مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (1) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (1) 2015

دراسة المحتوى الكيميائي لأوراق الريحان.*Ocimum basilicum* L وتأثير منقوعها المائي فيعدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية لإناث الجرذان

الدكتور أياد نافع يحيى*
الدكتور علي نوري عبد**
هبة عدنان إبراهيم عزت***

(تاريخ الإيداع 9 / 11 / 2014. قبل للنشر في 6 / 1 / 2015)

□ ملخّص □

تم تقدير المركبات الغذائية والمركبات الكيميائية الفعالة لأوراق نبات الريحان ***Ocimum basilicum*** باستخدام الطرائق القياسية. وقد بينت التحليلات الكيميائية أن النسبة المئوية لمحتوى الرطوبة والكربوهيدرات و الزيت الكلي والرماد و البروتين الخام والألياف الخام في أوراق نبات الريحان على أساس المادة الجافة كانت 10.90 ، 51.47 ، 2.83 ، 16.20 ، 18.30 ، 16.50 % على التوالي. وجرى الكشف النوعي عن بعض المركبات الفعالة في المستخلصين المائي والكحولي وتضمنت التربينياتTerpinene ، الصابونياتSaponins ، القلويدات Alkaloids، التانينياتTannins ، الغلايكوسيدات Glycosides، الستيرويدات Steroids، الفلافونويدات Flavonoidsو الـ Phlobatannins . بيّن التقدير الكمي لأوراق الريحان وجود المكونات الفعالة ، القلويدات 15.90% ، الصابونيات 5.35% و الفلافونويدات 14.51% . واحتواء الريحان على تلك المركبات الكيميائية يعطيه قيمة غذائية جيدة. وفي الدراسة النسيجية ظهر تأثير الريحان معنويا في زيادة عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية لإناث الجرذان العذارى المعاملة بمنقوع أوراق الريحان المجففة مقارنة بمجوعة السيطرة والتي أعطيت ماء الشرب الاعتيادي وكان متوسط عدد الخلايا (16.6و 27.3) في إناث الجرذان غير المعاملة والمعاملة على التوالي.

الكلمات المفتاحية: الريحان، أوراق الريحان، المركبات الكيميائية، الغدة اللبنية في الجرذان، أسناخ الغدة اللبنية في إناث الجرذان، إناث الجرذان

*أستاذ- قسم العلوم – كلية التربية الأساسية -الجامعة المستنصرية – العراق- بغداد
**أستاذ- قسم العلوم – كلية التربية الأساسية -الجامعة المستنصرية – العراق- بغداد
***مهندسة- كلية التربية -الجامعة المستنصرية – العراق - بغداد

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (1) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (1) 2015

Study the chemical content of *Ocimum basilicum* L. leaves and effect aqueous extract in the number of cells around Alveolus in the mammary gland in female rats

Dr. Ayad Nafi Yehea*
Dr. Ali Noori Abed**
Heba Ibrahim Izzat***

(Received 9 / 11 / 2014. Accepted 6 / 1 /2015)

□ ABSTRACT □

Food compounds and effective chemical compounds were estimated in *Ocimum basilicum* L. by using standard methods. Chemical analyses showed that the percentage of moisture content, carbohydrates, total oil, ash, crude protein and crude fiber in the leaves of basil on a dry matter basis was 10.90, 51.47, 2.83, 16.20, 18.30, 16.50%, respectively. The qualitative detection of some of the active compounds in aqueous extract and alcoholic extract included turbines, Saponins, alkaloids, tannins, Glycosides, steroids, flavonoids and the Phlobatannins. A quantitative estimation of the basil leaves was done and the presence of effective components, alkaloids 15.90%, Saponins 5.35% and Flavonoids 14.51% was checked. Such chemical compounds give basil a good nutritional value. In the histological study, the effect of basil significantly increased the number of cells around Alveolus of the virgin female rats, which were treated with dried basil leaves (watery) compared with control group which were given drinking water. The average number of cells in female rats which were untreated and treated was respectively 16.6 and 27.3

Keywords: basil, basil leaves, chemical compounds, mammary gland in rats, alveoli, female rats

* **Professor, Science Department, College of Basic Education, University of AL-Mustansiriya, Iraq.**
** **Professor, Science Department, College of Basic Education, University of AL-Mustansiriya, Iraq.**
*** **Engineer, College of Education, University of AL-Mustansiriya, Iraq .**

مقدمة :

يعد الريحان (الحبق)(L.*Ocimum basilicum*) من النباتات العطرية وله أنواع عديدة، ولكل نوع أسماء عدة. ينتمي جنس *Ocimum* إلى العائلة Lamiaceace ويضم ما يقارب (50 – 150) نوعاً من الأعشاب والشجيرات في المناطق الاستوائية من أسيا وأفريقيا ووسط وجنوب أمريكا (إبراهيم، 2012). ويستخدم الريحان كعلاج شعبي في العديد من الحالات وخصوصاً في بلدان أسيا وأفريقيا .

ويستخدم الريحان كنبات طبي لعلاج ألم الرأس والسعال والديدان والثآليل ومسكن للحمى ومضاد للملاريا والتهاب القصبات وكمرهم لعلاج لسعات الحشرات وعضات الأفاعي، وتمتلك مستخلصات الريحان فعالية مضادة للميكروبات وبعض البكتريا المرضية وفعالية تجاه الفطريات (*Aspergillus flavus* ، *Aspergillus*sp.,*Geotrichum species*) ، وقد وجد (Ifesan*et al.*,2006)أن مستخلصات الأسيتون والكحول الأثيلي لنبات الريحان تمتلك فعالية مضادة لأنواع عدة من البكتريا المرضية تضمنت *E.* sp.*pneumonia, Proteus* فضلاً عن امتلاك مستخلصات النبات لفعالية مضادة للأكسدة.*coli, Klebsiella*

تشير الدراسات العلمية إلى وجود (45) مركباً في زيت الريحان ، ويحتوي الريحان على زيوت طيارة (نحو 1 %)، ويتكون بشكل رئيس من حمض الكافييك Caffeic acid وحمض بيتا – كيوميرك β– Cumeric acid وحمض الروزمارنيك Rosmarinic acid الذي يعد من اكثر مضادات الأكسدة المعروفة فعالية، بجانب العديد من المركبات الأخرى ومنها Ursolic acid و Eugenol و Oleonolic acid و Cineole و Estragole و Thymol (Sand*et al.*,1998)،وحامض بيتا – كيمين β–Cymene وهما يعرفان بالفينولات (تعد مادة مطهرة وتخفض الالتهاب عندما تؤخذ داخليا). ويحتوي على الليمونيين Limonene المضاد للسرطان ويقوي جدران الشعيرات الدموية (Viuda*et al.*, 2008) والمثيل سينمات Methyl cinnamate والميرسين Myrcene والألفا بينين Alpha– Pinene والبيتا بينين β–Pinene والكورستين Quercetin والروتين Rutin والصافرول Safrole الألفا – تربينين Alpha–Terpinene والتربتوفان Trytophan كما يحتوي الريحان أيضا على البيتا كاروتين والكالسيوم وفيتامين CRenata;Renata*et al.*, 2013 (*et al.*, 2012) وللريحان قيمة غذائية لما يحتويه من بروتينات وفيتامينات.وقد وجدت (العبادي،2011) ارتفاع النسب المئوية للبوتاسيوم والفسفور في أوراق نبات الريحان حيث بلغت (2.11 و 1.41%) على التوالي، وذكرت أن الكشف النوعي لبعض المكونات الفعالة في المستخلصات الخام المائية والكحولية كان موجباً للتربينات والفلافونويدات والصابونيات والغلايكوسيدات الستيرويدات، فيما كان التقدير الكمي للصابونيات والفلافونويدات(4.82و 13.49 %) على التوالي.التربينات هي مكونات الزيوت الطيارة في النباتات العطرية التي تحتوي مركبات ذات صيغ كيميائية يدخل في تركيبها مضاعفات من خمس ذرات كربون أي مضاعفات وحدة الأيزوبرين (C5H8) وتقسم التربينات إلى ثلاثة أقسام ، التربينات الأحادية منها مكونة من وحدتين من الأيزوبرين وهي مركبات طيارة ترجع إليها الرائحة الزكية التي تتميز الكثير من النباتات و تستخدم تجارياً في (العطورات، الطب) ومن أمثلتها : الكافور، الكارفون، المنثول، الليمونيين والتربينات الثنائية، وتنتشر هذه التربينات في مملكة النبات و تختلف في تركيبها البنائي باختلاف المصدر الطبيعي .ومن أمثلتها : سكلاريول، آيزوكارنوسول، تيوسيفين. التربينات الثلاثية مكونة من ست وحدات أيزومرين وهي مواد صلبة مثل أميرين، لوبيل. ولبعض التربينات الثلاثية نشاط ضد الميكروبات و الحشرات، ولبعضها أهمية بيولوجية حيث أظهرت التجارب أن مشتقات حمض اليورسوليك تعمل على نقصان كل من كوليسترول الدم و تركيز الليبيدات الفوسفورية. التربينات

