تقييم الفعالية التثبيطية لمادة الأبجنين (Apigenin) المستخلصة من أوراق نبات الميرمية (*Salvia officinalis*) في نمو خلايا الخط السرطاني L20B

انتصار حسين علي* عصام فاضل الجميلي**

علي حسين ادحية***

استلام البحث 29، كانون الاول، 2009
قبول النشر 13، شباط، 2011

الخلاصة:

هدفت الدراسة إلى تقييم الفعالية التثبيطية لمادة الأبجنين (Apigenin) المستخلصة من أوراق نبات الميرمية (*Salvia officinalis*) في نمو خلايا الخط السرطاني L20B خارج الجسم الحي (*in vitro*) ولمدتي حضن 48 و72 ساعة. اذ درست ثمانية تراكيز (1.53، 3.13، 6.25، 12.5، 25.0، 50.0،100.0، 200.0 مايكرومولار) من هذه المادة وتراكيز مماثلة من فيتامين سي ورابع كلوريد الكاربون (CCl_4). اظهر الأبجنين فعالية تثبيطية واضحة لنمو الخلايا السرطانية وخصوصا بالتراكيز الواطئة (1.53، 3.13، 6.25 مايكرمولار) ولمدة الحضانة 72 ساعة مقارنة بفيتامين سي ورابع كلوريد الكاربون وبفرق معنوي.

الكلمات المفتاحية : نبات الميرمية ،الفعالية التثبيطية ، الخلايا السرطانية من نوع L20B .

المقدمة:

تمتلك الفلافونات القدرة على حماية الأنظمة الحيوية من خلال قدرتها على نقل الكترونات الجذور الحرة والتفاعل مع المعادن [1] وتنشيط الأنزيمات المضادة للأكسدة [2] وتثبيط عملية الأكسدة [3]. وفي مجال مضادات السرطان (Anti-cancer agents) ولتحديد قابليتها على منع حدوث السرطان المستحث أو علاجه لوحظ بأنها تمتلك فعالية في تثبيطه سواء أكان في الحي (*in vivo*) أم في الزجاج (*in vitro*) [4] اذ تؤثر في نمو الورم السرطاني في مراحل مختلفة وخاصة في مرحلتي النشوء (Initiation) والتطور (Progression) [5]. ويعد الأبجنين (Apigenin) من الفلافونات الواسعة الانتشار في النباتات ويعد مكوناً مهماً فيها [6]، ويوجد في أوراق نبات الميرمية (*Salvia officinalis*) بنسبة تصل إلى 2.5 غرام لكل كيلوغرام [6]. وهو من مواد الأيض الثانوي في النبات وتتميز هذه المركبات بوجود حلقة الفلافون ووزنة الجزيئي 270.24 دالتون، أما صفاته الكيميائية والفيزيائية فهو يكون بشكل بلورات أبرية صفراء اللون ودرجة الانصهار (Melting point) هي 347°م [7]، ويذوب في الماء والكحول الحار بصورة متوسطه وكلياً في هيدروكسيد البوتاسيوم [8] وهو من المواد ذات الفعالية المضادة للتسرطن (Anti-carcinogenesis)، اذ وجد بأنه يمتلك القابلية على تثبيط فعل مادة Dimethylbenzanthracene (DMBA) التي لها القابلية في استحثاث سرطان الجلد في الفئران وذلك لقدرة الأبجنين على التأثير على الخلايا السرطانية بالطور G2/M اذ يثبطها في هذا الطور ويحث الموت المبرمج لها وكذلك من خلال زيادة تنظيم العامل P21 اذ يعمل على ايقاف انقسام الخلايا [9]، كما يمتلك الابجنين فعاليه مضادة للأكسدة اذ يعمل على سحب الجذور الحرة [10]. وفي ضوء ذلك صممت وأنجزت الدراسة الحالية لتقييم الفعالية التثبيطية لمادة الأبجنين المستخلصة من أوراق نبات الميرمية في نمو خلايا الخط السرطاني L20B خارج الجسم الحي (*in vitro*).

