

龍葵水粗抽物對人類大腸癌細胞胺基乙醯轉移酵素活性的影響

蘇進成 陳光偉 林昭庚 鍾景光 謝雲忠

中國醫藥大學附設醫院 消化外科 中藥局

中國醫藥大學 中西醫結合研究所 中國醫學研究所 醫學系

台中

年 月 日受理， 年 月 日收校訂稿， 年 月 日接受刊載

大腸癌至今仍是台灣地區癌病死亡主要原因之一。龍葵是一種被用來治療癌症的中草藥植物，而龍葵對於人類大腸癌細胞的影響，其作用機轉並沒有確切可引用的報告。在這個研究，我們以乙醯輔酵素（ ）再製液及利用高效液相層析儀（ ）來分析（ ）及（ ）的胺基乙醯化的量，檢測龍葵的水粗抽物對人類大腸癌細胞（ ）胞質液及完整細胞中 及 的胺基乙醯化的劑量效應和時間效應。結果顯示龍葵水粗抽物可降低人類大腸癌細胞（ ）胞質液及完整細胞中的胺基乙醯轉移酵素的活性。龍葵治療惡性腫瘤的途徑，以人類大腸癌細胞（ ）為例子，可能是由於龍葵能降低人類大腸癌細胞（ ） 活性。

關鍵詞：龍葵，人類大腸癌細胞，胺基乙醯轉移酵素。

前 言

惡性腫瘤是當今世界上威脅人類最嚴重的疾病之一，台灣自民國 年起，癌症即成為我國十大死亡原因的首位，民國 年全國共有 人死於癌症，死亡率為每十萬人 人，其中大腸癌在癌症的死亡原因居第 位，死亡率為每十萬人 人。

近幾十年來，對於癌症的發病原因和環境因素及人類生活方式的關連性，有相當強的實驗及研究證明，由流行病學的研究顯示：人類的癌症是來自環境中的危險因數，又以接觸化學致癌物質佔多數，約，這些化學致癌物中芳香胺類化合物（ ）是很重要的代表。芳香胺類化合物是一種強的化學致癌物，如（ ），其進入不同種的動物體內，必須先經體內的胺基乙醯轉移酵素（

聯絡人：蘇進成，台中市育德路 號，中國醫藥學院附設醫院消化外科，電話： 轉 ，傳真：

,)的乙醯化,利用 上的乙醯基轉移到受質()的 基上,形成 (),再經由體內其他酵素代謝,才會變成活性強的終極致癌(),與靶的器官細胞內的 結合,形成 添加物(),造成靶的器官的癌化。

文獻指出,控制人類胺基乙醯轉移酵素()的基因位於第 對染色體上,分成 與 。()是 與 的共同受質,而 ()則是 的受質。胺基乙醯轉移酵素()活性有快慢之分,主要取決於 對受質的催化速率。胺基乙醯轉移酵素()活性快的個體,暴露到 較易得大腸癌、肝癌,胺基乙醯轉移酵素()活性慢的個體,暴露到 較易得膀胱癌。

龍葵在台灣民間俗稱烏仔菜,屬野生植物,為農田雜草,民間有取其幼苗,嫩葉炒熟當菜食用,也有取幼苗或嫩葉搗碎外敷消癰疽腫毒、跌打瘀傷。龍葵(*Solanum nigrum*)始載於《唐本草》。原名龍葵,又名苦菜。《圖經本草》名苦葵、老鴉眼睛草。《本草綱目》名水茄、天泡草。李時珍謂:療癰疽腫毒。全草含甾類生物鹼:茄邊鹼(澳洲茄邊鹼,)、茄解鹼(澳洲茄鹼,)、茄微鹼()、茄達鹼()。全草尚含有皂苷。入肺、胃、膀胱經。苦寒,有小毒,有清熱,解毒,活血,消腫等功能。有抗腫瘤作用,對動物腫瘤的抑制率極強,有明顯的細胞毒殺作用。抗炎作用也很強,提取物對動物有抗炎作用,能促進抗體形成。

有文獻報導指出,大腸癌可能和 基因表現有關。我們進一步檢測龍葵能否影響人類大腸癌細胞()的活性及人類大腸癌細胞()胞質液中 的活性,來探討龍葵是否能經由活性的抑制,來達到治療及預防大腸癌。