الرباعية Tetraterpenes (carotennoids) تنقسم الكاروتينيدات إلى مجموعتين كبيرتين وهما: الكاروتينات والزانثوفيلات أما الكاروتينات فتتكون من (40) ذرة كربون و تنتج من اتحاد ثمان وحدات من الأيزوبرين، وتختلف فيما بينها في درجة عدم تشبعها Unsaturationأما الزانثوفيلات في مشتقات من الكاروتينات عن طريق الأكسدة ويتكون الهيكل الكربوني للكاروتينات من إضافة geranyl pyrophosphate ثم عن طريق عدة تفاعلات نازعة للهيدروجين فيتكون الكاروتين Caroteneو النيروسبورينو الليكوبين، ولاحتوائها على الجزء السكري الذي يكون أساسيا من تكوينها لذا تتميز الصابونيات بقدرتها على الذوبان في الماء وليس في الكحول .

التانينات تعد مواد غير متبلورة تذوب في الماء والكحول، ويعود سبب ذوبانها بالماء إلى احتواءها على جزء سكري يسهل ذوبانها في الماء ، ويعود سبب ذوبانها في الكحول إلى مجموعة الهيدروكسيل . والتانينات مركبات فينولية تمتاز بقدرتها على ترسيب القلويدات والجلاتين والبروتين وتمتلك خصائص قابضة تسرع شفاء الجروح ، ولها فعالية مضادة للفيروسات والبكتريا ومضادة للسرطان وتستخدم كمدرر للبول . ويعزى سبب فعاليتها المضادة للميكروبات إلى قدرتها على ترسيب البروتينات الميكروبية(العبادي،2011).تعد الستيرويدات النباتية مهمة جدا لفعاليتها المقوية للقلب ، وهي تمتلك فعالية مضادة للحشرات و للميكروبات وتستخدم في التغذية وطب الأعشاب و كثيرا ًما تستخدم في الطب لفعاليتها البيولوجية(Denwick, 2002).

وتعد القلويدات مثل Solasodine مادة أولية في تصنيع العقاقير الستيرويدية وتعمل بعض القلويدات الموجودة في النباتات أدوارا مختلفة منها مواد مضادة للتشنج Spasmolytic ومضاد إفراز المولين Anti-cholinergic ومادة مخدرة Anesthetic (Okwu&Iroabuchi, 2009).الصابونيات هي صنف خاص من الغلايكوزيدات تستخدم طبياً كمواد مضادة للأكسدة ومضادة للسرطان وللالتهابات ولمعالجة فرط سكر الدم (Aiyelaagbe&Osamudiamen, 2009).وتتجه الدراسات الطبية الحديثة لإستعمال المستخلصات النباتية في علاج الكثير من الأمراض و حتى السرطانية (Cancer diseases) ، وأجريت عدة دراسات لمعرفة المركبات الفعالة في الريحان المزروع في جنوب الهند ، ووجد (Kathirvel&Ravi, 2012)، عدد المركبات الفعالة في الريحان (11) مركبا الرئيسة منهاMethylCinnamate (70.1%) ، Linalool (17.5%) ، Camphor(1.52%) و-β elemene (2.8%). أما(Govindarajan,2013) ، فوجدوا (20) مركبا فعالاً في الريحان الرئيسة منهاLinalool(52.42%), eugenol(18.74%) وCineol (5.61%). وفي دراسة لتأثير موسم المحصول وعدد مرات السقي في التركيب الكيميائي للريحان العمان يوجد(Al-Maskri*et al.*, 2011)أن المركبات الرئيسة في الريحان كانت L-Linalool (26.5 – 56.3%) ، Geraniol (12.1 – 16.5%) 1,8-Cineole (2.5-15.1%) و DL-Limonene(0.2-10.4%) . الباحث(Unnithan*et al.*, 2013)وجدوا (30) مركبا في زيت الريحان منها Copaene (25.56%).

وفي دراسة للريحان الجزائري وجد (Hadj Khelifa*et al.*, 2012)، (40) مركبا في الريحان كان الرئيس منهاLinalool (32.83%) و Linalyl acetate (16%). وفي دراسة لمعرفة تأثير مستوى الأزوت والبوتاسيوم على المركبات الفعالة في الريحان، أشار (Renata*et al.*, 2013) إلى أن الآزوت كان له دور فعال في زيادة كمية المركبات الكيميائية الفعالة في الريحان حيث وجدوا المركبات الرئيسة منها هي Linalool (64.7%) Geraniol (12.6%) و 1,8-Cineole (4.1%) .

وأشارت بعض الدراسات النسيجية ، إن تجريع منقوع أوراق الريحان لإناث الجرذان محفز لتطور الغدة اللبنية فيها ، وقادر على تحفيز تكوين الافرازات السنخية خلال مدة الحمل وذلك لتهيئة الغدة اللبنية بصورة جيدة ،من خلال إحداث تغيرات مورفولوجية في الغدة اللبنية في النمو الفصيصي السنخي (Lobuloalveolar) وبذلك فانه أعطى فعلاً مشابهاً لهرمون الأستروجين ، كما لاحظ (إبراهيم،2012) زيادة في أعداد و أحجام الأسناخ(Alveolus) عند تجريع إناث الجرذان منقوع أوراق الريحان ،وأشارت إلى أن نبات الريحان يزيد من إفراز الهرمونات التي تعمل على حث النمو الفعال للغدة اللبنية في إناث الجرذان ، كما يعمل كمدر لحليب الغدة اللبنية من خلال زيادة إفراز هرمون البرولاكتين .

أن نمو الغدد اللبنية يزداد بشكل كبير في الأيام التي تعقب الولادة ، حيث يصاحب الزيادة بالحجم زيادة في الأوعية الدموية المغذية للأسناخ وكذلك تزداد الانقسامات التي تحصل في الخلايا الظهارية كنوع من أنواع الاستجابة لحاجة الأسناخ إلى البروتين أو إلى الدهون لتصنيع الحليب وان هذا التمايز والتغير في الحجم وفي أعداد الأسناخ يساهم في زيادة الإفرازات السنخية في إناث الجرذان،كذلك فان الخلايا المحيطة بالأسناخ في الأسابيع الأولى من عمر إناث الجرذان تتحول إلى أنسجة ظهارية (epithelium) () .Lucas*et al.,* 2007

وقد أوصت عدة دراسات بان تناول الريحان عند حصاده في وقت مبكرا يكون مسرطناً ، ومن نتائج عدة بحوث فان مركب Methyleugenol في الريحان هو السبب الرئيس في السرطنة (Saha*et al.*, 2012 ; Anna*et al.*, 2014). في حين أوصت (إبراهيم،2012) بعدم تناول الحوامل لنبات الريحان لأنه يسبب الإجهاض، وذلك عن طريق رفع مستوى هرمون الأستروجين.

أهمية البحث وأهدافه:

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة المركبات الفعالة في أوراق نبات الريحان، وتأثير المنقوع المائي لأوراقه في عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية لإناث الجرذان.

طرائق البحث ومواده:

1. المكونات الكيميائية والفعالة في اوراق الريحان :

زراعة وتحضير أوراق الريحان :زرعت بذور الريحان في أحد المزارع في منطقة الكريعات في بغداد في شهر آذار /2013 وبمساحه (6) م^2 ، وشخص من قبل المعشب الوطني / الهيئة العامة لفحص وتصديق البذور / وزارة الزراعة . قطف النبات قبل مرحلة التزهير وبعد وصوله إلى ارتفاع (25) سم . فُصلت الأوراق وجُففت في الظل مع التقليب اليومي ولحين الجفاف ، ثم طحنت الأوراق المجففة في طاحونة كهربائية وحفظ المسحوق في علب زجاجية محكمة الغلق بحرارة (4) م° لضمان عدم تحللها كيميائياً أو تلفها لحين استعمالها في الاستخلاص.