المواد وطرائق العمل:

أستخلص الابجنين من أوراق النبات المطحونة تبعاً للطريقة الموصوفه في [11] حيث تمت إذابتها في الكحول الاثيلي بتركيز 98% وبنسبة 10:1 وذلك بوضع 100 غرام من المسحوق في دورق زجاجي (Conical flask) محكم الغلق حاوي على 1000 مليلتر من الكحول الاثيلي وترك الدورق الحاوي عليهما على المازج المغناطيسي (Magnetic stirrer) لمدة 20 ساعة في درجة حرارة المختبر. رشح المحلول باستخدام ورقة ترشيح (Whatman No. 1) وبوساطة مضخة تخلخل الضغط، ثم ركز الراشح الى حوالي عشر حجمة وذلك باستخدام المبخر الدوار بحرارة 50 °م.

جهزت خلايا الخط الورمي L20B من مركز بحوث التقنيات الإحيائية (جامعة النهرين) بالتمريرات (Passage No. 233-212). وصف

*فرع التقانات الكيميائية الاحيائية ، قسم العلوم التطبيقية، الجامعة التكنولوجية.
**معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد.
***وحدة الأبحاث البيولوجية للمناطق الحارة، كلية العلوم، جامعة بغداد.

هذا الخط من قبل [12] والذي يمثل خلايا سرطانية حورت للتعبير في فيروس Poliovirus والذي يصيب الإنسان ويرتبط بالمستقبل CD155، حيث زرعت خلايا الخط الورمي في الزجاج وباستخدام الوسط الزرعي RPMI-1640 المدعم بآلبومين المصل البقري (Bovine serum albumin) بنسبة 10%، وعند الحصول على طبقة أحادية كاملة (Confulent monolayer) عملت المزارع من اجل الحصول على المزارع الثانوية (Subculture) ثم نميت الخلايا السرطانية في الوسط الزرعي بأوعية الزرع النسيجي عن طريق التخلص من الوسط الزرعي القديم وغسل الخلايا بمحلول دارئ الفوسفات الملحي المعقم والذي تم التخلص منه، وعند ذلك أضيف 2-3 مليلتر من محلول تربسين/فيرسين المعقم بحيث غطى سطح الخلايا عند وضع الاوعية بشكل أفقي مع التحريك بلطف لمدة 10-15 ثانية ومن ثم التخلص منه واستبداله بالمحلول ذاته (2-3 مليلتر) وحضنت الأوعية بحرارة 37ºم لمدة 3-5 دقائق وبعدها أزيلت الخلايا من سطوح الأوعية بضرب تلك السطوح التي التصقت عليها الخلايا باليد بلطف للمساعدة في إكمال إزالة الخلايا وتفكيكها، ثم أضيف وسط زرعي جديد بحجم 10-15 مليلتر مع مجانسة الخلايا بالمزج مع الوسط الجديد وبعدها تم توزيع عالق الخلايا في وعائين من أوعية الزرع النسجي بحجم 25 سم وبمقدار 5-7 مليلتر في كل وعاء. حضنت الأوعية بحرارة 37ºم مع متابعة نمو الخلايا واستبدال الوسط الزرعي القديم بأخر جديد كلما تغير لونه وحتى اكتمال تكوّن طبقة أحادية كاملة، وهكذا كررت عملية إجراء المزرعة الثانوية كلما دعت حاجة الخلايا لها [12].

- **عد الخلايا الحية Viable Cell Counting**

استعملت طريقة ملون التريبان الزرقاء في عد الخلايا السرطانية الحية، حيث تتلون الخلايا الميتة بلون الملون بعد ثوان قليلة من مزجها معها وبذلك يمكن تمييزها عن الخلايا الحية والتي لاتأخذ الملون وبحسب الخطوات الآتية:

أ. بعد تحضير عالق الخلايا وتفكيكها بالتربسين – فرسين من وعاء الزرع النسيجي وإضافة الوسط الزرعي المغذي لها (مايقارب 3 مليلتر)، أضيف 0.2 مليلتر من محلول ملون التريبان الزرقاء (المخفف عشر مرات) الى 0.2 مليلتر من عالق الخلايا مع اضافة 1.6 مليلتر من محلول دارئ الفوسفات الملحي المعقم في أنبوب اختبار ومزجت المحتويات جيدا.

