis-Pt	PdL2	المستخلص المائي للحلبة
31.25	C,a 14.79 ±5.970	C,a 11.65 ±5.918	B,a 11.45 ±5.163
62.5	BC,a 28.50 ±3.4861	B,a 26.687 ±6.712	A,a 30.997 ±7.147
125	B,a 37.78 ±10.482	AB,a 32.67 ±4.635	A,a 33.76 ±8.124
250	A,a 61.547 ±12.978	A,a 44.60 ±6.059	A,a 37.93 ±7.428

❖ الاحرف المختلفة الصغيرة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $p< 0.05$ بين معدل الصف الواحد.

❖ الاحرف المختلفة الكبيرة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $p< 0.05$ بين معدل العمود الواحد.



الشكل (1) مقارنة تأثير معدلات نسب التثبيط على الخط الخلوي السرطاني L20B للفئران مع العقار cis-Pt بعد مدة تعريض 48 ساعة.

- **مدة التعريض 72 ساعة**

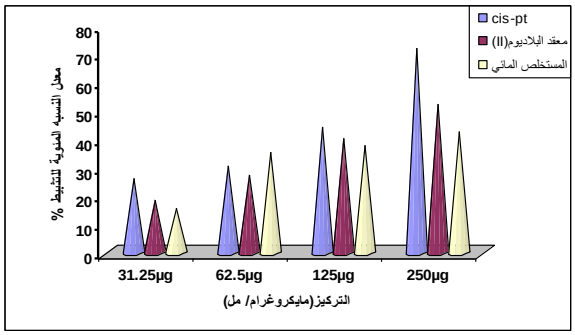
بينت النتائج كما ملاحظ في الجدول (3) والشكل (2) وخلال مدة تعريض 72ساعة ان التأثير التثبيطي لمعقد البلاديوم (II) كان مقارباً لتأثيرالمستخلص المائي لبذور الحلبة وعقار السزبلاتين عند التراكيز الاربعة المختلفة حيث لم تظهر فروق معنوية.وعند معاملة الخلايا السرطانية بمستخلص الحلبة المائي حصل تأثير تثبيطي وظهرت فروق معنوية بمستوى احتمالية ($p< 0.05$) بين التركيزيين 62.5µg/ml ، و31.25µg/ml مقارنة بتأثير معقد البلاديوم (II) والسزبلاتين عند التراكيز.

الجدول (3)

معدلات نسب التثبيط للخلايا السرطانية لاناث الفئران في الخط الخلوي L20B بعد مدة تعريض 72 ساعة.

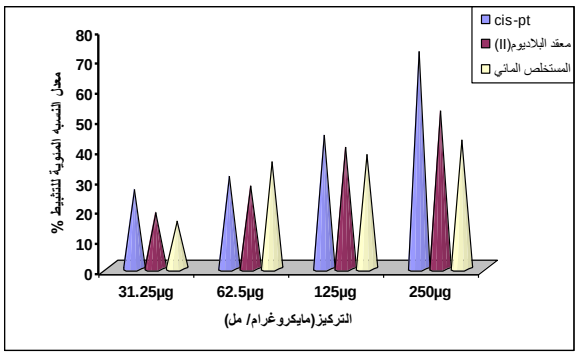
المعاملة التراكيز µg /ml	النسبة المئوية للتثبيط % (المعدل ± الانحراف القياسي) Cis-Pt	PdL2	مستخلص الحلبة
31.25	C,a 26.33 ±6.659	C,a 18.60± 3.851	B,a 15.81± 4.433
62.5	C,a 29.26± 5.565	BC,a 27.56± 7.426	A,a 33.767± 6.505
125	B,a 44.56± 7.999	AB,a 40.54± 4.611	A,a 37.88± 6.370
250	A,a 72.13± 7.965	A,ab 52.327± 11.976	A,b 42.97± 7.421

❖الاحرف المختلفة الصغيرة تعني وجود فروق معنوية مستوى احتمالية $p< 0.05$ بين معدل العمود الواحد . الاحرف المختلفة الكبيرة تعني وجود فروق معنوية عند عند مستوى احتمالية $p< 0.05$ بين معدل الصف الواحد.



الشكل -2- مقارنة معدلات نسب التثبيط على لخط الخلوي السرطاني L20B للفئران مع العقارCis-Pt بعد مدة تعريض 72 ساعة.