材料和方法

一、儀器

在實驗中使用高效液相層析儀() (); (),實驗先由已知濃度的標準品溶液,算出峰線面積,再求得檢體峰線面積,兩者比較後,進而算出檢體的含量。測定 活性的條件如下: (×) : () () : 。

二、材料

實驗材料購自美國 (,)公司者有 。購自美國 (,)者有 ()及 ()購自 (,)者有 、 、 () () () () () () () () ()

， ， ，)，一起在 ° ， 空氣， 二氧化碳下反應，經過 小時反應終結，將細胞及培養基移取離心。若是以 當受質，上清液立即以 (:) 萃取，此溶液冷凍揮發乾燥後，再溶於 μ 中混合均勻，取 μ 打入高效液相層析儀，再經由 分析乙醯化受質 () 和未乙醯化 的量，實驗組及控制組均作 次。若是以 當受質，則直接取上清液 μ 打入高效液相層析儀，再經由 分析乙醯化受質 () 和未乙醯化 的量，實驗組及控制組均作 次。得出不同濃度的龍葵對人類大腸癌細胞 () 細胞中 () 酵素活性的影響。

在活細胞時間效應 將培養的人類大腸癌細胞 () ，每一格計數人類大腸癌細胞 () \times 放入 (含 培養基， ， 胎牛血清) 中，再加入 受質 () 及分別有無加入 的龍葵試劑，一起在 ° ， 空氣， 二氧化碳下反應，經過不同的時間 (分別為 ， ， ， 小時) 反應終結，將細胞及培養基移取離心。若是以 當受質，上清液立即以 (:) 萃取，此溶液冷凍揮發乾燥後，再溶於 μ 中混合均勻，取 μ 打入高效液相層析儀，再經由 分析乙醯化受質 () 和未乙醯化 的量，實驗組及控制組均作 次。若是以 當受質，則直接取上清液 μ 打入高效液相層析儀，再經由 分析乙醯化受質 () 和未乙醯化 的量，實驗組及控制組均作 次。得出相同濃度的龍葵經過不同的時間 (分別為 ， ， ， 小時) 對人類大腸癌細胞 () 細胞中 () 酵素活性的影響。

在細胞質內：將培養的人類大腸癌細胞 () 取 \times 個細胞，置於 的 ((°) ， ， ， μ) 中，懸浮液先以 ，離心 分鐘，取上層液，再用 ，離心 分鐘。取上層液先製成胞質液，置於冰浴備用。利用 和 作受質來決定 依賴的乙醯轉移酵素乙醯化 和 的量。反應混合液組成總共體積 μ ：包括取 μ 的 () 胞質液，加入 μ 的 (，) ， ， ， 以一定量的 或 當受質，最後加了 μ 的 及 μ 不同濃度的龍葵 (， ， ， ， ，) 後，反應起始。控制組不加 ，而加入蒸餾水。培育於 ° ， 分鐘，再加入 μ 終止 或 反應。實驗組及控制組均作 次，再經由 分析，得出龍葵對人類大腸癌細胞 () 胞質液中 活性測定。

統計分析，以 和 作統計分析。

結 果

一 龍葵 (*Solanum nigrum*) 對人類大腸癌細胞 () 細胞毒性 () 的效應。

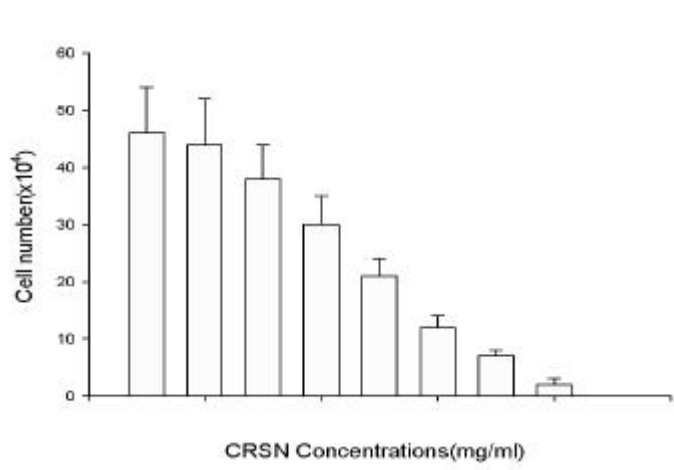


圖 1：不同濃度的龍葵水粗抽物（CRSN）對人類大腸癌細胞的劑量效應。用 24 well plate，每個 well 置入 3×10^5 (colo205) 細胞，在細胞培養中，分別有無加入不同濃度的龍葵試劑（0.01, 0.1, 1, 5, 10, 20, 50 mg mL），一起在 37 °C, 95 %空氣, 5 %二氧化碳下，經過 24 小時培養後收集細胞，再利用錐蟲藍（Trypan blue）染色，以倒立式顯微鏡觀察，放大 400 倍，利用細胞計數皿計算出活細胞數目及死亡細胞數目，得知存活細胞的數目。每個圖柱代表相同實驗重複三次的平均數，標準值是平均數加減標準差（數目是三）。