تقدير المكونات الكيميائية:تم تقدير التركيب الكيميائي لمسحوق أوراق الريحان وفقاً للطرائق القياسية المذكورة في (A.O.A.C., 1999)وقد أجريت التحاليل الكيميائية بثلاث مكررات وعبر عنها كنسبة مئوية .وحسبت نسبة المواد الكربوهيدراتية من الفرق بين مجموع المكونات المتمثلة بنسب الرطوبة والدهن والرماد والألياف والبروتين مطروحاً من (100).

تحضير المستخلص المائي : تم تحضير المستخلص المائي وفقاً للطريقة التي ذكرت من ال A.O.A.C (1999) بنقع (20) غم من المسحوق النباتي في (100) مل من الماء المقطر مدة (24) ساعة بدرجة حرارة الغرفة(29 م°)، رشح المستخلص من خلال أوراق الترشيح Whitman No1 بعدها ركز الرائق بوساطة جهاز البخر الدوار تحت الضغط المخلل وعلى درجة حرارة (45) م° (Zakaria*et al.*, 2008).

تحضير المستخلص الكحولي :تم نقع (100) غم من مسحوق أوراق الريحان المجفف في (500) مل من الكحول الأثيلي (CH_3CH_2OH) مع التحريك لمدة (24) ساعة ، ثم رشح الخليط وركز بنفس طريقة المستخلص المائي.

الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلصين المائي والكحولي:تضمن الكشف عن التربينات Terpennoids باستخدام Salkowski test ، والتانينات Tannins ، الفلافونويدات Flavonoids ، القلويدات (أشباه القلويات)Alkaloids ، الغلايكوزيدات Glycosides الصابونيات Saponins باستخدام Keller – Killiani test ، وتم الكشف عن الستيرويدات Steroids و Phlobatannins وفقاً للطريقة المذكورة من قبل (Edeoga*et al.*, 2006) ، وباستخدام الطرائق التي ذكرها (Aiyelaagbe&Osamudiamen,2009) تم الكشف عن Anthraquinone.

التقدير الكمي لبعض المركبات الفعالة :قُدر الصابونين والقلويدات وفقاً للطريقة التي ذكرها (Obadoni&Ochuko, 2001)، واستخدمت الطريقة المذكورة من قبل (Boham&Kocipai, 1994) لتقدير الفلافونويدات، أما الهلام النباتي Mucilageفقدر باستخدام الطريقة المذكورة من قبل (Balke&Diosady, 2001).

2. **دراسة عدد الخلايا المحيطة:**

الحيوانات المستخدمة في التجربة:استخدمت الجرذان البيضاء التي تم شراؤها من كلية طب – جامعة بغداد . حيث تم استخدام (30) جرذاً (20 أنثى و 10 ذكور) بالغة جنسيا لغرض تكاثرها. وضعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية خاصة بتربية الجرذان، مزودة بغطاء حديدي مشبك يحتوي على معلف أمامي ومجهز بقناني خاصة بشرب الماء مزودة بحلمة في نهايتها في درجة حرارة تتراوح بين (25–30) مْ وكانت مدة الإضاءة (12) ساعة ، طوال مدة الدراسة، قدم للحيوانات علف مركز بشكل طليق طوال مدة التجربة.بعد تزاوج الحيوانات، تم عزل الإناث الحوامل في أقفاص منفردة لغرض الولادة، وبعد الولادة وإرضاع المواليد وفطامها، تعزل المواليد الإناث عن الذكور وتترك لتكبر إلى حين مرحلة النضج الجنسي ليتم استخدامها في التجارب القادمة .استمرت عمليات التزاوج والولادة طيلة فترة الدراسة ليتسنى لنا توفير الحيوانات المتقاربة العمر بشكل مستمر.أجريت التجارب على (60) جرذاً من الإناث وبحالات فيسيولوجية مختلفة (بالغة بعمر ثلاثة أشهر، حامل في الثلث الأول من الحمل ومرضع بعد اليوم الأول من الولادة).

مجاميع الجرذان : قسمت الحيوانات إلى(3) مجاميع رئيسة، ضمت كل منها (20) حيواناً، تم تجريع(5) حيوانات لمدة (10)أيام و (5) حيوانات لمدة (20) يوماً و (5) حيوانات سيطرة لمدة (10)أيام و (5) حيوانات سيطرة لمدة (20) يوماً من كل مجموعة من المجاميع الثلاث للحيوانات، وكان التجريع يومياً عن طريق الفم .

تحضير المنقوع المائي لأوراق الريحان: تم وزن (3) غم من مسحوق المادة النباتية (أوراق الريحان) المجففة في وعاء زجاجي لكل حيوان، ومن ثم تنقيع المسحوق بإضافة (120) مل من الماء المقطر المغلي (100)مْ. استمرت مدة التنقيع (10–15) دقيقة مع تغطية الوعاء. يرشح المنقوع بواسطة مصفاة (وضع فيها قطعة من قماش). ثم يحفظ

الراشح في قنينة زجاجية في البراد نحو (24) ساعة.الجرعة المستخدمة في التجارب هي (3)غم من أوراق الريحان المجففة / 120 مل من الماء المقطر (أي ما يعادل تركيز 2.5 %) لكل جرذ منها.وكانت هذه أفضل النسب التي يستسيغها الحيوان حيث تم تجريب عدة تراكيز وتجريعها للجرذان قبل بدء التجربة لاحظنا عند التراكيز الأعلى من المستخدمة (2.5%) استفراغ الجرذان للمادة المجرعة.

تصميم التجربة:

جدول (1) يوضح تصميم التجربة، أنجزت الدراسة باستخدام ثلاث مراحل كانت الأولى استخدام (20)أنثى من الجرذان البالغة جنسياً (يبلغ عمرها ثلاثة أشهر)، ووضعت في أقفاص كبيرة وقسمت عشوائيا إلى أربع مجموعات متساوية العدد، اثنان منها كانت مجاميع سيطرة وأثنين مجاميع معاملة . أما المرحلة الثانية استخدمت في هذه التجربة (40)أنثى من الجرذان البالغة جنسياً، ووضعت في أقفاص كبيرة، بواقع خمس إناث في كل قفص، لمدة (5)أيام لغرض توحيد الشبق، عزلت بعدها في أقفاص مفردة، ثم أطلق ذكر مع كل أنثى لضمان تلقيحها. تم التأكد من حصول الإخصاب عن طريق مشاهدة الحيامن(Sperm) في المسحة المهبلية (Vaginal smear) ، وملاحظة السدادة المهبلية (Vaginal plug) في اليوم الثاني بعد إطلاق الذكور. عزلت الإناث ثانية للسماح لها بتكملة حملها. أخذت (20) أنثى حامل وقسمت عشوائيا إلى أربع مجاميع متساوية العدد، وفي اليوم الثاني من مدة الحمل عوملت الحيوانات حسب ما هو موضح بالجدول (1) . المرحلة الثالثة تم أخذ (20) أنثى حاملاً وقسمت عشوائيا إلى أربع مجاميع متساوية، بعد اليوم الأول من الولادة عوملت الحيوانات حسب ما هو موضح بالجدول (1) . مجاميع السيطرة تم إعطاءها ماء الشرب الاعتيادي بصورة حرة على أن يبدل يومياً، أما المجاميع المعاملة فكانت تجرع بالمنقوع المائي لأوراق الريحان المجففة وبتركيز (2.5%).وبعد مضي الوقت المحدد لكل مجموعة، تم تخدير الحيوانات بواسطة ثنائي أثيل الإيثر(diethyl ether, $(C_2H_5O_2)$، للمجاميع الثلاث الرئيسة واستئصال غددها اللبنية بعد إزالة الشعر المحيط بالحلمات، ثم ترفع الحلمة بواسطة الملقط، وتستأصل قطعة من الأنسجة المحيطة ثم تزال الأنسجة اللبنية من الجلد المغطى (Al-khalisi,2000) . تثبت نماذج الغدد اللبنية للدراسة النسيجية فوراً في محلول الفورمالين (10%) لمدة (24) ساعة.

