Arshive of SID

فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال نهم، شماره ۴، پاییز ۱۳۹۶

بررسی اثر سمیت سلولی اسانس گیاه آویشن وحشی (*Thymus vulgaris* L.) با استفاده از روش‌های MTT و تریپان بلو بر رده سلولی سرطان سینه MCF-7

ساسان حاجبی[۱]، عبدالکریم چهرگانی راد[۲]*، حسین لاری یزدی[۳]

[۱] باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، ایران

[۲] گروه زیست شناسی. دانشکده علوم. دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

[۳] گروه زیست شناسی. دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

* E.mail: chehregani@basu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۱/۱۸

چکیده

سرطان سینه شایع ترین سرطان در بین زنان ایرانی است. اسانس آویشن وحشی (*Thymus vulgaris* L.) دارای ترکیبات ضد سرطان همچون تیمول می باشند. هدف از این پژوهش مطالعه اثر اسانس این گیاه بر رده سلول سرطانی سینه MCF-7 توسط روش‌های رنگ‌سنجی نمک‌های تترازولیوم (MTT) و تریپان بلو و مقایسه آن با تاکسول به عنوان یک ترکیب شناخته شده ضد سرطان می‌باشد. رده سلولی سرطان سینه MCF-7 و رده طبیعی فیبروبلاست HU-02 (خریداری شده از مرکز ملی ذخائر ژنتیکی و زیستی ایران) با غلظت‌های مختلف اسانس آویشن وحشی و تاکسول (به عنوان شاهد مثبت) در فواصل زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت معین تیمار شدند. میزان مسمومیت سلولی بررسی شد و نتایج نشان داد اسانس آویشن وحشی مورد مطالعه دارای اثر سیتوتوکسیک بصورت وابسته به غلظت در رده سلولی MCF-7 است. بیشترین اثر سایتوتوکسیک اسانس این گیاه در غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بر سلول‌های سرطان سینه بود در حالیکه در هیچ غلظت مورد مطالعه بر سلول‌های غیر سرطانی اثر سوء نشان نداد. از طرف دیگر بررسی نشان داد اسانس آویشن وحشی می‌تواند در کاربرد توام با تاکسول، سمیت سلولی تاکسول بر سلول‌های سرطانی را تشدید کند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد اسانس آویشن وحشی می‌تواند در درمان سرطان سینه موثر باشد و احتمالا از طریق القاء آپوپتوز باعث مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: آویشن وحشی، تریپان بلو، روش MTT، سرطان سینه.

مقدمه

سرطان سینه شایع‌ترین نوع سرطان در بین زنان جهان است و از بزرگترین مشکلات سلامتی بشر در نقاط مختلف جهان بشمار می‌آید که سالانه جان هزاران انسان را می‌گیرد [۸ و ۳۸]. عوامل موثر بر سلامت فردی، محیط زیست، سبک زندگی و فعالیت جسمانی همگی توضیحی بر این روند می‌باشند [۲۶]. سرطان سینه در ایران رتبه اول را در میان سرطان‌های

www.SID.ir

Arshive of SID

تشخیص داده شده در زنان ایرانی داراست [۲۹ ،۳۰]. با این وجود مطالعاتی که بتواند ویژگی‌های بالینی، پاتولوژیکی، مراحل و توزیع سن این بیماری را نشان دهد بسیار اندک است [۲۸، ۹، ۱۰]. در طول سال‌های اخیر با توجه بیشتر به گیاهان و تحقیقات گسترده بر روی اسانس‌ها و مواد موثره آنها، کاربرد گسترده آنها در طب گیاهی همچون فعالیت ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدان و به خصوص خواص ضد سرطانی، مورد توجه بسیار قرار گرفته است [۱۵،۱۱،۹،۳٦]. بالغ بر ۳۵۰۰ سال است که از گیاهان در درمان بیماری‌ها استفاده می شود و بررسی‌هایی که بر روی گیاهانی که در طب سنتی برای درمان سرطان صورت گرفته حاکی از وجود ترکیبات ضد سرطانی در این گیاهان است [۲۰، ۳۱]. امروزه داروهای گیاهی به‌علت عدم عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضدسرطان برای اولین بار توسط هارتول و همکاران در اواخر دهه ۱۹٦۰ انجام شد که از پودوفیلوتوکسین و مشتقات آن به عنوان عامل ضد سرطان استفاده کردند [۳٤]. امروزه بیش از ٦۰ درصد ترکیبات ضد سرطان از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم‌ها تامین می شود [۱٦، ۲۳، ۳٤]. گیاهان ضد سرطان گستره وسیعی از ترکیبات مانند کلشی سین، وین کریستین و پودو فیلوتوکسین که مهار کننده میتوزی بوده و به پروتئین‌های توبولین تشکیل دهنده دوک میتوز متصل می‌شوند و همچنین آلکالوئیدهای کارتاراستوس، رزئوس و وینکاآلبا که در شیمی درمانی مورد استفاده قرار می گیرند را دارا می‌باشند [۳، ۱٤].

آویشن از جمله گیاهان داروئی است که دارای اثرات درمانی همچون ضد التهاب، ضد عفونی کننده، ضدسرفه، ضد اسپاسم و خلط آور است [۱۸]. اسانس این گیاه دارای ترکیبات 1.8 – cineole (6.23), Comphor (15.14), Camphen (10.54), a-Pine (8%), Carvarcol (18.51%), Thymol (20.35%) است [۳۱]. همچنین این گیاه دارای ترکیبات مهار کننده آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز و استرس اکسیداتیو است و ردپای این آنزیم‌ها در جریان دگرگونی رشد و تمایز سلول‌ها از جمله سلول‌های سرطانی به تائید رسیده است [۱۹، ۲۱، ۳۷]. حفاظت از بافت کبدی [۲۵]، خواص ضد رگزایی تومورها [۲۰، ۲٦]، خواص ضد توموری [۲۱] و خاصیت ضد ویروسی HIV-1 [۱۵] از جمله خواص این ترکیبات می باشد.