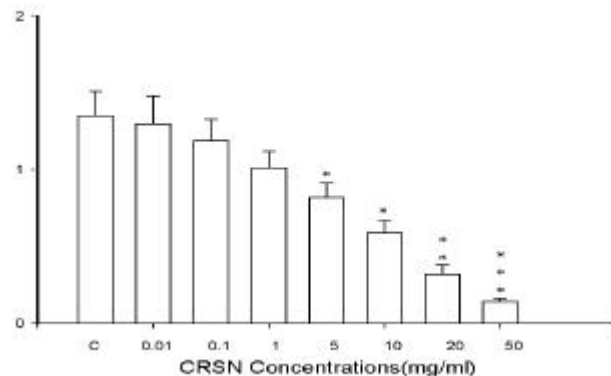


圖 2：不同濃度的龍葵水粗抽物（CRSN）對人類大腸癌細胞（colo205）活細胞內 NAT 的活性劑量效應的影響。龍葵水粗抽物對人類大腸癌細胞（colo205）NAT 活性的影響，在加入依序為 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 20, 50 mg/mL 不同濃度的龍葵，作用 24 小時，經由高效液相層析儀分析乙醯化和未乙醯化 AF 的量顯示，龍葵的濃度愈高，人類大腸癌細胞（colo205）NAT 活性就被降的愈低。每個圖柱代表相同實驗重複三次的平均數，標準值是平均數加減標準差（數目是三）。在龍葵粗抽物濃度 5 mg/mL、10 mg/mL 和對照值的差異， p 值小於 0.05。在龍葵粗抽物濃度 20 mg/mL 和對照值的差異， p 值小於 0.01。在龍葵粗抽物濃度 50 mg/mL 和對照值的差異， p 值小於 0.005。

實驗結果，在 小時的培養時間，所加龍葵濃度從 , , , , , , , 細胞其存活率依次為 , , , , , , , 。發現龍葵對人類大腸癌細胞 () 的毒殺效應，在相同的培養時間，濃度愈高時，毒殺效應愈佳 (圖)。

二 龍葵 (*Solanum nigrum*) 粗抽物對人類大腸癌細胞 () 中 的活性效應的影響。

在活細胞內劑量效應，龍葵水粗抽物對人類大腸癌細胞 () 活性的影響，經由高效液相層析儀分析乙醯化和未乙醯化 或 的量顯示，龍葵的濃度愈高，人類大腸癌細胞

龍葵對大腸癌細胞 活性的影響

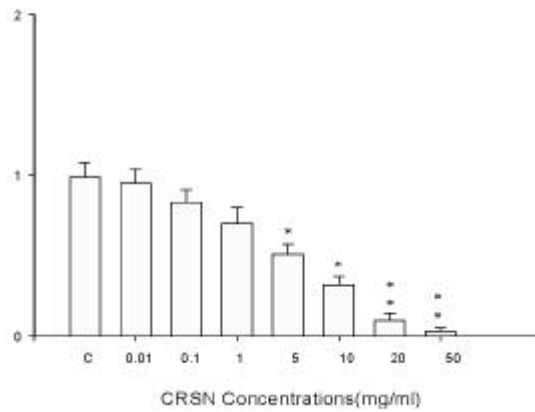


圖 3：不同濃度的龍葵水粗抽物（CRSN）對人類大腸癌細胞（colo205）活細胞內 NAT 的活性劑量效應的影響。龍葵水粗抽物對人類大腸癌細胞（colo205）NAT 活性的影響，在加入依序為 0.01，0.1，1，5，10，20，50 mg/mL 不同濃度的龍葵，作用 24 小時，經由高效液相層析儀分析乙醯化和未乙醯化 PABA 的量顯示，龍葵的濃度愈高，人類大腸癌細胞（colo205）NAT 活性就被降的愈低。每個圖柱代表相同實驗重複三次的平均數，標準值是平均數加減標準差（數目是三）。在龍葵粗抽物濃度 5 mg/mL、10 mg/mL 和對照值的差異，*p* 值小於 0.05。在龍葵粗抽物濃度 20 mg/mL 和對照值的差異，*p* 值小於 0.01。在龍葵粗抽物濃度 50 mg/mL 和對照值的差異，*p* 值小於 0.005。