وقد حضرت شرائح البرافين تبعا لطريقة (Stevens & Bancraft,1982)،حيث مررت العينات النسيجية بسلسلة تصاعدية من الكحول الأثيلي (Ethanol) (50، 70، 90، 100%) على التوالي، ولمدة ساعة واحدة لكل نسبة، بعدها أستعمل الزايلين(Xylene) لمدة نصف ساعة لجعل العينات أكثر شفافية بسبب معامل انكساره العالي، ووضعت بعد ذلك العينات في فرن درجة حرارته (59-60) م° لمدة نصف ساعة، ثم شبعت بمزيج الزايلين وشمع البرافين ذي درجة انصهار (54-56) م° بنسبة 1:1 لمدة 15 دقيقة، بعد ذلك سكب مزيج الزايلين و البرافين في قوالب خاصة ثم نقلت إليها العينات وتركت لتبرد على شكل قوالب شمعية. وقطعت العينات بعد ذلك بسمك 5 مايكرومتر (10^{-6} متر) باستعمال المشراح اليدوي الدوار(Rotary microtome)

جدول (1) يوضح مخطط التجربة

رقم المجموعة	الحالة الفسيولوجية	نوع المعاملة	المدة الزمنية للمعاملة (يوم)	عدد الحيوانات
1	عذارى	سيطرة	10	5
			20	5
		معاملة	10	5
			20	5
2	حوامل	سيطرة	10	5
			20	5
		معاملة	10	5
			20	5
3	مرضعات	سيطرة	10	5
			20	5
		معاملة	10	5
			20	5

القياسات النسيجية Morphometry : تم حساب القياسات النسيجية للشرائح المحضرة من الغدد اللبنية باستخدام المصغر العيني (Ocular Micrometer, OM) المثبت في المجهر الضوئي والمقياس المجهري المنضدي (Stage Micrometer, SM) . حيث إن المقياس المجهري العيني هو عبارة عن زجاجة دائرية خاصة مدرجة رأسياً وأفقياً من (0–100) وحدة. أما المقياس المجهري المنضدي فهو عبارة عن شريحة زجاجية تحتوي في وسطها على خط أفقي طوله (2 ملمتر) ومقسم إلى (200) وحدة وكل وحدة تعادل (0.01 ملمتر) أو (10) مايكرون. وتستخدم للتصغير أثناء استخدام المقياس المجهري العيني في القياسات النسيجية، بموجب الخطوات التالية:

- يوضع المقياس المجهري العيني (OM) في منتصف العمد sheft بين العدستين العليا والسفلى للعدسة العينية.
- يوضع المقياس المجهري المنضدي (SM) على منصة المجهر ونقوم بتحريكه إلى حين ظهور الخط الأفقي المدرج في الحقل المجهري بشكل واضح.
- نقوم بتدوير العدسة العينية، الحاوية على المقياس المجهري العيني، مع تحريك الشريحة إلى أن تتطابق علامة الصفر من المقياس المجهري العيني مع علامة الصفر للمقياس المجهري المنضدي.
- نقوم بتسجيل الرقمين الآخرين المتطابقين (وهما الرقم (5) من المقياس المجهري العيني والرقم (7) من المقياس المجهري المنضدي في هذه الحالة).
- نستخرج قيمة كل وحدة من وحدات المقياس المجهري العيني للعدسة الشيئية المختارة باستخدام القانون الآتي:

$$\text{قيمة كل خط من (OM)} = \frac{\text{رقم الخط المطابق من (10 × SM مايكرون × قوة التكبير التي تم التصفير عليها)}}{\text{رقم الخط المطابق من (OM) × قوة التكبير التي تم القياس عليها}} =$$

$$= \frac{7\times 10 \text{ مايكرون} \times 10}{5\times 100} = 1.4 \text{ مايكرون والذي يمثل الثابت (F)}$$

- يرفع المقياس المجهري المنضدي وتوضع بدلا منها الشريحة الزجاجية المراد إجراء القياسات عليها. بعد إجراء حساب عدد الخلايا المحيطة في المقطع النسخي الواحد، تضرب بالعامل الثابت (F) (1.4 مايكرون).

التصبيغ (التلوين) : تم التصبيغ باستخدام صبغتي هيماتوكسلين – أيوسين Haematoxylin – Eosin Staining ، وهي من الصبغات القاعدية التي تستخدم بصورة عامة لصبغ النواة باللون الأزرق. حضرت هذه الصبغة من:

- مسحوق صبغة الهيموتوكسلين (1غم). Haematoxylin powder
- كحول أثيلي 95% (10مل) Ethanol 95%
- الومينات البوتاسيوم (20مل) Pot. Or Ammonium Aluminate
- أوكسيد الزئبق (0.5 غم) Mercuric oxide
- حامض الخليك الثلجي (3 مل لكل 95 مل) Glacial acetic acid
- ماء مقطر (200مل) Distal water

مكان اجراء البحث:

تم اجراء الكشف النوعي والكمي لمستخلص أوراق الريحان المائي والكحولي في مختبرات قسم العلوم –كلية التربية الأساسية – المستنصرية، فيما أجريت الدراسة النسيجية على الجرذان في مختبرات قسم الأنسجة المرضية في كلية الطب – جامعة بغداد.

التحليل الإحصائي :

أجري التحليل الإحصائي باستخدام تحليل التباين**analysis of variance (ANOVA) one** وعند وجود الاختلافات المعنوية وعالية المعنوية تجري المقارنات الفردية باستخدام اختبار) (TDaniel, 1987.

النتائج والمناقشة:

1. **المكونات الكيميائية والفعالة في أوراق الريحان:**يبين جدول (2) النسب المئوية لبعض المركبات الكيميائية.ويلاحظ ارتفاع نسب الكربوهيدرات والبروتين الخام و الألياف الخام وكانت نسبة البروتين الخام مقاربة لما

توصل إليه(Edeoga*et al*., 2005) ،حيث كانت نسبة البروتين الخام في الريحان القرنفلي *Ocimum gratissimum* 17.94% ، إلا أنها أقل مقارنة بما توصل إليه (Ifesan*et al*., 2006) ، حيث وجدوا نسبة البروتين في أصناف الريحان الحلو *Ocimum basilicum*و الريحان القرنفلي (20.15% و 20.18%)على التوالي. وبلغت نسبة الألياف الخام (16.50%) في حين بلغت في أوراق الريحان القرنفلي(15.62%). إن الاختلاف في تلك النسب يعود إلى وقت القطف حيث كلما تأخرت تزداد نسبة الألياف الخام و تقل نسبة البروتين وذلك لإرتباط اللجنين (الخشبين)(Lignin)بهما وصعوبة كسر الروابط بينهما ، وذكر(Edeoga*et al*., 2006) أن الألياف تمتلك تأثيرات كيميائية حيوية في إعادة امتصاص أحماض الصفراء ،ومن ثم امتصاص الدهون الغذائية والكوليسترول.

جدول (2) التركيب الكيميائي لأوراق الريحان

المكونات	النسبة المئوية %
الرطوبة	10.90
الكربوهيدرات	51.47
الزيت الكلي	2.83
الرماد	16.20
البروتين الخام	18.30
الألياف الخام	16.50

واحتوت أوراق الريحان على (2.83%) من الزيت،وأشار(Sand*et al*., 1998) إلى أن زيت الريحان يقاوم السموم الفطرية، حيث يعمل حمض الروزمارنيك Rosmarinic acid(أحد مكونات زيت الريحان وهو مركب فينولي طبيعي يتواجد في العديد من الأعشاب الطبية ومنها النعناع) على التخلص من السموم الفطرية المسببة لتحطيم خلايا الكبد وذلك عن طريق حماية الـ DNA والبروتين.بلغت نسبة الكربوهيدرات الكلية في أوراق الريحان(51.47%)، وقد قدرت بين (66.24 – 75.87%) لثلاث أنواع من أوراق الريحان القرنفلي (. (Edeoga*et al*., 2005

الكشف النوعي عن المركبات الفعالة في المستخلصين المائي والكحولي

يبين جدول (3) الكشف النوعي لبعض المكونات الفعالة في المستخلصات الخام المائية والكحولية لأوراق الريحان.وكان الكشف النوعي موجباً في المستخلص المائي للمركبات الفعالة التربينات، الصابونيات، القلويدات، التانينات، الغلايكوزيدات، الستيرويدات، الفلافونويدات، Phlobatannins. وأظهرت القلويدات، التانينات، الغلايكوزيدات، الفلافونويدات، كشفاً موجباً في المستخلص الكحولي. وهذه النتيجة جاءت مطابقة لما حصلت عليه (العبادي،2011).