ب. وضع 20-40 مايكرولتر من معلق الخلايا أعلاه على حافة غطاء الشريحة المثبت فوق شريحة عد خلايا الدم البيض، وبعد مرور 1-2 دقيقة فحصت الخلايا باستخدام المجهر الضوئي وتحت قوة تكبير 40X، وبالاعتماد على طريقة (Darling and Morgan ,1994) قدرت النسبة المئوية للخلايا الحية وكذلك حسب تركيز الخلايا (خلية/مليلتر) وفق المعادلة الآتية:

$$C\ (cell/ml) = n \times d \times 10^4$$

C : تركيز الخلايا ،n : عدد الخلايا المحسوبة ،d : معامل التخفيف .

- **زرع الخلايا Cell Seeding**

استخدمت أطباق الزرع النسيجي ذات الحفر المتعددة (96 Microtiter plates) ذات القعر المسطح (Flat bottom) لزرع الخلايا السرطانية المستحصل عليها بعد تكون الطبقة الأحادية الكاملة لها وإزالتها من سطوح الأوعية وتفكيكها بمحلول التربسين / الفربسين وكما موضح بالخطوات الآتية:

أ. أضيف 20 مليلتر من الوسط الزرعي المغذي الكامل المدعم بالمصل والذي حضن بحرارة 37ºم وعلقت الخلايا في الوسط جيداً.

ب. نقل 0.2 مليلتر من عالق الخلايا بوساطة ماصة دقيقة الى كل حفرة من حفر الطبق، أذ احتوت كل حفرة على ما لايقل عن 1×10^5 خلية.

ت. غطي سطح الطبق بورق لاصق شفاف معقم خاص لهذا الغرض، وبعدها حرك الطبق دائريا بلطف وحضن في الحاضنة بحرارة 37ºم والى اليوم التالي للسماح بالتصاق الخلايا (Cell attachment) وبالتالي نموها.

- **معاملة الخلايا السرطانية بالابجنين وفيتامين سي ورابع كاوريد الكاربون**

فحصت الأطباق الحاوية على الخلايا السرطانية تحت المجهر مقلوب الطور (Phase inverted contrast microscope) للتأكد من نمو الخلايا بشكل جيد في الحفر وبنسبة لاتقل عن 70% من مساحة الحفرة، وأعقبها إجراء المعاملات (Treatments) بحسب الخطوات الآتية:

أ. حضرت تخافيف نصفية متسلسلة في أنابيب اختبار معقمة لكل من الابجنين وفيتامين سي ورابع كلوريد الكاربون باستعمال الوسط SFM (Serum free media) للحصول عل التراكيز 1.56 و3.13 و6.25 و12.5 و25 و50 و100 و200 مايكروغرام/مليلتر، مع مراعاة تحضيرها آنياً عند العمل وحضنها بحرارة 37ºم لحين الاستعمال.

ب. سكب الوسط الزرعي من حفر اطباق الزرع النسيجي بعد رفع اللاصق، ثم اضيف 0.2 مليلتر/حفرة من كل تركيز من التراكيز المحضرة اعلاه وبواقع 3 حفر لكل تركيز (ثلاث مكررات) وقد عد العمود رقم 5 من الطبق كسيطرة سالبة فقد أضيف له 0.2 مليلتر من SFM، مع مراعاة ان

تكون إضافة SFM وتراكيز الابجنين وفيتامين سي ورابع كلوريد الكاربون بصورة سريعة قدر الإمكان وإعادة تغطية سطح الطبق بطبقة جديدة من الورق اللاصق ثم تحريك الطبق دائريا بلطف.

ت. حضنت الإطباق في الحاضنة بحرارة 37ºم وكانت فترات التعريض (Exposure time) 48 و 72 ساعة.

- **تلوين أطباق الزرع النسيجي**

استخدم ملون البلور البنفسجي (Crystal violet) للكشف عن التأثير السمي الخلوي للمركبات المذكورة في الفقرة السابقة (3.11.2) في الخلايا السرطانية والمتبعة من قبل [13] ووفق الخطوات الآتية:

أ. بعد انتهاء فترة التعريض المحددة، سكبت محتويات حفر الأطباق وأضيف 0.1 مليلتر من محلول ملون البلور البنفسجي إلى كل حفرة من حفر الطبق، ثم حضنت الاطباق بحرارة 37ºم لمدة 30 دقيقة.