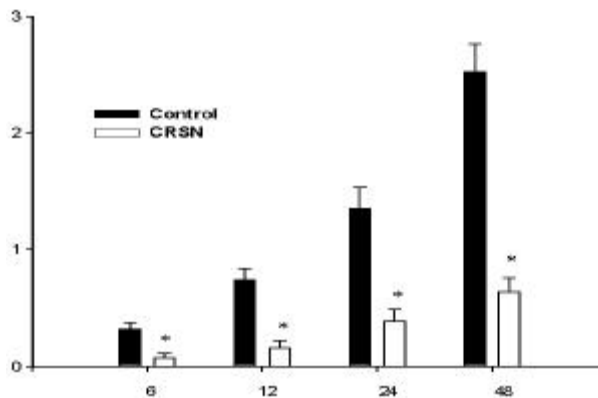


圖 4：龍葵水粗抽物 CRSN 對人類大腸癌細胞(colo205)活細胞內 NAT 的活性時間效應的影響 10 mg/mL 龍葵水粗抽物對人類大腸癌細胞（colo205）NAT 活性的影響，在加入 10 mg/mL 的龍葵，分別作用 6，12，24，48 小時，經由高效液相層析儀分析乙醯化和未乙醯化 AAF 的量顯示，顯示作用的時間愈久，人類大腸癌細胞（colo205）NAT 活性就被降的愈低。每個圖柱代表相同實驗重複三次的平均數，標準值是平均數加減標準差（數目是三）。在龍葵粗抽物濃度 10 mg/mL 和對照值的差異，*p* 值小於 0.05。

（ ） 活性就被降的愈低。以作用 小時為例，在加入依序為 ， ， ， ， ， ， 不同濃度的龍葵，經作用 小時，用 檢測，發現 活性被抑制了，顯示濃度愈高，抑制力愈強（圖 ，圖 ）。

在活細胞內時間效應，龍葵水粗抽物對人類大腸癌細胞（ ） 活性的影響，經由高效液相層析儀分析乙醯化和未乙醯化 或 的量顯示，龍葵的濃度固定，作用的時間愈久，人類大腸癌細胞（ ） 活性就被降的愈低。以 的龍葵試劑，經過不同的時

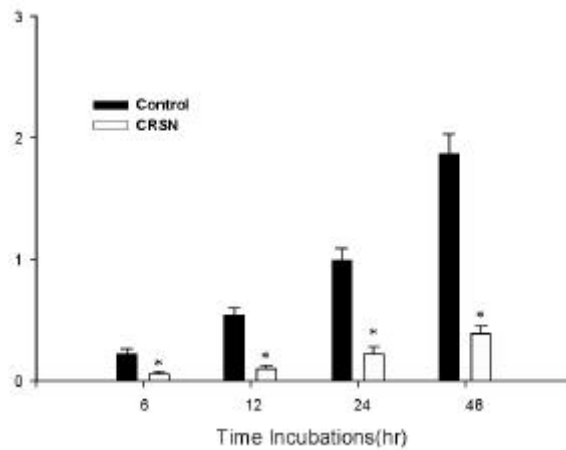


圖 5: 龍葵水粗抽物(CRSN)對人類大腸癌細胞(colo205)活細胞內 NAT 活性時間效應的影響。10 mg/mL 龍葵水粗抽物對人類大腸癌細胞 (colo205) NAT 活性的影響，在加入 10 mg/mL 的龍葵，分別作用 6, 12, 24, 48 小時，經由高效液相層析儀分析乙醯化和未乙醯化 PABA 的量顯示，顯示作用的時間愈久，人類大腸癌細胞 (colo205) NAT 活性就被降的愈低。每個圖柱代表相同實驗重複三次的平均數，標準值是平均數加減標準差（數目是三）。在龍葵粗抽物濃度 10 mg/mL 和對照值的差異，*p* 值小於 0.05。