Amirghofran و Karami [۱] در مطالعه‌ای با استفاده از روش MTT نشان دادند که عصاره گیاهان دارویی آویشن وحشی *Thymus vulgaris* و چند گیاه دیگر اثرات مسمومیت سلولی بر چندین لاین سلول سرطانی مختلف دارند و در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تا ۵۰٪ ممانعت از رشد سلولی را موجب می‌شوند. بررسی‌های دلیلان و همکاران [٤] با استفاده از روش MTT نشان داد که عصاره گیاه دارویی *Lavender angustifolia* دارای اثرات مهار رشد سلول‌های سرطانی است و بازدارندگی ۵۰٪ آن در غلظت ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر اندازه‌گیری شد.

Ayesh و همکاران، ۲۰۱٤ [۲]، اثرات ضد سرطانی عصاره آویشن وحشی را بر سلولهای سرطانی لوسمی THP-1 بررسی کردند و نشان دادند که میزان کشندگی ۵۰٪ این عصاره در غلظت ۹/٦ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد. اسماعیلی ماهانی و همکاران ، ۲۰۱۰ [٦]، نشان دادند عصاره نوعی آویشن (Thymus caramanicus) اثرات سمی بر سلول‌های سرطان سینه تیپ MCF-7 دارد و در غلظت ۲۰۰ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر رشد سلول‌های فوق را مهار می کند. و اواندری و همکاران، ۲۰۰۵ [۷] با

www.SID.ir

Arshive of SID

استفاده از روش MTT، اثر ضد سرطانی *Lavandula angustifolia* را بر سلول‌های مختلف سرطانی بررسی و حداقل غلظت ۵۰٪ کشندگی آن را ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند.

اندازه‌گیری قابلیت زیستی و تکثیر سلولی اساس بسیاری از روش‌های بررسی پاسخ سلولی به عوامل خارجی را تشکیل می‌هد. روش MTT یک روش رنگ‌سنجی است که بر اساس احیاء شدن و شکسته شدن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم بوسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده و تشکیل کریستال‌های ارغوانی فورمازان انجام می‌شود. در این روش بر خلاف سایر روش‌ها مراحل شستشو و جمع‌آوری سلول که اغلب باعث از دست رفتن تعدادی از سلول‌ها و افزایش خطای کار می‌شوند حذف شده است. تمام مراحل آزمایش در میکروپلیت انجام می‌شود، لذا تکرارپذیری، دقت، سرعت و حساسیت آزمایش بالا است. در حال حاضر احیاء نمک تترازولیوم روشی مطمئن و کم هزینه برای تخمین تکثیر سلولی درشرایط خاص و تجزیه و تحلیل اثر سمیت مواد بر سلول‌ها است [۳۳ و ۲۸ و ۲٤]. هدف از مطالعه حال حاضر بررسی اثرات سمیت اسانس آویشن بر روی رده سلولی سرطان سینه MCF-7 و مقایسه آن با سلوهای طبیعی رده HU-02 می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه اسانس

برگ‌های گیاه مورد (آویشن وحشی) مطالعه در این تحقیق در خرداد ماه ۱۳۹۵ از شهرستان بروجرد (کوهپایه‌های گرین) جمع‌آوری شد. بعد از شناسایی و تأیید نام علمی گیاه (*Tymus vulgaris* L.) توسط گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد بروجرد برگ‌های این گیاه در محلی تاریک و خشک نگهداری و به طور کامل خشک شد.

اسانس برگ گیاه آویشن با روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجرتهیه شد. در این پژوهش برای تعیین ترکیبات موجود در اسانس از دستگاه (GC - MS) شامل ردیاب جرمی Aglient 5975 C (امریکا) با منبع یونیزاسیون الکترونی(EI) کوپل شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی Aglient 7890 (آمریکا) که از ستون HP-5MS با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر برخوردار بود، استفاده شد. دمای محل تزریق (Inlet) دستگاه کروماتوگرافی گازی روی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، دمای منبع یونیزاسیون ردیاب جرمی روی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای آنالایزر (کوادروپل) روی ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد و دمای واسط بین MS, GC روی۲۸۰ درجه سانتی گراد تنظیم گردید [۳۵].

۲-۲- کشت سلولی

به منظور بررسی اثر سایتوتوکسیک اسانس گیاه آویشن، رده سلولی استاندارد سرطان سینه MCF-7 و سلول‌های طبیعی رده فیبروبلاست HU-02 از بانک سلولی انجمن ذخائر ژنتیکی ایران (IRBIC) به صورت فلاسک تهیه گردید. غلظت‌های مختلف اسانس گیاه آویشن شامل ۱۵، ۳۰، ٦۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر جهت بررسی اثر غلظت‌های مختلف آویشن تهیه گردید. از غلظت‌های ۰/۱۰۰، ۰/۱۰، ۰/۱، ۱، و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تاکسول به عنوان شاهد مثبت و یک گروه فاقد تاکسول و اسانس به عنوان شاهد منفی استفاده شد. همچنین تیمار توام اسانس و تاکسول به منظور تعیین

www.SID.ir

Arshive of SID

اثر هم افزایی اسانس بر تاکسول انجام شد. درصد بقاء سلول‌ها پس از ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت مورد مطالعه قرار گرفت. سلول‌ها در محیط کشت RPMI-1640 غنی شده با ١٠ درصد سرم جنینی گاوی (FBS: Fetal Bovine Serum) و آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (50 µg/ml) و پنی‌سیلین (50 IU/ml) در انکوباتور با شرایط CO_2 ٥ درصد، دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٩٥ درصد کشت داده شد. پس از ٥ تا ٦ بار پاساژ سلول‌ها در فاز لگاریتمی رشد قرار گرفتند [٣٥].

٢-٣- روش MTT

پس از پاساژ دادن سلول‌ها و شمارش آنها با هموسایتومتر(شرکت مارینفلد) تعداد 3×10^4 سلول در هر چاهک از پلیت ٩٦ خانه ریخته شده و به مدت ٢٤ ساعت با محیط کشت سرم دار در انکوباتور Co_2 دار (شرکت ممرت) قرار گرفت تا سلول‌ها به کف چاهک بچسبند. سپس چاهک‌ها را با بافر PBS شست و شو داده و با ١٠٠ میکرولیتر محیط تازه و ٢٠ میکرولیتر از غلظتهای مورد نظر تیمار داده شد و هر تیمار تحت سه بار تکرار قرار گرفت. سپس پلیت‌ها به مدت٢٤ و ٤٨و ٧٢ ساعت در انکوباتور CO_2 در دمای ٣٧ درجه قرار گرفته شد. پس از طی زمان‌های فوق از محیط قبلی برداشته و با بافر شستشو داده شده و ١٠٠ میکرولیتر محیط تازه بدون سرم و ١٠ میکرولیتر محلول MTT (شرکت سیگما) برداشته شده و به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ٢ ساعت در انکوباتور CO_2 دار قرار داده شد. پس از گذشت این مدت زمان مایع رویی چاهک‌ها را دور ریخته وبه هر چاهک جهت لیز سلولی ١٥٠-٢٠٠ میلی‌لیتر DMSO (شرکت سیگما) اضافه گردید و سپس جذب نوری متعلق به هر چاهک درطول موج بین ٥٩٠-٥٧٠ نانومتر توسط دستگاه الایزاریدر (Dlagnostic) خوانده و از طریق فرمول زیر برای محاسبه میزان زنده بودن سلول ها استفاده گردید [٣٧].