جدول (3) الكشف النوعي لبعض المركبات الفعالة في المستخلصات الخام المائيةوالكحولية لأوراق الريحان

المركبات الفعالة	المستخلص المائي	المستخلص الكحولي
التربينات	+	–
الصابونيات	+	–
القلويدات	+	+

التانينات	+	+
الكلايكوزيدات	+	+
الستيرويدات	+	–
الفلافونويدات	+	+
Phlobatannins	+	–

التقدير الكمي لبعض المركبات الفعالة في أوراق الريحان:نتائج التقدير الكمي لبعض المركبات الفعالة في أوراق الريحان مبينة في جدول (4) .

جدول (4) التقدير الكمي لبعض المكونات الفعالة في اوراق الريحان

المركبات الفعالة	النسب المئوية (%)
القلويدات	15.90
الصابونيات	5.35
الفلافونويدات	14.51

حيث بلغت نسبة القلويدات، الصابونيات، الفلافونويدات في أوراق الريحان(15.90، 5.35، 14.51 %) على التوالي، فيما قدرت (العبادي،2011) النسبة المئوية لهما (14.52، 4.82، 13.49 %) على التوالي، عندما قدرت بعض المكونات الفعالة في أوراق الريحان باستخدام نفس الصنف المستخدم في هذه الدراسة. وقدرت الفلافونويدات في أوراق الريحان القرنفلي (9.28 – 11.76%)(Edeoga&Omosun, 2006)

2 – دراسة عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية :

الحيوانات المستخدمة:تميزت الحيوانات المستخدمة في تجارب هذه الدراسة بنشاطها وحيويتها ، ولم تظهر أية علامات مرضية أو أثار جانبية أو تغيرات في أوزانها من جراء استخدام المنقوع المائي لأوراق الريحان المجففة طيلة مدة التجربة.

تأثير المعاملة بالمنقوع المائي لأوراق الريحان في عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية: يظهر جدول(5) تأثير المعاملة بالمنقوع المائي لأوراق الريحان المجففة ، في متوسط عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية لإناث الجرذان المستخدمة في الدراسة، ويلاحظ أن هناك فروقات عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) بين الحالات الفسيولوجية (عذارى، حوامل) سواء كانت غير معاملة أو معاملة ، حيث كان متوسط عدد الخلايا المحيطة بالأسناخ لإناث الجرذان غير المعاملة (16.6و13.9) على التوالي ، في حين عددها في إناث الجرذان المعاملة كان (27.3 و15.1) على التوالي ، ولم تظهر فروقات معنوية في إناث الجرذان المرضعات المعاملة وغير والمعاملة حيث كان عدد الخلايا المحيطة (11.4 و 10.9) على التوالي.

في حين ظهرت فروقات عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) بين الحالات الفسيولوجية (عذارى، حوامل ومرضعات) غير المعاملة، وكذلك بين الحالات الفسيولوجية المعاملة بالمنقوع المائي لأوراق الريحان المجففة في عدد الخلايا المحيطة بالأسناخ لإناث الجرذان المستخدمة في الدراسة.

جدول (5) تأثير المعاملة بمنقوع اوراق الريحان المجففة في متوسط عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية لإناث الجرذان المستخدمة في الدراسة من العذارى والحوامل والمرضعات

المجاميع	عذارى	حوامل	مرضعات	التأثير المعنوي في الحالات الفسيولوجية
غير معاملة (معاملة سيطرة)	16.6	13.9	11.4	**
معاملة	27.3	15.1	10.9	**
التأثير المعنوي للمعاملة	**	**	غ.م.	

**** تأثير عالي المعنوية ($P \leq 0.01$) غ.م. التأثير غير معنوي**

ويبين جدول (6) تأثير المدة الزمنية (10 ، 20 يوم) لغير المعاملة وللمعاملة بالمنقوع المائي لأوراق الريحان المجففة في عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية في إناث الجرذان المستخدمة في الدراسة من العذارى والحوامل والمرضعات ،حيث يلاحظ في إناث الجرذان العذارى كان تأثير المدة الزمنية (10 و20) يوم، عالي المعنوي ($P \leq 0.01$) في عدد الخلايا المحيطة بأسناخ الغدة اللبنية لإناث الجرذان غير المعاملة والمعاملة. وكانت في غير المعاملة (15.3 و 17.6) على التوالي . في حين المعاملة لمدة (10 و20) يوم كانت (18.6 و 35.9) على التوالي.ولم يظهر أي تأثير معنوي للمدة الزمنية في عدد الخلايا المحيطة بالأسناخ في إناث الجرذان الحوامل والمرضعات المعاملة وغير المعاملة.

ومن الملاحظ أن المنقوع المائي لأوراق الريحان المجففة أثر بشكل معنوي على زيادة عدد الخلايا المحيطة في أسناخ الجرذان العذارى ، حين كان له فعل مشابه للأستروجين Estrogen والبروجستيرون Progesterone حيث يؤديان إلى تغير في شكل الغدة اللبنية وكذلك زيادة في عدد الأسناخ والتي تأتي من زيادة عدد الخلايا المحيطة بالأسناخ وتطورها إلى أسناخ ( ) . Heather&Jeffrey, 2007

وذكر (إبراهيم، 2012) أن منقوع أوراق الريحان المجففة ، حفز الإفراز(Lactogenesis) في الغدة اللبنية لعذارى وحوامل الجرذان، أي أنه يمتلك فعلا شبيهاً بالبرولاكتين (Prolactin) بالإضافة إلى الأستروجين والبروجستيرون ووجد تأثير عالي المعنوية ($P \leq 0.01$) في النسبة المئوية لإفراز هرمون الأستروجين والبروجسترون والبرولاكتين (Prolactin) عند تجريع إناث الجرذان (عذارى ، حوامل و مرضعات) منقوع أوراق الريحان المجففة، وذكرت بان تجريع منقوع أوراق الريحان المجففة لإناث الجرذان ، عمل على إحداث تغيرات مورفولوجية في الغدد اللبنية.

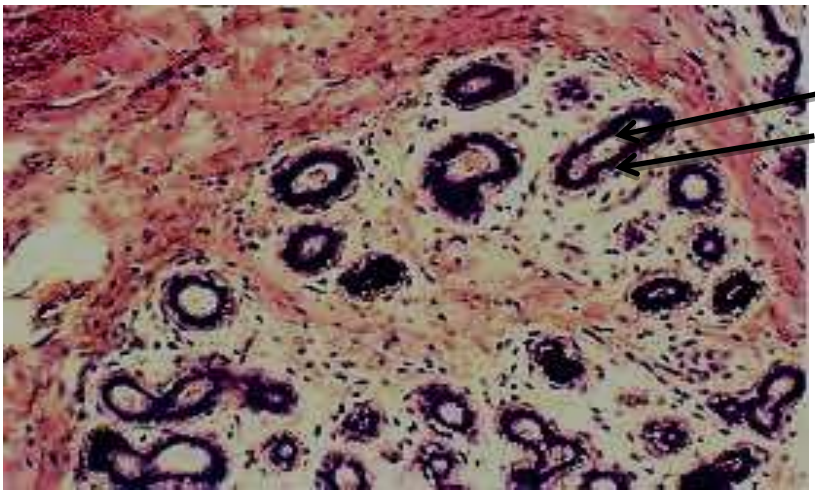
جدول (6) تأثير المدة الزمنية للمعاملة بمنقوع اوراق الريحان المجففة في متوسط عدد الخلايا الميحطة بالاسناخ للجرذان المستخدمة في الدراسة من العذارى والحوامل والمرضعات

المجاميع	المدة الزمنية (يوم)	عذارى	حوامل	مرضعات
غير معاملة	10	15.3	13.9	11.3
	20	17.6	12.3	11.6
التاثير المعنوي		**	غ.م.	غ.م.