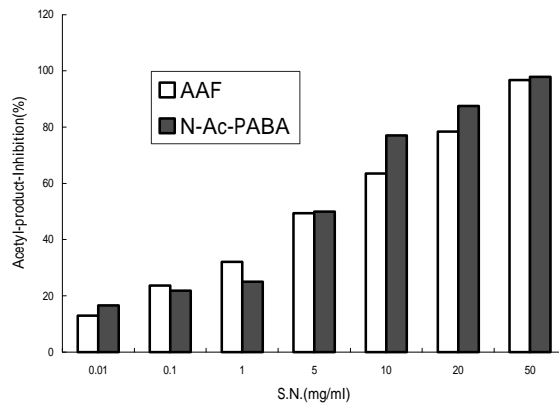


圖 6：不同濃度的龍葵水粗抽物 (CRSN) 對人類大腸癌細胞 (colo205) 胞質液中 NAT 的活性抑制率。以一定量的 AF 或 PABA 當受質，最後加了 20 mL 的 Acetyl-CoA 及 10 mL 不同濃度的龍葵 (0.01, 0.1, 1, 5, 10, 20, 50 mg/mL) 後，反應起始。控制組不加 Acetyl-CoA，而加入蒸餾水。培育於 37 °C，10 分鐘，再加入 100 mL acetonitrile 終止 2-AF 或 PABA 反應。實驗組及控制組均作 3 次，再經由 HPLC 分析，得出不同濃度的龍葵對人類大腸癌細胞 (colo205) 胞質液中 NAT 的活性效應。結果顯示，龍葵的濃度愈高，對人類大腸癌細胞 (colo205) 胞質液中 NAT 活性抑制就愈強。

間 (分別為 , , , 小時) 反應終結，用 檢測，發現 活性被抑制了，顯示作用的時間愈久，抑制力愈強 (圖 , 圖)

在細胞質內，利用 和 作受質來決定 依賴的乙醯轉移酵素乙醯化 和 的量。以一定量的 或 當受質，最後加了 μ 的 及 μ 不同濃度的龍葵 (, , , , , ,) 後，反應起始。控制組不加 , 而

加入蒸餾水。培育於 37°C ， 24 分鐘，再加入 100 $\mu\text{g/ml}$ 終止 或 反應。實驗組及控制組均作 3 次，再經由 流式細胞儀 分析，得出不同濃度的龍葵對人類大腸癌細胞 (HCT116) 胞質液中 的活性效應。結果顯示，龍葵的濃度愈高，對人類大腸癌細胞 (HCT116) 胞質液中 活性抑制就愈強 (圖 1)。若以 牛磺酸 當受質，加了 100 $\mu\text{g/ml}$ 不同濃度的龍葵，依序為 100 $\mu\text{g/ml}$ ， 200 $\mu\text{g/ml}$ ， 400 $\mu\text{g/ml}$ ， 800 $\mu\text{g/ml}$ ，經作用後，用 螢光素酶 檢測，發現 活性分別被抑制了 15% ， 35% ， 55% ， 75% 。

討 論

龍葵在台灣民間俗稱烏子仔菜，屬野生植物，為農田雜草，民間有取其幼苗，嫩葉炒熟當菜食用，也有取其成熟的果實食用，也有取幼苗或嫩葉搗碎外敷消癰疽腫毒、跌打瘀傷。湖南省衛生局在中藥新療法報告中指出，龍葵全草煎服，治療癌症有一定療效。有很多報導指出龍葵全草中所含澳洲茄鹼 (Solanoside) 澳洲茄邊鹼 (Solanoside) 等生物鹼是其主要的活性成份，具有抗癌作用。在 1998 年有報導指出，用薄層掃描法測定龍葵中澳洲茄胺 (Solanoside) 的含量，發現龍葵果實中含量 (約 1.5%) 明顯高於全草中含量 (0.5%)。現代的研究證明，多糖能用來治療肝炎、風濕痛、癌症、愛滋病。有報導指出從中草藥龍葵的稀鹼提取液中分離得到 3 種龍葵多糖，分別經瓊脂糖凝膠電泳、凝膠柱層分析法分析証實均為單一組分，所以龍葵抗癌作用可能也和含有多糖有關。