ب. سكب الملون وتم التخلص من الفائض منه والمتبقي في الحفر بغسلها بالماء الجاري وبهدوء جدا تلاه الماء المقطر ثم قلبت الأطباق لتجف بدرجة حرارة الغرفة.

ت. قرأت الامتصاصية للخلايا الممتصة للملون عند طول موجي 492 نانوميتر وباستخدام المطياف الضوئي الخاص بأطياف المعايرة (ELISA spectrophotometer microplate) وحسبت النسبة المئوية لحيوية الخلايا (Percentage of cell viability) وفق طريقة (10) وبحسب المعادلة الآتية:

النسبة المئوية لحيوية الخلايا = (الامتصاصية لمجموعة الاختبار ÷ الامتصاصية للسيطرة السالبة) × 100

في حين حسبت النسبة المئوية لمعدل التثبيط Inhibition rate (IR) وفق الطريقة المعتمدة من قبل [14] وحسب المعادلة الآتية:

النسبة المؤية لمعدل التثبيط = {(الامتصاصية للسيطرة السالبة - الامتصاصية لمجموعة الاختبار) ÷ (الامتصاصية للسيطرة السالبة)} × 100

- **التحليل الاحصائي:**

تم تحليل النتائج إحصائياً وذلك باستخدام (ANOVA Table) لتحليل التباين وبعدها اختبرت معنوية الفروق بين المعدلات باستعمال اختبار (Duncan Multiple Range) واختبار أقل فرق معنوي (Less Significant differential) وذلك باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS .

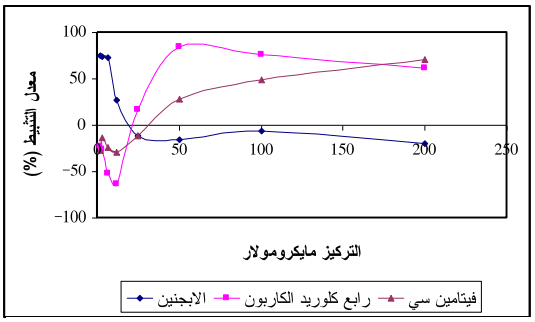
النتائج والمناقشة :

درس التأثير السمي-الخلوي (Cytotoxic) لتراكيز مختلفة (1.53، 3.13، 6.25، 12.5، 25.0، 50.0،100.0، 200.0 مايكرومولار) من الأبجنين وفيتامين سي ورابع كلوريد الكاربون في خلايا الخط الخلوي السرطاني L20B في الزجاج (*in vitro*) بعد فترتي حضن 48 و 72 ساعة.

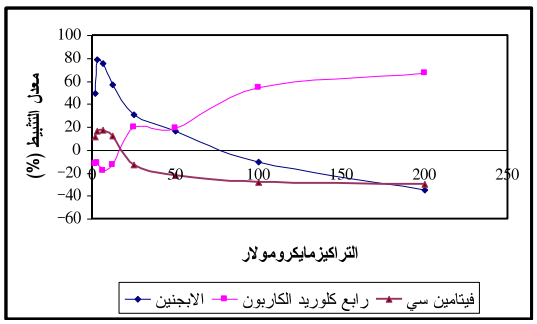
سجلت أعلى نسب تثبيط لنمو الخلايا عند التراكيز 1.56 و 3.12 و6.25 و 12.5 مايكرمولار من الأبجنين، إذ كان التأثير السمي-الخلوي واضحا بعد 48 ساعة وبلغ 80.67 و73.68 و71.97 و25.99%، على التوالي، وازداد ليصبح 49.65 و78.63 و75.29 و57.47% بعد 72 ساعة من الحضن للتراكيز ذاتها وعلى التوالي (شكل 1و2) إلى أن ظهر انخفاضاً في التأثير السمي بارتفاع التراكيز عن 25 مايكروغرام/مليلتر ولكلا مدتي الحضن.