١٠٠ × OD کنترل / OD نمونه = توان زیستی سلول‌ها

در این پژوهش از غلظت‌های ١٥، ٣٠، ٦٠، ١٢٥، ٢٥٠ و ٥٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس گیاه آویشن به عنوان گروه‌های تیماری و غلظت‌های ٠/٠٠١ و ٠/٠١ و ١/٠ و ١ و ١٠ میکروگرم بر میلی لیتر تاکسول به عنوان شاهد مثبت، و یک گروه فاقد تاکسول و اسانس به عنوان شاهد منفی استفاده شده است. در پایان سلول‌های تیمار شده با استفاده از میکروسکپ نوری زایس مدل Axiostar Plus (Germany) مجهز به دوربین عکاسی Canon (Japan) تصویربرداری شد.

٢-٤- روش تریپان بلو

تعداد 10^6 سلول در پلیت ٦ خانه ریخته و پس از شماره‌گذاری و به هر خانه پلیت ٢-١/٥ میلی‌متر محیط کشت اضافه و به مدت ٢٤ ساعت و به منظور اتصال سلول‌ها به بستر خود در انکوباتور CO_2 قرار داده شد. پس از ٢٤ ساعت مایع رویی سلول‌ها تخلیه و محیط فاقد سرم حاوی اسانس با غلظت‌های مختلف مورد اشاره در بالا، به پنج خانه پلیت اضافه و خانه ششم به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتورCO_2 قرار داده شد. سپس خانه‌های پلیت تریپسینه شده و با اضافه کردن محیط کشت کامل، تریپسین غیرفعال و به نسبت ١:١ تریپان بلو 0/4 درصد به هر خانه اضافه شده و پلیت به مدت ٢ دقیقه در انکوباتور ٣٧ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. شمارش سلول‌ها با استفاده از لام نئوبار

www.SID.ir

Arshive of SID

انجام گرفت. سلول‌های آبی رنگ به عنوان سلول‌های مرده و سلول‌های بی رنگ به عنوان سلول‌های زنده در نظر گرفته شده است. سپس با استفاده از فرمول زیر درصد زیست پذیری سلول‌ها در هر غلظت محاسبه گردید. در این مرحله از تیمار توام اسانس آویشن وحشی همراه با داروی تاکسول با غظت‌های (۱۰+۱۰۰۰، ۱+۸۰۰، ۰/۱ +٤۰۰، ۰/۱۰+۲۰۰ و ۰/۱۰۰+۱۰۰) به منظور بررسی اثر تشدید کنندگی اسانس بر اثر مسمومیت سلولی تاکسول، استفاده شد [۲۸]. توان زیستی سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

۱۰۰× (تعداد کل سلول‌ها/تعداد سلول‌های زنده) = توان زیستی سلول‌ها

۲-۵- محاسبات آماری

جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ver 20 و آنالیز یک طرفه ANOVA One Way و تست Tukey استفاده شده است و P-Value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد [۲۸].

۳- نتایج

۳-۱- نتایج بررسی ترکیب اسانس

از ٤۰۰ گرم برگ خشک شده گیاهان حدود ۲ سی‌سی اسانس بدست آمد که نتایج حاصل از استخراج ترکیبات اسانس که به روش طیف سنجی جرمی GC/MS صورت پذیرفت در جدول شماره ۱ آمده است. Linalool و Carvacrol به ترتیب با ۳۹/۱۱ و ۲۳/۱٤ درصد بیشترین میزان و Camphene و Caryophyllene oxide به ترتیب با ۰/۲۱ و ۰/۱۸ درصد کمترین میزان ترکیبات موجود در اسانس را به خود اختصاص دادند.

جدول ۱: محتوای اسانس گیاه آویشن وحشی نمونه‌برداری شده از شهرستان بروجرد.

ردیف	ترکیب اسانس	درصد
۱	Carvacrol methyl ether	۱/۵۱
۲	Limonene	۰/۵۳
۳	Thymol	۲/۷٤
٤	Carvacrol	۲۳/۱٤
۵	α_Thujan	۰/٤۷
٦	α _Pinene	۰/۸۷
۷	α_Terpinene	۰/٤۲
۸	β _Caryophyllene	۱/۵۹
۹	α _Terpineol	۱/۷٦
۱۰	E _Linalool oxide	۱/۷۳
۱۱	Z _Linalool oxide	۲/٤٤
۱۲	Linalool	۳۹/۱۱
۱۳	Caryophyllene oxide	۰/۱۸
۱٤	Camphene	۰/۲۱

۳-۲- بررسی تغییرات سلولی با میکروسکوپ

در مطالعات میکروسکپی مشخص شد سلول‌های طبیعی HU-02 که تحت تاثیر اسانس‌ها قرار گرفته بودند، تغییرات ریختی مشخصی را نسبت به سلول‌های شاهدی که بدون تاثیر اسانس بودند نداشتند (شکل ۱). سلول های سرطانی بدون تاثیر اسانس نیز تغییرات مشخصی را نشان ندادند. اما سلول‌های سرطانی MCF-7 تحت تاثیر اسانس در غلظت‌های مختلف تفاوت‌های بسیار بارز و وابسته به غلظت اسانس نشان دادند، بطوری که به تدریج و با افزایش زمان و در غلظت‌های بالاتر تغییر شکل سلولی بسیار واضح تر بود. مهار رشد سلولی به طور دسته جمعی یا منفرد به صورت مورفولوژی ستاره‌ای شکل، تحلیل رفتگی و واکوئله شدن، کاهش سیتوپلاسم و پیگمانته شدن هسته مشخص بود. این دو تغییر یعنی تحلیل رفتگی و پیگمانه شدن هسته از ویژگی‌های نهایی مرگ