在龍葵遺傳毒理的實驗研究方面，從 1980 年代初，和 1985 年首創了微核檢測 (Micronucleus test) 技術以來，微核試驗已成為檢測哺乳動物細胞遺傳物質損傷和化學物質毒性的常規方法。有報導指出龍葵的水煎劑對誘變劑 (Ames test) 有一定的抑制作用，並對染色體有保護和修復功能。有報導指出龍葵所含的生物鹼可能影響維生素 C 的氧化還原過程，導致引起維生素 C 依賴凝血因子缺乏的病例報告。由於龍葵具有抗腫瘤的作用，已被廣泛的報導，所以在中國大陸有相當多有關龍葵的基礎與臨床的研究報導，但大多是以含龍葵的複方為主要的研究對象。龍葵及含龍葵的複方被廣泛使用於各種晚期的惡性腫瘤及惡性腫瘤術後。用于肝癌、肺癌、膀胱癌、胃癌 等有顯著療效報導。但也多是以含龍葵的複方為主，其有效成分是否一定是龍葵？並沒有一定的答案，只是龍葵被當成君藥大量使用。致於是透過何種途徑，來達到對各種腫瘤的治療效果？目前正在尋找研究中。

文獻報導，大腸癌和 CYP2D6 基因表現有關，為探討龍葵能否影響人類大腸癌細胞株 (HCT116) 細胞中 CYP2D6 基因的表現，我們進一步探討龍葵能否影響人類大腸癌細胞株 (HCT116) 細胞中 CYP2D6 的活性及人類大腸癌細胞株 (HCT116) 細胞胞質液中的 CYP2D6 活性。芳香胺類 (Amines) 的致癌物早被報導且已証實，發現若以它餵食實驗動物會導致癌症的發生，但若直接打到體內的標的器官，並沒有造成標的器官的癌化。後來才瞭解，芳香胺類的化學致癌物質在細胞質內的代謝，須先靠 CYP2D6 的活化作用，然後經由其他酵素的共同作用，最後再與 DNA 結合，形成 加合物。最後造成標的器官的癌化。有報導指出老鼠的血液、膀胱、大腸、肝臟等皆含有 CYP2D6，一般討論芳香胺類化合物代謝主要著重在肝臟，血液能運送致癌物質到其他的靶的器官，如膀胱、大腸。另有報導增加 CYP2D6 活性，則當個體暴露到芳香胺類致

癌物，會增加芳香胺類突變效應的易感性。另有報告指出降低肝細胞活性，當個體暴露到致癌物可降低肝細胞癌化的產生。所以是否如果能抑制的活性，可能就能降低癌症的發生，這是大家一直在尋求的答案。本實驗探討不同濃度的龍葵對人類大腸癌細胞株（）細胞中的活性及人類大腸癌細胞株（）細胞胞質液中的活性的影響，發現龍葵可降低人類大腸癌細胞株（）的活性，且濃度愈高，培養時間愈久，活性降低就愈明顯。另外在人類大腸癌細胞株（）細胞胞質液的活性測試中，也可見到濃度愈高，活性降的就愈明顯。但這是否跟含龍葵複方的抗腫瘤效應有關，仍有待進一步的研究証實。因為含龍葵複方的抗腫瘤的作用，可能經由多種不同的途徑來達成。

致 謝

本研究計畫經費由中國醫藥學院附設醫院醫研部計畫編號 提供。

參考文獻

中華民國 年衛生統計動向，行政院衛生署，臺北，：，。

張芳青，碩士論文，，，。

林松洲，食物與癌症，豪峰出版社，臺北，，。

【】 *Drug and Chemical Toxicology* 0 □ 2 4 0 26 0 1 6

楊再義, 台灣植物名彙, 天然書社有限公司, 臺北, 1987, 100。
佐佐木舜一, 吳進錫校修, 綱要台灣民間藥用植物誌, 晁文館藏版, 臺灣藥草出版社重刊, 臺北, 1987, 100。
明 李時珍, 陳貴廷等點校, 本草綱目, 中醫古籍出版社, 北京, 1983, 100。
岡西為人, 重輯新修本草, 學術圖書刊行會, 1987, 100。
呂炳奎, 中藥大全, 黑龍江科學技術出版社, 1987, 100。
劉春安, 彭明, 抗癌中草藥大辭典, 湖北科學技術出版社, 湖北, 1987, 100。
蔣廷錫, 草木典下冊, 上海文藝出版社, 上海, 1987, 100。

INT. J. CANCER.