معاملة	10	18.6	15.3	10.9
	20	35.9	14.9	10.3
التاثير المعنوي		**	غ.م.	غ.م.

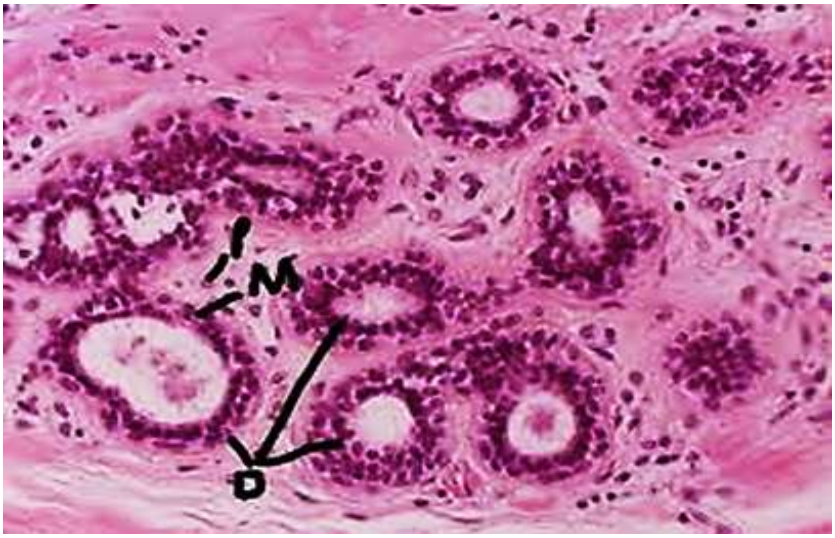
**** التأثير معنوي ($P \leq 0.01$) غ.م. التأثير غير معنوي**

في الدراسة النسيجية ، فان المقطع النسيجي في الشكل (1) يظهر مقطع عرضي للغدة اللبنية لأنثى جرذ في معاملة السيطرة (10 يوم) والتي تناولت ماء الشرب الاعتيادي ، تكون الخلايا المحيطة بالأسناخ دائرية الشكل مع ملاحظة وجود فراغات بينية بسبب صغر حجم الأسناخ التي تكون لا تزال لم تتكوّن فيها الخلايا الطلائية المفرزة ، ويلاحظ وجود الخلية العضلية الطلائية المكعبة البسيطة وبسبب المسافات البينية بين الخلايا المحيطة تصبح الخلايا الأخيرة غير متراصة .



شكل (1) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء غير معاملة (مجموعة سيطرة)
تم إعطاءها ماء حنفية (ماء الشرب الاعتيادي) لمدة (10) يوم،(H&E)(200x)

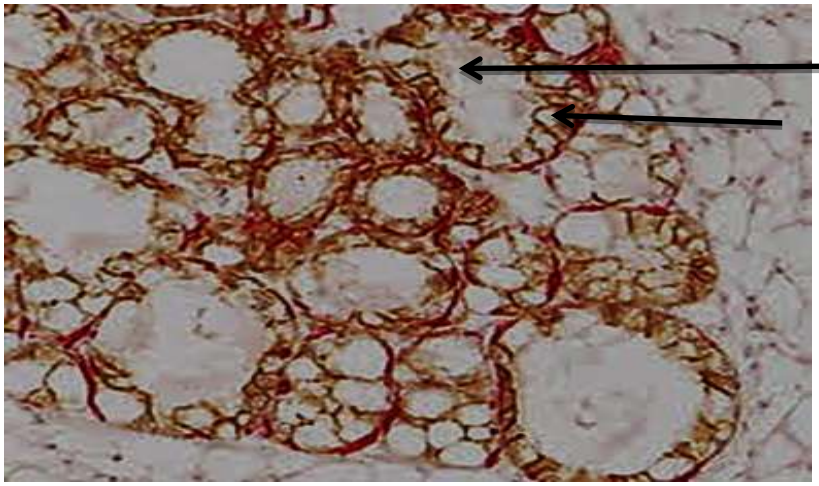
في الشكل (2) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ تم إعطاءها ماء الشرب الاعتيادي لمدة (20) يوم، ويلاحظ أن أعداد الخلايا المحيطة بالأسناخ تقل ، وذلك لتقدم الحيوان في العمر و الذي ترافقه تغيرات عديدة لتلائم مع مجمل المتغيرات الفسيولوجية الحاصلة للحيوان حيث تتحول بعض من الخلايا المحيطة إلى أسناخ بدائية (غير متخصصة بإفراز الحليب) أي يتكون غشاء الأسناخ من الغشاء القاعدي مستنداً عليه الخلية العضلية الطلائية المكعبة (أي خالي من الخلايا الطلائية المفرزة).وتوصل(Betancourt*et al.*, 2010) الذي نتيجة مماثلة عند دراستهم على الجرذان العذارى بأعمار مختلفة.



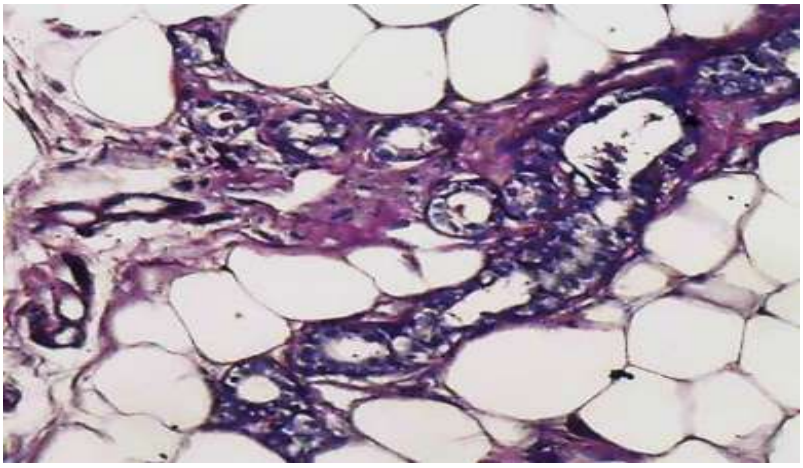
شكل (2) صورة لمقطع نسجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء غير معاملة (مجموعة سيطرة)
تم إعطاءها ماء حنفية (ماءالشرب الاعتيادي) لمدة (10) يوم،(H&E)(200x)

في شكل (3) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة لمدة (10) أيام بتجريعها منقوع أوراق الريحان المجففة ، يلاحظ تراصف الخلايا المحيطة قليلا مع الحفاظ على شكلها الدائري وذلك بسبب كبر حجم الأسناخ و الزيادة من جراء تحولا لنسيج الطلائي المكعب البسيط المبطن للأسناخ إلى نسيج طلائي عمودي مع ملاحظة زيادة قليلة في أعداد الأسناخ(تكون الخلايا المحيطة بالأسناخ في أوضح حالاتها عند التجريع(10) أيام في العذارى المعاملة). وقد لاحظ (Bernstein, 2002)، نفس الشيء عند فحصه مقاطع نسيجية لإناث الجرذ العذارى بعمر (10و 20) يوم.

يوضح شكل (4) صورة لمقطع عرضي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة لمدة (20) بمنقوع أوراق الريحان المجففة ، ويلاحظ زيادة في أعداد الأسناخ مما يؤدي إلى قلة أعداد الخلايا المحيطة بها حيث تتراصف الخلايا اكثر و أشار(Lucas*et al.*, 2007)إلى إن بسبب الزيادة في إفراز هرمون الاوكسيتوسين (Oxytocin)الذي يحفز الأسناخ على التهيئة لإفراز الحليب إلى القنوات في حال بدء إفراز الحليب،مما يؤدي إلى الضغط على الخلايا المحيطة المجاورة بالأسناخ.