بينما كانت أعلى نسبة تثبيط لنمو خلايا L20B عند التراكيز 200 و 100 و 50 مايكرومولار من رابع كلوريد الكاربون حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 61.43 و76.36 و84.86%، على التوالي بعد 48 ساعة من الحضن، ألا أن هذه النسبة أخذت بالانخفاض بعد 72 ساعة من الحضن لتصبح 67.03 و54.67 و19.36% للتراكيز ذاتها على التوالي (شكل 1و2)، فضلاً عن ظهور تقدم ملحوظ وارتفاع تدريجي في حيوية الخلايا بانخفاض تركيز رابع كلوريد الكاربون عن 12.5 مايكرو مولار ولكلا مدتي التعريض.

كما سجل أعلى تثبيط لخلايا L20B المعاملة بفيتامين سي عند التراكيز200 و100 و50 مايكرومولار اذ بلغ 71.14 و49.25 و28.23%، على التوالي بعد 48 ساعة ألا إن هذه النسب أخذت بالانخفاض بعد 72 ساعة من الحضن لتصبح - 26.45 و-28.17 و-21.74%، على التوالي (شكل 1و2). كما لم يلاحظ حدوث تأثيرات واضحة لارتفاع السمية بزيادة تراكيز فيتامين سي عن 25 مايكرومولار بعد 48 و 72 ساعة من الحضن.



شكل 1: العلاقة بين الابجنين ورابع كلوريد الكاربون وفيتامين سي في معدل تثبيط الخلايا السرطانية L20B بعد مرور48 ساعة حضانة.



شكل 2: العلاقة بين الابجنين ورابع كلوريد الكاربون وفيتامين سي في معدل تثبيط الخلايا السرطانية L20B بعد مرور72 ساعة حضانة.

كما اظهر التحليل الإحصائي في النسب المئوية لبقاء الخلايا السرطانية لمدة التعريض 48 ساعة (Time-dependent) بأن التراكيز الواطئة للأبجنين (1.56 و 3.12 و 6.25 مايكرومولار) أظهرت انخفاض معنوي واضح حيث كانت النسب المئوية لبقاء الخلايا 46.01 و26.30 و28.01%، على التوالي، حين سجل انخفاضا معنويا في حيوية خلايا L20B عند التراكيز 200 و100 و50 مايكرومولار من رابع كلوريد الكاربون حيث كانت النسب المئوية لبقاء الخلايا 38.55 و23.63 و15.12%، على التوالي، وكان الانخفاض معنوياً عند التراكيز 200 و 100 و50 مايكرومولار من فيتامين سي حيث كانت النسب المئوية لبقاء الخلايا 31.74 و50.74 و71.76%، على التوالي (جدول1).

جدول 1: النسبة المئوية لمعدل بقاء خلايا L20B بعد 48 ساعة من معاملتها بالأبجنين ورابع كلوريد الكاربون وفيتامين سي

التراكيز (مايكرومولر)	عدد المكررات	معدل بقاء الخلايا ± الخطأ القياسي (%)*			الاحتمالية ≥
		الابجنين	رابع كلوريد الكاربون	فيتامين سي	
1.56	3	46.01±31.17 ب ج	77.09±21.36 ب	73.27±23.52 ب	غير معنوية
3.13	3	26.30±4.69 ج د	74.27±14.07 ب	88.96±14.14 ب	0.01
6.25	3	28.01±5.95 ج د	151.75±48.02 أ	76.29±16.10 ب	0.01
12.50	3	97.48±35.18 أب	162.47±29.95 أ	124.02±28.33 أ	غير معنوية
25.0	3	94.35±16.35 ب	83.17±11.92 ب	115.22±5.59 أ	غير معنوية
50	3	87.06±14.59 ب	15.12±4.52 د	71.76±12.51 ب	0.01
100	3	104.21±5.86 ب	23.63±7.68 د	50.74±7.92 د	0.01
200	3	120.37±5.75 أ	38.55±3.99 ج	31.74±7.25 ه	0.01