وعند مقارنة تأثير كل من المستخلص المائي لبذور الحلبة ومعقد البلاديوم (II) خلال مدتي تعريض 72,48 ساعة.



اظهرت النتائج كما موضح في الجدول (4) عدم وجود فروق معنوية عند معاملة الخلايا السرطانية لكل من المستخلص المائي للحلبة ومعقد PdL2 بالمقارنة مع cis-Pt حيث كان تأثيرهما مقارباً لتأثير cis-Pt عند التراكيز الاربعة المختلفة.

جدول (4)

معدلات نسب التثبيط للخلايا السرطانية لاناث الفئران في الخط الخلوي L20B المعاملة باربعة تراكيز مختلفة من مستخلص الحلبة المائي ومعقد PdL2 مقارنة بـــ cis-pt خلال مدتي تعريض 48 و72 ساعة.

المعاملة التراكيز /ml µg	النسب المئوية للتثبيط % (المعدل ± الانحراف القياسي)					
	cis-Pt		PdL2		المستخلص المائي للحلبة	
	ساعة 48	ساعة 72	ساعة 48	ساعة 72	ساعة 48	ساعة 72
31.25	a 14.7 9±5. 970	a 26.3 3±6. 659	a 11.6 5±5. 918	a 18.6 0±3. 841	a 11.4 5±5. 163	a 15.8 1±4. 433
62.5	a 28.5 03±3 .84	a 29.2 6±5. 565	a 26.6 8±6. 712	a 27.5 6±7. 426	a 30.9 9±7. 147	a 35.7 6±6. 50
125	a 37.7 8±10 . 842	a 44.5 6±7. 999	a 32.6 7±4. 635	a 40.5 4±4. 611	a 33.7 6±8. 124	a 37.8 8±6. 37
250	a 61.5 5±12 .98	a 72.1 3±7. 97	a 44.6 0±6. 059	a 52.3 2±11 .976	a 37.9 3±7. 428	a 42.9 7±7. 421

❖ الاحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستو ى احتمالية $p< 0.05$ بين معدل الصف الواحد.

الارتباط بين التراكيز ومعدلات نسب التثبيط

يشير الجدول (5) الى ارتباط تاثير التراكيز الاربعة المختلفة لمعقد Pdl2 المقارب للـــ Cis-Pt مع معدلات نسب التثبيط خلال تعريض 48 و 72 ساعة حيث اظهرت النتائج وجود علاقة طردية قوية بين تأثير معقد PdL2 والـــ cis-Pt بينما حصل مستخلص الحلبة المائي على مستوى ارتباط متمثل بعلاقة طردية متوسطة بالمقارنة مع تأثير cis-Pt ومعقد Pdl2 بعد مدتي تعريض.

الجدول (5)

الارتباط بين التراكيز الاربعة المختلفة ومعدلات نسب التثبيط وخلال مدتي تعريض48 و72 ساعة على الخط الخلوي السرطاني L20B.

زمن / (ساعة) المعاملة	48 ساعة	72 ساعة
العقار cis-Pt	+0.999	+0.999
PdL2	+0.935	+0.97
مستخلص الحلبة المائي	+0.77	+0.777

* العلامة (+) تعني العلاقة طردية.
* الارقام (0.0-0.4) تعني العلاقة ضعيفة.
* (0.8-0.9) تعني العلاقة قوية.
* (1) تعني العلاقة تامة.
* (0.5-0.7) تعني العلاقة متوسطة.

تبين من خلال النتائج المعروضة في الجدول (1) تأثير المستخلص المائي لبذور الحلبة في تسمم الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي وذلك لاحتوائة على مركبات فعالة قد يكون لها دور مباشر او غير مباشر في احداث التأثير السمي وعدت على اساسها كمواد علاجية للسرطان [16] ومن هذه المركبات الفلافونيدات واهمها Quercetin و Taxifolin حيث يعمل هذان المركبين وكمضادة للتكاثر من خلال تثبيط مجموعة من الخطوط الخلوية السرطانية منها Squamous Cell Carcinoma [17] كما ويحوي النبات على لتربينات والتانينات التي زادت من فعالية المستخلص في هذا المجال حيث توصل Sadeghi و Yozdanparast [18] الى ان التربينات المعزولة من نبات Daphne mucronata دوراً تثبيطياً على الخط الخلوي السرطاني Keukemia K562 و human Myelogenous من خلال عملها على ايقاف الدورة الخلوية عند ظهور G1. وقد يعود التأثير السمي الخلوي لمستخلص المائي للحلبة الى دور مركب iosgenin حيث اكدت النتائج التي قام بها Raju وجماعتة [19] الدور التثبيطي لهذا المركب على نمو الخط الخلوي لسرطان القولون للانسان HT-29 واحداث الموت لمبرمج apoptosis للخلية السرطانية. وقد يعزى الازدياد في معدلات نسب التثبيط لدى الخلايا السرطانية L20B المعاملة بمعقد البلاديوم الجديد الى تأثير عنصر البلاديوم (II) على شريط DNA من خلال احداث كسر في احدى الشريطين [3]. وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها Natalia وجماعته [20] على الخلايا الورمية المعاملة بأحدى معقدات البلاديوم (II) وحصول حالة الموت المبرح لتلك الخلايا بسبب تداخل هذه المعقدات مع التركيب الثانوي لشريط DNA للخلايا المعاملة.