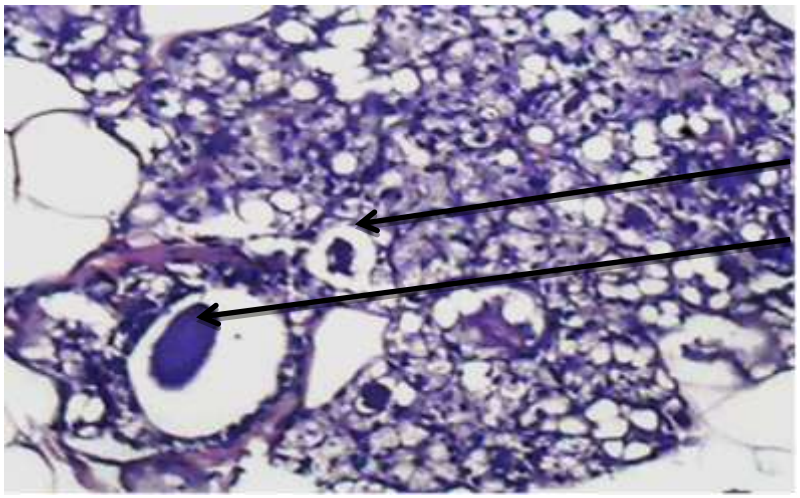
شكل (3) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة لمدة (10) أيام منقوع أوراق الريحان المجففة،(H&E)(200x)



شكل (4) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة لمدة (20) يوم منقوع أوراق الريحان المجففة (200x) (H&E)

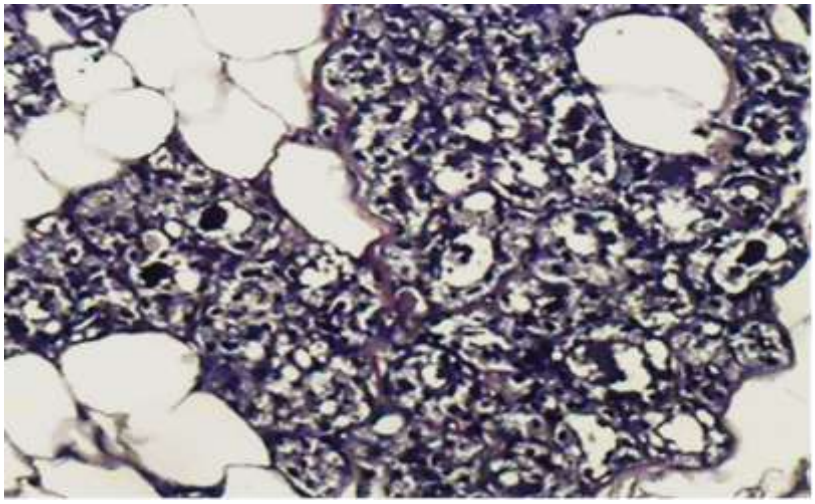
وفي هذه الدراسة، وعند المقارنة بين المقاطع النسيجية للجرذ العذارى لمعاملة السيطرة و المعاملة بمنقوع أوراق الريحان المجففة، نلاحظ الفرق والذي جاء من نتيجة المعاملة التي هي العامل المتغير الوحيد في الدراسة مع ثبات كافة العوامل الأخرى.

في مجموعة الحوامل في مجموعتي السيطرة لمدة (10 و 20) يوم يلاحظ ثبات في الشكل والعدد للخلايا المحيطة بالأسناخ ، والشكل (5) يوضع مقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة لمدة (20) يوم منقوع أوراق الريحان المجففة. ويعود السبب إلى أن اغلب الخلايا المحيطة قد تحولت إلى أسناخ وذلك لتهيئة الغدة اللبنية لإفراز الحليب بالإضافة إلى تأثير الهرمونات المفرزة والتي تساعد على نمو وتطور الغدة اللبنية والتمايز الكامل للغدة اللبنية (Russell*et al*., 2011)



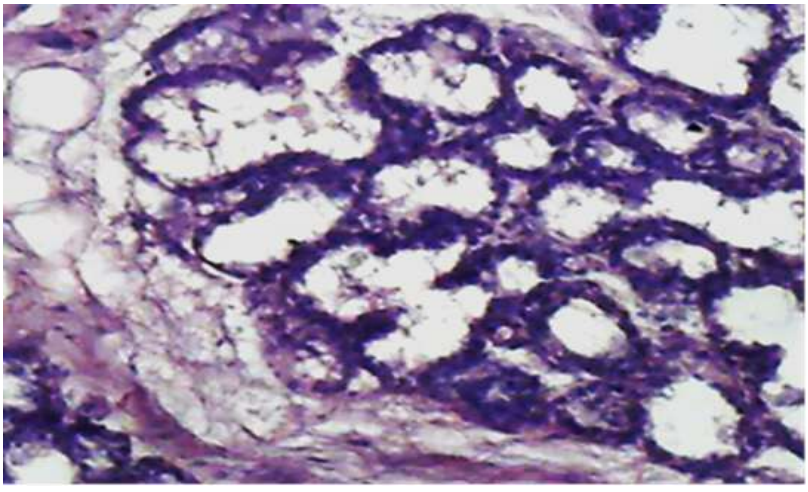
الشكل (5) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة لمدة (20) يوم منقوع أوراق الريحان المجففة (200x)(H&E)

مجموعة الجرذان الحوامل والتي تم تجريعها لمدة (10 و 20) يوم منقوع أوراق الريحان المجففة ، نلاحظ زيادة في عدد الخلايا المحيطة بالأسناخ في المجموعة المعاملة لمدة (10) يوم ، مع ثبات في عدد الخلايا المحيطة في المجموعة المعاملة لمدة (20) يوم والشكل (6) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ حامل معاملة لمدة (10) أيام



الشكل (6) صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ حامل معاملة لمدة (10) أيام بمنقوع أوراق الريحان المجففة (200x)(H&E)

في مجموعتي السيطرة لإناث الجرذان المرضعات ، والتي أعطيت ماء شرب اعتيادي لمدة (10 و 20) يوم، تبين من المقطع النسيج يعدم وجود أي تغير واضح في عدد الخلايا المحيطة بالأسناخ طول فترة الدراسة ، وكذلك في مجموعتي المعاملة لإناث الجرذان المرضعات والتي جرعت لمدة (10 و 20) يوم بمنقوع أوراق الريحان المجففة ، تكون الخلايا المحيطة بالأسناخ غير واضحة وذلك لقلة عددها وزيادة الإفراز الذي يكون منتشر في القنوات. وذكرت الدراسات أن الخلايا المحيطة بالأسناخ في الغدة اللبنية لا تظهر بسبب تحولها إلى أسناخ لتساهم في عملية إفراز الحليب (Jan *et al.*, 2014). والشكل رقم (7) صورة لمقطع نسيجي لأنثى جرذ معاملة لمدة (10) أيام بمنقوع أوراق الريحان المجففة.



الشكل (7) صورة لمقطع نسيجي لأنثى جرذ معاملة لمدة (10) يوم بمنقوع أوراق الريحان المجففة

الاستنتاجات والتوصيات:

بينت الدراسة أن نبات الريحان يحتوي على مركبات فعالة ذات قيمة بيولوجية عالية ، ومحفز لزيادة وتطور ونمو الغدة اللبنية في إناث الجرذان للحالات الفسيولوجية(العذارى ، الحوامل والمرضعات) فقد ساهم التجريع بزيادة عدد الخلايا المحيطة بالأسناخ في العذارى والحوامل والمرضعات لمدة 10 يوم والمعاملة لمدة 20 يوم بالمقارنة مع مجاميع السيطرة والتيتم تجريعها ماء الحنفية لمدة 10 و20 يوم ، وظهر التأثير أكثر وضوحاً في الجرذان العذارى وبينت الدراسة أن الريحان قادر على تهيئة وتطور الغدة اللبنية بصورة جيدة ، من خلال المركبات الكيميائية الموجدة فيه وبالأخص الستيرويدات والتي أعطى الكشف النوعي لمستخلصه المائي موجباً (جدول 3).وقد ظهر التأثير المعنوي واضحاً في عذارى إناث الجرذان المعاملة لمدة (10 و 20) يوم.أن الفترة الزمنية كان لها تأثير معنوي سواء بالمعاملة أو غير المعاملة ويعود إلى تطور الغدة اللبنية مع تقدم العمر زيادة حجم الجرذ نتيجة لتقدم مراحل النمو وزيادة كفاءته الهضمية ، وان ذلك يرافقه زيادة في إفراز الهرمونات المسؤولة عن إدرار الحليب أو الحمل ، وتهيئة العذارى للمراحل الفسيولوجية اللاحقة، وكان التأثير المعنوي بين المدتين الزمنيتين في مجاميع العذارى والحوامل يعود إلى تأثير منقوع أوراق الريحان المجففة بكونه العامل الوحيد المتغير بثبات العوامل الأخرى.