張海洋, 董錫文, 楊永年, 值得開發的植物資源—龍葵, 北方園藝, 1987, 100。
江蘇新醫學院, 中藥大辭典(上), 上海人民出版社, 上海, 1987, 100。
柯銘清, 中草藥有效成份理化與藥理特性, 長沙, 湖南科技出版社, 1987, 100。
匡海學, 李維清, 杜懷堂摘譯, 關於細胞水平上的生藥抗腫瘤活性的研究, 國外醫學, 中醫中藥分冊, 1987, 100。

梁生旺, 王浴銘, 張廣強, 張山廣, 姬生國, 薄層掃描法測定龍葵中澳洲茄胺的含量, 中國藥學雜誌, 1987, 100。

肖桂武, 曾和平, 龍葵多糖的分離、純化和鑒定()中草藥, 1987, 100。
聶晶, 趙燕麗, 張冬, 楊潔茹, 龍葵遺傳毒理的實驗研究, 中國藥學報, 1987, 100。
董粉英, 周紹國, 龍葵引起維生素 依賴凝血因子缺乏 例報告, 當代醫師雜誌, 1987, 100。
陸克勤, 參苓白朮散在腸癌術後的應用, 中國醫刊, 1987, 100。
應耀虎, 中西醫結合治療晚期腫瘤 例療效觀察, 浙江中西醫結合雜誌, 1987, 100。
鍾洪, 吳緒祥, 消化道癌腫切除術後辨治經驗, 河北中西醫結合雜誌, 1987, 100。
樓海卿, 中醫藥以毒治癌的思路探討, 安徽中醫臨床雜誌, 1987, 100。
陳孟溪, 論癌症術後患者的中醫辨証論治思路, 湖南中醫藥導報, 1987, 100。
王泳, 抗癌中藥的臨床應用, 中醫藥研究, 1987, 100。
楊廣文, 張少云, 張曉健, 郭汝元, 龍神注射液抑瘤和急性毒性實驗研究, 腫瘤研究與臨床, 1987, 100。
丁國棟, 楊廣文, 張曉健, 姚璧, 郝志英, 崔靈芝, 代光壽, 劉清俊, 龍神注射液治療中、晚期惡性腫瘤臨床療效評估, 腫瘤研究與臨床, 1987, 100。

- 呂翠霞,李秀榮,清熱解毒中藥治療中晚期原發性肝癌的臨床與實驗研究概況,山東中醫藥大學學報 : , 。
- 謝少坤,中醫中藥治療原發性肝癌的進展,醫學文選 : , 。
- 王云啟,中西醫結合治療原發性肺癌合併胸水臨床觀察,遼寧中醫雜誌 : , 。
- 張書元,李長春,李洪奎,白龍沖劑聯合 方案治療晚期肺癌臨床觀察,華北煤炭醫學院學報 : , 。
- 羅開明,沈立平,張嵐,中西醫結合治療中晚期肺癌 例,右江醫學 : , 。
- 雷相明,中西醫結合治療膀胱腫瘤術後 例,中國民間療法 : , 。
- 歐鈺萍,胃癌的中醫中藥中西醫結合治療研究進展,廣西醫學 : , 。
- 卜平,周榮卿,陳齊鳴,扶正化癥方對胃癌轉移及血液流變學的影響,中國中西醫結合脾胃雜誌 : , 。
- 張鑫,姚平,中西醫結合治療殘胃癌 例,南京中醫藥大學學報 : , 。
- 許建青,胃細胞逆轉丸治療胃癌前期病變 例的逆轉作用,世界華人消化雜誌 : , 。
- 陳飛松,任蜀兵,李春梅,劉晉生,郭培元,危北海,施波,傅招娣,雷小紅,中藥龍方抑制實驗性胃腫瘤的作用,世界華人消化雜誌 : , 。
- 周蘭,尹蓮芳,治療胃癌的經驗,遼寧中醫雜誌 : , 。

THE EFFECTS OF SOLANUM NIGRUM ON N-ACETYLTRANSFERASE ACTIVITY IN HUMAN COLON CANCER CELL LINES

¹Division of Digestion Surgery, ²Detartment of Herb, China Medical University Hospital,
³Integration of Chinese and Western Medicine, ⁴Chinese Medical Science,
⁵Medicine, China Medical University

Tai-Chung, Taiwan

(Received 9 April 2003, revised Ms received 16 May 2003, accepted 2 July 2003)

Solanum nigrum

Solanum nigrum

Solanum nigrum

Solanum nigrum

Solanum nigrum

Key words *Solanum nigrum*