وقد يعزى التأثير السمي لمعقد PdL2 الجديد الى تأثير الليكاند المستخدم في تحضير المعقد الذي قد يكون مشابهاً لتأثير الليكاند ThioSemiCarbazone الــذي يمتــلك. فعاليات مضادة مختلفة ومن اهمها التأثير المضاد للسرطان [1].

الاستنتاج تبين من خلال النتائج التأثير السمي الخلوي لمستخلص بذور الحلبة المائي ومعقد البلاديوم (II) الجديد من خلال ازدياد معدلات نسب التثبيط للخلايا السرطانية عند الخط الخلوي L20B والذي تقارب مع تأثير cis-Pt وعند التراكيز الاربعة المختلفة وخلال مدتي تعريض 48 و72 ساعة.

المصادر

[1] سلمان، اسراء صكر، "تأثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغام Silybum Marianum L. على الخطوط السرطانية والطبيعية"، اطروحة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، **2008**.

[2] Yousif, I.Q. "Synthesis,Structural Study, Theoretical Treatment and Antibacterial Activity of Some Complexes of New Schiff Bases Derived form Piperonal"; M .Sc Thesis, Scince College For Women, University of Baghdad, **2009.**

[3] Abu-Surrah, A.S.; AL-Sa'doni, H.H.; Abdalla, M.Y. "Palladium-Based Chemo Therapeutic Agents; Routes Toward Complexes with Good Antitumor Activity"; Canc. Ther. 6, 1-10, **2008.**

[4] Padhye, S.; A. Frasiadi, Z.; Sinn, E.; Fok, J.; Mehta, K.Rath, N. "Antitumor and Metallothrosemic-Arbazonates; Structure

Antitumor Activity of Palladium Complex of Phenanthrenequinone Thio Semicar-bazone"; Inor. Chem.44, 1154-1156, **2004.**

[5] العتابي، شلال مراد حسين،"تأثير االمستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات سم الفراخ Withania Samnifera Dun في نمو الخلايا السرطانية في الدجاج وفي بعض المعايير الفسلجية في الفئران"، اطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، **2001**.

[6] Ibrahim, A.I.S. "Effect Of Crude Extracts of Salivia Triloba L.on Malignant Cell Lines and Normal Cell Lines"; Ph.D. Thesis, College Of Science University Baghdad, **2005**.

[7] الشيباني، رعد ضياء عبد الجليل، "دراسة تأثير مستخلصات اوراق نبات الدفلة Nerium Oleander الخام والنقية في الخلايا الطبيعية وخطوط الخلايا السرطانية النامية في الدجاج وفي الفئران البيضاء "، اطروحة دكتوراة،كلية العلوم، الجامعة المستنصرية، **2006**.

[8] Dangi,R.S.; Lagu, M.D.; Choudhary, L.; Prabhakar, K.R.;Gupta,V.S. "Assessment of Genetic Diversity in Trigonella Foenum-Graecum and Trigonella Caerulea Using ISSR and RAPD Markers"; Bmc.plant Biol.4, **2004**.

[9] Blumentnal, M.; Goldber ,A.; Brinckmann, J.; "Herbal Medicine: Expanded Commission E.Monogrophs", Newton, USA; PP.130-133; **2000**.

[10] Shany, M.; Cai, Han, Li S.; Zhao, Y.; Zheng, J.; Namba, T.; Kadota, S.; Tezuka, Y.; Fan, W. "Studies on Flavonids from Fenugreek (Triqo nella Foenum-Graecum L.)"; Zhon.gguo. Zhon. Yao. Zhi. 23, pp.614-639, **1998**.