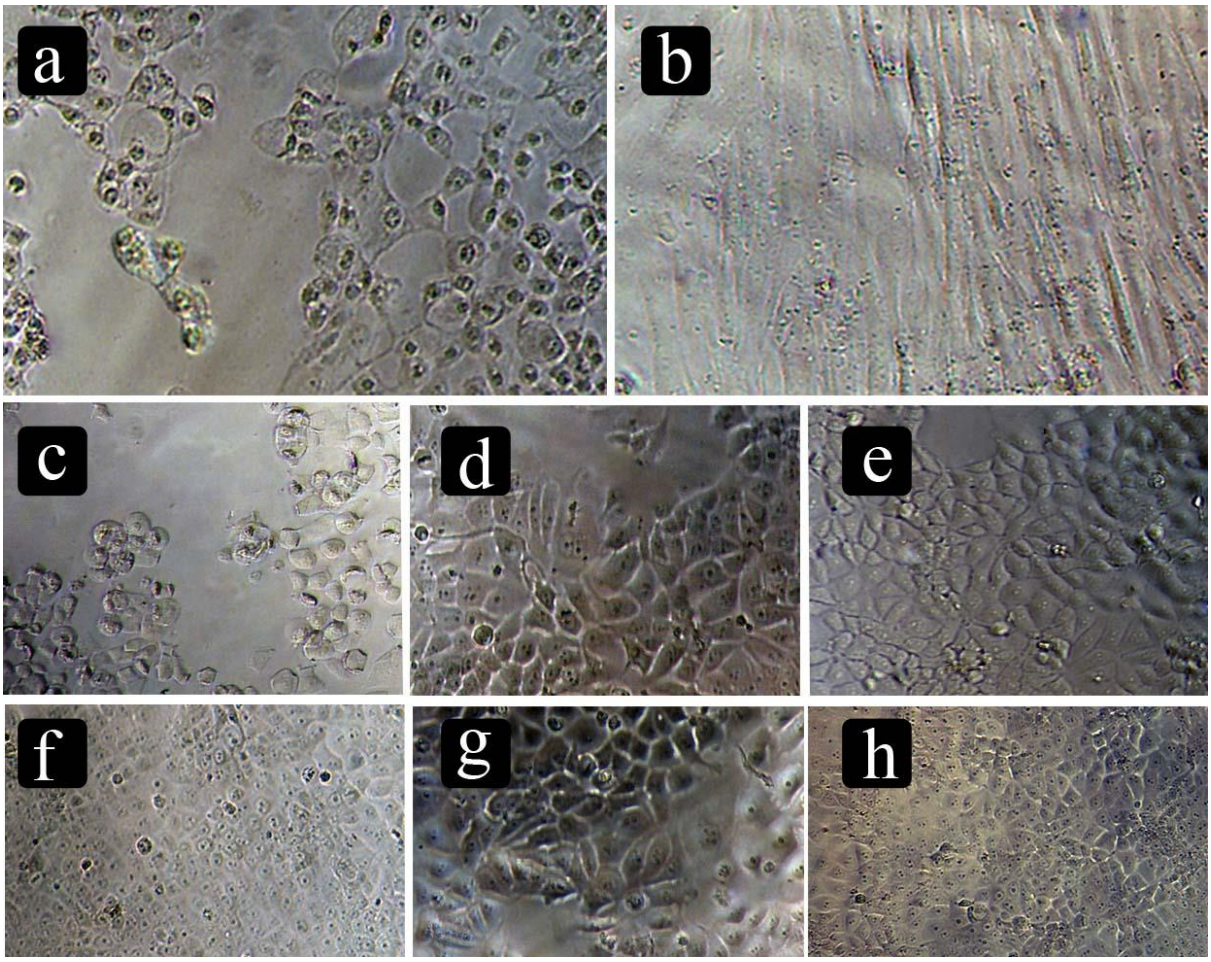
www.SID.ir

Arshive of SID

برنامه‌ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) احتمالی است. تغییرات ریختی شامل سطوحی از واکوئله شدن و کاهش اندازه تراکم هسته‌ها می‌تواند بازتاب تغییرات متابولیکی باشد که در سطح مولکولی در سلول‌های تیمار شده با اسانس گیاه آویشن وحشی قابل بررسی است. نتایج نشان داد که تغییرات درون سیتوپلاسمی و هسته‌ای تحت تاثیر اسانس آویشن وحشی می‌تواند مربوز به اثرات سایتوتوکسیسیتی اسانس بر سلول‌های توموری باشد (شکل ۱). تاثیرات مشابه و حتی شدیدتر در گروه‌های کنترل مثبت (گروه‌های تیمار شده با تاکسول) نیز مشاهده شد.

۳-۳- نتایج سنجش توان زیستی با روش MTT

بررسی میزان بقاء سلولی با استفاده از روش MTT بر روی رده سلولی سرطان سینه MCF-7 نشان داد که میزان توان زیستی این سلول‌ها به صورت وابسته به غلظت و زمان کاهش می‌یابد. غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارو تأثیر چندانی بر بقاء سلول‌ها نداشت در حالی که غلظت ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر



شکل ۱. تغییرات ریختی در سلول‌های MCF-7 و HU-02 تحت تیمار با اسانس ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر. a: سلول‌های MCF-7 (شاهد منفی)، b: سلول‌های HU-02 (شاهد منفی)، c,d,e سلول های MCF-7 تحت تیمار با اسانس آویشن وحشی و f,g,h سلول های MCF-7 تحت تیمار با تاکسول در زمان های ۲۴، ۴۷ و ۷۲.

www.SID.ir

Arshive of SID

به طور مؤثری موجب مرگ سلول‌های MCF-7 (در ۷۲ ساعت) شد (جدول ۲). غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارو تاثیر چندانی بر بقاء سلول‌ها نداشت در حالیکه غلظت ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به طور موثری موجب مرگ سلول‌های MCF-7 در ۷۲ ساعت می‌شود (جدول ۲). نتایج این جدول نشان می دهد که IC50 اسانس آویشن وحشی برابر با ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌گرم (۴۹/۰۷±۱/۵۲) می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود تغییرات بقاء سلول‌های سرطان سینه MCF-7 وابسته به غلظت می‌باشد و هرچه میزان غلظت اسانس افزایش یافته میزان بقاء سلول‌های سرطانی کاهش یافته است.