المراجع:

إبراهيم، هبة عدنان. *دراسة نسيجية و وظيفية للغدد اللبنية باستعمال مدرر منقوع أوراق الريحان Ocimum basilicum في إناث الجرذان*. رسالة ماجستير، الجامعة المستنصرية–كلية التربية الأساسية– العراق، 2012.

العبادي، إيناس مظفر خليل، *المحتوى الغذائي والكيميائي لأوراق الريحان Ocimum basilicum* L. . مجلة مركز بحوث التقنيات الإحيائية (عدد خاص) المجلد الخامس، العدد الثاني، 2011، 67–74.

A.O.A.C., *Association Official Analytical Chemists; Official methods of analysis* 15th Ed. Washington, D. C.,1999.

AIYELAAGBE, O. and Osamudiamen, *P. Phytochemical screening for active compounds in Mangifera indica leaves from Ibadan , Oya State.* Plant Sciences Research., Vol. 2, No.1, 2009, 11-13.

AL – KHALISI, H. *The effect of fenugreek seeds on mammary gland: A Histological and Histochemical approach.* Ph. D thesis, college of medicine university of Baghdad.2000.

Al-MASKRI, A.; Hanif, M. ; Al-Maskari, M.; Abraham A.; Al-sabahi J. and Al-Mantheri, O. *Essential oil from Ocimum basilicum (Omani Basil): a desert crop*. Nat. Prod. Commun., Vol. 6, No. 10, 2011, 1487-1490.

ANNA, N. ; Gianni, B. ; Osca, B. and Giuseppe, P., *Feeding strategies to design the fatty acid profile of sheep milk and cheese*. R. Bras. Zootec. Vol.43 No.8, 2014, 1806 – 1817.

BALKE, D. and Diosady, L. *Rapid aqueous extraction of mucilage from whole white mustard seed*. Food Research International, Vol.33 , 2001, 347-356.

BERNSTEIN, L. *Epidemiology of endocrine-related risk factors for breast cancer*. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. Vol.7 , 2002 , 3–15.

BETANCOURT, A. ; Eltoum, I. ; Desmond, R. ; Russo, J. and Lamartiniere, C. *In utero exposure to bisphenol A shifts the window of susceptibility for mammary carcinogenesis in the rat*.Environ Health Perspect. Vol.118, No.11, 2010, 1614-169.

BOHAM, A. and Kocipai, A. *Flavonoid and condensed tannins from Leaves of Hawaiian vaccininum vaticulum and vicalycinium*. Pacific Sci., Vol. 48, 1994, 458-463.

DANIEL, W. *Hypothesis testing In: Biostatistics, A Foundation for analysis in the Health Sciences*, London. 1987, 161-205.

DENWICK, *P. Natural Product: A Biosynthetic Approach* 2nd Ed. England ,John Wiley and Sons, Ltd, 2002, 241-243.

EDEOGA, H. ; Okwn, D. and Mbaebie, B. *Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants*. African J. of Biotechnology. Vol. 4 No. 7, 2005, 685-688.

EDEOGA, H. ; Omosun, G. and Uche,L. *Chemical composition of Hyptis suaveolens and Ocimum gratissimum hybrids from Nigeria*. African j. of Biotechnology Vol.5 No. 10, 2006, 892-895.

GOVINDARAJAN, M.; Sivakumar, R. ; Rajeswary, M. and Yogalakshmi, K. *Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from Ocimum basilicum (L.)against Culex tritaeniorhynchus, Aedes albopictus and Anopheles subpictus (Diptera: Culicidae)*. Exp. Parasitol. Vol. 134, No. 1, 2013 , 7-11.

HADJ KHELIF, L. ; Brada, M. ; Brahmi, F. ; Achour, D. ; Fauconnier, M. and Lognay, G. *Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of Ocimum basilicum Leaves from the Northern Region of Algeria. Topclass Journal of Herbal Medicine* Vol. 1 , No.2, 2012, 25-30.

HEATHER, L. and Jeffrey, M., *Estrogen regulation of mammary gland development and breast cancer: amphiregulin takes center stage*. Breast Cancer Research Vol. 9, 2007, 304-309.

IFESAN,B. ; Ijarotimi, O. and Osundahuns,O. *Evaluation of the antioxidant activity of Ocimum sp.* J. Food Technol. , Vol.4, No.4, 2006, 318-324.

JUN, W. ; Sarah, J. and Coral, A., *Cell proliferation and apoptosis in rat mammary glands following combinational exposure to bisphenol A and genistein.* BMC Cancer, Vol. 14, 2014, 379 – 385. Kathirvel

KATHIRVEL, P. and Ravi, S. *Chemical composition of the essential oil from basil (Ocimum basilicum Linn.) and it's in vitro cytotoxicity against HeLa and HEp-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts*. Nat. Prod. Res. Vol. 26 , No. 12, 2012 , 1112-1118.

LUCAS, J. N., Rudmann, D. G., Credille, K. M., Irizarry, A. R., Peter, A., and Snyder, P. W. *The rat mammary gland: morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics.* Toxicol Pathol Vol.35, 2007, 199-207**.**

OBADONI, B. and Ochuko, P. *Phytochemical studies and Comparative efficacy of the crude extracts of some homeostatic plant in Edo and Delta State of Nigeria*. Global J. Pure Appl. Sci. Vol. 8, 2001,203-208.

OKWU, D. and Iroabuchi, F. *Phytochemical composition and biological activities of Uvaria chamae and Clerodendoron splendens.* E-Journal of Chem., Vol. 6 No.2, 2009, 553-560.

RENATA, N. **;**Bartłomiej, B. ; Katarzyna, D. ; Grażyna, D. and Radosław, K. *Essential oil composition of sweet basil cultivars as affected by nitrogen and potassium fertilization.* Turk J Agric For. Vol. 37, 2013, 427-436.

RENATA, N.; Anna, B.; Radosław, K. and Bartłomiej, B. *Changes in the chemical composition of the essential oil of sweet basil (Ocimum basilicum* L.*) depending on the plant growth stage*.CHEMIJA, Vol. 23, No. 3, 2012, 216–222.

RUSSEL, C. ; Hovey, 1. ; Sawhney, C. ; Jeffrey, C. and Robert L., *Quantitative Assessment of Mammary Gland Development in Female Long Evans Rats Following In Utero Exposure to Atrazine*. Toxicol. Sci., Vol. 119 No.2, 2011 380-390.

SAHA, I. ; Mukhopadhyay, M. ; Ghosh, I. and Nath, D., *Effect of Methanolic Leaf Extract of Ocimum basilicum* L. *on Benzene-Induced Hematotoxicity in Mice.* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Vol. 2012, 2012, 7 – 16.

SAND, K. ; Kobak, K. ; Nambo, P. and Gaset, A. *Chemical investigation of Ocimum basilicum growing in* . Togo Flav. Fragr. J., Vol. 13, 1998, 226-232.

UNNITHAN, C. ; Dagnaw, W. ; Undrala, S. andSubban,R. *Chemical Composition and Antibacterial activity of Essential oil of Ocimum basilicum of Northern Ethiopia.* Int. Res. J. Biological Sci. , Vol. 2, No. 9, 2013, 1-4 .

VIUDA, M. ; Ruiz, Y, ; Fernandez, J. and pere, J. *Antifungal activity of lemon (citrus lemon* L.*) ,mandarin (citrus reticulate* L.*), grapefruit (citrus paradis* L.*) and orange (citrus sinensis* L.*) essential oils. Food control* . Vol. 19, 2008, 1130-1138.

ZAKARIA, Z. ; Azia, R. ; Lachimanan, Y. ; Sreenivasan, S. and Rathinam, X. *Antioxidant activity of Coleus blumei , Orthosiphon stamineus ,Ocimum basilicum and Mentha arvensis from Lamiaceace Family*. International J. Nat. Eng. Sci., Vol. 2, No.1, 2008, 93 – 95.