***تشير الحروف المختلفة الى فرق معنوي (الأحتمالية ≥ 0.05) بين معدلات العمود (Column) الواحد.**

وكانت هناك فروقاً معنوية في النسب المئوية لبقاء خلايا L20B معتمدة على نوع المادة المستخدمة عند مدة حضانة 72 ساعة حيث سجل انخفاضاً معنوياً في النسب المئوية لبقاء الخلايا المعاملة بتراكيز الأبجنين 1.56 و3.12 و6.25 مايكرومولار، حيث كانت النسب المئوية للبقاء 50.25 و21.36 و24.69%، على التوالي مقارنة مع التراكيز ذاتها من رابع كلوريد الكاربون حيث كانت نسبة بقاء الخلايا 100.60 و88.41 و81.42%، على التوالي بعد 72 ساعة من التعريض. كما ظهرت فروقاً معنوية في النسب المئوية لبقاء الخلايا المعاملة بالتراكيز ذاتها من فيتامين سي حيث كانت 90.18 و83.67 و87.70%،على التوالي(جدول 2).

جدول 2: النسبة المئوية لمعدل بقاء خلايا L20B بعد 72 ساعة من معاملتها بالابجنين ورابع كلوريد الكاربون وفيتامين سي.

التراكيز (مايرومولر)	عدد المكررات	معدل بقاء الخلايا ± الخطأ القياسي (%)*			الاحتمالية ≥
		الابجنين	رابع كلوريد الكاربون	فيتامين سي	
1.56	3	[ب]9.17±50.25	[أ]16.15±100.60	[أ]16.06±90.18	0.05
3.13	3	[ج]3.86±21.36	[أ]9.38±88.41	[أ]7.87±83.67	0.01
6.25	3	[ج]1.31± 24.69	[أ]7.76 ± 81.42	[أ]17.69±87.70	0.01
12.5	3	[ب]8.19±42.51	[أ]17.54 ± 99.36	[أ]17.10±105.22	0.05
25	3	[أ]8.19± 68.70	[أ]4.29 ± 79.84	[أ]19.26± 92.26	غير معنوية
50	3	[أ]33.68±111.04	[أ]11.66 ± 80.62	[أ]28.43±117.87	غير معنوية
100	3	[أ]9.94 ± 90.24	[ب]0.79± 45.31	[أ]20.60±71.82	0.05
200	3	[أ]43.63±107.44	[ج]4.24± 32.97	34.74± 81.04	0.05

***تشير الحروف المختلفة الى فرق معنوي (الأحتمالية ≥ 0.05) بين معدلات العمود (Column) الواحد.**

كما إن تأثير رابع كلوريد الكاربون سيطرة سالبة على خط خلايا L20B سام خلوياً (Cytotoxic) بالتراكيز العالية وأصبح غير فعال عند انخفاض التراكيز وكذا الحال بالنسبة لفيتامين سي سيطرة موجبة، أما الأبجنين فقد كان له تأثير سام خلوياً بالتراكيز المنخفضة وقلت فعاليته بالتراكيز العالية، وذلك لقدرة الأبجنين على التأثير على الخلايا السرطانية بالطور G2/M حيث يثبطها في هذا الطور ويحث الموت المبرمج لها وكذلك من خلال زيادة تنظيم العامل P21 وتقليل مستوى تنظيم Cyclin B1 في mRNA والبروتين [15] كما انه ينشط الموت المبرمج الذي يتضمن المسارين Extrinsic و Intrinsic للموت المبرمج [16] لذا يعمل الأبجنين على وقف دورة انقسام الخلية عند وجود أي خلل داخل الخلية والناتج من الأثر السمي للمطفرات مما يتيح الفرصة لإنزيمات الإصلاح أن تقوم بدورها في إصلاح هذا الخطأ بدقة عالية [17].