بر اساس نتایج این پژوهش ترکیب تاکسول که یک ترکیب ضدسرطان شناخته شده است بر سلول‌های سرطان سینه رده MCF-7 اثرات مسمومیت سلولی بر رده سلول سرطانی فوق دارد (جدول ۳). نتایج این جدول نشان می‌دهد که IC_{50} داروی تاکسول برابر با ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌گرم (48/26±1/39) می‌باشد. همانطور که مشاهده می شود تغییرات بقاء سلول‌های سرطان سینه MCF-7 وابسته به غلظت می‌باشد و هرچه میزان غلظت اسانس افزایش یافته میزان بقاء سلول‌های سرطانی کاهش یافته است.

اما نتایج نشان می‌دهند که غلظت‌های مختلف اسانس تاثیری بر روی سلول طبیعی رده HU-02 ندارد و تفاوت معنی‌داری در قابلیت زیستی سلول‌های غیرسرطانی تیمار شده با اسانس آویشن وحشی با گروه شاهد مشاهده نشد (جدول ٤). نتایج این جدول نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف آویشن وحشی احتمالا تاثیر سمیت محسوسی نمی‌تواند بر این رده سلولی داشته باشد.

جدول ۲: میانگین توان بقاء سلول های MCF-7 تحت تیمار غلظت‌های مختلف اسانس آویشن وحشی در زمان های ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت و غلظت های ۱۵، ۳۰، ٦۰، ۱۲۵و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر. مقادیر به صورت Means±SE می‌باشد و تفاوت میانگین در سطح P≤0.05 در نظر گرفته شده است.

زمان/(ساعت)	شاهد	۱۵ (µg/ml)	۳۰ (µg/ml)	٦۰ (µg/ml)	۱۲۵ (µg/ml)	۲۵۰ (µg/ml)
24	97/44±1/10	94/12±1/37	86/05±0/49	77/39±0/95	66/82±0/12	58/21±1/67
48	97/13±1/15	93/87±1/15	81/71±0/92	71/57±0/41	60/25±0/36	46/79±1/22
72	96/74±1/26	84/77±0/91	71/49±0/13	63/13±1/68	49/07±1/52	41/61±0/79

جدول ۳: میانگین توان بقاء سلول های MCF-7 تحت تیمار غلظت‌های مختلف داروی تاکسول در زمان‌های ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت و غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر. مقادیر بدست آمده به صورت Means±SD می‌باشد و تفاوت میانگین در سطح P≤0.05 در نظر گرفته شده است.

زمان/(ساعت)	شاهد	۰/۰۰۱ (µg/ml)	۰/۰۱ (µg/ml)	۰ /۱ (µg/ml)	۱ (µg/ml)	۱۰ (µg/ml)
24	97/20±0/66	71/39 ±1/22	63/76±0/28	52/51±1/47	50/07±1/39	44/91±1/76
48	96/39±1/52	67/42±0/85	60/19±0/43	48/26±1/39	42/64±0/28	32/05±1/18
72	93/89±1/95	65/15±0/73	58/77±0/19	45/17±0/52	51/88±0/16	30/75±0/59

جدول ٤- میانگین توان بقاء سلول های غیر سرطانی HU-02 تحت تیمار غلظت‌های مختلف اسانس آویشن وحشی در زمان های ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت و غلظت های مختلف با استفاده از روش MTT. مقادیر بدست آمده به صورت Means±SD می‌باشد و تفاوت میانگین در سطح P≤0.05 در نظر گرفته شده است.

زمان/ (ساعت)	شاهد	۱۵ (µg/ml)	۳۰ (µg/ml)	٦۰ (µg/ml)	۱۲۵ (µg/ml)	۲۵۰ (µg/ml)
24	98/73±۰/27	98/10±1/51	97/46±1/31	94/27±0/83	91/41±1/17	*91/10±0/19*
48	98/14±1/81	98/32±0/29	96/71±1/74	94/57±1/6	91/35±0/44	90/36±1/52
72	97/20±1/77	96/89±0/33	96/11±0/43	92/13±0/97	91/68±1/13	90/85±0/49

www.SID.ir

Arshive of SID

۳-٤ نتایج سنجش توان زیستی با روش تریپان بلو

پس از مشخص شدن اثر مهار کنندگی اسانس بر سلول‌های سرطانی در آزمایش قبلی، در این بررسی میزان بقاء سلولی با استفاده از روش تریپان بلو بر روی رده سلولی سرطان سینه MCF-7 به صورت کاربرد توام با تاکسول انجام شد و نتایج نشان داد که میزان کاهش توان زیستی رشد این سلول‌ها به صورت وابسته به غلظت می‌باشد و هرچه میزان غلظت اسانس و تاکسول افزایش یافته میزان توان زیستی و بقاء سلول‌های سرطانی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. نتایج نشان می‌دهد که میزان IC_{50} اسانس گیاه آویشن وحشی همراه با تاکسول در تیمار توام µg/ml ۱۰+۰/۰۰۱ برابر با (45/07±0/98) می‌باشد.

بحث

مطالعاتی که تا کنون در مورد فعالیت ضد تکثیری و سایتوتوکسیک اسانس خانواده نعناعیان که بر رده‌های مختلف سرطانی صورت گرفته که نشان می‌دهد اثر کشندگی اسانس این خانواده وابسته به نوع سلول بوده و در رده‌های سلولی مختلف متفاوت است [۳۹].فلاونوئید موجود در اسانس این گیاهان PPARɣ را فعال کرده و به موجب آن بیان Cox-2 را مهار می‌کند. استفاده از اسانس‌های گیاهان خانواده نعناعیان روی پوست موش از اتصال کوالان بنزوپیرن به DNA اپیدرمال جلوگیری می‌کند و تشکیل تومور را مهار می‌سازد. همچنین اوریک اسید موجود، از اتصال بنزوپیرن به DNA سلول اپیدرم و اتصال TPA (Tissue plasminogen activator) به غشا این سلول‌ها ممانعت به عمل می آورد. اوریک اسید مسیر NF-ƙB را در سلول‌های سرطانی مهار می‌کند و احتمالا این کار را از طریق سرکوب مهارکننده فسفریلاسیون P65 و NF-ƙB انجام می‌دهد و بدین ترتیب موجب تنظیم کاهشی اونکوژن‌هائی مانند Cox-2 و MMP-9، Cyclin D1، C-Jun و C-Fas می‌شود. همچنین کارسنول موجود در برگ‌های برخی از گیاهان این خانواده نیز مانند اوریک اسید عمل کرده و فعالیت NF-ƙB را مهار می‌کند [۱۳ و۱۹]. بررسی‌ها نشان داده که فراورده هایی نظیر رزمانول و رزمارینیک اسید موجود در گیاهان این تیره موجب کاهش Cox-2 شده و نقش ضد التهابی و ضد سرطانی دارد [۱۹]. وجود ترکیبات ضد جهش و ضد سرطان در اسانس و خواص ضد سرطانی آنها را به خوبی توجیه می‌کند. نتایج ما با بررسی های انجام شده توسط ایپ و همکاران ۲۰۰۲، که نشان دادند که عصاره *Rosmarinus officinalis* در غلظت ۲ میلی‌گرم بر