[11] Greg, T. "How to Use The Fenugreek Plant for its Natural Healing Properties"; Heal. Well. PP1-2, **2008**.

[12] Thirunavukkarasu, V.; Anuradha, C.V.; Viswanathan, P.; "Protective Effect of Fenugreek (Trigonella Foenum Graecum) Seeds in Experimental Ethanol Toxicity"; Phyt. Rese. 17, pp373-743, **2003**.

[13] Ayoola, G.A.; Coker,H.A.B.; Adesegun, S. A; Adepoju-Bello. A. A; Obaweya, K.; Ezennia, E.C.; Atangbayila. "Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in South Western Nigeria"; Topic. Phar. Rese. 7, pp1019-1024, **2008**.

[14] Betancur-Glavis, L.A. Saez, J.; Granados, H. Salazar, A.;Ossa, J.E."Antitumor and Antiviral Activity of Colombian Medicinal Plant Extracts"; Men.Inst. Oswa. crez. 94, 5, pp531-535, **1999**.

[15] AL-Mohammed, N.T.; AL-Rawi, K.M.; Younis, .A.; AL-Morani, W.K. "Principle of Statistics"; Mous. Univ. 7, PP.10, 1986.

[16] Birt, F.D.; Hendrich, S.; Wang, W. "Dietary Agents in Cancer Prevention; Flavonoids and Isoflavonids"; Phar. Ther. 90, pp157-177, **2001**.

[17] Piantelli M.; Rinelli, A.; Macri, E.; Maggiano, N.; Larocca, L.M.; Scerrati, M.; Roselli, R.; Laconngeli, M.; Scambi, G.; Capelli, A.; Ranelltti, F.O. "Type II Estrogen Binding Sites and Antiproliferative Activity of Quercetin in Human Meningiomas";Canc.71, pp193-198, **1993**.

[18] Sadeghi,H.; Yazdanparast, R. "Anti-Tumor Activity and Cell Cycle Arrest of a New Diterpene Ester From Daphne Mucronata Using K562 Cells"; Biom., pp127-131, **2003**.

[19] Raju, J.; Patlolla, J.M.R. Swamy, M.V.; Rao, C.V."Diosgenin, a Steroid Saponin of Trigonella Foenum Graecum (Fenugreek), Inhibits Azoxymethane–Induced Aberrant Crypt Foci Formation in F344 Rats and Induces Apoptosis in HT-29 Human Colon Cells", Cancer Epidemiology, Biom. Prev. 18, p.1754, **2004**.

[20] Natalia, M; Eva, Peter, L.; Maria, P.S.; Piroska,V.; Corina, T.; Valentin, I.C.; Ev.amair, H.H; Luminita, S.D "Antiproliferative effect and Genotoxicity of Novel Synthsized Palladium Complexes With Organoarsenic Ligands"; Inor. Bioc. 103, pp1739-1747, **2009**.

Abstract

Trigonella Foenum Graecum L. (Fenugreek) plant are important from medical to treat arthritis inflamed lungs, diabetes, etc. Numerous palladium complexes with promising activity against tumor cell lines have been synthesized. This study involved the evaluation of Aqueous Fenugreek seeds Extract and new palladium (II) Complex with general formula [Pdl2].2ETOH, where L=2-hydroxy phenyl piperonalidine have a promising anitcancer effect on growth cancer cells and were compared to the anti cancer drug cis-ptatinum by utilizing an *in vitro* system in femal Balb/c mice by using the Inhibitor Rate as a parameter for the cytotoxic effects on Intestine cancer cell line L20B. Cancer cells were treated with four concentrations of cis-platin 31.25,62.5,125, and 250 µg/ml for 48 and 72 hours .The same concentrations were used for the other extract and complex. This study showed that extract and [PdL2]. 2EtOHcomplex have a promising anti cancer cells as could be seen from these effect on Increased of Inhibition cancer cells at different concentrations and these effect were similar to the effect of cis- platin, then the Inhibitory Rate was increased to 44.60,52.32% and 37.93, 42.97% in cancer cells treated with 250 µg/ml of palladium (II) complex and extract respectively on hours exposure with not singnificant differences with compared Cis- platin.

Keywords: Cytotoxicty, Palladium complexes, cancer cell line, cis-platin.