المصادر:

1. **Ferrali,**M. L. ; Gil,B. and Sanz,M.J .1997.Effect of bakuchiol on leukocyte funcation .J Pharm Phamacol,48(2):975-80.
2. **Elliott**, R.M.; Astley, S.B.; Southon, S. and Archer, D.B. 1992. Measurement of cellular repair activities for oxidative DNA damage. Free Radic. Biol. Med. 28(5):1438-46.
3. **Cos,** P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck A.J., and Vanden Berghe, D.1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers, J Nat Prod, 61(4): 71-76.
4. **Castelluccio**, C., Paganga, G., Melikian, N., Bolwell, G. P., Pridham, J., Sampson, J., and Rice-Evans, C.1995. Antioxidant potential of intermediates in phenylpropanoid metabolism in higher plants, FEBS Lett, 368(5): 188-192.
5. **Sanders**, C. L.2003. Prevention and therapy of cancer and other common diseases: Alternative traditional approaches. Gail's Books. USA.
6. **Dordevic**,S.; Cakic,M. and Amr,S.2001. The extraction of apigenin and Luteolin from the sage *Salvia officinalis* L. from Jordan.The Scientific Journal FACTA;1(5):87– 93.
7. **Paladini,** A.D.; Marder, M.;Viola, H.and Medina, J.H.1999. Flavonoids and the centreal nervous system.J.Pharm. Pharmacol.,51(5):519-526
8. **Lide**,Y.C. 1997. Suppression of extracellular signals and cell proliferation through EGF receptor binding by (-)- epigallocatechin gallate in human A_{431} epidermoid

13. **Gao,** S.; Yu, B. -P.; Dong, W. -G.; Luo, I. -S. and Li, Y.2003. Antiproliferative Effect of Octreotide on Gastric Cancer Cells Mediated by Inhibition of Akt/PKB and Telomerase. *World J. Gastroenterol.*, 9(10): 2362-2365.
14. **Mather**, J.P. and Roberts, P.E.1998. Introduction to cell and tissue culture theory and technique. Plenum Press, New York.
15. **Zhang,** Q.; Zhao, X. and Wang, Z.2009. Cytotoxicity of flavonols to a human esophageal squamous cell carcinoma cell line by induction of G2/M arrest and apoptosis. Nath. Insit. of Health.;15(3): 12-20.
16. **Choi**, E. and Kim, G. 2009. Apigenin induces apoptosis through a mitochondria pathway in human breast cancer . J. Clin. Biochem. Nutr.; 44(3) : 260-265.
17. **Sarkar,** F. H. and Li, Y. 2004. Indole-30carbinol and prostate cancer. J. Nutr. 134(3): 3493-3498.

carcinoma cells. J. cell Biochem., 67(7):55 – 56.
9. **Chen,D**. and Dou, Q. 2008. Tea polyphenols and their roles in cancer prevention and chemotherapy. Nath. Insit. of Health.; 9 (7) :196-206.
10. **Berggren**, M.; Sittadjody, S.; Song, Z. and Burd, R. 2009. Sodium selenite increases the activity of the tumer suppressor protein. Nutr. Cancer.; 61 (3) : 322-331.
11. **Sinisa**, D.; Milorad, C. and Salameh, A. 2001. The extraction of Apigenin and Luteolin from the Sage Salivia officinalis from Jordan.Working and Living Enviromental Protection, 1(5): 87-93.
12. **Perez-**Serrano, J.; Denegri,G.; Casado,N. and Fodriguez-Cabaeiro 2007. *In vivo* of oral albendazol and albendazol sulphoxide on the development of secondary echinococcos in mice. Int. J. Parasit.,27(5):1341 – 1345.

Evaluating the Inhibitory Activity of Apigenin Extracted from *Salvia officinalis* leaves on the Growth of L20B Cancer Cell Line

Entessar H.A. Al-Mosawe ***Essam F. Al-Jumaily*****
Ali H. Ad'hiah***

*Biotechnology Division, Applied Sciences Department, University of Technology.
**Genetic Engineering and Biotechnology Institute for Postgraduate Studies, University of Baghdad.
***Trapical-Biological Research Unit, College of Science, University of Baghdad.

Abstract:

The study aimed to evaluating the inhibitory activity of apigenin extracted from *Salvia officinalis* leaves on the growth of L20B cancer cell *in vitro*, and through two incubation periods; 48 and 72 hours. Accordingly, eight concentrations (1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0 and 200.0 micromol) of apigenin and similar concentrations of vitamin C and carbon tetrachloride (CCl_4) were tested. The apigenin revealed its significant inhibitory potentials against the growth of L20B cell line, especially at the low concentrations (1.56, 3.13 and 6.25 micromol) and at 72 incubation period in comparison with vitamin C and CCl_4.