جدول ۵: میانگین توان بقاء سلول‌های MCF-7 تحت تیمار غلظت‌های مختلف اسانس آویشن وحشی در زمان‌های ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت و غلظت‌های مختلف در ترکیب با داروی تاکسول با استفاده از روش تریپان بلو

زمان / (ساعت)	شاهد	۱۰۰+۰,۰۰۱ (µg/ml)	۲۰۰+۰,۰۱ (µg/ml)	٤۰۰+۰,۱ (µg/ml)	۸۰۰+۱ (µg/ml)	۱۰۰۰+۱۰ (µg/ml)
٢٤	٩٧/٧١±١/٤١	٤٥/٠٧±٠/٩٨	٥٠/٨٥±٠/٨٣	٣٨/٥٣±٠/٩٤	٣٣/٨٧±١/٠٢	٣٠/٨٨±١/١٢
٤٨	٩٧/١٠±٠/٢٧	٤٢/٩١±٠/٨٤	٤٣/٢٩±٠/٧٣	٢٢/٠٨±٠/٧٩	١٨/٨٥±٠/٩٣	١٦/٢٥±٠/٩٧
٧٢	٩٦/١٨±٠/٤٩	٣٤/١٢±٠/٧٧	٤١/٤٨±٠/٦٧	٢٢/١٦±٠/٥٢	١٥/١٩±٠/٩٩	١٤/٦٣±٠/٣٦

www.SID.ir

Arshive of SID

میلی لیتر رشد سلول‌های سرطانی را به طور کامل ممانعت می‌کند [۱۱]، همسویی دارد و در مقایسه با آن، بر اساس نتایج این پژوهش اسانس گیاه آویشن وحشی بسیار کارآمد تر عمل کرده و در غلظت ۱۵ میکرو گرم بر میلی‌لیتر نیز از رشد سلول‌های سرطانی جلوگیری کرده است .

با بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهانی از خانواده نعنا با غلظت‌های ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توسط آرماتو و همکاران در سال ۲۰۱۰ تفاوت‌های معناداری میان گیاه رزماری و اسطوخدوس نشان داده شده است. این نتایج وجود مواد موثره بیشتری را در رزماری نسبت به اسطوخدوس نشان می‌دهد [۱۳]. تاکسول یک عامل آنتی‌تومور است که سرهم شدن و تشکیل میکروتوبول‌ها را از دایمرهای توبول افزایش افزایش می‌دهد و با جلوگیری از دپلیمریزاسیون میکروتوبول‌ها موجب تثبیت آنها و در نهایت از بین رفتن توانایی سلول در استفاده از یک اسکلت سلولی انعطاف‌پذیر شده و بدین ترتیب سلول پس از مدتی دچار وقفه در رشد شده و در نهایت از بین می‌رود [۵ و ۱۲]. نتایج این پژوهش نشان داد استفاده توام از تاکسول و عصاره آویشن وحشی اثرات ضدسرطانی تاکسول را افزایش می‌دهد و به عبارتی تاکسول و اسانس آویشن وحشی اثر هم افزایی روی همدیگر دارند. در این پژوهش بر اساس تعیین توان زیستی، نتیجه‌گیری می‌شود که خاصیت ضد سرطانی اسانس آویشن وحشی وابسته به غلظت تیمار است، زیرا با افزایش غلظت میزان اسانس و لزوما تاثیر ضد سرطانی آن بر سلول‌ها افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج یک پژوهش با استفاده از رنگ آمیزی MTT و تریپان بلو کاهش توانایی زیستی سلول‌های سرطانی درتیمار با اسانس آویشن وحشی نشان داده شد و مشخص شد که این اسانس در شرایط In vitro مانع از رشد سلول‌های سرطانی سنگفرشی حاصل از تومور سر و گردن در انسان می‌شود [۳]. در پژهشی که در سال ۲۰۰۸ توسط Joekim و همکاران [۱۳] صورت پذیرفت، ردپای آنزیم سیکلواکسیژناز و استرس اکسیداتیو در جریان دگرگونی رشد و تمایز سلول از جمله سلول‌های سرطانی به اثبات رسید و مشخص شد که در اسانس گیاهی آویشن وحشی ترکیباتی وجود دارد که آنزیم‌های مذکور را مهار کرده و موجب کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود. همچنین تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که آنزیم‌های سیکواکسیژناز در مکانیسم‌های سرطان نقش بسیار مهمی دارند به گونه ای که مهار آپوپتوزیس توسط تشدید فعالیت این آنزیم به اثبات رسیده است [۲۹]. در سال ۲۰۱۱ Liang و همکاران دریافتند فلاونوئیدهای موجود در آویشن وحشی PPRY را فعال کرده و به موجب آن بیان ۲ -Cox را مهار می کند [۱۷]. احتمال می‌رود ترکیبات اسانس آویشن وحشی با مهار آروماتاز توسط مهار کننده‌های سیکلواکسیژناز میزان استروژن را کاهش داده که باعث کمتر شدن رشد تومور خواهد شد. تیمول و کاراکول موجود در اسانس آویشن وحشی اثر سمیت سلولی بر سلول‌های سرطانی داشته و می‌توان گفت در این پژوهش ترکیب آنها با تاکسول توانسته است اثر سمیت تاکسول را افزایش دهد [۳۲]. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات موثر موجود در اسانس آویشن وحشی مسئول القاء مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی MCF-7 بوده است. بررسی متون و نتایج حاصل از پژوهش های مختلف و همچنین نتایج پژوهش ما نشان می‌دهد که این گیاه از خانواده نعنائیان دارای پتانسیل بالقوه‌ای از

www.SID.ir

Arshive of SID

نظرفعالیت‌های زیستی و فارماکولوژیکی است و به نظر می‌رسد جداسازی ماده موثره گیاه آویشن وحشی، تعیین ساختار و مکانیسم دقیق عملکرد آن باید مورد مطالعه بیشتری قرار گیرد. براساس برآوردهای سازمان بهداشت جهانی، بیش از ۸۰ درصد از جمعیت جهان در کشورهای در حال توسعه سلامتی خود را بطور مستقیم یا غیر مستقیم، مدیون گیاهان داروئی هستند و در کشورهای پیشرفته نیز استفاده از ترکیبات شیمیائی گیاهان داروئی روبه افزایش است. بر این اساس در درمان بیماری‌های پر هزینه نظیر سرطان استفاده از گیاهان دارویی نظیر آویشن وحشی می‌تواند گزینه مناسب و جایگزین برای داروهای شیمیایی باشد [۱ و ۳].

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی اثر اسانس آویشن وحشی به تنهایی و به صورت توام با تاکسول به عنوان یک داروی گیاهی ضد سرطان شناخته شده بر روی رده سلولی سرطان سینه MCF7 نشان داد که اسانس آویشن به صورت تیمار به تنهایی و همچنین تیمار توام با تاکسول اثر مهار کنندگی بر سلولهای سرطانی دارد و حتی موجب آپپتوزیس و مرگ سلول‌های سرطان سینه می‌گردد. نتایج همچنین نتایج نشان داد که اثر مهاری اسانس این گیاه با افزایش غلظت افزایش می‌یابد به طوری که اسانس گیاه آویشن وحشی در بالاترین غلظت های به کار رفته یعنی ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر بر روی رده سلولی سرطان سینه اثر مهاری و کشندگی دارد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر عصاره آویشن وحشی قابلیت استفاده به عنوان یک داروی گیاهی ضد سرطان را دارد.

منابع:

[1]. Amirghofran Z., and Karimi, M.H. 2002. Cytotoxic activity of *Thymus vulgaris*, *Achillea Millefolium* and *Thuja orientalis* on different growing cell lines. J Medical Journal of the Islamic Republic of Iran, 15: 149-154.

[2]. Ayesh, B.M., Abed, A.A., and Faris, D.M. 2014. In vitro inhibition of human leukemia THP-1 cells by *Origanum syriacum* L. and *Thymus vulgaris* L. extracts. J BMC Research Notes. 7:612-620.

[3]. Craig, W.J. 1999. Health promoting properties of common herbs. American J of clinicalnutrition. 70(3): 491-499.

[4]. Dalilan, S., Rezaei-Tavirani, M., Nabiuni, M., Heidari-Keshel, S, Zamanian-Azodi, M., and Zali, H. 2013. Aqueous extract of *Lavender angustifolia* inhibits lymphocytes proliferation of hodgkin's lymp homaPatients. Iran J Cancer Prev. 4: 201-208.

[5]. De Brabandert, M., Geuens, G., Nuydens, R., Willebrords, R., and De Mey, J.1981. Taxol induces the assembly of free microtubules in living cells and blocks the organizing capacity of the centrosomes and kinetochores. Proc Natl Acad Sci USA. 78:5608–5612.

[6]. Esmaeili-Mahani, S., Falahi, F., and Yaghoobi M.M. 2014. Proapoptotic and Antiproliferative Effects of *Thymus caramanicus* on Human Breast Cancer Cell Line (MCF-7) and Its Interaction with Anticancer Drug Vincristine. J Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (On line published). http://dx.doi.org/10.1155/2014/893247

[7]. Evandri, M.G., Battinelli, L., Daniele, C., Mastrangelo, S., Bolle, P., Mazzanti, G. 2005. The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. 2005. J Food and Chemical Toxicology 43: 1381 -1387.

[8]. Guo, J., Bourre, L., Soden, D.M., O'Sullivan, G.C., O'Driscoll C. 2011. Non-Viral Technologies Knockdown the Barriers to siRNA Delivery and Achieve the Next Generation of Cancer

www.SID.ir

Arshive of SID

Therapeutics, J Biotechnol Adv. 29(4):402-17.

[9]. Harirchi, I., Karbakhsh, M., Kashefi, A., Momtahen, A.J. 2004. Breast Cancer in Iran: Results of a Multi-Center Study. Asian Pac J Cancer Prev. 5(1):24-7.

[10].Harirchi, I., Ebrahimi, M., Zamani, N., Jarvandi, S., Montazeri, A. 2000. Breast Cancer in Iran: a Review of 903 Case Records. J Public Health. 114(2):143-5.

[11].Hoffman, E. Cancer and the search for selective biochemical inhibitors. 1999. London: Boca Raton: 95-97.

[12].Hornick, J.E., Bader, J.R., Tribble, E.K., Trimble, K., Breunig, J.S., Halpin, E.S., Vaughan, K.T., and Hinchcliffe, E.H. 2008. Live-cell analysis of mitotic spindle formation in Taxol-treated cells. Cell Motil Cytoskeleton 65:595–613.

[13].Joekim, H., Chung, J.H., Lee S.H., Jung, Y.S., Moon, C.H., and Baik, E.J. 2008. Involvement of endogenous prostaglandin-f2 alpha on kainic acid– induced seizureactivity through fp receptor: the mechanism of proconvulsant effects of COX-2 inhibitors. Brain Res. 193: 153-61.

[14].Katzung, B.G., Masters, S.B., and Terevor, A.J. 1997 Basic and clinical pharmacology. New York, Norwalk.

[15].Kazemi, M. 2015. Phytochemical Composition of *Thymus vulgaris* L. Essential Oil. J of Essential Oil Bearing Plants. 18(3): 751-753.

[16].Kidwia, M., Venkataramanan, R., Mohan, R., Sapra, P. 2002. Cancer chemotherapy and heterocyclic compounds. J Curr Med Chem. 9 (12): 1209-1228.

[17].Liang, Y.C., Tsai, S.H., Tsai, D.C., and Lin-shiau, S.Y. 2001. Suppression of inducible cyclooxygenase and nitric oxide synthase through activation of peroxisome proliferator– activated receptor –gamma by flavonoids in mouse macrophages . FEBS Lett. 496(1): 12- 18.

[18].Lixandru, B.E., Dracea, N.O., Dragomirescu, C.C., Dragulescu, E.C., Coldea, I.L., Anton, L., et al. 2010. Antimicrobial activity of plant essential oils against bacterial and fungal species involved in food poisoning and/or food decay. J Roum Arch Microbiol Immunol. 69: 224-30.

[19].Lo, A.H., Liang, Y.C., Lin-Shiau, S.Y., Ho, C.T., et al. 2002. Carnosol, an antioxidant in rosemary, suppresses inducible nitric oxide synthase through downregulating nuclear factor-kappaB in mouse macrophages. Carcinogenesis. 23(6): 983-991.

[20].Mans, D.R.A., and Schwartsmann, G. 2000. Anticancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compound. Oncologist. 5: 185-98.

[21].Mastelic, J., Jerkovic, I., Blazevic, I., Poljak-Blazi, M., Borovic, S., Ivancic-Bace, I., et al. 2008. Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. J Agric Food Chem. 56: 3989-96.

[22].McKay, D.L., and Blumberg, J.B. 2006. Review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). J Phytother. *Res.* 26: 619-633.

[23].Moller, P., Wallin, H., and Knudsen, L.E. 1996. Oxidative stress associated psychological stress and lifestyle factor. Chem Bio Interact. 102: 1-36.

[24].Mosmann, T. 1998. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods. 65, 55–63.

[25].Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., Sanbongi, C., Kato, Y., Osawa, T., et al., 2002. Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide (LPS) induced liver injury in d-galactosamine (d- GalN)- sensitized mice Free Radic. J Biol. Med. 33: 798-806.

[26].Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., and Yoshikawa, T. 2004. Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. Carcinogenesis. 25: 549-557.

[27].Talib W H, and Mahasneh A M. 2010. Antiproliferative Activity of Plant Extracts Used Against Cancer in Traditional Medicine. Sci Pharm, 78: 33-45.

[28].Patricia, P., and Trevor J.M. 1990. Use of the Tetrazolium Assay in Measuring the Response of Human Tumor Cells to

www.SID.ir

Arshive of SID

Ionizing Radiation, J cancer research. 50: 1392-1396.

[29].Rezaianzadeh, A., Peacock, J., Reidpath, D., Talei, A., Hosseini, S.V., and Mehrabani, D. 2009. Survival Analysis of 1148 Women Diagnosed with Breast Cancer in Southern Iran. BMC Cancer. (On line published).

[30].Sadjadi, A., Nouraie, M., Mohagheghi, M.A., Mousavi-Jarrahi, A., Malekezadeh, R., and Parkin, D.M. 2002. Cancer Occurrence in Iran in 2002, an International Perspective. Asian Pac J Cancer Prev. 6(3):359-363.

[31].Sadiq, B.M., Naz, A., Tauseef, S.M., and Qayyum, M.M.N. 2013. Anti-oncogenic perspectives of spices/herbs. EXCLI J. 12: 1043-1065.

[32].Singh B, and Lucci A. 2002. Role of cycloxygenase-2 in breast cancer. Surg Res. 108: 173-179.

[33].Slater, T.F., Sawyer, B., and Strauli U.D. 1963. Studies on cuccinate-Tetrazolinum reductase system III. Point of coupling of four different tetrazolum salt. J Biochim. Biophys. Acta. 77: 383-393.

[34].Srivastava, V., Negi, A.S., Kuma, J.K.R, Gupta, M.M., and Khanuja, S.P.S, 2005. Plant based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. J Bioorganic & Medicinal Chemistry.13: 582-590.

[35].Sylvestre, M., Pichette, A., Longtin, A., Nagau, F., and Legault, J. 2006. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from guadeloupe. J. Ethnopharmacol. 103: 99-102.

[36].Sylvestre, M., Legault, J., Dufour, D., and Pichette, A. 2005. Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L. J. Phytomedicine. 12: 299-304.

[37].Undeger, U., Başaran, A., Degen, G.H., and Başaran, N. 2009. Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in V79 Chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of Carvacrol and Thymol. J Food Chem Toxicol. 47: 2037-2043.

[38].Vigo, E., Cepeda, A., Gualillo, O., and Perez-Fernandez, R. 2004. In-vitro anti-inflammatory effect of Eucalyptus globulus and Thymus vulgaris: nitric oxide inhibition in J774A.1 murine macrophages. J Pharm Pharmacol. 56: 257-263.

[39].Wei, W., Nan, L.i., Meng, L., Yuangang, Z.u. and Efferth, T. 2010. Antibacterial activity and Anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. Molecules. 17: 2704-2713.

www.SID.ir

Arshive of SID

Study of cytotoxic effect of essential oil of *Tymus vulgaris* L. by MTT and Trypan blue assay on breast cancer cell line MCF-7

Hajebi S.[1], Chehregani Rad A.[2*], Lariyazdi H.[3]

[1] Young Researchers and Elite Club, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran
[2] Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
[3] Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

[*] Email: chehregani@basu.ac.ir

Received: 07 January 2018 Accepted: 07 April 2018

Abstract

Breast cancer is the most common cancer in the Iranian women. Essential oil of thymus is containing anticancer compounds including thymol. The aim if this research was studding the effect of thymus essential oil on the breast cancer cell line MCF-7 using MTT and Trypan blue methods, and comparing of its effect with taxol as a well-known anticancer agent. In this research, MCF-7 and Hu-02 cell lines were porched from IBRC institute. The cells were treated by different concentrations of thymus essential oil and taxol in the times of 24, 48 and 72 hours. The cytotoxicity of the treatments was measured by means of MTT and trypan blue staining. Results showed that Thymus essential oil had cytotoxic effect, in different doses, on the MCF-7 cell line. The highest cytotoxic effect was measured in the group treated by 125 µg/ml of thymus essential oil. The Thymus essential did not show any cytotoxic effect on the cells of HU-02. Results were also showed that the essential oil can increase the cytotoxicity effect of Taxol on the cancer cell line, thus it seems that is effective in breast cancer therapy; probably, it causes to cell death by apoptosis induction.

Keywords: Breast Cancer, MTT, *Thymus vulgaris* L.

www.SID.ir